

**POTENSI DAUN TEH HIJAU (*Camellia sinensis*) SEBAGAI INHIBITOR
MAIN PROTEASE (M^{PRO}) COVID-19: SEBUAH STUDI MOLECULAR
DOCKING**

**Haidar Ali Hamzah¹, Junoretta Haviva Ernanto², Putri Mahirah
Afladhanti³, Theodorus^{4*}**

^{1,2,3}Profesi Kedokteran Umum, Fakultas Kedokteran, Universitas Sriwijaya

⁴Departemen Farmakologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Sriwijaya

Email¹: hah057234@gmail.com

Email²: junorettaernanto@yahoo.co.id

Email³: mahirah.afladhanti@gmail.com

*Email⁴: theodorusparulian@yahoo.com

Artikel diterima: 10 Oktober 2021; Disetujui: 1 Oktober 2022

DOI: <https://doi.org/1036387/jiis/v7i2.789>

ABSTRAK

Daun teh hijau merupakan tanaman herbal yang memiliki senyawa aktif yang berguna sebagai antiinflamasi, antioksidan, antialergi, dan antivirus. Pada penelitian sebelumnya, senyawa flavonoid dalam daun teh terbukti memiliki aktivitas sebagai antivirus. Pengembangan obat antivirus yang efektif terhadap COVID-19 masih menjadi tantangan bagi peneliti di seluruh dunia. Penelitian sebelumnya mengidentifikasi peran enzim *main protease* (M^{PRO}) yang berguna dalam siklus hidup virus sebagai target obat yang menjanjikan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi daun teh hijau sebagai inhibitor M^{PRO} COVID-19 dengan menggunakan metode *molecular docking*. Penelitian ini menggunakan 12 senyawa daun teh dan lopinavir sebagai pembanding. Analisis Lipinski dilakukan untuk menilai potensi senyawa daun teh sebagai obat. *Molecular docking* dilakukan menggunakan *Autodock Tools 1.5.6* dan *Autodock Vina* serta visualisasi menggunakan *Discovery Studio v16*. Hasil penelitian menunjukkan seluruh senyawa uji memenuhi kriteria sebagai obat berdasarkan uji kelarutan Lipinski. Hasil *docking* menunjukkan bahwa catechin dan epicatechin memiliki energi ikatan yang sama dengan lopinavir, yakni -7,1 kcal/mol. Catechin gallate dan epicatechin gallate memiliki energi ikatan terkuat, yakni -9,0 dan -8,2 kcal/mol. Seluruh senyawa uji mengikat di situs aktif enzim M^{PRO} COVID-19 sehingga merupakan inhibitor kompetitif. Seluruh senyawa daun teh hijau berpotensi sebagai inhibitor enzim M^{PRO} COVID-19 dengan catechin gallate merupakan senyawa inhibitor yang paling kuat.

Kata kunci: Daun teh hijau, Derivat catechin, Inhibitor *main protease* COVID-19, *molecular docking*

ABSTRACT

Green tea is an herbal plant that has active compounds including anti-inflammatory, antioxidant, anti-allergic, and antiviral compounds. A previous

study, flavonoid compound in tea leaves has been proven as antiviral. The development of effective antiviral drugs against COVID-19 remains a challenge for researchers across the world. A previous study investigated the role of the main protease enzyme (M^{pro}) which is useful in the viral life cycle as a promising drug target. This study aims to know the potential compounds of green tea leaves as a COVID-19 M^{pro} inhibitor using molecular docking. 12 compounds and lopinavir were used. Lipinski analysis was carried out to assess potential compounds as a drug. Docking was carried out by Autodock Tools 1.5.6 and Autodock Vina. The visualization was carried out by Discovery Studio v16. The results showed that all compounds compiled the criteria as a drug based on Lipinski rules. Catechin and epicatechin have the same energy bond as lopinavir with a binding energy of -7.1 kcal/mol. Catechin gallate and epicatechin gallate have the strongest energy bond with a binding energy of -9.0 and -8.2 kcal/mol. All compounds bind in the active site of the COVID-19 M^{pro} so they are competitive inhibitor. Catechin gallate is the strongest inhibitors.

Keywords: *Green tea, Catechin derivatives, COVID-19 main protease inhibitor, Molecular docking*

PENDAHULUAN

Coronavirus disease 2019 (COVID-19) merupakan penyakit jenis baru yang disebabkan oleh virus *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2* (SARS-CoV-2). COVID-19 pertama kali ditemukan di Wuhan, Provinsi Hubei, Cina pada Desember 2019. Virus SARS-CoV-2 menyerang sistem pernafasan, pencernaan, dan persarafan dengan proses penularan yang cepat serta angka kematian yang cukup tinggi (Bhavana *et al.*, 2020). Di Indonesia, jumlah kasus COVID-19 hingga 8 September 2021 mencapai 4.147.365 kasus positif dan 137.782 jiwa meninggal dunia (Kementerian

Kesehatan Republik Indonesia, 2021).

SARS-CoV-2 masuk ke dalam sel dengan berikatan di reseptor sel inang kemudian melepaskan materi genom berupa mRNA yang kemudian ditranslasi menjadi protein yang berperan pada proses perakitan virus baru (Heininger, 2020). Seluruh jenis coronavirus mengkode protein seperti *papain-like proteases* (PLpro) dan *main protease* (M^{pro}). Sebuah penelitian membuktikan bahwa M^{pro} menjadi target yang potensial untuk pengembangan pengobatan COVID-19 (Sanders *et al.*, 2020). Saat ini belum ada terapi yang spesifik untuk menangani COVID-19. Penggunaan

kombinasi *drug repurposing* masih menjadi terapi utama pada pasien COVID-19 yang memiliki gejala berat dan dirawat di rumah sakit. Obat-obatan yang digunakan, meliputi klorokuin, hidroksiklorokuin, remdesivir, lopinavir/ritonavir, dan nitazoxanide yang diyakini memiliki efek samping yang cukup serius (BPOM, 2020).

Penelitian terhadap pemanfaatan herbal sebagai alternatif pengobatan yang minim efek samping telah banyak dikembangkan. Daun teh hijau (*Camellia sinensis*) menjadi salah satu tanaman yang banyak diteliti terkait khasiat yang terkandung didalamnya. Daun teh hijau memiliki senyawa aktif yang memiliki aktivitas sebagai antiinflamasi, antioksidasi, dan antialergi. Daun teh mengandung kurang lebih 4000 komponen bioaktif yang sepertiganya merupakan jenis flavonoid (Namita *et al.*, 2012). Komponen utama flavonoid berupa derivat *catechin* antara lain, *epigallocatechin gallate*, *epicatechin*, dan *catechin*. Senyawa tersebut telah terbukti memiliki aktivitas sebagai antivirus (Xu *et al.*, 2017). Selain itu,

theaflavin yang merupakan senyawa daun teh akibat dari proses fermentasi *catechin* juga diketahui terbukti mampu menghambat enzim M^{pro} COVID-19 (Chen *et al.*, 2005).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi daun teh hijau sebagai inhibitor M^{pro} COVID-19. Berdasarkan hal tersebut, maka perlu dilakukan penelitian menggunakan metode *molecular docking*.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah perangkat keras dan perangkat lunak. Perangkat keras berupa laptop dengan spesifikasi *Random Access Memory* (RAM) 4 GB, Intel Core i5, Intel HD Graphics dan sistem operasi Windows 7 Ultimate 32-bit. Perangkat lunak berupa *Autodock Tool 1.5.6*, *Autodock Vina*, dan *Discovery Studio v16*. Bahan yang digunakan adalah enzim M^{pro} COVID-19, senyawa uji daun teh hijau, dan senyawa obat sebagai pembanding, yakni lopinavir

Pemilihan senyawa uji daun teh hijau

Berdasarkan hasil studi

literatur, diperoleh 12 senyawa, yakni epigallocatechin gallate (EGCG), epicatechin, catechin, caffein, catechin gallate, epicatechin gallate, kaempferol, quercetin, myricetin, theaflavin digallate, theaflavin-3'-O-gallate, dan thearubigin.

Analisis Lipinski

Senyawa uji diunduh struktur molekulnya dari *Pubchem* di situs www.pubchem.ncbi.nlm.nih.gov dalam format sdf. Analisis Lipinski dilakukan melalui situs <http://www.swissadme.ch/index.php>

Preparasi struktur senyawa uji dan reseptor

Tabel 1. Nilai Koordinat dan Ukuran *Grid Box*

<i>Main protease (M^{pro})</i>	
Center (Å)	
x	-11,824
y	14,735
z	74,152
Box dimension (Å)	
x	40
y	40
z	40

Senyawa uji yang digunakan adalah senyawa yang telah memenuhi kriteria Lipinski. Preparasi senyawa uji dilakukan dengan mengubah format file dari sdf menjadi pdbqt menggunakan aplikasi *Autodock Tool 1.5.6*. Reseptor yang digunakan

berupa enzim M^{pro} COVID-19 yang diunduh dari *Proten Data Bank* di situs www.rcsb.org dalam format pdb. Struktur yang telah diunduh kemudian dipreparasi menggunakan aplikasi *Discovery Studio v16* dan *Autodock Tool* dengan menambahkan atom hidrogen polar dan membersihkan struktur enzim dari ligan alami serta molekul air kemudian disimpan dalam format pdbqt.

Molecular docking

Molecular docking dilakukan menggunakan aplikasi *Autodock Vina* dengan teknik *targeted docking*. Nilai koordinat dan ukuran *grid box* pada situs aktif enzim diperoleh seperti pada Tabel 1. *Grid box* digunakan untuk membatasi zona penambatan molekuler agar penambatan berlangsung di situs aktif enzim. Setelah proses penambatan selesai, diperoleh 10 variasi model penambatan senyawa uji dengan enzim. Model yang dipilih adalah model yang memiliki nilai energi ikatan terendah, yakni model pertama.

Visualisasi docking senyawa dengan M^{pro} COVID-19

Tabel 2. Hasil Analisis Lipinski

Molekul	LogP	MW (Da) (g/mol)	H- Donor	H- Acceptor	LogS	Violations
Epigallocatechin gallate	1,53	458,37	8	11	-2,50	2
Epicatechin	1,47	290,27	5	6	-2,14	0
Catechin	1,33	290,27	5	6	-2,14	0
Caffein	1,79	194,19	0	3	-0,67	0
Catechin gallate	1,31	442,37	7	10	-3,09	1
Epicatechin gallate	1,76	442,37	7	10	-3,09	1
Kaempferol	1,70	286,24	4	6	-3,82	0
Quercetin	1,63	302,24	5	7	-3,24	0
Mryicetin	1,08	318,24	6	8	-2,66	1
Theaflavin digallate	-1,48	868,70	13	20	-5,88	3
Theaflavin gallate- 3'-O- gallate	2,16	716,60	11	16	-5,06	3
Thearubigin	1,52	902,72	13	22	-4,49	3
Lopinavir	4,22	628,80	4	5	-10,05	1

Hasil penambatan molekuler divisualisasikan menggunakan aplikasi *Discovery Studio* untuk melihat interaksi yang terjadi antara senyawa uji dan enzim. Parameter hasil *docking* adalah nilai energi ikatan antara senyawa uji dan enzim atau energi *Gibs* (ΔG) yang diperoleh melalui aplikasi *Autodock Vina*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan studi literatur, diperoleh 12 senyawa daun teh hijau kemudian dilakukan *screening* awal dengan menggunakan analisis Lipinski. Tabel 2 menunjukkan hasil *screening* Lipinski. Sebanyak delapan senyawa memenuhi aturan Lipinski. Senyawa tersebut adalah epicatechin, catechin, caffein, catecin

gallate, epicatechin gallate, kaempferol, quercetin, dan myricetin. Analisis Lipinski dilakukan untuk menilai potensi senyawa sebagai obat. Senyawa dianggap memiliki potensi sebagai obat apabila memenuhi aturan Lipinski dengan kriteria: (1) berat molekul <500 gr/mol, (2) jumlah grup donor proton ikatan hidrogen <5, (3) jumlah grup akseptor proton ikatan hidrogen <10, (4) nilai logaritma koefisien partisi dalam air dan 1-oktanol <5 (Lipinski, 2004). Senyawa yang memiliki lebih dari 1 pelanggaran tidak memenuhi aturan Lipinski. Dengan demikian, delapan senyawa daun teh hijau memiliki kemampuan untuk menembus membran dan mudah diserap oleh tubuh sehingga memiliki

kemampuan seperti obat (*drug-like compounds*). Delapan senyawa tersebut kemudian dilakukan uji penambatan molekuler.

Tabel 3. Hasil *Molecular Docking*

Senyawa Uji	Energi Ikatan (ΔG) (kcal/mol)
Catechin gallate	-9,0
Epicatechin gallate	-8,2
Kaempferol	-7,8
Myricetin	-7,5
Quercetin	-7,4
Lopinavir	-7,1
Epicatechin	-7,1
Catechin	-7,1
Caffein	-5,2

Pada Tabel 3, seluruh senyawa uji kecuali caffein memiliki energi ikatan yang lebih kuat daripada lopinavir. Epicatecin dan catechin memiliki nilai energi ikatan yang sama dengan lopinavir, yakni -7,1 kcal/mol. Catechin gallate dan epicatechin gallate memiliki ikatan terkuat diantara semua senyawa uji karena memiliki ΔG paling negatif, yakni -9,0 dan -8,2 kcal/mol. Analisis hasil penambatan molekuler dilakukan dengan menilai energi ikatan (ΔG). Energi ikatan merupakan parameter kestabilan konformasi antara senyawa uji dengan enzim M^{pro} COVID-19. Senyawa uji dan enzim yang saling

berinteraksi akan cenderung berada pada kondisi energi yang paling rendah, hal tersebut menyebabkan ikatan molekul akan berada pada keadaan yang stabil sehingga semakin kecil nilai ΔG , interaksi ligan dan enzim akan semakin kuat dan stabil (Syahputra *et al.*, 2014). Secara eksperimental, nilai ΔG dapat digunakan untuk memprediksi kemampuan suatu senyawa dalam menghambat enzim (Murray *et al.*, 2015). Seluruh senyawa uji yang memiliki nilai energi ikatan paling negatif daripada lopinavir dipilih untuk dilakukan visualisasi interaksi molekuler.

Hasil visualisasi ditampilkan pada Gambar 1. Catechin gallate mengikat enzim dengan residu asam amino Thr26, His41, Met49, Phe140, dan Cys145. Ikatan hidrogen yang terbentuk adalah Thr26 dan Phe140. Epicatechin gallate mengikat enzim dengan residu asam amino Thr26, His41, Cys145, Met165, Glu166, dan Arg188. Ikatan hidrogen yang terbentuk adalah Thr26, Glu166, dan Arg188.

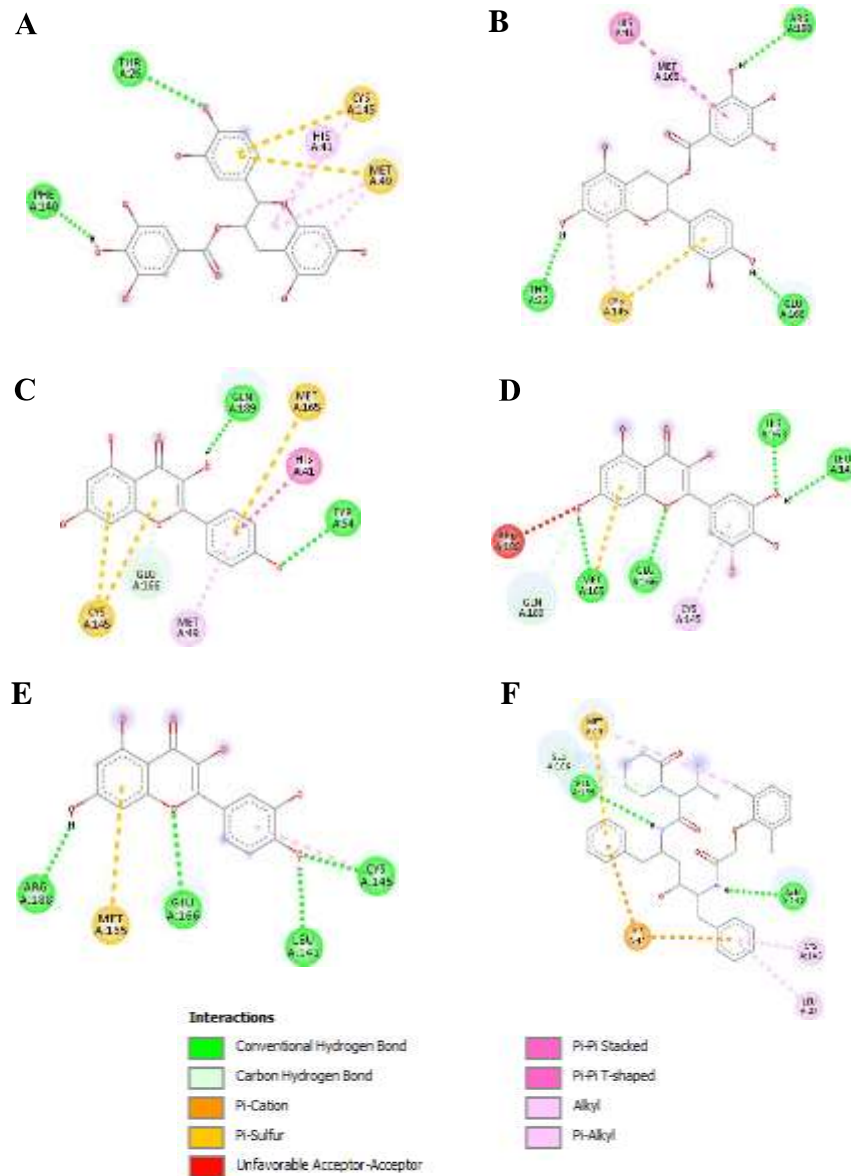
Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa situs pengikatan

aktif enzim M^{pro} COVID-19 berada pada residu asam amino His41, Met49, Phe140, Leu141, Asn142, Gly143, His163, His164, Met165, Glu166, Leu167, Pro168, His172, Gln189, Thr190, dan Ala191 (Agrawal *et al.*, 2020). Selain itu, penelitian lain menunjukkan bahwa residu asam amino Cys145 dan His41 berada pada situs aktif katalitik enzim (*catalytic dyad*) yang berperan besar dalam mekanisme inhibisi enzim (Khalifa *et al.*, 2020). Situs aktif adalah area pengikatan enzim terhadap senyawa uji yang melibatkan residu-residu asam amino yang berperan pada pengikatan ligan. Interaksi residu asam amino di situs aktif menyebabkan senyawa uji memiliki kemampuan menghambat enzim M^{pro} COVID-19 secara kompetitif dengan ligan asli M^{pro} COVID-19. Seluruh senyawa uji dan lopinavir mengikat situs aktif enzim karena memiliki kemiripan situs pengikatan residu asam amino dengan lopinavir. Dengan demikian, seluruh senyawa uji dapat mengikat pada situs aktif sebagai inhibitor kompetitif pada enzim M^{pro} COVID-19.

Salah satu adanya perbedaan nilai ΔG adalah adanya perbedaan pengikatan senyawa terhadap residu asam amino (Syahputra *et al.*, 2014). Catechin gallate dan epicatechin gallate memiliki energi ikatan terkuat, hal tersebut dikarenakan kedua senyawa mengikat situs aktif katalitik enzim dengan residu asam amino Cys145 dan His41 paling banyak. Hasil ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang membuktikan terdapat korelasi antara energi ikatan dengan tempat pengikatan senyawa di situs aktif katalitik enzim (Macchiagodena *et al.*, 2020). Berdasarkan Gambar 1, ikatan hidrogen terbentuk pada setiap senyawa uji. Seluruh senyawa uji kecuali quercetin dan catechin gallate membentuk ikatan hidrogen dengan residu asam amino Glu166 dan Gln189. Hal ini sejalan dengan hasil berbagai penelitian yang menunjukkan bahwa Glu166 dan Gln189 membentuk ikatan hidrogen dengan seluruh senyawa uji di situs aktif enzim M^{pro} COVID-19 (Khan *et al.*, 2021; Ngo *et al.*, 2020; Yoshino *et al.*, 2020). Selain itu, penelitian oleh Shu-Chun Cheng membuktikan

bahwa mutasi pada Glu166 dapat menurunkan efek kemampuan inhibisi senyawa pada enzim M^{pro} SARS-CoV (Cheng *et al.*, 2010).

Dengan demikian, Glu166 berperan penting dalam membentuk ikatan hidrogen antara senyawa uji dan enzim M^{pro} COVID-19.



Gambar 1. Visualisasi penambatan molekuler 2D reseptor M^{pro} COVID-19 terhadap ligan uji A) catechin gallate; B) epicatechin gallate; C) kaempferol; D) myricetin; E) quercetin; F) lopinavir.

Interaksi hidrofobik adalah interaksi molekuler berupa interaksi *alkyl*, *pi-alkyl*, *pi-pi stacked*, dan *pi-pi T-shaped*. Interaksi hidrofobik yang optimal akan meningkatkan kestabilan senyawa uji saat mengikat enzim (Mughtaridi *et al.*, 2018). Catechin gallate memiliki jumlah interaksi hidrofobik paling banyak, yakni empat interaksi hidrofobik. Dengan demikian, catechin gallate merupakan senyawa uji yang paling stabil ikatannya daripada seluruh senyawa uji dan lopinavir. Ikatan hidrogen dan interaksi hidrofobik masing-masing dapat mempengaruhi nilai ΔG . Hasil penelitian oleh Patil *et al.*, menunjukkan bahwa ikatan hidrogen dan interaksi hidrofobik yang dioptimalkan dapat menstabilkan senyawa uji di situs aktif reseptor dan mengubah nilai ΔG serta meningkatkan efikasi senyawa uji ketika berinteraksi dengan reseptor (Varma *et al.*, 2010).

KESIMPULAN

Daun teh hijau berpotensi untuk dijadikan sebagai kandidat obat COVID-19 dengan senyawa catechin gallate menjadi kandidat terkuat diantara senyawa lainnya.

Seluruh senyawa daun teh hijau memiliki kemampuan sebagai inhibitor enzim M^{pro} COVID-19. Residu asam amino yang berperan besar dalam pengikatan adalah Cys145, His41, dan Glu166. Penelitian lebih lanjut secara *in vitro* dan *in vivo* diperlukan agar dapat dilakukan uji klinik.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih saya sampaikan kepada Departemen Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya yang telah menyediakan fasilitas pada pelaksanaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Agrawal, A., Jain, N.K., Kumar, N., Kulkarni, G.T., 2020. Molecular Docking Study to Identify Potential Inhibitor of COVID-19 Main Protease Enzyme: An In-Silico Approach. ChemRxiv.
- Badan Pengawas Obat dan Makanan Indonesia, 2020. Informatorium Obat COVID-19 di Indonesia [WWW Document]. Badan POM. URL <http://online.flipbuilder.com/tbog/infi/mobile/index.html> (accessed 7.17.20).
- Bhavana, V., Thakor, P., Bala, S., Kumar, N., 2020. COVID-19:

- Pathophysiology, treatment options, nanotechnology approaches, and research agenda to combating the SARS-CoV2 pandemic. *Life Sciences*. 261, 1–17.
- Chen, C.-N., Lin, C.P.C., Huang, K.-K., Chen, W.-C., Hsieh, H.-P., Liang, P.-H., Hsu, J.T.-A., 2005. Inhibition of SARS-CoV 3C-like Protease Activity by Theaflavin-3,3'-digallate (TF3). *Evid. Based. Complement. Alternat. Med.* 2, 209–215.
- Cheng, S.C., Chang, G.G., Chou, C.Y., 2010. Mutation of glu-166 blocks the substrate-induced dimerization of SARS coronavirus main protease. *Biophys. J.* 98, 1327–1336.
- Heininger, U., 2020. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 vaccines: Setting expectations appropriately. *Pediatr. Infect. Dis. J.* E123–E124.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2021. Situasi Virus COVID-19 di Indonesia 8 September 2021 [WWW Document]. *Kementeri. Kesehat. Republik Indones.* URL <https://covid19.go.id> (accessed 9.9.21).
- Khalifa, I., Zhu, W., Nafie, M.S., Dutta, K., Li, C., 2020. Anti-COVID-19 Effects of Ten Structurally Different Hydrolysable Tannins through Binding with the Catalytic-Closed Sites of COVID-19 Main Protease: An In-Silico Approach. *Preprints* 1–21.
- Khan, S.A., Zia, K., Ashraf, S., Uddin, R., Ul-Haq, Z., 2021. Identification of chymotrypsin-like protease inhibitors of SARS-CoV-2 via integrated computational approach. *J. Biomol. Struct. Dyn.* 39, 2607–2616.
- Lipinski, C.A., 2004. Lead- and drug-like compounds: The rule-of-five revolution. *Drug Discov. Today Technol.* 1, 337–341.
- Macchiagodena, M., Pagliai, M., Procacci, P., 2020. Inhibition of the Main Protease 3CL-pro of the Coronavirus Disease 19 via Structure-Based Ligand Design and Molecular Modeling 1–28.
- Muchtaridi, Yanuar, A., Megantara, S., Purmono, H., 2018. *Kimia Medisinal: Dasar-Dasar Dalam Perancangan Obat. Prenadamedia.*
- Murray, R.K., Granner, D.K., Rodwell, V.W., 2015. *Biokimia Harper Edisi 30, Edisi 30.* ed. Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Namita, P., Mukesh, R., Vijay, K., 2012. *Camellia Sinensis (Green Tea): A Review.*
- Ngo, S.T., Quynh Anh Pham, N., Thi Le, L., Pham, D.H., Vu, V. V., 2020. Computational Determination of Potential Inhibitors of SARS-CoV-2 Main Protease. *J. Chem. Inf. Model.* 60, 5771–5780.
- Sanders, J.M., Monogue, M.L., Jodlowski, T.Z., Cutrell, J.B., 2020. *Pharmacologic Treatments for Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): A*

- Review. *JAMA - J. Am. Med. Assoc.* 323.
- Syahputra, G., Ambarsari L, T, S., 2014. Simulasi docking kurkumin enol, bisdemetoksikurkumin dan analognya sebagai inhibitor enzim 12-lipoksigenase. *Biofisika* 10, 55–67.
- Varma, A.K., Patil, R., Das, S., Stanley, A., Yadav, L., Sudhakar, A., 2010. Optimized hydrophobic interactions and hydrogen bonding at the target-ligand interface leads the pathways of Drug-Designing. *PLoS One* 5.
- WHO, 2020. The WHO Solidarity Trial for COVID-19 treatments officially launched in Indonesia [WWW Document]. URL <https://www.who.int/indonesia/news/detail/24-04-2020-the-who-%09solidarity-%09trial-for-covid-19-treatments-officially-launched-in-indonesia> (accessed 7.19.20).
- Xu, J., Xu, Z., Zheng, W., 2017. A review of the antiviral role of green tea catechins. *Molecules*.
- Yoshino, R., Yasuo, N., Sekijima, M., 2020. Identification of key interactions between SARS-CoV-2 main protease and inhibitor drug candidates. *Sci. Rep.* 10, 1–8.