

## Aktivitas Antivirus Asam Galat Beserta Turunannya Terhadap SARS-CoV-2 Mutasi Spike L452R Melalui Penambatan Molekul

### Antiviral Activity of Gallic Acid and Its Derivatives Against SARS-CoV-2 Spike L452R Mutation Through Molecular Docking

Elvira Ratna Aisa, Alvira Rahmadani Putri, Nadiyah Armadanti Salma, Tukiran\*

Jurusan Kimia, Universitas Negeri Surabaya, Jl. Ketintang, Surabaya, Indonesia

\*corresponding author: [tukiran@unesa.ac.id](mailto:tukiran@unesa.ac.id)

**Abstrak.** Pandemi COVID-19 yang tidak kunjung berakhir disertai peningkatan kasus terkonfirmasi positif dapat dihubungkan dengan munculnya mutasi pada spike protein SARS-CoV-2. Salah satu mutasi tersebut ialah mutasi L452R yang mana dapat meningkatkan infektivitas virus. Senyawa asam galat atau 3,4,5 asam tri hidroksibenzoat merupakan suatu metabolit sekunder yang terdapat di sebagian besar tanaman, yang mana menunjukkan berbagai kemampuan bioaktivitasnya seperti antioksidan, antiinflamasi, antimikroba, serta antikanker. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi dari senyawa asam galat beserta turunannya asam elagat sebagai antivirus SARS-CoV-2 Mutasi spike L452R. Metode penelitian yang digunakan yakni penambatan molekul dengan menggunakan Autodock Tools 1.5.6. untuk mengetahui nilai dari afinitas ikatan. Hasil energi ikat asam galat beserta turunannya asam elagat dibandingkan dengan senyawa ligan pembanding, yaitu favipiravir dengan energi ikat sebesar -4,55 kkal/mol. Hasil analisis menunjukkan energi ikat (kkal/mol) dari asam galat beserta turunannya asam elagat masing-masing sebesar -5,76 kkal/mol dan nilai konstanta inhibisi 60,11  $\mu\text{M}$  dan -4,61 kkal/mol dengan konstanta inhibisi 420,1  $\mu\text{M}$ . Dengan nilai afinitas ikatan yang dimiliki asam galat dan asam elagat tersebut menunjukkan potensi yang baik sebagai agen antivirus SARS-CoV-2 dengan mutasi L452R. Dibutuhkan penelitian yang lebih lanjut untuk menyelidiki dan meyakinkan potensi sebagai penggunaan obat pada asam galat dan turunannya terhadap SARS-CoV-2 mutasi L452R

**Kata-kata kunci:** asam elagat, asam galat, penambatan molekul, SARS-CoV-2 mutasi L452R

**Abstract.** The ongoing COVID-19 pandemic accompanied by an increase in positive confirmed cases could be attributed to the emergence of mutations in the SARS-CoV-2 spike protein. One of these mutations is the L452R mutation which can increase the infectivity of the virus. Gallic acid compound or 3,4,5 trihydroxybenzoic acid is a secondary metabolite found in most plants, which shows various bioactivity abilities such as antioxidant, anti-inflammatory, antimicrobial, and anticancer. This study aims to determine the potential of gallic acid and its derivatives ellagic acid as an antiviral for SARS-CoV-2 Spike L452R Mutation. The research method used is molecular anchoring using Autodock Tools 1.5.6. to determine the value of the bond affinity. The results of the binding energy of gallic acid and its ellagic acid derivatives were compared with the comparison ligan compound, namely favipiravir with a binding energy of -4.55 kcal/mol. The results of the analysis showed that the binding energy (kcal/mol) of gallic acid and its derivatives ellagic acid were -5.76 kcal/mol, respectively, and the inhibition constants were 60.11  $\mu\text{M}$  and -4.61 kcal/mol with an inhibition constant of 420.1 M. . With the value of the binding affinity of gallic acid and ellagic acid, it shows good potential as an antiviral agent for SARS-CoV-2 with the L452R mutation. Further research is needed to investigate and confirm the potential for medicinal use of gallic acid and its derivatives against SARS-CoV-2 mutation L452R.

**Key words:** ellagic acid, gallic acid, molecular anchoring, SARS-CoV-2 L452R mutation

#### 1. Pendahuluan

Akhir tahun 2019 merupakan awal dari fenomena pandemi COVID-19 yang hingga saat ini masih terjadi. Akhir Desember 2019, adanya kluster kasus virus pneumonia dikaitkan dengan suatu

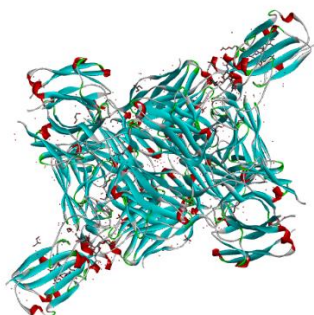
pasar di Wuhan, Hubei, China hingga kemudian diketahui penyebabnya adalah virus corona jenis baru, yakni SARS-CoV-2 yang sebelumnya dikenal dengan 2019-nCoV [1]. Respon imun tubuh terhadap SARS-CoV-2 memerankan peran yang sangat penting dalam hal patogenesis penyakit serta manifestasi klinis [2]. Telah muncul varian SARS-CoV-2 dengan adanya mutasi pada spike protein [3]. Hal tersebut dapat dikaitkan dengan meningkatnya kasus terkonfirmasi positif SARS-CoV-2 oleh karena peningkatan infektivitas dari virus. Salah satu dari sekian banyak mutasi pada virus SARS-CoV-2 ialah mutasi L452R. Mutasi jenis ini dikaitkan dengan virus SARS-CoV-2 varian Delta serta Epsilon yang mana terbukti dapat meningkatkan infeksi [4].

Asam galat, asam 3,4,5-trihidroksibenzoat merupakan suatu asam organik yang berperan sebagai metabolit sekunder pada berbagai bagian dari tanaman. Senyawa asam galat yang murni berbentuk kristal yang tidak berwarna dan tidak berbau [5]. Asam galat merupakan salah satu senyawa polifenol alami yang terkandung dalam sayuran, buah-buahan, serta obat-obatan herbal. Penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa asam galat memiliki beragam sifat biologi, antara lain antioksidan, antimikroba, antikanker, dan antiinflamasi (Yang, et al., 2020). Belum banyak penelitian yang melaporkan bahwa asam galat memiliki bioaktivitas sebagai antivirus. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi dari asam galat beserta turunannya asam elagat sebagai antivirus SARS-CoV-2 Mutasi spike L452R.

## 2. Bahan dan Metode

### 2.1. Bahan

Struktur asam galat beserta turunannya sebagai ligan dan senyawa favipiravir sebagai ligan pembanding yang didapat dari PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) dengan format .sdf diubah menjadi format .pdb. Struktur protein L425R kode PDB 7ORB sebagai target yang didapatkan dari RCSB protein data bank site (PDB) ([www.RCSB.org](http://www.RCSB.org)) adalah sebagai berikut.



Gambar 1. Struktur protein L425R kode PDB 7ORB

### 2.2. Metode

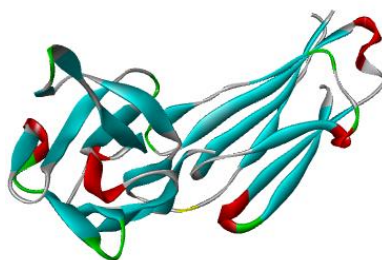
Metode yang digunakan ialah penambatan molekul untuk memprediksi nilai afinitas ikatan (*binding affinity*) dari setiap ligan terhadap protein target yang dipresentasikan dalam energi ikat dan konstanta inhibisi. Preparasi senyawa target serta ligan dengan format .pdb dilakukan dengan *software* Discovery studio 2019 client. Preparasi file target.pdbqt, ligan.pdbqt, a.gpf, serta a.dpf dengan *software* Autodock Tools 1.5.6. Penambatan molekul dilakukan dengan bantuan *software* Autodock Tools 1.5.6, serta autogrid. Hasil kalkulasi dari penambatan molekul dihasilkan dengan file a.dlg menggunakan *software* Autodock Tools 1.5.6 serta visualisasi interaksi antara ligan dengan target dilihat pada file complex.pdb yang menggunakan *software* Discovery studio 2019 client.

## 3. Hasil Penelitian dan Pembahasan

Pada akhir tahun 2019 tepatnya di bulan Desember, terdapat kluster kasus pneumonia yang dilaporkan oleh Komisi Kesehatan Wuhan, China sehingga kemudian teridentifikasi sebagai SARS-

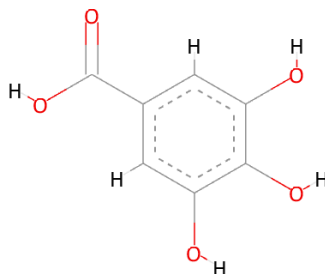
CoV-2 [7]. Nama penyakit yang disebabkan oleh SARS-CoV-2 ini kemudian disebut sebagai COVID-19 oleh WHO [8]. Hingga kemudian SARS-CoV-2 dengan cepatnya menyebar ke seluruh dunia karena transmisi penularannya yang begitu mudah, yakni melalui aerosol serta formites [9]. Oleh karena COVID-19 semakin meluas serta menjadi perhatian internasional mengenai darurat kesehatan masyarakat, maka WHO pun menyatakan sebagai pandemi [10].

Kasus terkonfirmasi positif COVID-19 yang semakin meningkat dapat dihubungkan atas munculnya berbagai jenis mutasi pada virus SARS-CoV-2. Berbagai mutan SARS-CoV-2 telah banyak yang muncul lebih dominan menyebar ketika pandemi berlangsung [11]. Salah satu dari jenis mutan SRAS-CoV-2, yakni L452R. L452R mempunyai kemampuan efek tunggal terbesar pada netralisasi di beberapa garis keturunan [12]. Mutasi L452R dikaitkan dengan virus SARS-CoV-2 varian Delta serta Epsilon yang mana terbukti dapat meningkatkan infeksi serta pengurangan netralisasi pseudovirus [4]. Pada penelitian yang telah ada menyatakan bahwa SARS-CoV-2 dengan mutasi L452R dapat menstabilkan interaksi antara spike protein dengan reseptor ACE 2 manusia sehingga dapat meningkatkan infektivitas [13]. Adanya mutasi L452R akan dapat meningkatkan infektivitas virus, fusogenisitas virus, serta mendorong replikasi virus [14]. Spike protein (S) merupakan target utama dari sebagian besar strategi vaksinasi serta terapi yang berbasis antibodi karena merupakan bagian untuk memediasi infeksi pada sel manusia [15]. Pada gambar 2 menunjukkan struktur target spike glikoprotein SARS-CoV-2 mutasi L452R dengan kode PDB 7ORB:



**Gambar 2. Struktur glikoprotein SARS-CoV-2 mutasi L452R kode PDB 7ORB**

Asam galat merupakan suatu senyawa polifenol yang terkandung dalam sayuran, buah-buahan, serta pada obat-obatan herbal (Yang, et al., 2020). Pada penelitian yang telah ada dilaporkan bahwa asam galat memiliki sejumlah aktivitas psikofarmakologis [16]. Asam galat serta turunannya memiliki potensi yang besar dalam memfasilitasi pertahanan tubuh terhadap infeksi mikroba serta memodulasi respon imun (Yang, et al., 2020). Asam galat merupakan suatu metabolit sekunder yang menunjukkan berbagai kemampuan bioaktivitas seperti antioksidan, antiinflamasi, antimikroba, dan antikanker [17]. Struktur asam galat dapat ditunjukkan pada gambar 3:



**Gambar 3. Struktur asam galat**

Penambatan molekul merupakan suatu metode dengan basis struktur *in silico* yang banyak digunakan untuk penemuan obat. Metode ini memungkinkan untuk memprediksi interaksi antara ligan dengan target pada tingkat molekuler [18]. Parameter dalam penambatan molekul ini antara lain ikatan energi ( $\Delta G$ ), konstanta inhibisi ( $K_i$ ), dan residu asam amino yang berinteraksi dengan

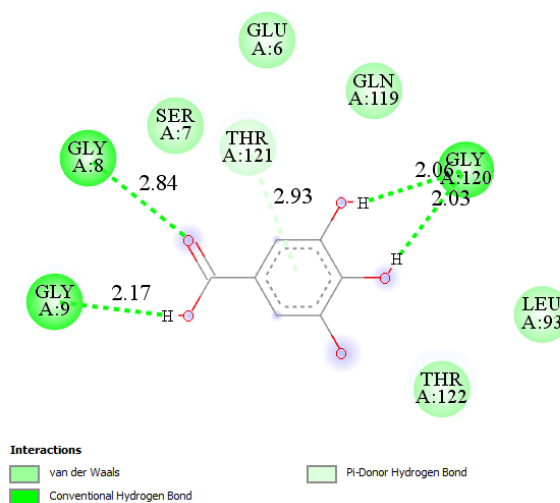
ikatan hidrogen antara ligan dengan target. Berikut ini hasil dari penambatan molekul antara asam galat beserta turunannya sebagai ligan, dan senyawa favipiravir sebagai ligan pembanding dengan spike glikoprotein SARS-CoV-2 mutasi L452R kode PDB ORB ditunjukkan pada tabel 1. Favipiravir dipilih sebagai pembanding dikarenakan termasuk dalam salah satu alternatif obat SARS-CoV-2 di Indonesia.

Tabel 6. Hasil Penambatan Molekul

No	Nama Senyawa	Energi Ikat ( $\Delta G$ ) (kkal/mol)	Konstanta Inhibisi ( $\mu m$ )
1.	Asam galat	-4,61	420,1
2.	Asam elagat	-5,76	60,11
3.	Dimetil 4,4',5,5',6,6'heksahidroksibifenil- 2,2'-dikarboksilat	-4,46	538,92
4.	Metil galat	-4,37	621,38
5.	Favipiravir	-4,55	463,17

Hasil data pada tabel 1 menunjukkan bahwa senyawa asam galat dengan turunannya yakni asam elagat memiliki nilai afinitas ikatan yang lebih kecil dibandingkan dengan ligan pembanding favipiravir terhadap target. Profil energi ikat yang memiliki nilai lebih rendah menunjukkan bahwa ada lebih banyak interaksi yang stabil. Profil energi ikat terendah mewakili interaksi pengikatan yang memungkinkan antara ligan dengan protein [19]. Energi ikatan antara Ligan-reseptor yang berinteraksi pada keadaan energi paling rendah, membuat molekul dalam keadaan stabil, oleh karena itu semakin kecil nilai Energi ikat, maka semakin stabil interaksi antara ligan dan reseptor. Untuk Konstanta inhibisi (Ki), parameter ini dari interaksi ligan dengan protein yang menunjukkan adanya proses penghambatan. Semakin rendah nilai KI, maka semakin efektif aktivitas penghambatannya dikarenakan konsentrasi molekul yang dibutuhkan untuk menghambat semakin kecil. Kestabilan energi ikat akan semakin baik dan suatu senyawa menjadi kandidat obat (Patankar S. , 2020). Nilai negatif pada energi ikat menunjukkan suatu reaksi akan berlangsung spontan [21]. Semakin rendah nilai dari energi ikat maka akan semakin kecil pula nilai konstanta hambat [22].

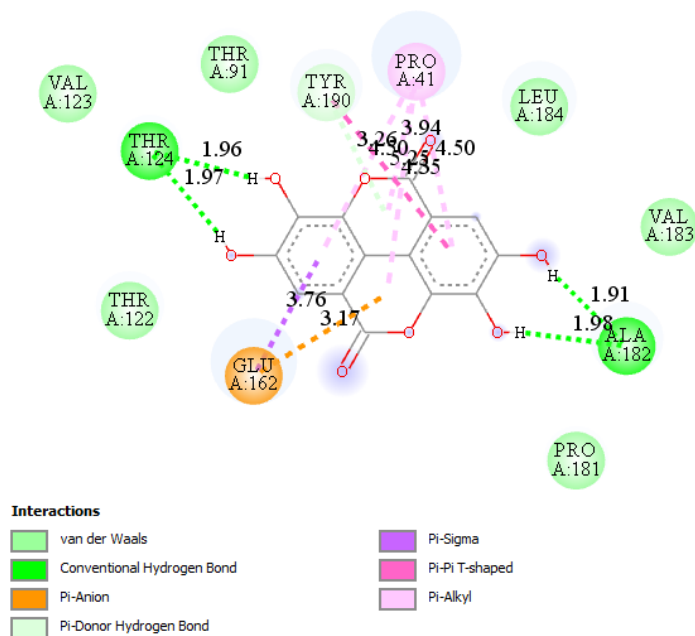
Besar energi ikat senyawa ligan pembanding favipiravir dengan target ialah -4,55 kkal/mol dengan konstanta inhibisi 463,17  $\mu m$ . Sedangkan asam galat memiliki energi ikat -4,61 kkal/mol dan konstanta inhibisi 420,1  $\mu m$ . Visualisasi atas hasil penambatan molekul antara ligan asam galat dengan target ialah sebagai berikut:



Gambar 4. Interaksi antara spike glikoprotein SARS-CoV-2 mutasi L452R kode PDB 7ORB dengan asam galat

Visualisasi yang didapatkan dengan bantuan *software* Discovery studio 2019 client dapat menunjukkan residu asam amino yang terdapat pada sisi aktif reseptor dengan asam galat yang berikatan hidrogen yang antara lain Gly8, Gly9, Gly120 dengan jarak interaksi pada masing-masing residu ialah 2,84 Å; 2,17 Å; 2,03 Å. Ikatan hidrogen merupakan faktor penting lainnya yang dapat mempengaruhi stabilitas protein. Interaksi dengan ikatan hidrogen memainkan peran yang penting dalam stabilitas antara ligan dengan protein [23]. Pada jarak ikatan yang semakin pendek menunjukkan bahwa suatu ikatan akan semakin kuat [24].

Hasil energi ikat terendah dimiliki oleh asam elagat yakni -5,76 kkal/mol dengan kontanta inhibisi sebesar 60,11  $\mu\text{m}$ . Berdasarkan hasil visualisasi asam elagat membentuk ikatan hidrogen dengan residu asam amino Thr124 dan Ala182 dengan jarak interaksi masing-masing ialah 1,96 Å dan 1,91 Å. Visualisasi antara ligan asam elagat dengan protein target SARS-CoV-2 mutasi L452R ialah sebagai berikut:



Gambar 5. Interaksi antara spike glikoprotein SARS-CoV-2 mutasi L452R kode PDB 7ORB dengan asam elagat

Hasil penambatan molekul pada dua turunan asam galat lainnya yakni metil galat dan dimetil 4,4',5,5',6,6'heksahidroksibifenil-2,2'-dikarboksilat, keduanya memiliki besar energi ikat yang negatif artinya akan beraksi secara spontan. Akan tetapi keduanya tidak lebih kecil dari senyawa ligan pembanding favipiravir yang mana saat ini digunakan sebagai obat antivirus sementara pada pengobatan COVID-19, dimana hingga saat ini masih belum ditemukan senyawa obat antivirus SARS-CoV-2. Besar dari energi ikatan dari kedua turunan tersebut secara berurutan ialah -4,37 kkal/mol dengan konstanta inhibisi sebesar 621,38  $\mu\text{m}$  dan -4,46 kkal/mol dengan besarnya konstanta inhibisi 538,92  $\mu\text{m}$ . Artinya besar potensi dari senyawa metil galat dan dimetil 4,4',5,5',6,6'heksahidroksibifenil-2,2'-dikarboksilat tidak sebaik potensi untuk senyawa asam galat dan asam elagat yang memiliki nilai afinitas ikatan yang lebih kecil atau lebih stabil dibandingkan dengan ligan pembanding.

#### 4. Kesimpulan

Analisis penambatan molekul terhadap asam galat beserta turunannya asam elagat menghasilkan nilai energi ikat lebih rendah dibanding ligan pembanding favipiravir, yaitu -5,76 kkal/mol dan nilai konstanta inhibisi 60,11  $\mu\text{M}$  dan -4,61 kkal/mol dengan konstanta inhibisi 420,1  $\mu\text{M}$ . Dengan demikian, kedua senyawa tersebut memiliki potensi baik sebagai agen antivirus SARS-CoV-2 dengan mutasi L452R. Diperlukan penelitian yang lanjut untuk menyelidiki serta meyakinkan potensi pada asam galat dan turunannya sebagai kandidat obat SARS-CoV-2 mutasi L452R.

#### Daftar Pustaka

- [1] C. Huang, Y. Wang, X. Li, L. Ren, J. Zhao, Y. Hu, L. Zhang, G. Fan, J. Xu and X. Gu, "Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China," *The lancet*, vol. 395, no. 10223, pp. 497-506, 2020.
- [2] L. Yang, J. Liu, Z. Zhang, X. Wan, B. Huang, Y. Chen and Y. Zhang, "COVID-19: immunopathogenesis and Immunotherapeutics," *Signal Transduction and Targeted Therapy*, vol. 5, no. 128, 2020.
- [3] A. R. S. P. S. G. C. A. A. H. M. B. C. G. P. Z. A. S. A. a. D. S. Baker, "Glycan-Based Flow-Through Device for the Detection of SARS-COV-2," *ACS Sens*, 2021.
- [4] O. Mor, M. Mandelboim, S. Fleishon, E. Bucris, D. Bar-Ilan, M. Linial and I. Nemet, "The rise and fall of an emerging SARS-CoV-2 variant with the spike protein mutation L452R," *Vaccines*, vol. 9, no. 8, p. 937, 2021.
- [5] S. Saeed, S. Aslam, T. Mehmood, R. Naseer, S. Nawaz, H. Mujahid, S. Firyal, A. A. Anjum and A. Sultan, "Production of Gallic Acid Under Solid-State Fermentation by Utilizing Waste from Food Processing Industries," *Waste and Biomass Valorization*, vol. 12, pp. 155-163, 2021.
- [6] K. Yang, L. Zhang, P. Liao, Z. Xiao, F. Zhang, D. Sindaye, Z. Xin and C. Tan, "Impact of Gallic Acid on Gut Health: Focus on the Gut Microbiome, Immune Response, and Mechanisms of Action," *Front. Immunol*, vol. 11, p. 2231, 2020.
- [7] S.-H. Song, T.-L. Chen, L.-P. Deng, Y.-X. Zhang, P.-Z. Mo, S.-C. Gao, W.-J. Hu, Y. Xiong and Z.-Y. Ma, "Clinical characteristics of four cancer patients with SARS-CoV-2 infection in Wuhan, China," *Infect Dis Poverty*, vol. 9, no. 82, pp. 1-8, 2020.
- [8] A. Lorusso, P. Calistri, A. Petrini and et al, "Novel Coronavirus (SARS-CoV-2) Epidemic: A Veterinary Perspective," *Veterinaria italiana*, vol. 56, no. 1, pp. 5-10, 2020.
- [9] J. Y. S. K. K. T. K. C. H. Y. J. X. F. L. J. Y. C. P. R. a. T. H. Chan, "A familial cluster of pneumonia associated with the 2019 novel coronavirus indicating person-to-person transmission: a study of a family cluster," *The lancet*, vol. 395, no. 10223, pp. 514-523, 2020.
- [10] S. F. Pedersen and Y.-C. Ho, "SARS-CoV-2: a storm is raging," *J Clin Invest*, vol. 130, no. 5, pp. 2202-2205, 2020.
- [11] J. A. Plante, Mitchell, B. M, K. S. Plante, K. Debbink, S. C. Weaver and V. D. Menachery, "The variant gambit: COVID-19's next move," *Cell Host & Microbe*, vol. 29, no. 4, pp. 508-515, 2021.
- [12] C. V. C. Y. I. R. J. L. P. M. V. G. J. C. M. S. J. T. A. a. M. M. Lucas, "Impact of circulating SARS-CoV-2 variants on mRNA vaccine-induced immunity in uninfected and previously infected individuals," *MedRxiv*, 2021.
- [13] X. Deng, M. A. Garcia-Knight, M. M. Khalid, V. Servellita, C. Wang, M. K. Morris and A. Sotomayor-Gonza' lez, "Transmission, infectivity, and neutralization of a spike L452R SARS-CoV-2 variant," *Cell*, vol. 184, pp. 1-12, 2021.
- [14] C. Motozono, M. Toyoda, J. Zahradnik, A. Saito, H. Nasser, T. S. Tan and I. Ngare, "SARS-CoV-2 spike L452R variant evades cellular immunity and increases infectivity," *Cell Host & Microbe*, vol. 29, pp. 1124-1136, 2021.
- [15] B. F. W. G. S. Y. H. T. J. A. W. F. B. G. E. B. T. P. M. a. P. D. Korber, "Spike mutation pipeline reveals the emergence of a more transmissible form of SARS-CoV-2," *BioRxiv*, 2020.

- [16] M. Yadav, D. K. Jindal, M. S. Dhingra, A. Kumar, M. Parle and S. Dhingra, "Protective effect of gallic acid in experimental model of ketamine-induced psychosis: possible behaviour, biochemical, neurochemical and cellular alterations," *Inflammopharmacology*, vol. 26, pp. 413-424, 2018.
- [17] F. H. A. Fernandes and H. R. N. Salgado, "Gallic Acid: Review of the Methods of Determination and Quantification," *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, vol. 46, no. 3, pp. 257-265, 2016.
- [18] L. Pinzi and G. Rastelli, "Molecular Docking: Shifting Paradigms in Drug Discovery," *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 20, no. 18, p. 4331, 2019.
- [19] A. Subbaiyan, K. Ravichandran, S. V. Singh, M. Sankar, P. Thomas, K. Dhama, Y. S. Malik, R. K. Singh and P. Chaudhuri, "In silico Molecular Docking Analysis Targeting SARSCoV-2 Spike Protein and Selected Herbal Constituents," *J Pure Appl Microbiol*, vol. 14, no. 1, pp. 989-998, 2020.
- [20] S. Patankar, "Deep learning-based computational drug discovery to inhibit the RNA Dependent RNA Polymerase: application to SARS-CoV and COVID-19," 2020.
- [21] L. Roufegarinejad, R. Amarowicz and A. J. Esfahlan, "Characterizing the interaction between pyrogallol and human serum albumin by spectroscopic and molecular docking methods," *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, vol. 37, no. 11, pp. 2766-2775, 2019.
- [22] J. S. Bramasta and I. G. M. Sanjaya, "Studi In Silico Fitosterol dan Turunannya Sebagai Kandidat Obat Anti Kanker Payudara," *Journal Cis-Trans*, vol. 5, no. 1, pp. 1-7, 2021.
- [23] Y. Fu, J. Zhao and Z. Chen, "Insights into the Molecular Mechanisms of Protein-Ligand Interactions by Molecular Docking and Molecular Dynamics," *Computational and Mathematical Methods in Medicine*, p. 2018, 2018.
- [24] Q. X. A. Kai, I. F. M. Rumengan, R. A. J. Lintang, S. Wullur, D. A. Sumilat, H. Pangkey and H. A. Luntungan, "Penambatan Molekul Glutation Fauna Laut Terhadap Reseptor dari Beberapa Penyakit Virus," *Jurnal Pesisir dan Laut Tropis*, vol. 9, no. 2, pp. 53-58, 2021.