

Kajian *in silico* Penghambatan Spesifik 3C-like Protease SARS-CoV-2 Senyawa Quinic Acid, Gluconic Acid, dan Ferulic Acid pada Kulit Kopi

In silico repurposing inhibition specificities 3C-like Protease SARS-CoV-2 by Quinic Acid, Gluconic Acid, and Ferulic Acid of Coffee pulp

Yohanes Bare^{1*}, Frederiksen Novenius Sini Timba², Dewi Ratih Tirto Sari³, Oktavius Yoseph Tuta Mago¹,
Maria Marcelina Dua Nurak¹

¹Program Studi Pendidikan Biologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Nusa Nipa, Maumere

²Program Studi Guru Sekolah Dasar, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Nusa Nipa, Maumere

³Program Studi Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Ibrahimy, Situbondo

Abstrak: Penelitian ini bertujuan mengeksplorasi senyawa kimia kulit kopi sebagai anti covid-19 (anti-3C-like protease). Analisis *in silico* dilakukan dengan tahapan pengambilan struktur senyawa dan protein, preparasi protein, dan penginteraksian senyawa dan protein 3CL-Pro. Docking dilakukan dengan program Molegro virtual Docker 5 dan divisualisasi dengan Discovery Studio versi 21.1.1. Senyawa yang terkandung kulit kopi quinic acid, gluconic acid maupun ferulic acid secara terpisah mengikat residu asam amino 3CL Protease yang sama maupun satu sama lain. Selain itu, ketiga senyawa menghambat aktivitas dengan mengikat sisi katalitik 3CLPro yaitu CYS145. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa kopi memiliki potensi sebagai materi terapi virus corona secara molekuler dengan menghambat kinerja 3CL Protease, utamanya menghambat replikasi SARS-CoV-2.

Kata Kunci: 3CL Protease, ferulic acid, gluconic acid, kulit kopi, quinic acid, virus corona

Abstract: This study aims to explore the chemical compounds of coffee pulp as an anti-covid-19 (anti-3C-like protease). *In silico* modelling was carried out by structure retrieval, protein preparation, and docking simulation. Specific Grid docking was used for ligands – protein interacting by using Molegro Virtual Docker 5, followed by visualizing Discovery studio version 21.1.1. Compounds contained in coffee pulp, quinic acid, gluconic acid and ferulic acid separately bind to the same amino acid residues of 3CL Protease or each other. Furthermore, three compounds inhibited 3CLPro activity by catalytic site blocking of 3CLPro, indicating that coffee compounds have potential as molecular therapeutic materials for the corona virus by inhibiting SARS-CoV-2 genome replication.

Keywords: 3CL Protease, corona virus, coffee pulp, ferulic acid, gluconic acid, quinic acid

PENDAHULUAN

Tanaman kopi masuk dalam kelompok famili Rubiaceae dan menjadi tanaman pertanian masyarakat Nusa Tenggara Timur khususnya kabupaten Sikka. Produksi tanaman kopi di Kabupaten Sikka mengalami peningkatan dua tahun terakhir, data Badan Pusat Statistik Provinsi Nusa Tenggara Timur tahun 2022 bahwa pada tahun 2020 menunjukkan produksi kopi sebesar 138,00 ton, dan mengalami peningkatan di tahun 2021 menjadi 148,00 ton (BPS NTT, 2021). Pengolahan menjadi biji

kopi dan diolah menjadi bahan minuman melewati beberapa proses pembersihan, proses pembersihan akan melepaskan residu kopi yang dianggap sebagai sampah salah satunya adalah ampas kulit kopi, setiap produksi kopi yang bersih akan menghasilkan setengah residu kulit kopi (Duangjai et al., 2016; Ameca et al., 2018; Gottstein et al., 2021).

Penelitian Duangjai et al., (2016) menyebutkan bahwa ampas kulit kopi memiliki sifat farmakologi, beberapa senyawa yang ditemukan dikulit kopi yaitu gluconic acid, ferulic acid, quinat

*email korespondensi: bareyohanes@gmail.com

acid. Senyawa tersebut diketahui berdasarkan hasil analisis laboratorium. Penelitian Murthy dan Madhava Naidu, (2012) menambahkan bahwa warna yang terdapat pada kulit kopi merupakan sumber anthocyanins memiliki potensi sebagai bahan pewarna alam yang aman serta memiliki materi antioksidan (Farah and Donangelo, 2006; Arellano-González et al., 2011). Selain itu penelitian Inbathamizh dan Padmini, (2013) melaporkan bahwa senyawa quinic acid berpotensi inhibitor beberapa gen yang terlibat dalam kesehatan sebagai anti inflamasi, anti kanker, anti-virus. Penelitian ini mengambil sampel dari biji kopi, belum ada informasi terkait respon kulit kopi terhadap virus. Fokus penelitian pada anti virus corona yang menjadi pandemik saat ini, terkait kasus positif covid beberapa tahun terakhir mengalami peningkatan. Salah satu gen yang terlibat dalam replikasi virus corona adalah 3CL Protease, protein ini berperan dalam penghatan sistem imun tubuh dan menghambat kinerja aktivasi jalur interferon tipe 1 (Jo et al., 2020b; Bare et al., 2022c; 2022d). Sangat menarik untuk mengeksplorasi kulit kopi sebagai anti virus corona. Penelitian ini bertujuan mengeksplorasi senyawa kimia kulit kopi sebagai anti covid-19 (anti-3C-like protease).

METODE PENELITIAN

Pengambilan struktur senyawa dan Protein

Senyawa quinic acid (CID.6508), Gluconic acid (CID.10690) dan Ferulic acid (CID.445858) diunduh dari pusat data PubChem dan protein 3CL Protease (PDB ID 2OP9) diunduh dari database protein data bank (PDB) didapatkan dari database PDB.

Preparasi struktur 3D Protein

Struktur 3D protein 3CLPro diimport ke software Molegro virtual docker 5 dan dilakukan preparasi dengan menghilangkan bagian ligan, kovaktor dan protein yang tidak diinginkan (Bitencourt-Ferreira and de Azevedo, 2019). Selanjutnya protein target diprediksi cavity (sisi aktif protein) dengan parameter expand van der Waals maximum 10.

Simulasi Docking senyawa dan protein 3CLPro

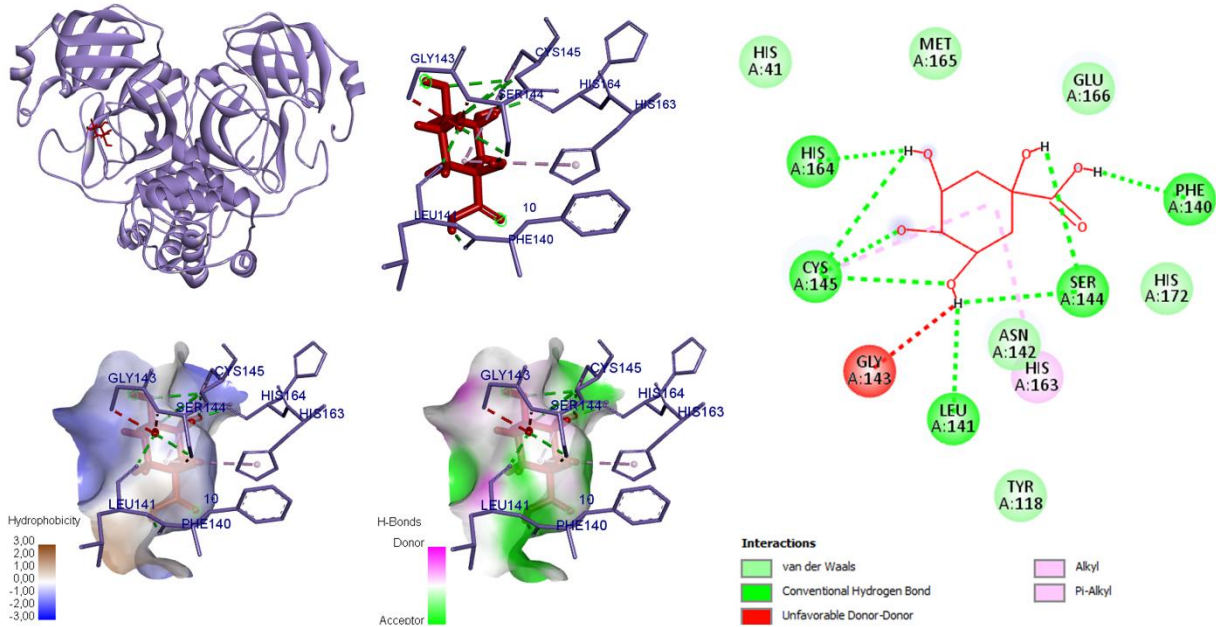
Docking dilakukan dengan menggunakan program Molegro virtual docker versi 5.0 pada grid khusus. Grid 3CLPro yaitu X= -9,34; Y= 26,49; Z 73,06; Radius 8. Parameter MolDock Grid 0,30A; RMSD max 2, binding pose 5, number of running 10. Parameter docking yaitu MolDock Score Grid 0,30A, MolDock Score, dan Rerank score, ketiga skor docking menunjukkan energi ikatan dalam satuan kJ/mol. Hasil docking dilakukan superimposed dengan protein yang telah dipreparasi menggunakan software PyMol (Bare et al., 2022c). Data diamati dan dianalisis dengan Discovery Studio ver 21.1.1. untuk mendapatkan tampilan 3D, 2D, dan daerah pengikatan ligand dan protein target. Energi ikatan didapatkan dari penjumlahan MolDock Score Grid, MolDock Score, dan Rerank score.

HASIL DAN PEMBAHASAN

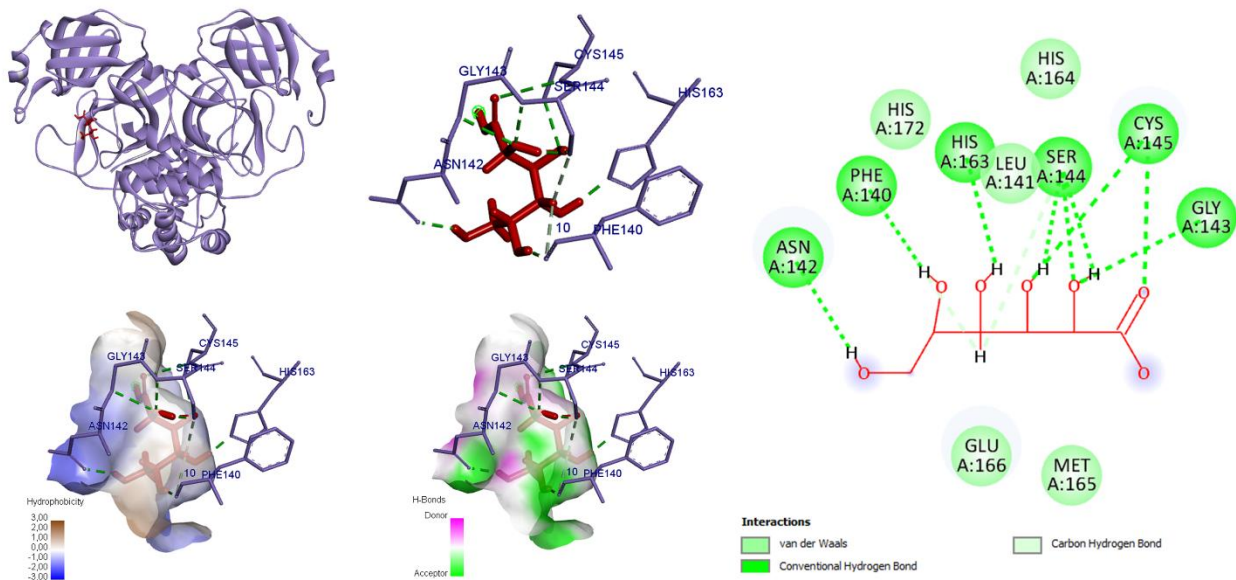
Senyawa *quinic acid* yang diinteraksikan dengan protein 3CL Protease menghasilkan beberapa jenis ikatan yang terbentuk yaitu *Hydrogen Bond* dengan tipe ikatan *conventional hydrogen bond* pada residu asam amino CYS145, SER144, HIS164, LEU141, PHE140, ikatan *Hydrophobic* jenis ikatan *Alkyl* pada residu asam amino CYS145 dan jenis ikatan *Pi-Alkyl* pada residu asam amino HIS163, dan Ikatan *Unfavorable* jenis ikatan *Unfavorable Donor-Donor* pada residu asam amino GLY143, SER144 (Gambar 1, Tabel 1). Selain itu juga ditemukan gaya *van der waals* pada residu asam amino HIS41, TYR118, ASN142, HIS172, GLU166, dan MET165 (Tabel 1, Gambar 1).

Interaksi senyawa *gluconic acid* dan 3CL Protease menghasilkan enam residu asam amino yang berikatan dengan *gluconic acid*. Keenam residu asam amino tersebut membentuk ikatan *hydrogen bond* GLY143, SER144, CYS145, HIS163, PHE140, dan ASN142, gaya *van der waals* juga terbentuk pada residu asam amino GLU166, MET165, HIS164, LEU141, dan HIS172 (Gambar 2, Tabel 1). Ikatan *hydrogen bond* jenis ikatan *conventional hydrogen bond* terbentuk pada residu asam amino GLY143, CYS145, GLU166, ikatan *Hydrophobic* jenis ikatan *Alkyl* CYS145 dan Jenis *Pi-Alkyl* residu asam amino

CYS145 dibentuk hasil dari interaksi *ferulic acid*-3CL Protease (Gambar 3, Tabel 1). Gaya *van der waals* ditemukan ada residu asam amino LEU141, ASN142, SER144, HIS163, HIS172, PHE140 (Gambar 3, Tabel 1).



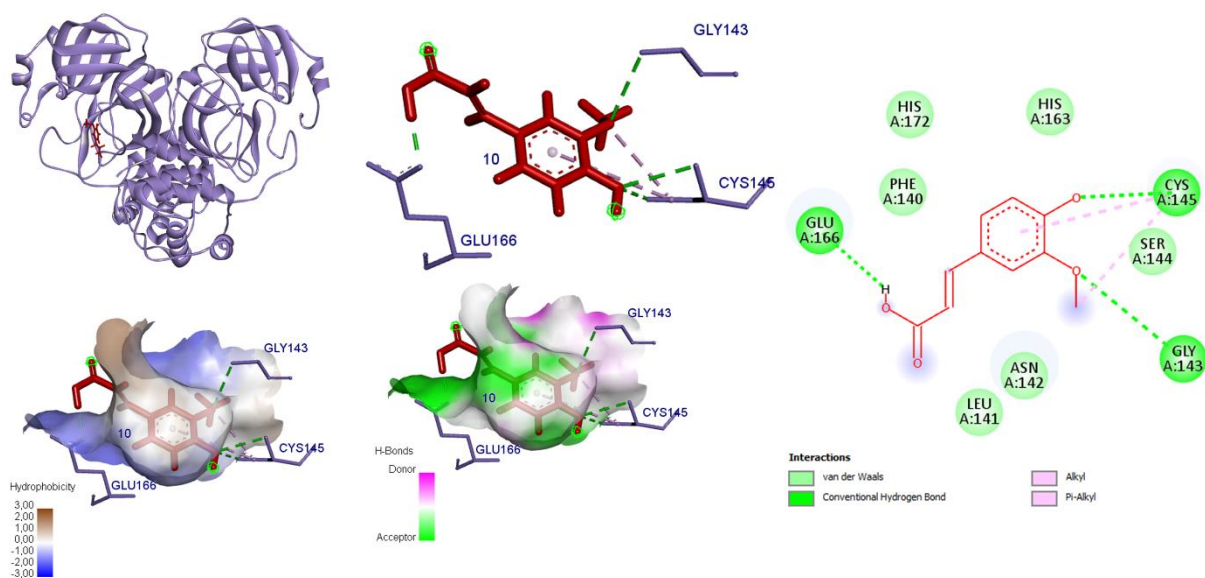
Gambar 1. Interaksi senyawa Quinic acid dengan 3CL Protease



Gambar 2. Interaksi senyawa Gluconic acid dengan 3CL Protease

Tabel 1. Interaksi Senyawa Kulit Kopi terhadap 3CL Protease

Senyawa	Interaksi	Jarak (Å)	Jenis Ikatan	Tipe Ikatan
Quinic acid	A:CYS145:N - :10:O3	3,09009	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
	A:CYS145:SG - :10:O3	3,41704	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
	A:CYS145:SG - :10:O4	2,80946	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
	:10:H8 - A:SER144:OG	1,84324	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
	:10:H9 - A:CYS145:SG	2,65756	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
	:10:H9 - A:HIS164:O	1,78142	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
	:10:H10 - A:LEU141:O	2,25179	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
	:10:H10 - A:SER144:OG	2,55396	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
	:10:H12 - A:PHE140:O	1,82859	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
	A:CYS145 - :10	4,87994	Hydrophobic	Alkyl
A:HIS163 - :10	5,05566	Hydrophobic	Pi-Alkyl	
A:GLY143:N - :10:H10	2,58797	Unfavorable	Unfavorable Donor-Donor	
A:SER144:N - :10:H10	2,21814	Unfavorable	Unfavorable Donor-Donor	
Gluconic acid	A:GLY143:N - :10:O4	2,78662	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
	A:SER144:N - :10:O4	2,52219	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
	A:CYS145:N - :10:O7	3,2013	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
	A:CYS145:SG - :10:O2	2,83833	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
	:10:H7 - A:HIS163:NE2	1,74418	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
	:10:H8 - A:SER144:OG	2,0803	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
	:10:H9 - A:PHE140:O	1,7142	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
	:10:H10 - A:SER144:OG	1,73804	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
	:10:H11 - A:ASN142:OD1	2,08691	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
	:10:H1 - A:PHE140:O	3,02507	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
Ferulic Acid	:10:H1 - A:SER144:OG	2,92546	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
	A:GLY143:N - :10:O1	3,012	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
	A:CYS145:N - :10:O2	2,95277	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
	A:CYS145:SG - :10:O2	2,57068	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
	:10:H10 - A:GLU166:OE2	1,82642	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
:10:C9 - A:CYS145	4,03055	Hydrophobic	Alkyl	
:10 - A:CYS145	5,26747	Hydrophobic	Pi-Alkyl	



Gambar 3. Interaksi senyawa Ferulic Acid dengan 3CL Protease

Ikatan *Hydrogen Bond*, *hydrophobic* dan gaya *van der waals* memberikan kontribusi terhadap masing-masing ikatan ligan-protein. Ketiga jenis ikatan memiliki fungsi untuk menguatkan serta meningkatkan stabilitas ikatan yang terbentuk (Bare et al., 2022a; 2022b; Lele, Ahmad and Bare, 2022; Nurak et al., 2022; Ujiana et al., 2022). Senyawa quinic acid merupakan cyclitol, atau polyol cyclic, asam sikloheksan karbosiklik. Senyawa quinic acid berbentuk padat dan tidak berwarna, dan dapat diekstraksi dari berbagai sumber tanaman. Senyawa quinic acid bersama kafein teresterifikasi membentuk asam klorogenat. Quinic acid pada kopi mengindikasikan adanya aroma kopi yang khas dan dilaporkan memiliki aktivitas terapi penyakit metabolic (Bare et al., 2019). Dalam penelitian ini ditemukan bahwa quinic acid memiliki aktivitas sebagai inhibitor aktivitas 3Cl-Pro. Penelitian sebelumnya Jo et al., (2020a), kelompok senyawa flavonoid, diantaranya 5 isoflavones, 1 isoflavane, 18 flavones, 16 flavonols, 7 flavanols, 7 flavanones, 4 flavanonol, 1 prenylflavonoid, dan 9 chalcones memiliki aktivitas penghambatan 3Cl Pro baik secara in vitro dan in silico. melaporkan, senyawa flavonoid seperti kaempferol, quercetin, dan rutin juga menghambat protease SARS-CoV-2 pada daerah pengikatan substrat. Senyawa polifenol seperti asam elagat, curcumin, epigallocatechin, dan resveratrol juga menghambat aktivitas 3CLpro secara in silico dan in vitro (Lee et al., 2009; Bahun et al., 2022). Senyawa *α-ketoamide and pyridone-containing drugs* juga dilaporkan menghambat 3CLPro secara in silico (Elzupir, 2020).

SIMPULAN

Senyawa yang terkandung kulit kopi yaitu *quinic acid*, *gluconic acid* maupun *ferulic acid* secara in silico mampu menghambat 3CL Protease pada sisi katalitik, yang dimungkinkan menghambat replikasi SARS-CoV-2.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Direktorat Riset, Teknologi, dan Pengabdian kepada Masyarakat, Direktorat Pendidikan Tinggi, Riset dan Teknologi

atas Pendanaan Penelitian Dosen Pemula Tahun Anggaran 2022, LLDIKTI Wilayah XV, Universitas Nusa Nipa dan LPPM Universitas Nusa Nipa yang sudah memfasilitasi sehingga rangkaian penelitian ini berjalan dengan lancar dan semua pihak yang terlibat demi kelancaran penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Ameca, G.M., Cerrilla, M.E.O., Córdoba, P.Z., Cruz, A.D., Hernández, M.S. and Haro, J.H., 2018. Chemical composition and antioxidant capacity of coffee pulp. *Ciência e Agrotecnologia*, 42(3), pp.307–313. <https://doi.org/10.1590/1413-70542018423000818>.
- Arellano-González, M.A., Ramírez-Coronel, M.A., Torres-Mancera, M.T., Pérez-Morales, G.G. and Saucedo-Castañeda, G., 2011. Antioxidant Activity of Fermented and Nonfermented Coffee (*Coffea arabica*) Pulp Extracts. *Food Technology and Biotechnology*, 49(3), p.5.
- Bahun, M., Jukić, M., Oblak, D., Kranjc, L., Bajc, G., Butala, M., Bozovičar, K., Bratkovič, T., Podlipnik, Č. and Poklar Ulrih, N., 2022. Inhibition of the SARS-CoV-2 3CL(pro) main protease by plant polyphenols. *Food chemistry*, 373(Pt B), pp.131594–131594. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131594>.
- Bare, Y., Kuki, A.D., Rophi, A.H. and Candrakirana, G., 2019. Prediksi Asam Kuinat Sebagai Anti-Inflamasi Terhadap COX-2 Secara Virtual Virtual Prediction of Quinic Acid As Anti-Inflammation of COX-2. *Biota: Jurnal Ilmu Ilmu Hayati*, 4(3), pp.124–129. <https://doi.org/10.24002/biota.v4i3.2516>.
- Bare, Y., Sari, D.R.T., Mogi, M.C. and Nurak, M.M.D., 2022a. Senyawa Fucodiphloretol Dan Phloroglucinol Alga Coklat Sebagai Inhibitor Lipase Secara In Silico. *Florea: Jurnal Biologi dan Pembelajarannya*, 9(1), p.7. <https://doi.org/10.25273/florea.v9i1.11743>.
- Bare, Y., Sari, D.R.T., Ujiana, W.O., Ra' o, P.Y.S. and Pada, K., 2022b. Repurposing Of 6-Paradol as an Alternative Herbal Medicine For Alzheimer Disease. *Medical Sains : Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, 7(2), pp.1–8. <https://doi.org/10.37874/ms.v7i2.289>.

- Bare, Y., Timba, F.N.S., Nurak, M.M.D. and Mogi, M.C., 2022c. Eksplorasi Senyawa Kulit Kopi sebagai Anti Covid-19 Melalui Penghambatan 3C-Like Protease. *JURNAL PENDIDIKAN MIPA*, 12(2), pp.127–133. <https://doi.org/10.37630/jpm.v12i2.563>.
- Bare, Y., Timba, F.N.S., Putra, S.H.J., Nirmalasari, M.A.Y., Sari, D.R.T. and Taek, M.M., 2022d. Kajian Senyawa Hexose dan Malic Acid Sebagai Inhibitor Papain Like Protease (PLPro) CORONA VIRUS. *JURNAL BIOSENSE*, 05(01), p.10. <https://doi.org/10.36526/biosense.v5i01.1997>.
- Bitencourt-Ferreira, G. and de Azevedo, W.F.J., 2019. Molegro Virtual Docker for Docking. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)*, 2053, pp.149–167. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9752-7_10.
- Duangjai, A., Suphrom, N., Wungrath, J., Ontawong, A., Nuengchamngong, N. and Yosboonruang, A., 2016. Comparison of antioxidant, antimicrobial activities and chemical profiles of three coffee (*Coffea arabica* L.) pulp aqueous extracts. *Integrative Medicine Research*, 5(4), pp.324–331. <https://doi.org/10.1016/j.imr.2016.09.001>.
- Elzupir, A.O., 2020. Inhibition of SARS-CoV-2 main protease 3CLpro by means of α -ketoamide and pyridone-containing pharmaceuticals using in silico molecular docking. *Journal of Molecular Structure*, 1222, p.128878. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2020.128878>.
- Farah, A. and Donangelo, C.M., 2006. Phenolic compounds in coffee. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 18(1), pp.23–36. <https://doi.org/10.1590/S1677-04202006000100003>.
- Gottstein, V., Bernhardt, M., Dilger, E., Keller, J., Breitling-Utzmann, C.M., Schwarz, S., Kuballa, T., Lachenmeier, D.W. and Bunzel, M., 2021. Coffee Silver Skin: Chemical Characterization with Special Consideration of Dietary Fiber and Heat-Induced Contaminants. *Foods*, 10(8), p.1705. <https://doi.org/10.3390/foods10081705>.
- Inbathamizh, L. and Padmini, E., 2013. QUINIC ACID AS A POTENT DRUG CANDIDATE FOR PROSTATE CANCER – A COMPARATIVE PHARMACOKINETIC APPROACH. 6(4), p.7. <https://doi.org/10.1111/cbdd.12498>.
- Jo, S., Kim, S., Shin, D.H. and Kim, M.S., 2020b. Inhibition of SARS-CoV 3CL protease by flavonoids. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 35(1), pp.145–151. <https://doi.org/10.1080/14756366.2019.1690480>.
- Lee, C.-C., Kuo, C.-J., Ko, T.-P., Hsu, M.-F., Tsui, Y.-C., Chang, S.-C., Yang, S., Chen, S.-J., Chen, H.-C., Hsu, M.-C., Shih, S.-R., Liang, P.-H. and Wang, A.H.-J., 2009. Structural Basis of Inhibition Specificities of 3C and 3C-like Proteases by Zinc-coordinating and Peptidomimetic Compounds. *Journal of Biological Chemistry*, 284(12), pp.7646–7655. <https://doi.org/10.1074/jbc.M807947200>.
- Lele, M.N.E., Ahmad, N.I. and Bare, Y., 2022. Molecular Interaction Analysis of Homodihydrocapsaicin as COX-2 Inhibitor. *Spizaetus: Jurnal Biologi dan Pendidikan Biologi*, 3(2), p.36. <https://doi.org/10.55241/spibio.v3i2.63>.
- Murthy, P.S. and Madhava Naidu, M., 2012. Sustainable management of coffee industry by-products and value addition—A review. *Resources, Conservation and Recycling*, 66, pp.45–58. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2012.06.005>.
- Nurak, M.M.D., Lute, M.A., Eci, M.N. and Bare, Y., 2022. Potential of *Sechium edule* as Hypertensive Therapy: In Silico Study. *Spizaetus: Jurnal Biologi dan Pendidikan Biologi*, 3(2), p.10. <https://doi.org/10.55241/spibio.v3i2.60>.
- Ujjana, W.O., Meak, L.E.C., Hiko, M.F. and Bare, Y., 2022. Potential of Triterpenoid Compounds in *Sauropus androgynus* L Merr as In Silico Inhibitor of Obesity. *Spizaetus: Jurnal Biologi dan Pendidikan Biologi*, 3(2), p.43. <https://doi.org/10.55241/spibio.v3i2.64>.