



Potential Inhibition of Twenty Natural Compound From Marine Algae Against Main Protease (*Mpro*) Sars-CoV-2 and Human Maltase-Glucoamylase: A Preliminary In Silico Study

Retno Tri Astuti^{1*}, Angga Wira Perdana¹, Bayu Kusuma¹, Hefti Salis Yufidasari¹, Adhitya Bhawiyuga², Anastasia Aliesa Hermosaningtyas³

¹Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Jl. Veteran No.16, Malang 553512, Indonesia

²Fakultas Ilmu Komputer, Universitas Brawijaya, Jl. Veteran No.16, Malang 553512, Indonesia

³Laboratory of Pharmaceutical Biology and Biotechnology, Poznan University of Medical Science, 3 Rotkietnicka St., Poznan 60-801, Poland

*Corresponding Author: retnoastuti@ub.ac.id

ABSTRACT

For over two years, the world has been battling the devastating Coronavirus Disease-2019 (COVID-19), a highly infectious disease caused by SARS-CoV-2 virus. Even though vaccination has shown rapid progress, another way of treatment and prevention is still very much needed, considering the massive spread of the virus. The severity of the symptoms, the time onset of the symptoms to death and death rate may vary, affected by the patient's age, immune condition and comorbidities, such as hypertension and diabetes. This study was designed to identify the potential binding activity of twenty compounds from marine algae against SARS-CoV-2 main protease and human maltase-glucoamylase, a receptor related to diabetes, using in silico approach. Out of twenty compounds, kappa carrageenan, β -carotene, and astaxanthin showed potential activity against the main protease employing the blind docking method. The top three compounds were subjected to docking against the active site of the main protease only, resulting in astaxanthin (-8.3 kcal/mol) followed by kappa-carrageenan (-8 kcal/mol) as the most potential ligand. On the other hand, quercetin (-9.1 kcal/mol) and kappa-carrageenan (-8.9 kcal/mol) showed the best docking score against human maltase-glucoamylase. The binding mode of each potential compound was visualized using the Discovery Studio Visualizer software. This study provides the potential compound as per the docking method. Further analysis such as dynamics simulation, in vitro and in vivo studies are needed to examine the potential use of these compounds as COVID-19 treatment and or supplement within COVID-19 pandemic, especially for people with diabetes.

Keywords: Human Maltase-Glucoamylase, Main Protease, Marine Algae, Molecular Docking, SARS-CoV-2.

ABSTRAK

Selama lebih dari dua tahun, dunia telah berjuang melawan Coronavirus Disease-2019 (COVID-19) penyakit sangat menular yang disebabkan oleh virus SARS-CoV-2 dan telah merugikan tidak hanya secara kesehatan tetapi juga banyak hal dalam tatanan hidup masyarakat. Meskipun vaksinasi menunjukkan kemajuan yang pesat, cara pengobatan dan pencegahan lain masih sangat dibutuhkan, mengingat penyebaran virus yang begitu masif. Tingkat keparahan gejala, waktu timbulnya gejala hingga kematian dan tingkat kematian dapat bervariasi, dipengaruhi oleh usia pasien, kondisi kekebalan dan penyakit penyerta, seperti hipertensi dan diabetes. Penelitian ini dirancang untuk mengidentifikasi potensi aktivitas pengikatan dua puluh senyawa dari alga laut terhadap protease utama

SARS-CoV-2 dan maltase-glukoamilase manusia, reseptor yang terkait dengan diabetes, dengan menggunakan pendekatan *in silico*. Dari dua puluh senyawa, kappa karagenan, -karoten, dan astaxanthin menunjukkan aktivitas potensial terhadap protease utama menggunakan metode blind docking. Tiga senyawa teratas mengalami docking terhadap situs aktif protease utama saja, menghasilkan astaxanthin (-8,3 kkal/mol) diikuti oleh kappa-karagenan (-8 kkal/mol) sebagai ligan paling potensial. Sedangkan kuersetin (-9,1 kkal/mol) dan kappa-karagenan (-8,9 kkal/mol) menunjukkan nilai docking terbaik terhadap maltase-glukoamilase manusia. Modus pengikatan setiap senyawa potensial divisualisasikan menggunakan perangkat lunak Discovery Studio Visualizer. Studi ini memberikan senyawa potensial sesuai dengan metode docking. Analisis lebih lanjut seperti simulasi dinamika, studi *in vitro* dan *in vivo* diperlukan untuk mengkaji potensi penggunaan senyawa ini sebagai pengobatan dan atau suplemen COVID-19 dalam pandemi COVID-19, terutama bagi penderita diabetes.

Kata Kunci : Maltase-Glucoamylase Manusia, *Main Protease*, Alga, Penambatan Molekuler, SARS-CoV-2.

PENDAHULUAN

Coronavirus disease 2019 (COVID-19) adalah penyakit pernapasan akut yang disebabkan oleh virus *severe acute respiratory syndrome coronavirus-2* (SARSCoV-2). Sejak kasus pertama dikonfirmasi di kota Wuhan, Cina, penyakit ini menyebar dengan cepat ke berbagai negara di dunia. Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) menyatakan COVID-19 sebagai darurat kesehatan masyarakat pada 30 Januari 2020, dan diputuskan sebagai pandemi pada 11 Maret 2020 [1].

Menurut laporan situasi COVID-19 tanggal 24 November 2021, total lebih dari 250 juta kasus telah terkonfirmasi dan mengakibatkan kematian lebih dari 5 juta orang di seluruh dunia [1]. Sementara itu, data pada tanggal yang sama menunjukkan lebih dari 4 juta kasus telah terkonfirmasi di Indonesia [2].

Keparahan gejala, waktu munculnya gejala hingga kasus kematian dapat bervariasi tergantung pada umur pasien, kondisi ketahanan tubuh dan penyakit penyerta. Studi pada kasus-kasus yang terjadi menunjukkan kecenderungan beberapa kondisi yang meningkatkan kemungkinan infeksi dan resiko gejala yang lebih parah. Orang berusia lanjut, atau orang di semua umur dengan kondisi penyakit penyerta memiliki resiko yang lebih tinggi. Penyakit penyerta yang umum ditemukan pada kasus ini salah satunya adalah tekanan darah tinggi dan diabetes [3, 4].

Pada tahun 2015, Indonesia merupakan negara dengan prevalensi penderita diabetes nomor 7 di dunia [5]. Akan tetapi, persentase kematian yang diakibatkan oleh diabetes di Indonesia adalah peringkat kedua tertinggi di dunia. Diabetes dengan komplikasi adalah salah satu penyebab kematian

terbanyak di Indonesia (6.7%), setelah stroke (21.1%) dan penyakit jantung koroner (12.7%) [6].

Selama lebih dari dua tahun, dunia berfokus pada upaya untuk mengatasi penyakit COVID-19 dengan berbagai cara. Pengembangan vaksin dan pelaksanaan secara massal menunjukkan progress yang baik diberbagai negara. Meskipun demikian, penyebaran virus yang sangat masif, komplikasi serta pola mutasi virus masih menjadi ancaman. Ditambah lagi, hingga saat ini, belum ada kepastian obat yang terbukti bekerja secara efektif untuk mencegah maupun mengobati infeksi SARS-CoV-2.

Virus SARS-CoV-2 merupakan virus RNA utas tunggal. Genom virus tersebut berukuran 29.9 kb yang membawa 11 ORF (*open reading frames*). ORF 1a dan 1b pada bagian ujung 5' masing-masing menyandikan polipeptida pp1a dan pp1b [7], yang selanjutnya akan mengalami pemotongan menjadi 16 protein non-struktural (nsp 1-16). Setidaknya dua protein terlibat dalam proses tersebut yaitu *RNA-Dependent RNAPolymerase/RdRp* dan *3C-like protease/main protease (M^{pro})* [8].

Main protease bekerja dengan memotong setidaknya sebelas titik pengenalan pada poliprotein yang penting untuk maturasi dan propagasi virus. Inhibisi *M^{pro}* akan menghentikan replikasi virus SARS-CoV-2. Oleh karena itu, *M^{pro}* menjadi salah satu target yang menjanjikan dalam pengendalian virus SARS-CoV-2 [9]. Struktur dan karakteristik *M^{pro}* telah dikaji secara ekstensif dan tersedia informasi yang cukup lengkap pada database RCSB [10]. Selain itu, *M^{pro}* memiliki sekuen yang lestari diantara varian CoV dan tidak menunjukkan homologi yang erat dengan protein pada manusia, sehingga penghambatannya kemungkinan besar tidak akan mengganggu aktivitas sel manusia [11].

Dalam upaya penemuan senyawa obat, eksplorasi dan produksi bioaktif dari organisme laut menarik perhatian dalam beberapa tahun terakhir. Lautan sebagai ekosistem yang sangat luas menampung berbagai macam organisme yang menawarkan keanekaragaman senyawa yang secara biologi dan kimia memiliki metabolisme yang tak tertandingi dalam sistem terestrial. Organisme laut menjadi sumber yang berlimpah dalam penemuan dan prospeksi senyawa obat misalnya antivirus untuk HIV-1, RSV (*respiratory syncytial virus*) dan hepatitis [12].

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui potensi dua puluh senyawa dari alga dalam menghambat replikasi virus SARS-CoV2 dan *Human Maltase-Glucoamylase*, sebuah reseptor protein yang berkaitan dengan diabetes, secara *in silico*. Senyawa-senyawa yang potensial pada tahap pengujian ini dapat diinvestigasi dengan pengujian *in silico* lanjutan, *in vitro* ataupun *in vivo* untuk melihat potensinya dalam pengobatan COVID-19 dan atau suplemen dalam masa pandemi COVID-19, khususnya bagi penderita diabetes.

METODE

Alat dan Bahan

Penelitian ini menggunakan software *Autodock Vina* 1.2.0 untuk analisis penambatan molekuler, *Visual Molecular Dynamics* (VMD) 1.9.3, *PyMOL* 2.0 dan *Autodock tools* untuk preparasi reseptor dan ligan, serta analisis hasil penambatan. Perangkat keras yang digunakan berupa komputer dengan spesifikasi RAM (*Random Access Memory*) 16 *gigabyte* dengan *Quad Core Processor* (Intel® Core™, Amerika), *Graphic Card* NVIDIA Ge Force GT 9400 (Taiwan), dan sistem operasi *Microsoft Windows 7* (Microsoft, Amerika Serikat).

Penelusuran Struktur Molekul Ligan dan Protein

Struktur kristal tiga dimensi sinar-X *main protease* SARS-CoV-2 dan *human maltase-glucoamylase* diperoleh dari database protein RSCB (<http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>) dan disimpan dalam format *.pdb*. Ligan yang digunakan dalam penelitian ini adalah senyawa bioaktif alga laut dari spesies yang banyak ditemukan di Indonesia yang dikumpulkan dari data literatur. Struktur 2D atau 3D masing-masing senyawa diunduh dari

database *PubChem* (<https://pub-chem.ncbi.nlm.nih.gov>).

Preparasi Reseptor dan Ligan

Preparasi dilakukan menggunakan perangkat lunak *PyMOL*. Reseptor dipisahkan dari molekul air/pelarut dan *native ligand*. Hasil pemisahan disimpan dalam format *.pdb*. Preparasi ligan diawali dengan merubah format ligan dari *.sdf* menjadi format *.pdb*. Baik reseptor maupun ligan selanjutnya disimpan dalam format file *.pdbqt*.

Analisis Penambatan Molekuler

Analisis penambatan molekuler untuk 20 senyawa ligan dilakukan masing-masing terhadap *main protease* SARS-CoV-2 dan *human maltase-glucoamylase* secara blind docking. Analisis penambatan dilakukan dengan perangkat lunak *AutoDock Vina* (<http://vina.scripps.edu>) [13]. Penambatan pertama dilakukan secara rigid terhadap masing-masing protein secara utuh (*blind docking*) menggunakan parameter *default* (*maximize grid box*).

Proses penambatan dilakukan dengan pengulangan 9 kali untuk masing-masing ligan. Setelah proses selesai, perangkat lunak akan menampilkan hasil berupa mode ikatan beserta nilai ikatan (kcal/mol). Evaluasi potensi inhibitor didasarkan pada nilai penambatan, *mode* dan posisi penambatan ligan terhadap protein uji [14].

Lima ligan dengan afinitas pengikatan (*binding affinity*) terendah pada *blind docking* disimulasikan penambatannya pada area sisi aktif 6LU7. Analisis dijalankan sesuai protokol yang tertulis di atas, dengan pengecualian pada penentuan *grid box*. Pada analisis *docking* kedua, penentuan nilai *grid box* dilakukan sebagai batasan/frame penambatan ligan hanya pada sisi aktif reseptor.

Analisis dan Visualisasi Hasil Penambatan

Hasil yang diperoleh akan dianalisis lebih lanjut menggunakan perangkat lunak *PyMOL* dan *Discovery Studio*. Interaksi ligan-protein akan disimulasikan dalam bentuk 3D dan 2D. Analisis dilakukan dengan mempertimbangkan parameter berupa energi bebas gibbs, RMSD, interaksi hidrofobi dan ikatan hidrogen.

Analisis penambatan pertama dilakukan dengan metode *blind docking*. Analisis *blind docking* memungkinkan penambatan ligan pada keseluruhan sisi protein, termasuk area sisi aktif maupun di luar

sisi aktif tanpa memaksakan penambatan hanya pada sisi aktif enzim. Hal ini dilakukan untuk mengetahui afinitas alami dan kecenderungan penambatan ligan pada protein uji.

HASIL PENELITIAN

Protein yang digunakan dalam penelitian ini diunduh dari database dan dipreparasi untuk memperoleh struktur protein tanpa ligan dan air. Ikatan hidrogen polar ditambahkan dan dilakukan merger. Struktur *M^{pro}* SARS-CoV-2 yang digunakan adalah struktur dengan ID PDB 6LU7, dan *human maltase-glucoamylase* dengan ID PDB 2QMJ. Protein 6LU7 dipisahkan dari *native ligand* nya yaitu inhibitor N3, sedangkan protein 2QMJ dipisahkan dari *native ligand*nya yaitu *acarbose*. Informasi mengenai protein 6LU7 dan 2QMJ, penyakit terkait untuk masing-masing protein, serta struktur tiga dimensi kedua protein tersebut dirangkum pada Tabel 1.

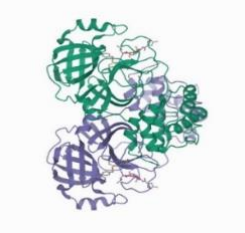

Tabel 2 menunjukkan hasil perhitungan nilai penambatan masing-masing senyawa terhadap 6LU7 dan 2QMJ. *Kappa Carrageenan* (-9kcal/mol) diprediksi memiliki nilai penambatan tertinggi terhadap 6LU7 pada pengujian *blind docking*, diikuti *β-carotene* (-7.9kcal/mol) dan *astaxanthin* (-7.7 kcal/mol). Pada reseptor 2QMJ yang berkaitan dengan penyakit diabetes, *quercetin* (-9.1 kcal/mol)

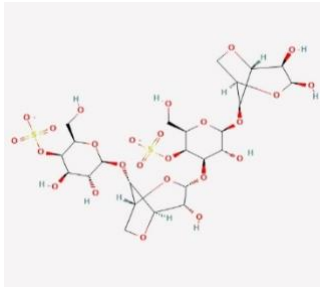
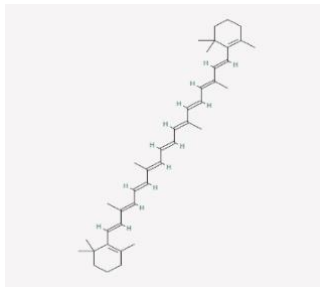
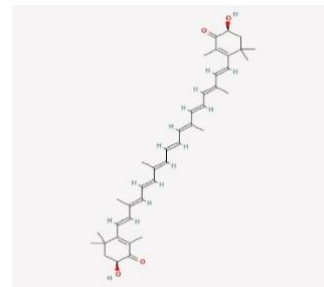
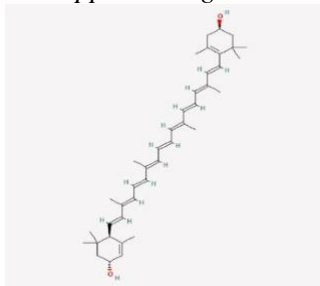
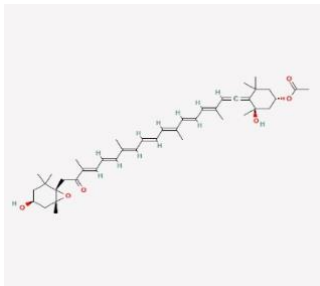
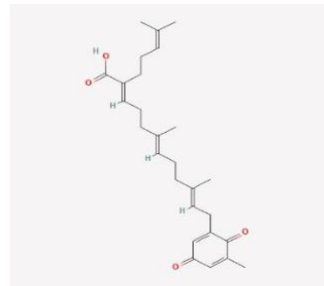
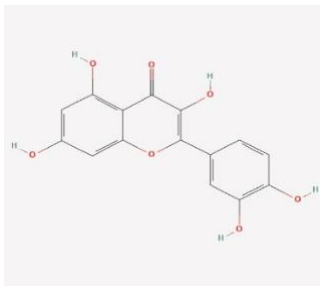
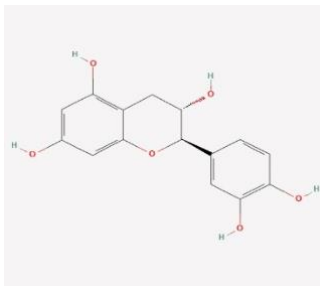
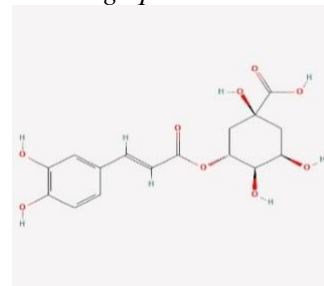
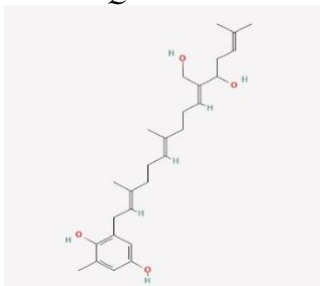
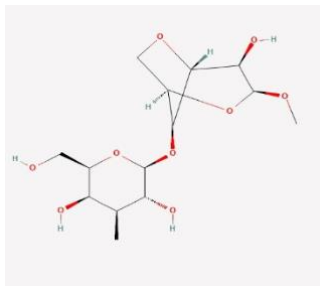
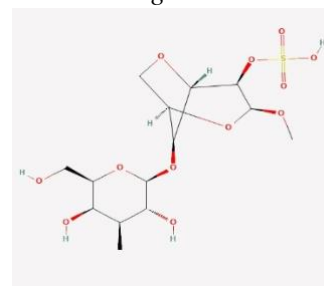
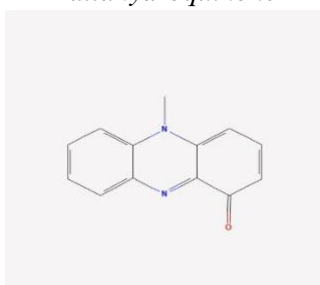
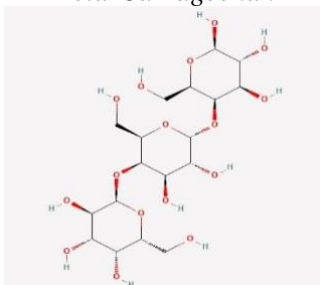
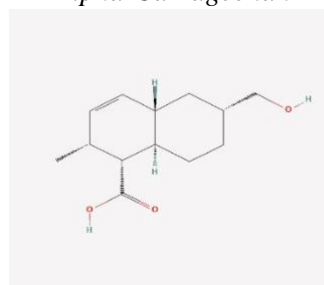
memiliki nilai afinitas pengikatan terendah, diikuti *kappa-carrageenan* (-8.9 kcal/mol) dan *catechin* (-8.2 kcal/mol).

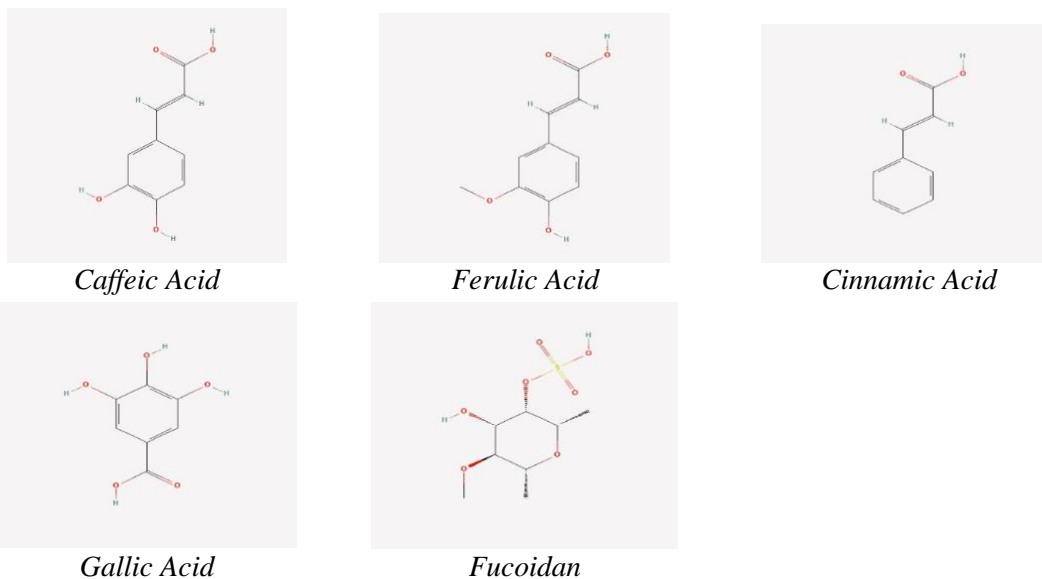
Pada analisis penambatan senyawa alga laut dengan sisi aktif *main protease* SARS-CoV-2 (6LU7), didapatkan senyawa *astaxanthin* (-8.3 kcal/mol), *kappa-carrageenan* (-8 kcal/mol), dan *beta karoten* (-6.7 kcal/mol) memiliki nilai afinitas pengikatan tertinggi (Tabel 3). Inhibitor N3 digunakan sebagai kontrol pada analisis penambatan molekuler.

Sebagaimana ditampilkan pada Gambar 2B, senyawa *kappa-carrageenan* membentuk interaksi polar dengan sisi aktif *main protease* SARS-CoV-2 melalui ikatan hydrogen dengan asam amino treonin (thr25 dan thr 45), serin (ser46 dan ser144), asparagin (asn143), dan glutamin (gln189).

Berdasarkan visualisasi dua dimensi penambatan senyawa *astaxanthin* pada *native ligand main protease* SARS-CoV-2, dapat dilihat bahwa interaksi Pi-alkil mendominasi (berikatan dengan Leu27, Met49, His41, Cys145, Met165, Pro168, dan Ala19) dan hanya terdapat satu ikatan hydrogen yang mengikat senyawa *astaxanthin* pada sisi aktif *main protease* (Thr24) (Gambar 2C). Sementara itu, hanya interaksi Pi-Sigma dan Pi-Alkyl yang menghubungkan antara ligan dengan protein melalui Leu27, His41, Met49, Cys145, His163, Leu141, dan Tyr118 (Gambar 2D).

Protein ID	Nama Protein	Penyakit terkait	Struktur molekul
6LU7	<i>Main protease</i> Virus SARS-CoV2	COVID-19	
2QMJ	<i>Human Maltase-Glucoamylase</i>	Diabetes	

*Kappa-Carrageenan**Beta-Carotene**Astaxanthin**Lutein**Fucoxanthin**Sargaquinoic Acid**Quercetin**Catechin**Chlorogenic Acid**Fallahydroquinone**Beta-Carrageenan**Alpha-Carrageenan**Pyocyanin**Beta-Galactan**Apiosporic Acid*



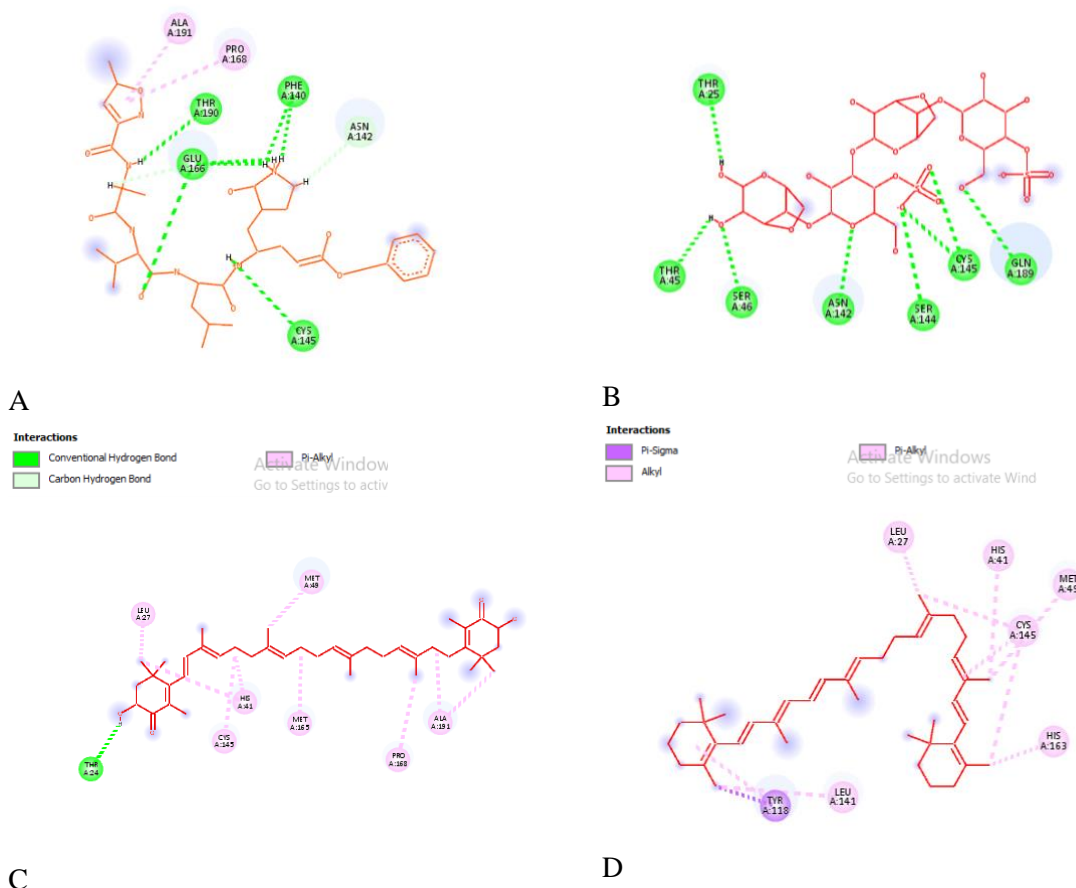
Gambar 1. Struktur dua puluh senyawa dari alga laut yang berinteraksi dengan ligan [16]

Tabel 2. Hasil analisis penambatan molekuler dua puluh senyawa ligan terhadap *main protease* SARS-CoV-2 (6LU7) dan *human maltase-glucoamylase* (2QMJ)

Nama Ligand	Afinitas pengikatan (kcal/mol)	
	6LU7	2QMJ
<i>Kappa-Carrageenan</i>	-9	-8.9
<i>Beta-Carotene</i>	-7.9	-7.3
<i>Astaxanthin</i>	-7.7	-7.6
<i>Lutein</i>	-7.7	-7.7
<i>Fucoxanthin</i>	-7.5	-8
<i>Sargaquinoic Acid</i>	-7.3	-6
<i>Quercetin</i>	-7.2	-9.1
<i>Catechin</i>	-7	-8.2
<i>Chlorogenic Acid</i>	-7	-7.4
<i>Fallahydroquinone</i>	-6.7	-7.3
<i>Beta-Carrageenan</i>	-6.4	-6.7
<i>Alpha-Carrageenan</i>	-6.3	-7
<i>Pyocyanin</i>	-6.3	-7.2
<i>Beta-Galactan</i>	-6.2	-8.3
<i>Apiosporic Acid</i>	-5.9	-7
<i>Caffeic Acid</i>	-5.9	-7.1
<i>Ferulic Acid</i>	-5.7	-6.9
<i>Cinnamic Acid</i>	-5.6	-6.6
<i>Gallic Acid</i>	-5.4	-6
<i>Fucoidan</i>	-5.2	-5.9

Tabel 3. Hasil analisis penambatan molekuler tiga ligan dengan afinitas pengikatan tertinggi terhadap sisi aktif *main protease* SARS-CoV-2

ID Ligand	Nama Ligand	Afinitas pengikatan (kcal/mol)
InhibitorN3	Inhibitor N3	-12.2
5281224	<i>Astaxanthin</i>	-8.3
11966249	<i>Kappa Carrageenan</i>	-8
5280489	<i>Beta caroten (Spirulina)</i>	-6.7



Gambar 2. Mode dua dimensi pengikatan *native ligand* (A), *kappa carrageenan* (B), *astaxanthin* (C) dan β -*carotene* (D) pada daerah sisi aktif *main protease* SARS-CoV-2. Ikatan hidrogen ditampilkan sebagai garis putus-putus hijau, sedangkan interaksi -alkil dan Pi Sigma masing-masing ditampilkan dalam warna ungu muda dan ungu tua.

PEMBAHASAN

Analisis penambatan molekuler merupakan salah satu metode yang umum digunakan untuk menghitung afinitas penambatan melalui pendekatan

interaksi non-kovalen protein-ligan seperti ikatan hidrogen, van der Waals dan elektrostatis. Perangkat lunak *Autodock Vina* menghitung energi bebas Gibbs dari penambatan (ΔG) dimana prediksi penambatan

akan dinyatakan dalam nilai penambatan (*docking scores*) [13].

Dari hasil perhitungan afinitas pengikatan, *kappa carrageenan* memiliki nilai terendah pada penambatan terhadap protein 6LU7 dan kedua terendah pada penambatan 2QMJ. Meskipun demikian, visualisasi hasil penambatan menunjukkan penambatan ligand terjadi pada berbagai posisi pada protein uji.

Untuk mengetahui penambatan ligand pada sisi aktif main protease SARS-CoV2, dilakukan analisis penambatan terbatas hanya pada sisi aktif enzim. Penambatan pada area sisi aktif main protease menunjukkan *astaxanthin* memiliki nilai penambatan tertinggi (-8.3 Kcal/mol) diikuti *kappa carrageenan* dan β -carotene.

Daerah situs pengikatan M^{pro} diprediksi berlokasi pada *Cys-145* dan *His-41* [17]. Ligan yang berikatan dengan sisi aktif reseptor berpotensi secara signifikan menghambat aktivitas reseptor terkait. Visualisasi menunjukkan pengikatan ketiga ligand pada *Cys-145* dengan tipe ikatan yang berbeda. Dibandingkan dengan inhibitor N3, penambatan *astaxanthin* sebagian terjadi pada posisi yang sama, misalnya pada *Ala-191* dan *Cys-145*. Sedangkan pada *kappa carrageenan*, ikatan pada situs yang sama terlihat pada *Cys-145* dan *Asn-142* (Gambar 2).

Astaxanthin menunjukkan potensi penambatan terbaik terhadap M^{pro} pada uji yang dibatasi pada sisi aktif, tetapi dengan potensi yang lebih rendah terhadap reseptor *maltase-glucoamylase*. Disisi lain, *kappa-carrageenan* menunjukkan potensinya dalam menghambat kedua protein uji.

Kappa-carrageenan, seperti halnya *fucoidan*, merupakan senyawa golongan *sulfated polysaccharides* yang berasal dari alga. Senyawa golongan ini dilaporkan menunjukkan aktivitas antivirus dengan cara menghambat pengikatan virus terhadap sel target sehingga replikasi virus tidak terjadi [18]. Lebih lanjut, senyawa-senyawa *carrageenan* menunjukkan kemampuan antivirus rentang luas misalnya terhadap virus herpes simplex, hepatitis A dan *dengue* [19]. Studi awal pemberian *kappa-carrageenan* pada tikus putih Wistar R (*Ratus norvegicus*) yang mengalami diabetes, menunjukkan penurunan kadar glukosa darah [20].

Temuan studi *in silico* ini membuktikan adanya potensi sifat antivirus dari *astaxanthin* dan *kappa-carrageenan* terhadap main protease SARS-CoV-2 karena interaksinya yang menjanjikan. Lebih lanjut, aktivitas penambatan *kappa-carrageenan* pada

protein *maltase-glucoamylase* menarik untuk diinvestigasi sebagai obat dan atau suplemen COVID-19 di masa pandemi terutama pada konsumen dengan kondisi diabetes. Langkah awal identifikasi senyawa potensial dari analisis penambatan molekuler memberikan pandangan yang berharga untuk dianalisis lebih lanjut dengan pemodelan *in silico* lanjut, studi *in vitro* dan *in vivo*.

KESIMPULAN

Analisis penambatan terhadap dua puluh senyawa dari database alga laut telah dilakukan. Penambatan pada area sisi aktif main protease menunjukkan *astaxanthin* memiliki potensi penambatan tertinggi diikuti *kappa carrageenan* dan β -carotene. *Kappa carrageenan* menunjukkan potensi terbaik dalam penghambatan terhadap M^{pro} sekaligus *maltase-glucoamylase*. Hasil penambatan molekuler merupakan studi awal dalam proses penemuan obat (*drug discovery*). Investigasi lebih lanjut diperlukan untuk mengetahui interaksi dan menetapkan potensi penggunaannya sebagai obat atau suplemen pada pandemi COVID-19.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Universitas Brawijaya (LPPM UB) yang telah mendanai penelitian melalui skema Hibah *Covid Integrated Research 2*.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] WHO. WHO Coronavirus Disease (COVID-19) Dashboard.
- [2] Data Sebaran Perkembangan COVID-19. <https://covid19.go.id/>
- [3] Singh AK, Gupta R, Ghosh A and Misra A. Diabetes in COVID-19: Prevalence, pathophysiology, Prognosis and Practical Considerations. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews*. 2020; 303-310. <https://doi.org/10.1016/j.dsx.2020.04.004>
- [4] Zhou F, Yu T, Du R, Fan G, Liu F, *et al*. Clinical Course and Risk Factors for Mortality of Adult Inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: A Retrospective Cohort Study. *Lancet* 2020; 395(10229): 1054–62.

- [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30566-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30566-3)
- [5] International Diabetes Federation. 2015. IDF Diabetes Atlas Seventh Edition 2015
- [6] Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. <https://www.kemkes.go.id/>
- [7] Oude Munnink, B.B., Nieuwenhuijse, D.F., Stein, M. *et al.* Rapid SARS-CoV-2 Whole-Genome Sequencing and Analysis for Informed Public Health Decision-Making in the Netherlands. *Nat Med.* 2020; 26:1405–1410. <https://doi.org/10.1038/s41591-020-0997-y>
- [8] Mirza MU, Froeyen M. Structural Elucidation of SARS-CoV-2 Vital Proteins: Computational Methods Reveal Potential Drug Candidates Against Main Protease, Nsp12 Oolymerase and Nsp13 Helicase. *J Pharm Anal.*2020; 10(4):320–328. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2020.04.008>
- [9] Cui W, Yang K and Yang H. Recent Progress in the Drug Development Targeting SARS-CoV-2 Main Protease as Treatment. *Front. Mol. Biosci.* 2020;7:1-10. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2020.616341>
- [10] Jin, Z., Du, X., Xu, Y., Deng, Y., Liu, M., Zhao, Y., et al. Structure of M(pro) from SARS-CoV-2 and Discovery of Its Inhibitors. *Nature.*2020;582:289–293. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2223-y>
- [11] Yang H, Bartlam M, and Rao Z. Drug design targeting the Main Protease, the Achilles Heel of Coronaviruses. *Curr. Pharm. Des.* 2006;12:4573–4590. doi: 10.2174/138161206779010369
- [12] Mayer AMS, Rodriguez AD, Taglialatela-Scafati O and Fusetani N. Marine Pharmacology in 2009-2011: Marine Compounds with Antibacterial, antidiabetic, Antifungal, Anti-Inflammatory, Antiprotozoal, Antituberculosis, and Antiviral Activities; Affecting the Immune and Nervous Systems, and Other Miscellaneous Mechanisms of Action. *Marine Drugs.* 2013;11(7), 2510–2573. <https://doi.org/10.3390/md11072510>
- [13] Oleg Trott, Arthur J., AutoDock Vina: Improving the Speed and Accuracy of Docking with A New Scoring Function, Efficient Optimization, and Multithreading, *J. Comput. Chem.* 2010;31(2):455–461, <https://doi.org/10.1002/jcc.21334>.
- [14] Zhang L, Lin D, Sun X, Curth U, Drosten C, et al. Crystal Structure of SARS-CoV-2 Main Protease Provides A Basis for Design of Improved α -ketoamide Inhibitors. *Science.* 2020;368 (6489):409-412. <http://dx.doi.org/10.1126/science.abb3405>
- [15] <http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>
- [16] <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>
- [17] Qamar MT, Alqahtani SM, Alamri MA and Chen L. Structural Basis of SARS-CoV-2 3CLpro and Anti-COVID-19 Drug Discovery from Medicinal Plants. *Journal of Pharmaceutical Analysis.* 2020;10(4):313–319 <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2020.03.009>
- [18] Baba M., Schols D, De Clercq E, Pauwels R., et al. Novel Sulfated Polymers as Highly Potent and Selective Inhibitors of Human Immunodeficiency Virus Replication and Giant Cell Formation. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy,* 34(1), 134–138. <https://doi.org/10.1128/AAC.34.1.134>
- [19] Eccles R. Iota-carrageenan as An Antiviral Treatment for The Common Cold. *The Open Virology Journal.* 2020;14(1):9–15. <https://doi.org/10.2174/187435790201401009>
- [20] Hardoko. Pengaruh Konsumsi Kappa-Karagenan terhadap Glukosa Darah Tikus Wistar (Ratus norvegicus) Diabetes. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan.* 2006;XVII(1):67-75