

MAKALAH BIOTEKNOLOGI *DRUG DELIVERY SYSTEM*

**LIPOSOM SENYAWA FLAVONOID SEBAGAI ANTIVIRAL
SARS-CoV-2**



Benedikta Diah Saraswati 199704162024062001

**FAKULTAS KEDOKTERAN
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2024**

I. Latar Belakang

Virus merupakan organisme infeksius yang merupakan parasit obligat intraseluler. Virus akan menginfeksi dan mengambil alih sel inang untuk bereplikasi. Virus memiliki genom yang dapat berupa DNA atau RNA dan diselubungi oleh protein yang disebut dengan capsid. Genom virus mengandung informasi yang diperlukan oleh virus untuk bereplikasi. Virus dapat menginfeksi sebagian besar makhluk hidup, termasuk bakteri, hewan, tumbuhan, dan bahkan manusia. Virus yang menginfeksi manusia dan menyebabkan penyakit, terutama penyakit yang epidemik, tidak memiliki pengobatan yang komprehensif. Selain itu, virus memiliki kemampuan untuk cepat berubah atau bermutasi dan beradaptasi di lingkungan yang baru. Kemampuan virus inilah yang kemudian dapat memunculkan penyakit baru dan memiliki kemungkinan besar menjadi pandemi^[1].

Pada akhir Desember 2019, wabah dari penyakit yang disebabkan oleh coronavirus 2019-nCoV, COVID-19 dilaporkan terjadi di Wuhan, China. Wabah ini kemudian meluas ke 26 negara lainnya di seluruh dunia. Virus ini menyerang sistem pernapasan manusia. COVID-19 merupakan penyakit akut yang dapat disembuhkan namun dapat pula berakibat fatal. Penyakit ini dapat menyebabkan kematian karena kerusakan alveolus dan kegagalan pernapasan^[2]. Sejak akhir Januari, WHO menetapkan wabah ini sebagai *“public-health emergency of international concern”* karena cepatnya angka wabah ini meningkat di seluruh dunia. Jumlah kasus di dunia hingga 28 Maret 2020 mencapai angka 512.701 yang tersebar di 202 negara dengan angka kematian 23.495 jiwa^[3].

Virus yang pada awalnya disebut dengan 2019-nCoV, diberi nama ulang oleh *International Committee on Taxonomy of Viruses* menjadi *Severe Acute Respiratory Syndrome coronavirus-2* (SARS-CoV-2). Pada awalnya penelitian menunjukkan SARS-CoV-2 dapat ditransmisikan dari hewan ke manusia, namun kemudian ditemukan penularan SARS-CoV-2 dari manusia ke manusia melalui cairan tubuh (droplet) atau kontak langsung. Dapat ditransmisikannya virus ini dari manusia ke manusia menyebabkan virus ini dapat lebih mudah dan cepat untuk menyebar, namun lebih sulit untuk dideteksi penyebarannya sehingga kemudian menjadi pandemi^[4].

Virus SARS-CoV-2, merupakan salah satu coronavirus yang berasal dari kelelawar. Hal ini dibuktikan dengan adanya kesamaan genetic antara coronavirus yang menyerang kelelawar (SARS-related coronavirus atau SARS-CoV) dengan SARS-CoV-2 yang menyerang manusia^[5]. Hal ini menunjukkan bahwa virus dapat bermutasi dengan cepat dan memiliki kemampuan patogenesis yang berbeda pada satu spesies dengan spesies lainnya dan kemudian menimbulkan penyakit baru. Penyakit yang disebabkan oleh virus memiliki berbagai kendala dalam pencegahannya, sehingga cukup sulit untuk mengendalikannya. Virus SARS-CoV-2 menyebar dengan sangat cepat sehingga menjadi permasalahan global karena belum ditemukannya obat untuk virus ini. Saat ini, para peneliti di seluruh dunia sedang berlomba-lomba mencari senyawa yang dapat mencegah atau mengobati penyakit COVID-19.

Rumusan Masalah

1. Masalah apa saja yang menjadi penghambat dalam tindakan pencegahan virus?
2. Bagaimana peran liposom sebagai nanodelivery senyawa flavonoid untuk mencegah infeksi coronavirus?

Tujuan Penulisan

1. Mengatahui masalah yang menjadi penghambat tindakan pencegahan virus.
2. Mengetahui peran liposom sebagai nanodelivery senyawa flavonoid untuk mencegah infeksi coronavirus.

II. Tinjauan Pustaka

2019-nCoV

Coronavirus adalah famili virus dengan materi genetik berupa RNA untai tunggal positif. Famili virus ini sudah beberapa kali menyebabkan wabah, seperti SARS, MERS, dan yang terbaru adalah COVID-19. Virus ini menginfeksi hewan, termasuk burung dan mamalia. Karakteristik umum dari Coronavirus adalah adanya kapsul atau *envelope*, partikel berbentuk bulat atau elips, pleiomorfik dengan diameter sekitar 50-200 nm. COVID-19 pertama kali merebak di akhir Desember 2019 di Wuhan, Cina. Menurut WHO, *mortality rate* dari virus ini sekitar 4%, dimana lebih rendah dibandingkan SARS (10%) dan MERS (40%). Sama seperti SARS-CoV, 2019-nCoV masuk ke dalam tubuh manusia melalui reseptor *angiotensin converting enzyme* (ACE2). Pada *receptor binding motif* (RBM) yang terdapat pada *spike glikoprotein* virus ini terdapat *critical residue* (Gln493) yang menyebabkan virus ini lebih mudah bertransmisi dibandingkan virus lainnya^[6]. Selain *spike glikoprotein*, virus ini memiliki enzim protease yang juga berperan dalam proses infeksi virus ke inang. Struktur kristal dari COVID-19 *main protease* (Mpro) merupakan target dari berbagai macam penelitian pengembangan vaksin dan obat yang bersifat *inhibitor* untuk replikasi 2019-nCOV. Mpro merupakan protein kunci yang dibutuhkan untuk proses maturasi virus^[7]. Oleh karena itu, dengan menargetkan Mpro dan reseptor ACE2 memiliki potensi dalam memberikan pengobatan yang efektif dalam melawan 2019-nCoV.

Senyawa Flavonoid

Senyawa flavonoid merupakan senyawa hasil metabolisme sekunder dari tanaman. Flavonoid selama ini dikenal karena memiliki sifat sebagai antioksidan. Namun selain itu flavonoid, seperti quercetin, juga memiliki sifat sebagai antiinflamasi dan berperan dalam fungsi imunitas dengan meningkatkan respon imun tubuh^[8]. Senyawa flavonoid yang terdapat pada berbagai tanaman merupakan salah satu senyawa yang banyak diuji coba dalam pembuatan suatu antiviral. Senyawa flavonoid dapat bekerja sebagai antiviral dengan memblokir reseptor pada sel, menghambat daerah antigenik pada virus, melemahkan atau menghilangkan fungsi enzimatis suatu enzim pada virus, dan penghambatan biosintesis partikel virus. Aktivitas antiviral pada turunan flavonoid seperti katekin, flavon, dan flavonol telah terbukti efektif terhadap beberapa galur virus. Antiviral berbasis bahan alami juga telah diteliti untuk

menghadapi wabah SARS-CoV dan MERS-CoV dimana reseptor kedua virus ini sama dengan COVID-19 sehingga senyawa flavonoid berpotensi juga dapat digunakan sebagai pencegahan dan pengobatan pandemik COVID-19^[9].

Liposom

Liposom merupakan salah satu jenis *drug delivery system* berupa vesikel artifisial berupa lipid berukuran nano sampai dengan mikro dan pada umumnya dapat terdispersi dalam air dalam bentuk koloid. Membran vesikel ini terdiri dari fosfolipid bilayer, satu atau lebih bilayer. Liposom merupakan partikel sferis yang mengenkapsulasi suatu fraksi pelarut, sehingga pelarut tersebut dapat berdifusi ke bagian dalam. Jenis *head group* pada lipid bilayer, muatan pada permukaan, dan metode produksi akan mempengaruhi sifat-sifat dasar dari liposom yang akan mempengaruhi profil farmakokinetik dari suatu senyawa obat. Liposom dapat memerangkap baik senyawa hidrofobik maupun hidrofilik. Senyawa hidrofilik akan terjerap pada bagian tengah dari liposom dan senyawa yang larut lemak akan beragregasi pada bagian permukaan lemak. Liposom banyak digunakan dalam dunia farmasi karena selain dapat meningkatkan kelarutan dan penetrasi senyawa yang dibawanya, liposom juga dapat mengurangi efek toksik^[10]

III. Diskusi

Masalah Pencegahan Virus

Virus memiliki kemampuan untuk beradaptasi dengan cepat, dengan cara bermutasi dan kemudian memiliki kemampuan pathogenesis yang berbeda dengan virus sebelumnya. Virus SARS-CoV-2 merupakan salah satu contoh virus hasil mutasi. Coronavirus yang menyerang manusia merupakan turunan dari reservoir kelelawar. Virus SARS-CoV-2 memiliki kesamaan genetik paling banyak dengan betacoronavirus pada kelelawar dengan subgenus Sarbecovirus. Sekuens genom SARS-CoV-2 memiliki kesamaan sebesar 96.2% dengan SARS-related coronavirus (SARSr-CoV; RaTG13), tetapi tidak begitu identik dengan genom SARS-CoV penyebab SARS (sekitar 79%) atau MERS-CoV penyebab MERS (sekitar 50%). Telah diketahui juga bahwa virus SARS-CoV-2 menggunakan reseptor angiotensin converting enzyme II (ACE2) yang sama dengan virus SARS-CoV untuk berikatan dengan sel paru-paru manusia^[5]. ACE2 diekspresikan didalam sel alveolar, sel endotel arteri dan vena, sel otot polos arteri, epitel tubular ginjal, dan epitel usus kecil, Terutama pada paru-paru ekspresi ACE2 lebih dominan, karena itu akan lebih berpotensi menimbulkan infeksi COVID-19^[11]. Distribusi ACE2 berdasarkan penelitian Chen y et al. pada beberapa hewan seperti musang, kalelawar, burung, ular, katak, ikan, yang dibandingkan dengan manusia memperlihatkan kedekatan identitas urutan asam amino masing masing 83%, 81%, 83%, 61%, 60% dan 59%. Hal ini berpengaruh pada ekspresi ACE2 yang akan berikatan dengan spike glikoprotein coronavirus. Kemiripan Ekspresi ACE2 pada beberapa hewan tersebut berpotensi bertambahnya reservoir di lingkungan masyarakat^[11].

Terdapat dua macam mutasi pada virus SARS-CoV-2, yaitu tipe L (leusin) dan S (serin). Tipe S merupakan tipe yang sudah diturunkan dari generasi ke generasi pada coronavirus, sedangkan tipe L merupakan tipe yang merupakan hasil mutasi dari tipe S. Virus SARS-CoV-2 yang menyerang manusia ini memiliki proporsi tipe L lebih banyak (~70%) dibandingkan dengan tipe S (~30%). Tipe L memiliki tingkat transmisi yang lebih tinggi dibandingkan dengan tipe S dan menyebabkan tipe L lebih agresif dibandingkan dengan tipe S. Adanya campur tangan manusia dapat menyebabkan kondisi selektif pada tipe L yang dapat menyebabkan mutasi lainnya dan menjadikan virus lebih agresif dan menyebar dengan cepat^[5].

Begitu cepatnya virus bermutasi dan beradaptasi di dalam tubuh inang yang baru menyebabkan penyebaran maupun infeksi oleh virus sulit untuk dicegah.. COVID-19 sendiri telah ditetapkan sebagai sebuah pandemi yang memiliki tingkat transmisi yang tinggi dan sudah tersebar di seluruh dunia. Walaupun tingkat kematian hanya berkisar 4%, virus ini telah membunuh 23.495 jiwa (per 28 Maret 2020). Penyakit-penyakit baru yang disebabkan oleh virus dan dapat ditransmisikan dari satu manusia ke manusia lainnya menjadikan persebaran virus semakin sulit untuk dikendalikan. Namun, kecepatan virus tersebut menyebar dan kemampuannya untuk menginfeksi, tidak sebanding dengan kecepatan penemuan obat maupun vaksin.

Beberapa virus bahkan tidak memiliki gejala awal infeksi. Namun, gejalanya muncul saat infeksi sudah parah dan sulit untuk diobati, sebagai contoh yaitu *human papillomavirus* (HPV). Lebih dari 90% orang yang terinfeksi oleh HPV tidak menunjukkan gejala klinis atau bahkan gejalanya akan muncul lama setelah infeksi. Hal ini akan menyebabkan penyakit akibat infeksi tersebut lebih sulit untuk ditangani karena infeksi sudah parah atau sudah menyebar ke organ tubuh lainnya^[12].

Pada kasus penyakit COVID-19 juga dilaporkan pasien positif yang asimptomatis atau tidak menunjukkan gejala, namun pada saat dilakukan pengujian COVID-19, terbukti positif. Pasien tersebut baru diketahui positif dan dilakukan pengujian setelah ada anggota keluarganya ataupun orang terdekatnya yang menunjukkan gejala COVID-19 dan dinyatakan positif COVID-19. Pasien yang tidak memiliki gejala infeksi virus akan memiliki kemungkinan yang lebih besar untuk menyebar atau menularkannya kepada orang lain^[13]. Orang yang terinfeksi dan asimptomatis akan merasa bahwa dirinya sehat dan terus melakukan kegiatan rutin serta melakukan kontak langsung dengan orang lain. Kontak langsung inilah yang membuat penularan infeksi virus semakin meluas. Infeksi virus yang asimptomatis akan menyulitkan untuk proses deteksi pola penularan virus dan berakibat pada sulit dicegahnya penyebaran maupun infeksi virus^[14].

Penggunaan Flavonoid sebagai Upaya Pencegahan COVID-19

Salah satu fokus penelitian para peneliti saat ini adalah penempatan kembali (*repositioning*) senyawa bioaktif yang sudah ditemukan dan terbukti efektif sebagai senyawa antiviral untuk digunakan pada COVID-19 mengingat wabah ini menyebar dengan cepat dan pesat sehingga pencegahan dan pengobatan yang ada harus dapat diproduksi dengan cepat. Salah satu senyawa yang diusulkan adalah senyawa flavonoid dan turunannya.

Flavonoid adalah senyawa metabolit sekunder polifenol yang ditemukan secara luas pada tanaman serta makanan dan memiliki berbagai efek bioaktif termasuk antivirus. Terdapat tiga senyawa golongan flavonoid yang mempunyai aktivitas sebagai inhibitor protease pada replikasi virus corona yaitu kaempferol dan quercetin [15]. Kemampuan senyawa flavonoid sebagai antivirus tergantung pada banyaknya gugus aktif yang berikatan dengan sisi aktif protein virus. Gugus utama dalam struktur kimia flavonoid seperti gugus hidroksi (-OH), keton (=O), dan eter (-O-) pada luteolin dan kaempferol diprediksi memiliki interaksi dengan residu asam amino pada sisi aktif virus [15].

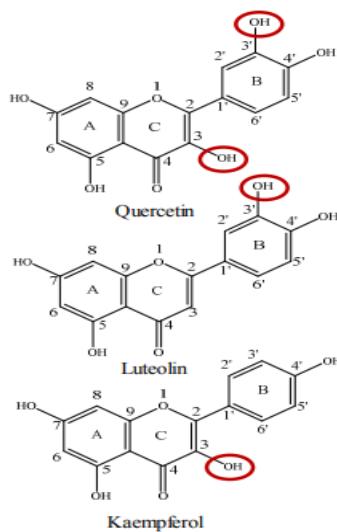
Selama ini telah banyak dikembangkan antiviral dan *immune booster* berbahan dasar senyawa flavonoid. Salah satu yang paling terkenal adalah senyawa flavonoid propolis, dimana propolis banyak digunakan untuk menjaga daya tahan tubuh dengan cara meningkatkan imunitas humoral dan seluler seseorang. Propolis (komponen utama berupa flavon) juga terbukti dapat menginduksi lebih awal reaksi imun dengan bekerja sebagai adjuvant vaksin dan meningkatkan imunitas terhadap vaksin inaktif *avian influenza* [16].

Penelitian *in silico* dengan melakukan *molecular docking* untuk melihat interaksi senyawa flavonoid dengan reseptor ACE2 atau protein yang berperan dalam proses infeksi virus telah banyak dilakukan. Salah satunya adalah pada senyawa flavonoid yang terdapat pada buah jeruk (*Citrus* sp.). *Citrus* sp. memiliki 6 jenis senyawa flavonoid, dimana senyawa flavonoid *naringin* dan *hesperetin* dapat berikatan dan memiliki afinitas yang tinggi dengan reseptor ACE2 yang setara dengan *chloruquinone*. Senyawa *hesperetin* juga memiliki energi pengikatan yang rendah, setara dengan lopinavir, yang menyebabkan senyawa ini dapat berinteraksi dengan kuat ke protein target berupa 3C-like *protease*, yang memberikan efek inhibisi terhadap proses infeksi virus dan replikasi virus^[17,18]. Selain memiliki efek inhibisi, senyawa *naringin* juga memiliki efek antiinflamasi dengan menghambat ekspresi dari *proinflammatory cytokines* (COX-2, iNOS, IL-1 β and IL-6) sehingga senyawa ini memiliki potensi dalam mencegah terjadinya *cytokine storm* yang banyak ditemukan pada COVID-19^[18]. Studi *molecular docking* juga menunjukkan bahwa senyawa kaempferol yang terdapat banyak pada tumbuhan hijau mempunyai aktivitas inhibitor protease terhadap *Main Protease* (Mpro) COVID 19^[15].

Walaupun memiliki banyak manfaat, senyawa flavonoid rentan akan oksidasi dan degradasi dikarenakan strukturnya yang sangat *unsaturated* dan adanya metabolisme atau eliminasi lintas pertama sehingga dapat menurunkan manfaatnya terhadap kesehatan^[19]. Sebagai contoh adalah naringenin, hasil metabolisme naringin pada tubuh, yang sangat mudah terdegradasi oleh cahaya, panas, oksigen dan asam lambung^[20]. Selain itu senyawa flavonoid pada umumnya memiliki kelarutan dan bioaktivitas yang rendah yang mengurangi efektivitas *uptake* dan stabilitas dari senyawa flavonoid tersebut^[15]. Oleh sebab itu sangat penting untuk melakukan pengembangan formula sehingga bioavailabilitas senyawa bahan alam dapat meningkat efektivitas terapeutik dari senyawa tersebut.

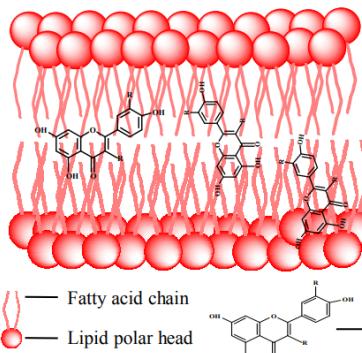
Enkapsulasi Flavonoid dalam Liposom

Solusi yang dapat dilakukan untuk mengatasi permasalahan ini adalah dengan mengenkapsulasi flavonoid dengan karier yang sifatnya mudah larut dalam air untuk memberikan perlindungan kimia dan biologis. Salah satu metode yang dilakukan adalah dengan memerangkap senyawa flavonoid tersebut dalam liposom sebagai suatu metode pengantaran yang tertarget. Liposom sebagai *drug delivery system* dapat memperbaiki aktivitas terapeutik dan keamanan dari senyawa aktif yang diperangkap dengan menghantarkan senyawa aktif tersebut pada sisi aksi sel atau protein target, sebagai contoh dalam hal wabah COVID-19 ini pada reseptor ACE2, dan mengatur kadar obat pada konsentrasi terapeutik yang sesuai [21].



Gambar 1 Struktur Flavonoid

Liposom adalah salah satu teknologi yang potensial dalam *drug delivery*. Karakterisasi menggunakan instrumentasi *Infra Red* (IR) dan Raman dilakukan untuk mengetahui struktur dari liposom. Liposom mengandung rantai asam lemak sebagai gugus hidrofobik dan fosfat sebagai gugus hidrofilik. Struktur flavonoid berpengaruh terhadap kemampuan untuk masuk ke dalam sistem membran liposom. Perbedaan jumlah gugus hidroksil pada kaempferol, quercetin dan luteolin menunjukkan perbedaan afinitas pada lipid bilayer. Interaksi polifenol flavonoid dengan lipid bilayer dipengaruhi oleh struktur dan kepolaran molekul. Senyawa yang lebih non-polar akan berinteraksi dengan gugus hidrofobik membran; dan molekul yang lebih hidrofilik akan membentuk ikatan hidrogen antara polifenol dengan gugus kepala polar dari lipid pada antarmuka membran. Senyawa flavonoid yang bersifat hidrofobik berinteraksi dengan gugus asam lemak dari liposom^[15].



Gambar 2 Flavonoid dalam membran liposom

Flavonoid yang terenkapsulasi dalam liposom terbukti mengalami beberapa perubahan karakteristik diantaranya adalah peningkatan dalam kelarutan dan stabilitas molekul. Sifat kelarutan yang meningkat memungkinkan penggunaan pelarut non organik yang sehingga akan mengurangi tingkat toksitas dan meningkatkan dosis maksimum yang ditoleransi yang dapat diberikan secara *in vivo*.

IV. Kesimpulan

1. Permasalahan yang menjadi halangan dalam tindakan pencegahan virus diantaranya karena virus memiliki kemampuan untuk bermutasi dan beradaptasi dengan lingkungan barunya dengan sangat cepat dan hal ini dapat menimbulkan penyakit baru yang belum ditemukan obat bahkan vaksinnya sehingga menimbulkan wabah. Selain itu, infeksi virus yang bersifat asimptomatis juga akan mempersulit pencegahan virus karena deteksi pola penyebaran virus tidak dapat dilakukan sedini mungkin.
2. Salah satu kandidat senyawa untuk mencegah virus bereplikasi adalah dengan menggunakan senyawa flavonoid, dimana senyawa ini sudah terkenal sebagai antioksidan dan antiinflamasi yang baik. Senyawa ini juga telah terbukti memiliki sifat antiviral terhadap beberapa jenis virus seperti influenza dan saat ini diuji coba untuk SARS-COV 2. Untuk meningkatkan efektivitas dari kerja senyawa flavonoid agar tidak terdegradasi dan tepat sasaran, senyawa flavonoid dapat diperangkap di dalam liposom. Flavonoid yang terenkapsulasi dalam liposom terbukti mengalami beberapa perubahan karakteristik diantaranya adalah peningkatan dalam kelarutan dan stabilitas molekul.

Daftar Pustaka

1. Strauss EG, Strauss JH. Viruses and Human Disease [Internet]. Elsevier Science Second Edition; 2007. 1-2
2. Xu Z, Shi L, Wang Y, Zhang J, Huang L, Zhang C, et al. Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome. Lancet Respir Med. 2020;

3. WHO [Internet]. Coronavirus disease (COVID-19) Pandemic [cited 2020 March 2020]. Available from: <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019>
4. Lai C-C, Shih T-P, Ko W-C, Tang H-J, Hsueh P-R. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) and coronavirus disease-2019 (COVID-19): the epidemic and the challenges. *Int J Antimicrob Agents*. 2020;105924.
5. Tang X, Wu C, Li X, Song Y, Yao X, Wu X, et al. On the origin and continuing evolution of SARS-CoV-2. *Natl Sci Rev*. 2020;
6. Abdemageed MI, Abdelmoneim AH, Mustafa MI, Elfadol NM, Murshed NS, Shantier SW, Makhawi AM. Design of multi epitope-based peptide vaccine against E protein of human 2019-nCoV: An immunoinformatics approach. *BioRxiv*. 2020.1-28.
7. Adem S, Eyupoglu V, Sarfraz I, Rasul A, Ali M. Identification of Potent COVID-19 Main Protease (Mpro) Inhibitors from Natural Polyphenols: An in Silico Strategy Unveils a Hope against Corona. *Preprints*. 2020.
8. Comalada M, Camuesco D, Sierra S, Ballester I, Xaus J, Galvez J, Zarzuelo A. In vivo quercitrin anti-inflammatory effect involves release of quercetin, which inhibits inflammation through down-regulation of the NF- κ B pathway. *Eur J Immunol*. 2005.35(2):584-592.
9. Zhang L, Liu Y. Potential interventions for novel coronavirus in China: A systematic review. *J Med Vir*. 2020;
10. Pasaribu G, Iskandarsyah, Sagita E. Uji aktivitas antiproliferasi formula liposom ekstrak etanol kunyit (*Curcuma domestica*) terhadap sel kanker payudara T47D. *Phar Sci Res*. 2016. 3(1): 45-59.
11. Hamming I, Timens W, Bulthuis *et al*. Tissue distribution of ACE2 protein, the functional receptor for SARS coronavirus. A first step in understanding SARS pathogenesis *J Pathol*. 2004. 203: 631-637
12. Chen Y, Guo Y, Pan Y, *et al*. Structure analysis of the receptor binding of 2019-nCoV. *Biochem Bioph Res Co*. 2020.S0006-291X (20): 30339-9.
13. Huang M, Su E, Zheng F, Tan C. Encapsulation of flavonoids in liposomal delivery systems: the case of quercetin, kaempferol and luteolin. *Food & function*. 2017. 8(9):3198-208.
14. Al-Tawfiq JA. Asymptomatic coronavirus infection: MERS-CoV and SARS-CoV-2 (COVID-19). *Travel Med Infect Dis*. 2020;101608.
15. Khoerunnisa S, Kurniawan H, Awaludin R, *et al*. Potential Inhibitor of COVID-19 Main Protease (MPro) from Several Medicinal Plnats Compound by Molecular Docking Study. *Preprints*; 2020. doi:10.20944/preprints202003.0226.v1
16. Fan YP, Hu YL, Wang DY. Epimedium polysaccharide and propolis flavone can synergistically stimulate lymphocyte proliferation in vitro and enhance the immune responses to ND vaccine in chickens. *Int J Biol Macromol*. 2010.47(2): 87-92.

17. Utomo RY, Meiyanto E. Revealing the Potency of Citrus and Galangal Constituents to Halt SARS-CoV-2 Infection. *Preprints*. 2020.
18. Cheng L, Zheng W, Li M, Huang J, Bao S, Xu Q, Ma Z. Citrus fruits are rich in flavonoids for immunoregulation and potential targeting ACE2. *Preprints*. 2020.
19. Rosenthal SL, Cohen SS, Biro FM. Behavioral and psychological factors associated with STD risk. In: *Sexually Transmitted Diseases*. Elsevier; 2000. p. 125–38.
20. Ramadon D, Mun'im AB. Pemanfaatan Nanoteknologi dalam Sistem Penghantaran Obat Baru untuk Produk Bahan Alam. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 2017. 14(2):118-27.
21. Sansone F, Picerno P, Mencherini T, Villecco F, D'Ursi M, Aquino RP, et al. Flavonoid microparticles by spray-drying: Influence of enhancers of the dissolution rate on properties and stability. *J Food Eng*. 2011.103(2):188–96.