

Prediksi Senyawa Fraksi Etil Asetat Daun Semanggi (*Marsilea crenata* Presl.) Sebagai Agen Antineuroinflamasi (agonis ER α)

Faisal Akhmal Muslikh¹, Reyhan Rahma Samudra², Burhan Ma'arif^{2*}

¹Magister Ilmu Farmasi, Departemen Ilmu Kefarmasian, Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga, Surabaya, Jawa Timur, Indonesia

²Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, UIN Maulana Malik Ibrahim, Malang, Jawa Timur, Indonesia

Penulis Koresponden: burhan.maarif@farmasi.uin-malang.ac.id

Abstract

Neurodegenerative disease is caused by a lack of estrogen, which is often caused by neuroinflammation. *Marsilea crenata* Presl. (Semanggi) phytoestrogen chemicals can give estrogenic activity via a mechanism that is dependent on the estrogen receptor (ER). The aims of this study is to predict the antineuroinflammatory activity of the ethyl acetate fraction of *Marsilea crenata* Presl. leaves with ER receptors (PDB ID: 1A52). The physicochemical features of compounds derived from metabolite profiling in the ethyl acetate fraction of *Marsilea crenata* Presl. leaves were investigated using the online web program SwissADME. Avogadro 1.0.1 was used for geometric optimization of the molecule, and Autodock vina was used for molecular docking of the drug to the 1A52 receptor (PyRx 0.8). The Biovia Discover Studio 2021 was used for interaction visualization, while the ProTox II online web application was used for chemical toxicity analysis. The chemical profiling of the ethyl acetate fraction of *Marsilea crenata* Presl. leaves yielded six compounds that were ER receptor agonists (PDB ID: 1A52). The ethyl acetate fraction of *Marsilea crenata* Presl. leaves is projected to be an antineuroinflammatory therapy for Parkinson's disease.

Keywords: *Marsilea crenata* Presl., neuroinflammation, Parkinson's disease, ER α , 1A52.

Abstrak

Neurodegeneratif merupakan penyakit akibat dari defisiensi estrogen, yang umumnya dikarenakan karena adanya neuroinflamasi. Senyawa fitoestrogen dalam *Marsilea crenata* Presl. (Semanggi) mampu memberikan aktivitas estrogenik melalui jalur yang bergantung pada Estrogen receptor (ER). Penelitian ini bertujuan untuk memprediksi aktivitas antineuroinflamasi dari fraksi etil asetat daun *Marsilea crenata* Presl. dengan reseptor ER α (PDB ID: 1A52). Hasil dari metabolite profiling dari fraksi etil asetat daun *Marsilea crenata* Presl. dipreparasi menggunakan ChemDraw Ultra 12.0, selanjutnya dianalisis sifat fisikokimia menggunakan web tool online SwissADME. Optimasi geometri dilakukan menggunakan aplikasi Avogadro 1.0.1, dan molecular docking senyawa pada reseptor 1A52 dilakukan dengan aplikasi Autodock vina (PyRx 0.8). Selanjutnya visualisasi interaksi dilakukan menggunakan aplikasi Biovia Discover Studio 2021, serta analisis toksisitas pada senyawa dilakukan menggunakan web tool online ProTox II. Terdapat 6 senyawa metabolite profiling dari fraksi etil asetat daun *Marsilea crenata* Presl. bersifat agonis dengan reseptor ER α (PDB ID: 1A52). Fraksi etil asetat daun *Marsilea crenata* Presl. diprediksi dapat menjadi terapi penyakit Parkinson melalui mekanisme antineuroinflamasi.

Kata kunci: *Marsilea crenata* Presl., neuroinflamasi, penyakit Parkinson, ER α , 1A52.

Received: Desember 2022

Accepted: Januari 2023

PENDAHULUAN

Wanita akan mengalami menopause yang merupakan fase peralihan dari produktif ke non produktif¹. Periode ini terjadi karena adanya defisiensi estrogen atau penurunan kadar hormon estrogen, dimana terjadi proses penonaktifan estradiol menjadi estron dan estriol². Dampak dari keadaan defisiensi estrogen ini berupa munculnya beberapa penyakit seperti osteoporosis, neurodegenerative dan lain-lain³⁻⁵.

Neurodegeneratif adalah suatu kondisi sistem saraf pusat (SSP) yang mengalami perubahan sampai kehilangan pada struktur dan fungsi yang menunjukkan adanya penyakit atau kelainan. Penyebabnya adalah keadaan inflamasi yang menyerang sistem saraf pusat yang disebut neuroinflammation⁶. Parkinson merupakan penyakit neurodegeneratif yang terjadi ketika seseorang memasuki usia 65 hingga 70 tahun, ditandai dengan adanya Lewy body dengan kandungan utama α -synuclein⁷⁻⁹.

Fitoestrogen merupakan salah satu terapi alternatif untuk mengatasi defisiensi estrogen. Senyawa ini bekerja sebagai pengganti dari jumlah estrogen dalam tubuh yang menurun dengan cara mengikat aktivitasnya pada reseptor estrogen yang belum berikatan dikarenakan memiliki struktur dan fungsi yang mirip dengan estrogen sehingga dapat mempertahankan homeostasis pada organ tubuh¹⁰⁻¹¹. Fitoestrogen dalam

sitoplasma menghasilkan kompleks reseptor hormon yang aktif melalui ikatannya dengan reseptor estrogen¹². Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa senyawa fitoestrogen dalam *Marsilea crenata* Presl. (Semanggi) mampu memberikan aktivitas setelah mengikat reseptornya atau melalui jalur yang bergantung pada *Estrogen receptor* (ER)¹³. Fraksi etil asetat daun *Marsilea crenata* Presl. dapat menggantikan fungsi estrogen melalui mekanisme *ER-dependent* dan *ER-independent*¹⁴.

Berdasarkan penjelasan tersebut, diperlukan penelitian lanjutan mengenai fraksi etil asetat daun *Marsilea crenata* Presl. dari hasil *metabolite profiling* menggunakan instrumen UPLC-QToF-MS/MS^{15,16}. Penelitian dilakukan secara *in silico* menggunakan metode *molecular docking* menggunakan reseptor 1A52. *In silico* merupakan metode penelitian dengan menggunakan aplikasi pada komputer dalam menemukan atau merancang obat, selain itu pengamatan *in silico* memiliki kelebihan seperti cepat dan terjangkau dalam menentukan aktivitas estrogenik suatu senyawa^{17,18}.

METODOLOGI

Bahan

Bahan pada penelitian ini ialah 84 senyawa hasil *metabolite profiling* fraksi etil asetat daun *Marsilea crenata* Presl. dengan menggunakan instrumen UPLC-QToF-MS/MS hasil dari penelitian yang telah dilakukan

sebelumnya^{15,16}. Reseptor ER α (PDB ID: 1A52) diunduh dari www.rcsb.org, reseptor tersebut mempunyai *native ligand* 17 β -estradiol. *Native ligand* ini memiliki peran dalam penghambatan aktivasi pada sel mikroglia yang dapat menyebabkan neuroinflamasi¹⁹.

Simulasi molecular docking dan identifikasi fisikokimia

Tahap pertama adalah persiapan pemisahan makromolekul ligan asli dengan aplikasi *Biovia Discovery Studio 2021*. Struktur senyawa metabolite profiling dari fraksi etil asetat daun *Marsilea crenata* Presl. digambar 2 dimensi menggunakan *ChemDraw Ultra 12.0*. Senyawa yang dihasilkan dari metabolite profiling dioptimasi secara geometris dengan metode *MMFF94* menggunakan aplikasi *Avogadro 1.0.1*, metode ini digunakan untuk memperoleh senyawa yang paling stabil dan kemudian disimpan menggunakan format *Sybyl Mol 2²⁰*.

Validasi internal merupakan tahap awal dari proses *molecular docking* pada reseptor, sedangkan *native ligand* menggunakan aplikasi *Autodock vina* (PyRx 0.8) untuk mendapatkan nilai *root mean square deviasi* (RMSD). Hasil RMSD yang kurang dari 2Å menandakan aplikasi tersebut layak digunakan^{18,20,21}. *Docking molekuler* masing-masing senyawa dengan reseptor 1A52 dengan *Autodock vina* (PyRx 0.8). Hasil divisualisasikan menggunakan *Biovia Discover Studio 2021* untuk melihat asam amino terikat dan jarak farmakofor.

Pada langkah berikutnya, senyawa agonis diubah menjadi bentuk *simplified molecular-input line-entry system* (SMILES) di aplikasi *ChemDraw Ultra 12.0.*, supaya senyawa tersebut bisa dianalisis sifat fisikokimianya dalam format yang sesuai dengan nama IUPAC²². Formatnya dimasukkan ke dalam web tool online SwissADME (<http://www.swissadme.ch>) dan diklik run untuk melihat nilai berat molekul, log P, HBA (*Hydrogen Bond Acceptor*), HBD (*Hydrogen Bond Donor*), "Yes" atau "No" pernyataan dalam memenuhi peran hukum 5 Lipinski, dan *topological polar surface area* (TPSA)¹⁸. Langkah terakhir adalah analisis toksisitas menggunakan format SMILES untuk memprediksi toksisitas senyawa berupa nilai LD₅₀ (*Lethal Dose 50*) dan kelas toksisitas berdasarkan *global harmonized system* (GHS) menggunakan web tool online ProTox II (https://tox.charite.de/prottox_II/).

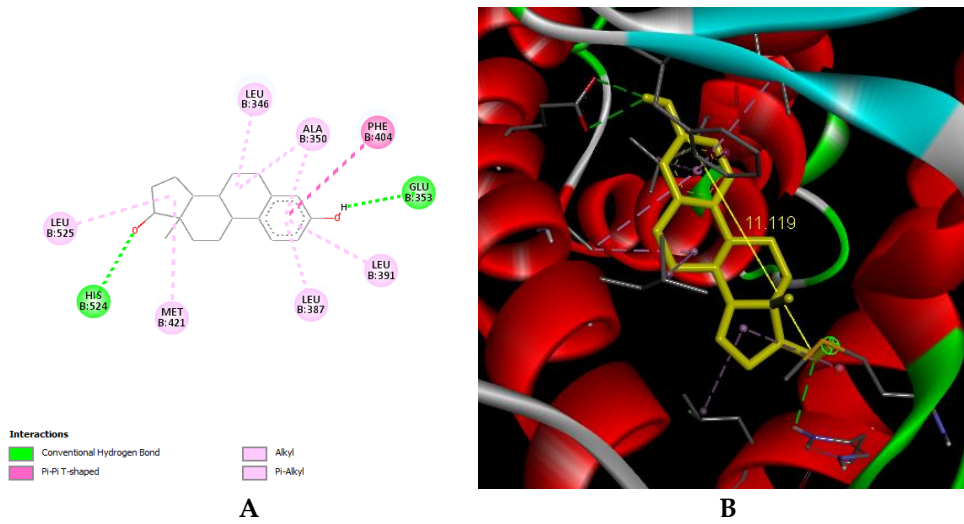
HASIL DAN PEMBAHASAN

Fitoestrogen merupakan salah satu pengobatan alternatif bagi wanita pascamenopause yang mengalami defisiensi estrogen⁹. Senyawa ini dapat menggantikan peran hormon estrogen dengan mekanisme *ER-dependent*²³. Mekanisme ini menggambarkan bahwa estrogen akan memberikan aktivitas setelah menembus membran plasma dan menyediakannya dengan reseptor estrogen berupa ER α dan mengaktifkannya².

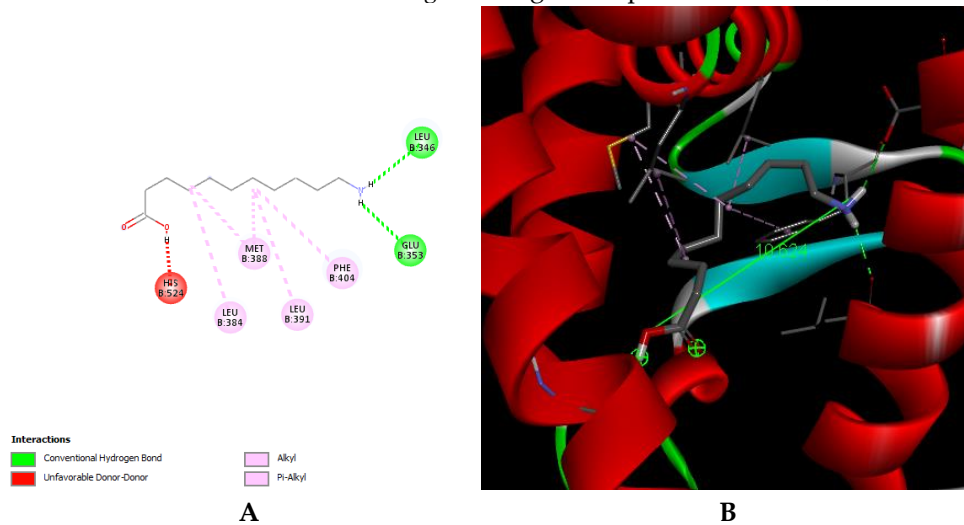
Analisis sifat fisikokimia senyawa *metabolite profiling* dari fraksi etil asetat *Marsilea crenata* Presl. menggunakan aplikasi SwissADME menunjukkan terdapat 74 senyawa yang memenuhi persyaratan hukum 5 Lipinski dengan berat molekul <500 g/mol, HBD<5, HBA<10, dan log p<5, sehingga senyawa tersebut dapat diterima oleh tubuh²⁴. Berat molekul senyawa dapat menembus membran biologis dalam kisaran kurang dari 500 g/mol. Hasil log P yang diperoleh pada penelitian ini kurang dari 5, menunjukkan kemampuan dari senyawa tersebut untuk larut pada cairan membran. H-akseptor dan H-donor memperlihatkan kapasitas dari ikatan hidrogen, semakin besar nilai tersebut, maka semakin besar energi yang dibutuhkan pada saat proses absorpsi dengan hasil yang diperoleh HBA kurang dari 10 dan HBD kurang dari 5²⁵. Nilai TPSA menyatakan kemampuan senyawa untuk menembus membran pada sel tubuh^{18,26,27}.

Uji toksisitas dilihat berdasarkan nilai LD₅₀ untuk mengetahui dosis tunggal untuk dapat membunuh 50% populasi hewan coba

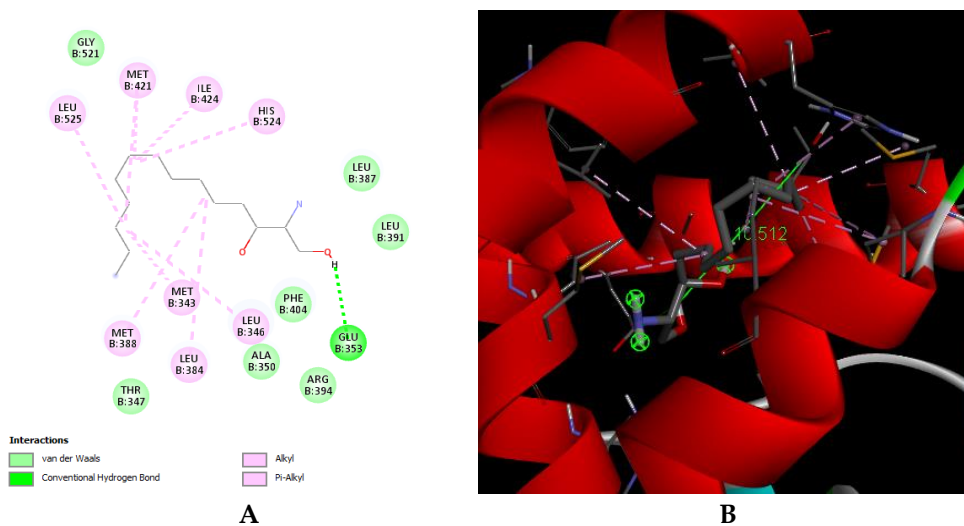
bila diberikan satu kali pemberian senyawa, sehingga dapat dilihat potensi toksisitas senyawa pada fraksi etil asetat Daun *Marsilea crenata* Presl. yang bersifat racun bagi tubuh²⁸. Pembagian tingkat toksisitas menurut *Globally Harmonized System of Classification and Labeling of Chemicals* (GHS) dalam 6 kelas. Kelas I (LD₅₀≤5 mg/kg) menunjukkan bahwa fatal jika tertelan, kelas II (5<LD₅₀≤50 mg/kg) menunjukkan bahwa fatal jika tertelan, kelas III (50<LD₅₀≤300 mg/kg) menunjukkan bahwa beracun jika tertelan, kelas IV (300<LD₅₀≤2000 mg/kg) menunjukkan bahwa berbahaya jika tertelan, kelas V (2000<LD₅₀≤5000 mg/kg) menunjukkan bahwa berbahaya jika tertelan dan kelas VI (LD₅₀>5000 mg/kg) menunjukkan bahwa tidak beracun^{18,27}. Semakin besar nilai LD₅₀ maka semakin aman senyawa tersebut untuk tubuh dan sebaliknya. Uji toksisitas dilakukan dengan menggunakan senyawa yang memiliki sifat fisikokimia yang aman. Hasil penelitian menunjukkan terdapat 64 senyawa pada kelas 4 dan 5 sehingga memiliki toksisitas yang rendah²⁹.



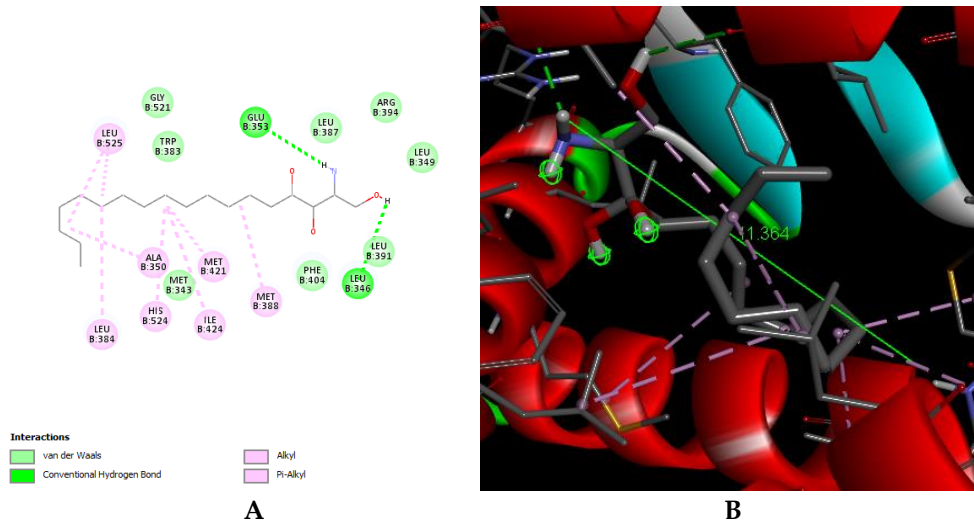
Gambar 1. Visualisasi *native ligand* dengan reseptor 1A52. **A:** 2D; **B:** 3D



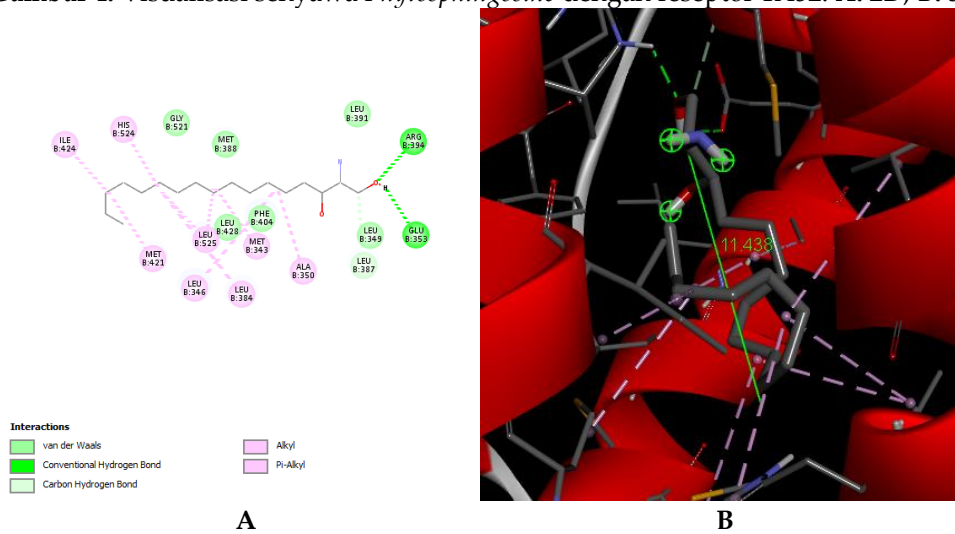
Gambar 2. Visualisasi senyawa *11-Aminoundecanoic acid* dengan reseptor 1A52. **A:** 2D; **B:** 3D



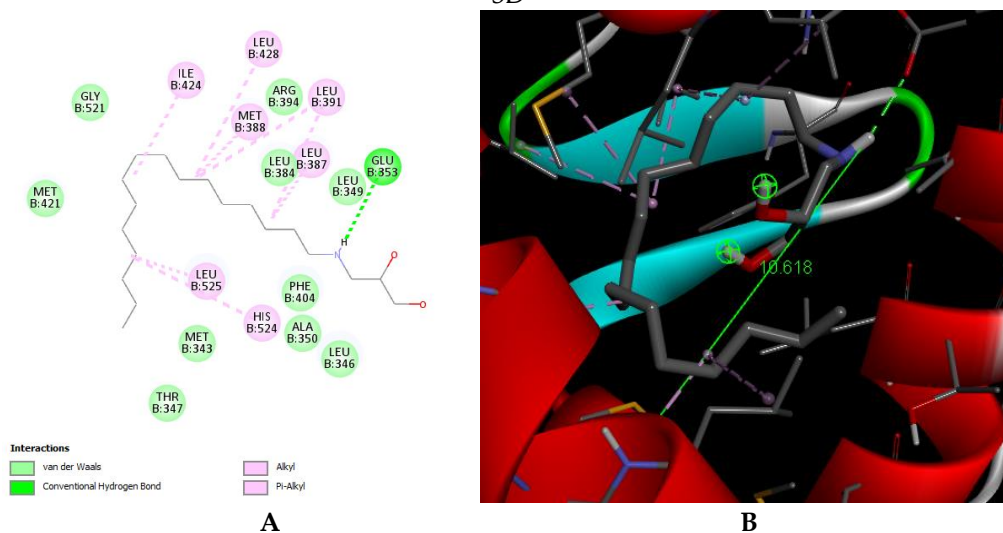
Gambar 3. Visualisasi senyawa *Tetradasphinganine* dengan reseptor 1A52. **A:** 2D; **B:** 3D



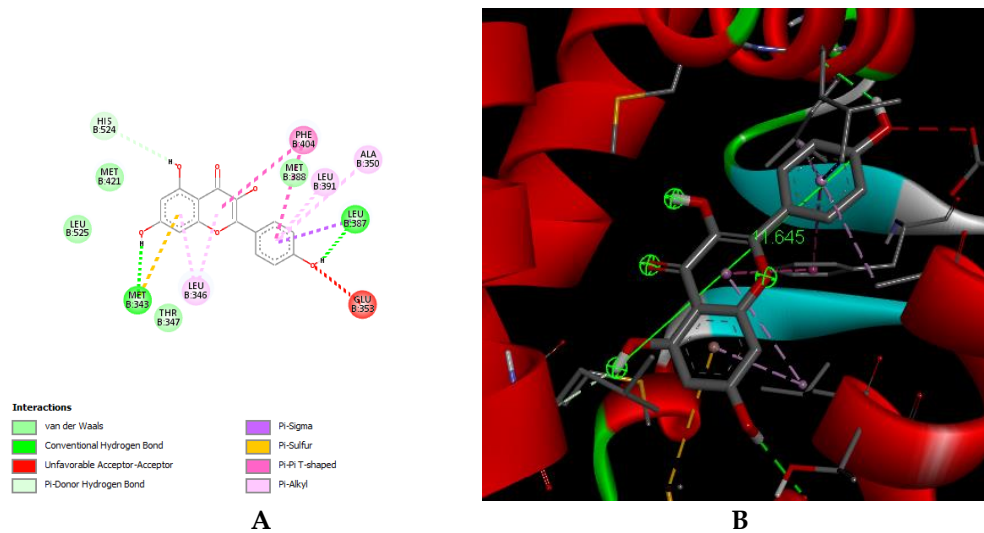
Gambar 4. Visualisasi senyawa *Phytosphingosine* dengan reseptor 1A52. A: 2D; B: 3D



Gambar 5. Visualisasi senyawa *(2S,3R)-2-Amino-1,3-heptadecanediol* dengan reseptor 1A52. A: 2D; B: 3D



Gambar 6. Visualisasi senyawa *3-(Hexadecylamino)-1,2-propanediol* dengan reseptor 1A52. A: 2D; B: 3D



Gambar 7. Visualisasi senyawa *Kaempferol* dengan reseptor 1A52. **A:** 2D; **B:** 3D

Tabel 1. Senyawa agonis fraksi etil asetat daun *Marsilea crenata* Presl. dengan 1A52 beserta hasil analisis farmakokinetik dan farmakodinamik

No	Senyawa	Binding Affinity (kcal/mol)	Asam Amino (Jenis Ikatan)	Jarak Farmakofor (Å)	Parameter Hukum 5			Hukum 5 Lipinski	TPSA (Å ²)	Kelas LD ₅₀	
					BM < 500 g/mol	HB A ≤ 10	HBD ≤ 5				
Native Ligand											
1.	17β-estradiol	-10,7	Glu353 (Hidrogen) His524 (Hidrogen)	11,119	271,38 g/mol	2	2	3,40	Yes	40,46	IV
Fraksi etil asetat daun <i>Marsilea crenata</i> Presl.											
1.	11-Aminoundecanoic acid	-5,3	Glu353 (Hidrogen) His524 (Hidrogen)	10,624	201,31 g/mol	3	2	1,62	Yes	63,32	VI
2.	Tetradecasphinganine	-5,5	Glu353 (Hidrogen) His524 (Hidrogen)	10,512	245,40 g/mol	3	3	2,92	Yes	66,48	V
3.	Phytosphingosine	-4,9	Glu353 (Hidrogen) His524 (Hidrogen)	11,364	317,51 g/mol	4	4	3,60	Yes	86,71	V
4.	(2S,3R)-2-Amino-1,3-heptadecanediol	-5,57	Glu353 (Hidrogen) His524 (Hidrogen)	11,438	287,48 g/mol	3	3	4,08	Yes	66,48	V
5.	3-(Hexadecylamino)-1,2-propanediol	-4,63	Glu353 (Hidrogen) His524 (Hidrogen)	10,618	315,53 g/mol	3	3	4,81	Yes	52,49	V
6.	Kaempferol	-6,43	Glu353 (Hidrogen) His524 (Hidrogen)	11,645	286,24 g/mol	6	4	1,58	Yes	111,13	V

Proses *molecular docking* diawali dengan validasi metode menggunakan *Autodock Vina* (PyRx 0.8) antara reseptor dengan *native ligan* dan diperoleh RMSD sebesar 0,557. Hasil ini atau menunjukkan bahwa proses *molecular docking*, memberikan hasil yang mendekati hasil percobaan, karena nilai RMSD kurang dari 2Å³⁰⁻³¹. Senyawa yang lolos uji fisikokimia dan toksisitas ditambatkan kembali ke reseptor 1A52 menggunakan *Autodock Vina* (PyRx 0.8). Visualisasi hasil dari *molecular docking* dilakukan menggunakan aplikasi *Biovia Discovery Studio 2021* bertujuan untuk memberikan informasi jenis ikatan pada senyawa tersebut, asam amino yang terbentuk, dan jarak farmakofor yang akan dibandingkan dengan ligan asli^{18,27}. Hasil dari *molecular docking* pada senyawa agonis dengan 1A52 dapat diamati pada Tabel 1.

Native ligan merupakan agonis dalam mengaktifkan ER α dengan cara mengikat asam amino berupa Glu353 dan His524, yang masing-masing berupa ikatan hidrogen. Asam amino yang terikat oleh gugus hidroksil (OH) akan menghasilkan aktivitas estrogenik³². Jarak farmakofor yang dihasilkan adalah 11,119. Suatu senyawa dapat dikatakan sebagai agonis jika mengikat dua asam amino yang sama dengan ligan asalnya, berupa Glu353 dan His524 yang dapat dilihat pada Gambar 1. Persamaan asam amino yang diikat senyawa dan jarak farmakofor yang mendekati rendemen ligan asli memberikan

kesamaan dalam interaksi yang dihasilkan³³⁻³⁵. Semakin kecil afinitas ikatan atau nilai negatifnya, maka ikatan senyawa tersebut semakin kuat dan interaksi yang stabil³⁶. Visualisasi hasil dari *molecular docking* pada senyawa agonis menggunakan aplikasi *Biovia Discovery Studio 2021* ditunjukkan pada Gambar 2, 3, 4, 5, 6 dan Gambar 7.

Senyawa agonis yang berpotensi sebagai fitoestrogen sehingga menjadi agen antineuroinflamasi dengan memenuhi lima parameter hukum Lipinski "Yes" dan toksisitas rendah terdiri dari 6 senyawa adalah 11-Aminoundecanoic acid, Tetradasphinganine, Phytosphingosine, (2S,3R)-2 -Amino-1,3-heptadecanediol, 3-(Hexadecylamino)-1,2-propanediol, dan Kaempferol.

Respon inflamasi akan terlihat pada pasien parkinson, estrogen dapat menjadi agen anti inflamasi untuk mengurangi keparahan parkinson. Selain itu, estrogen dapat melindungi memori dengan menghambat aktivitas NF-kB dan menjadi penangkal stres oksidatif. Hal ini karena estradiol berperan untuk meningkatkan sintesis, pelepasan, dan pergantian dopamin³⁷. Sehingga hormon tersebut memberikan efek neuroprotektif dengan menghambat agregasi protein, sehingga dapat memperlambat synocleinoopathies³⁸. Kesamaan aktivitas tersebut dihasilkan oleh senyawa dari fraksi etil asetat daun *Marsilea crenata* Presl.³⁷

Senyawa yang terkandung dalam *Marsilea crenata* Presl. merupakan pilihan terbaik dalam mengatasi masalah defisiensi estrogen yang mengarah pada keadaan inflamasi pada sistem saraf pusat, dengan cara menghambat aktivitas mikroglia pada M_1 polarity yang bersifat proinflamasi dan menjadikan sel mikroglia pada keadaan M_2 polarity yang bersifat antiinflamasi. Senyawa tersebut dapat digunakan sebagai alternatif pengobatan antineuroinflamasi yang merupakan salah satu penyebab penyakit parkinson²⁹. *Marsilea crenata* Presl. merupakan tanaman yang memiliki manfaat kesehatan bagi masyarakat yang ditunjukkan dengan pengamatan *molekular docking*. Hasil pada penelitian ini menunjukkan bahwa senyawa yang terkandung dalam *Marsilea crenata* Presl. memiliki aktivitas antineuroinflamasi yang aman bagi tubuh.

KESIMPULAN

Studi *in silico* dari senyawa metabolite profiling fraksi etil asetat daun *Marsilea crenata* Presl. menunjukkan bahwa terdapat 6 senyawa yang memiliki aktivitas serupa dengan 17β -estradiol dilihat dari kesamaan ikatan asam amino, jarak farmakofor, serta bersifat agonis pada protein 1A52 yang berpotensi sebagai antineuroinflamasi. Sehingga fraksi etil asetat daun *Marsilea crenata* Presl. diprediksi dapat menjadi terapi

penyakit Parkinson dengan mekanisme antineuroinflamasi.

DAFTAR PUSTAKA

1. Koeryaman MT, dan Ermiati E. 2018. Adaptasi Gejala Perimenopause dan Pemenuhan Kebutuhan Seksual Wanita Usia 50-60 Tahun. *Medisains*. 16(1): 21.
2. Cui J, Shen Y, and Li R. 2013. Estrogen Synthesis and Signaling Pathways during Aging: From Periphery to Brain. *Trends Mol Med*. 19(3): 197-209.
3. Ma'arif B, Mirza DM, Hasanah M, Laswati H, and Agil M. 2019. Antineuroinflammation Activity of n-Butanol Fraction of *Marsilea crenata* Presl. in Microglia HMC3 Cell Line. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*. 20190255. 1-6.
4. Aditama APR, Ma'arif B, Mirza DM, Laswati H, Agil M. 2020. In Vitro and In Silico Analysis on the Bone Formation Activity of n-Hexane Fraction of Semanggi (*Marsilea crenata* Presl.). *Sys. Rev. Pharm*. 11(11): 837-849.
5. Ma'arif B, Muslikh FA, Fihuda DAP, Khotimah H, Taek MM, & Agil M. 2022. The Effect of Ethanol Extract of *Marsilea crenata* Presley Leaves on Rotenone-Induced Zebrafish Locomotor Activity. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Community*. 19(2):87-92.
6. Chen W-W, Zhang X, and Huang W-J. 2016. Role of Neuroinflammation in Neurodegenerative Disease. *Molecular Medicine Report*. 13(4):3391 – 3396.
7. Balestrino R, and Schapira AHV. 2020. Parkinson disease. *European Journal of Neurology*. 27.
8. Suharti. 2020. Patofisiologi Penurunan Kognitif pada Penyakit Parkinson. *UMI Medical Journal*. 5:1-11.

9. Ma'arif B, Muslikh FA, Fihuda DAP, Syarifuddin S, Fauziyah B. 2021. Prediction of Compounds from 96% Ethanol Extract of *Marsilea crenata* Presl. Leaves in Increasing Estrogen Receptor- α Activation. In *Proceedings of International Pharmacy Ulu' Albab Conference and Seminar (PLANAR)*. 1:67-76.
10. Aditama APR, Ma'arif B, & Muslikh FA. 2022. Effect of osterix and osteocalcin enhancement by quercetin (3, 3', 4', 5, 7-pentahydroxyflavone) on osteoblast hFOB 1.19 cell line. *International Journal of Applied Pharmaceutics*. 14:32-35.
11. Ma'arif B, Maimunah S, Muslikh FA, Saidah NL, Fihuda DA, Khotimah H, & Agil M. 2022. Efek Ekstrak Daun *Marsilea crenata* Presl. pada Aktivitas Lokomotor Ikan Zebra. *FARMASIS: Jurnal Sains Farmasi*. 3(1):18-24.
12. Kargozar R, Azizi H, dan Salari R. 2017. A Review of Effective Herbal Medicines in Controlling Menopausal Symptoms. *Electronic Physician*. 9(11):5826-5833.
13. Ma'arif B, Muslikh FA, Anggraini W, Taek MM, Laswati H, Agil M. 2021. In vitro anti-neuroinflammatory effect of genistein (4', 5, 7-trihydroxyisoflavone) on microglia HMC3 cell line, and in silico evaluation of its interaction with estrogen receptor- β . *International Journal of Applied Pharmaceutics*. 13(4):183-187.
14. Ma'arif B, Muslikh FA, Guhir AM, Fitri H, Najib LA, Salmasfatah N, ... & Agil M. 2022. Efek Penurunan Ekspresi MHCII Pada Sel Mikroglia HMC3 Teraktivasi M1 Polarity Oleh Fraksi n-Heksana dan Etil Asetat Daun Semanggi (*Marsilea crenata* Presl.). *Journal Pharmasci*. 7(1):35-41.
15. Agil M, Laswati H, Kuncoro H, & Ma'arif B. 2020. In silico analysis of phytochemical compounds in ethyl acetate fraction of semanggi (*Marsilea crenata* Presl.) leaves as neuroprotective agent. *Research Journal of Pharmacy and Technology*. 13(8):3745-3752.
16. Ma'arif B. 2020. Aktivitas Antineuroinflamasi Ekstrak dan Fraksi Daun Semanggi (*M. crenata* Presl.) terhadap sel Mikroglia HMC3. *Disertasi*. Surabaya: Universitas Airlangga.
17. Suharna S. 2012. Studi In Silico Senyawa Turunan Flavonoid Terhadap Penghambatan Enzim Tirosinase. *Skripsi*. Makassar: Program Sarjana UIN Alauddin.
18. Muslikh FA, Samudra RR, Ma'arif B, Ulhaq ZS, Hardjono S, & Agil M. 2022. In Silico Molecular Docking and ADMET Analysis for Drug Development of Phytoestrogens Compound with Its Evaluation of Neurodegenerative Diseases. *Borneo Journal of Pharmacy*. 5(4):357-366.
19. Hwang SY, Shin JH, Hwang JS, Kim SY, Shin JA, Oh ES, ... & Han IO. 2010. Glucosamine exerts a neuroprotective effect via suppression of inflammation in rat brain ischemia/reperfusion injury. *Glia*. 58(15):1881-1892.
20. Defitiana W, and Sanjaya IGM. 2020. Studi Komputatif Jalur Sintesis Asam Elagat dari Asam Galat. *UNESA Journal of Chemistry*. 9(1).
21. Riwanti P, Arifin MS, Muslikh FA, Amalia D, Abada I, Aditama AP, & Ma'arif B. 2021. Effect of *Chrysophyllum cainito* L. leaves on bone formation in vivo and in silico. *Tropical Journal of Natural Product Research*. 5(2):260-264.
22. Sliwoski G, Kothiwale S, Meiler J, and Lowe EW. 2014. Computational Methods in Drug Discovery. *Pharmacol Rev*. 66(1):334- 395.
23. Yang TS, Wang SY, Yang YC, Su CH, Lee FK, Chen SC, Tseng CY, Jou HJ, Huang JP, Huang KE. 2012. Effects of Standardized

- Phytoestrogen on Taiwanese Menopausal Women. *Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology*. 51(2):229-235.
24. Ma'arif B, Aminullah M, Saidah NL, Muslikh FA, Rahmawati A, Indrawijaya YYA, Sari DP, Taek MM. 2021. Prediction of antiosteoporosis Activity of Thirty-Nine Phytoestrogen Compounds In Estrogen Receptor-Dependent Manner Through In Silico Approach. *Tropical Journal of Natural Product Research*. 5(10):1727-1734.
 25. Lipinski CA, Lombardo F, Dominy BW, and Fenney PJ. 1997. Experimental and Computational Approaches to Estimate Solubility And Permeability in Drug Discovery and Development Settings. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 23(1-3):3-25.
 26. Chagas CM, Moss S, and Alisaraiea L. 2018. Drug Metabolites and Their Effects on The Development of Adverse Reactions: Revisiting Lipinski's Rule of Five. *International Journal of Pharmaceutics*. 549:133– 149.
 27. Ma'arif B, Muslikh FA, Amalia D, Mahardiani A, Muchlasi LA, Riwanti P, ... & Agil M. 2022. Metabolite Profiling of the Environmental-Controlled Growth of *Marsilea crenata* Presl. and Its In Vitro and In Silico Antineuroinflammatory Properties. *Borneo Journal of Pharmacy*. 5(3):209-228.
 28. Nurmianti L dan Gusmarwani SR. 2020. Penentuan Lethal Dose 50% (LD50) Pestisida Nabati dari Campuran Buah Bintaro, Sereh, Bawang Putih, Lengkuas, *Jurnal Inovasi Proses*. 5(1).
 29. Supandi, Yeni, Merdekawati F. 2018. In Silico Study of Pyrazolylaminoquinazoline Toxicity by Lazar, Protox and Admet Predictor. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 8(9):119-129.
 30. Santoyo AH, Barajas AYT, and Altuzar V. 2013. Protein-Protein and Protein-Ligand Docking. *Protein engineering-technology and application*. 63-81.
 31. Ma'arif B, Muslikh FA, Najib LA, Atmaja RRD, Dianti MR. 2021. In Silico Antiosteoporosis Activity of 96% Ethanol Extract of *Chrysophyllum cainito* L. Leaves. In *Proceedings of International Pharmacy Ulul Albab Conference and Seminar (PLANAR)*. 1:61-66.
 32. Prabowo SAA, dan Santoso B. 2018. Profil In Silico Interaksi Senyawa Alam Ketumbar dan Adas Bintang sebagai Inhibitor Peptida Deformilase *Mycobacterium Tuberculosis* (3SVJ dan 1WS1) menggunakan Bantuan PyRx-Vina. *The 7th University Research Colloquium 2018*. Surakarta : STIKES PKU Muhammadiyah.
 33. Ekins S, Mestres J, and Testa B. 2007. In silico Pharmacology for Drug Discovery: Applications to Targets and Beyond. *British Journal Pharmacology*. 152:21-37.
 34. Suhud F. 2015. Uji Aktivitas In-silico Senyawa Baru 1-Benzil-3-benzoilurea Induk dan Tersubstitusi sebagai Agen Antiproliferatif. *Jurnal Farmasi Indonesia*. 7(4).
 35. Muchtaridi M, Dermawan D, & Yusuf M. 2018. Molecular docking, 3D Structure-Based Pharmacophore Modeling, and ADME Prediction of Alpha Mangostin and Its Derivatives Against Estrogen Receptor Alpha. *Journal of Young Pharmacists*. 10(3).
 36. Arwansyah A, Ambarsari L, Sumaryada TI. 2014. Simulasi Docking Senyawa Kurkumin dan Analognya Sebagai Inhibitor Reseptor Androgen pada Kanker Prostat. *Current. Biochem*. 1(1):11-19.
 37. Cherry J, Olschowka J, and O'banion K. 2014. Neuroinflammation and M2 Microglia: The Good, The Bad, and The Inflamed. *J Neuroinflamm*. 11(1):1-15.

38. Marotta NP, Lin YH, Lewis YE, Ambroso MR, Zaro BW, Roth MT, Arnold DB, Langen R, & Pratt MR. 2015. O-GlcNAc modification blocks the aggregation and toxicity of the protein α -synuclein

associated with Parkinson's disease. *Nature chemistry*. 7(11).