

Kajian molekular docking, farmakokinetik dan toksisitas tanaman pegagan (*Centella asiatica* L.) terhadap target terapi antidepresan

*Study of molecular docking, pharmacokinetics, and toxicity of gotu kola (*Centella asiatica* L.) towards antidepressant therapy targets*

Laily Sifaiya^{1*}, Rahmawaty Hasan¹, Aqidatun Naffiah Choirunniza¹

¹Program Studi Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Ibrahimy SukorejoSitungondo,

Jl. KHR. Syamsul Arifin No.1-2, Sukorejo, Sumberejo, Kec. Banyuputih, Kabupaten Situbondo, Jawa Timur 68374

Article Info:

Received: 27-02-2024

Revised: 22-06-2024

Accepted: 10-08-2024

✉ * E-mail Author: lailysifaiyah@gmail.com

ABSTRACT

Depression is a mental disorder whose incidence in Indonesia continues to increase every year and no specific medication has been found to treat it. Research into the development of antidepressant medications from pegagan plants needs to be carried out to analyze the interaction of chemical compounds in pegagan plants with the target depression receptor piperidine E20 (PDB ID: 4EY7) from acetylcholinesterase *in silico*. Chemical compounds from pegagan plants have been screened based on the activity of each compound using the Way2drug and Superpred webforms, with the results obtained that three compounds were selected based on the lowest ΔG value obtained to proceed to the molecular docking stage using Autodock Tools 4.2. The three best compounds were taken from each macromolecule that had been visualized using Discovery Studio, then continued with pharmacokinetic and drug-likeness predictions using the SwissADME webform, as well as toxicity predictions using Toxtree. The best compound is indicated by a compound that has good absorption in the gastrointestinal tract, is not distributed in brain tissue and is part of the P-gp substrate, and does not act as an inhibitor of the cytochrome P450 enzyme. Meanwhile, regarding toxicity predictions, the best compounds are shown to be compounds that do not have the potential to be carcinogenic, genotoxic, and non-genotoxic. The test results obtained determined that the compound that could be used as a candidate for a new antidepressant drug was the compound madasiatic acid.

Keywords: Antidepressants, *Centella asiatica*, In Silico, Pharmacokinetic, Toxicity

ABSTRAK

Depresi merupakan penyakit gangguan mental yang kejadiannya di Indonesia terus meningkat setiap tahun dan belum ditemukan obat spesifik untuk pengobatannya. Penelitian pengembangan obat antidepresi dari pegagan perlu dilakukan untuk menganalisis adanya interaksi dari senyawa kimia dalam tanaman pegagan terhadap target reseptor depresi piperidine E20 (PDB ID: 4EY7) dari asetilkolinesterase secara *in silico*. Senyawa kimia dari tanaman pegagan telah dilakukan skrining berdasarkan aktivitas masing-masing senyawa menggunakan webform Way2drug dan Superpred, dengan hasil diperoleh tiga senyawa yang dipilih berdasarkan perolehan nilai ΔG terendah untuk dilanjutkan pada tahap docking molekular menggunakan Autodock Tools 4.2. Tiga senyawa terbaik diambil dari masing-masing makromolekul yang telah divisualisasikan menggunakan Discovery Studio, kemudian diteruskan dengan prediksi farmakokinetik dan *drug likeness* menggunakan webform SwissADME, serta prediksi toksisitas menggunakan Toxtree. Senyawa terbaik ditunjukkan dengan senyawa yang memiliki absorpsi yang baik dalam saluran gastrointestinal, tidak terdistribusi dalam jaringan otak dan termasuk pada bagian P-gp substrat, serta tidak berperan sebagai inhibitor dari enzim sitokrom P450. Sedangkan terkait prediksi toksisitasnya, senyawa terbaik ditunjukkan pada senyawa yang tidak memiliki potensi sebagai senyawa karsinogenik, genotoksik dan non genotoksik. Hasil uji yang didapat menetapkan bahwa senyawa yang dapat dijadikan sebagai calon kandidat obat baru antidepresi adalah senyawa madasiatic acid.

Kata Kunci: Antidepresan, *Centella asiatica*, Farmakokinetik, In Silico, Toksisitas

1. PENDAHULUAN

Gangguan jiwa salah satunya depresi merupakan permasalahan kesehatan yang cenderung meningkat setiap tahunnya dan akan berdampak besar pada kualitas kehidupan seseorang (1). Depresi ditandai dengan perasaan sedih, perasaan bersalah yang tertekan secara terus-menerus yang dapat mempengaruhi suasana hati seseorang, perilaku ataupun kesehatan fisiknya (2). Depresi disebabkan karena menurunnya jumlah neurotransmitter atau dopamin, *norepinephrine*, dan serotonin dalam otak serta beberapa faktor lainnya seperti faktor genetika, biokimia, lingkungan, dan faktor sosial (3). Menurut hasil survei yang dilakukan di-14 negara pada tahun 1990, *World Health Organization* menempatkan depresi sebagai masalah kesehatan yang menyebabkan tekanan sosial ke-4 terbesar di dunia, setelah penyakit jantung iskemik (4). Depresi sering dialami oleh pasien dengan umur di atas 15 tahun dan berdasarkan data (4), 27% dari jumlah penduduk yang ada di wilayah Asia Tenggara yang mengalami gangguan mental atau depresi terbesar sebanyak 3,7%. Adapun negara Indonesia menduduki peringkat kelima dengan kejadian depresi yang tinggi.

Penggunaan obat tradisional seperti obat herbal dianjurkan dalam membantu masyarakat dalam menjaga kesehatan dan mencegah dan mengobati penyakit, terutama pada penyakit degeneratif dan penyakit kanker (5). Karena efek samping obat tradisional lebih sedikit daripada obat konvensional, sehingga penggunaan pada obat tradisional dianggap lebih aman daripada obat konvensional (6). Tanaman herbal di Indonesia sudah lama digunakan sebagai terapi tambahan untuk pencegahan dan pengobatan penyakit. Pegagan (*Centella asiatica*) adalah salah satu tanaman herbal yang telah digunakan secara empiris untuk pengobatan dan telah banyak dipelajari baik secara *in vivo* maupun *in vitro* (6).

Patofisiologi penyakit depresi terjadi karena menurunnya jumlah neurotransmitter norepinephrine (NE), serotonin (5-HT), dan dopamin dalam otak (7). Dopamin merupakan neurotransmitter dari sekelompok sel dalam otak yang disebut sebagai dopaminergik dan bertanggung jawab terhadap pengendalian kecepatan hantaran sel saraf di seluruh otak. Selain itu, dopamin memainkan peran penting dalam proses perkembangan penyakit depresi. Semakin banyak ikatan dopamin dengan reseptor akan semakin banyak pula impuls yang ditransmisikan dari *presynaptic* menuju *postsynaptic*, sehingga ikatan molekul dopamin dengan reseptor akan meningkat (7). Sedangkan dalam kondisi stres seseorang akan mengalami pelepasan hormon sitokin yang dapat mempengaruhi produksi dopamin yang terjadi di dalam sel otak, karena mengalami penurunan ko-faktor tetrahydrobiopterin (BH4) yang dapat menyebabkan terjadinya penurunan terhadap sintesis dopamin yang menyebabkan terjadinya stres atau depresi pada seseorang (8).

Pegagan atau *Centella asiatica* merupakan salah satu tanaman liar yang memiliki prospek baik sebagai tanaman obat tradisional. Tanaman ini berasal dari daerah tropis Asia seperti Indonesia, Cina, India, Sri Lanka, dan Madagaskar yang merupakan daerah lembab (9). Tanaman ini memiliki kandungan senyawa golongan triterpenoid (acetylursolic acid, 3-epimaslinic acid, 2 α -hydroxyursolic acid, labiatic acid, madasiatic acid, pomolic acid, centellicin dan asiaticin), flavonoid (kaempferol),

saponin, seskuiterpen (beta-caryophyllene), minyak esensial (1-Cyclohexyl-11-heneicosanone), dan fitosterol. Dimana pada senyawa triterpenoid yang terkandung dalam tanaman pegagan berkhasiat sebagai zat antidepresan (10). Pegagan memiliki potensi sebagai obat antidepresan dan telah digunakan dalam upaya pengobatan antidepresan, sehingga dapat dijadikan sebagai solusi alternatif obat tradisional. Karena sampai saat ini belum diketahui obat yang pasti untuk mengobati penyakit depresi (11).

Studi *in silico* adalah teknik eksperimental untuk membuat desain senyawa obat yang mengacu pada penggunaan komputer dengan sejumlah perangkat lunak tertentu yang dilakukan dengan teknik Molekular Docking (9). Molekular Docking adalah teknik penting dalam penemuan obat baru untuk memprediksi konformasi ligan pada ikatan *binding site* dengan tingkat akurasi yang tinggi atau metode yang tepat untuk memprediksi interaksi aktivitas senyawa aktif obat yang lebih baik pada pengembangan kandidat obat baru untuk penyakit depresi (11). Dalam Molekular Docking, algoritma berfungsi untuk memprediksi adanya energi pada suatu ikatan secara kuantitatif dan menyajikan data tentang tingkat afinitas ikatan antara ligan dengan reseptor (12). Penelitian ini dilakukan untuk dapat memberikan gambaran mengenai interaksi antara aktivitas senyawa potensial yang terkandung dalam tanaman pegagan dengan menggunakan kandungan kimia potensial tanaman tersebut yang diduga memiliki aktivitas antidepresan dimana akan menjalani proses analisis secara *in silico* meliputi molekular docking, pengujian farmakokinetik, dan pengujian toksisitas tanaman pegagan (*Centella asiatica* L.) terhadap target terapi depresi. Adapun penelitian ini diharapkan mampu mengurangi resiko kegagalan dalam suatu percobaan uji klinis dalam kegiatan penelitian yang seperti pada umumnya (13).

2. METODOLOGI

Metodologi penelitian menggunakan analisis *in silico* dengan cara melakukan pendekatan pada suatu kondisi nyata pada senyawa aktif tanaman pegagan (*Centella asiatica* L.) kemudian dianalisis interaksi antara senyawa aktif tersebut dengan reseptor target asetilkolinesterase (PDB ID: 4EY7) atau AChE.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan yaitu komputer windows 10 pro spesifikasi processor Intel(R) Core (TM) i7-4770 CPU @ 3.40GHz 3.40 GHz CPU N3350 up to @3,40 GHz₂, RAM 16,0 Giga Byte plus HDD 4600 Gigabyte, VGA Integrated Intel® HD Graphics dengan beberapa aplikasi lainnya seperti KnapSack, PubChem, PDB RSCM, SuperPrediction, Way2DrugDAFT, VegaZZ App, Autodock Tools 4.0, PyMol, Discovery Studio, SwissADME (<http://www.swissadme.ch/index.php>) dan Toxtree (<https://www.toxtree.sourceforge.net>).

Bahan yang digunakan berupa senyawa aktif dari tanaman pegagan (*Centella asiatica* L.) yang potensial sebagai zat antidepresan dan protein target reseptor piperidine E20 dari asetilkolinesterase (PDB ID:4EY7) beserta ligan alaminya yang diperoleh dari pangkalan data *Protein Data Bank* (PDB).

Preparasi Enzim dan Ligan

Preparasi enzim asetilkolinesterase dan ligan uji senyawa yang digunakan dalam penelitian ini dilakukan dengan menggunakan aplikasi Vegazz. Dimana proses preparasi enzim asetilkolinesterase dengan (PDB ID: 4EY7) dilakukan dengan cara memisahkan antara enzim dengan ligan alami (*native* ligan) yang terdapat dalam protein target dan residu-residu yang terdapat pada reseptor asetilkolinesterase. Sedangkan preparasi ligan dilakukan dengan cara mengoptimasi struktur 3D dari masing-masing senyawa ligan uji.

Analisis Protein Target Mekanisme Interaksi Biologis

Potensi senyawa aktif pada tanaman pegagan diketahui dengan cara menghubungkan target protein yang telah diperoleh dari Knapsack (<http://www.knapsackfamily.com>) dengan molekul asetilkolinesterase (AChE) melalui database protein data bank (PDB). Mekanisme interaksi biologis suatu senyawa dapat diketahui dengan menggunakan *discovery studio*. *Discovery studio* merupakan salah satu *software open source* yang digunakan untuk memvisualisasikan jaringan interaksi suatu senyawa secara molecular dan mekanisme biologis.

Analisis Fisikokimia

Identifikasi sifat fisikokimia dari senyawa aktif pegagan didapat dari hasil penelusuran pada yang terkait dengan acuan aturan Lipinski dan program SwissADME online (<http://www.swissadme.ch/index.php>) dilakukan untuk mengetahui analisis ADME dengan cara memasukkan kode SMILES masing-masing senyawa aktif yang diperoleh dari pubchem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>).

Validasi Parameter Docking

Dilakukan pengunduhan reseptor target dari website Protein Data Bank (PDB) (<https://www.rcsb.org>) dengan kode PDB: 4EY7 sebelum dilakukan validasi metode docking, kemudian reseptor tersebut dipreparasi dengan menambahkan atom hidrogen dan muatan parsial. Validasi metode docking dilakukan menggunakan software AutoDock Tools versi 1.5.6 yang dilengkapi dengan AutoDock versi 4.2. Tahapan validasi ini dilakukan antara reseptor asetilkolinesterase dengan ligan alaminya (re-docking). Sehingga akan diperoleh hasil data berupa parameter grid box dan nilai RMSD. Sedangkan parameter keberhasilan validasi metode docking yang diamati adalah nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD). Suatu metode docking dinyatakan valid dan dapat digunakan untuk simulasi docking senyawa pada tanaman pegagan apabila nilai RMSD-nya $< 2 \text{ \AA}$. melalui perlakuan dilakukan redocking (docking ulang) antara ligan alami yang terdapat dalam enzim asetilkolinesterase (PDB ID: 4EY7) (1).

Molecular Docking

Proses molecular docking pada penelitian ini dilakukan menggunakan *software* AutoDock Tools 1.5.6 (ADT 1.5.6). Dimana proses tersebut menggunakan pengaturan parameter grid box dengan koordinat grid box yang ditentukan berdasarkan acuan dari hasil koordinat ligan dari hasil re-docking ligan alami yang digunakan pada proses validasi metode docking, kemudian dilanjutkan dengan proses penambatan senyawa menggunakan *software* AutoDock Tools 1.5.6 (ADT 1.5.6) dan akan menghasilkan data docking berupa energi bebas Gibbs (ΔG), tetapan inhibisi (K_i), dan interaksi residu asam amino.

Visualisasi Hasil Docking

Proses visualisasi atau analisis interaksi dilakukan untuk dapat melihat hasil penambatan antara ligan pembanding dengan ligan uji senyawa yang digunakan. Sehingga setelah proses visualisasi ligan uji akan ditampilkan dalam bentuk 2D dengan menggunakan aplikasi Discovery Studio 2021 Client (DSV 21.0).

Prediksi Farmakokinetika

Analisis sifat farmakokinetik dari senyawa aktif tanaman pegagan yang potensial sebagai antidepresan dilakukan menggunakan aplikasi *online* SwissADME (<http://www.swissadme.ch/>) dengan cara mengcopy kode SMILE senyawa uji dan kontrol positif di Pubchem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>). Kode SMILE yang diperoleh dari setiap senyawa dimasukkan dan klik *run* untuk mendapatkan hasil data prediksi. Analisis sifat farmakokinetik berdasarkan nilai ADME meliputi parameter GI *Absorption*, P-gp, inhibitor CYP1A2, CYP219, CYP2C9, CYP 2D6, CYP34A, LogKp, BBB *permeant* dan *Bioavaibilitas score*.

Prediksi Toksisitas

Uji toksisitas dalam penelitian ini menggunakan *software* Toxtree versi 3.1.0 yang dapat diakses pada (toxtree.sourceforge.net) dengan Parameter yang dilihat pada uji toksisitas ini adalah prediksi parameter Cramer Rules, verhar scheme, Benigni/Bossa rulebase dan Kroes TTC Decision tree dengan cara memasukkan kode SMILES masing-masing senyawa aktif yang diperoleh dari pubchem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Tanaman pegagan memiliki potensi sebagai obat antidepresan karena di dalam tanaman pegagan terdapat beberapa kandungan kimia senyawa golongan triterpenoid (acetylursolic acid, 3-epimaslinic acid, 2 α -hydroxyursolic acid, labiatic acid, madasiatic acid, pomolic acid, centellicin dan asiaticin), flavonoid (kaempferol), saponin, seskuiterpen (beta-caryophyllene) dan minyak esensial esensial (1-Cyclohexyl-11-heneicosanone) (6). Didapatkan informasi data bahwa terdapat tiga senyawa bioaktif tanaman pegagan (*Centella asiatica*) yang berpotensi sebagai antidepresan diperoleh dari hasil analisis *molecular docking* melalui prediksi farmakokinetik dan toksisitas. Dari semua informasi tersebut peneliti melakukan *study*

in silico dengan metode yang digunakan melalui analisis sifat farmakokinetik dan toksisitas suatu senyawa aktif tanaman pegagan menggunakan SwisADME dan aplikasi toxtree.

Docking molekuler

Docking molekuler adalah metode yang digunakan untuk menunjukkan bagaimana gambaran suatu senyawa yang berinteraksi dengan protein target yang digunakan untuk docking dengan cara memprediksi nilai konformasi dan energi ikatannya. Docking molekuler melibatkan proses preparasi makromolekul dan ligan asli untuk mendapatkan struktur makromolekul yang digunakan. Preparasi makromolekul dilakukan penghilangan molekul air pada semua ligan uji untuk menghindari adanya kemungkinan air akan berikatan secara kompleks dengan ligan membentuk ikatan hidrogen sehingga hal tersebut dapat menghambat pada proses docking dan akan membutuhkan waktu yang lama (13). Sehingga untuk menghindari terganggunya proses docking molekuler maka molekul air dan ligan asli harus dihilangkan dari makromolekul melalui proses preparasi. Karena molekul air memiliki kemampuan untuk memediasi interaksi antara ligan dan reseptor, serta hasil docking molekuler yang didapatkan kurang baik karena terdapat kompleksitas perhitungan matematika dalam docking sehingga menyebabkan waktu docking yang diperlukan menjadi lebih lama (14).

Docking dilakukan terhadap senyawa aktif tanaman pegagan yang potensial sebagai zat antidepresan sebanyak 11 senyawa uji dengan reseptor target asetilkolinesterase (PDB ID: 4EY7) dengan ligan alami E20 (1-benzyl-4-[(5,6-dimethoxy-1-indanon-2-yl) methyl] piperidine) sebagai ligan pembandingnya. Adapun pada penelitian ini, *binding affinity* digunakan sebagai parameter utama dalam menentukan kualitas dari hasil docking senyawa molekuler tanaman pegagan (15). Dimana tanaman pegagan diketahui memiliki potensi sebagai obat antidepresan karena di dalam tanaman pegagan mengandung beberapa senyawa golongan triterpenoid, flavonoid, saponin, minyak esensial dan fitosterol seperti acetylursolic acid, beta-caryophyllene, 1-cyclohexyl-11-heneicosanone, 3-epimaslinic acid, 2alpha-hydroxyursolic acid, labiatenic acid, madasiatic acid, pomolic acid, centellicin, kaempferol dan asiaticin. Tanaman pegagan di Indonesia cukup melimpah sehingga dapat digunakan sebagai tanaman obat dalam mengatasi depresi karena diduga golongan senyawa triterpenoid dari tanaman pegagan berpotensi sebagai obat antidepresan (16). Pada penelitian ini dilakukan dengan 11 senyawa aktif yang diambil dari kandungan tanaman pegagan yang diperoleh melalui Web Server Pubchem dan KNApSACK kemudian dilanjutkan pada pencarian hubungan antara senyawa aktif tanaman pegagan dengan protein target reseptor asetilkolinesterase dengan kode (PDB ID: 4EY7). Dari 11 senyawa aktif yang digunakan dalam penelitian ini di dapatkan tiga senyawa aktif pegagan yang memiliki hubungan dengan reseptor target asetilkolinesterase (PDB ID: 4EY7) diantaranya 1-cyclohexyl-11-heneicosanone, madasiatic acid dan asiaticin.

Penambatan molekul merupakan salah satu proses pengikatan suatu molekul kecil atau ligan pada sisi aktif makromolekul atau protein target untuk dapat menghasilkan nilai energi ikatan dengan nilai konstanta dari penambatan yang dibutuhkan oleh ligan uji yaitu (< -10 kcal/mol) (17). Hasil penambatan molekuler dari ligan uji yang digunakan terhadap makromolekul dapat dinyatakan dengan nilai ikatan energi dan nilai konstanta inhibisi. Dimana nilai ikatan energi menunjukkan adanya kestabilan konformasi dan kekuatan ikatan ligan uji dengan makromolekul (18). Adapun hasil penambatan molekuler nilai ikatan energi dari 11 senyawa kimia yang terdapat pada tanaman pegagan memiliki nilai potensi yang baik sebagai terapi antidepresan. Masing-masing dari makromolekul dipilih sebanyak tiga senyawa uji terbaik berdasarkan nilai ikatan energi yang paling kecil dibandingkan dengan ligan native. Karena apabila semakin kecil nilai energi ikatan yang diperoleh akan menunjukkan nilai ikatan yang semakin stabil. Selain itu, parameter dengan nilai konstanta inhibisi akan berbanding lurus dengan nilai ikatan energi.

Interaksi residu antara asam amino yang terbentuk akan mempengaruhi kestabilan pada nilai ikatan energi dan kemiripan pada residu asam amino (*Binding site similarity*) dengan jumlah ikatan antara ikatan hidrogen dan ikatan non-hidrogen serta ligan native dan ligan uji senyawa akan memiliki pengaruh pada hasil energi ikatan. Sehingga area pengikatan makromolekul dengan ligan uji (*binding site*) dapat mempengaruhi konformasi melalui terjadinya kontak antara makromolekul dan ligan uji (14). Sedangkan kesamaan residu asam amino yang terbentuk akan menimbulkan efek farmakologi (13). Analisis interaksi molekuler senyawa aktif yang terkandung dalam pegagan dengan protein target dalam penelitian ini berfungsi untuk mengetahui adanya interaksi secara molekuler dan mekanisme biologis terhadap reseptor target. Berdasarkan hasil penelusuran Strings Database ditemukan terdapat 3 senyawa aktif yang memiliki keterkaitan dengan senyawa target, senyawa aktif tersebut diantaranya 1-cyclohexyl-11-heneicosanone, madasiatic acid dan asiaticin. Reseptor asetilkolinesterase memiliki reseptor target AChE dengan (PDB ID: 4EY7) yang merupakan target penting terkait dengan patogenesis penyakit neurodegeneratif yang memiliki peran dalam transmisi sinaptik yang dapat mendegradasi asetilkolin dan neurotransmitter. Enzim Asetilkolinesterase (AChE) adalah enzim yang bertanggung jawab dalam proses biosintesis neurotransmitter asetilkolin, dimana menurut (19) neurotransmitter mengatur transduksi sinyal pada sambungan neuromuskular dan perilaku motorik serta stimulasi *visceral* yang mendasari fungsi vegetatif dalam sistem saraf otonom. Selain itu enzim Chat berperan penting terkait proses otak dalam belajar, memori, kesadaran, dan tidur (20).

Enzim AChE dengan (PDB ID: 4EY7) ini diklasifikasikan sebagai enzim yang menghidrolisis karboksilat pada ikatan ester dan bersifat tidak mutagenik sehingga digunakan dalam penelitian ini. Sehingga perlu diketahui efektivitas senyawa aktif tanaman pegagan dalam meningkatkan asetilkolin sebagai kontrol positif menggunakan studi *in silico* yaitu dengan metode penelitian secara simulasi komputer berdasarkan hasil database yang telah tersedia. Dengan metode *in silico* ini

memudahkan penelitian melihat secara detail interaksi yang terjadi serta dapat melihat prediksi sifat farmakokinetik dan toksisitas senyawa aktif tanaman pegagan sebagai kandidat obat oral antidepresan. Uji in silico yang telah dilakukan peneliti sebelumnya memberikan wawasan dalam kajian potensi bahan alam sebagai kandidat obat antidepresan. Pernyataan tersebut dapat diartikan bahwa reseptor asetilkolinesterase memiliki peranan penting dalam proses otak mendasar seperti belajar, kesadaran dan tidur. Sehingga penyakit depresi dapat disebabkan oleh kekurangan enzim choline acetyltransferase yang mana enzim tersebut sangat berperan penting dalam produksi asetilkolin (9).

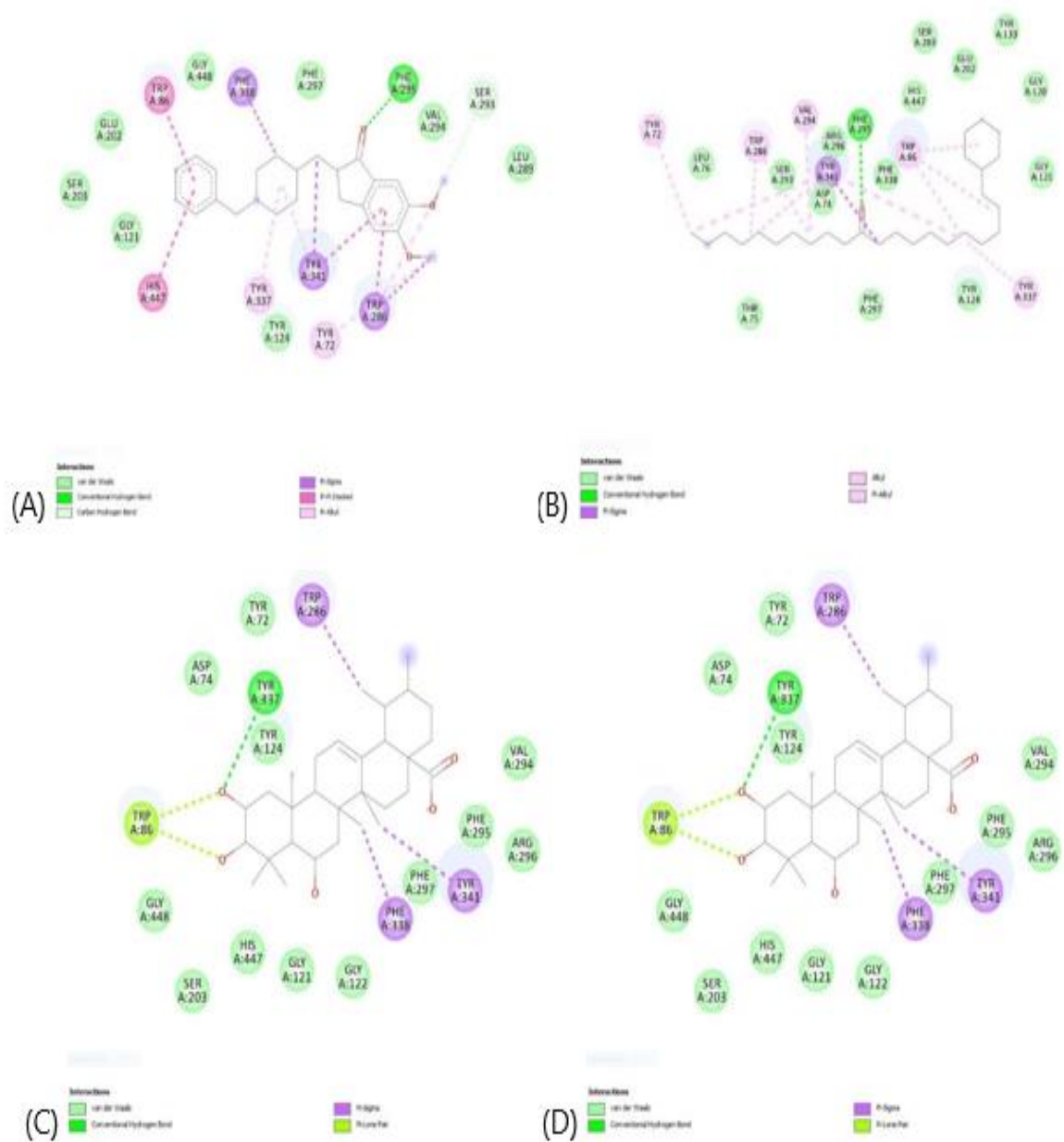
Hasil penelitian menunjukkan bahwa ligan alami berperan sebagai ligan pembanding yang memiliki ikatan spontan dengan reseptor dengan nilai binding affinity yang diperoleh sebesar -11,01 kkal/mol, sedangkan pada hasil semua senyawa uji yang memiliki ikatan paling spontan mendekati ligan alami adalah 1-cyclohexyl-11-heneicosanone sebesar -9,37 kkal/mol, madasiatic acid sebesar -9,43 dan asiaticin sebesar -9,12 kkal/mol pada. Berdasarkan hasil docking molekuler dapat dikatakan bahwa tanaman pegagan memiliki potensi sebagai obat antidepresan. Adapun ligan uji senyawa aktif tanaman pegagan dapat dilihat pada (Tabel.1) yang diperoleh dari web <http://www.knapsackfamily.com/KNAPSAck/>.

Tabel 1. Hasil docking molekuler terhadap ligan uji

Ligan	Binding Affinity (Kkal/mol)
Ligan alami	-11,03
Acetylsalicylic Acid	-4,37
Beta-Caryophyllene	-3,01
1-Cyclohexyl-11heneicosanone	-9,37
3-Epimaslinic acid	-8,71
2alpha-Hydroxyursolic acid	-3,17
Labiatic Acid	-8,69
Madasiatic Acid	-9,43
Pomolic acid	-1,55
Centellicin	-6,77
Kaempferol	-8,02

Selain dilihat dari nilai binding affinity setiap senyawa juga harus dilihat dari interaksi antara ligan uji senyawa tanaman pegagan dengan interaksi antara ligan uji dengan reseptor target yaitu enzim asetilkolinesterase (PDB ID: 4EY7). Hasil interaksi ligan alami dapat dilihat pada tabel 2. Dari tabel tersebut dapat disebutkan bahwa kesamaan residu asam amino pada 1-Cyclohexyl-11-heneicosanone dan E20 yaitu pada jenis ikatan interaksi hidrofobik residu PHE297, HIS44, SER203, GLU202, PHE295, TYR341, TYR337. Sedangkan kesamaan residu asam amino pada Madasiatic Acid dan E20 yaitu pada ikatan hidrofobik residu GLY448, GLY121, PHE297, VAL294, TYR341 dan pada ikatan hydrogen memiliki kesamaan pada residu TYR124. Kesamaan residu asam

amino pada senyawa Asiaticin dan E20 adalah ikatan hydrogen PHE295 dan HIS447 sedangkan pada kesamaan ikatan residu pada hidrofobik SER²⁰³, GLU²⁰², GLY⁴⁴⁸, PHE²⁹⁷, PHE²⁹⁵, SER²⁹³, TYR³⁴¹, HIS⁴⁴⁷, TYR³³⁷ dan TYR⁷² yang dapat dilihat pada (Gambar 1).



Gambar 1. Interaksi 2D enzim asetilkolinesterase dengan ligan alami (A) senyawa 1-Cyclohexyl-11-heneicosanone (B) senyawa madasiatic acid (C) senyawa asiaticin (D)

Tabel 2. Hasil docking molekuler dan interaksi reseptor dengan ligan uji

Senyawa Uji	Binding Affinity (kcal/mol)	Ikatan Hidrogen	Interaksi Hidrofobi						
			Jenis ikatan/ Gaya ikatan	Residu asam amino					
Piperidine	-11,03	PHE293 SER293	Van Der Waals	SER ²⁰³ GLY ⁴⁴⁸ LEU ²⁸⁹	GLU ²⁰² PHE ²⁹⁷	GLY ¹²¹ VAL ²⁹⁴			
			Conventional <i>Hydrogen</i> Bond	PHE ²⁹⁵					
			Carbon <i>Hydrogen</i> Bond	SER ²⁹³					
			Pi-Sigma	TYR ³⁴¹	TRP ²⁸⁶	PHE ³³⁸			
			Pi-Pi Stached	HIS ⁴⁴⁷					
			Pi-Alkyl	TYR ³³⁷	TYR ⁷²				
			1-Cyclohexyl-11-heneicosanone	-9,37	PHE295	Van Der Waals	LEU ⁷⁶ THR ⁷⁵ ARG ²⁹⁶ SER ²⁰³ GLY ¹²⁰	SER ²⁹³ PHE ²⁹⁷ PHE ²⁹⁷ GLU ²⁰²	ASP ⁷⁴ TYR ¹²⁴ HIS ⁴⁴⁷ TYR ¹⁹³
Conventional <i>Hydrogen</i> Bond	PHE ²⁹⁵								
Pi-Sigma	TYR ³⁴¹								
Pi-Alkyl	TYR ³³⁷	TYR ⁷²							
Madasiatic Acid	-9,43	TYR124				Van Der Waals	GLY ⁴⁴⁸ GLY ¹²¹ ARG ²⁹⁶ TYR ¹²⁴	SER ²⁰² GLY ¹²² PHE ²⁹⁵ TYR ⁷²	HIS ⁴⁴⁷ PHE ²⁹⁷ VAL ²⁹⁴ ASP ⁷⁴
						Conventional <i>Hydrogen</i> Bond	TYR ³³⁹		
			Pi-Sigma	TYR ³⁴¹	PHE ³³⁸				
			PI-Lone Pair	TRP ⁸⁶					
			Asiaticin	-9,12	PHE295 HIS447	Van Der Waals	SER ²⁹³ ARG ²⁹⁶ GLY ⁴⁴⁸	LEU ²⁸⁹ SER ²⁰³ PHE ²⁹⁷	TYR ¹²⁴ GLU ²⁰²
Conventional <i>Hydrogen</i> Bond	PHE ²⁹⁵								
Carbon <i>Hydrogen</i> Bond	SER ²⁹³								
Pi-Sigma	TYR ³⁴¹	TRP ²⁸⁶				PHE ³³⁸			
Pi-Pi Stached	HIS ⁴⁴⁷								
Pi-Alkyl	TYR ³³⁷	TYR ⁷²							

Prediksi toksisitas

Uji toksisitas dilakukan untuk mendapatkan informasi atau data tentang toksisitas suatu senyawa aktif tanaman pada hewan uji. Dimana uji toksisitas pada penelitian ini dilakukan terhadap senyawa yang diprediski memiliki energi bebas yang lebih rendah dari energi bebas yang berasal dari native ligan menggunakan software toxtree atau tiga senyawa terbaik hasil docking molekuler. Parameter yang dilihat pada uji toksisitas

ini meliputi prediksi parameter Cramer Rules, Benigni/Bossa Rulebase, kroes TCC Decision tree dan Verhar Scheme. Adapun hasil uji tosisitas dapat dilihat pada (Tabel 2).

Tabel 2. Tabel Prediksi Toksisitas

Senyawa uji	Parameter			
	Cramer Rules	Benigni/Bossa Rulebase	Kroes TCC Decision Tree	Verhare Scheme
1-Cyclohexyl-11-heneicosanone	Class I (Low)	Negatif	Tidak	Kelas I
Madasiatic Acid	Class I (Low)	Negatif	Tidak	Kelas I
Asiaticin	Class I (Low)	Negatif	Tidak	Kelas I

Keterangan:

Cramer Rules = Class I (*Low*); II (*intermediate*); III (*high*)

Benigni/Bossa Rulebase = 1 (Structural alert for *S. thyphimurium* mutagenicity; 2 no alert for *S. thyphimurium* mutagenicity; 3 potential *S. thyphimurium* TA100 based on QSAR)

Kroes TCC Decision Tree = 1 (*Substance would not expected to be safety concern*); 2 (*Negligible risk (low probability of a life-time cancer risk greater than 1 in 106)*); 3 (*risk assessment require compounds specific toxicity data*)

Verhare Scheme = Class 1 (*narcosis or baseline toxicity*), 2 (*less inert compounds*), 3 (*unspesific reactivity*), 4 (*compounds and groups of compounds acting by a specific mechanism*).

Cramer rules merupakan metode yang dilakukan untuk dapat memprediksi toksisitas suatu senyawa uji yang dilihat berdasarkan gugus fungsi senyawa yang berhubungan dalam struktur kimianya. Hasil prediksi menunjukkan bahwa ketiga senyawa termasuk kedalam kategori kelas I (*Low class*), sedangkan senyawa terbaik dikategorikan ke dalam kelas 3 yang menunjukkan toksisitas senyawa yang tinggi dengan tingkat toksisitas yang tidak berbahaya karena memiliki kandungan gugus substituen yaitu karbonil, nitril dan amida. Akan tetapi pada senyawa 1-Cyclohexyl-11-heneicosanone, madasiatic acid dan asiaticin tidak memiliki resiko toksisitas awal karena memiliki gugus mono eter monosiklik, namun bukan gugus epoksida atau peroksi. Parameter Verhaar scheme dapat menggolongkan suatu senyawa menjadi beberapa kelas dengan cara memprediksi reaktivitas dari masing-masing senyawa terhadap reaksi toksisitas.

Seluruh senyawa terbaik dikategorikan pada kelas 5 namun dari semua senyawa di atas tergolong dalam kelas 1 seperti senyawa 1-Cyclohexyl-11-heneicosanone, madasiatic acid, dan asiaticin. Senyawa tersebut termasuk dalam senyawa yang memiliki struktur kimia yang dianggap terjamin keamanannya akan tetapi memungkinkan terjadinya toksisitas yang tidak signifikan karena memiliki gugus fungsi yang tidak reaktif. Menurut hasil parameter Benigni/Bossa Rulebase diperoleh hasil prediksi pada senyawa yang dianggap potensial terhadap terapi antidepresan menunjukkan bahwa seluruh senyawa terbaik dikategorikan sebagai senyawa yang tidak menyebabkan genotoksik dan non genotoksik karsinogenik. Adapun menurut parameter Kroes TCC Decision tree semua senyawa hasil prediksi menunjukkan bahwa seluruh senyawa terbaik merupakan senyawa yang tidak memiliki komponen spesifik

untuk keamanannya sehingga seluruh senyawa memiliki potensi sebagai senyawa yang aman dan berada dalam ambang batas paparan dengan resiko rendah. Berdasarkan hasil prediksi toksisitas senyawa yang memiliki toksisitas rendah pada tanaman pegagan adalah senyawa 1-cyclohexyl-11-heneicosanone, madasiatic acid dan asiaticin, serta hasil prediksi ADME yang memenuhi aturan Lipinski.

Prediksi farmakokinetik dan ADME

Menurut aturan Lipinski untuk dapat mengembangkan dan menemukan suatu kandidat obat oral harus memenuhi lima parameter yang disebut sebagai "*Rule of Five*" yang mana parameter ini berupa berat molekul yang tidak lebih dari 500 Dalton, nilai Log-p (lipofilitas) tidak lebih dari 5, donor ikatan hydrogen tidak lebih dari 5 dan akseptor ikatan hydrogen tidak lebih dari 10 serta indeks bias molar haru antara 40-130 (21). Dimana nilai lipofilitas menunjukkan sifat dari kelarutan suatu senyawa dalam lemak atau air. Sedangkan nilai Log-p menunjukkan bahwa molekul tersebut memiliki tingkat hidrofobifitas yang tinggi yang mana molekul yang sifatnya terlalu hidrofobik akan memiliki tingkat toksisitas yang lebih besar hal ini disebabkan karena obat tersebut akan tinggal dan terikat di lapisan bilayer lebih lama dan akan tyerdistribusi lebih luas di dalam tubuh sehingga selektifitas ikatan terhadap enzim target akan berkurang. Adapun nilai Log-p yang terlalu kecil akan menunjukkan hasil yang kurang baik karena molekulnya tidak dapat melewati membrane lipid bilayer (22).

Tabel 3. Hasil filter lipinski

Senyawa	BM (≤ 500)	Mlog-P (≤ 5)	HBA (≤ 10)	HBD (≤ 5)	MR (40-130)
1-Cyclohexyl-11-heneicosanone	392,70 g/mol	6,3	1	0	129,99
Madasiatic Acid	488,70 g/mol	4,2	5	4	139,24
Asiaticin	312,36 g/mol	3,9	4	0	87,91

Keterangan:

BM = Berat Molekul (< 500 g/mol); Log P = Logaritma oktanol/koeffisien partisi air (< 5);
HBA = *Hydrogen Bond Acceptors* (< 10); HBD = *Hydrogen Bond Donor* (< 5);
TPSA = ($< 130\text{\AA}$) Cetak tebal tidak lulus kriteria

Tabel 4. Hasil Analisis Sifat Farmakokinetik

Senyawa	Absorpsi		Distribusi	Metabolisme				
	Gi Absorption	P-gp Substrat	BBB perment	Inhibitor				
				CYP 1A2	CYP 2C19	CYP 2C9	CYP 2D6	CYP 3A4
1-Cyclohexyl-11-heneicosanone	Rendah	Ya	Tidak	Ya	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak
Madasiatic Acid	Tinggi	Ya	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak
Asiaticin	Tinggi	Tidak	Ya	Ya	Ya	Ya	Ya	Tidak

Keterangan: CYP1A2 (Enzim sitokrom P450 utama, yang kemampuannya dalam mengaktifkan senyawa dengan sifat karsinogenik); CYP2C19 (Enzim ini terlibat dalam proses bioinformasi yang dapat melakukan eliminasi dan inaktivasi suatu zat); CYP2C9 (mampu memodulasi metabolisme obat lain yang dimetabolisme oleh enzim ini); CYP2D6 (Enzim ini dapat melakukan proses biotransformasi agar obat mudah diekskresikan melalui proses oksidasi atau hidrosilasi); CYP3A4 (Enzim ini dapat melakukan biotransformasi obat berdasarkan proses oksidasi, hidrosilasi ataupun dealkilasi)

Berat molekul obat berkaitan dengan proses distribusi obat di dalam tubuh. Dimana proses distribusi obat akan berlangsung menembus membran biologis melewati proses difusi. Sehingga obat dengan berat molekul yang melebihi dari 500 Dalton akan memiliki ukuran yang *relative* besar dan akan berpengaruh terhadap lamanya waktu obat terabsorpsi di dalam tubuh. Lamanya suatu obat terabsorpsi di dalam tubuh dikarenakan obat sulit menembus membrane biologis dan memiliki waktu absorbs yang lebih cepat. Sedangkan nilai donor dan akseptor ikatan hydrogen suatu senyawa obat berkaitan dengan aktivitas biologis suatu molekul obat. Sehingga ikatan hydrogen dapat mempengaruhi sifat fisika kimia suatu senyawa obat (22).

Adapun hasil dari filter Lipinski yang dilakukan pada senyawa pegagan 1-Cyclohexyl-11-heneicosanone, asiaticin dan madasiatic acid dapat dilihat pada (Tabel 3). Dimana semua senyawa yang dianggap potensial harus memenuhi aturan Lipinski dan hasil dari prediksi semua senyawa memiliki berat molekul kurang dari 500 dalton dengan nilai akseptor hidrogen yang tidak lebih dari 10 dan donor hidrogen kurang dari 5. Akan tetapi untuk senyawa yang memiliki lipofilitas kurang dari 5 adalah senyawa Madasiatic Acid dan Asiaticin namun pada senyawa 1-Cyclohexyl-11-heneicosanone lebih dari 5 menyebabkan senyawa akan bersifat lebih hidrofobik dan tertahan lama pada saat proses absorpsi di dalam lapisan lipid bilayer. Hal tersebut menandakan bahwa obat-obat yang sifatnya lipofilik akan terikat dengan protein plasma yang akan dibawa oleh darah keseluruh tubuh (23).

Hasil dari prediksi ADME senyawa Madasiatic Acid dan Asiaticin memiliki kemampuan penyerapan yang tinggi dalam gastrointestinal (HIA) yang dapat memudahkan dalam proses absorpsi di saluran pencernaan, dan dari hasil prediksi ADME semua senyawa tidak berpentasi ke sawar darah otak dan senyawa yang termasuk dalam P-gp substrat adalah Madasiatic Acid dan 1-Cyclohexyl-11-heneicosanone yang dapat mempengaruhi proses distribusi dan bioavailabilitas obat. P-gp memiliki peranan sebagai bentuk adanya interaksi antara obat lipofilik dengan membran lipid bilayer serta melindungi SSP dari xenobiotik. Prediksi distribusi dengan parameter substrat atau penghambat protein P-glikoprotein (P-gp) mampu menentukan penyerapan dan pengeluaran suatu obat. Berdasarkan hasil prediksi semua senyawa terbaik merupakan senyawa yang bersifat non-substrat, karena penetrasi molekul aktif obat tidak terhambat menuju aliran sawar darah otak (22). Sehingga hasil prediksi parameter kinetika menunjukkan bahwa ketiga senyawa aktif dalam tanaman pegagan dikatan memiliki *drug-likeness* yang baik (Tabel 4).

4. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat ditarik kesimpulan bahwa senyawa yang terdapat dalam tanaman pegagan seperti madasiatic acid, 1-Cyclohexyl-11-heneicosanone dan asiaticin diketahui memiliki interaksi atau ikatan afinitas dengan protein target E20 (piperidine) dari reseptor asetilkolinesterase (PDB ID; 4EY7) berdasarkan hasil analisis bioinformatika dan docking molekuler. Hasil prediksi farmakokinetik menunjukkan bahwa tiga senyawa tersebut adalah senyawa terbaik

yang dapat dijadikan kandidat obat karena memiliki absorpsi yang baik pada saluran gastrointestinal dan bukan inhibitor dari enzim CYP1A2, CYP2D6, CYP2C19, CYP2C9, dan CYP3A4 seperti pada senyawa madasiatic acid. Adapun senyawa 1-Cyclohexyl-11-heneicosanone dapat dikatalisis oleh enzim CYP1A2, kaempferol dapat dikatalisis oleh enzim CYP1A2, CYP2D6 dan CYP3A4, sedangkan senyawa asiaticin dapat dikatalisis oleh enzim CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9 dan enzim CYP2D6.

DAFTAR PUSTAKA

1. Baskaran KP, Arumugam A, Kandasamy R, Alagarsamy S. Insilico Method for Prediction of Maximum Binding Affinity and Ligand – Protein Interaction Studies on Alzheimer’S Disease. *Int J Res -GRANTHAALAYAH*. 2020;8(11):362–70.
2. Bahi RRR, Herowati R, Harmastuti N. Studi Biokemoinformatika Kandungan Kimia Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees) sebagai Antihiperqlikemia serta Prediksi Parameter Farmakokinetik dan Toksisitas. *Pharm J Farm Indones (Pharmaceutical J Indones*. 2020;17(2):466.
3. Simanjuntak TD, Noveyani AE, Kinanthi CA. Prevalensi dan Faktor-faktor yang Berhubungan dengan Simtom Depresi pada Penduduk di Indonesia (Analisis Data IFLS5 Tahun 2014 2015) Prevalence and Factors Associated with Depression Symptoms in Indonesian Population (Data Analysis of the 2014-2015 IFLS5). *J Epidemiol Kesehat Indones*. 2022;6(2):97–104.
4. WHO. Gangguan depresi (depresi) [Internet]. WHO. 2023 [dikutip 14 Agustus 2024]. Tersedia pada: https://www-who-int.translate.google/news-room/fact-sheets/detail/depression?_x_tr_sl=en&_x_tr_tl=id&_x_tr_hl=id&_x_tr_pto=tc
5. Saharani, Yuniastuti, Susanti R, WH N. IDENTIFIKASI SENYAWA BIOAKTIF TANAMAN *Syzygium aromaticum* SEBAGAI IMUNOSTIMULAN MELALUI TOLL-LIKE RECEPTOR SIGNALING PATHWAY BERDASARKAN INTERAKSI SENYAWA-PROTEIN SECARA IN SILICO. *Pros Semnas Biol ke-9*. 2021;9(1):310–6.
6. Kartikasari I. Review Artikel : Aktivitas Antidepresan Dari Tanaman Famili Rubiaceae. *J Ilm Farm Farmasyifa*. 2021;4(2):1–11.
7. Luthfiana Hasna V, Muhamad Prayuda E, Valensia R, Putra Tama A, Azzahrawaani Hermawan K, nurfadhila L, et al. Potential of Some DerivativeCompounds and Plants as Antidepresants With Computational Screening Method: A Literature Review. *J Pharm Sci* . 2023;6(1):100–8.
8. Febyan F, Wijaya SH, Tannika A, Hudyono J. Peranan Sitokin pada Keadaan Stres sebagai Pencetus Depresi. *J Penyakit Dalam Indones*. 2020;6(4):210.
9. Mustakim M, Wulandari VF, Khoiriyah NM, Mawardi A, Wulandari RM, Fauziah TF, et al. Investigasi Bahan Aktif Pegagan Berdasarkan Jejaring Dengan Protein Target : Studi Pencarian Obat Alzheimer Secara In Silico Investigation Of Terpenoid From Pegagan Based On Network-Target Protein : Study Of Discovery Drug For Alzheimer Via In Silico. *J Biol Sci [Internet]*. 2022;9(1):122–9. Tersedia pada: <http://ojs.unud.ac.id/index.php/metamorfosa>
10. Reubun YTA, Kumala S, Setyahadi S, Simanjuntak P. Penghambatan Enzim Asetilkolinesterase dari Ekstrak Herba Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb), Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam.) dan Kombinasinya. *Pharm J Farm Indones*

-
- (Pharmaceutical J Indones. 2020;17(2):451.
11. Astuty P, Komari N. Kajian Molecular Docking Senyawa Karwinaphthol B dari Tanaman Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr) sebagai Inhibitor Enzim Glukokinase. *J Nat Sci.* 2022;2(1):1–9.
 12. Rachmania RA, Hariyanti, Susilawati D. Studi Molecular Docking Senyawa Isoflavonoid Dadap Ayam (*Erythrina variegata*) terhadap Reseptor Plasminogen sebagai Agen Trombolitik pada Penyakit Infark Miokard. *J Jamu Indones.* 2022;7(1):12–9.
 13. Sari IW, Junaidin J, Pratiwi D. STUDI MOLECULAR DOCKING SENYAWA FLAVONOID HERBA KUMIS KUCING (*Orthosiphon stamineus* B.) PADA RESEPTOR α -GLUKOSIDASE SEBAGAI ANTIDIABETES TIPE 2. *J Farmagazine.* 2020;7(2):54.
 14. Hermansyah O, Salsabila FJ, Pertiwi R, Versita R, Bengkulu U, Bengkulu U. STUDI IN SILICO SENYAWA TUMBUHAN FAMILI. *Pharma Xplore J Ilm Farm.* 2022;7(2):70–9.
 15. Ruswanto, Nofianti T, Mardianingrum R, Lestari T, Sepriliani A. Desain dan Studi In Silico Senyawa Turunan Kuwanon-H sebagai Kandidat Obat Anti-HIV Design and In Silico Study of Kuwanon-H as Anti-HIV Drug Candidate. *J Kim Val.* 2018;4(1):57–66.
 16. I Nyoman Gargita Ananta Guna, Putu Sanna Yustiantara. Potensi Pegagan (*Centella asiatica*) Sebagai Pengobatan Alzheimer. *Pros Work dan Semin Nas Farm.* 2023;2:277–88.
 17. Sari DRT, Ustiatik R, Azkiyah SZ. Kajian Molekuler Docking Senyawa Kopi Seduh Sebagai Agen Neuroproteksi. *Nat Sci J Penelit Bid IPA dan Pendidik IPA.* 2023;9(1):103–11.
 18. Deviana KZ, Diniatik D. Analisis Penambatan Molekuler dan Prediksi Toksisitas dan ADME Penghambat Enzim Dipeptidil Peptidase IV dari Senyawa Aktif *Momordica charantia* L. sebagai Antidiabetes. *Pharm J Farm Indones (Pharmaceutical J Indones.* 2021;18(2):361.
 19. Coleman JA, Green EM, Gouaux E. X-ray structures and mechanism of the human serotonin transporter. *Nature [Internet].* 2016;532(7599):334–9. Tersedia pada: <http://dx.doi.org/10.1038/nature17629>
 20. Mustakim M, Wulandari VF, Khoiriyah NM, Mawardi A, Wulandari RM, Fauziyah TF, et al. Investigasi Bahan Aktif Pegagan Berdasarkan Jejaring Dengan Protein Target : Studi Pencarian Obat Alzheimer Secara in Silico. *Metamorf J Biol Sci.* 2022;9(1):122.
 21. Lipinski CA, Lombardo F, Dominy BW, Feeney PJ. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Adv Drug Deliv Rev.* 2001;46(SUPPL.):3–26.
 22. Hasan R, I'annah FC, Bahi RRR. Docking Molekuler Senyawa Potensial Daun Kelor (*Moringa oleifera*) Terhadap Reseptor Folat. *J Innov Res Knowl.* 2022;2(2):519–26.
 23. Novianty R. ANALYSIS OF PHARMACOKINETICS, TOXICITY AND DRUG-LIKENESS OF FIVE ARECA NUTS COMPOUNDS AS ANTIDEPRESSANTS IN SILICO. *J Inov Pendidik dan Sains [Internet].* 2023;4(1):61–6. Tersedia pada: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK558907/>