

**STUDI *IN SILICO* AKTIVITAS NEUROPROTEKTIF FRAKSI ETIL
ASETAT DAUN SEMANGGI (*Marsilea crenata* C. Presl) PADA
RESEPTOR 5BTR**

SKRIPSI

**Oleh :
MUHAMMAD ADRIK SYAHIRUL FAHMI
NIM. 15670073**



**PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2023**

**STUDI *IN SILICO* AKTIVITAS NEUROPROTEKTIF FRAKSI ETIL
ASETAT DAUN SEMANGGI (*Marsilea crenata* C. Presl) PADA
RESEPTOR 5BTR**

SKRIPSI

**Diajukan Kepada:
Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi (S.Farm)**

**PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2023**

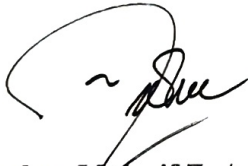
**STUDI *IN SILICO* AKTIVITAS NEUROPROTEKTIF FRAKSI ETIL
ASETAT DAUN SEMANGGI (*Marsilea crenata* C. Presl) PADA
RESEPTOR 5BTR**

SKRIPSI

Oleh:
MUHAMMAD ADRIK SYAHIRUL FAHMI
NIM. 15670073

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji:
Tanggal:

Pembimbing I



Dr. apt. Burhan Ma'arif Z. A, M.Farm.
NIP. 19900221 201801 1 001

Pembimbing II



Ria Ramadhani Dwi Atmaja, S.Kep., NS., M.Kep
NIP. 1985061720091220005

Mengetahui,
Ketua Program Studi Farmasi



apt. Abdul Hakim, M.P.I., M.Farm
NIP. 19761214 200912 1 002

**STUDI *IN SILICO* AKTIVITAS NEUROPROTEKTIF FRAKSI ETIL
ASETAT DAUN SEMANGGI (*Marsilea crenata C. Presl*) PADA
RESEPTOR 5BTR**

SKRIPSI

**Oleh:
MUHAMMAD ADRIK SYAHIRUL FAHMI
NIM. 15670073**

**Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi (S.Farm)
Tanggal:**

**Ketua Penguji : apt. Wirda Anggraini, M. Farm.
NIP. 19930718 20180201 2 205**

**Anggota Penguji : Dr. apt. Burhan Ma'arif Z. A, M.Farm.
NIP. 19900221 201801 1 001**

**: Ria Ramadhani Dwi Atmaja, S.Kep., NS., M.Kep.
NIP. 1985061720091220005**

**: apt. Abdul Hakim, M.P.I., M.Farm.
NIP. 19761214 200912 1 002**

(.....)

(.....)

(.....)

(.....)

**Mengesahkan,
Ketua Program Studi Farmasi**



**apt. Abdul Hakim, M.P.I., M.Farm
NIP. 19761214 200912 1 002**

LEMBAR PERSEMBAHAN

Alhamdulillahirobbil'amin

Dengan senantiasa memanjatkan puji syukur ke hadirat Allah SWT beserta shalawat dan salam kepada baginda Rasulullah Muhammad SAW sehingga bisa menyelesaikan penulisan skripsi ini.

Tak ada kata yang dapat diucapkan, tak ada perilaku yang dapat dilakukan. Dengan rasa syukur yang teramat besar, kupersembahkan tulisan karya ini untuk yang teristimewa kedua orang tua yang tidak pernah berhenti berdoa dan selalu memberikan semangat.

Dan tak lupa untuk keluarga, sahabat, teman-teman dan semua pihak yang turut mendoakan, memberikan semangat dan motivasi agar segera menyelesaikan skripsi ini sehingga dapat memperoleh gelar Sarjana Farmasi. Terimakasih semuanya, semoga Allah membalas segala kebaikan kalian dengan sebaik-baiknya balasan.

Aamiin.

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : M. Adrik Syahirul Fahmi
NIM : 15670073
Program studi : Farmasi
Fakultas : Kedokteran dan Ilmu Kesehatan
Judul Penelitian : Studi *In Silico* Aktivitas Neuroprotektif Fraksi Etil Asetat Daun Semanggi (*Marsilea crenata* C. Presl) Pada Reseptor 5BTR

menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang,

Yang membuat pernyataan



M. Adrik Syahirul Fahmi
NIM. 15670073

MOTTO

"Ilmu tanpa amal adalah kegilaan, dan amal tanpa ilmu adalah kesia-siaan."

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Syukur alhamdulillah, segala puji dan rasa syukur selalu tertuju kepada Allah SWT yang telah memberikan rahmat, nikmat, serta hidayah-Nya, sehingga penulisan skripsi yang berjudul “Studi *In Silico* Aktivitas Neuroprotektif Fraksi Etil Asetat Daun Semanggi (*Marsilea crenata* C. Presl) Pada Reseptor 5BTR” dapat terselesaikan dengan baik dan lancar. Shalawat serta salam tak lupa selalu tucurahkan kepada Nabi Muhammad SAW, yang telah membimbing umat Islam dari zaman jahiliyah menuju zaman yang terang benderang ini.

Penulis dengan rendah hati menyampaikan bahwa selesainya naskah skripsi ini juga atas bantuan dari berbagai pihak yang telah mendukung. Pada kesempatan ini, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. H.M. Zainuddin, MA selaku rektor UIN Maulana Malik Ibrahim Malang periode 2021-2025.
2. Prof. Dr. dr. Yuyun Yueniwati P.W, M.Kes,SP. Rad, (K) selaku Dekan Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. apt. Abdul Hakim, M.P.I., M.Farm selaku Ketua Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
4. Dr. apt. Burhan Ma'arif Z.A, M.Farm. dan Ria Ramadhani Dwi Atmaja, S.Kep., NS., M.Kep selaku dosen pembimbing yang telah memberikan arahan, nasehat, dan motivasi hingga skripsi ini dapat terselesaikan.
5. apt. Wirda Anggraini, M. Farm. selaku penguji utama skripsi yang telah banyak memberikan pengarahan, masukan, dan motivasi kepada penulis.
6. Segenap sivitas akademika Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang, terutama Bapak dan Ibu dosen yang telah membagikan ilmu pengetahuannya.
7. Keluarga, Ayah, Ibu dan Adik-adik tercinta, yang tak pernah berhenti melafalkan doa dan dukungan, baik secara moril maupun materiil.
8. Segenap tim phytoestrogen yang telah memberikan arahan dan semangat untuk terus menuntut ilmu.
9. Teman-teman Farmasi B 2015 dan Pharmajelly yang telah berjuang bersama dari awal.
10. Seluruh pihak yang tak dapat disebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa penulisan naskah ini masih jauh dari kata sempurna. Maka dari itu, perlu adanya kritik dan saran khususnya dari para pembaca. Semoga naskah skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi setiap pembaca, terlebih bagi penulis, Aamiin.

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Malang, Juni 2022

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	
HALAMAN PENGANTAR	
HALAMAN PERSETUJUAN	
HALAMAN PENGESAHAN	
HALAMAN PERSEMBAHAN	
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	
MOTTO	
KATA PENGANTAR	i
DAFTAR ISI.....	ii
DAFTAR GAMBAR	iv
DAFTAR LAMPIRAN	v
DAFTAR SINGKATAN	vi
ABSTRAK.....	vii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	5
1.3 Tujuan Penelitian.....	6
1.4 Manfaat Penelitian.....	6
1.4.1 Manfaat Aplikatif	6
1.4.2 Manfaat Teoritis.....	6
1.5 Batasan Masalah.....	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	8
2.1 Tinjauan Tanaman Semanggi (<i>Marsilea crenata</i> C. Presl).....	8
2.1.1 Klasifikasi Tanaman Semanggi.....	8
2.1.2 Habitat dan Morfologi Tanaman Semanggi.....	9
2.1.3 Kandungan Tanaman Semanggi.....	9
2.1.4 Manfaat Tanaman Semanggi.....	10
2.2 Fitoestrogen.....	10
2.3 Neurodegeneratif.....	11
2.4 Protein 5BTR.....	12
2.5 Hukum Lima Lipinski	12
2.6 Studi <i>In silico</i>	14
2.7 Aplikasi Penunjang.....	16
2.7.1 SwissAdme.....	16
2.7.2 Avogadro 1.0.1	17
2.7.3 AutoDock Vina	17
2.7.4 Biovia Discovery Studio Visualizer 2016.....	18
2.8 Interaksi Obat-Reseptor	19
2.8.1 Ikatan Kovalen	19
2.8.2 Ikatan Ion	19
2.8.3 Interaksi Ion-Dipol dan Dipol-dipol.....	20
2.8.4 Ikatan Hidrojen.....	20
2.8.5 Ikatan Van der Waals	21
2.8.6 Ikatan Hidrofob	21

2.8.7 Transfer Muatan	22
2.9 Hasil <i>Metabolite profiling</i> fraksi etil asetat daun semanggi	22
BAB III KERANGKA KONSEPTUAL	24
3.1 Bagan Kerangka Konseptual.....	24
3.2 Uraian Kerangka Konseptual	25
3.3 Hipotesis.....	25
BAB IV METODE PENELITIAN	26
4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian.....	26
4.2 Waktu dan Tempat	26
4.3 Sampel Penelitian	26
4.4 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional	27
4.4.1 Variabel Penelitian	27
4.4.2 Definisi Operasional.....	27
4.5 Alat dan Bahan.....	28
4.5.1 Alat.....	28
4.5.2 Bahan.....	29
4.6 Prosedur Penelitian.....	29
4.6.1 Preparasi Fisikokimia	29
4.6.2 Uji <i>In silico</i>	29
4.7 Skema Alur Penelitian.....	30
4.8 Analisis data.....	31
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN.....	32
5.1 Skrining dan Prediksi Analisis Fisikokimia.....	32
5.2 Uji <i>In Silico</i>	36
5.2.1 Preparasi Sampel	36
5.2.2 Preparasi Protein Reseptor	37
5.2.3 <i>Molecular Docking</i>	38
5.3 Potensi Neuroprotektif dari Daun Semanggi.....	40
5.4 Pemanfaatan Tanaman dalam Pandangan Al'Qur'an.....	41
BAB VI PENUTUP.....	43
DAFTAR PUSTAKA	44
LAMPIRAN	51

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 <i>Marsilea crenata</i> C. Presl	8
Gambar 2.2 Tampilan website SwissADME.....	16
Gambar 2.3 Tampilan <i>software</i> Avogadro	17
Gambar 2.4 Tampilan <i>software</i> AutoDock Vina.....	18
Gambar 2.5 Tampilan <i>software</i> Biovia Discovery Studio Visualizer 2016.....	19
Gambar 5.1 Gambaran senyawa dengan TPSA ≤ 79 Å dengan BBB.....	35
Gambar 5.2 Optimasi geometri menggunakan <i>software</i> Avogadro	37
Gambar 5.3 Protein 5BTR dengan ligan resveratrol.....	37

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Hasil <i>metabolite profiling</i> senyawa fraksi etil asetat daun semanggi.	51
Lampiran 2.	Prosedur Skrining dan Prediksi Analisa Fisikokimia	68
Lampiran 3.	Prosedur Preparasi Sampel	69
Lampiran 4.	Preparasi Protein Reseptor	69
Lampiran 5.	Prosedur <i>Molecular Docking</i>	70

DAFTAR SINGKATAN

Å	: Angstrom
Asp	: Aspirin
BBB	: <i>Blood Brain Barrier</i>
BM	: Berat molekul
DCM	: Diklorometan
HBA	: <i>Hydrogen Bond Acceptors</i>
HBD	: <i>Hydrogen Bond Donors</i>
HMC3	: <i>Human Microglial Clone 3</i>
Ilβ	: <i>Interleukin Beta</i>
Lys	: Lysine
MTL	: Metanol
NF-kβ	: <i>Nuclear Factor-kappaβ</i>
RIA	: <i>radioimmunoassay</i>
RMSD	: <i>Root Mean Square Deviation</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
SMILES	: <i>Simplified Molecular-Input Line-Entry System</i>
TNFα	: <i>Tumor Necrosis Factor Alpha</i>
TPSA	: <i>Topological Polar Surface Area</i>
TSH	: Tearpi sulih hormon
WHO	: <i>World Health Organization</i>

ABSTRAK

Fahmi, M. Adrik S. 2022. Studi *In Silico* Aktivitas Neuroprotektif Fraksi Etil Asetat Daun Semanggi (*Marsilea Crenata* C. Presl) Pada Reseptor 5BTR. Skripsi. Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing I: Dr. apt. Burhan Ma'arif Z.A, M.Farm. ; Pembimbing II: Ria Ramadhani Dwi Atmaja, S.Kep., NS., M.Kep. ; Penguji: apt. Wirda Anggraini, M. Farm

Neurodegeneratif merupakan suatu kondisi patologis pada sel saraf dimana sel ini mengalami kehilangan fungsi normal karena terjadi perubahan secara morfologi maupun anatomi. Alternatif pengobatan penyakit neurodegeneratif dapat menggunakan senyawa fitoestrogen, karena memiliki struktur serta aktivitas yang mirip dengan estrogen. Penelitian ini bertujuan untuk memprediksi aktivitas neuroprotektif dari senyawa *metabolite profiling* fraksi etil asetat daun semanggi pada protein 5BTR. Tahap awal dilakukan skrining dan prediksi analisis fisikokimia berdasarkan letak senyawa pada *Boiled-Egg* dan hukum 5 lipinski menggunakan *webtool* SwissAdme. Senyawa yang memenuhi kriteria fisikokimia selanjutnya dilakukan *molecular docking* menggunakan *software* PyRx 0.8 dengan metode AutoDock Vina dan hasilnya dianalisis menggunakan *software* Biovia Discovery Studio Visualizer 2016. Hasil dari uji *in silico* didapatkan 2 kandidat senyawa yaitu MTL7 (3,4,5-Trimethoxy-N-(4-pyridinylmethyl)benzamide) dan MTL23 (1-Ethyl-3-piperidinyl diphenylacetate), karena memiliki parameter yang mirip dengan ligan resveratrol yaitu nilai binding affinity berkisar -6, mengikat asam amino Lys 444 dan Asp 292 atau Asp 298, RMSD berkisar 1,062 serta jarak farmakofor berkisar 10,984 Å.

Kata kunci: daun semanggi, fitoestrogen, *in silico*, 5BTR, neurodegeneratif

ABSTRACT

Fahmi, M. Adrik S. In Silico Study of Neuroprotective Activity of Semanggi Leaf Ethyl Acetate Fraction (*Marsilea Crenata* C. Presl) on 5BTR Receptors. Essay. Department of Pharmacy, Faculty of Medicine and Health Sciences. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Advisor I: Dr. apt. Burhan Ma'arif Z.A, M.Farm. Advisor II: Ria Ramadhani Dwi Atmaja, S.Kep., NS., M.Kep. Examiner: apt. Wirda Anggraini, M. Farm.

Neurodegenerative is a pathological condition in which nerve cells lose their normal function due to morphological and anatomical changes. Alternative treatment for neurodegenerative diseases can use phytoestrogen compounds, because of their similarity in structure and activity to estrogen. This study aims to predict the neuroprotective activity of the metabolite compound profiling of semanggi leaf ethyl acetate fraction on 5BTR protein. The initial stage is screening and predicting physicochemical analysis based on the location of the compound on the Boiled-Egg and Lipinski's 5th law using the SwissAdme webtool. Compounds that met the physicochemical criteria were then subjected to molecular docking using PyRx 0.8 software with the AutoDock Vina method and the results were analyzed using the Biovia Discovery Studio Visualizer 2016 software. The results of the in silico test obtained 2 candidate compounds, namely MTL7 (3,4,5-Trimethoxy-N-(4-pyridinylmethyl)benzamide) and MTL23 (1-Ethyl-3-piperidinyl diphenylacetate). because it has similar parameters to resveratrol ligand with binding affinity values ranging from -6, binding amino acids Lys 444 and Asp 292 or Asp 298, RMSD ranging from 1.062 and pharmacophore distance ranging from 10,984 Å.

Keywords: semanggi leaf, phytoestrogens, in silico, 5BTR, neurodegenerative

مستخلص البحث

فهمي محمد أدرك س. 2022. دراسة في السيليكو للنشاط الوقائي العصبي لجزء خللات إيثيل أوراق البرسيم (*Marsilea Crenata C. Presl*) على مستقبلات 5BTR. بحث جامعي. قسم الصيدلة، كلية الطب والعلم الصحي، جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج. المشرف 1: د. صيدلي برهان معارف ز. أ.؛ المشرفة 2: ريا رمضان دوي أتماجا، الماجستير؛ المناقشة: صيدلية وردا أنجرايني، الماجستير.

التنكس العصبي هو حالة مرضية في الخلايا العصبية حيث تفقد وظيفتها الطبيعية بسبب التغيرات المورفولوجية أو التشريحية. يمكن أن يستخدم العلاج البديل للأمراض التنكسية العصبية مركبات الاستروجين النباتية، لأن لها تركيباً ونشاطاً مشابهاً للإستروجين. يهدف هذا البحث إلى التنبؤ بالنشاط الوقائي العصبي لمركب المستقلب لتحديد جزء أسيتات إيثيل أوراق البرسيم على بروتين 5BTR. المرحلة الأولى هي فحص التحليل الفيزيائي الكيميائي والتنبؤ به استناداً إلى موقع المركب في نموذج *Boiled-Egg* وقانون *Lipinski* الخامس باستخدام أداة الويب *SwissAdme*. ثم تعرضت المركبات التي تفي بالمعايير الفيزيائية والكيميائية للالتحام الجزيئي باستخدام برنامج *PyRx 0.8* مع طريقة *AutoDock Vina* وتم تحليل النتائج باستخدام برنامج *Biovia Discovery Studio Visualizer 2016*. حصلت نتائج اختبار السيليكو على مركبين مرشحين، وهما MTL7 (4-N-Trimethoxy-3,4,5) و MTL23 (1-Ethyl-3-piperidinyl-benzamide(pyridinylmethyl diphenylacetate)) لأن لهما معلمات شبيهة بروابط ريسفيراترول، وهي قيم تقارب ملزمة تتراوح من -6، والأحماض الأمينية الملزمة Lys 444 و Asp 292 أو Asp 298، و RMSD تتراوح من 1.062 ومسافة الصيدلانية حوالي 10984 Å.

الكلمات الدالة: البرسيم، فيتوستروجين، في السيليكو، 5BTR، التنكس العصبي

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Menopause merupakan salah satu tahapan pada kehidupan wanita yang ditandai dengan berhentinya proses menstruasi selama 12 bulan terakhir yang menyebabkan penurunan hingga hilangnya produksi estrogen dan fase ini dimulai sekitar usia 40-50 tahun (Cassidy *et al*, 2006; Proverawati, 2010). WHO memperkirakan bahwa 1,2 miliar wanita akan memasuki tahap pascamenopause pada tahun 2030, 80% di antaranya ada di negara berkembang (Sullelu, 2010). Defisiensi estrogen atau penurunan produksi estrogen menyebabkan beberapa keluhan pada wanita pascamenopause seperti penyakit kardiovaskuler, osteoporosis, penurunan memori, psikologis dan penurunan fungsi kognitif pada sistem saraf pusat yang mengakibatkan terjadinya neurodegeneratif (Varshney dan Nalvarte, 2017; Zulkarnain, 2015).

Neurodegeneratif merupakan suatu kondisi patologis pada sel saraf dimana sel ini mengalami kehilangan fungsi normal karena terjadi perubahan secara morfologi maupun anatomi (Kovacs, 2014). Neurodegeneratif juga dapat disebabkan seperti perubahan biokimia, genetik atau peningkatan radikal bebas sehingga terjadi neuroinflamasi pada sel saraf (Kovacs, 2016). Neurodegeneratif diprediksi akan terjadi peningkatan hampir 2 kali lipat serta didominasi oleh para wanita pada tahun 2050 (Prince *et al.*, 2015). Penderita neurodegeneratif biasanya akan mengalami gangguan memori dan pergerakan (Bertram *et al.*, 2005).

Salah satu terapi neurodegeneratif yang sering digunakan oleh banyak kalangan karena memiliki efektivitas yang tinggi adalah Terapi Sulih Hormon (TSH) (Rachman *et al.*, 2004). Penggunaan TSH dengan estrogen dapat menggantikan estrogen pada penderita, akan tetapi penggunaan jangka panjang TSH dapat meningkatkan resiko terkena kanker payudara dan kanker endometrium, stroke, demensia, dan *coronary event* (Cosetta, *et al.*, 2004; Constantine, 2013; Lee *et al.*, 2013). Dari dampak adanya efek samping dari terapi tersebut perlu dilakukan pengobatan secara tradisional yaitu penggunaan fitoestrogen yang terdapat pada tanaman sehingga lebih aman dan mempunyai efek yang sama (Alldredge *et al.*, 2013).

Pengobatan tradisional seperti fitoestrogen merupakan pengobatan alternatif yang memanfaatkan tanaman berkhasiat. Penelitian tentang pengobatan tradisional didukung dengan firman Allah dalam Q.S. Asy-Syu'ara ayat 7:

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ

Artinya : “Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya kami tumbuhkan di bumi berbagai macam tumbuhan yang baik”

Pada ayat ini Allah mengajak kita untuk belajar dari alam, agar mereka tahu bahwa hanya Allah saja yang berhak untuk disembah. Dan apakah orang-orang musyrik itu tidak memperhatikan apa yang mereka lihat di hamparan bumi, betapa banyak Allah tumbuhkan di bumi itu berbagai macam pasangan tumbuh-tumbuhan yang baik yang membawa banyak sekali kegunaan dan manfaat bagi manusia. Bukankah itu pertanda atas kekuasaan Allah, dan anugerah-Nya yang tak terhingga kepada manusia. Pada yang demikian itu terdapat tanda kebesaran Allah yang

mampu menghidupkan tanah yang gersang, menciptakan berbagai macam tanaman, dan tumbuh-tumbuhan (Al-Qur'an Kemenag)

Fitoestrogen adalah senyawa yang memiliki struktur bahkan aktivitas yang menyerupai dengan estrogen yang ditemukan dalam tanaman (Sirotkin and Harrath, 2014). Fitoestrogen berperan dalam menstabilkan fungsi hormonal yakni dengan cara menghambat aktivitas estrogen yang berlebihan dan juga dapat mensubstitusi estrogen ketika kadar dalam tubuh rendah (Tagliferri and Tripathy, 2006). Fitoestrogen sangat beragam dari segi struktur, kekuatan estrogenik, dan ketersediaan sumber-sumber pada tanaman seperti kedelai, sereal, dan biji-bijian (Helmy *et al.*, 2014).

Salah satu tanaman yang diduga memiliki senyawa fitoestrogen adalah Semanggi (*Marsilea crenata* C. Presl). Semanggi merupakan salah satu tanaman unik yang tumbuh di Jawa Timur Indonesia. Daunnya banyak digunakan sebagai bahan makanan. Semanggi adalah tanaman yang biasanya tumbuh di lingkungan perairan. Semanggi memenuhi ketiga aspek kandungan senyawa sebagai fitoestrogen, yaitu senyawa yang berasal dari tanaman yang memiliki kemiripan fungsi, struktur atau dapat berikatan dengan *estrogen receptor*- β (ER- β) sehingga memiliki efek yang serupa (Yang *et al.*, 2012). Salah satu hasil dari uji aktivitas *in silico*, *in vitro*, dan *in vivo* daun semanggi menunjukkan bahwa ekstrak etanol 96%, fraksi n-heksana dan fraksi etil asetat memiliki afinitas yang tinggi terhadap ER β (Aditama *et al.*, 2020), dapat menginduksi proses proliferasi dan diferensiasi osteoblas, sehingga dapat meningkatkan kepadatan tulang (Ma'arif *et al.*, 2016),

dan memiliki aktivitas neuroinflamasi pada sel mikroglia HMC3 (Salmasfattah, 2019),

Seiring berkembangnya ilmu pengetahuan dan teknologi, peneliti lebih mudah dalam mengembangkan atau menemukan obat baru yang berasal dari tanaman seperti senyawa fitoestrogen. Untuk mengembangkan obat baru perlu dilakukan analisis fisikokimia dengan menggunakan SwissADME berdasarkan Hukum Lima Lipinski, yang merupakan aturan untuk menentukan suatu senyawa sehingga dapat digunakan sebagai obat untuk manusia (Lipinski *et al.*, 2012). Untuk pengujian prediksi aktivitas senyawa dapat dilakukan dengan menggunakan aplikasi berbasis komputasi yang disebut dengan uji *in silico*.

In silico merupakan metode untuk mengupayakan pendekatan kondisi nyata ke dalam simulasi berbasis komputer dengan menggunakan program tertentu (Suharna, 2012). Keuntungan menggunakan uji *in silico* yaitu dapat menghemat biaya dan waktu serta dapat menjelaskan mekanisme suatu senyawa yang masuk ke dalam tubuh dengan secara jelas (Wadood *et al.*, 2013). Pendekatan *in silico* dilakukan dengan *molekular docking* yaitu pembelajaran komputasi ligan atau obat yang akan berikatan dengan protein target. Tujuan *molekular docking* adalah memberikan prediksi terhadap struktur kompleks ligan-reseptor dengan metode komputasi (Meng *et al.*, 2011). *Molecular docking* dilakukan menggunakan aplikasi AutoDock Vina. AutoDock Vina digunakan untuk memproses penambatan lebih dari satu molekul sekaligus serta meminimalkan ukurannya agar proses docking tidak terlalu lama serta mendapatkan *score docking* dari hasil interaksi suatu molekul ligan dengan reseptor (Trott and Olson, 2009).

Protein yang digunakan dalam penelitian ini adalah 5BTR. 5BTR merupakan protein yang dapat berikatan dengan resveratrol dan termasuk salah satu kode ID dari sirtuin 1. Sirtuin 1 merupakan salah satu anggota dari tujuh keluarga protein yang berfungsi dalam respons seluler terhadap stresor inflamasi, metabolik, dan oksidatif. Senyawa yang akan di *docking* dengan protein 5BTR yaitu senyawa hasil *metabolite profiling* fraksi etil asetat daun semanggi.

Berdasarkan uraian diatas perlu dilakukan pengujian secara *in silico* untuk mengetahui prediksi aktivitas dari hasil *metabolite profiling* fraksi etil asetat daun semanggi yang di *docking* dengan protein 5BTR sehingga dapat diketahui aktivitasnya sebagai neuroprotektif. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui senyawa yang memenuhi sifat fisikokimia berdasarkan hukum Lima Lipinski serta dilakukan prediksi senyawa yang dapat berikatan dengan protein 5BTR. Penelitian ini diharapkan dapat memotivasi para pembaca untuk mendalami potensi dari daun semanggi sebagai neuroprotektif.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka peneliti menyusun rumusan masalah yaitu

1. Apakah terdapat senyawa fitoestrogen pada hasil *metabolite profiling* fraksi etil asetat daun semanggi yang diprediksi bersifat agonis protein 5BTR memenuhi hukum lima Lipinski?

2. Apakah terdapat senyawa fitoestrogen pada hasil *metabolite profiling* fraksi etil asetat daun semanggi yang diprediksi bersifat agonis terhadap protein 5BTR dengan *native ligan* resveratrol?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian adalah

1. Untuk membuktikan terdapat senyawa fitoestrogen pada hasil *in silico* fraksi etil asetat daun semanggi yang diprediksi bersifat agonis protein 5BTR memenuhi hukum lima Lipinski.

2. Untuk membuktikan terdapat senyawa fitoestrogen pada hasil *metabolite profiling* fraksi etil asetat daun semanggi yang diprediksi bersifat agonis terhadap *native ligan* resveratrol pada protein 5BTR.

1.4 Manfaat Penelitian

Berdasarkan latar belakang tersebut, manfaat yang dapat diambil dari penelitian ini adalah :

1.4.1 Manfaat Aplikatif

Dapat memberi pengetahuan kepada masyarakat akan kandungan yang terdapat pada daun *M. crenata*.

1.4.2 Manfaat Teoritis

Diharapkan dapat sebagai pembuktian bahwa terdapat senyawa fitoestrogen pada hasil *metabolite profiling* fraksi etil asetat daun semanggi yang bersifat agonis terhadap resveratrol pada protein 5BTR.

1.5 Batasan Masalah

1. Senyawa fitoestrogen yang digunakan menggunakan hasil *metabolite profiling* fraksi etil asetat daun semanggi.
2. Protein yang digunakan untuk berikatan dengan resveratrol adalah 5BTR.
3. *Software* yang digunakan meliputi AutoDock Vina, *Biovia Discovery Studio Visualizer* 2016, Avogadro, PyRx 0.8.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Tanaman Semanggi (*Marsilea crenata* C. Presl)

Semanggi (*M. crenata*) merupakan tanaman air yang banyak terdapat di lingkungan air tawar seperti sawah, danau, dan sungai. Semanggi memiliki beberapa nama lain seperti jukut calingcingan (Sunda), tapak itek (Malaysia), upat-upat (Filipina), chutul phnom (Kamboja), pak vaen (Laos), phak waen (Thailand), dan *water clover fern* (Inggris) (Afriastini, 2003).

2.1.1 Klasifikasi Tanaman Semanggi

Kingdom : Plantae

Subkingdom : Tracheobionta

Division : Pteridophyta

Class : Filicopsida

Order : Hydropteridales

Family : Marsileaceae

Genus : *Marsilea* L.

Species : *Marsilea crenata* C. Presl.



Gambar 2.1 *Marsilea crenata* C. Presl (Ma'arif *et al.*, 2016).

2.1.2 Habitus dan Morfologi Tanaman Semanggi

Semanggi tumbuh tersebar di Asia Tenggara pada daerah yang mempunyai ketinggian 900 meter di atas permukaan air laut dan umumnya tumbuh merambat di lingkungan perairan dengan tangkai mencapai 20 cm dan bagian yang muncul ke permukaan air setinggi 3-4 cm (Afriastini, 2003). Batang tegak dan mudah dipatahkan dengan tinggi 2 hingga 18 cm, bersifat heterospora yaitu spora jantan dan betina dalam satu tumbuhan (Saleh, 2017). Akar pada tanaman semanggi tertanam dalam substrat di dasar perairan (Afriastini, 2003).

Semanggi mampu hidup pada kisaran tanah yang tergolong liat, memiliki tingkat kesuburan yang baik, pH mendekati netral, dan pengairan yang cukup, *M. crenata* dapat dijumpai pada lahan basah maupun saluran irigasi sawah yang merupakan habitat aslinya, akar tanaman semanggi berbeda dengan tanaman air lain yang mengapung di air melainkan melekat pada tanah habitat yang merupakan tanah alfisol (Hidayati, 2017).

2.1.3 Kandungan Tanaman Semanggi

Daun dan batang semanggi mengandung alkaloid, saponin dan polifenol (Herlina, 2011). Tanaman Semanggi segar terdapat kandungan fitokimia berupa gula pereduksi, steroid, kandungan karbohidrat, dan flavonoid. Semanggi banyak memiliki senyawa yang bersifat folatil diantaranya yaitu monoterpenoid, diterpenoid, dan beberapa kelompok asam amino yang memiliki aktivitas (Yacoeb *et al.*, 2010; Titisari, 2016). Salah satu asam amino yang terdapat pada semanggi yang memiliki aktivitas antiosteoporosis yaitu asam palmitat (Ma'arif *et al.*, 2016).

2.1.4 Manfaat Tanaman Semanggi

Daun semanggi oleh masyarakat dimanfaatkan sebagai sayuran untuk dikonsumsi sehari-hari (Ma'arif, 2012). Daun dan batang semanggi bisa digunakan untuk pencahar air seni (Afriastini, 2003), bisa sebagai antioksidan (Nurjanah *et al.*, 2010), bisa mencegah osteoporosis (Laswati, 2011) dan konsentrasi senyawa seperti estradiol dalam semanggi menggunakan *radioimmunoassay* (RIA) terdeteksi memiliki potensi dalam menghambat peningkatan ketidakseimbangan proses remodeling tulang pada wanita pascamenopause (Laswati, 2001; Yang *et al.*, 2012; Ososki *et al.*, 2003).

2.2 Fitoestrogen

Fitoestrogen adalah senyawa yang memiliki struktur senyawa bahkan aktivitas yang menyerupai dengan estrogen maupun estradiol yang ditemukan dalam mamalia (Sirotkin and Harrath, 2014). Fitoestrogen sendiri dapat ditemukan dalam tanaman seperti semanggi, kedelai maupun kacang-kacangan lainnya (Michael *et al.*, 2013). Fitoestrogen merupakan dekomposisi alami yang ditemukan pada tanaman yang memiliki banyak kesamaan dengan estradiol, bentuk alami estrogen yang paling poten (Jefferson *et al.*, 2002). Fitoestrogen merupakan alternatif pengganti estrogen yang potensial tanpa memiliki efek samping yang berbahaya (Ososki and Kennelly, 2003; Villiers, 2009; Yang *et al.*, 2012). Istilah fitoestrogen berhubungan dengan beberapa kelas senyawa kimia seperti flavon, flavanon, isoflavon, coumestan, dan lignan (Pradyptasari *et al.*, 2013). Fitoestrogen

akan berinteraksi dengan ER- β dengan demikian akan mempengaruhi efek estrogenik (Kuiper *et al.*, 1998).

2.3 Neurodegeneratif

Neurodegeneratif merupakan kondisi patologis pada sel saraf dimana sel saraf tersebut mengalami kehilangan struktur atau fungsi sebenarnya secara progresif (Kovacs *et al.*, 2014). Prevalensi dari penyakit tersebut semakin meningkat setiap tahunnya, yaitu 74,7 juta jiwa pada tahun 2030 serta 131,5 juta jiwa pada tahun 2050, dimana mayoritas penderitanya adalah wanita pascamenopause (Prince *et al.*, 2015).

Proses neurodegenerasi ini terjadi disebabkan oleh berkurangnya sel-sel neuron pada struktur saraf, seperti halnya yang terdapat pada penyakit neurodegeneratif otak. Penderita neurodegenerasi umumnya akan mengalami gangguan memori dan pergerakan (Bertram *et al.*, 2005). Penyakit tersebut seringkali dikarakterisasi dengan penumpukan beta amiloid yang berlebih. Beta amiloid ini bersifat neurotoksik dan dapat menyebabkan kematian pada sel-sel saraf yang dikarakterisasi oleh sel-sel saraf yang degeneratif. Selanjutnya juga disebutkan bahwa neurodegeneratif dapat terjadi karena beberapa penyebab diantaranya yaitu perubahan biokimia, genetik maupun peningkatan radikal bebas penyebab terjadinya stress oksidatif yang merujuk pada terjadinya mekanisme neuroinflamasi pada sistem sel saraf (Kovacs, 2016).

2.4 Protein 5BTR

Protein 5BTR merupakan protein yang dapat berikatan dengan resveratrol dan termasuk salah satu kode ID dari sirtuin 1. Sirtuin adalah protein deasetilase atau ADP ribosil transferase yang memiliki rentang target yang luas pada protein seluler dalam inti sel, sitoplasma dan mitokondria (Saunders and Verdin, 2007). Sirtuin secara garis besar banyak ditemukan pada eubakteria, spesies arachea dan eukariotik, tapi pada prokariotik (eubakteria) dan spesies aracheae hanya terdapat 1 atau 2 homolog sirtuin saja, sedangkan pada manusia (eukariotik) terdapat banyak macam homolog Sirtuin, sampai saat ini baru diketahui 7 macam dan keseluruhan merupakan protein bebas Nikotinamid Adenin Dinukleotid (NAD)-deasetilase. Sirtuin diketahui dapat memodulasi kadar *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang bersifat sebagai restriksi pada kalori dan dapat meningkatkan kualitas hidup pada kebanyakan makhluk hidup (Merksamer *et al.*, 2013). SIRT1 adalah salah satu anggota dari tujuh keluarga protein yang berfungsi dalam respons seluler terhadap stresor inflamasi, metabolik, dan oksidatif. SIRT1 memiliki peran dalam NAD + deasetilasi yang berikatan dengan histon. Selain itu, SIRT1 juga berpartisipasi dalam plastisitas saraf, fungsi kognitif, dan degenerasi saraf (Ng *et al.*, 2015).

2.5 Hukum Lima Lipinski

Hukum Lima Lipinski ditemukan oleh Christopher A. Lipinski pada tahun 1997. Hukum Lima Lipinski merupakan suatu aturan untuk mengevaluasi maupun menentukan keserupaan suatu senyawa dengan aktivitas farmakologis atau biologis, sehingga senyawa tersebut memiliki sifat yang kemungkinan aktif secara oral pada

manusia (Kalidasu and Kuna, 2012). Menurut hukum ini terdapat beberapa kriteria, diantaranya yaitu senyawa obat harus memiliki berat molekul (BM) ≤ 500 g/mol, nilai $\log P \leq 5$, nilai *Hydrogen Bond Donors* (HBD) ≤ 5 , dan nilai *Hydrogen Bond Acceptors* (HBA) ≤ 10 . Penelitian lebih lanjut telah menambahkan dua kriteria lagi sehingga bioavailabilitas oral suatu obat menjadi lebih baik. Kriteria tersebut antara lain: *Topological Polar Surface Area* (TPSA) dengan nilai ≤ 140 Å dan ikatan hidrogen yang berotasi (Torsion) dengan nilai ≤ 10 (Lipinski *et al.*, 2012).

Proses distribusi obat yang menembus membran biologis berkaitan dengan berat molekul suatu senyawa. Senyawa yang memiliki berat molekul yang besar tidak dapat menembus membran sel (La Kilo *et al.*, 2019). Berat molekul suatu senyawa bergantung pada jumlah atom yang menyusunnya. Apabila semakin banyak atom yang menyusunnya maka semakin besar juga berat molekulnya, begitu juga sebaliknya apabila semakin sedikit atom yang menyusunnya maka semakin kecil juga berat molekulnya (David, 2002).

Log P dikenal sebagai salah satu parameter utama untuk estimasi lipofilisitas senyawa kimia dan menentukan sifat farmakokinetiknya (Saha and Pal, 2017). Log P digunakan untuk menentukan kelarutan lemak dalam air dengan rentang -0,4 hingga 5,9. Semakin besar nilai log P, maka semakin hidrofobik senyawa tersebut. Senyawa yang memiliki sifat terlalu hidrofobik cenderung memiliki tingkat toksisitas yang tinggi karena akan tertahan lebih lama pada lipid bilayer dan terdistribusi lebih luas di dalam tubuh sehingga selektivitas ikatan terhadap enzim target menjadi berkurang. Sedangkan apabila nilai log P yang terlalu negatif juga

tidak baik karena jika molekul tersebut tidak dapat melewati membran lipid bilayer (Syahputra *et al.*, 2014).

Nilai donor dan akseptor ikatan hidrogen berkaitan dengan aktivitas biologis dari suatu obat. Perubahan sifat kimia-fisika senyawa, seperti titik didih, titik lebur, dan kelarutan dalam air dipengaruhi oleh ikatan hidrogen, dengan adanya perubahan tersebut dapat mempengaruhi aktivitas biologis suatu senyawa (Narko *et al.*, 2017). Selain itu, jumlah donor dan akseptor hidrogen pada ligan menentukan fleksibilitas dan kemampuan beradaptasi ligan untuk mengikat dengan enzim target atau protein (Jamuna *et al.*, 2018).

Topological Polar Surface Area (TPSA) adalah parameter fisiokimia yang sangat berguna dari molekul yang memberikan informasi tentang polaritas senyawa. Parameter ini dievaluasi untuk menganalisis sifat penghantaran obat. TPSA merupakan jumlah dari semua atom polar terutama oksigen dan nitrogen termasuk ikatan hidrogen. Pada manusia nilai TPSA ≤ 140 Å merupakan batas yang direkomendasikan untuk penyerapan oral yang baik (Mugumbate and Overington, 2015; Kumar *et al.* 2017), nilai TPSA untuk dapat menembus sawar otak ≤ 79 Å (Kelder *et al.*, 1999; Lipinski, 2012).

2.6 Studi *In silico*

In silico adalah metode komputasi yang digunakan untuk memprediksi interaksi dua molekul menghasilkan model pengikatan. Metode *In silico* diantaranya mencakup penggunaan database, identifikasi kekerabatan, pengolahan data, pemodelan dan juga penambatan molekuler (*molecular docking*) (Ekins *et al.*,

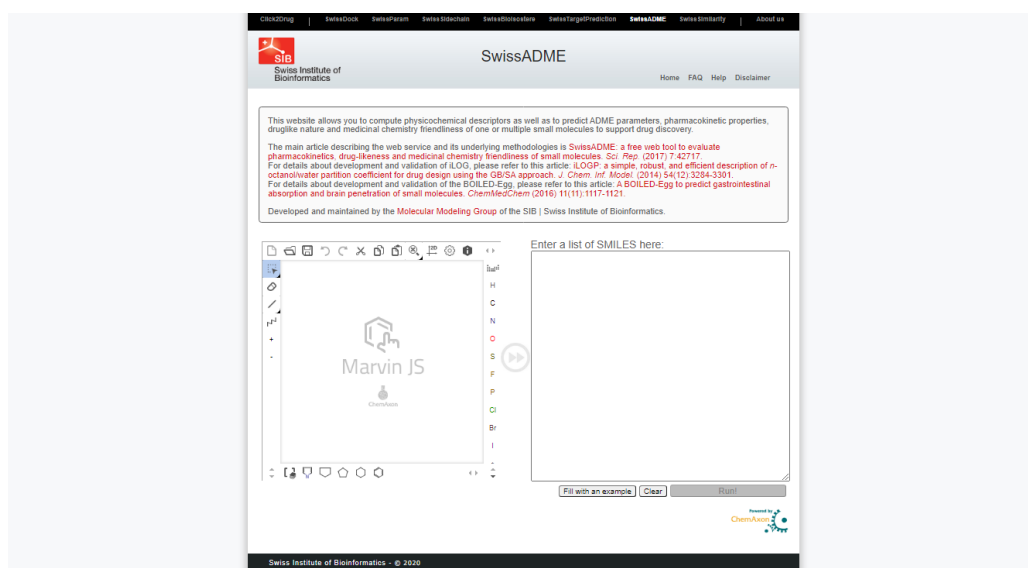
2007). *Molecular docking* (penambatan molekul) dianggap sebagai "gembok dan kunci". Di sini, yang dianggap sebagai "gembok" adalah protein dan yang dianggap sebagai "kunci" adalah ligan. Penambatan molekuler dapat didefinisikan sebagai masalah pengoptimalan, sehingga dapat menggambarkan orientasi "paling cocok" dari ligan yang berikatan dengan protein yang diinginkan (Rangaraju and Rao, 2013).

Ligan adalah molekul kecil yang berinteraksi dengan daerah ikatan (*binding site*) pada protein. Beberapa kemungkinan konformasi dalam ikatan antara ligan dan protein mungkin terjadi, yang disebut mode ikatan. Interaksi yang terjadi pada ligan dan protein target akan menghasilkan energi ikatan (*binding affinity*) dan aktivitas (Onkara *et al.*, 2013). Energi ikatan hasil docking merupakan parameter utama untuk mengetahui kestabilan antara ligan dan protein. Energi yang paling rendah menunjukkan bahwa molekul berada pada kondisi yang stabil, sehingga semakin rendah nilai *binding affinity* maka interaksi ligan reseptor semakin stabil (Arwansyah *et al.*, 2014). Interaksi ligan reseptor terdapat dua jenis ikatan yaitu agonis dan antagonis. Ikatan agonis adalah efek respon biologis yang diberikan oleh senyawa yang merangsang aktivitas, sedangkan ikatan antagonis adalah efek respon biologis yang diberikan oleh senyawa yang menurunkan aktivitas (Siswandono and Soekardjo, 2000).

2.7 Aplikasi Penunjang

2.7.1 SwissADME

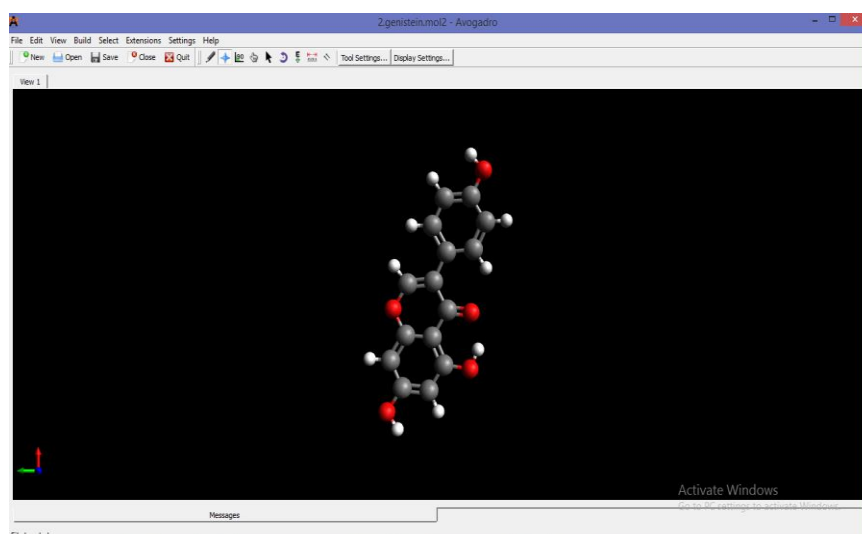
SwissADME merupakan aplikasi *online* yang dapat diakses secara gratis. Aplikasi ini dilengkapi dengan *physicochemical descriptor* yang digunakan untuk memprediksi aktivitas suatu senyawa berdasarkan strukturnya. Hal tersebut dapat digunakan oleh berbagai kalangan terutama dalam pengembangan obat baru untuk memprediksi aktivitasnya berdasarkan sifat fisikokimia. Aplikasi ini juga dapat memprediksi sifat dari senyawa ditinjau dari aspek farmakokinetik ataupun farmakodinamikanya. Keunggulan lainnya yaitu cara mempresentasikan hasil prediksi dari banyak senyawa tersebut sehingga lebih mudah dalam tahapan analisisnya (Daina *et al.*, 2017).



Gambar 2.2 Tampilan website SwissADME.

2.7.2 Avogadro 1.0.1

Avogadro mulai dikembangkan pada tahun 2007. Aplikasi ini digunakan untuk membuat kerangka kerja yang kuat dan fleksibel untuk membangun dan memvisualisasikan struktur molekul. Aplikasi ini juga menawarkan keunggulan lain seperti membentuk struktur kimia secara 3 dimensi dan juga dapat dipilih bentukan paling stabil dari struktur tersebut sehingga dapat semakin mempermudah mendapatkan data yang valid ketika senyawa uji ditambahkan pada reseptor target. Salah satu pemanfaatan aplikasi ini adalah membantu software Autodock untuk menemukan struktur geometri paling stabil dari struktur kimia sebelum dilakukan penambahan senyawa terhadap targetnya (Hanwell *et al.*, 2012).

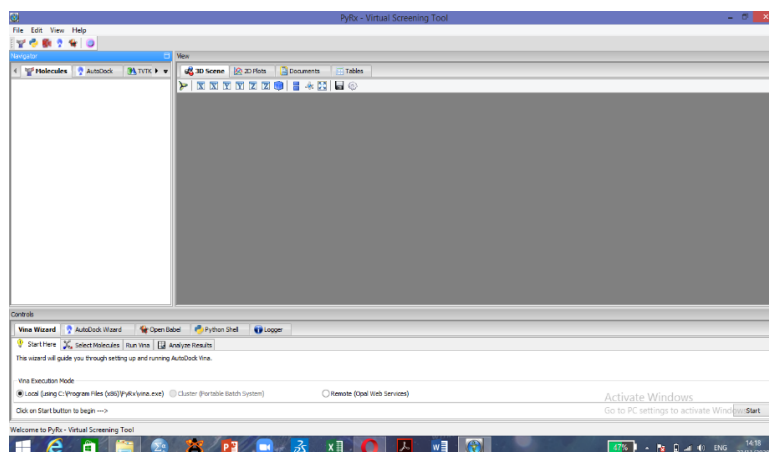


Gambar 2.3 Tampilan *software* Avogadro.

2.7.3 AutoDock Vina

AutoDock Vina merupakan salah satu perangkat lunak yang digunakan untuk penambatan molekul dan skrining virtual yang dirancang oleh Dr. Oleg Trott. Vina memiliki berbagai macam fungsi, seperti tingkat kinerja tinggi dan juga dapat meningkatkan akurasi sehingga dapat mempermudah dalam penggunaannya

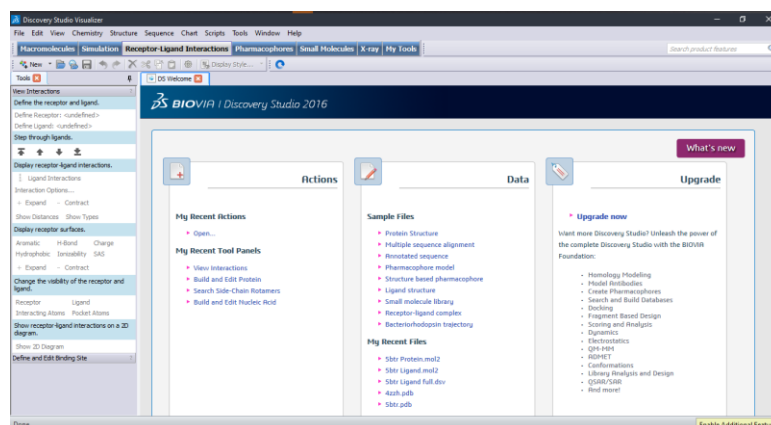
(Sandeep *et al.*, 2011). Aplikasi ini dapat memproses penambatan lebih dari satu molekul sekaligus serta meminimalkan ukurannya agar proses docking tidak terlalu lama. Penambatan melalui aplikasi ini akan mendapatkan score docking dari hasil interaksi suatu molekul ligan dengan reseptor (Trott and Olson, 2009).



Gambar 2.4 Tampilan *software* AutoDock Vina.

2.7.4 Biovia Discovery Studio Visualizer 2016

Biovia Discovery Studio Visualizer 2016 merupakan perangkat lunak yang digunakan untuk visualisasi struktur molekul sehingga dapat dilihat gambaran yang interaktif dari struktur tersebut. Hasil visualisasi struktur senyawa dapat ditampilkan dengan gambar yang berkualitas tinggi. Aplikasi ini dapat digunakan pada Windows dan Linux dan terintegrasi dengan desktop yang menyediakan akses ke fitur sistem operasi standar seperti sistem berkas, clipboard, dan percetakan (Accelrys Enterprise Platform, 2005).



Gambar 2.5 Tampilan *software Biovia Discovery Studio Visualizer 2016*.

2.8 Interaksi Obat-Reseptor

2.8.1 Ikatan Kovalen

Ikatan kovalen terbentuk karena adanya dua atom yang menggunakan sepasang elektron secara bersama-sama. Pembentukan ikatan kovalen dengan cara pemakaian sepasang elektron secara bersama-sama harus sesuai dengan konfigurasi elektron pada unsur gas mulia yaitu 8 elektron (kecuali He berjumlah 2 elektron). Ikatan kovalen merupakan ikatan kimia yang paling kuat, dengan nilai ikatan 100kkal/mol. Interaksi obat dengan reseptor melalui ikatan kovalen menghasilkan kompleks yang cukup stabil, sehingga dapat digunakan untuk tujuan pengobatan tertentu (Siswando and Soekardjo, 2000; Rollando, 2017).

2.8.2 Ikatan Ion

Ikatan ion merupakan ikatan yang dihasilkan oleh daya tarik menarik elektrostatik antara ion-ion yang muatannya berlawanan. Kekuatan tarik menarik akan semakin berkurang bila jarak antar ion makin jauh, dan pengurangan tersebut berbanding terbalik dengan jaraknya. Makromolekul dalam sistem biologis yang

berfungsi sebagai komponen reseptor mengandung gugus protein dan asam nukleat yang bervariasi, mempunyai gugus kation dan anion potensial tetapi hanya beberapa saja yang dapat terionisasi pada pH fisiologis. Gugus kation protein berupa gugus amino yang terdapat pada asam-asam amino seperti lisin, glutamin, asparagin, arginin, glisin, dan histidin. Gugus-gugus anion protein berupa gugus-gugus karboksilat, misalnya pada asam aspartat dan glutamat, gugus sulfhidril pada metionin dan gugus fosforil pada asam nukleat (Siswandono and Soekardjo, 2000).

2.8.3 Interaksi Ion-Dipol dan Dipol-Dipol

Interaksi ini terjadi apabila terdapat perbedaan keelektronegatifan atom C dengan atom yang lain, seperti O dan N sehingga akan membentuk distribusi elektron tidak simetris atau dipol yang mampu membentuk ikatan dengan ion atau dipol lainnya. Baik yang mempunyai daerah kerapatan elektron tinggi maupun rendah (Siswandono and Soekardjo, 2000).

2.8.4 Ikatan Hidrogen

Ikatan hidrogen merupakan suatu ikatan antara atom H yang mempunyai muatan positif parsial dengan atom lain yang bersifat elektronegatif dan mempunyai sepasang elektron bebas dengan oktet lengkap seperti oksigen (O), nitrogen (N) dan fluorin (F). Ikatan hidrogen lebih kuat dibandingkan dengan gaya van der Waals sebesar 12 sampai 30 kJ/mol. Ada dua ikatan hidrogen yakni ikatan hidrogen intramolekul (terjadi dalam suatu molekul) dan ikatan hidrogen intermolekul (terjadi antar molekul-molekul). Kekuatan ikatan intermolekul lebih lemah dibandingkan dengan intramolekul (Garret and Grisham, 2009; Siswandono and Soekardjo, 2000).

2.8.5 Ikatan Van der Waals

Ikatan van der waals merupakan kekuatan tarik-menarik antara molekul atau atom yang tidak bermuatan, dan letaknya berdekatan. Ikatan ini terjadi karena sifat kepolarisasian molekul atau atom. Ikatan van der waals hanya terjadi ketika atom berada pada jarak tertentu. Semakin jauh jaraknya, maka semakin lemah interaksi yang terjadi. Sedangkan apabila jaraknya terlalu dekat, maka akan terjadi gaya tolak menolak yang disebabkan adanya muatan negatif pada kulit elektron terluar (Lodish *et al.*, 2000; Siswandono dan Soekardjo, 2000)

2.8.6 Ikatan Hidrofob

Ikatan hidrofob merupakan salah satu kekuatan penting pada proses penggabungan daerah non polar molekul obat dengan daerah non polar reseptor biologis. Daerah non polar molekul obat yang tidak larut dalam air dan molekul-molekul air disekelilingnya akan bergabung melalui ikatan hydrogen membentuk struktur quasi-crystalline (*icebergs*). Apabila dua daerah non polar seperti gugus hidrokarbon molekul obat dan daerah non polar reseptor, bersama-sama berada dalam lingkungan air, maka akan mengalami suatu penekanan sehingga jumlah molekul air yang kontak dengan daerah-daerah non polar tersebut menjadi berkurang. Akibatnya struktur quasi-crystalline akan pecah menghasilkan peningkatan entropi yang digunakan untuk isolasi struktur non polar. Peningkatan energi bebas ini dapat menstabilkan molekul air sehingga tidak kontak dengan daerah non polar. Penggabungan demikian disebut ikatan hidrofob (Siswandono dan Soekardjo, 2000).

2.8.7 Transfer Muatan

Kompleks yang terbentuk antara dua molekul melalui ikatan hidrogen merupakan kasus khusus dari fenomena umum kompleks donor-aseptor, yang distabilkan melalui daya tarik menarik elektrostatik antara molekul donor elektron dan molekul aseptor elektron. Transfer muatan dikelompokkan menjadi dua senyawa yaitu yang berfungsi sebagai donor elektron dan aseptor elektron (Siswandono dan Soekardjo, 2000).

a. Sebagai donor elektron adalah:

- 1.1 Senyawa yang kaya π -elektron, seperti alkena, alkuna, dan senyawa aromatik yang tersubstitusi dengan gugus elektron donor
- 2.1 Senyawa yang mempunyai pasangan elektron sunyi seperti R-O:-H, R-O:-R, R-S:-R, R-I:, R₃ N:, dan R-S:-S-R yang juga dapat berfungsi sebagai reseptor proton dalam ikatan hidrogen.

b. Sebagai reseptor elektron adalah:

1. Senyawa yang kekurangan π -elektron seperti 1,3,5-trinitrobenzena dan senyawa-senyawa lain yang mempunyai gugus pendorong elektron sangat kuat.
2. Molekul mengandung hidrogen yang bersifat asam lemah seperti Br₃C-H.

2.9 Hasil *Metabolite Profiling* Fraksi Etil Asetat Daun Semanggi

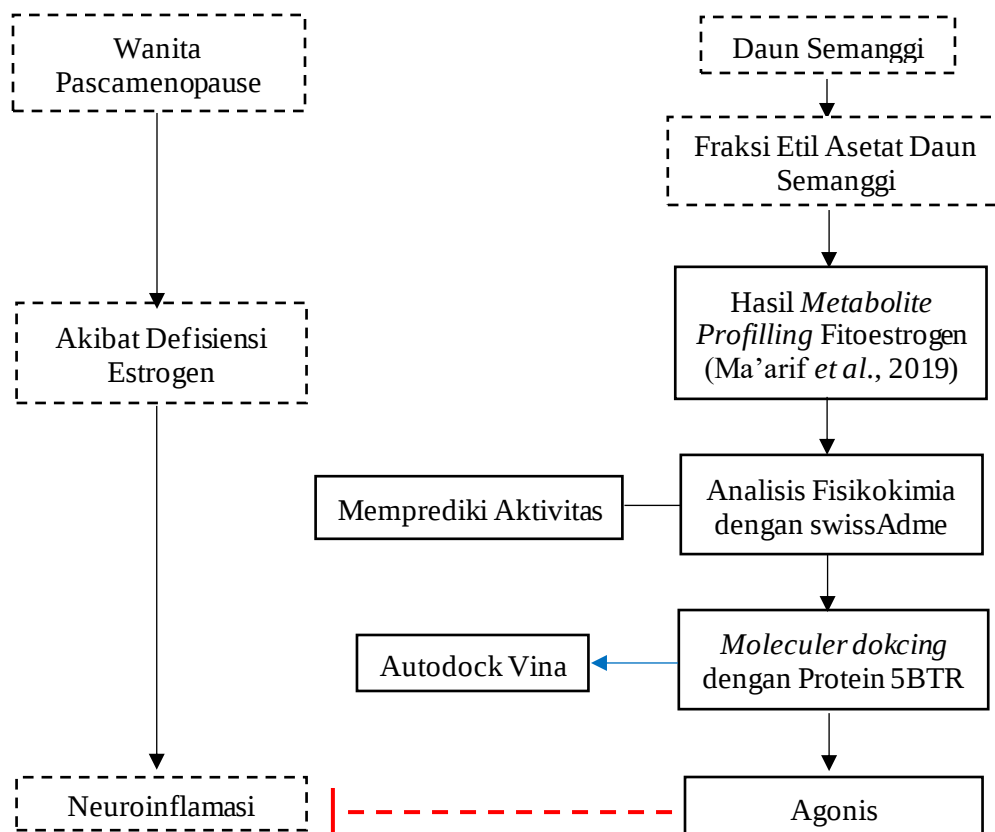
Hasil *Metabolite profiling* fraksi etil asetat daun semanggi yang telah dilakukan sebelumnya menunjukkan beberapa senyawa terdeteksi yang dipreparasi dengan pelarut diklorometan dan metanol. Hasil yang terdeteksi pada pelarut

diklorometan yaitu terdapat 36 senyawa yang diketahui nama dan strukturnya dan 6 senyawa yang belum diketahui nama dan strukturnya. Sedangkan pada pelarut metanol terdapat 46 senyawa yang diketahui nama dan strukturnya dan 17 senyawa yang belum diketahui nama dan strukturnya (Mangestuti *et al.*, 2020).

BAB III

KERANGKA KONSEPTUAL

3.1 Kerangka Konseptual



Keterangan :

—→ : Alur proses

- - - - - : Alur menghambat

▭ : Variabel yang diteliti

▭ : Variabel pendukung

—→ : Metode

Hipotesis: Terdapat senyawa fitoestrogen hasil dari *metabolite profiling* fraksi etil asetat daun semanggi yang diprediksi bersifat agonis terhadap protein 5BTR

3.2 Uraian Kerangka Konseptual

Wanita pascamenopause akan mengalami fase defisiensi estrogen, fase dimana terjadinya penurunan hormon estrogen. Defisiensi estrogen dapat menyebabkan berbagai macam penyakit salah satunya neuroinflamasi. Untuk mengatasi defisiensi estrogen salah satu alternatif menggunakan fitoestrogen yang memiliki aktivitas dan fungsi yang mirip dengan estrogen dalam tubuh, Salah satu tumbuhan yang diidentifikasi memiliki kandungan fitoestrogen adalah daun semanggi, maka dilakukan penelitian secara *in silico* yang dari hasil *metabolite profiling* fraksi etil asetat daun semanggi yang di *docking* dengan protein 5BTR.

Studi *in silico* digunakan untuk memprediksi senyawa yang dapat memiliki aktivitas. Prediksi menggunakan studi *in silico* dilakukan tahap awal yaitu analisis fisikokimia dengan *webtool* SwissADME untuk memprediksi aktivitas suatu senyawa berdasarkan strukturnya, kemudian dilakukan *molecular docking* antara protein 5BTR dengan ligan dengan aplikasi PyRx 0.8 dengan metode AutoDock Vina, selanjutnya hasil dari *molecular docking* dimasukkan ke dalam aplikasi *Biovia Discovery Studio Visualizer* 2016 untuk melihat adanya ikatan agonis pada hasil *molecular docking* terhadap senyawa hasil *metabolite profiling* fraksi etil asetat daun semanggi pada protein 5BTR.

3.3 Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini yaitu terdapat senyawa fitoestrogen hasil dari *metabolite profiling* fraksi etil asetat daun semanggi yang diprediksi bersifat agonis terhadap protein 5BTR.

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini merupakan *pre experimental one shot case study* berbasis komputer, yakni studi *in silico* kandungan fitoestrogen senyawa fitoestrogen daun semanggi yang berikatan agonis dengan protein 5BTR.

4.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus 2021. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Fitokimia Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

4.3 Sample Penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah senyawa hasil Metabolite Profiling fraksi etil asetat daun semanggi, dan Protein 5BTR yang diperoleh dari www.rcsb.org.

4.4 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

4.4.1 Variabel Penelitian

Variabel pada penelitian ini adalah senyawa fitoestrogen yang berpotensi sebagai aktivitas neuroprotektif dari hasil *Metabolite Profiling* fraksi etil asetat daun semanggi.

4.4.2 Definisi Operasional

1. *In silico* merupakan komputasi yang digunakan untuk memprediksi interaksi dua molekul menghasilkan model pengikatan.
2. Senyawa yang berpotensi sebagai neuroprotektif didapat dari data hasil *metabolite profiling* fraksi etil asetat daun semanggi.
3. Senyawa fitoestrogen merupakan senyawa yang memiliki struktur, aktivitas, dan fungsi yang menyerupai estrogen.
4. Ligan merupakan molekul sederhana dalam senyawa kompleks yang bertindak sebagai donor elektron atau molekul yang bekerja menghalangi ion pusat.
5. Hukum Lima Lipinski ialah aturan yang digunakan untuk mengevaluasi aktivitas farmakologis atau biologis suatu senyawa kimia dengan sifat kimia dan sifat fisik yang aman pada manusia.
6. TPSA merupakan parameter fisikokimia yang menunjukkan kemampuan senyawa dalam menembus membran sel.
7. Asam amino ialah protein sederhana yang berperan dalam penyusunan sel, jaringan, dan organ dari suatu makhluk hidup.

8. *Root Mean Square Deviation* (RMSD) merupakan parameter yang digunakan untuk evaluasi kemiripan struktur. Kemiripan struktur diukur berdasarkan perbedaan jarak atom sejenis.
9. Nilai *binding affinity* merupakan kemampuan senyawa untuk dapat berikatan dengan protein target dengan memberikan energi bebas paling stabil dengan protein target yaitu 5BTR
10. Jenis ikatan asam amino merupakan jenis ikatan pada asam amino yang terjadi saat proses *molecular docking* antara protein 5BTR
11. Jenis asam amino yang diikat merupakan asam amino yang terdapat pada reseptor resveratrol dan dapat berikatan dengan ligan yang sesuai, yaitu asam amino lysine dan aspirin.
12. Jarak farmakofor merupakan jarak antara gugus farmakofor dalam suatu struktur senyawa dan ditunjukkan dengan satuan angstrom (Å)
13. Gugus farmakofor adalah fitur sterik dan elektronik yang diperlukan untuk memastikan adanya interaksi supra-molekul optimal dengan struktur target biologis spesifik serta memicu respon biologisnya.

4.5 Alat dan Bahan

4.5.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah laptop Lenovo G40 Intel^(R) i5-5200U @2.2GHz, sistem operasi Windows 10 Pro 64 bit, Program yang digunakan meliputi Chem Bio Draw Ultra Versi 12.0 (CambridgeSoft), AutoDock Vina, *Biovia Discovery Studio Visualizer* 2016, Avogadro, PyRx 0.8.

4.5.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

1. Data hasil *metabolite profiling* fraksi etil asetat daun semanggi.
2. Protein 5BTR yang diperoleh dari www.rcsb.org.

4.6 Prosedur Penelitian

4.6.1 Preparasi Fisikokimia

Prediksi sifat fisikokimia senyawa digambar dengan struktur model 2D dengan program ChemDraw 12.0. Kemudian format struktur senyawa dirubah dalam bentuk SMILES (*simplified molecular-input line-entry system*), kemudian format SMILES diproses dengan ketentuan hukum Lima Lipinski menggunakan *webtool* SwissAdme.

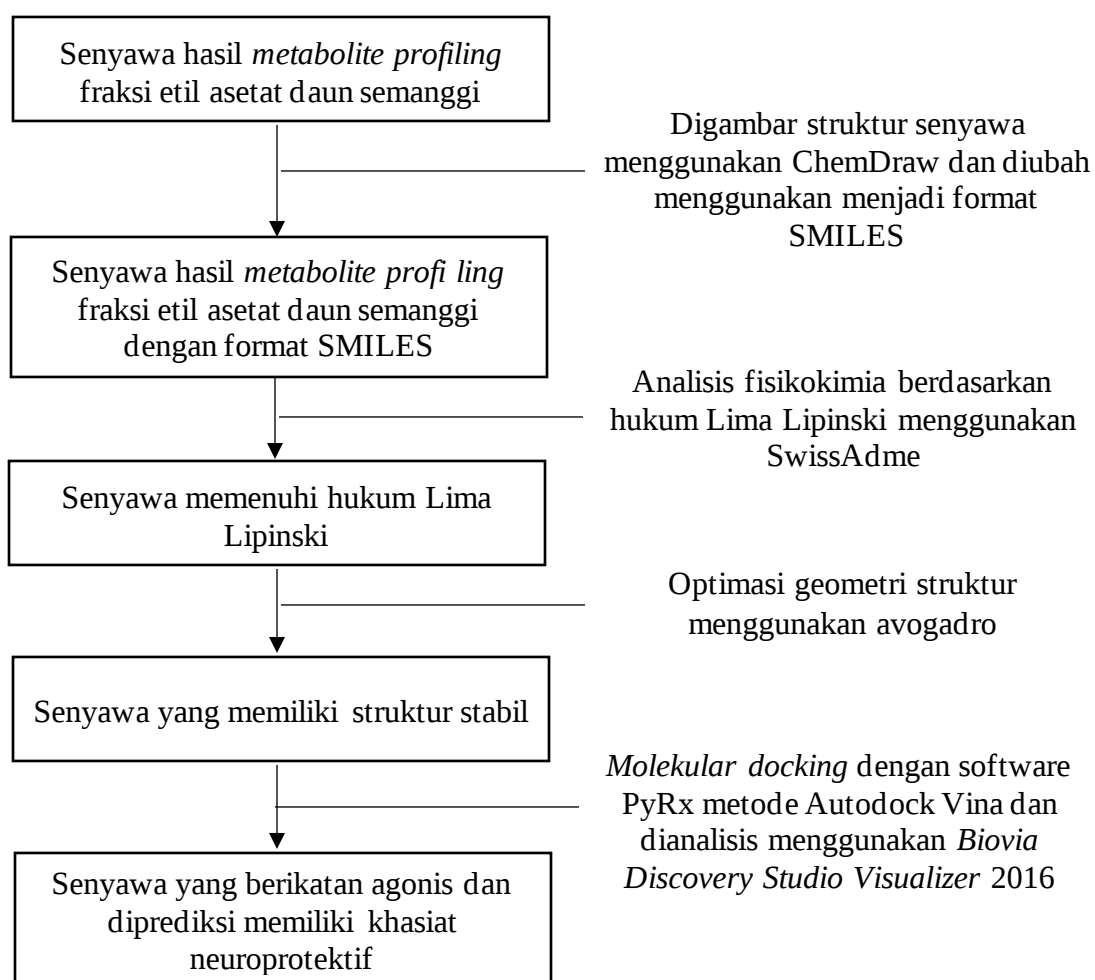
4.6.2 Uji In silico

Tahapan dalam uji *in silico* adalah

1. Preparasi ligan dengan mengunduh protein dari Protein Data Bank.
2. Dilakukan pemisahan ligan dengan protein menggunakan *Biovia Discovery Studio Visualizer* 2016.
3. Dilakukan validasi internal antara ligan resveratrol dengan protein 5BTR untuk menentukan metode yang tepat dalam melakukan penambahan senyawa fitoestrogen.
4. Dilakukan optimasi struktur geometri menggunakan avogadro untuk mencari energi minimal dengan metode MMFF94.

5. Dilakukan *molekular docking* senyawa yang masuk kriteria dengan aplikasi PyRx 8.0 metode AutoDock Vina.
6. Hasil dianalisis menggunakan *Biovia Discovery Studio Visualizer* 2016 untuk mengetahui senyawa yang bersifat agonis.

4.7 Skema Penelitian



4.8 Analisis Data

Tahap analisis fisikokimia dilakukan dengan cara memasukkan format SMILES dari senyawa yang diketahui memiliki ikatan agonis pada *webtool* SwissADME. Hasil dari analisis ini akan didapatkan sifat fisikokimia dari setiap senyawa dan dianalisis kesesuaiannya dengan hukum Lima Lipinski dan nilai TPSA yang dipersyaratkan.

Analisis data molecular docking dilakukan dengan memasukkan hasil dari proses docking antara senyawa yang diteliti dengan protein target (5BTR) kedalam *software Biovia Discovery Studio Visualizer* 2016. Hasil yang didapatkan yaitu parameter docking. Yang tahap selanjutnya akan dilihat kemiripannya dengan ligan internal (resveratrol) yang ditambatkan dengan protein target. Apabila hasil tersebut memiliki kemiripan antara hasil *docking* dengan ligan internal yang sudah ditambatkan dengan protein target maka disebut dengan ikatan agonis.

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Skrining dan Prediksi Analisis Fisikokimia

Tahapan pertama yang dilakukan dalam penelitian ini adalah skrining senyawa menggunakan *webtool* SwissAdme. SwissAdme digunakan untuk melihat parameter kritis yang menggambarkan senyawa yang dapat melewati membran sel dan dapat melewati sawar otak. Skrining senyawa dilakukan pada senyawa hasil *metabolite profiling* fraksi etil asetat daun semanggi. Langkah awal yang dilakukan yaitu dengan menggambar struktur senyawa hasil *metabolite profiling* fraksi etil asetat pada Chemdraw 12.0 dan di ubah format menjadi SMILES, kemudian hasil SMILES dimasukkan pada *webtool* SwissAdme untuk mengetahui gambaran prediksi kemampuan senyawa yang dapat terabsorpsi melalui tampilan *Boiled-Egg* dan analisis fisikokimia berdasarkan hukum Lima Lipinski (Daina *et al.*, 2017). Hasil skrining dan prediksi analisis fisikokimia dapat diamati pada tabel 5.1.

Tabel 5.1 Hasil Skrining sifat fisikokimia dengan *webtool* SwissAdme

No	Kodifikasi Senyawa	Parameter Hukum Lima Lipinski					Hukum Lima Lipinski	BBB (79Å ²)
		BM (g/mol) ≤500	Log P ≤5	HBA ≤10	HBD ≤5	TPSA (140Å ²)		
1	MTL1	359.31	-1.14	11*	1	171.99*	Tidak	Tidak
2	MTL2	78.13	-0.23	1	1	59.03	Ya	Tidak
3	MTL3	122.12	-0.43	2	1	55.98	Ya	Tidak
4	MTL4	354.31	-1.05	9	6*	164.75*	Tidak	Tidak
5	MTL5	359.33	1.98	7	1	114.15	Ya	Tidak
6	MTL6	343.33	2.1	6	1	90.93	Tidak	Tidak
7	MTL7	302.33	0.55	5	1	69.68	Ya	Ya
8	MTL8	205.21	0.78	4	1	65.46	Ya	Ya
9	MTL9	465.37	5.36*	3	0	43.37	Tidak	Tidak
10	MTL10	534.42*	-2.23	14*	7*	233.65*	Tidak	Tidak
11	MTL11	534.42*	-2.23	14*	7*	233.65*	Tidak	Tidak

12	MTL12	506.42*	1.25	9	1	170.95*	Tidak	Tidak
13	MTL13	196.24	0.58	3	0	51.21	Ya	Ya
14	MTL14	387.34	0.11	9	0	165.15*	Tidak	Tidak
15	MTL15	676.67*	-2.49	19*	7*	291.13*	Tidak	Tidak
16	MTL16	526.46*	1.32	10	9*	239.8*	Tidak	Tidak
17	MTL17	308.26	2.47	7	0	119.61	Ya	Tidak
18	MTL18	580.5*	1.24	9	2	193.17*	Tidak	Tidak
19	MTL19	264.71	0.85	4	0	59.73	Ya	Ya
20	MTL20	345.95	2.38	3	1	35.58	Ya	Ya
21	MTL21	289.41	2.3	3	2	49.33	Ya	Ya
22	MTL22	530.67*	-4.5	8	5	191.8*	Tidak	Tidak
23	MTL23	323.43	3.54	3	0	29.54	Ya	Ya
24	MTL24	354.41	-14.75	9	8*	264.67*	Tidak	Tidak
25	MTL25	354.36	0.54	8	1	123.85	Ya	Tidak
26	MTL26	408.44	-1.41	9	3	141.65*	Tidak	Tidak
27	MTL27	180.24	1.46	2	1	37.3	Ya	Ya
28	MTL28	368.47	4.96	2	0	26.3	Tidak	Tidak
29	MTL29	294.39	2.41	2	2	56.35	Ya	Ya
30	MTL30	336.36	-2.71	7	6	223.64*	Tidak	Tidak
31	MTL31	306.34	-4.45	6	5	203.41*	Tidak	Tidak
32	MTL32	467.61	-0.21	3	6	128.01	Ya	Tidak
33	MTL33	595.75*	-0.12	7	3	179.52	Tidak	Tidak
34	MTL34	508.61*	4.11	6	1	88.93	Tidak	Tidak
35	MTL35	693.87*	2.4	7	4	132.89	Tidak	Tidak
36	MTL36	335.52	3.98	2	1	38.33	Ya	Ya
37	MTL37	495.69	3.67	7	1	85.3	Ya	Tidak
38	MTL38	531.68*	0.01	10	4	145.99*	Tidak	Tidak
39	MTL39	671.81*	-3.38	14*	1	156.93*	Tidak	Tidak
40	MTL40	495.66	2.9	7	1	92.17	Ya	Tidak
41	MTL41	497.71	3.67	6	1	83.09	Ya	Tidak
42	MTL42	473.69	1.62	5	2	60.08	Ya	Ya
43	MTL43	499.72	3.06	7	1	75.25	Ya	Tidak
44	MTL44	612.64*	-7.5	12*	11*	316.34*	Tidak	Tidak
45	MTL45	834.14*	5.65	7*	3	109.36	Tidak	Tidak
46	MTL46	550.86*	7.82*	1	0	17.07	Tidak	Tidak
47	DCM1	269.22	1	10	0	124.26	Ya	Tidak
48	DCM2	301.38	0.18	6	3	90.23	Ya	Tidak
49	DCM3	267.32	1.1	5	3	78.79	Ya	Ya
50	DCM4	192.21	0.84	2	0	45.77	Ya	Ya
51	DCM5	258.23	-0.36	6	0	105.96	Ya	Tidak
52	DCM6	179.22	1.94	2	1	52.32	Ya	Ya
53	DCM7	315.41	1.83	5	2	92.7	Ya	Tidak
54	DCM8	266.32	-1.57	6	4	139.33	Ya	Tidak
55	DCM9	266.33	-0.26	5	1	123.94	Ya	Tidak

56	DCM10	410.42	-4.08	12*	8*	186.78*	Tidak	Tidak
57	DCM11	315.41	2.62	3	3	69.56	Ya	Ya
58	DCM12	598.77*	0.65	9	5	163.65*	Tidak	Tidak
59	DCM13	314.34	1.35	5	1	73.44	Ya	Ya
60	DCM14	247.33	1.92	3	1	32.7	Ya	Ya
61	DCM15	219.32	2.28	2	2	32.26	Ya	Ya
62	DCM16	261.36	2	3	1	40.54	Ya	Ya
63	DCM17	185.22	0.86	3	1	55.4	Ya	Ya
64	DCM18	221.73	-2.45	3	4	104.86	Ya	Tidak
65	DCM19	308.89	1.5	2	1	99.87	Ya	Tidak
66	DCM20	199.25	0.76	3	0	46.61	Ya	Ya
67	DCM21	383.44	0.56	8	4	125.32	Ya	Tidak
68	DCM22	431.5	-5.44	5	7	220.71*	Tidak	Tidak
69	DCM23	264.28	1.02	3	2	62.05	Ya	Ya
70	DCM24	712.87*	-6.51	12*	8	253.32*	Tidak	Tidak
71	DCM25	245.4	2.14	3	3	66.48	Ya	Ya
72	DCM26	289.45	1.8	4	3	63.93	Ya	Ya
73	DCM27	352.43	2.13	4	1	54.56	Ya	Ya
74	DCM28	352.43	2.05	3	1	56.25	Ya	Ya
75	DCM29	280.28	2.33	4	1	72.19	Ya	Ya
76	DCM30	273.45	2.65	3	3	66.48	Ya	Ya
77	DCM31	317.51	2.28	4	4	86.71	Ya	Tidak
78	DCM32	227.43	4.2	1	1	26.02	Ya	Ya
79	DCM33	301.51	3.13	3	3	66.48	Ya	Ya
80	DCM34	436.51	-0.97	8	1	108.42	Tidak	Tidak
81	DCM35	292.41	3.2	3	0	38.83	Ya	Ya
82	DCM36	417.69	2.2	5	3	115.18	Ya	Tidak

Keterangan:

* : tidak memenuhi hukum lima Lipinski

BM : Berat Molekul ≤ 500 g/mol

HBA : *Hydrogen Bond Acceptors* ≤ 10

HBD : *Hydrogen Bond Donors* ≤ 5

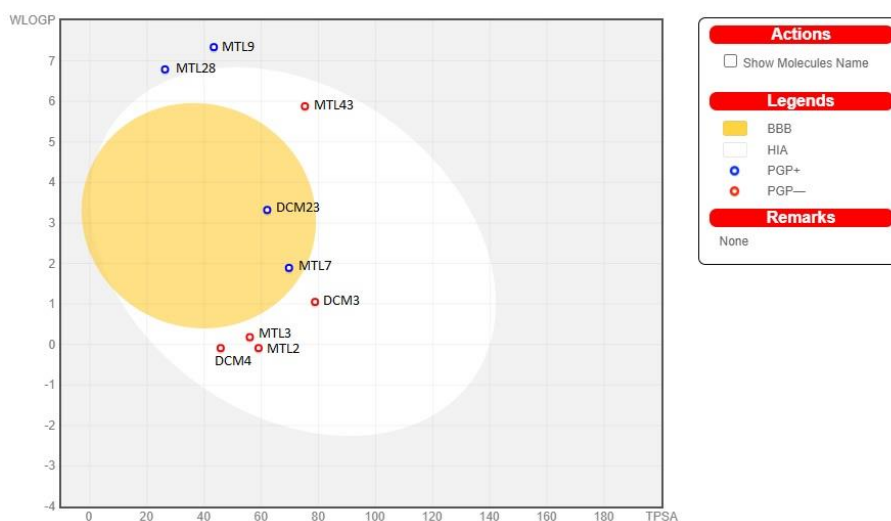
TPSA : *Topological Polar Surface Area* ≤ 140 Å

BBB : *Blood Brain Barrier* ≤ 79 Å

Berdasarkan tabel 5.1, terdapat 29 dari 82 senyawa yang lulus skrining analisis fisikokimia berdasarkan hukum Lima Lipinski yang dapat diterima oleh tubuh dan bisa melewati sawar otak. Hal ini ditunjukkan oleh parameter fisikokimia yang memenuhi syarat yaitu berat molekul ≤ 500 g/mol, $\log P \leq 5$, HBA ≤ 10 , HBD ≤ 5 , dan nilai TPSA ≤ 140 Å dan untuk dapat menembus sawar otak ≤ 79 Å, sehingga senyawa-senyawa tersebut memenuhi hukum Lima Lipinski dan dapat diprediksi

senyawa tersebut dapat diabsorpsi, memiliki permeabilitas yang baik, dan mempunyai bioavailabilitas obat yang baik.

Dari tabel 5.1, pada hasil analisa terdapat beberapa kodifikasi senyawa yang memiliki nilai $TPSA \leq 79 \text{ \AA}$ akan tetapi pada keterangan pada BBB (*Blood Brain Barrier*) bernilai “Tidak”, hal tersebut dikarenakan senyawa yang dianalisa tidak masuk pada daerah kuning telur. Apabila suatu senyawa memiliki nilai $TPSA \leq 79 \text{ \AA}$ dan memasuki daerah kuning telur maka senyawa tersebut dapat melewati BBB, sebaliknya jika berada nilai $TPSA \leq 79 \text{ \AA}$ dan berada diluar daerah kuning telur maka senyawa tersebut tidak dapat melewati BBB. Penjelasan tersebut dapat dilihat pada gambar 5.1.



Gambar 5.1 Gambaran senyawa dengan $TPSA < 79 \text{ \AA}$ dengan BBB

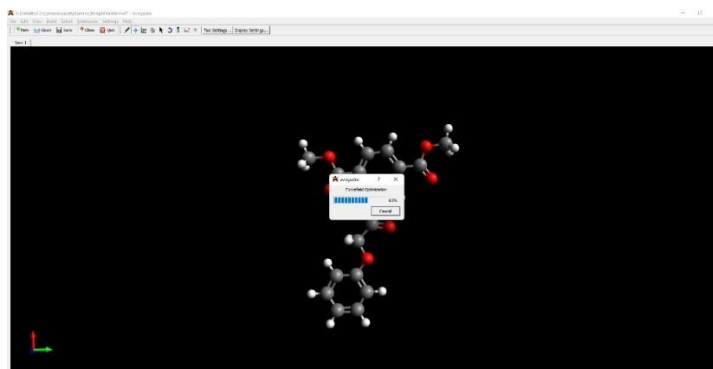
Berdasarkan hukum Lima Lipinski dapat ditentukan suatu sifat fisikokimia senyawa melalui membran sel dengan karakteristik yang diukur berupa berat molekul, berat molekul berpengaruh pada kemampuan suatu senyawa untuk melewati membrane sel oleh difusi pasif, jika senyawa memiliki berat molekul $> 500 \text{ g/mol}$, maka kemampuan senyawa untuk berdifusi semakin sulit. Pada

koefisien partisi, Log P digunakan untuk menentukan kelarutan lemak dalam air dengan rentang -0,4 hingga 5,9, jika nilai Log P terlalu tinggi maka senyawa dapat tertahan di lipid bilayer dan apabila nilai Log P terlalu kecil, semakin sulit suatu senyawa dapat melewati lipid bilayer. Pada jumlah nilai *hydrogen bond donor* dan *hydrogen bond acceptor* digunakan sebagai tolak ukur energi yang dibutuhkan untuk proses absorpsi. Jika jumlah ikatan hidrogen donor >10 dan akseptor >5, maka energi yang dibutuhkan untuk proses absorpsi semakin tinggi. Sehingga secara umum hukum Lima Lipinski digunakan untuk menggambarkan solubilitas senyawa dalam menembus sel (Lipinski *et al.*, 2012; Syahputra *et al.*, 2014).

5.2 Uji In Silico

5.2.1 Preparasi Sampel

Proses preparasi yang dilakukan pada uji *in silico* yaitu dengan melakukan preparasi ligan terhadap target, *native ligan* dan senyawa yang akan digunakan (Sliwoski *et al.*, 2014). Sampel yang akan dipreparasi dalam penelitian ini adalah senyawa yang telah memenuhi skrining analisis fisikokimia berdasarkan hukum Lima Lipinski. Senyawa yang masuk ke dalam kriteria ini dilakukan optimasi geometri struktur menggunakan *software* avogadro dengan metode MMFF94 untuk menemukan struktur geometri paling stabil dari struktur kimia sebelum dilakukan penambahan senyawa terhadap target (Hanwell *et al.*, 2012).



Gambar 5.2 Optimasi geometri menggunakan *software* Avogadro

5.2.2 Preparasi Protein Reseptor

Langkah selanjutnya dilakukan preparasi pada protein reseptor dengan mengunduh protein target dari Protein Data Bank (www.rcsb.org). Protein yang digunakan adalah protein 5BTR. Protein ini kemudian dipisahkan antara ligan dan proteinnya menggunakan *software Biovia Discovery Studio Visualizer* dapat diamati pada gambar 5.3.



Gambar 5.3 Protein 5BTR dengan ligan resveratrol

Setelah dipisahkan antara ligan dengan reseptornya, dilakukan validasi internal untuk mengetahui nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD), nilai RMSD merupakan parameter yang digunakan untuk mengevaluasi kemiripan struktur. Kemiripan struktur diukur berdasarkan perbedaan jarak atom sejenis (Ruswanto *et*

al., 2017). Validasi internal dalam penelitian ini menggunakan *software* PyRx 0.8 metode AutoDock Vina dengan hasil yang dapat diamati pada Tabel 5.2.

Tabel 5.2 Nilai RMSD proses validasi internal AutoDock Vina

Binding Affinity (kcal/mol)	RMSD/Upper (Å)	RMSD/Lower (Å)	Rata-rata RMSD (Å)
-6.1	0.0	0.0	0.000
-6.1	2.018	0.081	1.050
-4.4	2.316	1.431	1.874
Rata-rata RMSD AutoDock Vina			0.974

Berdasarkan hasil validasi internal pada table 5.2, didapatkan hasil RMSD rata-rata sebesar 0.974Å. Hasil ini menunjukkan bahwa aplikasi AutoDock Vina dapat digunakan untuk melakukan *molecular docking* terhadap protein 5BTR, hal ini dapat dilihat dari nilai RMSD sebesar 0,974Å seperti dinyatakan oleh Ruswanto (2015), bahwa metode *docking* dikatakan valid apabila memiliki nilai $\text{RMSD} \leq 2\text{\AA}$.

5.2.3 Molecular Docking

Tahapan selanjutnya senyawa yang memenuhi skrining analisis fisikokimia berdasarkan hukum Lima Lipinski dilakukan *molecular docking* terhadap protein 5BTR menggunakan *software* PyRx 0.8 metode AutoDock Vina. Pemilihan aplikasi AutoDock Vina karena memiliki keunggulan dapat memproses *docking* lebih dari satu molekul sekaligus serta meminimalkan ukuran agar proses *docking* tidak terlalu lama (Trott and Olson, 2009). Hasil dari *docking* menggunakan AutoDock Vina akan dianalisis menggunakan *software* Biovia Discovery Studio Visualizer 2016 untuk membandingkan antara ligan internal dengan senyawa hasil *docking* dilihat dari interaksi agonis dan beberapa parameter yang mirip dengan *native ligan*. Hasil analisis *in silico* dapat diamati pada table 5.3.

Tabel 5.3 Hasil Analisis *In Silico*

No	Kode senyawa	Binding affinity (kkal/mol)	RMSD average	interaksi	Asam amino	Jarak farmakofor
Ligan	Resveratrol	-6	1.062	Agonis	Asp298(Hydrogen) Asp292(Pi-anion) Lys444(Hydrogen)	10.948
1	MTL7	-5.5	0	Agonis	Asp292(Pi anion) Lys444(Carbon hydrogen)	10.499
2	MTL23	-6.3	1.866	Agonis	Asp292(Pi-anion) Lys444(Alkyl)	9.588

Berdasarkan tabel 5.3 di atas terdapat 2 senyawa kandidat yaitu MTL 7 (3,4,5-Trimethoxy-N-(4-pyridinylmethyl)benzamide) dan MTL 23 (1-Ethyl-3-piperidinyl diphenylacetate) yang dapat berikatan agonis terhadap protein 5BTR. Hal ini dibuktikan dengan parameter yang terpenuhi saat senyawa berikatan dengan protein target 5BTR. Masing-masing senyawa minimal mengikat asam amino yang mirip native ligan yaitu Lys444 dan Asp292 atau Asp298. Pada nilai *binding affinity*, 2 senyawa menunjukkan nilai minus yang menunjukkan bahwa prediksi ikatan antara ligan dengan protein terjadi secara stabil (Prabowo dan Santoso, 2018). Semakin kecil nilai *binding affinity* maka afinitas antara reseptor dengan senyawa semakin tinggi (Ruswanto *et al.*, 2015). Pada jarak farmakofor pada masing-masing senyawa tidak jauh berbeda dengan *native ligan*, sehingga dapat memiliki kemiripan senyawa agonis dengan *native ligan*. Jarak farmakofor yang diperbolehkan yaitu memiliki skala toleransi 1.0 dari ligan asli (Muchtaridi *et al.*, 2018).

Senyawa yang diprediksikan agonis terhadap reseptor 5BTR menunjukan bahwa senyawa tersebut memiliki peran sebagai fitoestrogen. Peranan fitoestrogen pada reseptor 5BTR sebagai neuroprotektif dengan menghambat faktor inflamasi

seperti NF- κ B (*Nuclear Factor- κ B*) agar tidak terekspresi pada protein. sehingga senyawa fitoestrogen dalam fraksi etil asetat daun semanggi berpotensi sebagai neuroprotektif.

5.3 Potensi Neuroprotektif dari Daun Semanggi

Semanggi secara etnofarmasi memiliki potensi sebagai aktivitas antiosteoporosis, neuroprotektif dan pencahar air seni (Rindawati, 2015; Adityara, 2017; Widiyari, 2017). Daun semanggi memiliki kandungan *metabolite sekunder* seperti alkaloid, steroid, dan flavonoid (Agil *et al.*, 2017). Setelah diteliti lebih lanjut, hasilnya menunjukkan senyawa mirip estrogen ditemukan pada tubuh wanita dengan menggunakan metode RIA (Laswati, 2007). Hasil tersebut diselidiki lebih lanjut dengan menggunakan instrumen GC MS dan ditemukan bahwa senyawa mirip estrogen ditemukan pada isolat n-heksana dari daun semanggi (Ma'arif *et al.*, 2016). Hasil penelitian tersebut menjadi acuan pengembangan daun semanggi sebagai fitoestrogen.

Peran estrogen dalam tubuh yang juga dapat diperankan oleh fitoestrogen salah satunya dapat meregulasi proses neuroinflamasi pada sel saraf. Proses neuroinflamasi terjadi ditandai dengan penurunan jumlah *estrogen receptor* (ER) yang teraktivasi. Penurunan ER teraktivasi terjadi karena defisiensi estrogen pada wanita pascamenopause dimana ER tidak berikatan dengan hormon estrogen dalam tubuh. Penurunan jumlah ER teraktivasi menghasilkan peningkatan aktivitas NF- κ B yang mempengaruhi transkripsi protein pada sel saraf. NF- κ B merupakan faktor

transkripsi yang bertanggung jawab untuk sistem kekebalan tubuh dan respon inflamasi (Kovacs, 2014).

Senyawa fitoestrogen yang agonis terhadap ER diprediksi memiliki potensi sebagai neuroprotektif seperti peran estrogen pada tubuh dengan mekanisme ER-*dependent*. Hal ini menunjukkan bahwa fraksi etil asetat daun semanggi dapat dijadikan sebagai alternatif dalam mengurangi proses neuroinflamasi pada wanita pascamenopause yang mengalami defisiensi estrogen.

5.4 Pemanfaatan Tanaman dalam Pandangan Al-Qur'an

Tumbuhan yang ada di muka bumi ini jumlahnya sangat banyak. Adanya tumbuhan tentu memberikan fungsi dan manfaat yang sangat penting bagi lingkungan dan makhluk hidup lainnya. Al-Qur'an menegaskan bahwasannya tumbuhan merupakan nikmat yang Allah swt berikan kepada manusia, sebagaimana firman Allah dalam QS. Abasa ayat 27-32,

فَأَنْبَتْنَا فِيهَا حَبًّا (٢٧) وَعِنَبًا وَقَضْبًا (٢٨) وَزَيْتُونًا وَنَخْلًا (٢٩) وَحَدَائِقَ غُلَبًا (٣٠)

وَفَاكِهَةً وَأَبًّا (٣١) مَتَاعًا لَّكُمْ وَلِأَنْعَامِكُمْ (٣٢)

Artinya: “Lalu, Kami tumbuhkan padanya biji-bijian, anggur, sayur-sayuran, zaitun, pohon kurma, kebun-kebun (yang) rindang, buah-buahan, dan rerumputan. (Semua itu disediakan) untuk kesenanganmu dan hewan-hewan ternakmu.”

Ayat di atas menjelaskan tentang kekuasaan Allah menciptakan biji-bijian, sayur-sayuran, buah-buahan dan rumput yang bisa dijadikan bahan baku untuk membuat makanan atau obat bagi manusia. Setiap unsur tumbuhan memiliki manfaat dan khasiat unik bagi manusia yang bisa kita pelajari dan teliti dalam kehidupan kita, dan ada begitu banyak tentang unsur ini yang dapat kita pelajari

untuk menjelaskan dan memberikan wawasan tentang keajaiban yang terkandung dalam unsur ini. (Imani, 2005).

Tumbuhan mempunyai macam-macam manfaat dan khasiat salah satunya sebagai tanaman obat. Pada penelitian ini yaitu tumbuhan semanggi yang diprediksi dapat memberikan aktivitas sebagai neuroprotektif. Hal ini bahwa setiap penyakit ada obatnya, sebagaimana hadist yang diriwayatkan oleh Imam Muslim,

حَدَّثَنَا هَارُونُ بْنُ مَعْرُوفٍ وَأَبُو الطَّاهِرِ وَأَحْمَدُ بْنُ عِيسَى قَالُوا حَدَّثَنَا ابْنُ وَهْبٍ
أَخْبَرَنِي عَمْرُو بْنُ الْحَارِثِ عَنْ عَبْدِ رَبِّهِ بْنِ سَعِيدٍ عَنْ أَبِي الزُّبَيْرِ عَنْ جَابِرٍ
عَنْ رَسُولِ اللَّهِ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ أَنَّهُ قَالَ لِكُلِّ دَاءٍ دَوَاءٌ فَإِذَا أُصِيبَ دَوَاءُ الدَّاءِ

Artinya: Telah menceritakan kepada kami Harun bin Ma'ruf dan ~~Abu Ahmad~~ ^{Abu Thahir} serta Ahmad bin 'Isa mereka berkata; Telah menceritakan kepada kami Ibnu Wahb; Telah mengabarkan kepadaku 'Amru, yaitu Ibnu al-Harits dari 'Abdu Rabbih bin Sa'id dari Abu Az Zubair dari Jabir dari Rasulullah shallallahu 'alaihi wasallam, beliau bersabda: "Setiap penyakit ada obatnya. Apabila ditemukan obat yang tepat untuk suatu penyakit, akan sembuhlah penyakit itu dengan izin Allah 'azza wajalla. (HR. Muslim).

Hadis di atas menjelaskan diizinkan seorang muslim untuk mengobati penyakitnya, sebab setiap penyakit pasti ada obatnya. Ini menunjukkan bahwa obat dapat menjadi jalan kesembuhan bagi penderita, salah satunya obat tradisional. Kita sebagai akademisi dibidang kesehatan perlu melakukan penelitian tentang pengobatan dengan memanfaatkan kebesaran yang telah diberikan Allah kepada kita.

BAB VI

PENUTUP

6.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian ini yaitu

1. Terdapat 29 dari 82 senyawa hasil *metabolite profiling* fraksi etil asetat daun semanggi yang lulus skrining analisis fisikokimia berdasarkan hukum Lima Lipinski yang dapat diterima oleh tubuh dan bisa melewati sawar otak.
2. Terdapat 2 senyawa pada senyawa hasil *metabolite profiling* fraksi etil asetat daun semanggi yang agonis terhadap reseptor 5BTR secara *in silico* yaitu MTL7 (3,4,5-Trimethoxy-N-(4-pyridinylmethyl)benzamide) dan MTL23 (1-Ethyl-3-piperidinyl diphenylacetate).

6.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, saran dari penelitian ini perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk uji *in vitro*, *in vivo*, serta uji klinik sehingga dapat dijadikan sebagai bahan baku obat.

DAFTAR PUSTAKA

- Accelrys Enterprise Platform. 2005. *Introduction to the Discovery Studio Visualizer*. San Diego, California, U. S. A: Accelrys Software Inc.
- Aditama, Agnis Pondineka Ria., Burhan Ma'arif., Denis Mery Mirza., Hening Laswati., Mangestuti Agil. 2020. In Vitro and in Silico Analysis on the Bone Formation Activity of N-Hexane Fraction of Semanggi (*Marsilea crenata* Presl.). *Systematic Reviews in Pharmacy*. Vol 11, Issue 11.
- Adityara, R. A. 2017. Uji Aktivitas Antiosteoporosis Fraksi Etil Asetat Daun *Marsilea crenata* Presl. Dalam Meningkatkan Kepadatan Tulang Trabekula Femur Mencit Betina. *Skripsi*. Surabaya : Universitas Airlangga
- Afriastini, J. J. 2003. *Marsilea crenata* Presl. Di dalam: de Winter WP, Amoroso VB, editor. *Cryptograms: Ferns and fern allies*. Bogor: LIPI.
- Allredge, B. K., Corelli, R. L., Ernst, M. E., Guglielmo, B. J., Jacobson, P. A., Kradjan, W. A., Williams, B. R. 2013. *Applied Therapeutics*. PA: Lippincot Williams dan Wilkins.
- Al-Qur'an Kemenag Online. Qur'an Dan Terjemahan. <https://quran.kemenag.go.id/>.
- Arwansyah, A., Ambarsari, L., Sumaryada, T. I. 2014. Simulasi *Docking* Senyawa Kurkumin dan Analognya Sebagai Inhibitor Reseptor Androgen pada Kanker Prostat. *Current. Biochem*. Vol. 1 (1): 11-19.
- Bertram, L. dan Rudolph, E. T. 2005. The Genetic Epidemiology of Neurodegenerative Disease. *The Journal of Clinical Investigation*.
- Cassidy, A., Paola, A., Inge, L.N., Wendy, H., Gary, W., Inge, T., Steve, A., Heide, C., Yannis, M., Alicja, W., Claudia, S. dan Francesco, B. 2006. Critical Review of Health Effects of Soyabean Phytoestrogens in Postmenopausal Women. *Proceedings of the Nutrition Society*, 65, 76-92.
- Constantine, Susan., Ankush Sharma., Raffaele Raucci., Maria Costantini., Ida Autiero and Giovanni Colonna. 2013. Genealogy of an ancient protein family: the Sirtuins, a family of disordered members. *BMC Evolutionary Biology*. 13:60.
- Cosetta, *et al*, 2004. *Border control for potential aquatic weeds*. New Zealand: Departemen Conversation.

- Daina, A., Michielin, O., Zoete, V. 2017 SwissADME: A Free Web Tool to Evaluate Pharmacokinetics, Druglikeness and Medicinal Chemistry Friedliness of Small Molecules. *Scientific Reports*. Vol. 7 (42717): 1-13.
- David, E.G. 2002. *Kimia untuk pemula*. Jakarta: Erlangga.
- Ekins, S., Mestres, J., Testa, B. 2007. In silico Pharmacology for Drug Discovery: Applications to Targets and Beyond. *British Journal Pharmacology*. Vol. 152: 21-37.
- Garret, R. H. and C. M. Grisham. 2009. *Biochemistry 5ed*. Virginia: Brooks/Cole Cengage Learning.
- Gomes, Bruno Alexandre Quadros., João Paulo Bastos Silva, Camila Fernanda Rodrigues Romeiro, Sávio Monteiro dos Santos, Caroline Azulay Rodrigues, Pricila Rodrigues Gonçalves, Joni Tetsuo Sakai, Paulo Fernando Santos Mendes, Everton Luiz Pompeu Varela, and Marta Chagas Monteiro. 2018. Neuroprotective Mechanisms of Resveratrol in Alzheimer's Disease: Role of SIRT1. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 1-15.
- Hanwell, M, D., Donald E Curtis, D. E., David C Lonie, D. C., Vandermeersch, T., Eva Zurek, E and Hutchison, G. R. 2012. Avogadro: an advanced semantic chemical editor, visualization, and analysis platform. *Journal of Cheminformatics*. Vol. 4: 1-17.
- Helmy, Seham A., Hanan A Emarah., and Heba M. A. Abdelrazek. 2014. Estrogenic Effect of Soy Phytoestrogens on the Uterus of Ovariectomized Female Rats. *Clinical Pharmacology & Biopharmaceutics*. S2:001.
- Herlina, W. 2011. *Kitab Tanaman Obat Nusantara*. Yogyakarta: Medpres (Anggota IKAPI).
- Hidayati, R.K., Rachmadiarti, F., dan Rahayu, Y.S. 2017. Profil Protein Semanggi Air (*Marsilea crenata*) yang Ditanam pada Kombinasi Media Tanaman Lumpur Lapindo dan Tanah Alfisol. Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Surabaya.
- Imani, Allamah Kamal Faqih. 2005. *Tafsir Nurul Quran, Sebuah Tafsir Sederhana Menuju Cahaya Alquran*. Jakarta. Al-Huda
- Jamuna, S., Rathinavel, A., Sadullah, S. M. S. and Niranjali, S.D. 2018. In Silico Approach to Study the Metabolism and Biological Activities of Oligomeric Proanthocyanidin Complexes. *Indian J Pharmacol*. Vol. 50 (5): 242–250.

- Jefferson W.N., Padilla-Banks E., Clark G., and Newbold R.R. 2002. Assessing estrogenic activity of phytochemicals using transcriptional activation and immature mouse uterotrophic responses. *Journal of Chromatography. B Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences* 777(1-2):179-189.
- Kalidasu, S. and Kuna, Y. 2012. Validation of selected Anti- Alzheimer's drugs through Lipinski rule of five. *Journal of Pharmacy Research*. Vol. 5 (4): 2174-2177.
- Kelder, J., Grootenhuis, P.D., Bayada, D.M., Delbressine, L.P. and Ploemen, J.P., 1999. Polar Molecular Surface As a Dominating Determinant for Oral Absorption and Brain Penetration of Drugs. *Pharmaceutical Research*. Volume 16, Nomor 10: pp.1514-151.
- Kovacs, G. G. 2014. Current Concepts of Neurodegenerative Diseases. *Emj Neurol*. 1:7#8-86.
- Kovacs, G. G. 2016. Molecular Pathological Classification of Neurodegenerative Diseases: Turning Towards Precision Medicine. *Int. J. Mol. Sci.* 17, 189.
- Kuiper, G.G., J.G. Lemmen, B. Carlsson, J.C. Corton, S.H. Safe, P.T. van der Saag, B. van der Burg, and J.A. Gustafsson. 1998. Interaction of estrogenic chemicals and phytoestrogens with estrogen receptor beta. *Endocrinology*. 139:4252-4263.
- Kumar, N., Mishra, S. S., Sharma, C. S., Singh, H. P. and Pantiya, H. 2017. In silico Pharmacokinetic, Bioactivity and Toxicity Evaluation of Some Selected Anti-Ulcer Agents. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research*. Vol. 9 (2): 68-71.
- La Kilo, A., Aman, L. O., Sabihi, I. and La Kilo, J. 2019. Studi Potensi Pirazolin Tersubstitusi 1-N dari Tiosemikarbazon Sebagai Agen Antiamuba Melalui Uji In Silico. *Indo. J. Chem. Res*. Vol. 7 (1): 9-24.
- Laswati, H. 2011. Green Clover Potentiates Delaying the Increment of Imbalance Bone Remodeling Process in Postmenopausal Women. *Folia Medica Indonesiana*. Vol 47 (2).
- Lee, W-L., Tsui, K-H., Seow, K-M., Cheng, M-H., Su, W-H, Chen, C-P., Wang, P-H. 2013. Hormone therapy for postmenopausal women and unanswered issue. *Elsevier: Gynecology and Minimally Invasive Therapy*. Vol. 2: 13-17.
- Lipinski, C.A., Lombardo, F., Dominy, B.W. and Feeney, P.J. 2012. Experimental and Computational Approaches to Estimate Solubility and Permeability in

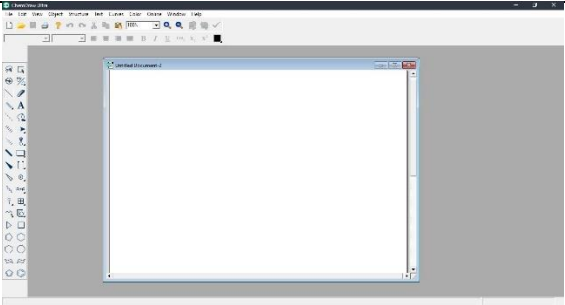
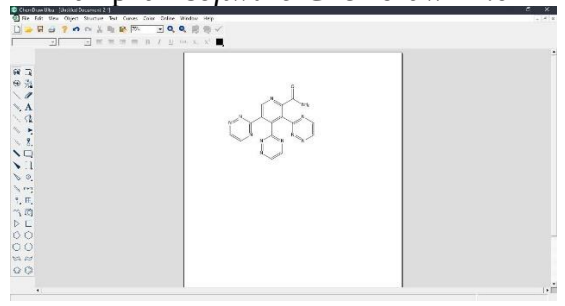
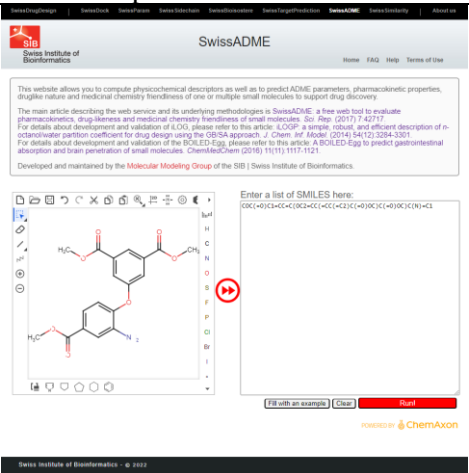
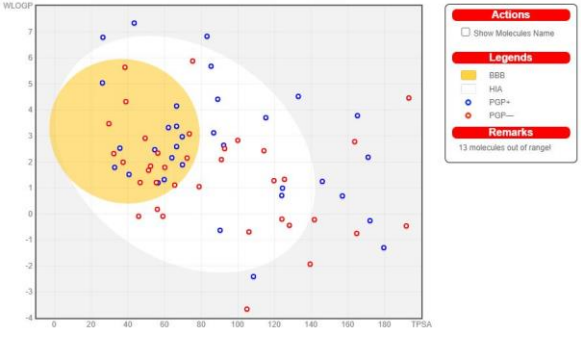
- Drug Discovery and Development Settings. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 64, 4-17.
- Lodish, H., Berk, A., Zipursky, Matsudaira, Baltimore and Daenel, J. 2000. *Molecular Cell Biology 4ed*. New York: WH Freeman Company.
- Ma'arif, B, ZA. 2012. Isolasi Senyawa Golongan Terpenoid Dari Ekstrak n-Heksana Daun *Marsilea crenata* Presl. (isolasi ekstrak n-heksana dengan Rf 0,33 pada fase gerak n-heksana:etil asetat (4:11). *Skripsi*. Surabaya: Departemen Farmakognosi dan Fitokimia, Fakultas Farmasi Universitas Airlangga; Hal 4-6.
- Ma'arif, B., Agil, M., and Laswati, H. 2016. Phytochemical Assessment On n-hexane Extract and Fractions of *Marsilea crenata* Presl. Leaves Through GC-MS. *Traditional Medicine Journal*. Vol. 2, Pages 77-85.
- Mangestuti Agil, Hening Laswati, Hadi Kuncoro, Burhan Ma'arif. *In silico* Analysis of Phytochemical Compounds in Ethyl Acetate Fraction of Semanggi (*Marsilea crenata* Presl.) Leaves As Neuroprotective Agent. *Research J. Pharm. and Tech*. 13(8): August 2020.
- Meng ZY, Zhang HX, Meizai M, Cui M. 2011. Molecular Docking: A powerful approach for structure-based drug discovery. *Curr Comput Aided Drug Des* 7:146-157.
- Merksamer, P.I., Yufei Liu., Wenjuan He., Matthew D Hirschey., Danica Chen., Eric Verdin. 2013. The Sirtuins, Oxidative Stress And Aging: An Emerging Link. *AGING*. Vol.5 No.3.
- Michael T, Halabalaki M, Skaltsounis AL. 2013. New concepts experimental approaches and dereplication strategies for the discovery of novel phytoestrogens from natural sources. *Plant Med*.79; 514-532.
- Muchtaridi, M., Dermawan, D. and 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*. Volume 10, Nomor 3.
- Mugumbate, G. and Overington, J. P. 2015. The relationship between target-class and the physicochemical properties of antibacterial drugs. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. Vol. 23: 5218-5234.
- Narko, T., Permana, B., Prasetiawati, R., Soni, D. and Khairiyah, F. 2017. Molecular Docking Study of Bulb of Bawang Dayak (*Eleutherine Palmifolia* (L) Merr) Compound as Anti Servical Cancer. *Jurnal Ilmiah Farmako Bahari*. Vol. 8 (2): 1-14.

- Ng, F., Wijaya, L., Tang, B.L., 2015. SIRT1 in the brain—connections with aging-associated disorders and lifespan. *Front. Cell Neurosci.* 9, 64.
- Nurjanah, Azka, A., Abdullah, A. 2012. Aktivitas Antioksidan dan Komponen Bioaktif Semanggi Air (*Marsilea crenata*). *Jurnal Inovasi dan Kewirausahaan*. Vol 1. (3).
- Onkara, P., Kumar, A. S., Kanakaraju, B., Prasanna, B., Pydisetty, Y., Chandramouli, G. V. P. 2013. Molecular Docking Studies, Synthesis and Anti-Bacterial Properties of New Mannich Bases. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*. Vol. 4 (2): 263-270.
- Ososki, A. L., Kennelly, E. J. 2003. Phytoestrogens: a Review of the Present State of Research. *Phytotherapy Research*. Vol. 17. Page 845-869.
- Prabowo, S.A.A., 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.
- Pradyptasari, W., B. Bahar, U. Najamuddin. 2013. Hubungan Konsumsi Makanan Mengandung Fitoestrogen dengan Siklus Menstruasi pada Siswi Kelas X SMA N 21 Makassar. Fakultas Kesehatan Masyarakat, Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Prince, M., Guerchet, M., Prina, M., 2015. The Epidemiology and Impact of Dementia: *Current State and Future Trends*.
- Proverawati, A. & Sulistyawati, E. 2010. *Menopause dan sindrom premenopause*. Yogyakarta: Muha Medika.
- Rachman, I. A., Soewondo, P., Setiati, S., Kusumawijaya, K., Baziad, A., Witjaksono, J., Sukarya, W. S. and Silvia. 2004. Terapi Sulih Hormon pada Wanita Perimenopause. *HTA Indonesia*.
- Rangaraju, A. and Rao, A. V. 2013. A Review On Molecular Docking – Novel Tool in Drug Design and Analysis. *Journal of Harmonized Research in Pharmacy*. Vol. 2 (4): 215-221.
- Rindawati. 2015. Eksistensi Bakul Semanggi. Gendong. *Disertasi*. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Rollando. 2017. *Pengantar Kimia Medisinal*. Malang: Seribu Bintang.

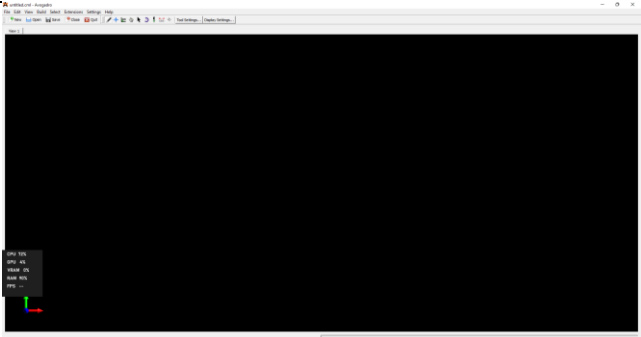
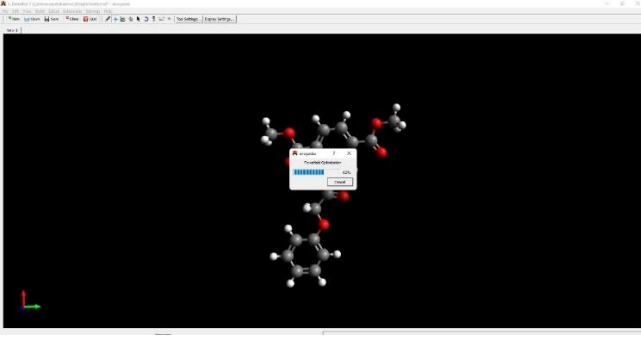
- Ruswanto, Mardhiah, Mardianingrum, R. and Novitriani, K. 2015. Sintesis Dan Studi In Silico Senyawa 3-Nitro-N'-[(Pyridin-4-Yl) Carbonyl]Benzohydrazide Sebagai Kandidat Antituberkulosis. *Chimica et Natura Acta*. Vol. 3 (2): 54-61.
- Saha, S. and Pal, D. 2017. *Log P in Encyclopedia of Physical Organic Chemistry*. India: John Wiley & Sons, Inc.
- Salmasfattah, N. 2019. Aktivitas antineuroinflamasi fraksi etil asetat daun Semanggi (*Marsilea crenata* C. Presl) secara In Vitro pada sel mikroglia HMC3. *Skripsi*. Jurusan Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Sandeep, G., Nagasree, K. P., Hanisha, M. and Kumar, M. M. K. 2011. AUDocker LE: A GUI for virtual screening with AutoDock Vina. *BMC Research Notes*. Vol. 4 (445).
- Saunders LR, Verdin EL. 2007. Sirtuins: Critical Regulators At The Crossroads Between Cancer And Aging. *Oncogene*. 26: 5489-5504.
- Sirotkin, A. V. and Harrath, A. H. 2014. Phytoestrogen and Their Effects. *European Journal of Pharmacology*. 741.
- Siswandono dan Soekardjo, B. 2000. *Kimia Medisinal*, Edisi 2. Surabaya: Airlangga University Press.
- Sliwoski, G., Kothiwale, S., Meiler, J., Lowe, E. W. Jr. 2014. Computational Methods in Drug Discovery. *Pharmacol Rev*. 66:334–395.
- Suharna. 2012. Studi In Silico Senyawa Turunan Flavonoid Terhadap Penghambatan Enzim Tirosinase. *Skripsi*. Makassar, UIN Alauddin.
- Sullelu, D. 2010. Perbedaan tingkat pengetahuan dan sikap wanita tentang memopause antara cara belajar aktif diskusi kelompok dengan leaflet dibanding metode dengan ceramah leaflet dikomplek Solobaru. *Tesis*. Surakarta: Universitas Sebelas Maret.
- Syahputra, G., Ambarsari, L. and Sumaryada, T. 2014. Simulasi *Docking* Kurkumin Enol, Bisdemetoksi kurkumin dan Analognya Sebagai Inhibitor Enzim12-Lipoksigenase. *Jurnal Biofisika*. Vol. 10 (1): 55-67.
- Taglieferri, I. C. I. & Tripathy, D. The New Menopause Book, Jakarta, *Indeks*. 2006.
- Titisari, Nurina., Ahmad Fauzi., Anom Adyana., Pratiwi Trisunuwati. 2016. The Effects of Water Clover (*Marsilea Crenata*) Extract against Estrogen,

- Progesterone And Uterine Histology on Rat (*Rattus Norvegicus*). *International Journal of PharmTech Research*, 2016,9(6), 165-171.
- Trott, O dan Olson, A. J. 2009. Software News and Update AutoDock Vina: Improving the Speed and Accuracy of Docking with a New Scoring Function, Efficient Optimazation and Multithreading. *Journal of Computational Chemistry*. Vol. 31 (2): 455-461.
- Varshney, M., dan Nalvarte, I. 2017. Genes, Gender, Environment, And Novel Functions of Estrogen Receptor Beta In The Susceptibility to Neurodevelopmental Disorders. *Brain Sci.* 7 (24).
- Veber, D. F., Johnson, S. R., Cheng, H-Y., Smith, B. R., Ward, K. W. and Kopple, K. D. 2002. Molecular Properties That Influence the Oral Bioavailability of Drug Candidates. *Journal of Medicinal Chemistry*, Vol. 45 (12): 2615-2623.
- Villiers, T. J. 2009. Bone Health And Osteoporosis In Postmenopausal Women. *Elsevier: Best Practice & Research Clinical Obstetrics and Gynaecology*, Vol. 23. Page 73-85.
- Wadood, A., Ahmed, N., Shah, L., Ahmad, A., Hassan, H., Shams, S. 2013. In Silico Drug Design: An Approach Whish Revolutionarised the Drug Discovery Process. *OA Drug Design and Delivery*. Vol. 1 (1): 1-4.
- Widiasari, F. A. 2017. Uji Aktivitas Antiosteoporosis Fraksi Etil Asetat *Daun Marsilea crenata* Presl. Dalam Meningkatkan Kepadatan Tulang Vertebra Mencit Betina. Skripsi. *Surabaya* : Universitas Airlangga
- Yacoeb AM, Nurjanah, Arifin M, Sulistiono W, Kristiono SS. 2010. Deskripsi histologis dan perubahan komposisi kimia daun dan tangkai semanggi (*Marsilea crenata* Presl., Marsileaceae) akibat erebusan. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. XII (2):81-95.
- Yang, T-S., Wang, S-Y., Yang, Y-C., Su, C-H., Lee, F-K., Chen, S-C., Tseng, CY., Jou, H-J., Huang, J-P., Huang, K-E. 2012. Effects of standardized phytoestrogen on Taiwanese menopausal women. *Elsevier: Taiwanese Journal of Obstetrics & Gynecology*. Vol. 51. Page 229-235.
- Zulkarnain. 2015. Peran Latihan Fisik Teratur Terhadap Fungsi Memori Dan Kognitif Wanita Pasca Menopause. *Jurnal Sport Pedagogy*. Vol. 5. No. 1.

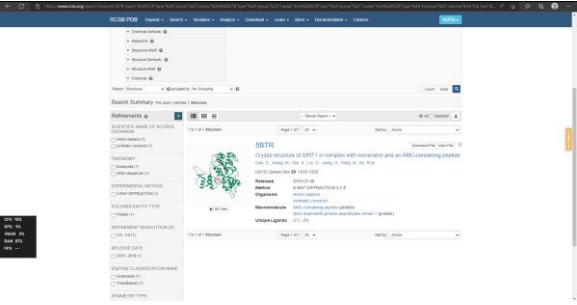
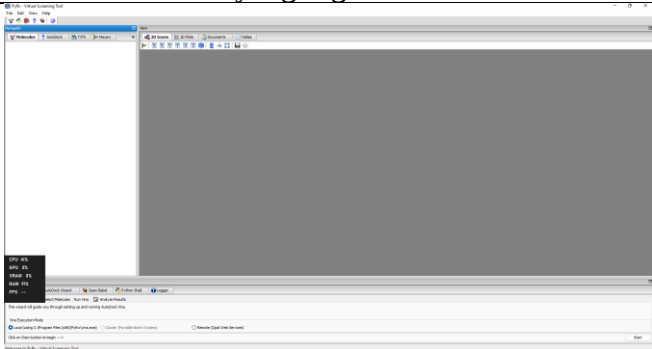
Lampiran 2. Prosedur Skrining dan Prediksi Analisis Fisikokimia

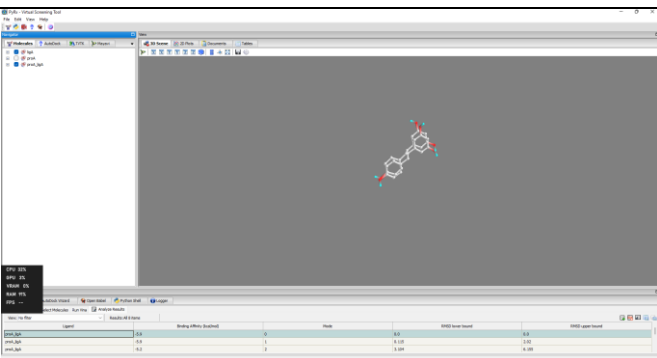
No	Pelakuan	Hasil dan Gambar
1	1. Digambar struktur senyawa hasil <i>metabolite profiling</i> fraksi etil asetat daun semanggi menggunakan Chemdraw 12.0 2. Disimpan gambar senyawa dengan format SMILES	 Tampilan <i>software</i> Chemdraw 12.0  Hasil disimpan dalam bentuk SMILES
2	1. Buka <i>webtool</i> SwissAdme 2. Masukkan file format SMILES ke dalam <i>webtool</i> SwissAdme 3. Disimpan hasil data SwissAdme	 Tampilan <i>webtool</i> SwissAdme  Hasil <i>webtool</i> Swissadme

Lampiran 3. Prosedur Preparasi Sampel

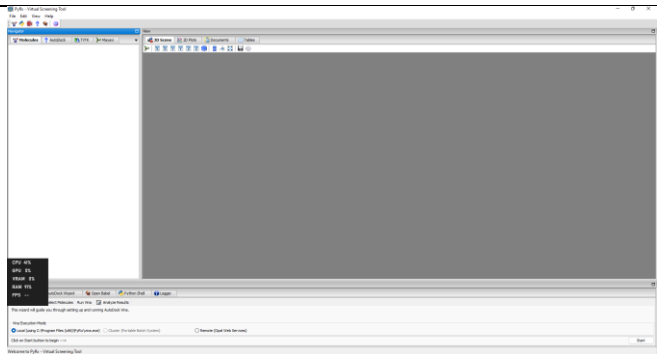
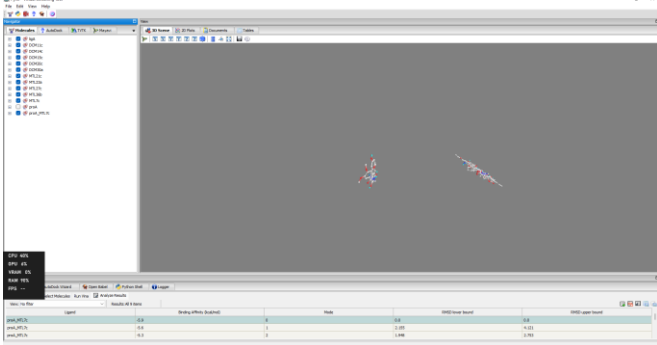
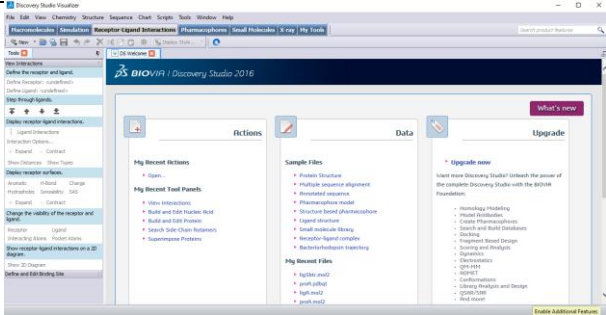
No	Perlakuan	Hasil dan Gambar
1	1. Dibuka <i>software</i> Avogadro 2. Senyawa yang memenuhi hukum Lima Lipinski dimasukkan ke Avogadro 3. Optimasi geometri struktur dengan metode MMFF94 4. Disimpan hasil data Avogadro	 Tampilan <i>software</i> Avogadro  Optimasi geometri dengan metode MMFF94

Lampiran 4. Preparasi Protein Reseptor

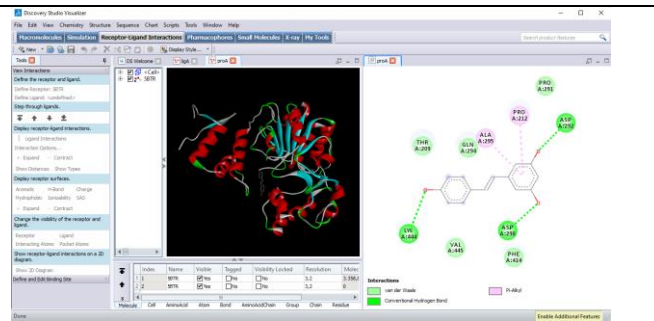
No	Perlakuan	Hasil dan Gambar
1	1. Dibuka website www.rcsb.org 2. Pencarian 5BTR 3. Diunduh file	 Protein yang digunakan 5BTR
2	1. Buka <i>software</i> PyRx 0.8 2. Dimasukkan ligan dan protein yang akan didocking 3. Autogrid ligan kemudian dijalankan AutoDock Vina 4. Disimpan data	 Tampilan <i>software</i> PyRx 0.8

		 Hasil validasi internal
--	--	---

Lampiran 5. Prosedur *Molecular Docking*

No	Perlakuan	Hasil dan Gambar
1	1. Buka <i>software</i> PyRx 0.8 2. Dimasukkan ligan dan protein yang akan didocking 3. Autogrid ligan kemudian dijalankan AutoDock Vina 4. Disimpan data	 Tampilan <i>software</i> PyRx 0.8  Hasil <i>molecular docking</i>
2	1. Buka <i>software</i> Biovia Discovery Studio Visualizer 2016 2. Dimasukkan protein dan senyawa hasil doking	 Tampilan <i>software</i> Biovia Discovery Studio Visualizer 2016

3. Dianalisis interaksi ligan dan disimpan data



Senyawa yang beikatan agonis