

JURNAL METAMORFOSA

Journal of Biological Sciences

eISSN: 2655-8122

<http://ojs.unud.ac.id/index.php/metamorfosa>

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

Moch. Mustakim¹, Vina Fitria Wulandari¹, Nabilah Miftachul Khoiriyah², Azis Mawardi¹, Rossa Martha Wulandari¹, Thiya Fathiyatul Fauziah¹, Nurul Jadid Mubarakati^{1*}

¹Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Malang, Jl MT. Haryono 193, 65144, Jawa Timur, Indonesia

²Departemen Agribisnis, Fakultas Pertanian, Universitas Islam Malang, Jl MT. Haryono No.193, 65144, Jawa Timur, Indonesia

*Corresponding author: nurul.jadid@unisma.ac.id

INTISARI

Penyakit Alzheimer merupakan penyakit neurodegeneratif yang mematikan peringkat 10 teratas berdasarkan WHO tahun 2019. Alzheimer ditandai dengan adanya penurunan aktifitas Choline Acetyltransferase (ChAt) yakni zat yang berperan dalam pembentukan enzim asetikolin sebagai enzim. Salah satu bahan alam yang diketahui berperan dalam meningkatkan daya ingat yaitu Pegagan. Untuk mengetahui jalur mekanisme senyawa aktif pegagan dalam pengobatan Alzheimer, penelitian ini menggunakan pendekatan in silico dengan menganalisis protein target dan senyawa aktif pegagan dalam suatu jejaring interaksi protein-senyawa. Penelitian ini menggunakan 12 senyawa uji dan molekul reseptor ChAt yang digunakan yaitu 5 TPG dan 4 KMD. Desain jejaring interaksi protein-senyawa dilakukan menggunakan sea target dan STRING database. Hasil interaksi lalu divisualisasikan di perangkat cytoscape. Hasil penelitian ini ditemukan terdapat 8 senyawa uji yang memiliki interaksi dengan reseptor ChAt sedangkan protein target yang berhubungan langsung dengan reseptor ChAt yaitu Tryptophan 5-hydroxylase 1 dan Zinc finger protein GLI. Jadi, senyawa aktif pegagan yang paling banyak berperan berdasarkan protein targetnya adalah senyawa Asiatic Acid, Brahmic Acid, -Humulene, -Caryophyllene, Bicyclogermacrene, Germacrene B, - Pinene, Caryophyllene.

Kata kunci: penyakit Alzheimer, Choline Acetyltransferase (ChAt), Pegagan, in silico, Jejaring interaksi

ABSTRACT

Alzheimer's disease is a top-10 deadly neurodegenerative disease based on WHO in 2019. Its characterized by a reduction in Choline Acetyltransferase (ChAt) of a substance that acts in the production of asetikolin. One of the ingredients of nature known to play a part in the increased memory of pegagan. To learn about the line of active compound mechanisms used in the treatment of alzheimer's, the study uses an in silico approach by analyzing target proteins and the compound's active compound on a network of compounds. This study used 12 test compounds and the ChAt receptor molecules. Networking design the interactions of these compounds using the sea target and STRING databases. The results of that interactions are visualized on the cytoscape device. Furthermore, the results also suggested thateight of compounds'stest that have interactions with ChAt receptors whereas

the target proteins directly linked to ChAt receptors namely Tryptophan 5-hydroxylase 1 (PDB ID: 5tpg) and Zinc finger protein GLI (PDB ID: 4kmd). Thus, the pegagan active compound that acts most closely on protein target is Asiatic Acid, Brahmic Acid, α -Humulene, β -Caryophyllene, Bicyclogermacrene, Germacrene B, α -Pinene, Caryophyllene.

Keywords: Alzheimer's disease, Choline Acetyltransferase (ChAt), pegagan, *in silico*, network interaction

PENDAHULUAN

Penyakit *Alzheimer* adalah penyakit otak yang mengakibatkan penurunan daya ingat, kemampuan berpikir dan bicara, serta perubahan perilaku secara bertahap (Willy, 2018). Penyakit *Alzheimer* merupakan penyakit yang umumnya dialami oleh lansia berusia 60 tahun keatas akan tetapi pada saat ini *Alzheimer* bisa dialami oleh seorang yang memiliki usia terbilang remaja, pengidap *Alzheimer* biasanya akan mengalami kesulitan dalam mengingat sesuatu, kesulitan dalam berbicara sehingga sering merasa terkucilkan dan berpengaruh kepada kondisi psikologis dari penderita. Sampai pada saat ini, penyebab khusus dari penyakit *Alzheimer* masih belum diketahui secara pasti.

Secara patofisiologi penyakit *Alzheimer* yakni pada sistem kolinergik yang terlibat dalam pengaturan daya ingat, diketahui adanya aktivitas enzim *choline acetyltransferase* (ChAt) dan *asetilkolinesterase* secara signifikan menurun pada otak penderita *Alzheimer* terutama di bagian korteks serebri, hipokampus, dan amigdala yang mana disfungsi sistem kolinergik berkorelasi dengan gangguan kognitif yang terjadi pada penyakit *Alzheimer* (Evani, 2019). Penurunan aktivitas ChAt dapat mempengaruhi dari perkembangan neurodegenerasi seperti penyakit *Alzheimer* yang merupakan awal dari penyakit Demensia. Sehingga ChAt dapat digunakan dalam deteksi awal adanya gejala *Alzheimer*, maka diperlukan alternatif sebagai penghambat ChAt.

Hingga saat ini belum ditemukan obat pasti yang dapat digunakan dalam mengobati penyakit *Alzheimer*. Penemuan hanya sebatas untuk menghambat dan menurunkan gejala-gejala yang dialami oleh penderita *Alzheimer*. Salah satu alternatif untuk memaksimalkan dalam hal penghambatan agen ChAt adalah

dengan menggunakan bahan-bahan alami yang tidak menimbulkan efek samping yang berlebihan. Bahan alami yang digunakan dapat berupa tanaman yang memiliki potensi dalam menghambat agen ChAt seperti tanaman pegagan.

Tanaman pegagan (*Centella asiatica* L.) merupakan tanaman yang banyak ditemukan di ladang, perkebunan hingga pekarangan yang tersebar di seluruh wilayah Indonesia. Tanaman pegagan biasanya dimanfaatkan sebagai lalapan, jamu tradisional hingga sebagai bahan pelengkap salad. Tanaman herbal yang dikonsumsi sebagai sayuran ini biasa dijuluki tanaman tapal kuda dan merupakan tanaman tahunan yang berbunga sepanjang tahun. Hingga saat ini tanaman pegagan masih dianggap sebagai tanaman gulma. Tanaman ini tergolong sebagai tanaman yang mudah dibudidayakan dengan teknik perkembangbiakan secara vegetatif. Sebagai tanaman gulma yang sering dianggap mengganggu, tanaman pegagan memiliki kandungan senyawa aktif yang beragam.

Berdasarkan pada penelitian yang pernah dilakukan didapatkan hasil bahwa pada ekstrak herbal kimia pegagan mengandung senyawa kimia seperti alkaloid, saponin, tanin, fenolik, flavonoid, glikosida, steroid, dan triterpenoid. Senyawa utama yang terkandung didalam daun pegagan adalah senyawa triterpenoid (Reubun dkk, 2021). Senyawa tripernoid yang ada didalam daun pegagan diprediksikan memiliki hubungan dengan agen penghambat ChAt sehingga dengan adanya hal tersebut diperlukan dilakukan kajian lebih lanjut untuk mengetahui lebih lanjut mengenai hal tersebut.

Penelitian *in silico* (mengacu pada penggunaan komputer) adalah penelitian yang menggunakan simulasi dengan bantuan komputer yang dilengkapi dengan sejumlah

perangkat lunak tertentu (Timotius, 2017). Penelitian *in silico* pada umumnya digunakan dalam kegiatan penelitian tentang studi prediksi interaksi suatu obat dalam tubuh dan atau patogen. Penelitian yang demikian diharapkan dapat mengurangi risiko kegagalan dalam uji klinis dalam kegiatan penelitian yang seperti pada umumnya. Tujuan penelitian ini untuk mengidentifikasi protein target yang memiliki jejaring dengan enzim ChAt penyebab penyakit *Alzheimer* menggunakan analisis *in silico*.

BAHAN DAN METODE

Metode penelitian menggunakan analisis *in silico* dengan melakukan pendekatan suatu kondisi/ keadaan nyata pada senyawa aktif daun pegagan (*Centella asiatica* L.) yang dianalisis jejaring dengan protein target *Choline Acetyltransferase* (ChAt).

A. Analisis Protein Target dan Mekanisme Interaksi Biologis

Potensi senyawa aktif daun pegagan diketahui dengan cara menghubungkan target protein yang telah diperoleh dari SEA TARGET (<https://sea.bkslab.org/>) dengan molekul *Choline Acetyltransferase* (ChAt) melalui Strings DataBase (https://stringdb.org/cgi/input?sessionId=bJNabzcTzzqz&input_page_show_search=on). Mekanisme interaksi biologis dapat diketahui dengan menggunakan *Cytoscape*. *Cytoscape* merupakan salah satu software open source untuk memvisualisasi jaringan interaksi secara molecular dan mekanisme biologis.

B. Analisis Fisikokimia Dan Toksisitas Senyawa Aktif

Identifikasi sifat fisikokimia dari senyawa aktif pegagan didapat dari hasil penelusuran pada <http://www.scfbio-iitd.res.in/software/drugdesign/lipinski.jsp> (aturan Lipinski Database) dan program pkCSM Online Tool diketahui untuk analisis ADME dan Toksisitas (<http://biosig.unimelb.edu.au/pkcsm/prediction>) dengan memasukkan kode SMILES masing-masing senyawa aktif.

C. Analisis Molecular Docking

Pada tahap analisis molecular docking bertujuan untuk memprediksi interaksi senyawa aktif terhadap enzim *Choline Acetyltransferase* (ChAt) pada penyakit *Alzheimer*.

- Preparasi ligan.
Penelitian ini menggunakan ligan yang didapatkan dari Web Server PubChem yang selanjutnya dianalisis protein targetnya menggunakan Web Server Sea Target.
- Preparasi Protein Reseptor.
Struktur molekul reseptor yang digunakan yaitu 5TPG dan 4KMD dapat diunduh menggunakan web server RCSB PDB (<https://www.rcsb.org/>). Preparasi dilakukan dengan menghilangkan ligan asli, chain dan molekul air yang tidak dibutuhkan kemudian disimpan dalam format pdb.
- Tahap *Molecular Docking*.
Docking antara target dengan ligan yang paling berpotensi dari mekanisme interaksi biologis yang telah dianalisis .
Pendekatan komputasi ligan-target docking diterapkan untuk menganalisis struktur kompleks ChAt sebagai target, Analisis *molecular docking* dijalankan menggunakan *Biovia Discovery STUDIO* dengan Software PyRx. Hasil analisis docking ditampilkan afinitas pengikatan dan interaksi reseptor ligan. Hal pertama yang dilakukan adalah menginput protein target (reseptor) dan ligan yang telah di preparasi ke dalam aplikasi tersebut. Selanjutnya, setelah protein target dan ligan diinput kemudian dilanjutkan dengan pengaturan Grid box. Kemudian setelah itu dapat dilakukan penambatan molekuler (*Molecular docking*). Hasil penambatan molekuler kemudian disimpan dalam format PDBQT

untuk dilanjutkan pada tahap selanjutnya.

- Tahap Validasi dan Visualisasi Hasil Docking.

Validasi dan visualisasi interaksi hasil *Molecular docking* dilakukan dengan menggunakan software *Discovery studio virtualizer*. Untuk melihat interaksi yang dihasilkan dari *molecular docking*, selanjutnya dilakukan visualisasi, 2D dan 3D menggunakan software *Discovery studio virtualizer*. Hasil visualisasi dapat memperlihatkan interaksi asam amino dalam bentuk 2 dimensi dan 3 dimensi. Selanjutnya interaksi tersebut dianalisis ikatan yang terbentuk antara reseptor dengan ligan.

Data yang diperoleh merupakan data sekunder dari database yang kemudian disusun secara sistematis secara deskriptif berbentuk tabel dan gambar dengan cara membaca data hasil penelitian yang berupa jejaring interaksi molekuler dan visualisasi molekuler network.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tanaman pegagan diduga sebagai obat pencegah pikun dikarenakan di dalamnya mengandung senyawa *Asiatic acid*, *Asiaticin*, *Brahmic acid*, *Brahminoside*, *Madecassic acid*, *Thankuniside*, *Sesquiterpenes*, α -*Humulene*, β -*caryophyllene*, *bicyclogermacrene*, *germacrene B and germacrene D*, *Monoterpenes*, *myrcene*, γ -*terpinene* and α -*pinene* (Abbas, dkk 2020). Tanaman tersebut cukup melimpah di Indonesia sehingga dapat digunakan sebagai obat herbal peningkat daya ingat karena diduga mampu meregenerasi saraf yang mengalami apoptosis (kematian sel). Penelitian ini menggunakan 12 senyawa aktif dari Pegagan yang diperoleh dari Web Server PubChem yang selanjutnya mencari hubungan antara senyawa aktif dan protein target ChAt menggunakan Sea Target (<https://sea.bkslab.org/>). Dari 12 senyawa aktif yang ada didapatkan 10 senyawa aktif Pegagan yang memiliki hubungan dengan ChAt diantaranya *Asiatic acid*, *Brahmic Acid*, α -*Humulene*,

Bicyclogermacrene, *Germacrene B*, α -*pinene*, *Caryophyllene*, *Myrcene*, *Germacrene D*. Analisis hubungan interaksi jejaring senyawa aktif dengan protein target dalam riset ini berfungsi untuk mengetahui jaringan interaksi secara molekuler dan mekanisme biologis terhadap ChAt. Berdasarkan hasil penelusuran Strings DataBase ditemukan terdapat 8 senyawa aktif yang memiliki penghubung dengan senyawa target, senyawa aktif tersebut diantaranya *Asiatic acid* dan *Brahmic Acid* yang memiliki hubungan dengan ChAt melalui protein TPH1 sedangkan, α -*Humulene*, β -*caryophyllene*, *Bicyclogermacrene*, *Germacrene B*, α -*pinene*, *Caryophyllene* memiliki hubungan dengan ChAt melalui protein GLI disajikan dalam Tabel 1.

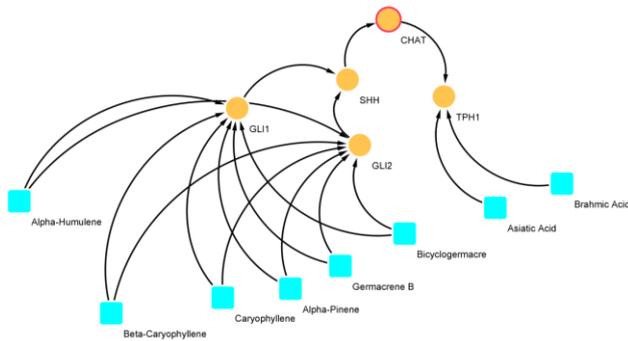
Choline Acetyltransferase (ChAt) adalah enzim yang bertanggung jawab untuk biosintesis neurotransmitter asetilkolin. ChAt diekspresikan oleh neuron kolinergik di sistem saraf pusat (SSP) dan sistem saraf perifer (PNS) yang didistribusikan di berbagai wilayah otak, akord tulang belakang, retina, dan berpartisipasi dalam pembelajaran, memori, dan Gerakan. (Avenue, 2016). *Choline Acetyltransferase* (ChAt) enzim yang mengkatalisis biosintesis asetilkolin, neurotransmitter yang mengatur transduksi sinyal pada sambungan neuromuskular dan, dengan demikian, perilaku motorik serta stimulasi visceral yang mendasari fungsi vegetatif dalam sistem saraf otonom (Takeo, 2021). Dengan pernyataan yang ada dapat diartikan *Choline Acetyltransferase* (ChAt) memainkan peran penting dalam proses otak mendasar seperti belajar, memori, kesadaran, dan tidur. Penyakit *Alzheimer* dapat disebabkan oleh kekurangan enzim *choline acetyltransferase*, yang mana enzim tersebut sangat penting untuk produksi asetilkolin.

Tabel 1. Identifikasi dan analisis interaksi senyawa aktif pegagan terhadap protein target menggunakan Sea target dan String database

Senyawa Terpenoid Pegagan			Protein Target
Sebelum analisis Sea Target	Sesudah analisis Sea Target	Sesudah analisis Strings DataBase	
<i>Asiatic acid</i> (CID:119034), <i>Brahmic acid</i> (CID:73412), <i>Madecassic acid</i> (CID:73412), <i>Sesquiterpenes</i> (CID:177131), α - <i>Humulene</i> (CID:91753605), β - <i>caryophyllene</i> (CID:5318102), <i>Bicyclogermacrene</i> (CID:101080032), <i>Germacrene B</i> (CID:5281519), <i>germacrene D</i> (CID:3517570), γ - terpinene (CID:7461), α - <i>pinene</i> (CID:91508) dan <i>Caryophillyne</i> (CID_5354499).	<i>Asiatic acid</i> (CID:119034), <i>Brahmic Acid</i> (CID:73412), α - <i>Humulene</i> (CID:91753605), β - <i>caryophyllene</i> (CID:5318102), <i>Bicyclogermacrene</i> (CID:101080032), <i>Germacrene B</i> (CID:5281519), α - <i>pinene</i> (CID:91508), <i>Caryophillene</i> (CID:5354499), <i>Myrcene</i> (CID:31253), <i>Germacrene D</i> (CID : 3517570)	<i>Asiatic acid</i> (CID:119034), <i>Brahmic Acid</i> (CID:73412), α - <i>Humulene</i> (CID:91753605), β - <i>caryophyllene</i> (CID:5318102), <i>Bicyclogermacrene</i> (CID:101080032), <i>Germacrene B</i> (CID:5281519), α - <i>pinene</i> (CID:91508), <i>Caryophillene</i> (CID:5354499),	<i>Tryptophan</i> 5- <i>hydroxylase</i> 1(TPH1) <i>Zinc finger protein</i> (GLI)
Total senyawa uji = 12 senyawa	Total senyawa uji = 10 senyawa	Total senyawa uji = 8 senyawa	

Berdasarkan hasil identifikasi yang dilakukan dengan menggunakan sea target dan string database dapat dilihat dari tabel yang tersaji bahwa untuk mencapai ChAt senyawa aktif dalam Pegagan harus melalui penghubung yakni protein TPH 1 dan GLI. Triptofan hidroksilase (TPH) adalah anggota keluarga hidroksilase asam amino aromatik pterindependen yang mengkatalisis reaksi mono-oksigenasi yang bergantung pada biopterin menggunakan (6*R*)-*L*-erythro-5,6,7,8,-tetrahydropterin sebagai kofaktor dan molekul oksigen untuk menghidrolisis *L*-triptofan atau triptofan menjadi 5-hidroksitriptofan. TPH1

diekspresikan terutama dalam sel enterokromafin pada mukosa usus (Aiello, dkk 2017). GLI merupakan protein yang berfungsi sebagai pengatur utama beberapa proses biologis yang penting untuk onkogenesis, termasuk kontrol proliferasi sel, diferensiasi, pembaruan diri, dan epitel– transisi mesenkim (Jetten, 2019). Kedua protein ini, Tph dan GLI dalam hubungannya dengan ChAt dapat dilihat melalui visualisasi yang terdapat pada Gambar 1.



Gambar 1. Jejaring senyawa aktif pada pegagan terhadap enzim *Choline Acetyltransferase (ChAt)* penyebab *Alzheimer* menggunakan *Cytoscape*

Karakteristik *Alzheimer* berdasarkan histopatologi diketahui ditemukan deposit eosinofilik ekstra seluler amiloid yang terdiri dari peptida A β (produk bersih APP) yang disebut plak amiloid serta agregat intraneuronal dari mikro tubule terkait protein tau (*neurofibrillary tangles*). Gangguan tidur, depresi, dan genotip apolipoprotein E (APOE) memiliki hubungan dengan *alzheimer*. Neurotransmitter yang paling berperan dalam patofisiologi dari *Alzheimer* adalah asetilkolin dan norepinefrin. Keduanya dihipotesis menjadi hipoaktif pada penyakit *Alzheimer* yang paling sering dijumpai yaitu demensia tipe *Alzheimer*.

Faktor risiko yang mempengaruhinya antara lain factor genetik yang salah satunya adalah apolipo protein E, factor usia, hipertensi, depresi dan gangguan, serta faktor aktivitas sosial (Nisa dkk. 2016).

Pada Gambar 1 yang merupakan visualisasi hasil penelusuran hubungan antara senyawa aktif Pegagan dan ChAt dapat dilihat bahwa semua senyawa aktif Pegagan tidak memiliki hubungan secara langsung dengan ChAt. Senyawa-senyawa tersebut harus melalui protein penghubung lain yang kemudian dari penghubung tersebut dapat berinteraksi secara langsung dengan ChAt. Senyawa *Asiatic acid* dan *Brahmic acid* berinteraksi dengan protein TPH 1 untuk selanjutnya berhubungan dengan ChAt. Sedangkan, kelima senyawa lainnya yakni *α -Humulene*, *β -caryophyllene*, *Bicyclogermacrene*, *Germacrene B*, *Caryophyllene*, melalui protein GLI 1 dan GLI 2 untuk selanjutnya melalui protein SHH menuju protein ChAt. Senyawa *α -pinene* tidak memiliki hubungan dengan GLI secara langsung, akan tetapi memiliki hubungan dengan CXCR3 dan beberapa protein penghubung lainnya untuk kemudian berhubungan dengan GLI hingga pada ChAt.

Tabel 2. Kesimpulan data berdasarkan hasil penelusuran aturan Lipinski, ADMET, dan *Molecular Docking* senyawa Aktif pada Pegagan yang berperan penting dalam penyakit *Alzheimer*

No	Nama Senyawa	Aturan Lipinski	Human Intestinal Absorption	Distribusi	Metabolisme	Eksresi	Kelas Toksisitas	Binding Affinity (kcal/mol)
1	<i>Asiatic acid</i>	Tidak	Tidak	Tidak	Ya	Ya	4	-7,3*
2	<i>Brahmic acid</i>	Ya	Tidak	Tidak	Ya	Ya	4	-8,3*
3	<i>α-Humulene</i>	Ya	Ya	Ya	Ya	Ya	4	-6,6**
4	<i>β-caryophyllene</i>	Ya	Ya	Ya	Ya	Ya	5	-5,9**
5	<i>Bicyclogermacrene</i>	Ya	Ya	Ya	Ya	Ya	5	-6,6**
6	<i>Germacrene B</i>	Ya	Ya	Ya	Ya	Ya	4	-6,7**
7	<i>α-pinene</i>	Ya	Ya	Ya	Ya	Ya	4	-5,1**
8	<i>Caryophyllene</i>	Ya	Ya	Ya	Ya	Ya	5	-6,9**

Ket :*protein TPH1 ; **** Protein GLI**

Berdasarkan hasil analisis sifat fisikokimia dan toksisitas menggunakan aturan Lipinski dan ADMET pada tabel 2, dapat diketahui terdapat 87,5% senyawa aktif pegagan memiliki sifat yang mirip dengan kriteria obat dan toksisitas ringan – sedang sehingga berpotensi sebagai obat *Alzheimers*. Senyawa aktif daun pegagan yang berpotensi sebagai obat adalah *Brahmic acid*, α -*Humulene*, β -*caryophyllene*, *Bicyclogermacre*, *Germacrene B*, α -*pinene* dan *Caryophyllene*. Sedangkan senyawa aktif dalam pegagan yang tidak berpotensi sebagai obat adalah *Asiatic acid*. Nilai *Binding affinity* merupakan nilai yang menunjukkan energi ikatan yang mana semakin rendah energi ikatan (*Binding affinity*) semakin kuat energi ikatan senyawa. Dari penelitiannya ini didapatkan 2 protein yang memiliki hubungan dengan senyawa aktif yakni protein Tph1 dengan *Asiatic Acid* dan *Brahmic Acid*, sedangkan Gli dengan α -*Humulene*, β -*caryophyllene*, *Bicyclogermacre*, *Germacrene B*, α -*pinene* dan *Caryophyllene*. *Binding affinity* tertinggi didapatkan dari senyawa aktif *Brahmic Acid* dan protein Tph1 yakni -8,3 kkal/mol dan senyawa aktif *caryophyllene* dengan protein Gli yakni -6,9 kkal/mol.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Didalam Pegagan terdapat 8 senyawa aktif terpenoid yang memiliki hubungan dengan ChAt sebagai enzim penyebab *Alzheimer*.
2. Senyawa aktif yang terpilih diketahui dalam hubungannya dengan ChAt melalui protein penghubung untuk selanjutnya berinteraksi dengan ChAt.
3. Protein target senyawa aktif Pegagan yang menjadi penghubung terhadap ChAt ada 2 yakni TPH 1 yang berhubungan dengan senyawa *Asiatic acid* dan *Brahmic acid* sebelum berinteraksi dengan ChAt dan senyawa α -*Humulene*, β -*caryophyllene*, *Bicyclogermacrene*, *Germacrene B*, α -*pinene*, *Caryophyllene*, melalui protein

GLI 1, GLI 2 dan SHH sebelum berinteraksi dengan ChAt.

4. Senyawa aktif pegagan berpotensi sebagai obat *Alzheimers* berdasarkan uji Lipinski dan ADMET yakni sebesar 87,5%
5. Nilai *binding affinity* tertinggi -8,3 kkal/mol pada senyawa *Brahmic acid* dan didapatkan jenis ikatan yang terbentuk antara reseptor dan ligan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kami sampaikan kepada Direktorat Jenderal Pembelajaran dan Kemahasiswaan Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan atas pendanaan Program Kreativitas Mahasiswa (PKM) 2021. Terima kasih kepada Universitas Islam Malang yang telah memberikan dukungannya. Tidak lupa kami juga mengucapkan terima kasih kepada Didik Huswo Utomo dan Radita Intan Aisyah Pratiwi yang telah membimbing secara teknis proses kerja metode *in silico* selama penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, S., M.S. Latif, N.S. Shafie, M.I. Ghazali, N.A.Z. Abidin, M.K. Mustafa, F. Kormin, 2020. A review of antioxidant and anti-*acetylcholinesterase* activities of *Centella asiatica* (L.) Urb. for the treatment of Alzheimer's disease, *Food Research*, 5(2):1-17.
- Aiello, R.J., P.A. Bourassa, Q. Zhang, J. Dubins, D.R. Goldberg, S.D. Lombaert, M. Humbert, C. Guignabert, M.A. Cavin, A. Timothy, McKinsey, and V. Paralkar, 2017. *Tryptophan hydroxylase 1* Inhibition Impacts Pulmonary Vascular Remodeling in Two Rat Models of Pulmonary Hypertension, *The Journal Of Pharmacology And Experimental Therapeutics*. 360(2):267-279
- Avenue, E.B. 2016. *Choline Acetyltransferase* (ChAt) – a useful Immunohistochemical marker for morphological studies of neurons. Available from: <https://www.novusbio.com/antibody-news/antibodies/choline->

- [acetyltransferase-chat-a-useful-immunohistochemical-marker-for-morphological-studies-of-neurons/](#).
- Evani, S. 2019. Edukasi Dan Promosi Kesehatan *Alzheimer*. Available from: <https://www.alomedika.com/penyakit/neurologi/alzheimer/patofisiologi/>
- Jetten, A.M. 2019. Emerging Roles of GLI-Similar Krüppel-like Zinc Finger Transcription Factors in Leukemia and Other Cancers, *A Cell Press Journal*, 5(9):547-557.
- Nisa, K.M., R. Lisiswanti, 2016. Faktor Risiko Demensia *Alzheimer*. *Medical Journal Of Lampung University*. 5(4):86-90.
- Reubun, Y.T.A., S. Kumala, S. Setyahadi dan P Simanjuntak. 2020. Penghambatan Enzim Asetilkolinesterase dari Ekstrak Herbal Pegagan (*Centela asiatica* (L.) Urb), Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera Lam.*) dan Kombinasinya, *Jurnal Farmasi Indonesia*, 17(02): 451-458.
- Takeo, E., Y. Sugiura, Y. Ohnishi, H. Kishima, E. Fukusaki dan S. Shimma, 2021. Mass Spectrometric Enzyme *Histochemistry* for Choline Acetyltransferase Reveals De Novo Acetylcholine Synthesis in Rodent Brain and Spinal Cord, *ACS Chem. ilmu saraf*, 12(12): 2079–2087.
- Timotius, K. H. 2017. *Pengantar Metodologi Penelitian: Pendekatan Manajemen Pengetahuan untuk Perkembangan Pengetahuan*. Edisi ke-1, Yogyakarta, Indonesia. Penerbit ANDI.
- Willy, T. 2018. *Penyakit Alzheimer*. Available from: <https://www.alodokter.com/penyakit-alzheimer/>.