

Original Research

SKRINING FITOKIMIA ASHITABA (*Angelica keskei*) TERHADAP ENOIL ACP REDUKTASE (inhA) *Mycobacterium tuberculosis* SEBAGAI SENYAWA POTENSIAL ANTI-TB

PHYTOCHEMICAL SCREENING OF ASHITABA (*Angelica keskei*) AGAINST ENOIL ACP REDUCTASE (inhA) *Mycobacterium tuberculosis* AS A POTENTIAL ANTI-TB COMPOUND

Anne Yuliantini^{1*}, Naura Nurnahari², Mitsly Fauziyah Jamil³, Aiyi Asnawi⁴

^{1,2,3,4}Fakultas Farmasi, Universitas Bhakti Kencana, Jalan Soekarno Hatta No. 754, Bandung, Indonesia, 40617

*E-mail: anne.yuliantini@bku.ac.id

Diterima: 22/11/2021

Direvisi: 23/01/2022

Disetujui: 09/06/2022

Abstrak

Tuberkulosis (TB) merupakan penyakit menular yang telah menginfeksi seperempat populasi dunia. Isoniazid adalah obat pilihan pertama untuk mengobati TB dengan mekanisme menghambat enoil ACP reductase (inhA) yang berperan penting dalam sintesis dinding sel *M. tuberculosis*. Akan tetapi, penggunaan isoniazid dalam jangka relatif panjang dapat menghasilkan efek hepatotoksik sehingga diperlukan pengembangan obat anti-TB yang baru. Ekstrak ashitaba dilaporkan memiliki aktivitas anti-TB. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk menemukan senyawa aktif ashitaba yang bertanggung jawab terhadap aktivitas anti-TB secara in silico terhadap reseptor inhA. Metode penambatan molekul menggunakan perangkat lunak Autodock tools 1.5.6. Hasil penambatan molekul menunjukkan dari 40 fitokimia ashitaba yang diuji, terdapat 8 senyawa yang memiliki nilai energi ikatan bebas dan konstanta inhibisi yang lebih baik dari ligan alami dan isoniazid aktif, yaitu memiliki nilai energi ikatan bebas dan konstanta inhibisi lebih kecil dari ligan alami dan isoniazid aktif. Senyawa prostratol F dan xantoangelol I merupakan 2 senyawa terbaik yang memiliki interaksi yang mirip dengan ligan alami dan potensial untuk dikembangkan menjadi obat anti-TB yang baru.

Kata kunci: ashitaba; anti-TB; fitokimia; InhA; penambatan molekul

Abstract

Tuberculosis (TB) is an infectious disease that has infected a quarter of the world's population. Isoniazid is firstline to treat TB by inhibiting enoil ACP reductase (inhA) which plays an important role in the synthesis of *M. tuberculosis* cell walls. However, the use of isoniazid in the relatively long term can produce hepatotoxic effects, so it is necessary to develop new anti-TB drugs. Ashitaba extract is reported to have anti-TB activity. Therefore, this study was conducted to find the active compound ashitaba which is responsible for in silico anti-TB activity against inhA receptors. Molecular docking method using Autodock tools 1.5.6 software. The result of molecular docking showed that of the 40 phytochemicals of ashitaba tested, there were 8 compounds that had better free bond energy and constants of inhibition than natural ligands and active isoniazid, which had lower free bond energy and constants of inhibition

than natural ligands and active isoniazid. Prostratol F and xanthoangelol I compounds are the 2 best compounds that have similar interactions with natural ligands and have the potential to be developed into new anti-TB drugs.

Keywords: *ashitaba*, *anti-TB*; *inhA*; *docking*; *phytochemicals*

PENDAHULUAN

Tuberkulosis (TB) merupakan salah satu penyakit menular yang disebabkan oleh infeksi *Mycobacterium tuberculosis*. Penyakit ini telah menginfeksi sekitar 1/4 populasi dunia dan menjadi salah satu penyebab utama kematian setiap tahunnya [1]. Menurut Kemenkes pada tahun 2021, TB di Indonesia masih merupakan masalah kesehatan utama yang diperkirakan kasusnya mencapai 845 ribu dan menyumbang 2/3 kasus TB di dunia yang menjadikan Indonesia menempati posisi kedua.

Pemberian obat anti-TB melalui pengobatan DOTS (*Directly Observed Treatment Short-course*) masih menjadi pilihan untuk mengatasi TB [1]. Isoniazid merupakan obat pilihan utama untuk mengobati TB. Isoniazid merupakan *prodrug* yang harus diaktivkan terlebih dahulu secara biologi sehingga bisa berikatan dengan *inhA*. Target isoniazid adalah reseptor 1ENY dengan mekanisme menghambat enzim enoil ACP reductase yang berperan dalam pembentukan asam mikolat yang merupakan komponen utama dari dinding sel *M. tuberculosis* [2]. Penggunaan isoniazid yang relatif lama yaitu 8 minggu – 6 bulan menghasilkan efek samping yang berbahaya terhadap fungsi hati [3]. Selain itu, adanya resistensi antibiotik dan koinfeksi dengan HIV mengakibatkan meningkatnya insiden TB dalam beberapa tahun terakhir [4]. Oleh karena itu, pengembangan dan penemuan obat TB untuk menggantikan isoniazid sangat penting dilakukan untuk mendapatkan obat TB yang lebih efektif dan sensitif terhadap *M. tuberculosis*.

Ashitaba (*Angelica keiskei* Koidzumi) merupakan tanaman introduksi yang berasal dari Jepang dan banyak digunakan sebagai obat tradisional. Kandungan senyawa yang terkandung dalam ashitaba diantaranya adalah β -karoten, vitamin B1, B2, B3, B5, B6, B12, biotin, asam folat dan vitamin C, dan juga mengandung beberapa mineral seperti kalsium, magnesium, potasium, fosfor, seng dan tembaga [5]. Ashitaba memiliki kandungan kalkon yang merupakan cairan pekat berwarna kuning yang terdapat pada akar, batang dan daun. Kalkon mengandung dua senyawa flavonoid penting yang khas yaitu 4-hidroksiderisin dan xanthoangelol yang dianggap sebagai senyawa aktif utama untuk berbagai biofungsi seperti anti-diabetes [6]; anti-kanker [7]; anti-platelet [8]; anti-oksidan [9]; dan anti-bakteri [10]. Selain itu, dilaporkan bahwa adanya aktivitas anti-TB pada ekstrak ashitaba [11] dan kandungan kalkon yang memiliki efek anti-TB [12] sehingga menjadi peluang ditemukannya senyawa pemandu untuk mendapatkan obat anti TB yang baru.

Seiring dengan perkembangan teknologi, penemuan obat baru relatif menjadi lebih singkat setelah adanya uji *in siliko* yang menjadi tahap awal pengujian kandidat obat baru sebelum dilakukan pengujian di laboratorium. Kandidat obat baru dapat diprediksikan interaksinya dengan target melalui uji *in siliko* dengan metode penambatan molekul (*docking*) [13].

Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mencari senyawa aktif ashitaba, *Angelica keiskei* Koidzumi (Umbelliferae), yang bertanggung jawab memiliki aktivitas anti-TB untuk mendapatkan senyawa pemandu baru (pengganti INH) sebagai obat anti-TB secara *in siliko*. Senyawa aktif ashitaba akan ditambatkan secara molekuler dengan target obat anti-TB untuk melihat interaksi yang terjadi dan dibandingkan terhadap obat anti-TB yang ada di pasaran.

Diharapkan senyawa aktif ashitaba memiliki aktivitas anti-TB yang lebih baik dari obat yang ada di pasaran baik kualitas, efikasi maupun keamanannya.

METODE

Sampel (Bahan) Penelitian

Pada penelitian ini, diperlukan satu unit Personal Computer dengan spesifikasi: operating system Windows 10 Home Single Language 64-bit (10.0 Build 17134); processor Intel® Core™ i5-7200U CPU @2.50 GHz (4 CPUs, ~2.7 GHz); memory 81926 MB RAM dengan perangkat lunak (Software) ChemDraw Ultra 8.0, Chem3D Ultra 8.0, GaussView 5.0, Avogadro, Discovery studio, Notepad++, dan Autodock Tools 1.5.6. metode algoritma Lamarckian Genetic Algorithm, Number of Runs “100”, Number of Evals “Medium”. Grid Point: 42, 74, 42 (x, y, z) dan Grid Center: -2,194; 32,386; 14,215 (x, y, z).

Prosedur kerja

Pemilihan Reseptor

Reseptor dipilih berdasarkan kriteria; metode analisis yang digunakan X-Ray Diffraction, bekerja pada organisme *Mycobacterium tuberculosis* dan merupakan reseptor isoniazid. File reseptor diunduh pada website www.rcsb.org dalam bentuk protein data file (*.pdb) dengan kode 1ENY. Reseptor yang dipilih dipisahkan terlebih dahulu dari ligan alaminya (Kode ID: 1ENY) dan diperiksa menggunakan *Discovery Studio* untuk memperbaiki residu yang hilang supaya tidak mempengaruhi pada saat docking.

Penyiapan Senyawa Uji

Penyiapan senyawa uji dilakukan dengan pencarian data berdasarkan hasil review artikel fitokimia ashitaba [14] diunduh melalui situs <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>.

Validasi Docking

Validasi penambatan molekul dilakukan untuk menentukan lokasi penambatan ligan uji. Hal ini dilakukan dengan menambatkan ulang ligan alaminya ke dalam reseptor 1ENY dengan menggunakan AutoDock Tools version 1.5.6. Parameter yang diamati yaitu nilai RMSD kurang dari 2Å (Pustaka).

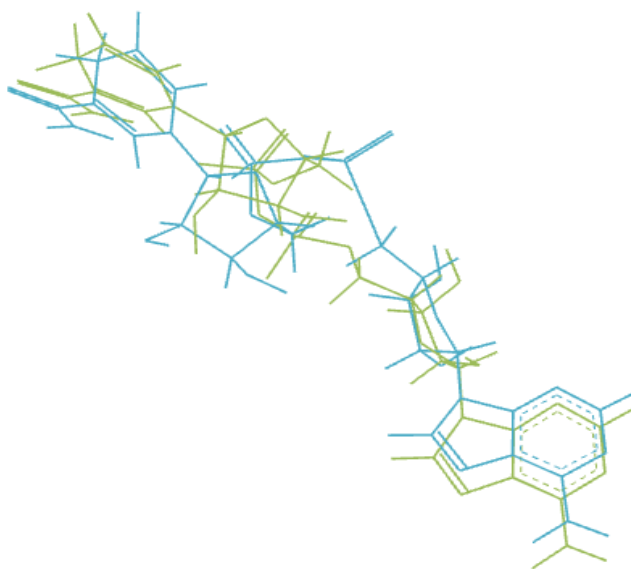
Docking Senyawa Uji

Docking senyawa uji dilakukan dengan menambatkan ligan uji yang telah disiapkan pada lokasi penambatan yang telah divalidasi sebelumnya dan telah dioptimasi secara frekuensi dan geometri menggunakan AutoDock Tools. Parameter hasilnya berupa ΔG (Energi ikatan bebas) dan nilai K_i (Konstanta Inhibisi). Visualisasi dan analisis docking menggunakan perangkat lunak Discovery Studio dan Notepad++.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Reseptor yang digunakan adalah enzim *enoil ACP reductase* (inhA) (KODE:1ENY) yang berperan dalam sintesis salah satu komponen utama dinding sel *M. tuberculosis*, yaitu asam mikolat. Ligan alami dari reseptor tersebut adalah *P-nicotinamide adenine dinucleotide* (NAD) sedangkan obat yang sudah ada di pasarannya adalah isoniazid (INH) yang merupakan obat pilihan pertama untuk pengobatan TB [2]. INH dikonsumsi dalam bentuk prodrug yang akan diaktifkan secara biologi sebelum berikatan dengan reseptor.

Setelah pemilihan reseptor dan penyiapan senyawa uji, dilakukan validasi docking untuk melihat interaksi antara reseptor dengan ligan alaminya. Metode docking dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak Autodock Tools 1.5.6. Hasil validasi docking menunjukkan nilai RMSD sebesar 0,97 Å yang memenuhi syarat RMSD kurang dari 2Å [15]. Berikut ini adalah hasil tumpang tindih ligan alami dengan hasil redocking



Gambar 1. Tumpang tindih ligan alami dari struktur kristal X-ray (warna hijau) dan hasil redocking (warna biru)

Selanjutnya, dilakukan docking terhadap 40 fitokimia ashitaba (*Angelica keskei*) [14] dengan hasil sebagai berikut.

Tabel 1. Nilai Energi Ikatan Bebas dan Konstanta Inhibisi Senyawa Aktif Ashitaba Hasil Docking

No.	Ligan	KODE SENYAWA	ENERGI IKATAN BEBAS (ΔG), kkal/mol	KONSTANTA INHIBISI (Ki), μM
	P-nicotinamide adenine dinucleotide (Ligan alami IENY)	NAD	-9,92	$53,80 \times 10^{-3}$
	Isoniazid-NAD	INH-NAD	-8,05	1,26
1	(3'R)-3'-hydroxy-columbianidin	3HC	-9,10	$215,52 \times 10^{-3}$
2	3'-seneciroyl khellactone	3SK	-8,97	$266,15 \times 10^{-3}$
3	4-Hydroxyderricin	4HD	-8,66	$445,99 \times 10^{-3}$
4	(2E)-1-[4-hydroxy-2-(2-hydroxy-2-propanyl)-2,3-dihydro-1-benzofuran-7-yl]-3-(4-hydroxyphenyl)-2-propen-1-one	4HH	-9,09	$216,85 \times 10^{-3}$
5	(2E)-1-[4-hydroxy-2-(2-hydroxy-6-methyl-5-hepten-2-yl)-2,3-dihydro-1-benzofuran-5-yl]-3-(4-hydroxyphenyl)-2-propen-1-one	4HM	-10,17	$35,02 \times 10^{-3}$
6	4-hydroxy-3,5,5-trimethyl-4-(1,2,3-trihydroxybutyl)cyclohex-2-enone	4HT	-6,21	28,24
7	4'-O-geranylaringenin	4OG	-9,87	$58,55 \times 10^{-3}$
8	4'-seneciroyl khellactone	4SK	-10,05	$42,90 \times 10^{-3}$
9	5-methoxyprosalen	5MP	-7,42	3,66
10	(2E)-1-(3-[(2E)-6,7-dihydroxy-3,7-dimethyl-2-octen-1-yl]-2,4-dihydroxyphenyl)-3-(4-hydroxyphenyl)-2-propen-1-one	6DD	-9,02	$243,44 \times 10^{-3}$
11	8-geranylaringenin	8GN	-10,04	$44,02 \times 10^{-3}$
12	Archangelicin	ARC	-10,29	$28,79 \times 10^{-3}$
13	Ashitabaol A	ASA	-7,90	1,63
14	Demethylsuberosin	DMS	-8,15	1,07
15	falcarindiol	FCR	-7,42	3,64
16	isobavachin	IBV	-9,35	$140,87 \times 10^{-3}$
17	Isobavachalcone	ISC	-9,33	$144,96 \times 10^{-3}$
18	Isolaserpitin	ISP	-8,76	$377,42 \times 10^{-3}$
19	Laserpitin	LSP	-8,08	1,20
20	munduleaflavanone	MFN	-8,95	$275,78 \times 10^{-3}$
21	Munduleaflavanone B	MFN_B	-8,79	$363,26 \times 10^{-3}$

22	osthenol	OSN	-8,41	$685,57 \times 10^{-3}$
23	prostratol F	PRF	-10,55	$18,42 \times 10^{-3}$
24	Pregnenolone	PRG	-8,51	$581,86 \times 10^{-3}$
25	pteryxin	PTX	-9,85	$60,50 \times 10^{-3}$
26	Selinidin	SLD	-9,12	$207,59 \times 10^{-3}$
27	Xanthoangelol	XA	-9,17	$190,15 \times 10^{-3}$
28	Xanthoangelol B	XAB	-9,21	$178,04 \times 10^{-3}$
29	Xanthoangelol C	XAC	-8,80	$356,37 \times 10^{-3}$
30	Xanthoangelol D	XAD	-8,46	$634,16 \times 10^{-3}$
31	Xanthoangelol E	XAE	-8,72	$405,48 \times 10^{-3}$
32	Xanthoangelol F	XAF	-10,01	$46,02 \times 10^{-3}$
33	Xanthoangelol G	XAG	-9,27	$160,99 \times 10^{-3}$
34	Xanthoangelol H	XAH	-8,99	$258,85 \times 10^{-3}$
35	Xanthoangelol I	XAI	-10,71	$14,09 \times 10^{-3}$
36	Xanthoangelol J	XAJ	-9,62	$89,31 \times 10^{-3}$
37	Xanthoangelol K	XAK	-8,40	$691,11 \times 10^{-3}$
38	Xanthokeismin A	XA_A	-9,50	$108,55 \times 10^{-3}$
39	Xanthokeismin B	XA_B	-10,25	$30,60 \times 10^{-3}$
40	Xanthokeismin C	XA_C	-9,85	$60,72 \times 10^{-3}$

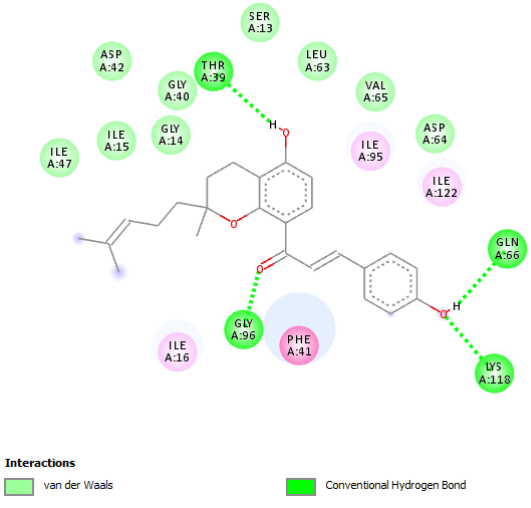
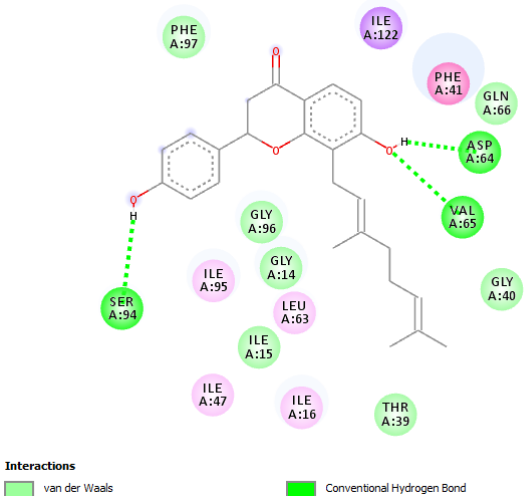
Parameter hasil docking adalah ΔG (Energi Ikatan Bebas) yang menyatakan kekuatan interaksi antara ligan – reseptor dan nilai K_i (Konstanta Inhibisi) yang menggambarkan afinitas ligan – reseptor.

Hasil docking dengan menargetkan 1ENY menunjukkan bahwa terdapat 8 senyawa yang memiliki nilai energi bebas ikatan dan konstanta inhibisi yang lebih baik dari ligan alami dan senyawa pembanding INH-NAD [16], yang diketahui memiliki mekanisme sebagai inhibitor InhA (1ENY). Hal ini dapat dilihat dari nilai energi bebas ikatan dan konstanta inhibisi yang lebih kecil dari ligan alami dan senyawa pembanding INH-NAD. Kedelapan senyawa tersebut berturut-turut yaitu XAI, PRF, ARC, XA_B, 4HM, 4SK, 8GN, dan XAF (**Tabel 1.**).

Dari ke-8 senyawa yang menunjukkan hasil yang lebih baik dari ligan alami dan INH-NAD, dianalisis jenis interaksi antara ligan dengan reseptornya dari 2 senyawa terbaik dengan urutan teratas, yaitu senyawa xanthoangelol I (XAI) dan Prostratol (PRF), dengan hasil sebagai berikut.

Tabel 2. Interaksi Ligan dan Reseptor 1ENY

Senyawa	Interaksi Ligan-Reseptor	Jenis Interaksi
NAD	<p>Interactions</p> <ul style="list-style-type: none"> ■ van der Waals ■ Conventional Hydrogen Bond ■ Carbon Hydrogen Bond 	<p>16 ikatan hydrogen</p> <p>Donor : ILE 21, ALA 22, VAL 65, SER 94, GLY 96, LYS 165, ILE 194, THR 196</p> <p>Akseptor : GLY 14, ASP 64, SER 94, ILE 95, GLY 96, ASP 148, ILE 194</p> <p>5 interaksi hidrofobik</p> <p>ILE 95, PHE 41, ALA 191, ILE 122, VAL 65</p> <p>8 interaksi Van Der Waals</p> <p>ILE 15, ILE 16, PHE 97, MET 147, PHE 149, MET 161, GLY 192, MET 199</p>
INH-NAD	<p>Interactions</p> <ul style="list-style-type: none"> ■ van der Waals ■ Conventional Hydrogen Bond ■ Carbon Hydrogen Bond 	<p>7 ikatan hydrogen</p> <p>Donor : GLY14, GLY96, LYS118, THR196,</p> <p>Akseptor : ASP 64, SER 94, GLY 96</p> <p>2 Interaksi Hirdofobik</p> <p>PHE 41, THR 196</p> <p>11 Interaksi Van Der Waals</p> <p>ILE 21, ASP 42, VAL 65, GLN 66, ILE 95, MET 98, PHE 97, ILE 122, MET 161, ILE 194, MET 199</p>

<p>XAI</p>	 <p>Interactions</p> <p>van der Waals Conventional Hydrogen Bond</p>	<p>4 ikatan hydrogen</p> <p>Donor : GLY 96, LYS 118</p> <p>Akseptor : THR 39, GLN 66</p> <p>4 Interaksi Hirdofobik</p> <p>ILE 16, PHE 41, ILE 95, ILE 122</p> <p>9 Interaksi Van Der Waals</p> <p>GLY 14, ILE 15, ASP 42, ILE 47, GLY 40, SER 13, LEU 63, ASP 64, VAL 65</p>
<p>PRF</p>	 <p>Interactions</p> <p>van der Waals Conventional Hydrogen Bond</p>	<p>3 Ikatan Hidrogen</p> <p>Donor : VAL 65</p> <p>Akseptor : ASP 64, SER 94</p> <p>7 Interaksi Hidrofobik</p> <p>ILE 16, PHE 41, ILE 47, LEU 63, VAL 65, ILE 95, ILE 122</p> <p>7 Interaksi Van Der Waals</p> <p>GLY 14, ILE 15, THR 39, GLY 40, GLN 66, GLY 96, PHE 97,</p>

Analisis interaksi senyawa yang menarget 1ENY menunjukkan senyawa XAI memiliki 4 ikatan hidrogen yang salah satunya berikatan dengan GLY 96, yang mirip dengan interaksi hidrogen yang ada pada ligan alami NAD, dan LYS 118 yang ada pada senyawa pembanding INH-NAD; 6 interaksi hidrofobik; dan 9 interaksi van der Waals. Senyawa PRF memiliki 3 ikatan hidrogen yang salah satunya berikatan dengan ASP 64, VAL 65, dan SER 94, yang mirip dengan interaksi hidrogen yang ada pada ligan alami; 10 interaksi hidrofobik; dan 7 interaksi van der Waals. Hal ini menunjukkan bahwa kedua senyawa memiliki interaksi yang cukup menjanjikan jika dibandingkan dengan ligan alami dan INH-NAD. Jika dibandingkan dengan penelitian terbaru sebelumnya, dengan menggunakan senyawa naphthoquinones dari umbi bawang tiwai (*Eleutherine americana* Merr.), senyawa dari ashitaba ini memiliki potensi anti-TB yang lebih baik dilihat dari ikatan hidrogen yang dimiliki oleh senyawa uji dengan reseptor [16].

KESIMPULAN

Dari 40 senyawa aktif ashitaba (*Angelica keskei*) yang diuji secara in siliko, terdapat 8 senyawa yang memiliki energi ikatan bebas (ΔG) dan konstanta inhibisi yang lebih baik dari ligan alami NAD dan INH-NAD. Senyawa xanthoangelol I dan prostratol F menjadi senyawa yang paling berpotensi dalam mentarget InhA (1ENY) berdasarkan hasil docking dan analisis interaksinya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih diucapkan kepada LPPM Universitas Bhakti Kencana yang telah memberikan dana penelitian ini melalui Riset Internal dalam skema penelitian dasar pada tahun 2021.

DAFTAR RUJUKAN

1. Christof C, Nußbaumer-Streit B, Gartlehner G. WHO Guidelines on Tuberculosis Infection Prevention and Control. Vol. 82, Gesundheitswesen. 2020. 885–889 p.
2. Dessen A, Quémard A, Blanchard JS, Jacobs WR, Sacchettini JC. Crystal structure and function of the isoniazid target of Mycobacterium tuberculosis. Science (80-). 1995;267(5204):1638–41.
3. Schaberg T, Rebhan K, Lode H. Risk factors for side-effects of isoniazid, rifampin and pyrazinamide in patients hospitalized for pulmonary tuberculosis. Eur Respir J. 1996;9(10):2026–30.
4. Bocchino M, Sanduzzi A, Bariffi F. Mycobacterium tuberculosis and HIV co-infection in the lung: Synergic immune dysregulation leading to disease progression. Monaldi Arch Chest Dis. 2000;55(5):381–8.
5. Kagaku B. 2 アシタバの概要 2 ・ 1. 2009;58(12):999–1009.
6. Luo L, Wang R, Wang X, Ma Z, Li N. Compounds from *Angelica keiskei* with NQO1 induction, DPPH scavenging and α -glucosidase inhibitory activities. Food Chem [Internet]. 2012;131(3):992–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.09.099>
7. Akihisa T, Tokuda H, Ukiya M, Iizuka M, Schneider S, Ogasawara K, et al. Chalcones, coumarins, and flavanones from the exudate of *Angelica keiskei* and their chemopreventive effects. Cancer Lett. 2003;201(2):133–7.
8. Son DJ, Park YO, Yu C, Lee SE, Park YH. Bioassay-guided isolation and identification of anti-platelet-active compounds from the root of Ashitaba (*Angelica keiskei* Koidz.). Nat Prod Res. 2014;28(24):2312–6.
9. Aoki N, Muko M, Ohta E, Ohta S. C-geranylated chalcones from the stems of *Angelica keiskei* with superoxide-scavenging activity. J Nat Prod. 2008;71(7):1308–10.
10. Yoshihiko I et al. Antibacterial Activity of Two Chalcones, Xanthoangelol and 4-Hydroxyderricin, Isolated from the Root of *Angelica keiskei* KOIDZUMI.
11. Fitri Kusuma SA, Iskandar Y, Dewanti MA. The ethanolic extract of ashitaba stem (*Angelica keskei* [Miq.] Koidz) as future antituberculosis. J Adv Pharm Technol Res. 2018;9(1):37–41.

12. Lin YM, Zhou Y, Flavin MT, Zhou LM, Nie W, Chen FC. Chalcones and flavonoids as anti-tuberculosis agents. *Bioorganic Med Chem.* 2002;10(8):2795–802.
13. Meng X-Y, Zhang H-X, Mezei M, Cui M. Molecular Docking: A Powerful Approach for Structure-Based Drug Discovery. *Curr Comput Aided-Drug Des.* 2012;7(2):146–57.
14. Caesar LK, Cech NB. A review of the medicinal uses and pharmacology of ashitaba. *Planta Med.* 2016;82(14):1236–45.
15. Cole JC, Murray CW, Nissink JWM, Taylor RD, Taylor R. Comparing protein-ligand docking programs is difficult. *Proteins Struct Funct Genet.* 2005;60(3):325–32.
16. Lilyawati I, Hajrah, Sastyarina Y. Simulasi Docking Senyawa Napthoquinones Umbi Bawang Tiwai (*Eleutherine americana*). *Proceeding Mulawarman Pharm Conf [Internet].* 2021;(April 2021):135–8. Available from: <http://prosiding.farmasi.unmul.ac.id/index.php/mpc/article/view/416/399>