



Simulasi Inhibisi Aktivitas Enzim α -Amilase dan α -Glukosidase oleh Senyawa Bioaktif Mikroalga *Spirulina platensis*

*(Inhibition Activity Simulation of α -Amylase and α -Glucosidase Enzyme by Bioactive Compounds of Microalgae *Spirulina platensis*)*

Syafrizayanti Syafrizayanti^{a*}, Adetya Putri^a, Marniati Salim^a, Arif Juliari Kusnanda^{a,b}

^aDepartemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas
Kampus Limau Manis, Padang, 25163, Indonesia

^bDepartemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Padang,
Jalan Prof. Dr. Hamka, Air Tawar, Padang, 251311, Indonesia

*Corresponding author: syafrizayanti@sci.unand.ac.id

DOI: 10.20961/alchemy.19.2.73120.223-233

Received 13 April 2023, Revised 31 July 2023, Accepted 3 August 2023, Published 30 September 2023

Kata kunci:

α -amilase;
 α -glukosidase;
DM;
simulasi *docking*;
Spirulina platensis.

ABSTRAK. Diabetes Melitus (DM) Tipe 2 merupakan penyakit dengan gejala hiperglikemia dengan jumlah kasus yang meningkat setiap harinya pada populasi dunia. Enzim yang berperan terkait DM Tipe 2 yaitu α -amilase dan α -glukosidase yang bertindak dalam menghidrolisis pati pada pankreas. Target terapi dalam pengobatan DM Tipe 2 yaitu penurunan reabsorpsi glukosa di usus dengan melakukan penghambatan enzim α -amilase dan α -glukosidase. Tujuan penelitian ini adalah untuk mencari senyawa bioaktif yang terkandung dalam ekstrak *Spirulina platensis* yang berpotensi menjadi inhibitor α -amilase dan α -glukosidase sebagai antidiabetes secara *in silico*. Metode yang digunakan berupa skrining senyawa aktif dari literatur, farmakokinetika dengan prediksi ADMET, *Lipinski's Rule of Five* dan simulasi penambatan molekul dengan program MOE. Berdasarkan hasil skrining dan simulasi penambatan molekul menunjukkan bahwa senyawa 4-amino-benzoat dapat berikatan dengan enzim α -amilase dengan afinitas pengikatan sebesar $-4,16 \text{ kcal.mol}^{-1}$ dengan situs pengikatan dengan asam amino His 299 dan Asp 195, dan berikatan dengan enzim α -glukosidase dengan afinitas pengikatan sebesar $-4,08 \text{ kcal.mol}^{-1}$ dengan situs pengikatan dengan asam amino Asn 58 dan Arg 17. Hasil ini menunjukkan senyawa 4-amino-benzoat dari mikroalga *Spirulina platensis* dapat dijadikan sebagai kandidat bahan alami dalam pengobatan antidiabetes.

Keywords:

α -amilase;
 α -glukosidase;
DM;
docking simulation;
Spirulina platensis.

ABSTRACT. Diabetes Mellitus (DM) Type 2 is a disease with symptoms of hyperglycemia, in which its case number is increasing daily in the world population. Enzymes playing a role related to Type 2 DM, namely α -amylase and α -glucosidase, act in hydrolyzing starch in the pancreas. The therapeutic target in treating Type 2 DM is to decrease glucose reabsorption in the intestine by inhibiting the enzymes α -amylase and α -glucosidase. This study aimed to find bioactive compounds in *Spirulina platensis* extracts that can become α -amylase and α -glucosidase inhibitors as *in silico* antidiabetics. The method used was screening active compounds from the literature, pharmacokinetics with ADMET predictions, Lipinski's Rule of Five, and molecular docking simulations with the MOE program. Based on the screening results and molecular docking simulations, it was shown that the 4-amino-benzoic compound could bind to the α -amylase enzyme with a binding affinity of $-4.16 \text{ kcal.mol}^{-1}$ with a binding site with the amino acids His 299 and Asp 195, and bind with the α -glucosidase enzyme with a binding affinity of $-4.08 \text{ kcal.mol}^{-1}$ with a binding site with the amino acids Asn 58 and Arg 17. These results show that the 4-amino-benzoic compound from *Spirulina platensis* microalgae can be a candidate for natural ingredients in antidiabetic treatment.

PENDAHULUAN

Diabetes Melitus (DM) merupakan penyakit dengan kondisi hiperglikemia kronis akibat gangguan metabolisme karbohidrat, lemak dan protein karena kelainan sekresi insulin, kerja insulin, ataupun keduanya (Alam *et al.*, 2016). Berdasarkan laporan *World Health Organization* (WHO) pada tahun 2013, terdapat 347 juta

Cite this as: Syafrizayanti, S., Putri, A., Salim, M., and Kusnanda, A. J., 2023. Simulasi Inhibisi Aktivitas Enzim α -Amilase dan α -Glukosidase oleh Senyawa Bioaktif Mikroalga *Spirulina platensis*. *ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia*, 19(2), 223-233. <https://dx.doi.org/10.20961/alchemy.19.2.73120.223-233>.

orang menderita diabetes diseluruh dunia (Chan, 2016). Indonesia sendiri berada dalam urutan ketujuh kasus DM tertinggi di dunia dengan jumlah kasus sebanyak 13,7 juta (Atlas, 2019). Usaha untuk mengontrol kadar glukosa *postprandial* dilakukan dalam upaya mengatasi DM, seperti peningkatan sekresi dan sensitivitas insulin, perubahan gaya hidup, serta penghambatan kerja enzim terkait metabolisme karbohidrat dalam tubuh (Siti *et al.*, 2020). Beberapa obat sintetik yang ditawarkan secara komersial dalam pengobatan DM Tipe 2 yaitu miglitol, voglibosa, dan yang paling umum akarbosa (Laoufi *et al.*, 2017), bekerja dengan penghambatan enzim terkait diabetes (Gheda *et al.*, 2021). Sayangnya, obat sintetik memiliki efek samping seperti diare, mual, dan perut kembung (Laoufi *et al.*, 2017). Kondisi ini menjadikan penemuan sumber bahan alami yang mempunyai aktivitas antidiabetes dan aman untuk dikonsumsi menjadi penting untuk terus dilakukan, sebagai salah satu alternatif dalam upaya pencarian senyawa dari bahan alam yang mampu bekerja dalam penghambatan enzim terkait diabetes.

Senyawa aktif banyak diperoleh dari bermacam sumber daya alam seperti tumbuh-tumbuhan (Alam *et al.*, 2019; Olaokun *et al.*, 2020), hewan, dan mikroorganisme seperti jamur, bakteri, dan mikroalga (Hussein *et al.*, 2019). Mikroalga mengandung senyawa metabolit primer dan metabolit sekunder yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber bahan makanan fungsional, nutrasetikal, dan farmasetik (Gouveia *et al.*, 2010). Penelitian sebelumnya mengungkapkan bahwa pengobatan tikus diabetes yang diinduksi aloksan menggunakan bubuk *S. platensis* menghasilkan efek hipoglikemik yang membantu dalam mengontrol peningkatan kadar glukosa darah (Pandey *et al.*, 2011; Ripa *et al.*, 2018) yang bekerja melalui peningkatan sekresi insulin dari sel β -pankreas atau peningkatan transportasi glukosa darah ke jaringan perifer (Farouk *et al.*, 2013). Oleh sebab itu, bahan alam dinilai berpotensi sebagai sumber obat, termasuk *S. platensis* yang memiliki aktivitas antioksidan dan antidiabetes (Scaglioni *et al.*, 2018).

Penghambatan kerja enzim terkait diabetes merupakan salah satu target potensial dalam mengontrol hiperglikemia *postprandial*. Penghambatan enzim α -amilase dan α -glukosidase mengakibatkan turunnya laju pencernaan karbohidrat sehingga glukosa yang terserap oleh tubuh lebih sedikit (González-Montoya *et al.*, 2018). Dalam tubuh, enzim α -amilase berperan dalam hidrolisis karbohidrat kompleks menjadi campuran oligosakarida di mukosa usus (Oyedemi *et al.*, 2017), sedangkan α -glukosidase merupakan enzim kunci dalam pencernaan karbohidrat, bekerja dalam proses katalisis pembelahan hidrolitik oligosakarida menjadi glukosa serta memfasilitasi penyerapan oleh usus kecil (Mohammadi-Khanaposhtani *et al.*, 2018). *S. platensis* kaya akan kandungan senyawa bioaktif yang berpotensi sebagai antidiabetes (Mane, 2019). *S. platensis* juga diketahui menjadi sumber utama antioksidan manusia (Francenia *et al.*, 2019). Senyawa antioksidan berperan penting dalam pengendalian kanker dan diabetes (Gheda *et al.*, 2021). Hal ini juga didukung oleh studi toksisitas yang menunjukkan bahwa jenis alga ini relatif aman sebagai senyawa obat (Sadek *et al.*, 2017).

Metabolit sekunder dengan aktivitas obat yang baik terkandung dalam ekstrak *S. platensis*, diantaranya alkaloid, terpenoid, fenolik, dan flavonoid (Mane, 2019). Sebagian besar senyawa fenolik dan flavonoid dinilai baik dalam penghambatan hiperglikemik (Alam *et al.*, 2016). Namun, banyak studi yang tidak menampilkan informasi interaksi molekuler antara protein target dengan senyawa uji, sehingga pada penelitian ini dilakukan penyelidikan aktivitas antidiabetes dari senyawa aktif dari *S. platensis* dalam menghambat enzim α -amilase dan α -glukosidase melalui pendekatan simulasi *docking* molekular dengan tujuan memprediksi interaksi yang terjadi antara target enzim dengan senyawa uji dalam menemukan desain obat baru dari bahan alam sebagai antidiabetes.

METODE PENELITIAN

Perangkat keras yang digunakan yaitu komputer dengan spesifikasi prosesor I[®] Core i-3 gen 10 dan RAM 4 GB. Sedangkan perangkat lunak yang digunakan untuk menjalankan simulasi *docking* adalah MOE 2015.1.

Persiapan Struktur Ligan

Sebanyak 34 senyawa dalam ekstrak *S. platensis* yang diperoleh dari kajian literatur digunakan sebagai ligan, diperoleh dalam bentuk kode SMILE dari *database* PubChem melalui <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>, serta senyawa pembanding yaitu akarbosa yang telah diuji secara klinis dalam penghambatan α -amilase dan α -glukosidase. Struktur ligan sebelum digunakan dilakukan minimalisasi energi yang disimpan dalam format *.mdb. (Siddique *et al.*, 2022; Syafrizayanti *et al.*, 2022).

Persiapan Struktur Protein

Struktur protein yang digunakan sebagai reseptor diunduh dalam bentuk 3D dari *Protein Data Bank*, yaitu α -amilase (PDBID:1HNY) (Brayer *et al.*, 1995) <https://www.rcsb.org/structure/1HNY> dan α -glukosidase (PDBID: 2ZE0) (Ren *et al.*, 2011; Jong *et al.*, 2015) <https://www.rcsb.org/structure/3TON> yang disimpan dalam format *.pdb. Struktur ini dilakukan persiapan dengan rangkaian penghilangan molekul air, perbaikan struktur, penghapusan ligan asli, dan pencarian sisi aktif protein (Nurlelari *et al.*, 2023).

Prediksi Aspek Farmakokinetika dan Toksisitas

Prediksi aspek farmakokinetika dan toksisitas terhadap 34 senyawa aktif dalam ekstrak *S. platensis* yang diperoleh dari kajian literatur dilakukan dengan menggunakan program PreADMET diakses melalui <http://preadmet.bmdrc.org/> (Mardianingrum *et al.*, 2021).

Skrining Ligand-Based Drug Likeness (Drug Scan)

Pengamatan obat dilakukan terhadap 34 senyawa aktif dalam ekstrak *S. platensis* dengan memperhatikan aturan obat yang baik (*Lipinski's Rule of Five*) yaitu meliputi berat molekul <500 g/mol, lipofilitas <5, donor ikatan hidrogen <5, akseptor ikatan hidrogen <10, *refractory molar* antara 40 – 130. Parameter *Lipinski's Rule of Five* dapat dilakukan dengan menggambar struktur senyawa aktif menggunakan *software* MarvinSketch dan gambar strukturnya dirubah menjadi gambar 3D dan disimpan dalam format *.pdb. Struktur ini selanjutnya dilakukan analisis *Lipinski's Rule of Five* dengan melakukan akses melalui <http://www.scfbio-iitd.res.in/software/drugdesign/lipinski.jsp> (Mardianingrum *et al.*, 2021; Priani and Fakhri, 2021).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Skrining Farmakokinetik dan *Lipinski's Rule of Five*

Skrining farmakokinetik (Tabel 1) dan analisis *Lipinski's Rule of Five* (Tabel 2) dilakukan terhadap 33 senyawa hasil penelusuran senyawa aktif dari *S. plantensis* menggunakan kajian literatur. Prediksi aspek farmakokinetika dan toksisitas dilakukan dengan menggunakan program berbasis web yaitu PreADMET. Parameter yang digunakan untuk studi ADME meliputi nilai Caco-2, HIA (*Human Intestinal Absorption*), PBB (*Plasma Protein Binding*), *Ames test*, *Carsino Rats*, dan *Carsino Mouse*.

Parameter Caco-2 untuk menentukan nilai permeabilitas senyawa. HIA (*Human Intestinal Absorption*) dilakukan untuk memprediksi persentase penyerapan obat di usus manusia dan PBB (*Protein Plasma Binding*) untuk mengetahui nilai dalam persen suatu obat yang terikat dengan protein plasma (Mardianingrum *et al.*, 2021). Parameter *Ames Test* dilakukan untuk menilai potensi mutagenik senyawa kimia. *Carcino Mouse* dan *Carsino Rats* dilakukan untuk mengetahui apakah suatu senyawa kimia menimbulkan sifat toksik terhadap suatu organisme uji (Vijay *et al.*, 2018). Pengujian ini dapat dilakukan untuk mengetahui potensi suatu senyawa sebagai kandidat bahan obat secara *in vitro*.

Berdasarkan Tabel 1, terdapat beberapa senyawa yang mempunyai nilai permeabilitas rendah yaitu senyawa kuersitrin, kuersetin, katekin, acecatin, dan kaemferol. Kemudian, sisa senyawa lainnya beserta senyawa pembanding (akarbosa) memiliki permeabilitas sedang. Persentase penyerapan senyawa aktif di usus manusia termasuk ke dalam rentang yang buruk sampai sedang terdapat hesperidin, naringin, rutin, asam klorogenat, asam elagik, dan asam galat. Senyawa lainnya mempunyai rentang penyerapan yang baik yaitu 70% – 100%. Analisis persentase pengikatan protein darah memiliki nilai yang beragam. Nilai yang baik untuk persentase pengikatan adalah >90% ditunjukkan oleh senyawa seperti hesperitin, apigenin, asam ferulat, asam isoferulat, dan katekol. Sementara senyawa lainnya mengikat dengan lemah dengan persentase sebesar <90%. Senyawa-senyawa yang mempunyai nilai Caco-2 sedang sampai tinggi dan penyerapan obat dalam usus sedang sampai tinggi dianalisis lanjut dalam *Lipinski's Rule of Five*.

Senyawa terpilih hasil skrining farmakokinetik adalah fikourolin, xantofil, fikosianoblin, fikoeritrobin, β -karoten, hesperetin, kaemferol, apigenin, naringin, asam ferulat, asam isoferulat, asam p-kumarat, asam kafeat, asam salisilat, asam protokatekuat, asam sinamat, kumarin, pirogalol, katekol, asam 4-hidroksibenzoat, 4-amino-benzoat, asam benzoat, dan akarbosa (senyawa pembanding), dilanjutkan dengan skrining prediksi *Lipinski's Rule of Five*. *Drug likeness* mengacu pada pemberian obat secara oral yang berhubungan dengan proses absorpsi dan distribusi obat. Kriteria obat yang baik harus mengikuti *Lipinski's Rule of Five*.

Aturan yang ditetapkan oleh *Lipinski's Rule of Five* yaitu berat molekul <500 g/mol, log P <5, donor ikatan hidrogen <5, akseptor ikatan hidrogen <10, dan *refractory* molar antara 40 – 130. Data penerapan *Lipinski's Rule of Five* dapat dilihat pada **Tabel 2** yang menunjukkan bahwa senyawa yang memenuhi *Lipinski's Rule of Five* adalah hisperetin, apigenin, naringenin, asam ferulat, asam isoferulat, asam p-kumarat, asam kafeat, asam salisilat, asam protokatekuat, asam sinamat, kumarin, pirogalol, katekol, asam 4-hidroksibenzoat, 4-amino-benzoat, dan asam benzoat.

Tabel 1. Hasil prediksi aspek farmakokinetik dan toksisitas.

Senyawa Uji	Prediksi Farmakokinetik			Toksistasitas		
	Caco-2	HIA	PBB	Ames Test	Carcino Mouse	Carcino Rats
Hesperidin	5,92	9,88	43,45	Non Mutagen	-	-
Fikourobilin	20,40	82,25	88,44	Mutagen	-	+
Xantofil	57,42	97,98	100,00	Non Mutagen	+	+
Naringin	7,89	11,74	51,06	Non Mutagen	-	-
Rutin	7,91	2,86	43,87	Non Mutagen	+	-
Fikosianobilin	20,39	84,65	86,87	Mutagen	-	+
Fikoeritrobin	20,4	84,75	86,23	Mutagen	-	+
Kuersitrin	3,41	63,48	93,23	Mutagen	-	+
β-Karoten	23,25	100,00	100,00	Non Mutagen	+	+
Asam klorogenat	18,71	20,42	41,96	Mutagen	+	-
Asam rosmarinat	20,72	62,48	86,24	Mutagen	-	+
Hesperetin	7,00	87,19	96,79	Mutagen	-	+
Kuersetin	3,41	63,48	93,23	Mutagen	-	+
Katekin	0,65	66,7	100	Mutagen	-	-
Acacetin	0,47	79,6	57,40	Mutagen	-	-
Kaemferol	9,57	79,43	89,6	Mutagen	-	+
Asam elagik	20,48	61,39	88,4	Mutagen	-	+
Apigenin	10,54	88,12	97,25	Mutagen	+	+
Naringenin	10,51	87,31	100	Mutagen	-	-
Asam galat	13,84	53,69	65,38	Mutagen	-	+
Asam ferulat	21,11	90,6	50,41	Mutagen	-	+
Asam isoferulat	21,13	90,6	47,53	Mutagen	-	+
Asam p-kumarat	21,1	92,09	63,05	Mutagen	+	-
Asam kafeat	21,1	82,3	40,29	Mutagen	-	+
Asam salisilat	20,31	88,13	8,77	Mutagen	-	-
Asam protokatekuat	18,3	74,74	27,11	Mutagen	-	+
Asam sinamat	21,03	97,84	60,85	Mutagen	-	-
Kumarin	32,12	100	43,39	Mutagen	+	+
Pirogalol	20,7	77,41	100	Mutagen	-	+
Katekol	16,54	87,41	97,32	Mutagen	-	+
Asam 4-hidroksibenzoat	20,37	90,64	3,47	Mutagen	-	+
4-amino-benzoat	20,37	90,64	3,47	Mutagen	-	+
Asam benzoat	20,96	96,23	7,57	Mutagen	-	-
Akarbosa	9,44	0,00	0,00	Non Mutagen	+	-

Keterangan:

Caco-2 (<4 Rendah, 4 – 70 Sedang, >70 Tinggi)

HIA (0 – 20% Buruk, 20 – 70% Sedang, 70 – 100% Baik)

PBB (>90% Terikat Kuat, <90% Terikat Lemah 4)

Senyawa-senyawa tersebut berpotensi dapat diadministrasikan secara oral, tetapi senyawa pembanding akarbosa tidak memenuhi kriteria *Lipinski's Rule of Five* pada parameter berat molekul dimana mempunyai berat yang >500 g/mol. Nilai ini berkaitan dengan proses distribusi suatu senyawa obat yang terjadi dengan cara menembus membran biologis melalui proses difusi. Berat molekul yang lebih kecil akan lebih mudah menembus membran biologi (Mardianingrum *et al.*, 2021).

Berdasarkan nilai dari *Lipinski's Rule of Five* senyawa aktif dari *S. platensis* semua senyawa yang memenuhi aturan mempunyai nilai Log P < 5. Nilai ini berkaitan dengan hidrofobisitas atau lipofilisitas suatu senyawa.

Semakin besar nilai log P, maka senyawa akan bersifat hidrofobik (Ivanović *et al.*, 2020). Berdasarkan data ini, maka senyawa-senyawa ini selanjutnya akan dilakukan analisis *molecular docking* dengan mempelajarinya sebagai inhibisi enzim α -amilase dan α -glukosidase.

Tabel 2. Hasil uji *drug scan* menurut *Lipinski's Rule of Five*.

Senyawa Uji	Prediksi Farmakokinetik				
	Berat Molekul	Donor Proron	Akseptor Proton	Log P	Refractory Molar
	< 500 g/mol	< 5	< 10	< 5	40-130
Fikourobilin	590	5	9	3,14	162,45
Xantofil	568	2	2	10,4	184,1
Fikosianobilin	586	5	8	4,26	164,83
Fikoeritrobin	586	5	8	3,61	164,25
β -Karoten	536	0	0	12,6	181,39
Hesperetin	302	3	6	2,51	76,74
Kaemferol	286	4	6	2,3	72,38
Apigenin	270	3	5	2,41	70,81
Naringenin	272	3	5	2,5	70,19
Asam ferulat	194	2	4	1,49	51,32
Asam isoferulat	194	2	4	1,49	51,32
Asam p-kumarat	164	2	3	1,49	44,77
Asam kafeat	180	3	4	1,19	46,44
Asam salisilat	138	2	3	1,09	35,06
Asam protokatekuat	154	3	4	0,79	36,73
Asam sinamat	148	1	2	1,78	43,11
Kumarin	146	0	2	1,61	41,11
Pirogalol	126	3	3	0,8	31,42
Katekol	110	2	2	1,09	29,77
Asam 4-hidroksibenzoat	138	2	3	1,09	35,06
4-amino-benzoat	136	2	3	0,36	35,18
Asam benzoat	234	0	6	0,49	45,87
Akarbosa	654	14	19	-8,56	137

Validasi *Docking*

Validasi *docking* dilakukan dengan melihat kesejajaran konformasi ligan uji hasil simulasi dengan ligan asli pada struktur kristalografi, dengan memperhatikan koordinat pusat masa struktur dan besaran *gridbox* dari *binding site pocket* dalam satuan angstrom (\AA) (Saputri *et al.*, 2016). Validasi bertujuan untuk menentukan pose yang paling akurat dari simulasi *docking*, dinyatakan dalam nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD) (Siti *et al.*, 2020). Kesejajaran konformasi struktur dikatakan paling optimal adalah yang memiliki nilai RMSD $\leq 2\text{\AA}$, namun nilai $< 3\text{\AA}$ masih dapat diterima. Semakin mendekati nol, maka kesejajaran konformasi struktur dikatakan semakin akurat (Listyani and Herowati, 2018).

Analisis Hasil *Docking*

Data *docking* ditampilkan dengan *Docking Score* (DS) dalam satuan kcal.mol^{-1} . Nilai ini diartikan sebagai *binding affinity* yang menggambarkan kekuatan interaksi antara ligan uji dengan reseptor, dimana semakin negatif nilai DS, maka kekuatan ikatan semakin baik (MOE, 2015). Berdasarkan *docking* terhadap α -amilase, hasil menunjukkan dari seluruh ligan uji memiliki potensi paling baik dalam penghambatan, yaitu 4-amino-benzoat dengan afinitas pengikatan sebesar $-4,16 \text{ kcal.mol}^{-1}$ (Tabel 3). Nilai ini tidak lebih baik jika dibandingkan dengan nilai DS senyawa pembanding akarbosa sebesar $-8,41 \text{ kcal.mol}^{-1}$. Akarbosa merupakan salah satu obat antidiabetes yang ada di pasaran yang bekerja secara kompetitif mengambat kerja enzim terkait dalam proses pencernaan, sehingga dapat menurunkan penyerapan glukosa dan menurunkan hiperglikemia postprandial (Pankaj, 2007; Hasan *et al.*, 2022).

Berdasarkan hasil simulasi penambatan molekul yang ditunjukkan oleh Tabel 3, dapat diketahui afinitas ikatan antara ligan dengan reseptor protein enzim α -amilase. Senyawa yang diujikan merupakan senyawa yang sudah memenuhi keamanan menurut aspek farmakokinetik dan toksisitas serta memenuhi kaidah *Lipinski's Rule of Five*. Berdasarkan hasil penelitian, penambatan ligan terhadap enzim α -amilase menunjukkan hampir seluruh

senyawa uji dapat diterima dengan rentang nilai RMSD yaitu berkisar antara 0,69 – 1,66 Å. Terdapat lima senyawa yang mengindikasikan hasil simulasi terbaik yaitu asam benzoat, 4-amino-benzoat, asam protokatekuat, asam ferulat, dan asam kafeat. Senyawa 4-amino-benzoat merupakan senyawa yang memberikan hasil simulasi inhibisi enzim α -amilase terbaik dengan nilai RMSD terbaik dibandingkan senyawa lainnya dengan nilai 0,69 Å dan nilai DS sebesar -4,16 kcal.mol⁻¹. Nilainya lebih tinggi jika dibandingkan senyawa pembanding akarbosa yang nilainya RMSD dan DS sebesar 1,66 Å dan -8,41 kcal.mol⁻¹.

Tabel 3. DS, RMSD, residu asam amino, jarak, serta jenis ikatan yang terbentuk antara ligan dengan enzim α -amilase.

Senyawa Uji	DS (kcal.mol ⁻¹)	RMSD (Å)	Residu Asam Amino	Jarak (Å)	Jenis Ikatan
Hesperetin	-5,55	1,29	Glu 233	3,31	Ikatan Hidrogen
Apigenin	-4,91	1,02	His 299	3,18	Ikatan Hidrogen
			Glu 233	3,41	Ikatan Hidrogen
			Glu 233	3,26	Ikatan Hidrogen
			Asp 300	2,91	Ikatan Hidrogen
Naringenin	-5,24	1,05	Trp 59	2,98	Ikatan Hidrogen
			Asp 197	2,9	Ikatan Hidrogen
Asam ferulat	-4,93	0,74	His 299	2,95	Ikatan Hidrogen
Asam isoferulat	-4,68	1,07	Trp 59	3,64	Ikatan Hidrogen
			His 299	2,79	Ikatan Hidrogen
Asam p-kumarat	-4,31	0,81	Arg 195	2,92	Ikatan Hidrogen
Asam kafeat	-4,52	0,80	Asp 300	3,39	Ikatan Hidrogen
			Glu 233	2,98	Ikatan Hidrogen
Asam salisilat	-4,22	1,34	His 299	2,96	Ikatan Hidrogen
			Arg 195	3,51	Ikatan Hidrogen
Asam protokatekuat	-4,06	0,72	Gln 63	3,32	Ikatan Hidrogen
Asam sinamat	-4,12	0,94	Tyr 62	4,35	Ikatan Hidrogen
			His 299	2,92	Ikatan Hidrogen
			Arg 195	2,99	Ikatan Hidrogen
Kumarin	-3,93	0,86	-	-	-
Pirogalol	-3,75	0,97	Asp 300	3,4	Ikatan Hidrogen
			Asp 197	3	Ikatan Hidrogen
Katekol	-5,30	1,32	His 299	2,95	Ikatan Hidrogen
			Trp 59	3,64	Ikatan Hidrogen
Asam 4-hidroksibenzoat	-3,93	0,78	Glu 233	3,21	Ikatan Hidrogen
4-amino-benzoat	-4,16	0,69	His 299	2,81	Ikatan Hidrogen
			Asp 195	3,3	Ikatan Hidrogen
Asam benzoat	-5,31	0,78	Ile 235	3,28	Ikatan Hidrogen
Akarbosa	-8,41	1,66	His 305	3,14	Ikatan Hidrogen
			Asp 197	3,05	Ikatan Hidrogen
			His 299	3,29	Ikatan Hidrogen

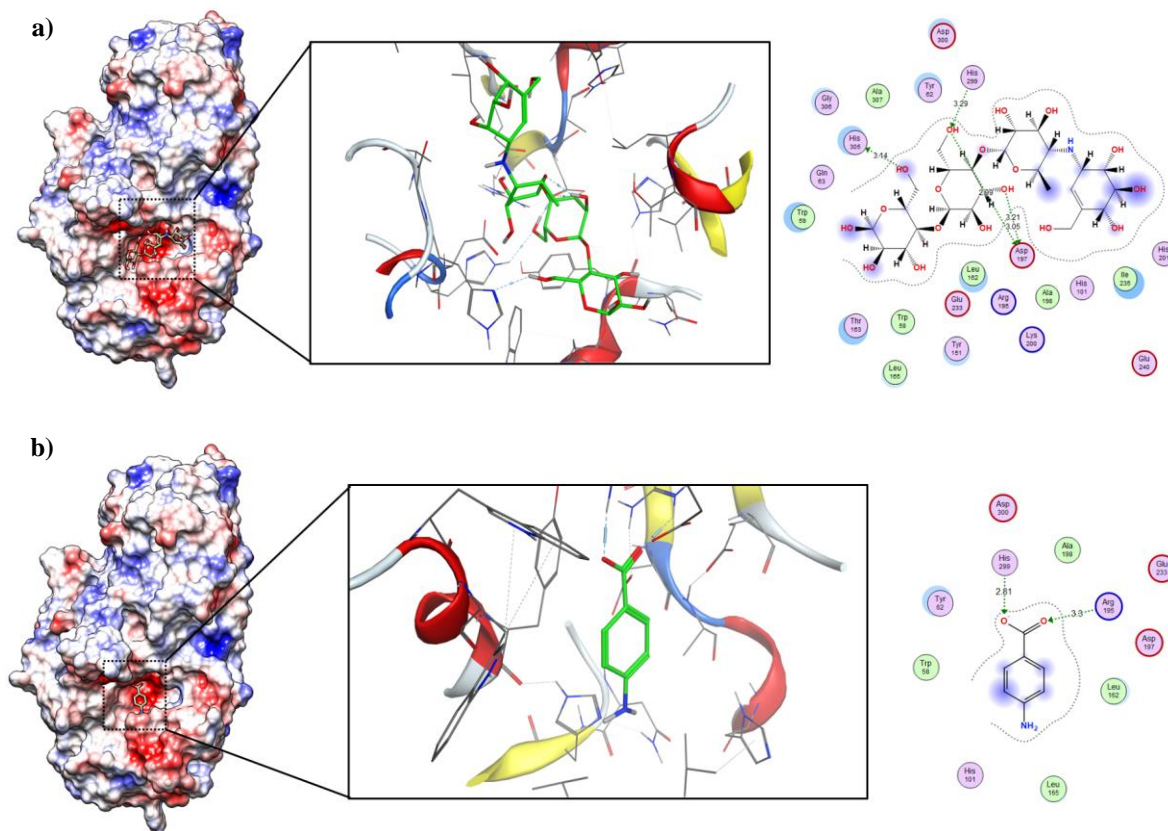
Keterangan:

DS : *Docking Score*

RMSD : *Root Mean Square Deviation*

Kompleks ligan-protein ditampilkan melalui gambar 3D dan 2D dengan melihat interaksi ligan dengan residu asam-asam amino dari bagian sisi aktif enzim yang diujikan. Visualisasi permukaan 3D dibagi berdasarkan pewarnaan, warna jingga memperlihatkan struktur enzim sementara bagian senyawa uji atau ligan diperlihatkan oleh warna hijau dan diberi tanda kotak (**Gambar 1**). Sementara itu, visualisasi 2D mempresentasikan jenis beserta jarak ikatan yang terjadi antara ligan dengan residu asam amino, dimana setiap residu dijelaskan berdasarkan sifat polar, non polar, asam dan basa. Peran dari masing-masing residu juga dijelaskan pada visualisasi ini yang terdiri dari donor dan akseptor (MOE, 2015). **Gambar 1** memperlihatkan interaksi kompleks ligan dengan residu asam amino dari enzim α -amilase. Visualisasi menunjukkan bahwa senyawa 4-amino-benzoat dua buah ikatan hidrogen terhadap reseptor, yaitu berinteraksi dengan asam amino His 299 dengan jarak ikatan 2,81 Å dan Asp 195 dengan jarak ikatan 3,3 Å. Interaksi ini lebih sedikit jika dibandingkan dengan senyawa pembanding akarbosa yang berinteraksi dengan 3 asam amino yaitu His 305, Asp 197, dan His 299. Hasil ini sejalan dengan penelitian terdahulu yang melaporkan bahwa enzim α -amilase mempunyai 3 daerah domain sisi aktif yaitu domain A (residu

1-99, 169-404), yang membentuk pusat delapan untai paralel yang salah satu ujungnya terdapat residu situs aktif Asp 197, Glu 233, dan Asp 300. Ion klorida terikat yang membentuk interaksi ligan ke Arg 195, Asn 298, dan Arg 337 ditemukan di sekitar 3 domain tersebut. Gugus protein yang membuat interaksi ligan dengan kalsium ini meliputi Asn 100, Arg 158, Asp 167, dan His 201 (Brayer *et al.*, 1995). Hasil simulasi penghambatan enzim α -amilase menunjukkan bahwa 4-amino-benzoat memiliki kemampuan mengikat sisi aktif dari enzim α -amilase. Berdasarkan studi literatur, banyak penelitian yang melaporkan senyawa ini mempunyai berbagai kemampuan aktivitas biologis seperti antibakteri, antikanker, dan antiinflamasi (Ahmed *et al.*, 2018; Kalinichenko *et al.*, 2019).



Gambar 1. Visualisasi 3D dan 2D interaksi ligan dengan residu asam amino pada enzim α -amilase senyawa (a) 4-amino-benzoat dan (b) akarbosa.

Tabel 4. DS, RMSD, residu asam amino, jarak, serta jenis ikatan yang terbentuk antara ligan dengan enzim α -glukosidase.

Senyawa	DS (kcal.mol ⁻¹)	RMSD (Å)	Residu Asam Amino	Jarak (Å)	Jenis Ikatan
Hesperetin	-6,31	1,12	Gln 167	3,04	Ikatan Hidrogen
Apigenin	-5,72	1,09	Tyr 63	3,57	Ikatan Hidrogen
Naringenin	-5,56	1,11	Glu 256	2,95	Ikatan Hidrogen
Asam ferulat	-5,02	1,58	-	-	-
Asam isoferulat	-5,19	1,26	-	-	-
Asam p-kumarat	-4,70	1,13	Arg 411	3,42	Ikatan Hidrogen
Asam kafeat	-4,77	2,78	Gln 167	3,02	Ikatan Hidrogen
			Asp 60	3,16	Ikatan Hidrogen
Asam salisilat	-4,11	0,90	Arg 411	3,41	Ikatan Hidrogen
Asam protokatekuat	-4,26	0,83	Arg 411	3,09	Ikatan Hidrogen
			Asn 61	2,95	Ikatan Hidrogen
Asam sinamat	-4,54	1,55	Arg 411	3,49	Ikatan Hidrogen
			Asn 61	3,19	Ikatan Hidrogen
Kumarin	-4,11	0,87	Asn 61	4,35	Ikatan Hidrogen
			Asn 58	3,11	Ikatan Hidrogen

Tabel 4. DS, RMSD, residu asam amino, jarak, serta jenis ikatan yang terbentuk antara ligan dengan enzim α -glukosidase. (Lanjutan)

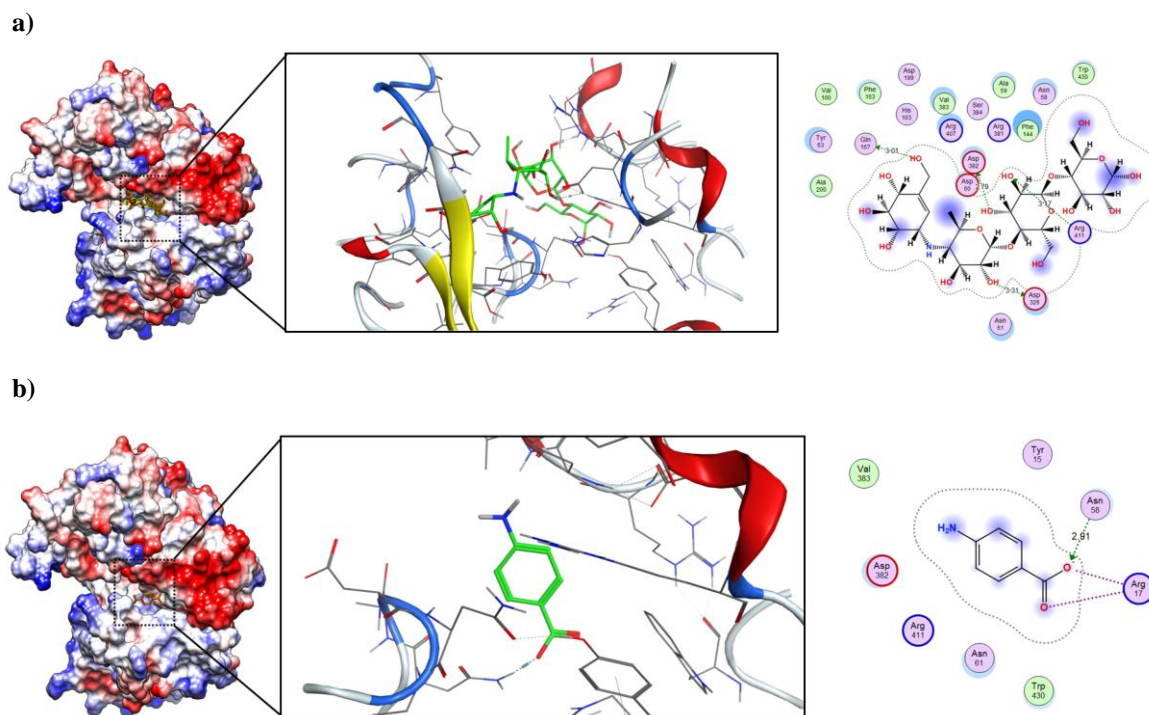
Senyawa	DS (kcal.mol ⁻¹)	RMSD (Å)	Residu Asam Amino	Jarak (Å)	Jenis Ikatan
Pirogalol	-3,74	0,92	Asp 381	2,84	Ikatan Hidrogen
Katekol	-5,53	0,99	Asn 61	2,89	Ikatan Hidrogen
			Arg 411	3,08	Ikatan Hidrogen
			Asp 60	3,13	Ikatan Hidrogen
			Gln 167	3,04	Ikatan Hidrogen
Asam 4-hidroksibenzoat	-4,16	0,89	Asn 61	3,07	Ikatan Hidrogen
			Arg 411	3,28	Ikatan Hidrogen
4-amino-benzoat	-4,08	0,57	Asn 58	2,91	Ikatan Hidrogen
			Arg 17	3,37	Ikatan Hidrogen
Asam benzoat	-5,08	1,44	Arg A411	3,03	Ikatan Hidrogen
			Arg B411	3,05	Ikatan Hidrogen
Akarbosa	-8,78	2,29	Glin 167	3,01	Ikatan Hidrogen
			Asp 382	2,79	Ikatan Hidrogen
			Arg 411	3,17	Ikatan Hidrogen
			Asp 326	3,31	Ikatan Hidrogen

Keterangan:

DS : *Docking Score*

RMSD : *Root Mean Square Deviation*

Hasil simulasi inhibisi terhadap α -glukosidase menghasilkan lima senyawa terbaik. Lima senyawa yang berpotensi menghambat kerja enzim tersebut adalah asam 4-hidroksibenzoat, kumarin, asam protokatekuat, 4-amino-benzoat, dan asam salisilat. Namun, senyawa 4-amino-benzoat menghasilkan afinitas pengikatan terbaik dibandingkan dengan yang lainnya yaitu sebesar -4,08 kcal.mol⁻¹ seperti diperlihatkan pada [Tabel 4](#).



Gambar 2. Visualisasi 3D dan 2D interaksi ligan dengan residu asam amino pada enzim α -glukosidase senyawa (a) 4-amino-benzoat dan (b) akarbosa.

Enzim α -glukosidase berperan dalam pemecahan karbohidrat menjadi glukosa pada saluran pencernaan. Hal itu menyebabkan jika terdapat suatu senyawa yang dapat menghambat kerjanya dengan mengikat pada sisi

aktifnya, diharapkan dapat menurunkan hiperglikemia posprandial (Pankaj, 2007; Weni *et al.*, 2020). Hasil interaksi senyawa 4-amino-benzoat terhadap enzim α -glukosidase, mempunyai dua buah ikatan hidrogen terhadap reseptor, yaitu berinteraksi dengan asam amino Asn 58 dengan jarak ikatan 2,91 Å dan Arg 17 dengan jarak ikatan sebesar 3,37 Å seperti yang diperlihatkan dalam Gambar 2. Namun, interaksi ini lebih sedikit jika dibandingkan dengan senyawa pembanding akarbosa yang memiliki empat buah interaksi, yaitu terhadap Gln 167, Asp 382, Arg 411, dan Asp 326.

Hasil visualisasi residu asam amino terhadap sisi aktif pada enzim α -glukosidase yang berinteraksi dengan 4-amino-benzoat dalam bentuk pose 3D dan 2D menunjukkan kesamaan jumlah residu asam amino yang berinteraksi dalam bentuk ikatan hidrogen antara residu pada sisi aktif enzim α -glukosidase dengan penelitian terdahulu yang melaporkan ikatan ligan dengan protein α -glukosidase menunjukkan residu asam amino krusial, yaitu Arg 407, Asp 326, dan Arg 197 (Jhong *et al.*, 2015).

KESIMPULAN

Pendekatan *in silico* secara *molecular docking* menunjukkan senyawa aktif dari *Spirulina platensis* menghambat enzim α -amilase dan α -glukosidase dengan mengikat sisi aktif pada pengikatan substrat-enzim. Hasil penambatan molekul senyawa bioaktif dalam ekstrak *Spirulina platensis* membentuk interaksi hidrogen dengan enzim α -amilase dan α -glukosidase. Senyawa yang paling berpotensi dari 34 senyawa uji yang dapat dikembangkan dengan baik sebagai inhibitor enzim α -amilase dan enzim α -glukosidase adalah senyawa 4-amino-benzoat. Senyawa 4-amino-benzoat mempunyai afinitas pengikatan sebesar $-4,16 \text{ kcal.mol}^{-1}$ terhadap enzim α -glukosidase dengan situs pengikatan dengan asam amino His 299 dan Asp 195 dan mempunyai afinitas pengikatan terhadap enzim α -glukosidase sebesar $-4,08 \text{ kcal.mol}^{-1}$ dengan situs pengikatan dengan asam amino Asn 58 dan Arg 17. Hasil studi penelitian ini dapat memfasilitasi arah penelitian masa depan terhadap penggunaan dan aplikasi mikroalga *Spirulina platensis* sebagai kandidat bahan alami dalam pengobatan antidiabetes.

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak ada konflik kepentingan dalam artikel ini.

KONTRIBUSI PENULIS

SS : Konseptualisasi, Metodologi, Software, Analisis Data, Supervisi; AP : Analisis Data, Penulisan Draft Manuskrip; MS : Supervisi dan Telaah Artikel; AJK: Analisis Data, Penulisan Draft Manuskrip.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada seluruh pihak-pihak yang telah memberikan bantuan dan kontribusi dalam proses penelitian dan penyusunan artikel ini.

DAFTAR PUSTAKA

- MOE, 2015. Molecular Operating Environment (MOE). Canada: Chemical Computing Group Inc.
- Ahmed, W. S., A. Razzak Mahmood, A., and Al-Bayati, R. I., 2018. Synthesis and Evaluation of Antimicrobial Activity of New Imides and Schiff Bases Derived from Ethyl -4-Amino Benzoate. *Oriental Journal of Chemistry*, 34(5), 2477–2486. <https://doi.org/10.13005/ojc/340533>.
- Alam, A., Quamri, S., Fatima, S., Roqaiya, M., and Ahmad, Z., 2016. Efficacy of Spirulina (Tahlab) in Patients of Type 2 Diabetes Mellitus (Ziabetes Shakri) - A Randomized Controlled Trial. *Journal of Diabetes and Metabolism*, 7(10). <https://doi.org/10.4172/2155-6156.1000710>.
- Alam, F., Shafique, Z., Amjad, S. T., and bin Asad, M. H. H., 2019. Enzymes Inhibitors from Natural Sources with Antidiabetic Activity: A Review. *Phytotherapy Research*, 33(1), 41–54. <https://doi.org/10.1002/ptr.6211>.
- Atlas, I. D. F. D., 2019. *International Diabetes Federation, The Lancet*. [https://10.1016/S0140-6736\(55\)92135-8](https://10.1016/S0140-6736(55)92135-8).
- Brayer, G. D., Luo, Y., and Withers, S. G., 1995. The Structure Of Human Pancreatic A -Amylase at 1.8 Å Resolution and Comparisons With Related Enzymes. *Protein Science*, 4(9), 1730–1742. <https://doi.org/10.1002/pro.5560040908>.
- Farouk, K. E., Aly, H. F., and Mohamed, A. A., 2013. Role of Spirulina Platensis in The Control of Glycemia in DM2 rats. *International Journal of Scientific and Engineering Research*, 4(12), 1731–1740 . <http://www.ijser.org>.

- Francenia Santos-Sánchez, N., Salas-Coronado, R., Villanueva-Cañongo, C., and Hernández-Carlos, B., 2019. Antioxidant Compounds and Their Antioxidant Mechanism. In *Antioxidants*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.85270>.
- Gheda, S. F., Abo-Shady, A. M., Abdel-Karim, O. H., and Ismail, G. A., 2021. Antioxidant and Antihyperglycemic Activity of *Arthrospira Platensis* (*Spirulina platensis*) Methanolic Extract: In vitro and In vivo Study. *Egyptian Journal of Botany*, 61(1), 71–093. <https://doi.org/10.21608/ejbo.2020.27436.1482>.
- González-Montoya, M., Hernández-Ledesma, B., Mora-Escobedo, R., and Martínez-Villaluenga, C., 2018. Bioactive Peptides from Germinated Soybean with Antidiabetic Potential by Inhibition of Dipeptidyl Peptidase-IV, α -Amylase, and α -Glucosidase Enzymes. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(10), 2883. <https://doi.org/10.3390/ijms19102883>.
- Gouveia, L., Marques, A. E., Sousa, J. M., Moura, P., and Bandarra, N. M., 2010. Microalgae – Source of Natural Bioactive Molecules as Functional Ingredients. *Food Science and Technology Bulletin: Functional Foods*, 7(2), 21–37. <https://doi.org/10.1616/1476-2137.15884>.
- Hasan, A. E. Z., Andrianto, D., and Rosyidah, R. A., 2022. Uji Penghambatan α -Glukosidase dari Kombinasi Ekstrak Kunyit, Teh Hitam dan Jahe. *Jurnal Agroindustri Halal*, 8(1), 137–146. <https://doi.org/10.30997/jah.v8i1.5608>.
- Hussein, R. A., Salama, A. A. A., el Naggar, M. E., and Ali, G. H., 2019. Medicinal Impact of Microalgae Collected from High Rate Algal Ponds; Phytochemical and Pharmacological Studies of Microalgae and Its Application In Medicated Bandages. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 20, 101237. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101237>.
- Ivanović, V., Rančić, M., Arsić, B., and Pavlović, A., 2020. Lipinski's Rule of Five, Famous Extensions and Famous Exceptions. In *Popular Scientific Article*, 3(1), 171–177. <Ivanovic et al., 2020, tekst.pdf (ni.ac.rs)>.
- Jhong, C.-H., Riyaphan, J., Lin, S.-H., Chia, Y.-C., and Weng, C.-F., 2015. Screening Alpha-Glucosidase and Alpha-Amylase Inhibitors from Natural Compounds by Molecular Docking *In Silico*. *BioFactors*, 41(4), 242–251. <https://doi.org/10.1002/biof.1219>.
- Kalinichenko, E., Faryna, A., Kondrateva, V., Vlasova, A., Shevchenko, V., Melnik, A., Avdoshko, O., and Belko, A., 2019. Synthesis, Biological Activities and Docking Studies of Novel 4-(Arylaminoethyl)benzamide Derivatives as Potential Tyrosine Kinase Inhibitors. *Molecules*, 24(19), 1–25. <https://doi.org/10.3390/molecules24193543>.
- Laoufi, H., Benariba, N., Adjdir, S., and Djaziri, R., 2017. In vitro α -amylase and α -glucosidase Inhibitory Activity of *Ononis Angustissima* Extracts. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 7(2), 191–198. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2017.70227>.
- Listyani, T. A., and Herowati, R., 2018. Analisis Docking Molekuler Senyawa Derivat Phthalimide sebagai Inhibitor Non-Nukleosida HIV-1 Reverse Transcriptase. *Jurnal Farmasi Indonesia*, 15(2), 123–134. <https://doi.org/10.31001/jfi.v15i2.445>.
- Chan, M., 2016. *Global Report on Diabetes*, *Isbn*, 978. 6–86. Available at: <Global report on diabetes (who.int)>. Diakses pada 9 April 2023 Pukul 23.00 WIB.
- Mane, R. S., and Chakraborty, B., 2019 . Phytochemical screening of *Spirulina platensis* extracts from Rankala Lake Kolhapur, India. *Journal of Algal Biomass Utilization* 38–41 <cdd9a44e36e605af71a0112af36e7801.pdf (unitedwebnetwork.com)>.
- Mardianingrum, R., Bachtiar, K. R., Susanti, S., Aas Nuraisah, A. N., and Ruswanto, R., 2021 . Studi In Silico Senyawa 1,4-Naphthalenedione-2-Ethyl-3-Hydroxy sebagai Antiinflamasi dan Antikanker Payudara. *ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia*, 17(1), 83. <https://doi.org/10.20961/alchemy.17.1.43979.83-95>.
- Mohammadi-Khanaposhtani, M., Rezaei, S., Khalifeh, R., Imanparast, S., Faramarzi, M. A., Bahadorikhalili, S., Safavi, M., Bandarian, F., Nasli Esfahani, E., Mahdavi, M., and Larijani, B., 2018. Design, Synthesis, Docking Study, α -glucosidase Inhibition, and Cytotoxic Activities of Acridine Linked to Thioacetamides as Novel Agents in Treatment of Type 2 Diabetes. *Bioorganic Chemistry*, 80, 288–295. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2018.06.035>.
- Nurlelarsari N., Widyana, A., Julaeha, E., Hardianto, A., Huspa, D. H. P., Maharani, R., Mayanti, T., Darwati, D., Hanafi, M., and Supratman, U., 2023. Studi In Silico Aktivitas Senyawa Steroid Terhadap Antikanker Payudara Menggunakan Estrogen Alfa (ER- α). *ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia*, 19(1), 44–52. <https://doi.org/10.20961/alchemy.19.1.62384.44-52>.
- Olaokun, O. O., Alaba, A. E., Ligege, K., and Mkolo, N. M., 2020. Phytochemical Content, Antidiabetes, Anti-Inflammatory Antioxidant and Cytotoxic Activity of Leaf Extracts of *Elephantorrhiza elephantina* (Burch.) Skeels. *South African Journal of Botany*, 128, 319–325. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.11.030>.
- Oyedemi, S. O., Oyedemi, B. O., Ijeh, I. I., Ohanyerem, P. E., Coopoosamy, R. M., and Aiyegoro, O. A., 2017.

- Alpha-Amylase Inhibition and Antioxidative Capacity of Some Antidiabetic Plants Used by the Traditional Healers in Southeastern Nigeria. *The Scientific World Journal*, 2017, 1–11. <https://doi.org/10.1155/2017/3592491>.
- Pandey, J. P., Tiwari, A., Mishra, G., and Mishra, R. M., 2011. Role of Spirulina Maxima in The Control of Blood Glucose Levels And Body Weight Role in Streptozotocin Induced Diabetic Male Wistar Rats, *Journal of Algal Biomass Utilization*, 2(4), 35–37 <<https://www.researchgate.net/publication/299597352>>
- Pankaj, M., 2007. Diabetes Beyond Insulin: Review of New Drugs for Treatment of Diabetes Mellitus. *Current Drug Discovery Technologies*, 4(1), 39–47. <https://doi.org/10.2174/157016307781115476>.
- Priani, S. E. and Fakhri, T. M., 2021. Identifikasi Aktivitas Inhibitor Enzim Tirosinase Senyawa Turunan Flavonoid pada Kulit Buah Cokelat (*Theobroma cacao* L) secara In Silico. *ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia*, 17(2), 168. <https://doi.org/10.20961/alchemy.17.2.45317.168-176>.
- Ren, L. Qin, X., Cao, X., Wang, L., Bai, F., Bai, G., and Shen, Y., 2011. Structural Insight Into Substrate Specificity of Human Intestinal Maltase-Glucoamylase. *Protein and Cell*, 2(10), 827–836. <https://doi.org/10.1007/s13238-011-1105-3>.
- Ripa, S. A., Binthe Aziz, F., Islam, R., Mahmudul Hasan, M., Misrat Masuma Parvez, M., Lipi, T., Jubayar, M., and Chandro Roy, M., 2018. Antidiabetic effect of Spirulina (*Spirulina Platensis*) in Alloxan Induced Rabbit Model. *International Journal of Natural and Social Sciences*, 5(4), 48–53. <www.ijnss.org>.
- Sadek, K. M., Lebda, M. A., Nasr, S. M., and Shoukry, M., 2017. Spirulina Platensis Prevents Hyperglycemia in Rats by Modulating Gluconeogenesis and Apoptosis Via Modification of Oxidative Stress and MAPK-Pathways. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 92, 1085–1094. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.06.023>.
- Saputri, K. E., Fakhmi, N., Kusumaningtyas, E., Priyatama, D., and Santoso, B., 2016. Docking Molekular Potensi Anti Diabetes Melitus Tipe 2 Turunan Zerumbon Sebagai Inhibitor Aldosa Reduktase dengan Autodock-Vina. *Chimica et Natura Acta*, 4(1), 16. <https://doi.org/10.24198/cna.v4.n1.10443>.
- Scaglioni, P. T., Quadros, L., de Paula, M., Furlong, V. B., Abreu, P. C., and Badiale-Furlong, E., 2018. Inhibition of Enzymatic and Oxidative Process by Phenolic Extracts from Spirulina sp. and Nannochloropsis sp. *Food Technology and Biotechnology*, 56(3). <https://doi.org/10.17113/ftb.56.03.18.5495>.
- Siddique, M. H., Ashraf, A., Hayat, S., Aslam, B., Fakhar-e-Alam, M., Muzammil, S., Atif, M., Shahid, M., Shafeeq, S., Afzal, M., and Ahmad, S., 2022. Antidiabetic and Antioxidant Potentials of *Abelmoschus Esculentus*: In vitro Combined with Molecular Docking Approach. *Journal of Saudi Chemical Society*, 26(2), 101418. <https://doi.org/10.1016/j.jscs.2021.101418>.
- Siti H., M., H., Gumilar, G. G., Nurjanah, F., Yuliani, G., Aisyah, S., Kurnia, D., Wulandari, A. P., Kurniawan, I., Ningrum, A., Koyande, A. K., and Show, P.-L., 2020. In-vitro Molecular Docking Analysis of Microalgae Extracted Phycocyanin as an Antidiabetic Candidate. *Biochemical Engineering Journal*, 161, 107666. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2020.107666>.
- Syafriyanti, Rama, A., and Salim, E., 2022. A Molecular Screening of HER2 Inhibitors from *Curcuma zedoaria*. 070007. <https://doi.org/10.1063/5.0104024>.
- Vijay, U., Gupta, S., Mathur, P., Suravajhala, P., and Bhatnagar, P., 2018. Microbial Mutagenicity Assay: Ames Test. *BIO-PROTOCOL*, 8(6). <https://doi.org/10.21769/BioProtoc.2763>.
- Weni, M., Safithri, M., and Seno, D. S. H., 2020. Molecular Docking of Active Compounds Piper crocatum on the A-Glucosidase Enzyme as Antidiabetic. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 7(2), 64. <https://doi.org/10.24198/ijpst.v7i2.21120>.