

**ANALISIS INTERAKSI SENYAWA AKTIF *CHERRY COFFEE*
PADA ALZHEIMER MELALUI JALUR *BETA-AMYLOID*,
NEUROTROPIN, KOLINERGIK, DAN NEUROINFLAMASI:
STUDI *IN SILICO***

SKRIPSI



Oleh:

ARYA NOVIARDY

2108260227

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SUMATERA UTARA
MEDAN 2025**

**ANALISIS INTERAKSI SENYAWA AKTIF *CHERRY COFFEE*
PADA ALZHEIMER MELALUI JALUR *BETA-AMYLOID*,
NEUROTROPIN, KOLINERGIK, DAN NEUROINFLAMASI:
STUDI *IN SILICO***

**Skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh
kelulusan Sarjana Kedokteran**



Oleh:

ARYA NOVIARDY

2108260227

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SUMATERA UTARA
MEDAN 2025**

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Saya yang bertanda tangan di bawah ini menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil karya Saya sendiri dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk telah Saya nyatakan dengan benar.

Nama : Arya Noviardy

NPM : 2108260227

Judul Skripsi : **ANALISIS INTERAKSI SENYAWA AKTIF EKSTRAK
CHERRY COFFEE PADA ALZHEIMER MELALUI JALUR
BETA-AMYLOID, NEUROTROPIN, KOLINERGIK, DAN
NEUROINFLAMASI: STUDI *IN SILICO***

Demikianlah pernyataan ini Saya perbuat, untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Medan, 4 Maret 2025


Arya Noviardy



MAJELIS PENDIDIKAN TINGGI, PENELITIAN & PENGEMBANGAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SUMATERA UTARA
FAKULTAS KEDOKTERAN
Jalan Gedung Arca No. 53 Medan 20217 Telp. (061) 7350163 – 7333162 Ext.
20 Fax. (061) 7363488
Website : fk@umsu.ac.id



HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh

Nama : Arya Noviardy

NPM : 2108260227

Judul : Analisis Interaksi Senyawa Aktif Ekstrak Cherry Coffee Pada Alzheimer Melalui Jalur *Beta-Amyloid*, Neurotrophin, Kolinergik, dan Neuroinflamasi: Studi *In silico*

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara

DEWAN PENGUJI

Pembimbing,

(Dr. Emni Purwoningsih, S.Pd., M.Kes.)

Penguji 1

(dr. Luhu Avianto Tapiheru, Sp.S)

Penguji 2

(dr. Said Munazar Rahmat,
M.K.M., M.K.T., AIFO-K)

Mengetahui,



(dr. Siti Maslana Siregar, Sp. THT-KL (K))
NIDN: 0106098201

Ketua Program Studi
Pendidikan Dokter FK UMSU



(dr. Desi Isnawanti, M.Pd.Ked)
NIDN: 0112098605

Ditetapkan di : Medan
Tanggal : 4 Maret 2025

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan judul **“Analisis Interaksi Senyawa Aktif Ekstrak *Cherry Coffee* Pada Alzheimer Melalui Jalur *Beta-Amyloid*, *Neurotrophin*, *Kolinergik*, dan *Neuroinflamasi*: Studi *In silico*”**.

Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat saya memperoleh gelar Sarjana Kedokteran di Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara. Dalam penyusunan skripsi ini, penulis menyadari bahwa tidak mungkin dapat menyelesaikannya tanpa bantuan, bimbingan, dan dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Yang terutama dan paling istimewa untuk kedua orang tua saya yang selalu menjadi *role model*, tempat berkeluh kesah, dan donatur utama selama menempuh pendidikan kedokteran Bapakku Rianto dan Mamaku Siti Aisyah. Terima kasih dan balas jasanya dikemudian hari mungkin tak akan pernah cukup untuk membalas jasa kalian yang selalu mendukung apapun keputusan penulis. Terima kasih sebesar-besarnya atas kasih sayang yang tiada hentinya dan doa yang selalu menyertai sehingga penulis mampu menyelesaikan studi dari awal hingga mencapai gelar sarjana. Gelar ini saya persembahkan untuk kalian.
2. dr. Siti Masliana Siregar, Sp.T.H.T.B.K.L., Subsp.Rino(K)., selaku dekan Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara yang telah memberikan kesempatan, izin, dan fasilitas yang diperlukan dalam penyusunan skripsi ini.
3. Dr. dr. Eka Airlangga, M.Ked(Ped)., Sp.A., selaku dosen pembimbing akademik yang telah memberikan bimbingan kepada penulis dari awal masa perkuliahan sampai akhir masa Pendidikan ini.
4. Dr. Emni Purwoningsih, S.Pd., M.Kes. selaku dosen pembimbing dan mentor yang telah memberikan bimbingan, dukungan, dan arahan kepada penulis dari awal masa perkuliahan hingga akhir masa pendidikan ini.

5. dr. Luh Avianto Tapiheru, Sp.S., selaku dosen penguji satu yang telah memberikan saran dan evaluasi berharga sehingga skripsi ini dapat diselesaikan dengan baik.
6. dr. Said Munazar Rahmat, M.K.T., M.K.M., AIFO-K., selaku dosen penguji dua yang telah memberikan saran dan evaluasi berharga sehingga skripsi ini dapat diselesaikan dengan baik.
7. Seluruh dosen dan staff Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara yang telah memberikan ilmu pengetahuan dan bantuan selama penulis menepuh Pendidikan.
8. Teman seperjuangan selama masa perkuliahan “Anaq Anyeong” Akram Fadillah, Adinda Nabila Salsabila Ritonga, Zara Alaina Mashka, Deviana Ramadhani, Desyka Nur Syafitri, Dhea Salsabila Harahap, dan M. Diva Putra Parastan yang selalu menjadi bagian yang tak pernah tergantikan dalam perjalanan panjang ini.
9. Diri sendiri Arya Noviardy yang selalu berjuang tidak pernah menyerah sehingga mampu bertahan hingga titik ini, terima kasih karena perjuangan yang telah dilakukan hingga banyak pencapaian yang diraih. Berbahagialah karena perjalanan masih panjang dengan banyaknya halangan dan rintangan. Terima kasih telah menjadi diri kamu yang sebenarnya.
10. Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu, kritik dan saran yang membangun sangat diharapkan penulis untuk perbaikan dimasa yang akan datang. Semoga skripsi ini dapat memberikan sebuah manfaat yang besar bagi semua pihak yang membaca.

Medan, 4 Maret 2025



Arya Noviardy

**PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI SKRIPSI UNTUK
KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai civitas akademika Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara, Saya yang bertanda tangan dibawah ini,

Nama : Arya Noviardy

NPM : 21082601227

Fakultas : Kedokteran

Demi pengembangan Ilmu Pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara Hak Bebas Royalti Noneksklusif atas skripsi yang berjudul;

“ANALISIS INTERAKSI SENYAWA AKTIF EKSTRAK *CHERRY COFFEE* PADA ALZHEIMER MELALUI JALUR *BETA-AMYLOID*, NEUROTROPIN, KOLINERGIK, DAN NEUROINFLAMASI: STUDI *IN SILICO*”

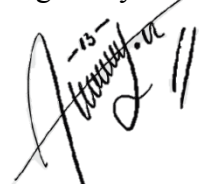
Beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini, Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara berhak menyimpan, mengalih media/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (database), merawat dan mempublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Medan

Pada tanggal : 4 Maret 2025

Yang Menyatakan,



(Arya Noviardy)

ABSTRAK

Pendahuluan: Terjadi peningkatan pada kasus Alzheimer sebanyak 4.2 juta kasus dan diperkirakan akan meningkat sebanyak 152 juta kasus pada tahun 2050 di Indonesia. Penurunan fungsi kognitif, memori, dan perubahan perilaku terjadi akibat penumpukan plak *beta-amyloid* yang mengganggu sistem saraf pusat dari berbagai jalur seperti penurunan BDNF dan aktivitas kolinergik serta peningkatan neuroinflamasi. Senyawa aktif ekstrak *cherry coffee* memiliki efek farmakologi sebagai antiinflamasi dan dapat memperbaiki memori dan kognitif dengan menurunkan AChE, menghambat stres oksidatif, dan meningkatkan BDNF. **Tujuan:** Menganalisis ADMETox dan interaksi antara senyawa aktif *cherry coffee* pada Alzheimer melalui jalur *beta-amyloid*, neurotropin, kolinergik, dan neuroinflamasi melalui studi *In silico*. **Metode:** Menggunakan analisis ADMETox dan doking molekuler. Analisis ADMETox menggunakan situs SwissADME, ADMETlab 2.0, dan ProTox-III. Doking molekuler menggunakan aplikasi Autodock tools, LigandScout, Discovery Studio, dan Marvin Sketch. **Hasil:** Hasil ADMETox menunjukkan seluruh senyawa aktif pada ekstrak *cherry coffee* memenuhi aturan lima lipinski. Senyawa tersebut adalah *acetic acid*, *2,3-Butanediol*, *Maleic Anhydride*, *1,2-Cyclopentanedion*, asam klorogenat, dan kafein. Hasil doking molekuler yang dilakukan terhadap *acetic acid*, *2,3-Butanediol*, *Maleic Anhydride*, *1,2-Cyclopentanedion*, asam klorogenat, dan kafein memiliki energi pengikatan dan konstanta penghambatan < -2 kcal/mol dan < 2 mM terhadap BDNF, *Caspase-2*, *TNF- α* , ACh, AChE, BACE1, ADAM10, IL1 β , dan IL6. Hanya ikatan antara AChE-Asam Klorogenat, AChE-Kafein, dan IL1 β -Asam Klorogenat memiliki energi pengikatan > 0 kcal/mol. **Kesimpulan:** Senyawa aktif ekstrak *cherry coffee* memiliki ikatan terhadap protein jalur *beta-amyloid*, neurotropin, kolinergik, dan neuroinflamasi serta memiliki efek farmakologi yang baik dari hasil ADMETox.

Kata Kunci: ADMETox, Alzheimer, Doking Molekuler, Ekstrak *Cherry Coffee*.

ABSTRACT

Introduction: The number of Alzheimer's cases in Indonesia has increased by 4.2 million and is projected to reach 152 million by 2050. Cognitive decline, memory impairment, and behavioral changes occur due to beta-amyloid plaque accumulation, which disrupts the central nervous system through various pathways, including decreased BDNF and cholinergic activity, as well as increased neuroinflammation. The active compounds in cherry coffee extract exhibit pharmacological effects as anti-inflammatory agents and can improve memory and cognitive function by inhibiting AChE, reducing oxidative stress, and increasing BDNF levels. **Objective:** To analyze ADMETox and the interactions between the active compounds in cherry coffee and Alzheimer's-related pathways, including beta-amyloid, neurotrophin, cholinergic, and neuroinflammatory pathways, through an in silico study. **Methods:** ADMETox analysis and molecular docking were performed. ADMETox analysis was conducted using SwissADME, ADMETlab 2.0, and ProTox-III. Molecular docking was performed using Autodock Tools, LigandScout, Discovery Studio, and Marvin Sketch. **Results:** ADMETox analysis showed that all active compounds in cherry coffee extract complied with Lipinski's Rule of Five. These compounds include acetic acid, 2,3-butanediol, maleic anhydride, 1,2-cyclopentanedione, chlorogenic acid, and caffeine. Molecular docking results showed that acetic acid, 2,3-butanediol, maleic anhydride, 1,2-cyclopentanedione, chlorogenic acid, and caffeine exhibited binding energy and inhibition constants of < -2 kcal/mol and < 2 mM against BDNF, Caspase-2, TNF- α , ACh, AChE, BACE1, ADAM10, IL1 β , and IL6. However, the interactions between AChE-chlorogenic acid, AChE-caffeine, and IL1 β -chlorogenic acid showed binding energies > 0 kcal/mol. **Conclusion:** The active compounds in cherry coffee extract interact with proteins involved in beta-amyloid, neurotrophin, cholinergic, and neuroinflammatory pathways and exhibit favorable pharmacological effects based on ADMETox analysis.

Keywords: ADMETox, Alzheimer's Disease, Molecular Docking, Cherry Coffee Extract.

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
KATA PENGANTAR	iv
PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI SKRIPSI UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS	vi
ABSTRAK.....	vii
ABSTRACT.....	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR SINGKATAN	xiv
BAB 1 PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.3.1 Tujuan Umum.....	4
1.3.2 Tujuan Khusus.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Penyakit Alzheimer.....	6
2.2 <i>Beta-Amyloid</i>	7
2.3 <i>Brain Derived Neurotrophic Factor (BDNF)</i>	8
2.4 PIDDosome	10
2.5 Aktivitas Kolinergik	11
2.6 Neuroinflamasi	13
2.7 <i>Cherry Coffee</i>	13
2.8 Absorpsi, Distribusi, Metabolisme, Ekskresi, Toksisitas (ADMETox)	14
2.9 Doking Molekuler	15
2.10 Kerangka Teori	17
2.11 Kerangka Konsep	18
BAB 3 METODE PENELITIAN	19
3.1 Definisi Operasional	19
3.2 Jenis dan Rancangan Penelitian	23
3.3 Waktu dan Tempat Penelitian	24
3.4 Populasi dan Sampel Penelitian.....	25
3.4.1 Populasi Penelitian	25
3.4.2 Sampel Penelitian	25
3.5 Teknik Pengumpulan Data.....	25

3.5.1	Bahan dan Alat yang digunakan	25
3.5.1.1	Analisis ADMETox dan Doking Molekuler	25
3.6	Analisis Data	26
3.6.1	Analisis ADMETox	26
3.6.2	Analisis Doking Molekuler	26
3.6.2.1	Pencarian Data Protein Target	26
3.6.2.2	Pencarian Data Senyawa Aktif Ekstrak Cherry Coffee	27
3.6.2.3	Pemodelan Struktur 3D protein	27
3.6.2.4	Doking dan Visualisasi Ligand-Protein Complex	27
3.7	Pengolahan dan Analisis Data	27
3.7.1	Pengolahan Data	27
3.7.1.1	ADMETox	27
3.7.1.2	Doking Molekuler	28
3.7.2	Analisis Data	28
3.7.2.1	ADMETox	28
3.7.2.2	Doking Molekuler	28
3.8	Alur Penelitian	29
3.8.1	ADMETox	29
3.8.2	Doking Molekuler	30
BAB 4	HASIL DAN PEMBAHASAN	31
4.1	Hasil Penelitian	31
4.1.1	Hasil <i>Analisis</i> ADMETox Senyawa Aktif Ekstrak <i>Cherry Coffee</i> ..	31
4.1.2	Hasil Analisis Doking Molekuler	33
4.1.2.1	Hasil Pencarian Data Struktur Protein	33
4.1.2.2	Hasil Pencarian Data Senyawa Aktif	35
4.1.2.3	Hasil Analisis Interaksi Antara Protein dan Ligand	44
4.1.2.4	Hasil Visualisasi Ligand-Protein Complex	49
4.2	Pembahasan	75
BAB 5	KESIMPULAN DAN SARAN	79
5.1	Kesimpulan	79
5.2	Saran	79
DAFTAR PUSTAKA		81
LAMPIRAN		93
Lampiran 1. Daftar Riwayat Hidup		93
Lampiran 2. Artikel Publikasi		94

DAFTAR TABEL

Tabel 3. 1 Definisi Operasional	19
Tabel 3. 2 Rancangan Penelitian.....	24
Tabel 4. 1 Hasil Analisis <i>Druglikeness</i> Senyawa Aktif <i>Cherry Coffee</i>	31
Tabel 4. 2 Hasil Analisis Farmakokinetik Senyawa Aktif <i>Cherry Coffee</i>	31
Tabel 4. 3 Hasil Analisis Toksisitas Senyawa Aktif <i>Cherry Coffee</i>	32
Tabel 4. 4 Validasi <i>Grid box</i> protein <i>Caspase-2</i> , <i>TNF-α</i> , <i>ACh</i> , <i>AChE</i> , <i>BACE1</i> , <i>ADAM10</i> , IL1 β , dan IL6	45
Tabel 4. 5 Hasil energi pengikatan (EP (kcal/mol)), konstanta penghambatan (KP (uM)), dan RMSD (Å) antara protein <i>BACE1</i> dan <i>ADAM10</i> terhadap ligan sebagai jalur beta-amyloid.	46
Tabel 4. 6 Hasil energi pengikatan (EP (kcal/mol)), konstanta penghambatan (KP (uM)), dan RMSD (Å) antara protein <i>BDNF</i> terhadap ligan sebagai jalur neurotropin.	47
Tabel 4. 7. Hasil energi pengikatan (EP (kcal/mol)), konstanta penghambatan (KP (uM)), dan RMSD (Å) antara protein <i>ACh</i> dan <i>AChE</i> terhadap ligan sebagai jalur kolinergik.	47
Tabel 4. 8 Hasil energi pengikatan (EP (kcal/mol)), konstanta penghambatan (KP (uM)), dan RMSD (Å) antara protein <i>TNF-α</i> , IL1 β ,IL6, dan <i>caspase-2</i> terhadap ligan sebagai jalur neuroinflamasi.	48

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Gen terkait dengan Alzheimer.....	6
Gambar 2. 2 Proses Amiloidogenik dan non-amiloidogenik.....	8
Gambar 2. 3 Mekanisme molekuler sintesis BDNF.....	9
Gambar 2. 4 Skema aktivasi dari caspase-2.....	11
Gambar 2. 5 Skema aktivitas kolinergik.....	12
Gambar 2. 6 Skema Neuroinflamasi.....	13
Gambar 2. 7 Struktur anatomi dari <i>cherry coffee</i>	14
Gambar 4. 1 Struktur protein;.....	35
Gambar 4. 2 Struktur senyawa <i>acetic acid</i>	36
Gambar 4. 3 Struktur senyawa <i>2,3-butanediol</i>	36
Gambar 4. 4 Struktur senyawa <i>maleic anhydride</i>	36
Gambar 4. 5 Struktur senyawa <i>1,2-cyclopentanedione</i>	37
Gambar 4. 6 Struktur senyawa kafein.....	37
Gambar 4. 7 Struktur senyawa asam klorogenat.....	38
Gambar 4. 8 Struktur senyawa donepezil	38
Gambar 4. 9 Struktur senyawa skopolamin	39
Gambar 4. 10 Struktur senyawa CFH native ligand dari Caspase-2	39
Gambar 4. 11 Struktur senyawa VGY native ligand dari TNF- α	40
Gambar 4. 12 Struktur senyawa 7LB native ligand dari ACh.....	41
Gambar 4. 13 Struktur senyawa 3VI native ligand dari AChE	42
Gambar 4. 14 Struktur senyawa 7LB native ligand dari ACh.....	43
Gambar 4. 15 Struktur senyawa SO4 native ligand dari ADAM10 dan IL1 β	44
Gambar 4. 16 Struktur senyawa NAG native ligand dari IL6.....	44
Gambar 4. 17 Visualisasi 3D dan 2D dari BDNF terhadap senyawa aktif <i>cherry coffee</i> , Donepezil, dan Skopolamin	50
Gambar 4. 18 Visualisasi 3D dan 2D dari <i>Caspase-2</i> terhadap senyawa aktif <i>cherry coffee</i> , <i>Native Ligands</i> , Donepezil, dan Skopolamin.	53
Gambar 4. 19 Visualisasi 3D dan 2D dari TNF- α terhadap senyawa aktif <i>cherry coffee</i> , <i>Native Ligands</i> , Donepezil, dan Skopolamin.....	56
Gambar 4. 20 Visualisasi 3D dan 2D dari ACh terhadap senyawa aktif <i>cherry coffee</i> , <i>Native Ligands</i> , Donepezil, dan Skopolamin.....	59
Gambar 4. 21 Visualisasi 3D dan 2D dari AChE terhadap senyawa aktif <i>cherry coffee</i> , <i>Native Ligands</i> , Donepezil, dan Skopolamin.....	62
Gambar 4. 22 Visualisasi 3D dan 2D dari BACE1 terhadap senyawa aktif <i>cherry coffee</i> , <i>Native Ligands</i> , Donepezil, dan Skopolamin.....	65
Gambar 4. 23 Visualisasi 3D dan 2D dari ADAM10 terhadap senyawa aktif <i>cherry coffee</i> , <i>Native Ligands</i> , Donepezil, dan Skopolamin.....	68
Gambar 4. 24 Visualisasi 3D dan 2D dari IL1 β terhadap senyawa aktif <i>cherry coffee</i> , <i>Native Ligands</i> , Donepezil, dan Skopolamin.....	71
Gambar 4. 25 Visualisasi 3D dan 2D dari IL6 terhadap senyawa aktif <i>cherry coffee</i> , <i>Native Ligands</i> , Donepezil, dan Skopolamin.....	74

DAFTAR SINGKATAN

BDNF	: <i>Brain-Derived Neurotrophic Factor</i>
BACE1	: <i>Beta-Site Amyloid Precursor Protein Cleaving Enzyme 1</i>
ADAM10	: <i>A Disintegrin and Metalloproteinase Domain-Containing Protein 10</i>
IL	: <i>Interleukin</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
CDK-5	: <i>Cyclin-Dependent Kinase 5</i>
GSK-3 β	: <i>Glycogen Synthase Kinase-3 Beta</i>
PSEN1	: <i>Presenilin 1</i>
PSEN2	: <i>Presenilin 2</i>
APOE	: <i>Apolipoprotein E</i>
APP	: <i>Amyloid Precursor Protein</i>
A β	: <i>Amyloid Beta</i>
LTP	: <i>Long-Term Potentiation</i>
TRKB	: <i>Tropomyosin Receptor Kinase B</i>
GTP	: <i>Guanosine Triphosphate</i>
PI3K	: <i>Phosphoinositide 3-Kinase</i>
MAPK	: <i>Mitogen-Activated Protein Kinase</i>
CAMK	: <i>Calcium/Calmodulin-Dependent Protein Kinase</i>
JAK	: <i>Janus Kinase</i>
CREB	: <i>cAMP Response Element-Binding Protein</i>
PIDD1	: <i>p53-Induced Death Domain Protein 1</i>
RAIDD	: <i>RIP-Associated ICH-1/CED-3 Homologous Protein with a Death Domain</i>
ACHRS	: <i>Acetylcholine Receptors</i>
CHAT	: <i>Choline Acetyltransferase</i>
PDB	: <i>Protein Data Bank</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic Acid</i>
RNA	: <i>Ribonucleic Acid</i>
ACh	: <i>Asetilkolin</i>
AChE	: <i>Asetilkolinesterase</i>
EP	: <i>Energi pengikatan</i>
KP	: <i>Konstanta penghambatan</i>
TYR	: <i>Tirosin</i>
LEU	: <i>Leusin</i>
VAL	: <i>Valin</i>
ARG	: <i>Arginin</i>
SER	: <i>Serin</i>
CYS	: <i>Sistein</i>
THR	: <i>Treonin</i>
GLN	: <i>Glutamin</i>
GLY	: <i>Glisin</i>
HIS	: <i>Histidin</i>
TRP	: <i>Triptofan</i>

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Alzheimer merupakan penyakit neurodegeneratif yang menjadi penyebab terbanyak dari kasus demensia di dunia.¹ Pada tahun 2019, WHO menetapkan Alzheimer sebagai penyakit mematikan tidak menular nomor 7 di seluruh dunia dengan total kasus yang terus meningkat dari tahun 1990 sampai 2019 dengan persentase sebesar 147.95%.^{2,3} Apabila hal ini terus terjadi, diperkirakan penyakit Alzheimer akan mencapai 152 juta kasus pada tahun 2050.⁴ Di Indonesia, Alzheimer berkontribusi sebanyak 27.9% dari seluruh kasus demensia dengan total kasus sebanyak 4.2 juta kasus.⁵

Gejala utama pada penyakit Alzheimer adalah hilang ingatan, perubahan kepribadian, dan gangguan berfikir.⁶ Semakin berkembangnya penyakit Alzheimer pada seseorang bisa menimbulkan gejala seperti periode kebingungan, disorientasi, perubahan suasana hati, dan pada tahap lanjutan pasien Alzheimer sering mengalami gejala halusinasi.⁷ Pada stadium yang lebih berat, pasien Alzheimer dapat mengalami hilang ingatan tentang nama sendiri, jalan pulang, dan lupa akan hubungan dengan orang terdekat.⁸

Penurunan fungsi kognitif dan memori pada penyakit Alzheimer berkaitan dengan akumulasi dari plak *beta-amyloid* di ekstraseluler dan *neurofibrillary tangle* dari *microtubule-binding protein tau* yang ada di interneuronal.^{9,10} Plak *beta-amyloid* adalah akumulasi dari peptida *beta-amyloid* yang merupakan hasil proteolitik protein *Amyloid Precursor Protein* (APP) oleh enzim β - dan γ -*secretases*.¹¹ Secara struktural, peptida *beta-amyloid* memiliki karakteristik yang lengket sehingga protein ini cenderung untuk menempel satu sama lain.¹² Plak *beta-amyloid* yang telah terbentuk di dalam ekstraseluler selanjutnya menempel ke pre dan post sinapsis sehingga akan mengganggu sistem penghantaran informasi antar neuron.¹³ Selain menghambat penghantaran informasi antar neuron, plak *beta-amyloid* juga memediasi hiperfosforilasi dari protein tau dengan mengaktifasi enzim *Cyclin-Dependent Kinase-5* (CDK-5) dan *Glycogen Synthase*

Kinase-3 β (GSK-3 β) yang merupakan faktor penting dalam fosforilasi protein tau.¹⁴ Jadi, hiperfosforilasi yang dimediasi oleh penumpukan plak *beta-amyloid* berkontribusi terhadap kerusakan protein tau dengan menyebabkan pengikatan tau terhadap mikrotubulus menjadi lemah dan akhirnya rusak.^{14,15} Penumpukan plak *beta-amyloid* dan hiperfosforilasi protein tau akan mengaktifasi enzim kaspase sehingga mencetuskan neuroinflamasi.^{16,17} keterkaitan yang erat antara peningkatan dari pencetus utama neuroinflamasi pada penyakit Alzheimer berupa *Tumor Necrosis Factor* (TNF) - α , Interleukin (IL)-10, IL-12, IL-18, IL-6, dan IL1 β meningkatkan progresivitas penyakit Alzheimer.¹⁸ Akibatnya, banyak protein penting yang memiliki fungsi penting dalam menjaga keseimbangan otak mulai dari fungsi kognitif, perilaku, dan memori seperti *Brain Derived Neurotrophic Factor* (BDNF) dan asetilkolin (ACh) menjadi rusak.^{19,20}

BDNF merupakan salah satu tipe dari protein neurotropik yang memiliki kerja penting dalam meregulasi perkembangan neuron serta fungsi kognitif dan memori.²¹ Pada pasien Alzheimer, terjadi penurunan BDNF yang mengakibatkan adanya hambatan terhadap proses neuroplastisitas dan neurogenesis.¹⁷ Pada percobaan yang dilakukan terhadap tikus model Alzheimer, penurunan dari kadar BDNF terjadi akibat akumulasi plak *beta-amyloid* dan hiperfosforilasi dari protein tau.²² Hasilnya, penurunan dari BDNF memiliki pengaruh yang besar terhadap perburukan fungsi memori, plastisitas, perilaku, serta atrofi pada otak.^{23–25} Penumpukan dari *beta-amyloid* juga berpengaruh terhadap Asetilkolinesterase (AChE). Dari penelitian yang dilakukan terhadap tikus model Alzheimer, terjadi peningkatan terhadap kadar AChE yang membuat peningkatan penghancuran dari ACh.²⁶

Pengobatan pasien Alzheimer biasanya digunakan untuk meningkatkan kualitas hidup, menurunkan gejala, dan mengurangi progresivitas penyakit.^{27,28} Penghambat AChE masih menjadi tatalaksana awal pada penyakit Alzheimer berdasarkan teori kolinergik yang menyatakan bahwa penumpukan plak *beta-amyloid* menyebabkan penurunan sintesis dari ACh.^{29,30} Dengan menghambat kerja dari AChE, akan didapatkan peningkatan dari kadar ACh pada pasien Alzheimer yang memiliki peran penting terhadap penurunan kognitif dan

memori.^{31,32} Salah satu contoh tatalaksana awal pada penyakit Alzheimer adalah donepezil yang merupakan generasi kedua dari penghambat AChE.³³ Penggunaan dari donepezil juga dapat meningkatkan kadar BDNF yang telah dibuktikan melalui percobaan terhadap tikus model Alzheimer.³⁴

Senyawa aktif dari bahan alam sudah menjadi target utama dalam penemuan terapi berbagai penyakit termasuk Alzheimer. Diantaranya kelompok senyawa flavonoid, polifenol, dan asam fenolik terbukti memiliki efek neuroprotektif.³⁵⁻³⁷ Dari hasil uji pendahuluan terhadap analisis kandungan dalam ekstrak *cherry coffee*, didapatkan bahwa kandungan senyawa terbanyak adalah *acetic acid*, *2,3-Butanediol*, *Maleic Anhydride*, dan *1,2-Cyclopentanedione*. Memiliki efek sebagai antiinflamasi membuat keempat senyawa ini memiliki potensi sebagai kandidat terapi Alzheimer.³⁸⁻⁴¹

Pada senyawa dari asam fenolik seperti asam klorogenat yang ditemukan pada *cherry coffee* memiliki kemampuan untuk memperbaiki kemampuan kognitif serta meningkatkan fungsi memori yang telah terkonfirmasi melalui percobaan terhadap tikus model diabetes.⁴²⁻⁴⁴ Selain memiliki kemampuan untuk memperbaiki fungsi kognitif dan memori, kafein yang dapat berperan sebagai antioksidan juga dapat menurunkan *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan menghambat aktivitas dari AChE.⁴⁵ Asam klorogenat juga memiliki kemampuan untuk meningkatkan kadar BDNF pada tikus yang diinduksi stress.⁴⁶ pada pembentukan dari *beta-amyloid*, senyawa kafein dan asam klorogenat memiliki kemampuan untuk menekan produksi serta penumpukan dari plak *beta-amyloid* yang telah dilakukan percobaan kepada mencit model Alzheimer.^{47,48}

Banyak penelitian yang telah melakukan percobaan langsung untuk melihat efek dari asam klorogenat dengan kafein terhadap progresivitas penyakit Alzheimer. Namun belum ada yang melakukan penelitian langsung untuk melihat bagaimana jenis interaksi molekuler antara senyawa aktif dari ekstrak *cherry coffee* yaitu *acetic acid*, *2,3-Butanediol*, *Maleic Anhydride*, dan *1,2-Cyclopentanedione* terhadap Alzheimer melalui protein terkait jalur *beta-amyloid*, neurotropin, kolinergik, dan neuroinflamasi apakah memiliki interaksi yang baik atau tidak. Untuk menguji kelayakan suatu obat perlu dilakukannya analisis

ADMETox untuk melihat bagaimana efek farmakologi suatu senyawa sebelum dilakukan pengujian langsung kepada hewan uji ataupun percobaan kepada manusia untuk meminimalkan efek samping yang akan ditimbulkan oleh sebuah senyawa.^{49,50}

Oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan analisis ADMETox terhadap senyawa aktif pada ekstrak *cherry coffee* berupa *acetic acid*, *2,3-Butanediol*, *Maleic Anhydride*, dan *1,2-Cyclopentanedione* dan analisis doking molekuler terhadap protein terkait jalur *beta-amyloid*, neurotropin, kolinergik, dan neuroinflamasi.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah bagaimana ADMETox dari senyawa aktif ekstrak *cherry coffee* dan interaksi antara senyawa aktif ekstrak *cherry coffee* pada Alzheimer melalui jalur *beta-amyloid*, neurotropin, kolinergik, dan neuroinflamasi ?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Tujuan umum dari penelitian ini adalah menganalisis ADMETox senyawa aktif ekstrak *cherry coffee* dan interaksi senyawa aktif ekstrak *cherry coffee* pada Alzheimer melalui jalur *beta-amyloid*, neurotropin, kolinergik, dan neuroinflamasi dengan kerangka studi *in silico*.

1.3.2 Tujuan Khusus

- 1) Menganalisis ADMETox senyawa aktif ekstrak *cherry coffee* menggunakan situs ADMETlab 2.0, SwissADME, dan ProTox-III.
- 2) Menganalisis energi pengikatan dan konstanta penghambatan antara senyawa aktif ekstrak *cherry coffee* terhadap protein *Beta-Site Amyloid Precursor Protein Cleaving Enzyme 1* (BACE1) dan *A Disintegrin and Metalloproteinase Domain-Containing Protein 10* (ADAM10) sebagai jalur *beta-amyloid* melalui studi doking molekuler.

- 3) Menganalisis energi pengikatan dan konstanta penghambatan antara senyawa aktif ekstrak *cherry coffee* terhadap protein BDNF sebagai jalur neurotropin melalui studi doking molekuler.
- 4) Menganalisis energi pengikatan dan konstanta penghambatan antara senyawa aktif ekstrak *cherry coffee* terhadap protein ACh dan AChE sebagai jalur kolinergik melalui studi doking molekuler.
- 5) Menganalisis energi pengikatan dan konstanta penghambatan antara senyawa aktif ekstrak *cherry coffee* terhadap protein TNF- α , IL-6, IL-1 β , dan *Caspase-2* sebagai jalur neuroinflamasi melalui studi doking molekuler.
- 6) Menganalisis visualisasi 2D antara senyawa aktif ekstrak *cherry coffee* terhadap protein jalur *beta-amyloid*, neurotropin, kolinergik, dan neuroinflamasi melalui ikatan hidrogen.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat yang dapat diberikan oleh penelitian ini adalah:

- 1) Bagi peneliti, memberikan sebuah gagasan baru untuk menjadi sebuah acuan yang dapat memperluas pengetahuan dalam bidang pengobatan berbasis bahan alam untuk mengatasi penyakit sistem saraf terutama Alzheimer.
- 2) Bagi Masyarakat, diperolehnya sebuah gagasan pengobatan baru yang lebih efektif dan aman untuk penyakit Alzheimer guna meningkatkan kualitas hidup.

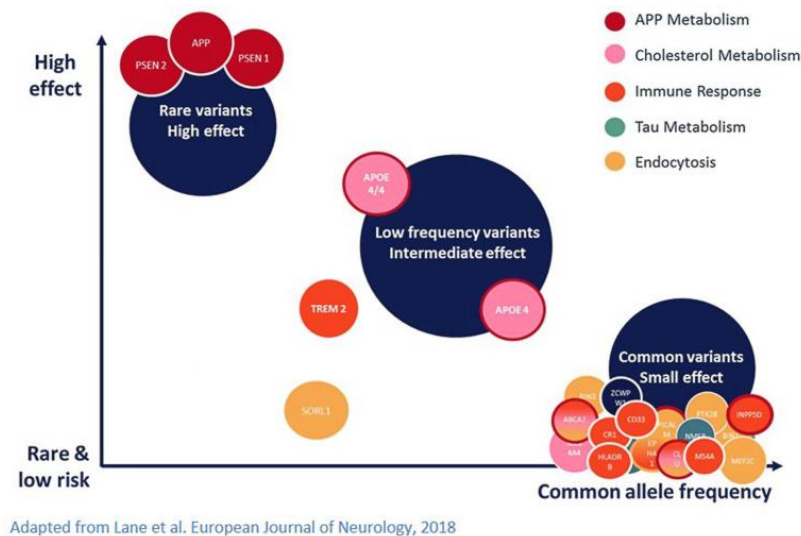
BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Penyakit Alzheimer

Alzheimer merupakan salah satu tipe demensia dengan prevalensi tertinggi dengan dua pertiga kasus terjadi pada orang dengan usia 65 tahun ke atas.⁵¹ Menjadi suatu kondisi neurodegeneratif dengan gejala awal seperti gangguan perilaku, kognitif, dan penurunan fungsi memori dengan progresivitas yang tinggi.⁵²

Berdasarkan patofisiologi utama dari Alzheimer yaitu penumpukan plak *beta-amyloid* dan hiperfosforilasi protein tau, ada beberapa faktor resiko yang menyebabkan hal ini terjadi.⁵³ Secara genetik, mutasi gen *presenilin 1* (PSEN1), *presenilin 2* (PSEN2) dan APP teridentifikasi pada 70% kasus Alzheimer tipe early onset atau tipe familial.⁵⁴ Selain itu, mutasi pada $\epsilon 4$ *allele* dari *apolipoprotein E* (APOE) dapat menjadi sebuah faktor resiko utama secara genetik yang mempengaruhi progresivitas penyakit Alzheimer.⁵⁵



Gambar 2. 1 Gen terkait dengan Alzheimer

Keterangan: Beberapa gen terkait dengan penyakit Alzheimer yang telah diidentifikasi. Warna lingkaran menunjukkan jalur mana gen tersebut mempengaruhi penyakit Alzheimer.⁵⁶

Faktor lingkungan memberikan pengaruh yang signifikan terhadap progresivitas penyakit Alzheimer selain faktor genetik. Pasien dengan penyakit kardiovaskular seperti stroke, gagal jantung, dan aterosklerosis memiliki resiko

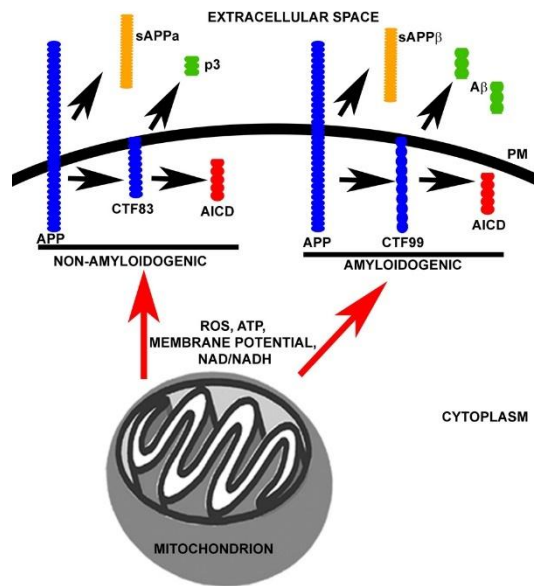
lebih tinggi untuk terkena Alzheimer.⁵⁷ Selain itu, resiko Alzheimer juga akan meningkat pada orang yang memiliki gangguan tidur (insomnia dan *obstructive sleep apnea*), trauma otak, dan depresi.⁵⁸

Sampai saat ini, pengobatan yang selalu diberikan pada pasien Alzheimer hanya digunakan untuk menghambat progresivitas penyakit dengan meningkatkan fungsi kognitif, peningkatan perilaku, serta memori. Belum ada pengobatan yang langsung menghentikan patogenesis utama dari Alzheimer yaitu penumpukan plak *beta-amyloid* dan hiperfosforilasi protein tau.⁵⁹

2.2 *Beta-Amyloid*

Beta-Amyloid ($A\beta$) merupakan protein yang berasal dari proteolisis antara enzim *Beta-Secretase* dan *Gamma-Secretase* terhadap protein APP.⁶⁰ Sebagai komponen utama yang memainkan peran terhadap patogenesis Alzheimer, $A\beta$ sudah banyak menjadi target utama terapi dalam mengurangi bahkan menurunkan progresivitas penyakit Alzheimer.⁶¹ namun paparan dari protein $A\beta$ dalam skala pikomolar mampu meningkatkan plastisitas dari sinaps yang akan meningkatkan proses belajar dan memori pada percobaan terhadap hewan dengan meningkatkan *Long-Term Potentiation* (LTP) pada bagian hipokampus. Paparan $A\beta$ dalam jumlah yang besar dan dalam keadaan kronis yang akan menimbulkan efek samping dari gejala Alzheimer seperti penurunan memori, sikap, dan kemampuan kognitif seseorang.⁶²

Umumnya, APP yang perlu didaur ulang akan di proteolisis oleh dua enzim utama yaitu *Alpha-Secretase* dan *Gamma-Secretase*.¹¹ Namun, peningkatan yang terjadi pada enzim beta sekretase membuat proses daur ulang dari APP menjadi bentuk yang sulit untuk didaur ulang yaitu $A\beta$.^{11,12} Proses ini disebut juga sebagai proses amiloidogenik.⁶²



Gambar 2. 2 Proses Amiloidogenik dan non-amiloidogenik.

Keterangan: proses non-amiloidogenik dimulai ketika pemecahan dari APP oleh α -secretase menghasilkan *Soluble Amyloid Precursor Protein Alpha* (sAPP α) yang keluar menuju ekstrasel sedangkan *C-Terminal Fragment 83* (CTF83) tetap berada di intrasel. CTF83 kemudian diproses lebih lanjut oleh γ -secretase hingga menghasilkan p3 menuju ekstrasel dan *APP Intracellular Domain* (AICD) ke sitoplasma. Jalur Amiloidogenik berawal dari pemecahan APP oleh enzim β -secretase yang kemudian menghasilkan dua fragmen protein utama yaitu *Soluble Amyloid Precursor Protein Beta* (sAPP β) ke ekstrasel dan *C-Terminal Fragment 99* (CTF99) tetap berada di dalam membran sel. CTF99 kemudian diproses oleh γ -secretase menjadi 2 protein kecil yaitu *beta-amyloid* (A β) yang berjalan ke luar sel, dan AICD berada di dalam sel.⁶³

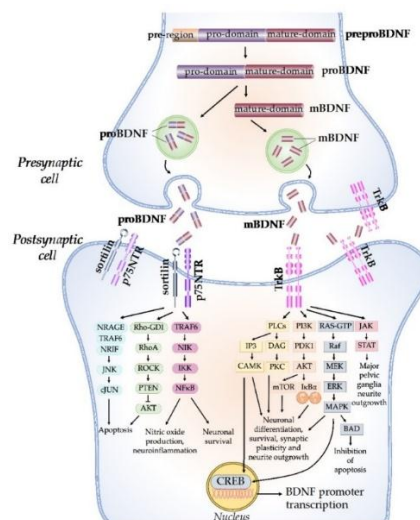
Ada banyak hal yang dapat menyebabkan pembentukan berlebih dari A β dan penumpukannya. Ada faktor yang tidak dapat diubah seperti ditemukannya mutasi pada gen terkait Alzheimer seperti PSEN1, PSEN2, APP dan memiliki kelainan trisomi 21.⁶³ Selanjutnya neuroinflamasi yang terus menerus terjadi akibat peningkatan stres oksidatif dari radikal bebas, penyakit vaskular, dan diabetes mellitus dapat meningkatkan resiko penumpukan dari plak A β .⁶⁴

2.3 *Brain Derived Neurotrophic Factor (BDNF)*

BDNF merupakan protein yang berasal dari famili protein neurotropik dan memiliki fungsi krusial terhadap survival dan diferensiasi neuron ketika masa perkembangan.⁶⁵ Selain itu, BDNF juga memiliki fungsi sebagai neurotransmitter yang berguna untuk menjaga plastisitas sistem saraf.⁶⁶ Di dalam otak, BDNF diekspresikan oleh neuron glutaminergik dan sel glial seperti astrosit pada korteks dan hipokampus. Selama embriogenesis, BDNF juga memiliki pengaruh yang

besar terhadap diferensiasi sel progenitor kortikal untuk berubah menjadi sel neuron.⁶⁷

Proses sintesis dan pematangan dari BDNF melibatkan berbagai tahapan yang dimulai dari pembentukan prekursor BDNF yaitu preproBDNF yang disintesis oleh retikulum endoplasma.⁶⁸ PreproBDNF kemudian mengalami perubahan menjadi bentuk isoform proneurotrophin bernama proBDNF dengan proses penghilangan peptida sinyal. Selanjutnya, proBDNF akan dipotong secara intraseluler melalui endoprotease seperti furin dan plasmin di ekstraseluler menjadi bentuk isoform mBDNF.⁶⁹ mBDNF yang berada di ekstraseluler kemudian akan berikatan dengan reseptor di postsinaps yaitu *Tyrosine kinase receptor B* (TrkB) yang nantinya akan berdimerisasi dan mengaktifkan beberapa enzim terkait seperti *Phosphoinositide 3-kinase* (PI3K), *Guanosine Triphosphate Hydrolases* (GTP), dan *Janus Kinase* (JAK).^{69,70} Selanjutnya, ikatan antara mBDNF terhadap TrkB akan memunculkan jalur pensinyalan lain seperti aktivasi protein MAPK dan CAMK yang akhirnya akan memulai proses translasi CREB sebagai promotor terhadap BDNF.¹⁹



Gambar 2. 3 Mekanisme molekuler sintesis BDNF.

Keterangan: Bentuk prekursor awal BDNF adalah preproBDNF. Prekursor ini kemudian akan diubah menjadi proBDNF yang terdiri dari pro-domain dan matur domain. Selanjutnya, proBDNF akan diubah menjadi mBDNF yang merupakan bentuk isoform matang. proBDNF dan mBDNF akan dieksositosis ke ekstraseluler dan akan berikatan dengan reseptor di *postsynaptic*. mBDNF akan berikatan dengan TrkB yang kemudian mengaktifkan kaskade sinyal PLC, PI3K,

MAPK, dan JAK/STAT untuk mendorong proses translasi CREB yang merupakan promoter dari BDNF.⁶⁹

Defisiensi dari protein BDNF di dalam otak dapat menjadi sebuah permasalahan dalam proses plastisitas dan perkembangan sel saraf. Pada pasien Alzheimer, akumulasi dari plak *beta-amyloid* dan hiperfosforilasi dari protein tau menyebabkan penurunan protein BDNF.⁷¹ Hal ini menyebabkan adanya penurunan fungsi kognitif serta memori pada pasien Alzheimer karena fungsi krusial dari BDNF sebagai penjaga neuroplastisitas dan kemampuan bertahan hidup dari sel neuron.¹⁷ Berdasarkan studi *systematic literature review* yang telah dilakukan, ditemukan penurunan yang sangat signifikan pada kadar BDNF pasien Alzheimer dengan gangguan kognitif dibandingkan dengan orang normal tanpa Alzheimer.¹⁷

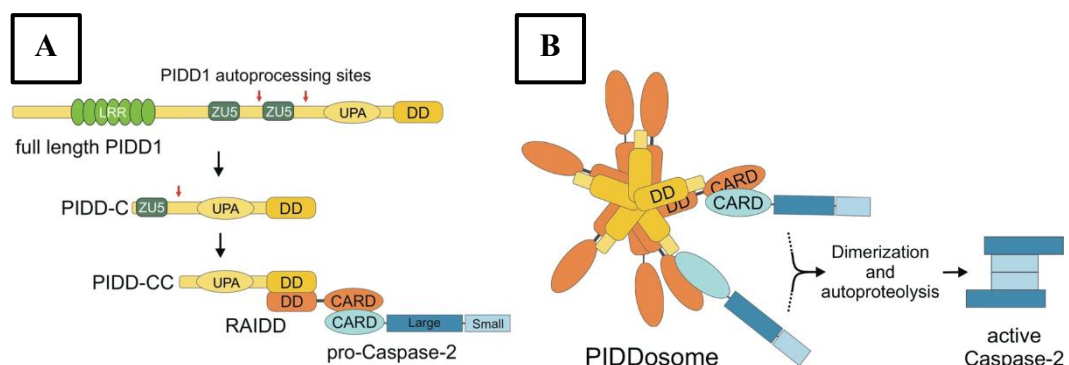
2.4 PIDosome

secara umum, inisiasi apoptosis sel melibatkan dua jalur utama yakni jalur intrinsik yang dimulai dengan pelepasan faktor sinyal stress dari mitokondria di dalam sel dan jalur ekstrinsik yang dipicu oleh stimulus dari reseptor kematian.⁷² PIDosome memiliki peran penting dalam memulai apoptosis sel jalur intrinsik.

PIDosome adalah kompleks molekul yang secara signifikan memiliki berat molekul yang besar dan berperan penting sebagai produksi protein pro-apoptosis.⁷³ Terdiri dari *C-terminal Fragment of p53-induced death domain protein 1* (PIDD1), protein adaptor *receptor-interacting protein-associated ICH-1/CED-3 homologous protein with a death domain* (RAIDD), dan *caspase-2*.⁷⁴ PIDosome berfungsi sebagai pengatur sinyal apoptosis terhadap respon kerusakan DNA dan stress seluler.⁷⁵ Selain itu, PIDosome juga bekerja dalam proses non-apoptosis seperti penuaan sel dan respon terhadap inflamasi.⁷⁶

Caspase-2 merupakan famili dari protein caspase yang memiliki peran esensial terhadap fungsi apoptosis dan inflamasi.⁷⁷ Bekerja sebagai inisiator, caspase-2 dapat memulai proses apoptosis dengan mengaktifkan *caspase* eksekutor yang nantinya akan melakukan pemecahan komponen seluler.⁷⁸ Dengan melakukan proses apoptosis terhadap sel yang rusak, *caspase-2* dapat menjaga keseimbangan jaringan di dalam tubuh.⁷⁹

aktivasi dari *caspase-2* menjadi sebuah hal yang krusial dalam melaksanakan tugasnya untuk apoptosis sel melalui proses pembentukan dua protein penting dalam kompleks PIDDosome, yaitu PIDD1 dan RAIDD.^{80,81} PIDDosome menjadi jalur utama dari aktivasi *caspase-2* melalui respon kerusakan DNA.⁸² Setelah terbentuknya PIDDosome, kompleks ini akan melakukan dimerisasi dan autoproteolisis antara dua *pro-Caspase-2* menjadi *caspase-2* yang aktif.⁸¹



Gambar 2. 4 Skema aktivasi dari caspase-2

Keterangan: **A.** PIDD1 mengalami *autoprocessing* yang menghasilkan dua *C-terminal fragment* yaitu PIDD-C dan PIDD-CC. selanjutnya, *death domain* (DD) dari RAIDD akan berinteraksi terhadap *pro-Caspase-2*. **B.** kompleks PIDDosome yang telah terbentuk akan melakukan dimerisasi dan autoproteolisis terhadap dua *pro-caspase-2* hingga terbentuknya *caspase-2* aktif.⁸¹

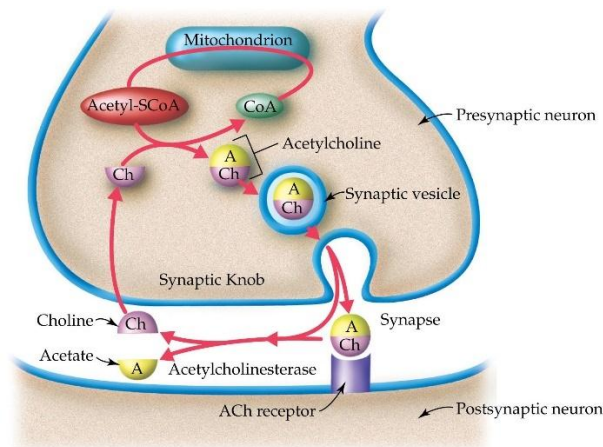
Hiperaktivasi enzim *caspase-2* menjadi salah satu penyebab kematian sel neuron pada pasien Alzheimer karena proses aktivasi terus menerus dari plak *beta-amyloid* yang menumpuk.⁸³ Hiperaktivasi dari *caspase-2* memiliki pengaruh yang besar terhadap hiperfosforilasi dari protein tau sehingga penghambatan dari *caspase-2* dapat menjadi potensial terapi pada pasien Alzheimer.⁸⁴ Dari penelitian sebelumnya yang telah dilakukan pada tikus, *caspase-2* yang dihambat dapat menurunkan progresivitas penumpukan dari protein tau yang mengakibatkan adanya peningkatan memori.⁸⁴

2.5 Aktivitas Kolinergik

Aktivitas kolinergik merupakan satu kesatuan yang disusun oleh sel saraf yang bekerja untuk memproduksi asetilkolin untuk mencetuskan sebuah potensial aksi saraf.⁸⁵ Selain asetilkolin, ada beberapa protein lagi yang termasuk kedalam sistem kolinergik yaitu reseptor kolinergik (AChRs), *Choline Acetyltransferase*

(ChAT), dan enzim asetilkolinesterase. Semua protein ini memiliki pengaruh yang sangat besar dalam menjaga homeostasis tubuh dan regulasi sistem imun.⁸⁶

Protein asetilkolin berasal dari dua komponen utama yaitu *choline* dan grup *acetyl*. Proses penyatuan dari kedua komponen ini diinisiasi oleh ChAT yang berada di ujung terminal akson.⁸⁷ Asetilkolin yang sudah terbentuk, akan dimasukkan ke dalam vesikel yang bergerak secara endositosis dan akan dikeluarkan menuju ke sinaps. Namun, pengeluaran dari asetilkolin menuju ke sinaps baru akan terjadi apabila terdapat sebuah potensial aksi yang menyebabkan kanal kalsium pada neuron terbuka dan mendorong vesikel berisi asetilkolin untuk keluar.⁸⁸ Asetilkolin yang keluar akan menuju ke dua jenis reseptor pada postsinaps yaitu reseptor muskarinik dan nikotinik. Setelah berikatan, asetilkolin yang tersisa akan dipecah dan didaur ulang kembali oleh asetilkolinesterase untuk memproduksi asetilkolin lebih banyak di presinaps.⁸⁹



Gambar 2. 5 Skema aktivitas kolinergik

Keterangan: proses sintesis dari asetilkolin dimulai dengan pembentukan prekursor utama yaitu asetil-KOA yang berasal dari mitokondria sedangkan kolin berasal dari plasma atau sisa daur ulang ACh sebelumnya. Enzim ChAT bekerja untuk mengkatalis reaksi yang terjadi antara asetil-KOA terhadap kolin sehingga terbentuk asetilkolin yang nantinya akan masuk ke dalam vesikel. Proses pengeluaran dari ACh diinisiasi dengan tercurutnya impuls saraf yang membuka kanal kalsium sehingga memicu proses eksositosis ACh menuju celah sinaps. ACh sisa yang tidak berikatan dengan reseptornya di postsinaptik akan didaur ulang kembali oleh enzim AChE menjadi kolin dan asetat yang nantinya kolin di *reuptake* dan didaur ulang menjadi asetilkolin baru dengan cara yang sama.⁸⁹

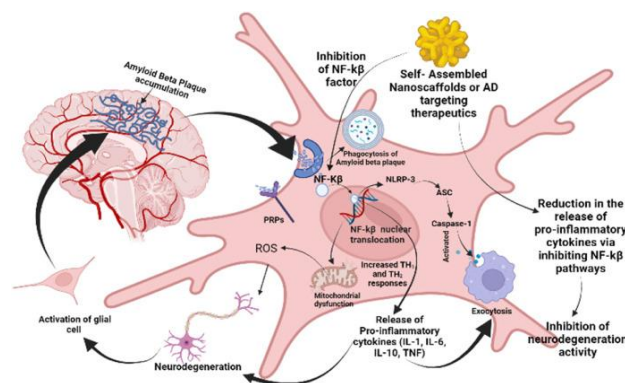
Pada Alzheimer, penurunan drastis dari asetilkolin disebabkan karena penumpukan plak A β yang membuat proses transportasi ACh dari presinaptik menuju postsinaptik terhambat.⁹⁰ Akhirnya gejala seperti penurunan kognitif,

memori menjadi terlihat pada pasien Alzheimer karena ACh juga memiliki peran penting dalam mengatur fungsi kognitif dan memori.⁹⁰

2.6 Neuroinflamasi

Neuroinflamasi merupakan sebuah mekanisme kompleks yang terjadi pada otak terkait dengan adanya trauma, infeksi, maupun suatu penyakit neurologi.⁹¹ Kemampuan otak untuk mencetus neuroinflamasi penting untuk menjaga homeostasis otak. Hal ini ditujukan untuk melindungi dan memulihkan fungsi sinaps akibat kejadian traumatik atau infeksi yang terjadi.⁹² Neuroinflamasi yang terjadi secara terus menerus atau kronik akan menjadi sebuah masalah. Pada beberapa penyakit yang menyerang sistem saraf pusat seperti Alzheimer, parkinson, dan multiple sclerosis, terjadi peningkatan kronik dari sistem neuroinflamasi di dalam otak.⁹³

Pada Alzheimer, peningkatan dari neuroinflamasi akibat penumpukan plak A β memicu pelepasan sitokin pro-inflamasi yang menyebabkan terjadinya hiperfosforilasi tau dan akhirnya terjadi neurodegenerasi pada sel neuron otak.⁹⁴ beberapa penelitian menyatakan keterkaitan antara tingginya kadar sitokin pro-inflamasi pada pasien Alzheimer seperti IL-1 β , IL-17, IL-12, IL-23, IL-6, dan TNF- α semakin menambah neuroinflamasi dan kerusakan neuron.⁹⁵

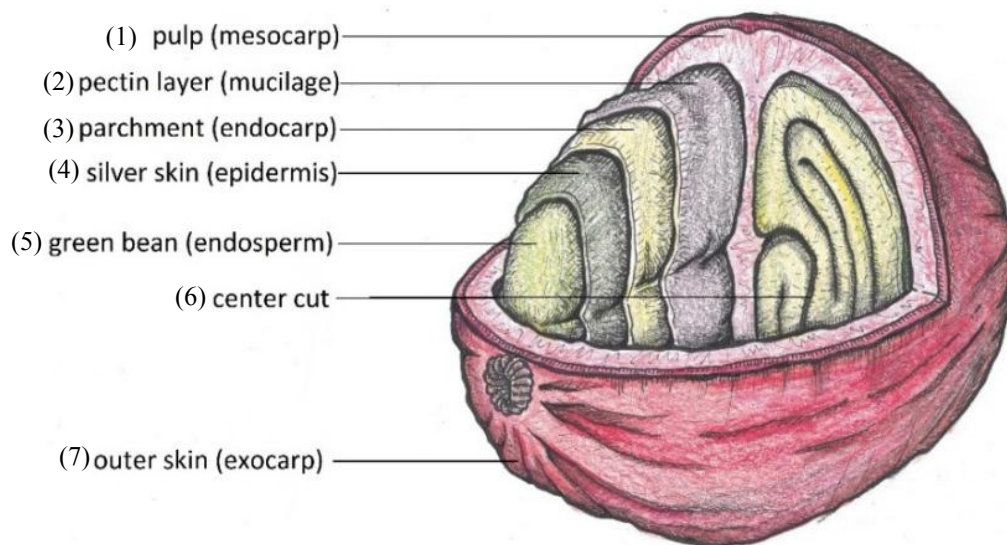


Gambar 2. 6 Skema Neuroinflamasi

Keterangan: neuroinflamasi dalam neuron yang terjadi pada pasien Alzheimer diawali dengan penumpukan plak A β yang memicu sel glial sebagai respon imun pertama. Sel glial akan melepaskan spesies oksigen reaktif (ROS) yang kemudian mengaktifkan jalur inflamasi melalui faktor transkripsi NF- κ B. NF- κ B kemudian masuk ke nukleus untuk meningkatkan pelepasan sitokin proinflamasi seperti IL-1, IL-6, IL-10, dan TNF- α yang akan semakin parah akibat disfungsi mitokondria yang terjadi.⁹⁶

2.7 *Cherry Coffee*

Cherry coffee adalah bagian buah pada tanaman kopi dengan komposisi kulit, daging buah, dan biji kopi.⁹⁷ Memiliki diameter rata-rata 1,5 cm dengan dua spesies terbanyak adalah *Coffea canephora* dan *Coffea arabica*. Di dalamnya, terdapat lapisan *mesocarp* dengan cita rasa yang manis.⁹⁸



Gambar 2. 7 Struktur anatomi dari *cherry coffee*

Keterangan: (1) *Mesocarp* = struktur daging buah; (2) *Mucilage* = lapisan lendir yang terdiri dari pektin; (3) *Endocarp* = lapisan keras pembungkus biji kopi; (4) *Epidermis* = kulit tipis berwarna perak yang menutupi biji kopi; (5) *Endosperm* = biji kopi; (6) *Center cut* = garis tengah yang memisahkan dua bagian biji kopi; (7) *Exocarp* = lapisan kulit luar dari *cherry coffee*.⁹⁸

Cherry coffee kaya akan kandungan fitonutrien seperti asam klorogenat, flavonoid, alkaloid, *eicosanoyl-5-hydroxytryptamide* (EHT), *atractyligenin*, dan *carboxyatractyligenin derivatives*. Selain itu, biji kopi yang terkandung di dalamnya kaya akan kafein, trigonelline, dan asam klorogenat. Dari hasil uji LC-MS yang telah dilakukan, *cherry coffee* mengandung senyawa kimia berupa 3-*Caffeoylquinic acid*, 5-*Caffeoylquinic acid*, 4-*Caffeoylquinic acid*, 5-*Feruloylquinic acid*, 3,4-*dicafeoylquinic acid*, 3,5-*dicafeoylquinic acid*, dan 4,5-*dicafeoylquinic acid*.⁴⁵

2.8 Absorpsi, Distribusi, Metabolisme, Ekskresi, Toksisitas (ADMETox)

Penemuan kandidat terapi baru dalam upaya menangani suatu penyakit menjadi sebuah usaha yang memakan banyak biaya dan proses yang kompleks

meliputi pemilihan penyakit, mengidentifikasi protein target, uji praklinis dan klinis.⁹⁹ Dengan metode *In silico*, hal ini dapat mempermudah proses awal pengembangan target terapi tanpa harus mencobanya terlebih dahulu ke hewan coba dan manusia.¹⁰⁰ Namun, meskipun memberikan manfaat yang besar, masih banyak kandidat obat yang belum lulus uji coba ketika proses pengembangan.⁴⁹ Ada beberapa kemungkinan yang menyebabkan kegagalan ini terjadi, mulai dari kurangnya efektivitas dari terapi dan masalah keamanan obat. Berdasarkan hal ini analisis ADMETox pada suatu senyawa menjadi sebuah proses penting dalam pengembangan terapi terbaru. Maka dari itu, diperlukannya pencarian molekul untuk pengobatan dengan sifat ADMETox yang baik pula.⁴⁹

ADMETox merupakan sebuah metode analisis data senyawa yang ditinjau dari segi farmakokinetik dan farmakodinamikanya.⁵⁰ Sejalan dengan doking molekuler, kandidat terapi yang akan dicoba harus lulus uji mulai dari kemiripan dengan obat (*druglikeness*), penghambatan terhadap enzim *Cytochrome P450* (CYP) dan level toksisitasnya. Pada aturan lima *lipinski*, ada beberapa hal yang harus terpenuhi pada senyawa kandidat. Minimal 2 dari kriteria ini terpenuhi mulai dari berat molekul < 500 g/mol, *Hydrogen Bond Acceptors* <10, *Hydrogen Bond Donors* < 5, dan Log P < 5.¹⁰¹ apabila ketentuan dari *lipinski* ini tidak terpenuhi, hal ini mengartikan senyawa kandidat memiliki ADMETox yang buruk sehingga pemilihannya dapat dihindari.¹⁰²

2.9 Doking Molekuler

Doking molekuler merupakan metode komputasi berbasis *in silico* yang sering digunakan dalam penemuan potensial zat aktif sebagai pengobatan terbaru.¹⁰³ Dengan melihat secara langsung ikatan antara protein dengan senyawa aktif, para peneliti memiliki persentase keberhasilan lebih tinggi dalam melakukan eksperimen.¹⁰⁴ Dengan biaya yang lebih rendah, aman, dan sederhana membuat teknik doking molekuler sering dipakai dalam penelitian biomedis serta pengembangan obat.¹⁰⁵

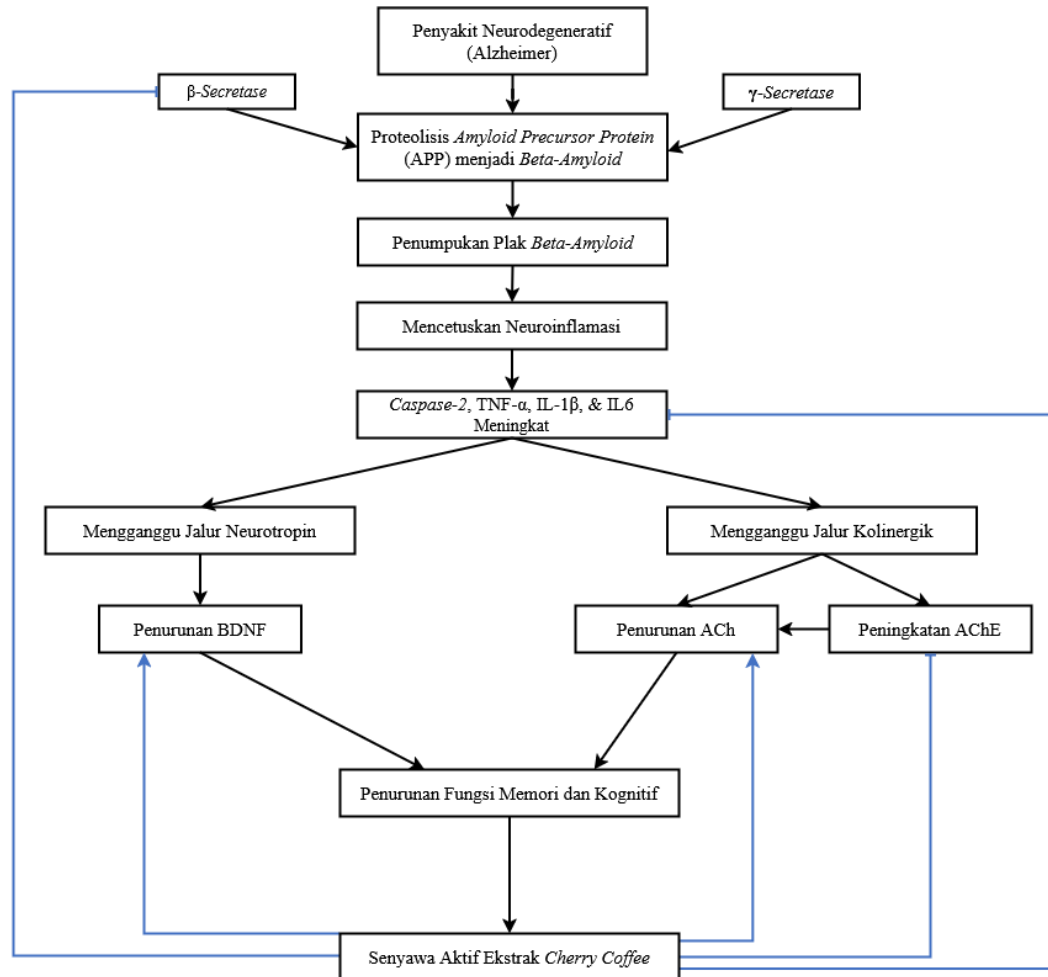
Dalam konsep dasar doking molekuler, diperlukan pencarian dari struktur target seperti protein, DNA atau RNA. *Protein Data Bank* (PDB) menjadi database protein yang sering digunakan untuk mendapatkan struktur 3D dari

makromolekul.¹⁰⁶ Selanjutnya, struktur dari senyawa aktif atau ligan didapatkan dari website ZINC dan *PubChem*.¹⁰⁷ Ketika makromolekul dan ligan berada dalam jarak dekat, kedua molekul ini akan berikatan dan membentuk suatu kompleks yang stabil. Tempat pengikatan dari kedua molekul ini disebut sebagai situs aktif.¹⁰⁸ Komponen skor dari hasil doking digunakan untuk melihat seberapa kuat kedua senyawa tersebut berikatan. Semakin rendah skor yang didapat, maka semakin kuat pula ikatan dari kedua molekul tersebut.¹⁰⁹

Banyak target terapi yang telah berhasil dikembangkan melalui metode doking molekuler. Seperti pengembangan terapi diabetes, hipertensi, serta penanggulangan *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2* (SARS-CoV-2).¹¹⁰ Dengan adanya kemajuan dalam sistem komputasi dan bioinformatika, metode doking molekuler akan terus berkembang sehingga memberikan harapan baru dalam pengobatan yang lebih aman serta efektif.

2.10 Kerangka Teori

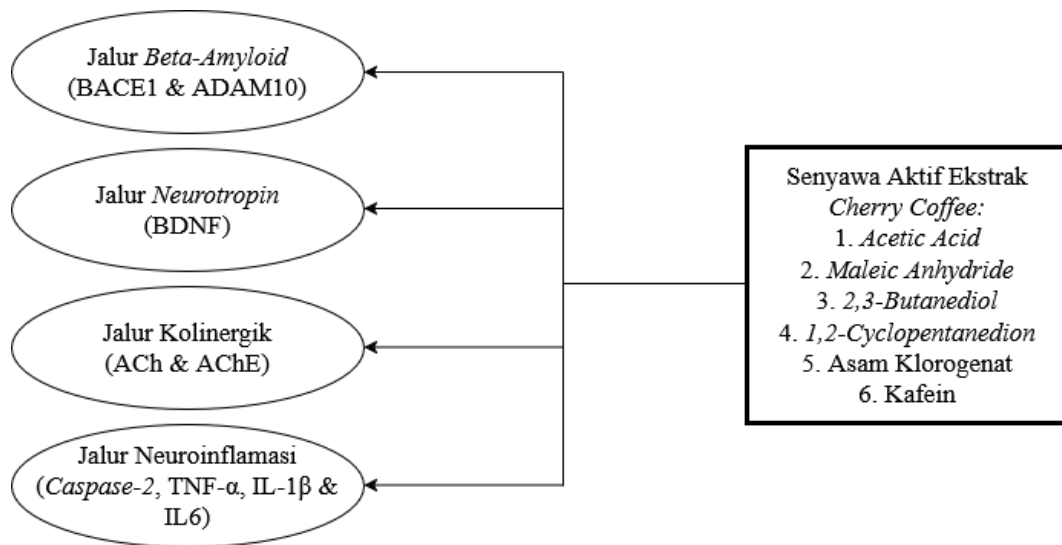
Kerangka teori penelitian dapat terlihat pada diagram alir berikut.



Keterangan Gambar: $\rightarrow$ = berpengaruh, $\rightarrow$ = Meningkatkan, $\rightarrow$ = Penghambatan

Penjelasan diagram alir. Senyawa aktif pada ekstrak *cherry coffee* difungsikan untuk meningkatkan kadar BDNF dan ACh serta menurunkan aktivitas dari enzim *caspase-2*, TNF- α , IL-1 β , dan IL-6.

2.11 Kerangka Konsep



Keterangan:



: Variabel *Independent* (Bebas)



: Variabel *Dependent* (Terikat)

BAB 3 METODE PENELITIAN

3.1 Definisi Operasional

Definisi operasional yang dipaparkan pada tabel 3.1 memiliki tujuan untuk menjelaskan pengertian terkait operasional dan variabel dari penelitian.

Tabel 3. 1 Definisi Operasional

Variabel	Definisi Operasional		Cara Ukur	Skala Ukur	Hasil Ukur	
Struktur Protein BDNF	Struktur protein diperoleh melalui <i>Uniprot</i> nomor 1B8M	3D yang situs dengan ID: n	Mengukur energi pengikatan dan konstanta penghambatan n	Numerik	Semakin energi pengikatan (< 0 kcal/mol) dan konstanta penghambatan (< 1 mM) maka semakin kuat interaksi ligan dan protein ¹⁰⁹	kecil
Struktur Protein Caspase-2	Struktur protein diperoleh melalui <i>Uniprot</i> nomor ID: 3R7B	3D yang situs dengan ID: 3R7B n	Mengukur energi pengikatan dan konstanta penghambatan n	Numerik	Semakin energi pengikatan (< 0 kcal/mol) dan konstanta penghambatan (< 1 mM) maka semakin kuat interaksi ligan dan protein ¹⁰⁹	kecil

Variabel	Definisi Operasional		Cara Ukur	Skala Ukur	Hasil Ukur	
Struktur Protein TNF-α	Struktur protein diperoleh melalui <i>Uniprot</i> nomor ID: 7JRA	3D yang situs dengan	Mengukur energi pengikatan dan konstanta penghambatan	Numerik	Semakin energi pengikatan (< 0 kcal/mol) dan konstanta penghambatan (< 1 mM) maka semakin kuat interaksi ligan dan protein ¹⁰⁹	kecil
Struktur Protein ACh	Struktur protein diperoleh melalui <i>Uniprot</i> nomor ID: 5TVC	3D yang situs dengan	Mengukur energi pengikatan dan konstanta penghambatan	Numerik	Semakin energi pengikatan (< 0 kcal/mol) dan konstanta penghambatan (< 1 mM) maka semakin kuat interaksi ligan dan protein ¹⁰⁹	kecil
Struktur Protein AChE	Struktur protein diperoleh melalui <i>Uniprot</i> nomor ID: 8DT7	3D yang situs dengan	Mengukur energi pengikatan dan konstanta penghambatan	Numerik	Semakin energi pengikatan (< 0 kcal/mol) dan konstanta penghambatan (< 1 mM) maka semakin kuat interaksi ligan dan protein ¹⁰⁹	kecil
Struktur Protein BACE1	Struktur protein diperoleh melalui <i>Uniprot</i>	3D yang situs dengan	Mengukur energi pengikatan dan konstanta	Numerik	Semakin energi pengikatan (< 0 kcal/mol) dan konstanta	kecil

Variabel	Definisi Operasional		Cara Ukur	Skala Ukur	Hasil Ukur	
	nomor 7MYU	ID: n	penghambatan		penghambatan (< 1 mM) maka semakin kuat interaksi ligan dan protein ¹⁰⁹	
Struktur Protein ADAM10	Struktur protein diperoleh melalui <i>Uniprot</i> nomor ID: 6BE6	3D yang situs dengan	Mengukur energi pengikatan dan konstanta penghambatan n	Numerik	Semakin energi pengikatan (< 0 kcal/mol) dan konstanta penghambatan (< 1 mM) maka semakin kuat interaksi ligan dan protein ¹⁰⁹	kecil
Struktur Protein IL1β	Struktur protein diperoleh melalui <i>Uniprot</i> nomor ID: 8RYS	3D yang situs dengan	Mengukur energi pengikatan dan konstanta penghambatan n	Numerik	Semakin energi pengikatan (< 0 kcal/mol) dan konstanta penghambatan (< 1 mM) maka semakin kuat interaksi ligan dan protein ¹⁰⁹	kecil
Struktur Protein IL6	Struktur protein diperoleh melalui <i>Uniprot</i> nomor ID: 5FUC	3D yang situs dengan	Mengukur energi pengikatan dan konstanta penghambatan n	Numerik	Semakin energi pengikatan (< 0 kcal/mol) dan konstanta penghambatan (< 1 mM) maka semakin kuat interaksi ligan dan protein ¹⁰⁹	kecil

Variabel	Definisi Operasional	Cara Ukur	Skala Ukur	Hasil Ukur	
Senyawa <i>acetic acid</i>	Struktur senyawa aktif yang diperoleh dari situs <i>PubChem</i> dengan <i>PubChem</i> CID: 176	Mengukur energi pengikatan dan konstanta penghambata n	Numerik	Semakin energi pengikatan (< 0 kcal/mol) dan konstanta penghambatan (< 1 mM) maka semakin kuat interaksi ligan dan protein ¹⁰⁹	kecil
Senyawa <i>2,3-Butanediol</i>	Struktur senyawa aktif yang diperoleh dari situs <i>PubChem</i> dengan <i>PubChem</i> CID: 262	Mengukur energi pengikatan dan konstanta penghambata n	Numerik	Semakin energi pengikatan (< 0 kcal/mol) dan konstanta penghambatan (< 1 mM) maka semakin kuat interaksi ligan dan protein ¹⁰⁹	kecil
Senyawa <i>Maleic Anhydride</i>	Struktur senyawa aktif yang diperoleh dari situs <i>PubChem</i> dengan <i>PubChem</i> CID: 7923	Mengukur energi pengikatan dan konstanta penghambata n	Numerik	Semakin energi pengikatan (< 0 kcal/mol) dan konstanta penghambatan (< 1 mM) maka semakin kuat interaksi ligan dan protein ¹⁰⁹	kecil
Senyawa <i>1,2-Cyclopentanedione</i>	Struktur senyawa aktif yang diperoleh dari situs <i>PubChem</i>	Mengukur energi pengikatan dan konstanta	Numerik	Semakin energi pengikatan (< 0 kcal/mol) dan konstanta	kecil

Variabel	Definisi Operasional	Cara Ukur	Skala Ukur	Hasil Ukur
	dengan <i>PubChem</i> CID: 566657	penghambata n		penghambatan (< 1 mM) maka semakin kuat interaksi ligan dan protein ¹⁰⁹
Senyawa Asam Klorogenat	Struktur senyawa aktif yang diperoleh dari situs <i>PubChem</i> dengan <i>PubChem</i> CID: 1794427	Mengukur energi pengikatan dan konstanta penghambata n	Numerik	Semakin kecil energi pengikatan (< 0 kcal/mol) dan konstanta penghambatan (< 1 mM) maka semakin kuat interaksi ligan dan protein ¹⁰⁹
Senyawa Kafein	Struktur senyawa aktif yang diperoleh dari situs <i>PubChem</i> dengan <i>PubChem</i> CID: 2519	Mengukur energi pengikatan dan konstanta penghambata n	Numerik	Semakin kecil energi pengikatan (< 0 kcal/mol) dan konstanta penghambatan (< 1 mM) maka semakin kuat interaksi ligan dan protein ¹⁰⁹
Senyawa Skopolamin	Struktur senyawa aktif yang diperoleh dari situs <i>PubChem</i> dengan <i>PubChem</i> CID: 11968014	Mengukur energi pengikatan dan konstanta penghambata n	Numerik	Semakin kecil energi pengikatan (< 0 kcal/mol) dan konstanta penghambatan (< 1 mM) maka semakin kuat interaksi ligan dan protein ¹⁰⁹

Variabel	Definisi Operasional	Cara Ukur	Skala Ukur	Hasil Ukur
Senyawa Donepezil	Struktur senyawa aktif yang diperoleh dari situs <i>PubChem</i> dengan <i>PubChem</i> CID: n 3152	Mengukur energi pengikatan dan konstanta penghambatan	Numerik	Semakin kecil energi pengikatan (< 0 kcal/mol) dan konstanta penghambatan (< 1 mM) maka semakin kuat interaksi ligan dan protein ¹⁰⁹

3.2 Jenis dan Rancangan Penelitian

Desain dari penelitian ini adalah analisis ADMETox dan doking molekuler. Analisis ADMETox menggunakan situs ADMETlab 2.0, SwissADME, dan ProTox-III untuk mencari *druglikeness*, farmakokinetik, dan toksisitas dari senyawa aktif ekstrak *cherry coffee*, skopolamin, dan donepezil. Analisis doking molekuler menggunakan metode doking molekuler antara senyawa aktif ekstrak *cherry coffee*, skopolamin, dan donepezil dengan protein target BDNF, *Caspase-2*, TNF- α , ACh, AChE, BACE1, ADAM10, IL1 β , dan IL6.

Tabel 3. 2 Rancangan Penelitian

Rancangan Penelitian		
	Senyawa Aktif	Protein
ADMETox	<i>Acetic Acid</i>	-
	<i>Maleic Anhydride</i>	-
	<i>2,3-Butanediol</i>	-
	<i>1,2-Cyclopentanediol</i>	-
	Asam Klorogenat	-
	Kafein	-
	Skopolamin	-
	Donepezil	-
Doking Molekuler	<i>Acetic Acid</i>	BDNF

<i>Maleic Anhydride</i>	<i>Caspase-2</i>
<i>2,3-Butanediol</i>	TNF- α
<i>1,2-Cyclopentanedion</i>	ACh
Asam Klorogenat	AChE
Kafein	BACE1
Skopolamin	ADAM10
Donepezil	IL1 β
	IL6

3.3 Waktu dan Tempat Penelitian

Pelaksanaan penelitian dilakukan selama 6 bulan dari September 2024-Februari 2025. Analisis ADMETox dan doking molekuler dilakukan di Laboratorium Biokimia FK UMSU

3.4 Populasi dan Sampel Penelitian

3.4.1 Populasi Penelitian

Populasi yang ditargetkan dalam penelitian ini adalah ikatan antara protein BDNF, *Caspase-2*, TNF- α , ACh, AChE, BACE1, ADAM10, IL1 β , dan IL6 terhadap senyawa aktif ekstrak *cherry coffee*, skopolamin, dan donepezil yang diperoleh melalui analisis *In silico*.

3.4.2 Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah protein target BDNF, *Caspase-2*, TNF- α , ACh, AChE, BACE1, ADAM10, IL1 β , dan IL6 pada metode doking molekuler. Adapun kriteria inklusi adalah:

1. Tahun terbit protein, lebih baik apabila ditemukan tahun terbit paling terbaru dari protein target.
2. Resolusi protein < 3 Armstrong ($\text{\AA}$).
3. Tidak terdapat mutasi pada protein target (pengecualian, apabila sekuens mutasi tidak sama dengan hasil sekuens visualisasi).

Kriteria eksklusi pada metode doking molekuler:

1. Resolusi protein > 3 Å
2. Terdapat mutasi pada protein target (dengan sekuens yang sama saat visualisasi)

3.5 Teknik Pengumpulan Data

3.5.1 Bahan dan Alat yang digunakan

3.5.1.1 Analisis ADMETox dan Doking Molekuler

Bahan yang digunakan pada analisis ADMETox adalah *Simplified Molecular Input Line Entry System* (SMILES) pada senyawa aktif yang dapat ditemukan pada situs *PubChem* (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>), analisis *druglikeness*, farmakokinetik senyawa, dan toksisitasnya melalui situs ADMETlab 2.0 (<https://admetmesh.scbdd.com/service/evaluation/index>), SwissADME (<http://www.swissadme.ch/>), dan ProTox-III (https://tox.charite.de/prottox3/index.php?site=compound_input). Dan analisis doking molekuler adalah struktur ligan/senyawa aktif yang diperoleh dari situs web *PubChem* (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) dan protein target yang diperoleh dari *Uniprot* (<https://www.uniprot.org/>). Perangkat lunak yang digunakan dalam penelitian ini adalah aplikasi *Autodock tools*, *Marvin Sketch*, *Pymol*, *Notepad*, *LigandScout*, dan *Discovery Studio*. Perangkat keras yang digunakan dalam penelitian ini adalah laptop ASUS TUF Gaming F15 dengan spesifikasi RAM DDR4 8GB, *processor* Intel Core i7-10870H *processor* 2.2 GHz, memory 16GB dengan kapasitas maksimal 32GB.

3.6 Analisis Data

3.6.1 Analisis ADMETox

Analisis ADMETox dilakukan dengan mencari data senyawa aktif pada situs (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) dan meng-copy *Simplified Molecular Input Line Entry System* (SMILES) pada senyawa. Selanjutnya, SMILES yang didapat dimasukkan kedalam situs ADMETlab 2.0 (<https://admetmesh.scbdd.com/service/evaluation/index>), SwissADME (<http://www.swissadme.ch/>), dan ProTox-III (https://tox.charite.de/prottox3/index.php?site=compound_input). Data yang

didapatkan kemudian dianalisis berdasarkan *druglikeness* dengan melihat pemenuhan dari aturan lima *lipinski*, farmakokinetik senyawa, dan toksisitasnya.

3.6.2 Analisis Doking Molekuler

Pada penelitian ini dilakukan analisis komputasi berupa doking molekuler untuk melihat interaksi antara ligan dengan protein target. Prosedur ini dilakukan dalam beberapa tahapan:

3.6.2.1 Pencarian Data Protein Target

Pencarian data dari protein target didapatkan dari *Uniprot* (<https://www.uniprot.org/>) dan PDB (<https://www.rcsb.org/>) dalam bentuk *.pdb yang kemudian dilakukan penghilangan molekul air, penambahan muatan, buang pelarut menggunakan aplikasi *Autodock tools*.

3.6.2.2 Pencarian Data Senyawa Aktif Ekstrak *Cherry Coffee*

Struktur 2D dari senyawa aktif pada ekstrak *cherry coffee* diambil dari website *PubChem* (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>). Selanjutnya, struktur 2D dengan format *.sdf dari senyawa aktif diubah menjadi bentuk 3D dan dikonversi menjadi bentuk *.pdb menggunakan aplikasi *Marvin Sketch*.

3.6.2.3 Pemodelan Struktur 3D protein

Pemodelan struktur 3D dari protein target diperkirakan menggunakan aplikasi *Autodock tools* menggunakan *X-ray Method*. Setelahnya, struktur 3D protein divalidasi juga menggunakan aplikasi *Autodock tools*.

3.6.2.4 Doking dan Visualisasi Ligand-Protein Complex

Simulasi doking molekuler antara senyawa aktif asam klorogenat dengan protein target menggunakan aplikasi *Autodock tools*. Langkah doking molekuler terdiri dari tiga tahapan yaitu persiapan ligan dan protein, pembuatan box imajiner, dan doking. Setelah didapatkan *Ligand-Protein Complex*, hasilnya divisualisasikan menggunakan aplikasi *Discovery Studio*, *Pymol*, dan *LigandScout*.

3.7 Pengolahan dan Analisis Data

3.7.1 Pengolahan Data

3.7.1.1 ADMETox

Pengolahan data dari analisis ADMETox dengan menginterpretasikan hasil data yang didapatkan melalui situs ADMETlab 2.0, SwissADME, dan ProTox-III. Data yang didapatkan adalah:

a. *Druglikeness*

Didapatkan data berupa *molecular weight* (MW), *Hydrogen Bond Acceptor* (HBA), *Hydrogen Bond Donor* (HBD), dan Log P.

b. Farmakokinetik

Didapatkan data berupa Gastrointestinal (GI) *absorption*, *Blood Brain Barrier* (BBB) *permeant*, dan inhibitor terhadap enzim *cytochrome P450* (CYP).

c. Toksisitas

Didapatkan data berupa *oral acute toxicity*, *skin sensitization*, *carcinogenicity*, *respiratory toxicity*, *Lethal Concentration 50% for Fish Models* (LC50FM), *Lethal Concentration 50% for Daphania Models* (LC50DM), pemenuhan kaidah *lipinski*, dan kelas.

3.7.1.2 Doking Molekuler

Pengolahan data dari metode doking molekuler dengan menganalisis energi pengikatan, konstanta penghambatan, dan asam amino residu antara ikatan ligan dan protein.

a. Energi pengikatan dan konstanta penghambatan

Analisis dari energi pengikatan dan konstanta penghambatan dilakukan dengan melihat hasil dari doking menggunakan aplikasi *Notepad* yang memiliki satuan kcal/mol dan mM/uM/nM.

b. Asam amino residu

Analisis dari asam amino dilakukan menggunakan aplikasi *Discovery Studio* dengan menganalisis visualisasi 2D dari ikatan antara ligan dan protein.

3.7.2 Analisis Data

3.7.2.1 ADMETox

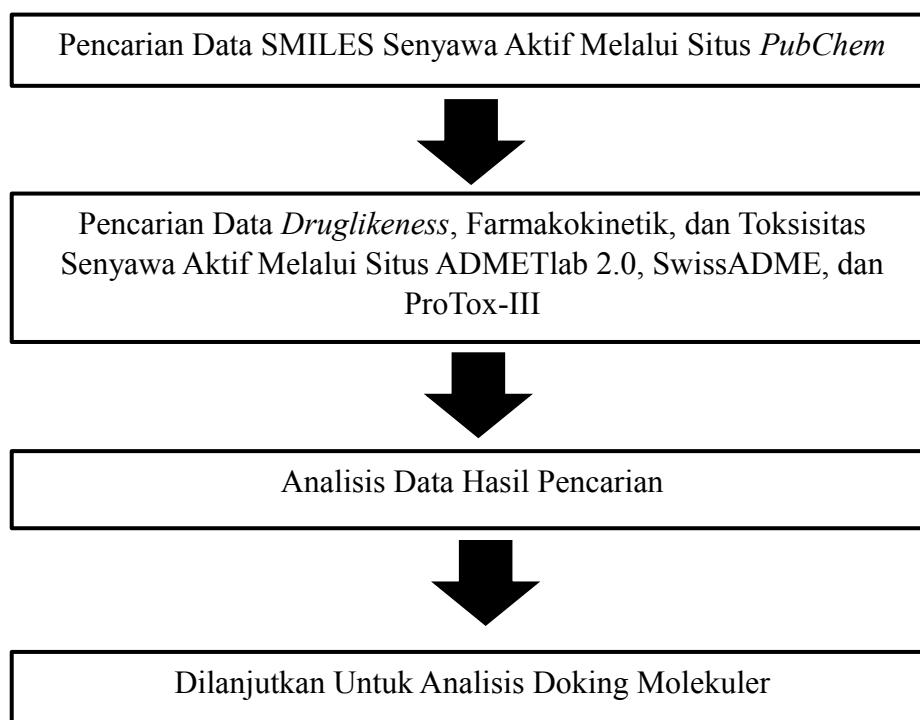
Hasil yang didapatkan kemudian dianalisis berdasarkan pemenuhan aturan lima *lipinski*, interpretasi mengenai penyerapan GI dan BBB, bagaimana penghambatannya terhadap enzim CYP, dan bagaimana toksisitasnya apabila diadministrasikan ke dalam tubuh.

3.7.2.2 Doking Molekuler

Hasil dari analisis doking molekuler yang didapatkan menggunakan aplikasi *autodock tools* dilihat energi pengikatan dan konstanta penghambatannya. Selanjutnya, dilakukan visualisasi menggunakan aplikasi *Discovery Studio*, *PyMol*, dan *LigandScout* untuk mengetahui jumlah dan jenis ikatan yang terbentuk berupa ikatan hidrogen dan asam amino residu untuk mengetahui *active site* pada ikatan *Ligand-Protein*.

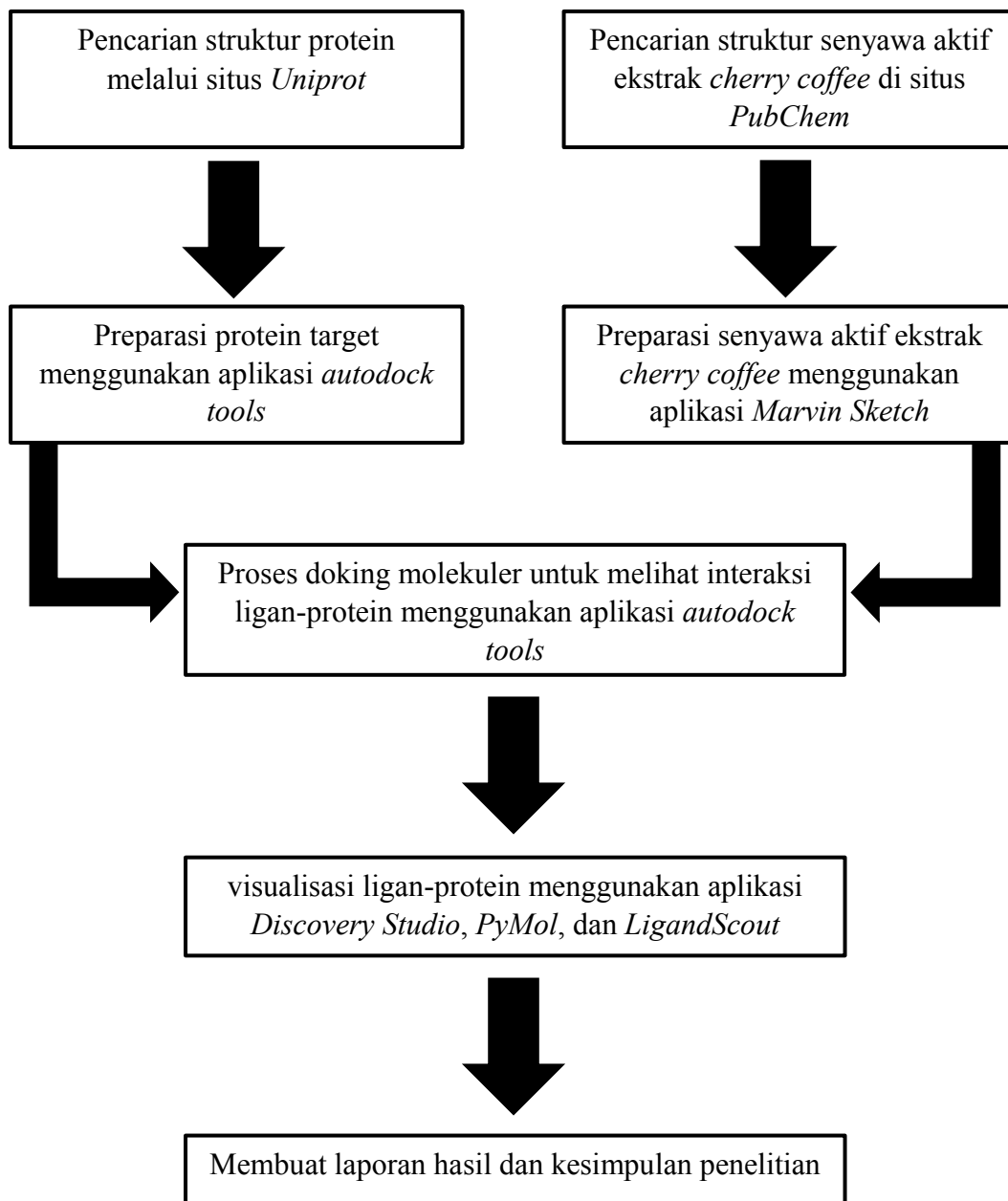
3.8 Alur Penelitian

3.8.1 ADMETox



3.8.2 Doking Molekuler

Alur penelitian metode doking molekuler dapat dilihat pada diagram alir berikut.



BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

4.1.1 Hasil Analisis ADMETox Senyawa Aktif Ekstrak *Cherry Coffee*

Tabel 4. 1 Hasil Analisis *Druglikeness* Senyawa Aktif *Cherry Coffee*

<i>Compound</i>	<i>Druglikeness</i>			
	MW g/mol	HBA	HBD	Log P
<i>ACETIC ACID</i>	60.02	2	1	-0.180
<i>2,3-BUTANEDIOL</i>	90.07	2	2	-0.580
<i>MALEIC ANHYDRIDE</i>	98.00	3	0	0.191
<i>1,2-CYCLOPENTANEDIONE</i>	98.04	2	0	0.064
<i>CHLOROGENIC ACID</i>	354.10	9	6	-0.085
<i>CAFFEIN</i>	194.08	6	0	0.048
<i>SKOPOLAMIN</i>	303.15	5	1	1.199
<i>DONEPEZIL</i>	379.21	4	0	4.191

Keterangan: MW = *Molecular Weight*; HBA = *Hydrogen Bond Acceptor*; HBD = *Hydrogen Bond Donor*.

Dari tabel 4.1. menunjukkan berat molekul dari senyawa ekstrak *cherry coffee* kurang dari 500 g/mol, memiliki HBA kurang dari 10, dan Log P kecil dari 5. Semua senyawa aktif ekstrak *cherry coffee* kecuali asam klorogenat memiliki nilai HBD kecil dari 5. Sebagai perbandingan, senyawa donepezil dan skopolamin juga memiliki berat molekul lebih kecil dari 500 g/mol, HBA kurang dari 10, HBD kurang dari 5, dan Log P lebih kecil dari 5.

Tabel 4. 2 Hasil Analisis Farmakokinetik Senyawa Aktif *Cherry Coffee*

<i>Compound</i>	<i>Pharmakokinetics</i>						
	<i>GI absorption</i>	<i>BBB permeant</i>	<i>Inhibitor CYP</i>				
			CYP1A 2	CYP2C1 9	CYP2C 9	CYP2D 6	CYP3A 4
<i>ACETIC ACID</i>	High	No	---	---	---	---	---
<i>2,3-BUTANEDIOL</i>	High	No	---	---	+	---	---
<i>MALEIC ANHYDRIDE</i>	High	No	+	--	--	---	---
<i>1,2-CYCLOPENTANEDIONE</i>	High	No	--	---	---	--	---
<i>CHLOROGENIC ACID</i>	Low	No	---	---	---	---	-
<i>CAFFEIN</i>	High	No	--	---	---	---	---
<i>SKOPOLAMIN</i>	High	No	---	---	---	--	--
<i>DONEPEZIL</i>	High	Yes	--	-	---	+++	-

Keterangan: GI = Gastrointestinal; BBB = *Blood Brain Barrier*; CYP = *Cytochrome P450*; (-) = 0,3-0,5 (Kemungkinan Menghambat ada, namun kecil); (--) = 0,1-0,3 (Kemungkinan Menghambat Rendah); (---) = 0-0,1 (Tidak Menghambat); (+) = 0,5-0,7 (Menghambat namun kecil); (++) = 0,7-0,9 (Menghambat Sedang); (+++) = 0,9-1 (Sangat Menghambat).

Pada tabel 4.2. semua senyawa ekstrak *cherry coffee* kecuali asam klorogenat diserap pada saluran cerna dengan tinggi, namun masih belum dapat menembus BBB. Dapat dilihat pada tabel, mayoritas dari senyawa aktif pada ekstrak *cherry coffee* memiliki kemampuan rendah atau tidak sama sekali menghambat enzim CYP kecuali senyawa *maleic anhydride* di CYP1A2 dan 2,3-*butanediol* di CYP2C9 dengan intensitas penghambatan rendah. Dilakukan juga analisa terhadap donepezil dan skopolamin sebagai pembanding dengan skopolamin memiliki daya serap saluran pencernaan tinggi, belum mampu menembus BBB, dan tidak menghambat enzim CYP. Donepezil dengan daya serap saluran cerna tinggi dan memiliki kemampuan untuk menembus BBB dan sangat menghambat kerja dari enzim CYP di CYP2D6.

Tabel 4. 3 Hasil Analisis Toksisitas Senyawa Aktif *Cherry Coffee*

<i>Compound</i>	<i>Toxicity</i>					LC50 FM	LC50 DM	Lipin ski	Kel as
	<i>Oral Acute Toxicity</i>	<i>Skin sensitization</i>	<i>Carcinogenicity</i>	<i>Respiratory Toxicity</i>					
ACETIC ACID	---	-	---	---		2.790	2.698	Yes	1
2,3-BUTANEDIOL	---	---	---	---		0.977	1.863	Yes	5
MALEIC ANHYDRIDE	+++	+++	--	++		4.458	4.897	Yes	4
1,2-CYCLOPENTANEDIONE	+	++	-	-		3.062	3.728	Yes	4
CHLOROGENIC ACID	---	---	---	---		4.012	4.829	Yes	5
CAFFEIN	---	---	---	-		3.229	3.205	Yes	3
SKOPOLAMIN	--	-	--	++		4.062	4.531	Yes	4
DONEPEZIL	--	--	---	+++		5.338	6.367	Yes	4

Keterangan: LC50FM = *Lethal Concentration 50% for Fish Models*; LC50DM = *Lethal Concentration 50% for Daphania Models*; (-) = 0,3-0,5 (Kemungkinan Toksik ada, namun kecil); (--) = 0,1-0,3 (Kemungkinan Toksik Rendah); (---) = 0-0,1 (Tidak Toksik); (+) = 0,5-0,7 (Kemungkinan Toksik Sedang); (++) = 0,7-0,9 (Kemungkinan ToksikTinggi); (+++) = 0,9-1 (Sangat Toksik).

Pada tabel 4.3. mayoritas senyawa aktif *cherry coffee* aman untuk dikonsumsi secara oral kecuali *maleic anhydride* dan 1,2-cyclopentanedione serta

tidak menimbulkan efek karsinogenik. Senyawa *maleic anhydride* memiliki kemampuan untuk menimbulkan toksisitas di paru.

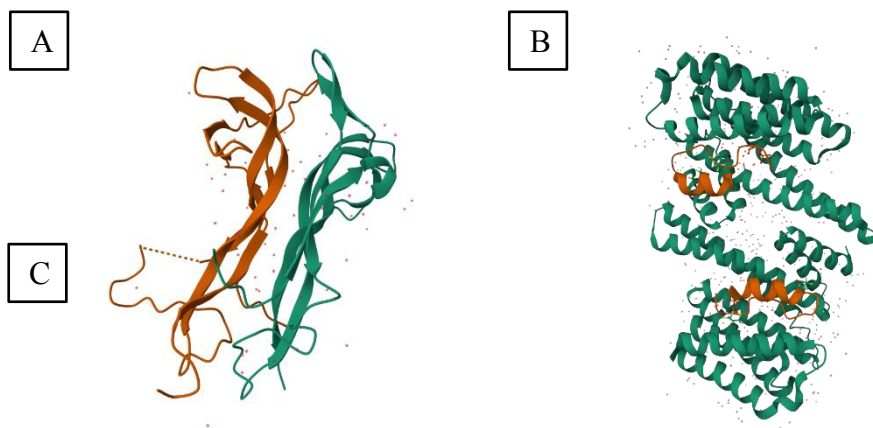
4.1.2 Hasil Analisis Doking Molekuler

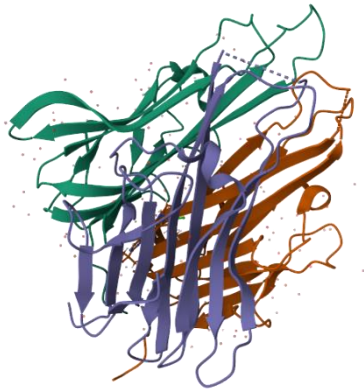
4.1.2.1 Hasil Pencarian Data Struktur Protein

Struktur dari protein BDNF, *Caspase-2*, TNF- α , ACh, AChE, BACE1, ADAM10, IL1 β , dan IL6 berasal dari website *Uniprot* (<https://www.uniprot.org/>) dan dipilih melalui database protein RSCB-PDB (<https://www.rcsb.org/>) ditentukan berdasarkan tahun penerbitan, resolusi, adanya mutasi dan *native ligands*.

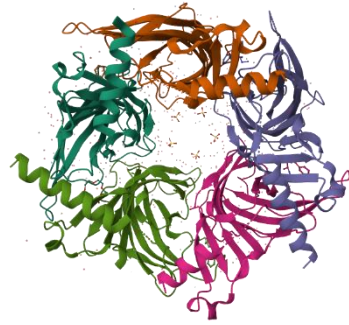
Berdasarkan penentuan pemilihan dari protein target, maka didapatkan protein BDNF dengan kode 1B8M (<https://www.rcsb.org/structure/1B8M>) yang diterbitkan pada tahun 1999 dengan resolusi 2.75 Å, tidak terjadi mutasi dan tidak terdapat *native ligands*.¹¹¹ Protein *caspase-2* dengan kode 6S9K (<https://www.rcsb.org/structure/6S9K>) diterbitkan pada tahun 2019 dengan resolusi 1.60 Å, tidak terjadi mutasi dan ditemukannya *native ligands* berupa *1,1,1,3,3,3-hexafluoropropan-2-ol* (CFH) (<https://www.rcsb.org/ligand/CFH>).¹¹² Protein TNF- α dengan kode 7JRA (<https://www.rcsb.org/structure/7JRA>) yang diterbitkan pada tahun 2020 dengan resolusi 2.10 Å, tidak terdapat mutasi dan memiliki *native ligands* berupa *2-[5-(3-chloro-4-[(1R)-1-(2-fluorophenyl)ethyl]amino}quinolin-6-yl)pyrimidin-2-yl]propan-2-ol* (VGY) (<https://www.rcsb.org/ligand-validation/7JRA/VGY>).¹¹³ Protein ACh dengan kode 5TVC (<https://www.rcsb.org/structure/5TVC>) yang diterbitkan pada tahun 2016 memiliki mutasi pada sekuens 64 dan 208 dengan resolusi 1.93 Å. memiliki *native ligands* berupa *(E,2S)-N-methyl-5-(5-phenoxy-3-pyridyl)pent-4-en-2-amine* (7LB) (<https://www.rcsb.org/ligand/7LB>).¹¹⁴ Protein AChE dengan kode 8DT7 (<https://www.rcsb.org/structure/8DT7>) yang diterbitkan pada tahun 2022 dengan resolusi 2.21 Å, tidak terdapat mutasi dan memiliki *native ligands* berupa *1,1'-methylenebis{4-[(E)-(hydroxyimino)methyl]pyridin-1-ium}* (3VI) (<https://www.rcsb.org/ligand-validation/8DT7/3VI>).¹¹⁵ Protein BACE1 dengan kode 7MYU (<https://www.rcsb.org/structure/7MYU>) yang diterbitkan pada tahun

2021 dengan resolusi 1.94 Å, tidak terdapat mutasi dan memiliki *native ligands* berupa *N*-{3-[(4*a*R,7*a*S)-2-amino-6-(5-fluoropyrimidin-2-yl)-4*a*,5,6,7-tetrahydropyrrolo[3,4-*d*][1,3]thiazin-7*a*(4*H*)-yl]-4-fluorophenyl}-5-methoxypyrazine-2-carboxamide (ZR7) (<https://www.rcsb.org/ligand/ZR7>).¹¹⁶ Protein ADAM10 dengan kode 6BE6 (<https://www.rcsb.org/structure/6BE6>) yang diterbitkan pada tahun 2017 dengan resolusi 2.80 Å, tidak terdapat mutasi dan memiliki *native ligands* berupa ion sulfat (SO4) (<https://www.rcsb.org/ligand/SO4>).¹¹⁷ Protein IL1β dengan kode 8RYS (<https://www.rcsb.org/structure/8RYS>) yang diterbitkan pada tahun 2024 dengan resolusi 1.16 Å, tidak terdapat mutasi dan memiliki *native ligands* berupa ion sulfat (SO4) (<https://www.rcsb.org/ligand/SO4>).¹¹⁸ Protein IL6 dengan kode 5FUC (<https://www.rcsb.org/structure/5FUC>) yang diterbitkan pada tahun 2017 dengan resolusi 2.70 Å, terdapat mutasi pada sekuens 120 dan 186, dan memiliki *native ligands* berupa 2-acetamido-2-deoxy-beta-D-glucopyranose (NAG) (<https://www.rcsb.org/ligand/NAG>).¹¹⁹





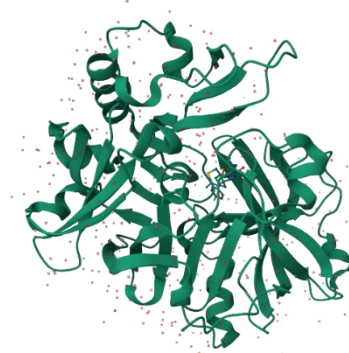
D



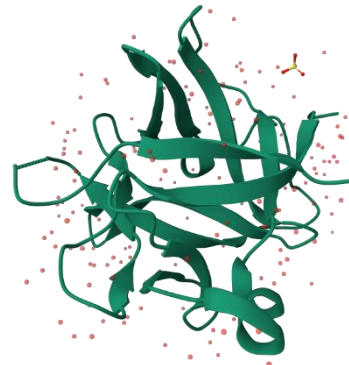
E

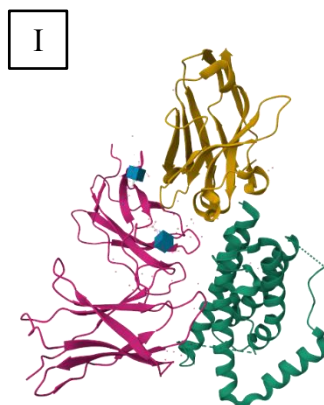


F



H

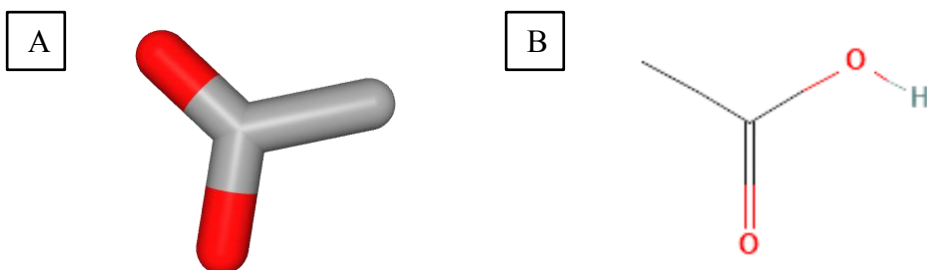




Gambar 4. 1Struktur protein;
A. BDNF (1B8M), B. *Caspase-2* (6S9K), C. *TNF- α* (7JRA) , D. ACh (5TVC) , E. AChE (8DT7),
F. BACE1 (7MYU), G. ADAM10 (6BE6), H. IL1 β (8RYS), dan I. IL6 (5FUC) yang didapat dari
RCSB-PDB.^{111–119}

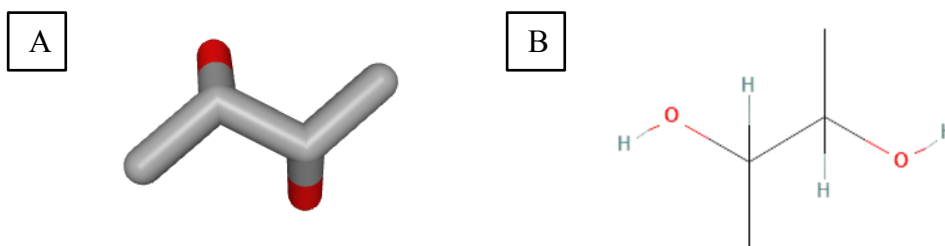
4.1.2.2 Hasil Pencarian Data Senyawa Aktif

Pencarian data struktur senyawa aktif *acetic acid* dilakukan menggunakan database *PubChem* dengan *PubChem* CID: 176 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/176>) yang diterbitkan pada tahun 2005 dengan formula molekul $C_2H_4O_2$ dan berat molekul 60.05 g/mol.¹²⁰



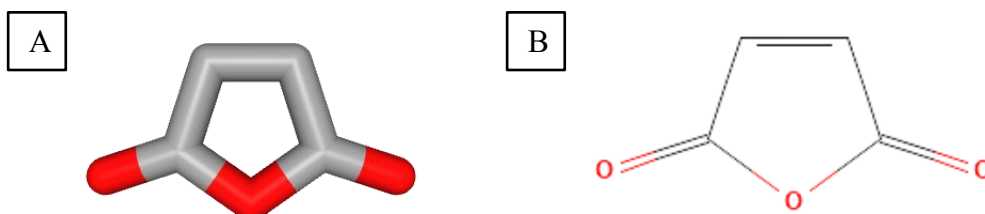
Gambar 4. 2Struktur senyawa *acetic acid*; A. 3 dimensi; B. 2 dimensi.¹²⁰

Pencarian data struktur senyawa aktif *2,3-butanediol* dilakukan menggunakan database *PubChem* dengan *PubChem* CID: 262 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/262>) yang diterbitkan pada tahun 2005 dengan formula molekul $C_4H_{10}O_2$ dan berat molekul 90.12 g/mol.¹²¹



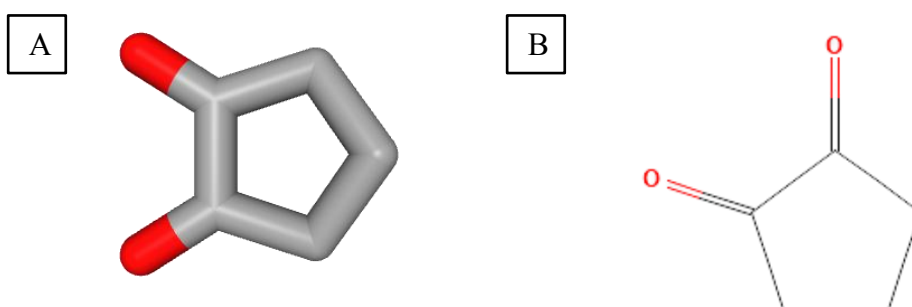
Gambar 4. 3 Struktur senyawa *2,3-butanediol*; A. 3 dimensi; B. 2 dimensi.¹²¹

Pencarian data struktur senyawa aktif *maleic anhydride* dilakukan menggunakan database *PubChem* dengan *PubChem* CID: 7923 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/7923>) yang diterbitkan pada tahun 2005 dengan formula molekul $C_4H_2O_3$ dan berat molekul 98.06 g/mol.¹²²



Gambar 4. 4 Struktur senyawa *maleic anhydride*; A. 3 dimensi; B. 2 dimensi.¹²²

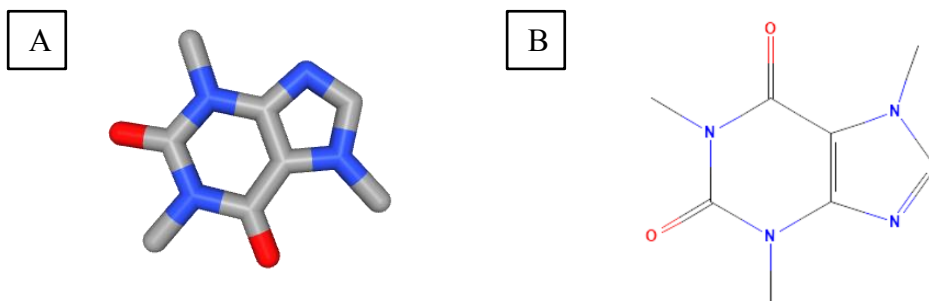
Pencarian data struktur senyawa aktif *1,2-cyclopentanedione* dilakukan menggunakan database *PubChem* dengan *PubChem* CID: 566657 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/566657>) yang diterbitkan pada tahun 2004 dengan formula molekul $C_5H_6O_2$ dan berat molekul 98.10 g/mol.¹²³



Gambar 4. 5 Struktur senyawa *1,2-cyclopentanedione*; A. 3 dimensi; B. 2 dimensi.¹²³

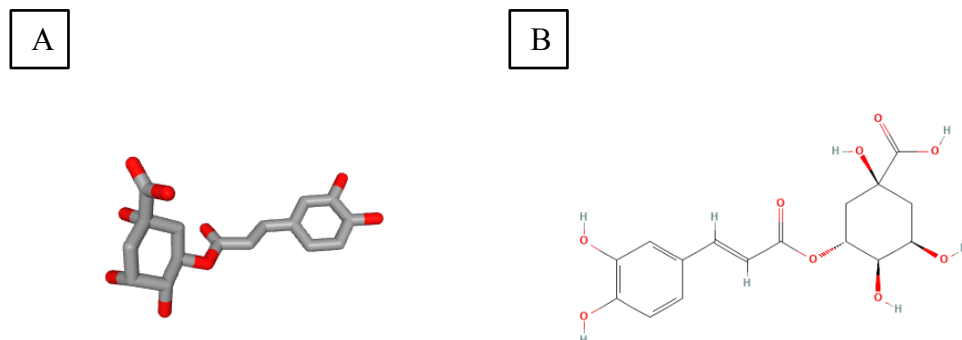
Pencarian data struktur senyawa aktif kafein dilakukan menggunakan database *PubChem* dengan *PubChem* CID: 2519

(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/2519>) yang diterbitkan pada tahun 2004 dengan formula molekul $C_8H_{10}N_4O_9$ dan berat molekul 194.19 g/mol.¹²⁴



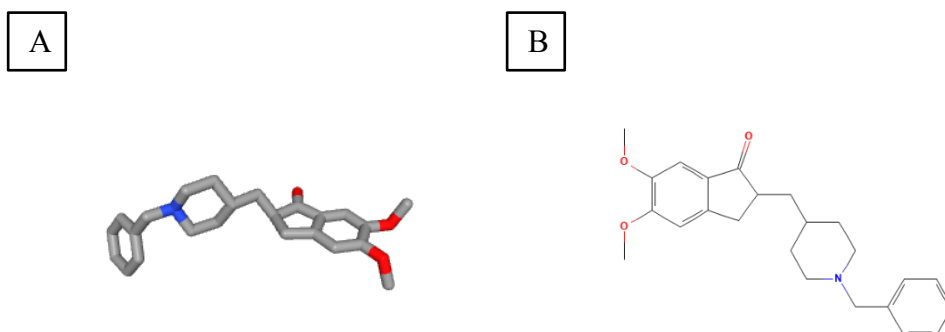
Gambar 4. 6 Struktur senyawa kafein; A. 3 dimensi; B. 2 dimensi.¹²⁴

Pencarian data struktur senyawa aktif asam klorogenat dilakukan menggunakan database *PubChem* dengan *PubChem* CID: 1794427 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/1794427>) yang diterbitkan pada tahun 2004 dengan formula molekul $C_{16}H_{18}O_9$ dan berat molekul 354.31 g/mol.¹²⁵



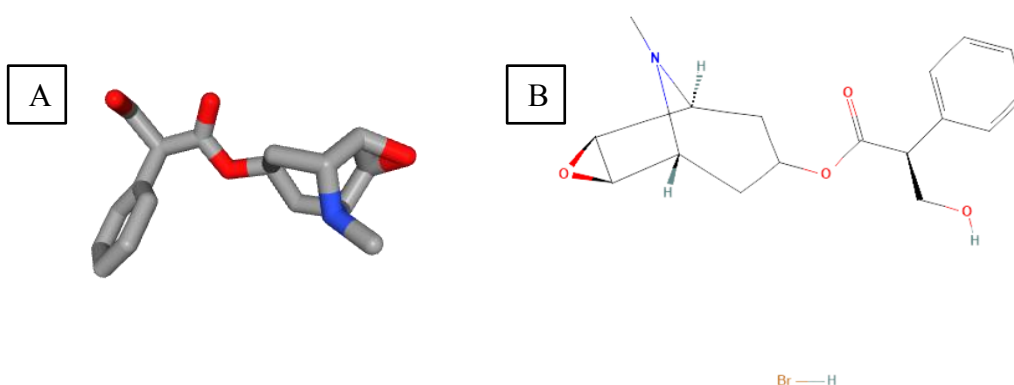
Gambar 4. 7 Struktur senyawa asam klorogenat; A. 3 dimensi; B. 2 dimensi.¹²⁵

Pencarian dari data struktur senyawa aktif donepezil dilakukan menggunakan database *PubChem* dengan *PubChem* CID: 3152 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/3152>) yang diterbitkan pada tahun 2005 dengan formula $C_{24}H_{29}NO_3$ dan berat molekul 379.5 g/mol.¹²⁶



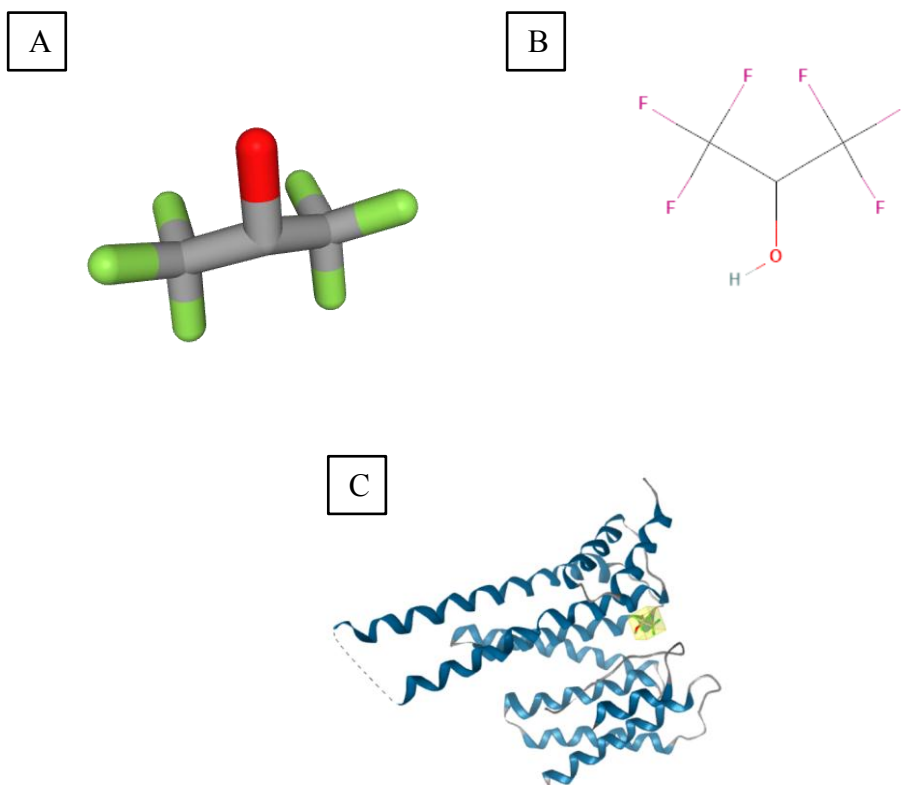
Gambar 4. 8 Struktur senyawa donepezil; A. 3 dimensi; B. 2 dimensi.¹²⁶

Pencarian dari data struktur senyawa aktif skopolamin dilakukan menggunakan database *PubChem* dengan *PubChem* CID: 6603108 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/6603108>) yang diterbitkan pada tahun 2006 dengan formula $C_{17}H_{21}BrNO_4$ dan berat molekul 384.3 g/mol.¹²⁷



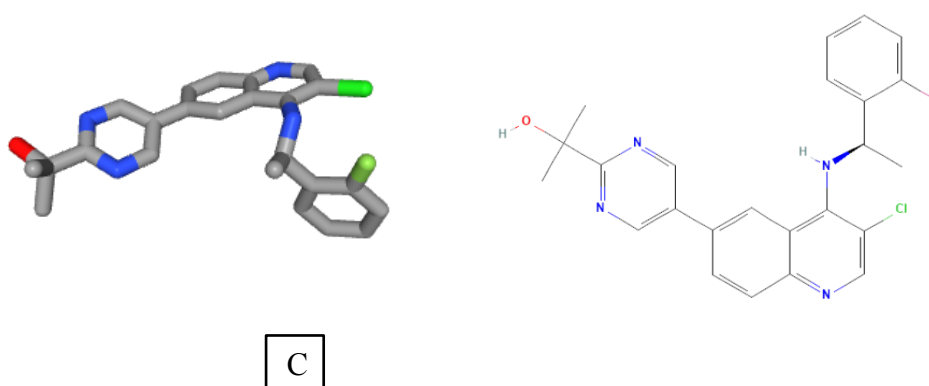
Gambar 4. 9 Struktur senyawa skopolamin; A. 3 dimensi; B. 2 dimensi.¹²⁷

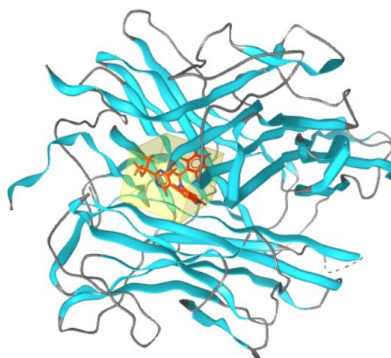
Native ligands pada protein target *caspase-2* yang merupakan senyawa aktif bernama *1,1,1,3,3,3-hexafluoropropan-2-ol* (CFH) dengan nomor *PubChem* CID: 13529 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/13529>) yang terbit pada tahun 2005 dengan formula $C_3H_2F_6O$ dan berat molekul 379.5 g/mol.¹²⁸



Gambar 4. 10 Struktur senyawa CFH *native ligand* dari *Caspase-2*; A. 3 dimensi; B. 2 dimensi; C. keberadaan senyawa CFH sebagai *native ligands* dari *caspase-2* (kotak kuning).¹²⁸

Native ligands pada protein target TNF- α yang merupakan senyawa aktif bernama 2-[5-(3-chloro-4-{[(1R)-1-(2-fluorophenyl)ethyl]amino}quinolin-6-yl)pyrimidin-2-yl]propan-2-ol (VGY) dengan nomor *PubChem* CID: 126531356 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/126531356>) yang terbit pada tahun 2017 dengan formula $C_{24}H_{22}ClFN_4O$ dan berat molekul 436.9 g/mol.¹²⁹

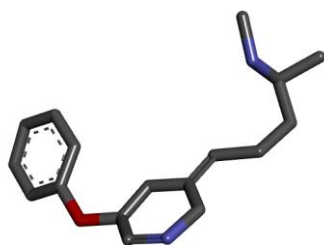




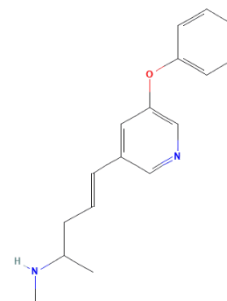
Gambar 4. 11 Struktur senyawa VGY *native ligand* dari TNF- α ; A. 3 dimensi; B. 2 dimensi; C. keberadaan senyawa VGY sebagai *native ligands* dari TNF- α (kotak kuning).¹²⁹

Native ligands pada protein target ACh yang merupakan senyawa aktif bernama *(E,2S)-N-methyl-5-(5-phenoxy-3-pyridyl)pent-4-en-2-amine* (7LB) dengan nomor *PubChem* CID: 381325023 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/substance/381325023>) yang terbit pada tahun 2019 dengan formula $C_{13}H_{14}N_2O_2$ dan berat molekul 268.35 g/mol.¹³⁰

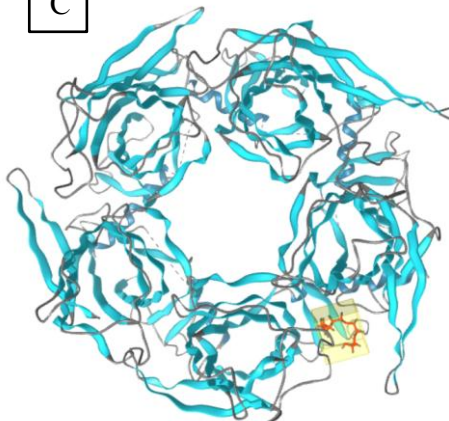
A



B

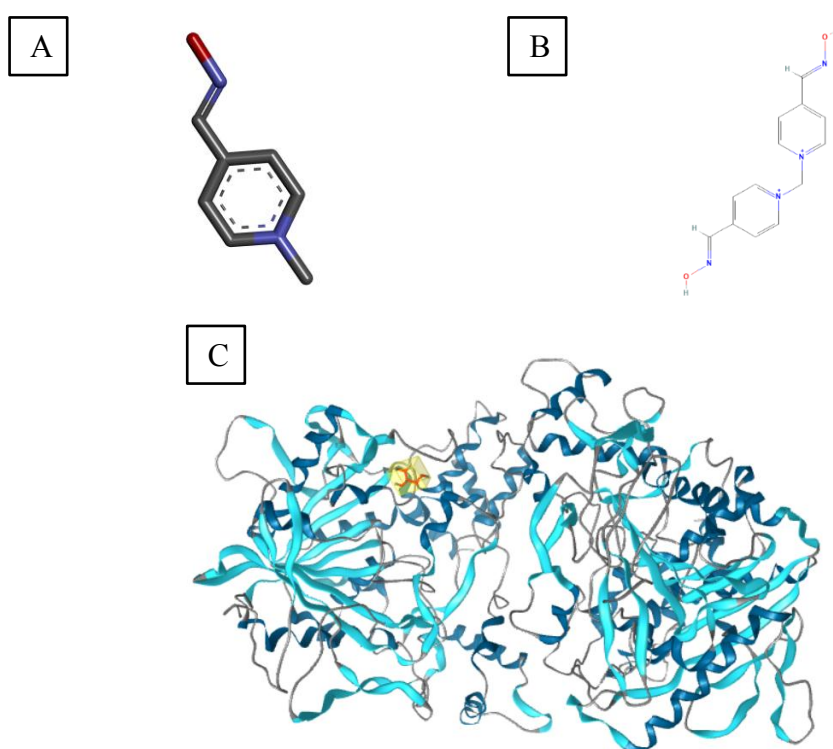


C



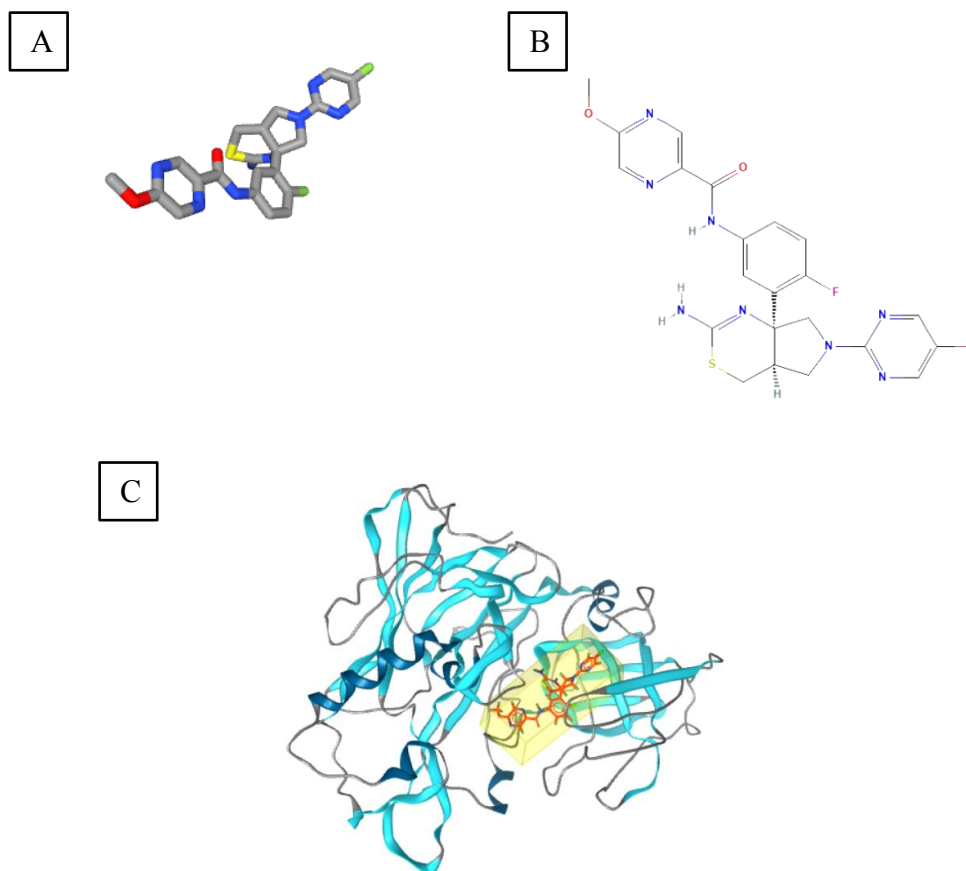
Gambar 4. 12 Struktur senyawa 7LB *native ligand* dari ACh; A. 3 dimensi; B. 2 dimensi; C. keberadaan senyawa 7LB sebagai *native ligands* dari ACh (kotak kuning).¹³⁰

Native ligands pada protein target AChE yang merupakan senyawa aktif bernama *1,1'-methylenebis{4-[(E)-(hydroxyimino)methyl]pyridin-1-ium}* (3VI) dengan nomor *PubChem* CID: 444687559 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/substance/444687559>) yang terbit pada tahun 2021 dengan formula $C_{17}H_{20}N_2O$ dan berat molekul 258.27 g/mol.¹³¹



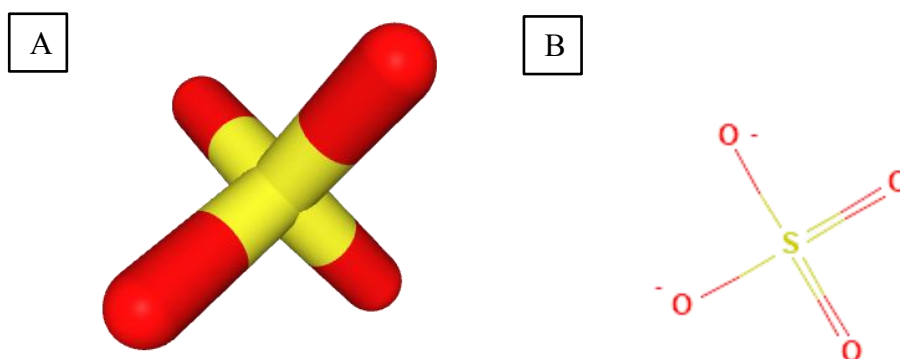
Gambar 4. 13 Struktur senyawa 3VI *native ligand* dari AChE; A. 3 dimensi; B. 2 dimensi; C. keberadaan senyawa 3VI sebagai *native ligands* dari AChE (kotak kuning).¹³¹

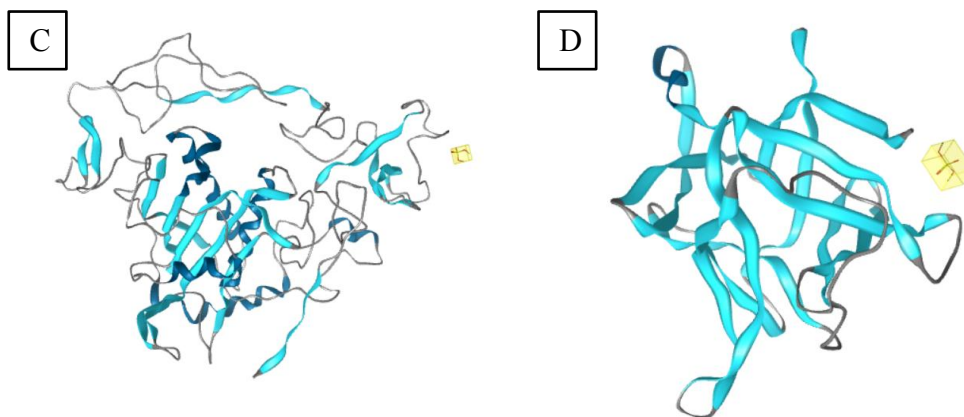
Native ligands pada protein target BACE1 yang merupakan senyawa aktif bernama *N-{3-[(4aR,7aS)-2-amino-6-(5-fluoropyrimidin-2-yl)-4a,5,6,7-tetrahydropyrrolo[3,4-d][1,3]thiazin-7a(4H)-yl]-4-fluorophenyl}-5-methoxy pyrazine-2-carboxamide* (ZR7) dengan nomor *PubChem* CID: 78210254 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/78210254>) yang terbit pada tahun 2014 dengan formula $C_{22}H_{20}F_2N_8O_2S$ dan berat molekul 498.5 g/mol.¹³⁰



Gambar 4. 14 Struktur senyawa 7LB *native ligand* dari ACh; A. 3 dimensi; B. 2 dimensi; C. keberadaan senyawa 7LB sebagai *native ligands* dari ACh (kotak kuning).

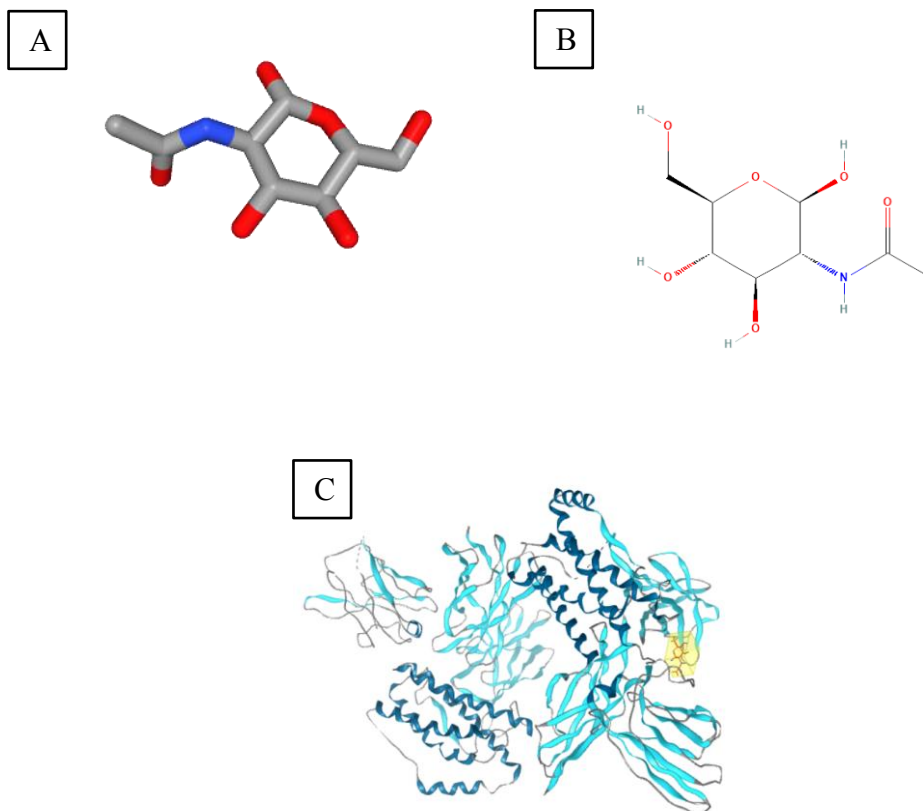
Native ligands pada protein target ADAM10 dan IL1 β yang merupakan senyawa aktif bernama ion sulfat (SO_4) dengan nomor *PubChem* CID: 1117 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/1117>) yang terbit pada tahun 2004 dengan formula O_4S^{2-} dan berat molekul 96.07 g/mol.¹³²





Gambar 4. 15 Struktur senyawa SO4 *native ligand* dari ADAM10 dan IL1 β ; A. 3 dimensi; B. 2 dimensi; C. keberadaan senyawa 7LB sebagai *native ligands* dari ADAM10 (kotak kuning); D. keberadaan senyawa SO4 sebagai *native ligands* dari IL1 β (kotak kuning).¹³²

Native ligands pada protein target IL6 yang merupakan senyawa aktif bernama *2-acetamido-2-deoxy-beta-D-glucopyranose* (NAG) dengan nomor *PubChem* CID: 24139 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/24139>) yang terbit pada tahun 2005 dengan formula $O_8H_{15}NO_6$ dan berat molekul 221.21 g/mol.¹³³



Gambar 4. 16 Struktur senyawa NAG *native ligand* dari IL6; A. 3 dimensi; B. 2 dimensi; C. keberadaan senyawa NAG sebagai *native ligands* dari IL6 (kotak kuning).¹³³

4.1.2.3 Hasil Analisis Interaksi Antara Protein dan Ligand

Dari hasil doking molekuler, didapatkan hasil energi pengikatan (EP), konstanta penghambatan (KP), dan *Root Mean Standard Deviation* (RMSD).

Pada proses doking molekuler dari protein *caspase-2*, TNF- α , ACh, AChE, BACE1, ADAM10, IL1 β , dan IL6 dilakukan doking ulang dengan menggunakan *native ligands* itu sendiri menggunakan validasi *grid box* 40x40x40, 50x50x50, dan 60x60x60.^{134,135} Protein BDNF tidak dilakukan doking ulang karena protein ini tidak memiliki *native ligand*.

Tabel 4. 4 Validasi *Grid box* protein Caspase-2, TNF- α , ACh, AChE, BACE1, ADAM10, IL1 β , dan IL6

Protein	Grid Box	EP (kcal/mol)	RMSD (Å)
Caspase-2	40x40x40	-1.21	1.54
	50x50x50	-1.21	1.52
	60x60x60	-1.43	4.55
TNF-α	40x40x40	+ 390.76	37.154
	50x50x50	-2.60	38.914
	60x60x60	-7.59	41.635
ACh	40x40x40	-4.98	13.354
	50x50x50	-6.89	13.589
	60x60x60	-6.60	14.075
AChE	40x40x40	-0.89	10.344
	50x50x50	-3.90	9.018
	60x60x60	-4.69	8.503
BACE1	40x40x40	+422.40	105.735
	50x50x50	+62.49	109.047
	60x60x60	-6.99	106.655
ADAM10	40x40x40	-2.24	66.497
	50x50x50	-2.58	65.887
	60x60x60	-3.26	66.413
	40x40x40	-1.38	23.592

IL1 β	50x50x50	-1.70	28.264
	60x60x60	-1.83	13.882
IL6	40x40x40	+20.26	49.672
	50x50x50	-2.92	44.423
	60x60x60	-4.30	44.327

Keterangan: Grid Box yang dipilih

Berdasarkan hasil doking ulang protein *caspase-2*, TNF- α , ACh, AChE, BACE1, ADAM10, IL1 β , dan IL6 terhadap *native ligand* masing masing protein, digunakan *grid box* 50x50x50, 60x60x60, 50x50x50, 60x60x60, 60x60x60, 60x60x60, 60x60x60, dan 60x60x60 karena memiliki energi pengikatan terendah dan RMSD < 2 Å. namun, RMSD < 2 Å dapat diabaikan pada hasil validasi dari protein TNF- α , ACh, AChE, BACE1, ADAM10, IL1 β , dan IL6 karena hasil ketiga validasi memiliki nilai RMSD > 2 Å. Prosedur ini dilakukan untuk memastikan bahwa senyawa aktif berada pada situs aktif dari protein target.^{135,136}

Setelahnya, dilakukan doking molekuler dari senyawa aktif terhadap protein BDNF, *Caspase-2*, TNF- α , ACh, AChE, BACE1, ADAM10, IL1 β , dan IL6 menggunakan validasi *grid box* yang telah dilakukan. Didapatkan hasil doking molekuler sebagai berikut:

Tabel 4. 5 Hasil energi pengikatan (EP (kcal/mol)), konstanta penghambatan (KP (uM)), dan RMSD (Å) antara protein BACE1 dan ADAM10 terhadap ligan sebagai jalur *beta-amyloid*.

Komponen Bioaktif	BACE1			ADAM10		
	EP	KP	RMSD	EP	KP	RMSD
Asam Klorogenat	-5.88	48.58	103.288	-5.85	51.81	60.706
Kafein	-4.81	300.12	108.325	-5.26	139.47	54.852
Acetic Acid	-3.02	6150	100.800	-3.01	6200	66.563
2,3-Butanediol	-3.22	4380	105.517	-3.53	2590	54.412
Maleic Anhydride	-3.54	2550	109.615	-4.13	932.23	52.928
1,2-Cyclopentanedione	-3.74	1810	106.065	-4.36	639.08	54.073
Donepezil	-8.19	0.99007	107.419	-5.74	61.97	64.555
Skopolamin	-8.09	1.18	106.338	-9.28	0.15858	48.746

Berdasarkan data doking molekuler yang dilakukan pada protein jalur *beta-amyloid*, didapatkan energi pengikatan dan konstanta penghambatan tertinggi adalah *acetic acid* terhadap ADAM10 dengan nilai -3.01 kcal/mol dan 6200 uM, sedangkan energi pengikatan dan konstanta penghambatan terendah adalah

skopolamin terhadap ADAM10 dengan nilai -9.28 kcal/mol dan 0.15858 uM. Semua doking molekuler yang dilakukan terhadap senyawa aktif ekstrak *cherry coffee*, donepezil, dan skopolamin terhadap BACE1 dan ADAM10 memiliki nilai < 0 kcal/mol dengan sebanyak 5 ikatan yang menghasilkan konstanta penghambatan < 100 uM yaitu asam klorogenat-BACE1, donepezil-BACE1, skopolamin-BACE1, asam klorogenat-ADAM10, donepezil-ADAM10, dan skopolamin-ADAM10 bernilai 48.58 uM, 0.99007 uM, 1.18 uM, 51.81 uM, 61.97 uM, dan 0.15858.

Tabel 4. 6 Hasil energi pengikatan (EP (kcal/mol)), konstanta penghambatan (KP (uM)), dan RMSD (Å) antara protein BDNF terhadap ligan sebagai jalur neurotropin.

Komponen Bioaktif	BDNF		
	EP	KP	RMSD
Asam Klorogenat	-5.90	47.69	-
Kafein	-4.05	1080	-
Acetic Acid	-3.34	1580	-
2,3-Butanediol	-3.46	1890	-
Maleic Anhydride	-4.04	1090	-
1,2-Cyclopentanedione	-4.27	745.04	-
Donepezil	-6.89	8.89	-
Skopolamin	-6.99	7.52	-

Berdasarkan data doking molekuler yang dilakukan pada protein jalur neurotropin, didapatkan energi pengikatan dan konstanta penghambatan tertinggi adalah *acetic acid* terhadap BDNF dengan nilai -3.34 kcal/mol dan 1580 uM, sedangkan energi pengikatan dan konstanta penghambatan terendah adalah skopolamin terhadap BDNF dengan nilai -6.99 kcal/mol dan 7.52 uM. Semua doking molekuler yang dilakukan terhadap senyawa aktif ekstrak *cherry coffee*, donepezil, dan skopolamin terhadap BDNF memiliki nilai < 0 kcal/mol dengan sebanyak 3 ikatan yang menghasilkan konstanta penghambatan < 100 uM yaitu asam klorogenat-BDNF, donepezil-BDNF, dan skopolamin-BDNF bernilai 47.69 uM, 8.89 uM, dan 7.52 uM.

Tabel 4. 7. Hasil energi pengikatan (EP (kcal/mol)), konstanta penghambatan (KP (uM)), dan RMSD (Å) antara protein ACh dan AChE terhadap ligan sebagai jalur kolinergik.

Komponen Bioaktif	ACh			AChE		
	EP	KP	RMSD	EP	KP	RMSD
Asam Klorogenat	-4.80	304.33	36.151	+14.26	-	108.523
Kafein	-4.07	1030	35.785	+0.18	-	114.378
Acetic Acid	-2.10	1908	29.334	-2.72	1008	101.835
2,3-Butanediol	-3.68	2020	27.735	-3.71	1900	108.019

<i>Maleic Anhydride</i>	-4.11	970.60	36.388	-3.97	1240	107.553
<i>1,2-Cyclopentanedione</i>	-4.29	722.81	28.446	-4.24	785.65	107.825
Donepezil	-7.18	5.43	35.524	-9.80	0.0658	114.249
Skopolamin	-6.92	8.51	31.694	+0.78	-	99.197

Berdasarkan data doking molekuler yang dilakukan pada protein jalur kolinergik, didapatkan energi pengikatan dan konstanta penghambatan tertinggi adalah asam klorogenat terhadap AChE dengan nilai +14.26 kcal/mol, sedangkan energi pengikatan dan konstanta penghambatan terendah adalah donepezil terhadap AChE dengan nilai -9.80 kcal/mol dan 0.0658 uM. Semua doking molekuler yang dilakukan terhadap senyawa aktif ekstrak *cherry coffee*, donepezil, dan skopolamin terhadap BDNF memiliki nilai < 0 kcal/mol kecuali asam klorogenat-AChE, Kafein-AChE, dan skopolamin-AChE bernilai +14.26 kcal/mol, +0.18 kcal/mol, dan +0.78 kcal/mol dengan sebanyak 3 ikatan yang menghasilkan konstanta penghambatan < 100 uM yaitu donepezil-ACh, skopolamin-ACh, dan donepezil-AChE bernilai 5.43 uM, 8.51 uM, dan 0.0658 uM.

Tabel 4. 8 Hasil energi pengikatan (EP (kcal/mol)), konstanta penghambatan (KP (uM)), dan RMSD (Å) antara protein TNF- α , IL1 β , IL6, dan caspase-2 terhadap ligan sebagai jalur neuroinflamasi.

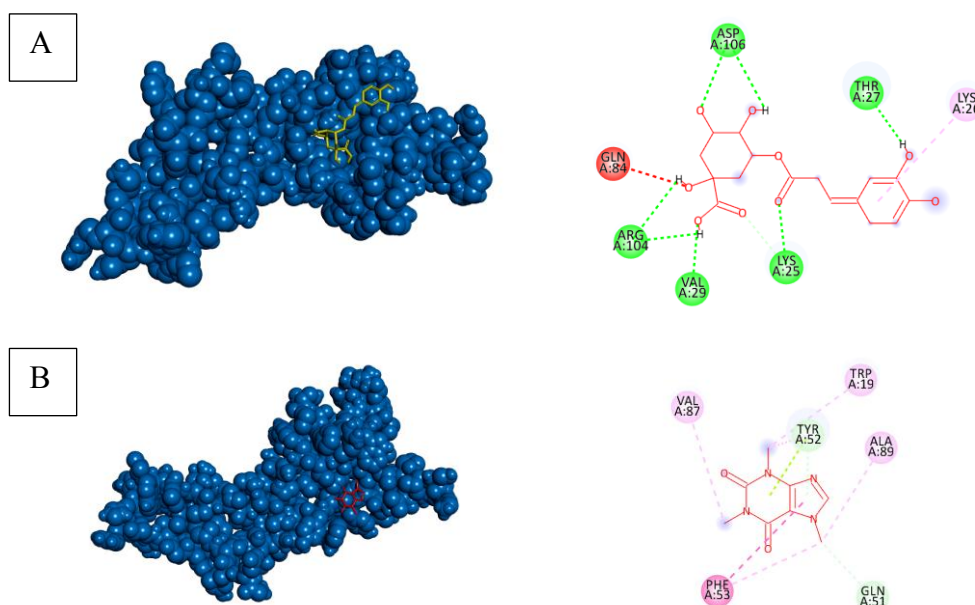
Komponen Bioaktif	TNF- α			IL1 β			IL6			Caspase-2		
	EP	KP	RMS D	EP	KP	RMS D	EP	KP	RMS D	EP	KP	RMS D
Asam Klorogenat	-	392.2	38.0	+2.	-	25.01	-	6.52	45.0	-	738.	36.0
	4.65	4	61	30		1	7.07		65	4.27	97	48
Kafein	-	102.2	42.7	-	1110	25.0	-	751	44.9	-	1970	38.8
	5.44	0	28	4.03		48	4.26		15	3.69		05
<i>Acetic Acid</i>	-	8090	47.7	-	3874	29.5	-	971.	47.1	-	1708	44.9
	2.85		10	1.93		89	4.11	52	65	2.41		88
2,3-Butanediol	-	1920	44.3	-	2200	24.8	-	7470	49.6	-	1393	38.8
	3.70		25	3.63		42	2.90		28	2.53		47
<i>Maleic Anhydride</i>	-	687.4	44.11	-	1170	24.5	-	1790	50.4	-	2240	35.1
	4.31	9	8	4.00		17	3.75		91	3.62		71
<i>1,2-Cyclopentane dione</i>	-	267.2	44.5	-	390.3	24.0	-	836.	50.3	-	2430	34.8
	4.87	9	18	4.65	7	13	4.20	75	83	3.57		13
Donepezil	-	4.16	40.7	+2.	-	21.1	-	19.0	41.0	-	150	26.1
	7.34		90	36		70	6.44	6	47	5.22		02
Skopolamin	-	0.316	47.3	-	0.679	22.3	-	17.2	52.3	-	86.2	41.4
	8.8	38	66	8.41	42	53	6.5	9	25	5.5	9	37

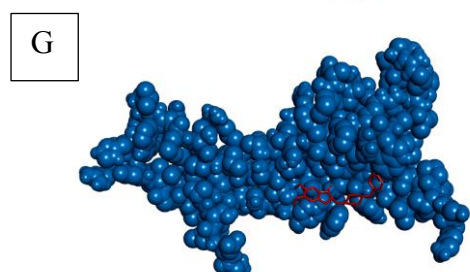
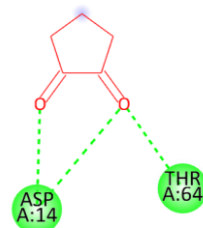
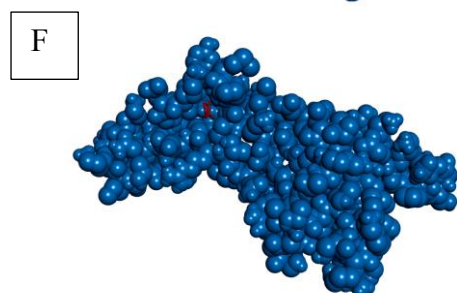
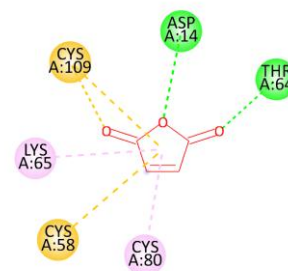
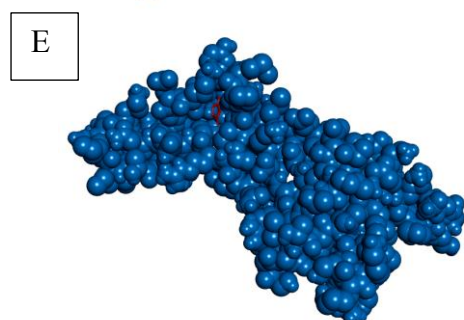
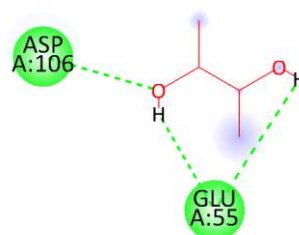
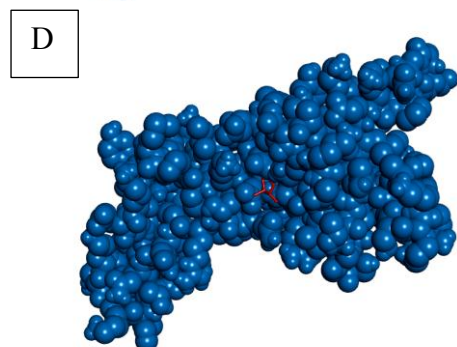
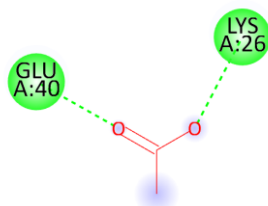
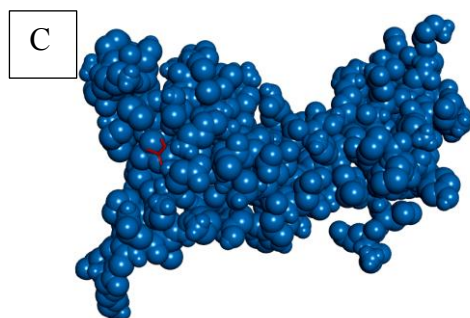
Komponen Bioaktif	TNF- α			IL1 β			IL6			Caspase-2		
	EP	KP	RMS D	EP	KP	RMS D	EP	KP	RMS D	EP	KP	RMS D
	7						0			4		

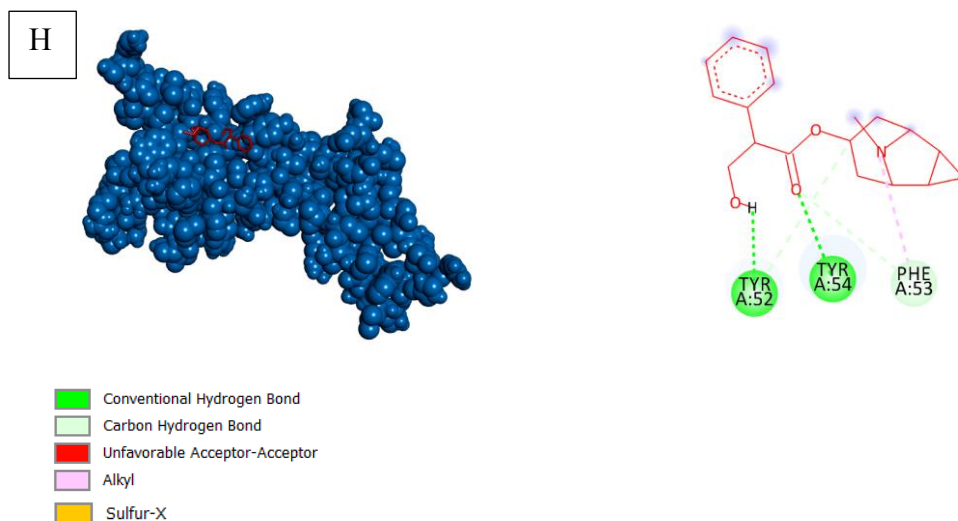
Berdasarkan data doking molekuler yang dilakukan pada protein jalur neuroinflamasi, didapatkan energi pengikatan dan konstanta penghambatan tertinggi adalah donepezil terhadap IL1 β dengan nilai +2.36 kcal/mol, sedangkan energi pengikatan dan konstanta penghambatan terendah adalah skopolamin terhadap TNF- α dengan nilai -8.87 kcal/mol dan 0.31638 uM. Semua doking molekuler yang dilakukan terhadap senyawa aktif ekstrak *cherry coffee*, donepezil, dan skopolamin terhadap BDNF memiliki nilai < 0 kcal/mol kecuali asam klorogenat- IL1 β , dan donepezil- IL1 β bernilai +2.30 kcal/mol, dan +2.36 kcal/mol, dengan sebanyak 7 ikatan yang menghasilkan konstanta penghambatan < 100 uM yaitu donepezil-TNF- α , skopolamin-TNF- α , skopolamin-IL1 β , asam klorogenat-IL6, donepezil-IL6, skopolamin-IL6, dan skopolamin-caspase-2 bernilai 4.16 uM, 0.31638 uM, 0.67942 uM, 6.52 uM, 19.06 uM, 17.29 uM, dan 86.29 uM.

4.1.2.4 Hasil Visualisasi Ligand-Protein Complex

4.1.2.4.1 Visualisasi BDNF Terhadap Senyawa Aktif Ekstrak *Cherry Coffee*, Donepezil, dan Skopolamin





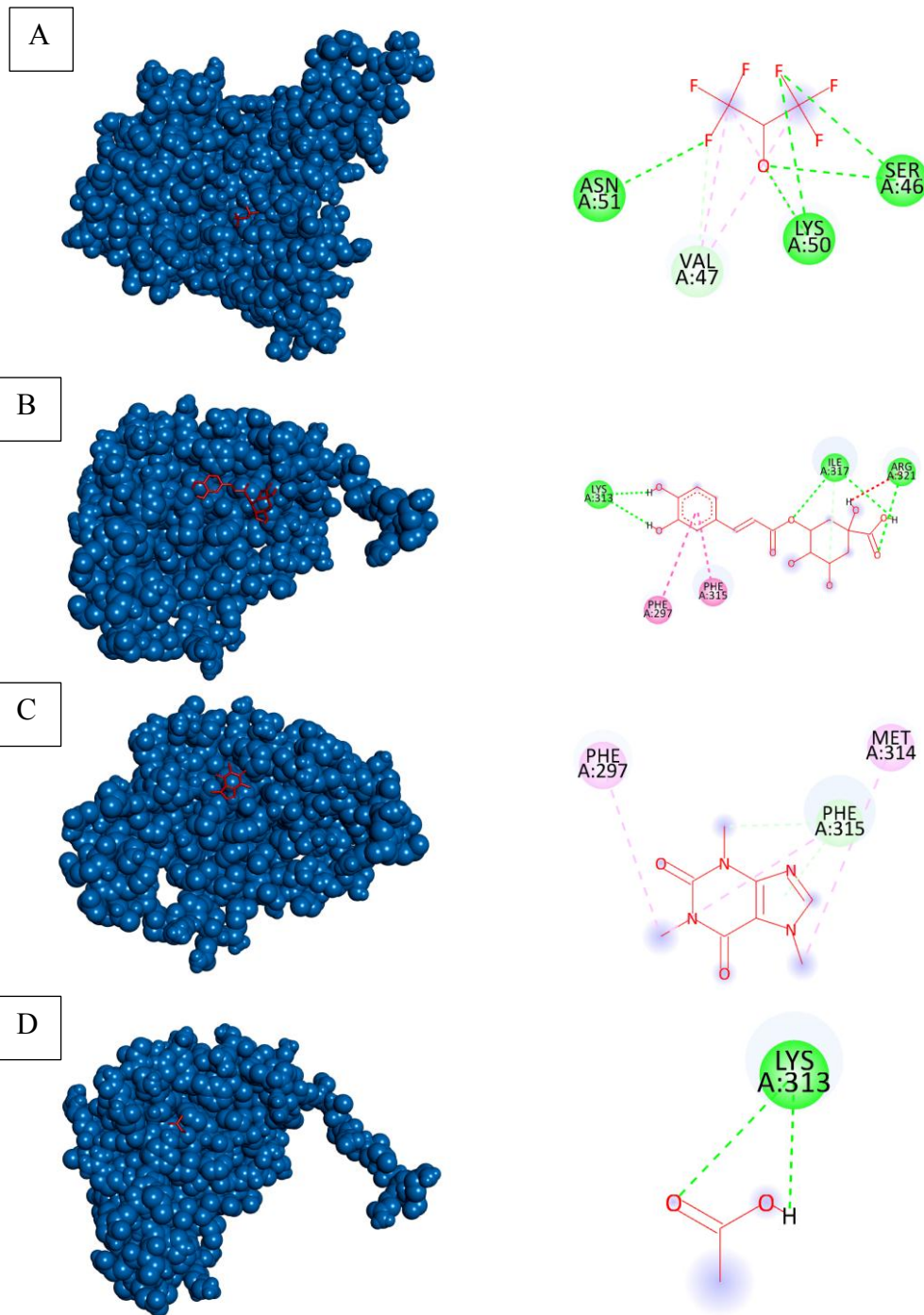


Gambar 4. 17 Visualisasi 3D dan 2D dari BDNF terhadap senyawa aktif *cherry coffee*, Donepezil, dan Skopolamin.

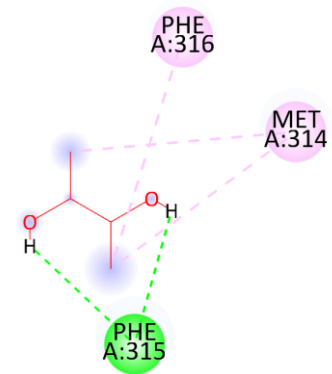
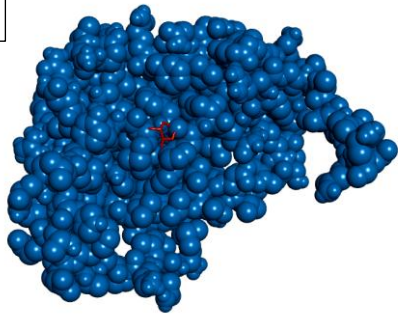
A. BDNF-Asam Klorogenat; B. BDNF-Kafein; C. BDNF-*Acetic Acid*; D. BDNF-2,3-*butanediol*; E. BDNF-*maleic anhydride*; F. BDNF-1,2-*cyclopentanedione*; G. BDNF-Donepezil; dan H. BDNF-Skopolamin.

Dari hasil visualisasi BDNF terhadap senyawa aktif ekstrak *cherry coffee*, donepezil, dan skopolamin didapatkan bahwa ikatan antara BDNF-Asam Klorogenat memiliki 5 ikatan hidrogen pada sekuens asam amino *Aspartic Acid* (ASP) 106, *Arginine* (ARG) 104, *Valine* (VAL) 29, *Lysine* (LYS) 25 dan *Threonine* (THR) 27; BDNF-Kafein memiliki 2 ikatan hidrogen pada sekuens asam amino *Tyrosine* (TYR) 52, dan GLN51; BDNF-*Acetic Acid* memiliki 2 ikatan hidrogen pada sekuens asam amino *Glutamic Acid* (GLU) 40, dan LYS26; BDNF-2,3-*butanediol* memiliki 2 ikatan hidrogen pada sekuens asam amino ASP106 dan GLU55; BDNF- *maleic anhydride* memiliki 2 ikatan hidrogen pada sekuens asam amino ASP14 dan THR64; BDNF-1,2-*cyclopentanedione* memiliki 2 ikatan hidrogen pada sekuens asam amino ASP14 dan THR64; BDNF-Donepezil memiliki 3 ikatan hidrogen pada sekuens asam amino LYS50, TYR54, THR107; dan BDNF-Skopolamin memiliki 3 ikatan hidrogen pada sekuens asam amino TYR52, TYR54, dan *Phenylalanine* (PHE) 53.

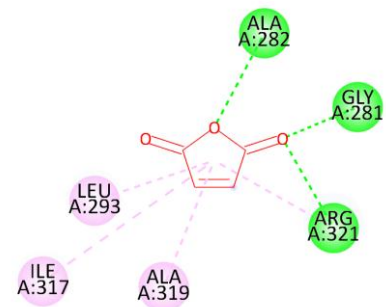
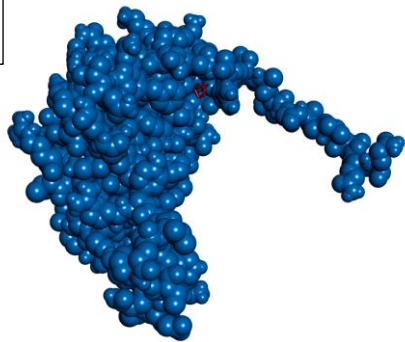
4.1.2.4.2 Visualiasi *Caspase-2* Terhadap Senyawa Aktif Ekstrak *Cherry Coffee*, Donepezil, Skopolamin, dan *Native Ligand*



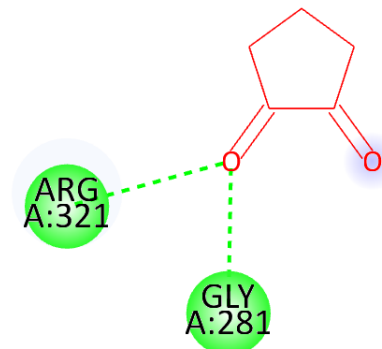
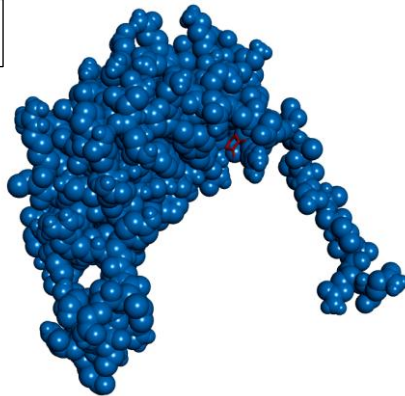
E



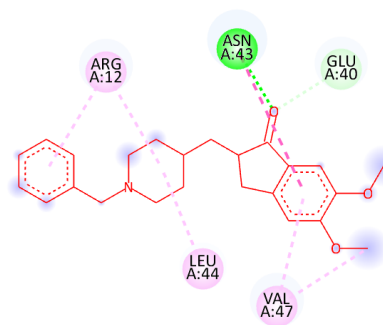
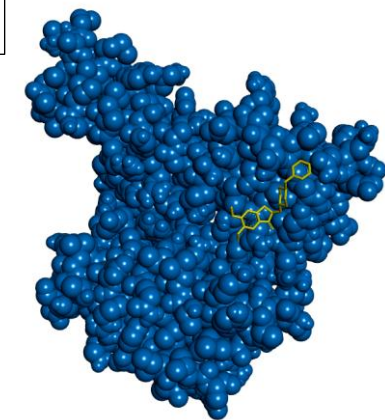
F

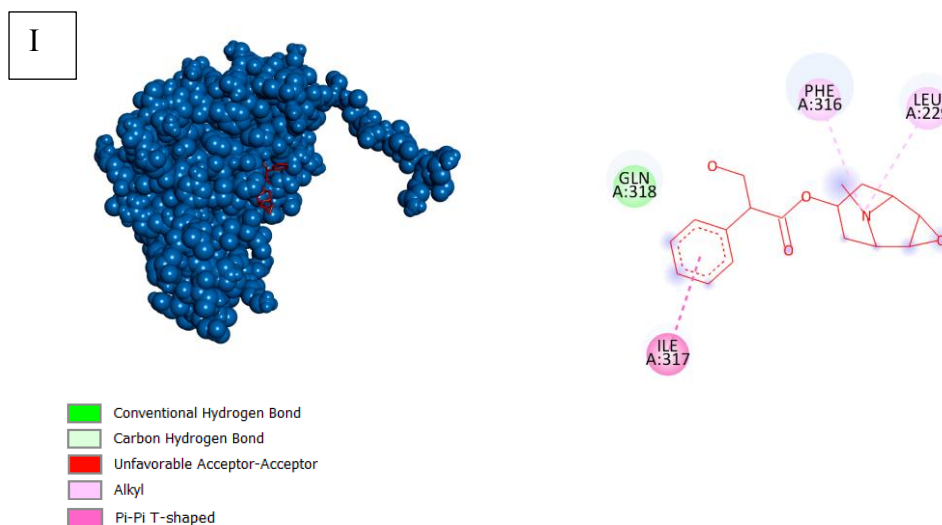


G



H



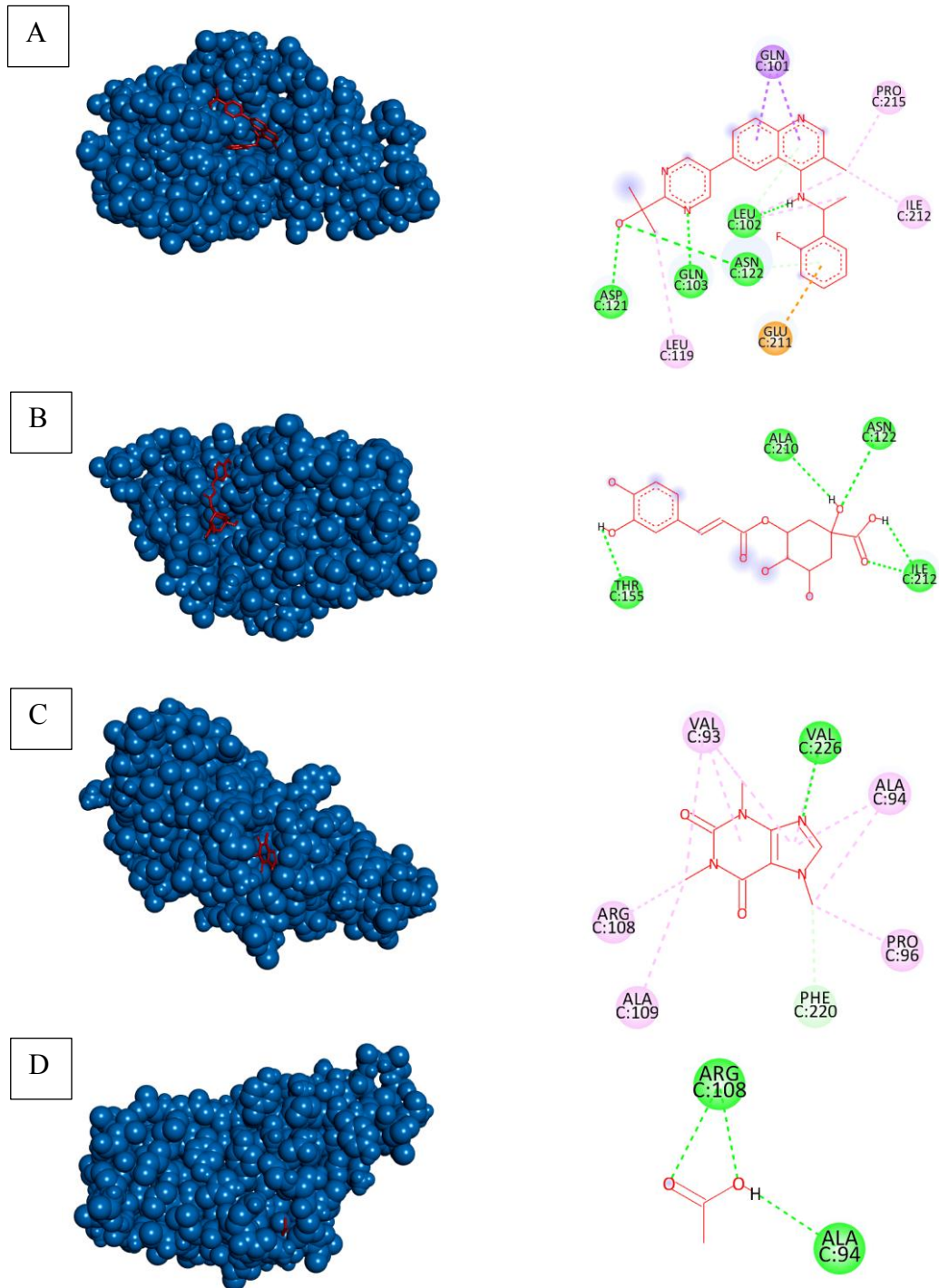


Gambar 4. 18 Visualisasi 3D dan 2D dari *Caspase-2* terhadap senyawa aktif *cherry coffee*, *Native Ligand*, Donepezil, dan Skopolamin.

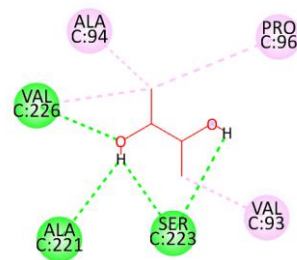
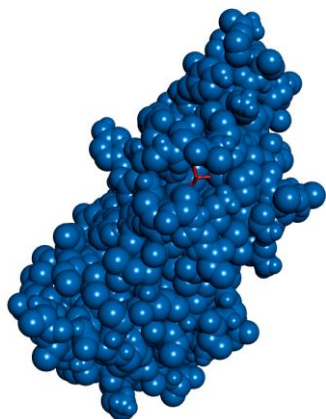
A. *Caspase-2*-CFH; B. *Caspase-2*-Asam Klorogenat; C. *Caspase-2*-Kafein; D. *Caspase-2*-Acetic Acid; E. *Caspase-2*-2,3-butanediol; F. *Caspase-2*- maleic anhydride; G. *Caspase-2*-1,2-cyclopentanedione; dan H. *Caspase-2*-Donepezil; dan I. *Caspase-2*-Skopolamin.

Dari hasil visualisasi *caspase-2* terhadap senyawa aktif ekstrak *cherry coffee*, *native ligands*, donepezil, dan skopolamin didapatkan bahwa ikatan antara *caspase*-CFH memiliki 4 ikatan hidrogen pada sekuens asam amino *Asparagine* (ASN) 51, VAL47, LYS50, dan *Serine* (SER) 46; *caspase-2*-Asam Klorogenat memiliki 3 ikatan hidrogen pada sekuens asam amino LYS313, *Isoleucine* (ILE) 317, dan ARG321; *caspase-2*-Kafein memiliki 1 ikatan hidrogen pada sekuens asam amino PHE315; *caspase-2*-Acetic Acid memiliki 1 ikatan hidrogen pada sekuens asam amino LYS313; *caspase-2*-2,3-butanediol memiliki 1 ikatan hidrogen pada sekuens asam amino PHE315; *caspase-2*- maleic anhydride memiliki 3 ikatan hidrogen pada sekuens asam amino *Alanine* (ALA) 282, *Glycine* (GLY) 281, dan ARG 321; *caspase-2*-1,2-cyclopentanedione memiliki 2 ikatan hidrogen pada sekuens asam amino ARG321, dan GLY281; *caspase-2*-Donepezil memiliki 2 ikatan hidrogen pada sekuens asam amino ASN43 dan GLU40; dan *caspase-2*-Skopolamin tidak memiliki ikatan hidrogen.

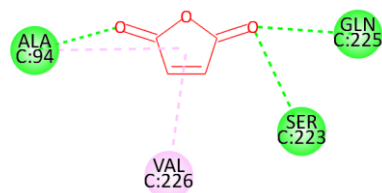
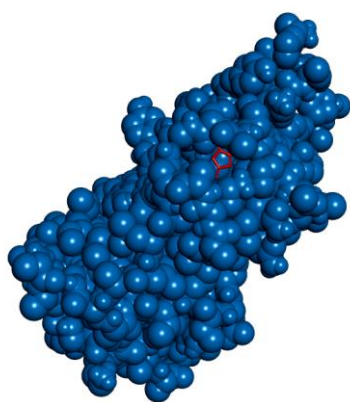
4.1.2.4.3 Visualiasi TNF- α Terhadap Senyawa Aktif Ekstrak *Cherry Coffee*, Donepezil, Skopolamin, dan Native *Ligand*



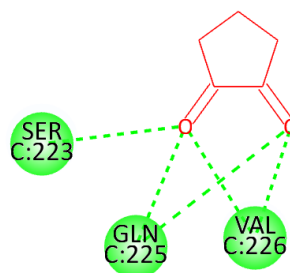
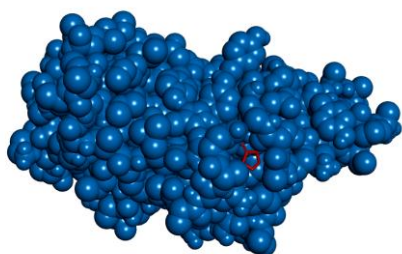
E



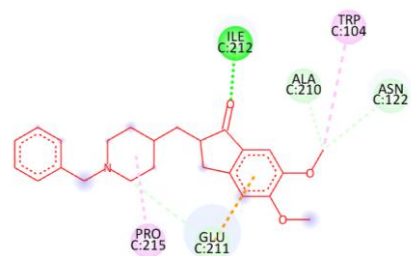
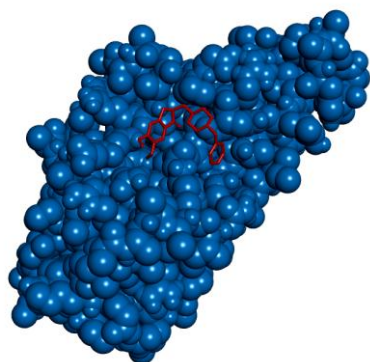
F

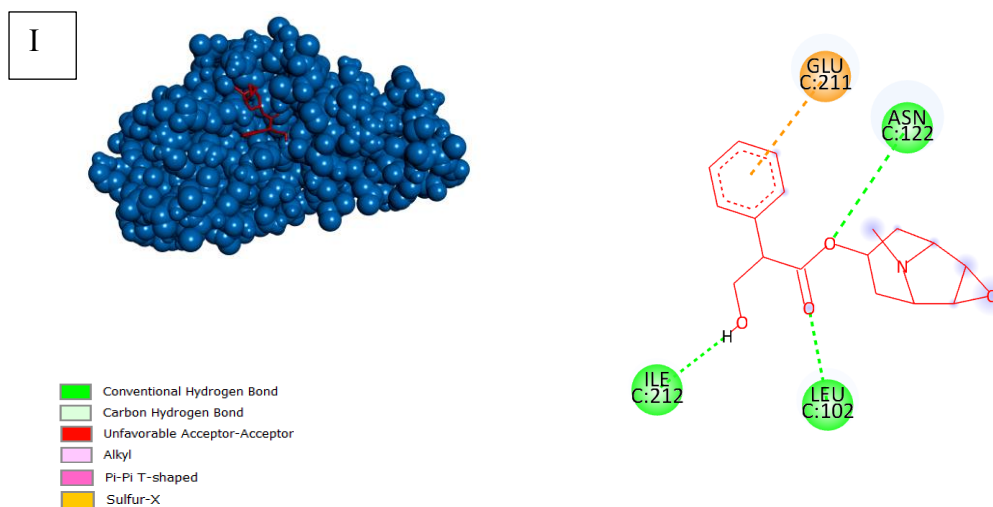


G



H

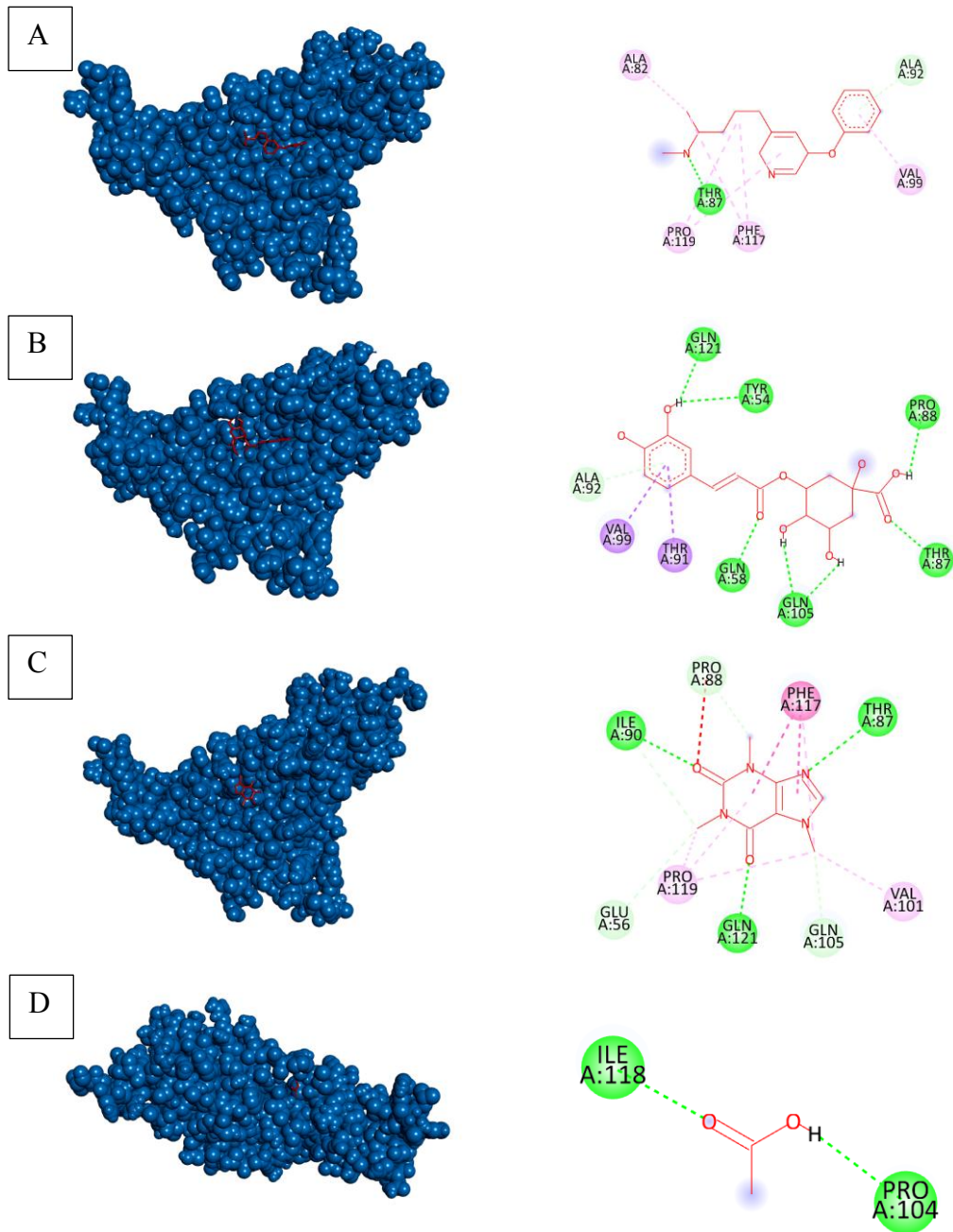




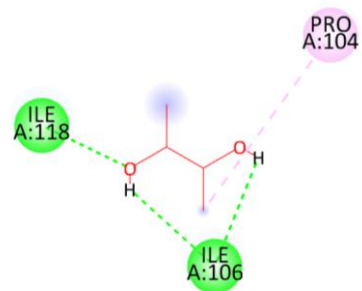
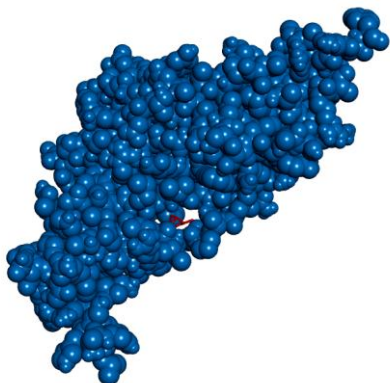
Gambar 4. 19 Visualisasi 3D dan 2D dari TNF- α terhadap senyawa aktif *cherry coffee*, *Native Ligand*, Donepezil, dan Skopolamin.
 A. TNF- α -VGY; B. TNF- α -Asam Klorogenat; C. TNF- α -Kafein; D. TNF- α -Acetic Acid; E. TNF- α -2,3-butanediol; F. TNF- α -maleic anhydride; G. TNF- α -1,2-cyclopentanedione; H. TNF- α -Donepezil; dan I. TNF- α -Skopolamin.

Dari hasil visualisasi TNF- α terhadap senyawa aktif ekstrak *cherry coffee*, *native ligands*, donepezil, dan skopolamin didapatkan bahwa ikatan antara *caspase*-VGY memiliki 4 ikatan hidrogen pada sekuens asam amino ASP121, *Glutamine* (GLN) 103, ASN122, dan LEU102; TNF- α -Asam Klorogenat memiliki 4 ikatan hidrogen pada sekuens asam amino THR155, ILE212, ASN122, dan ALA210; TNF- α -Kafein memiliki 2 ikatan hidrogen pada sekuens asam amino PHE220 dan VAL226; TNF- α -Acetic Acid memiliki 2 ikatan hidrogen pada sekuens asam amino ARG108 dan ALA94; TNF- α -2,3-butanediol memiliki 3 ikatan hidrogen pada sekuens asam amino VAL226, ALA221, dan SER223; TNF- α -maleic anhydride memiliki 3 ikatan hidrogen pada sekuens asam amino ALA94, GLN225, dan SER223; TNF- α -1,2-cyclopentanedione memiliki 3 ikatan hidrogen pada sekuens asam amino SER223, GLN225, dan VAL226; TNF- α -Donepezil memiliki 4 ikatan hidrogen pada sekuens asam amino ILE212, ALA210, ASN122, dan GLU211; dan TNF- α -Skopolamin memiliki 3 ikatan hidrogen pada sekuens asam amino ILE212, LEU102, dan ASN122.

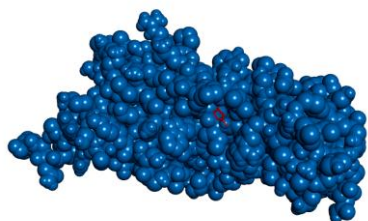
4.1.2.4.4 Visualiasi ACh Terhadap Senyawa Aktif Ekstrak *Cherry Coffee*, Donepezil, Skopolamin, dan *Native Ligand*



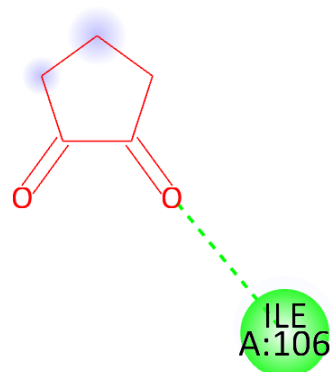
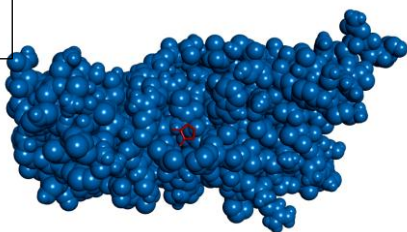
E



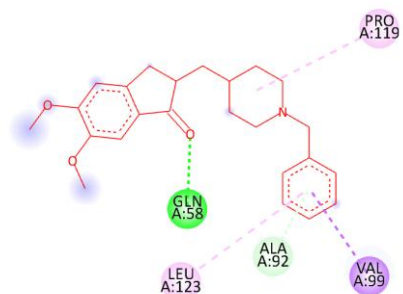
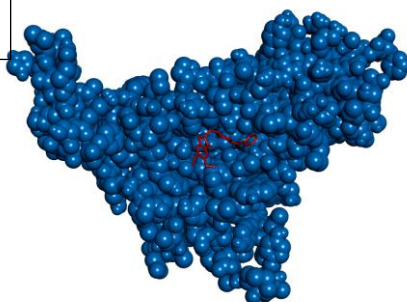
F

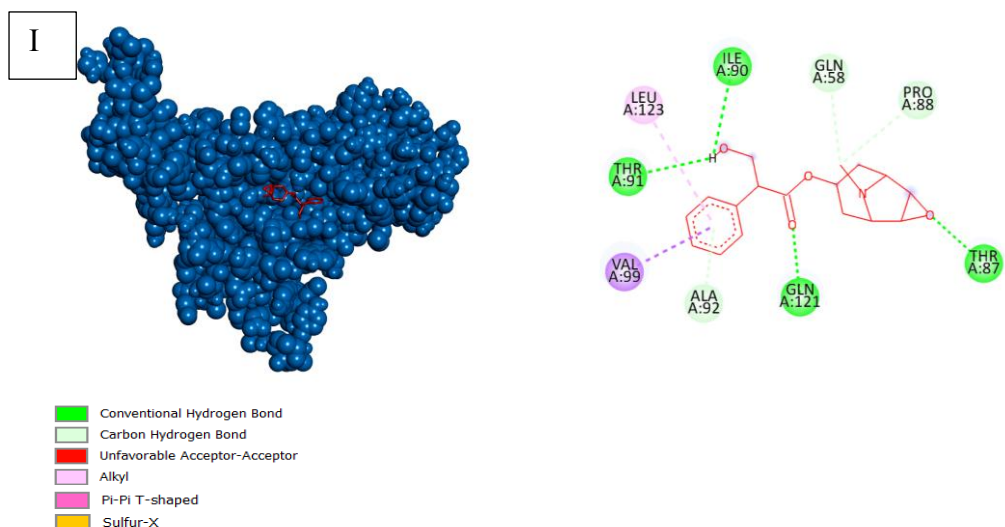


G



H

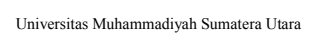




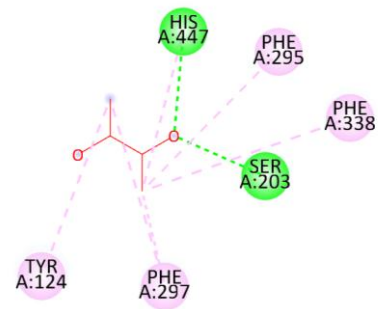
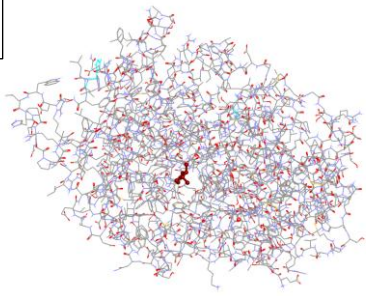
Gambar 4. 20 Visualisasi 3D dan 2D dari ACh terhadap senyawa aktif *cherry coffee*, *Native Ligand*, Donepezil, dan Skopolamin.

A. ACh-7LB; B. ACh-Asam Klorogenat; C. ACh-Kafein; D. ACh-*Acetic Acid*; E. ACh-2,3-*butanediol*; F. ACh-*maleic anhydride*; G. ACh-1,2-*cyclopentanedione*; H. ACh-Donepezil; dan I. ACh-Skopolamin.

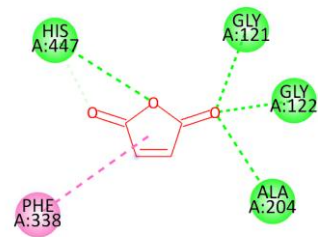
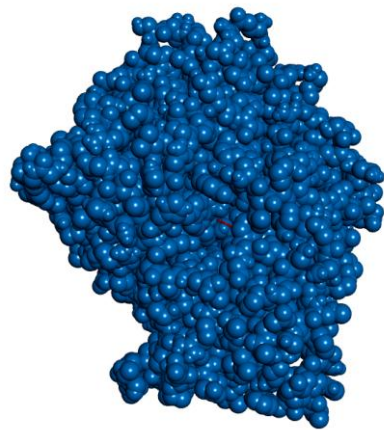
Dari hasil visualisasi ACh terhadap senyawa aktif ekstrak *cherry coffee*, *native ligands*, donepezil, dan skopolamin didapatkan bahwa ikatan antara ACh-7LB memiliki 2 ikatan hidrogen pada sekuens asam amino THR87, dan ALA92; ACh-Asam Klorogenat memiliki 7 ikatan hidrogen pada sekuens asam amino GLN121, TYR54, *Proline* (PRO) 88, THR87, GLN105, GLN58, dan ALA92; ACh-Kafein memiliki 6 ikatan hidrogen pada sekuens asam amino ILE90, PRO88, THR87, GLN105, GLN121, dan GLU56; ACh-*Acetic Acid* memiliki 2 ikatan hidrogen pada sekuens asam amino ILE118 dan PRO104; ACh-2,3-*butanediol* memiliki 2 ikatan hidrogen pada sekuens asam amino ILE118 dan ILE106; ACh- *maleic anhydride* memiliki 1 ikatan hidrogen pada sekuens asam amino PRO119; ACh-1,2-*cyclopentanedione* memiliki 1 ikatan hidrogen pada sekuens asam amino ILE106; ACh-Donepezil memiliki 2 ikatan hidrogen pada sekuens asam amino GLN58 dan ALA92; dan ACh-Skopolamin memiliki 7 ikatan hidrogen pada sekuens asam amino ILE90, GLN58, PRO88, THR87, GLN121, ALA92, dan THR91.



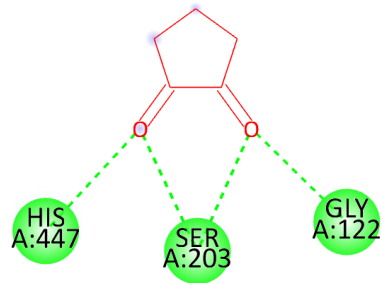
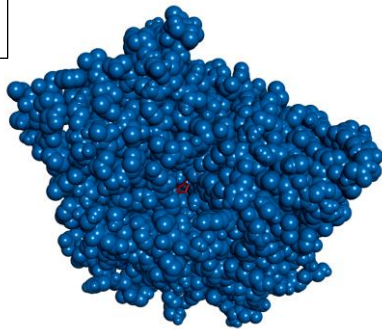
E



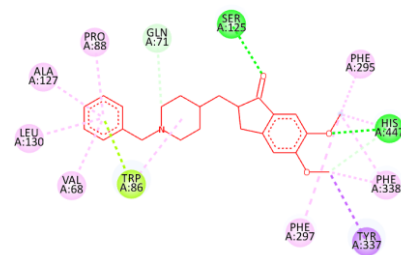
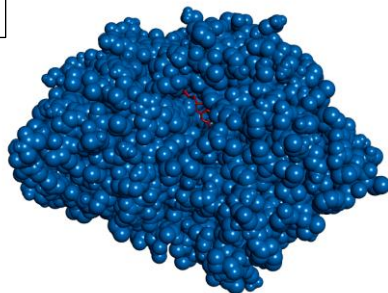
F

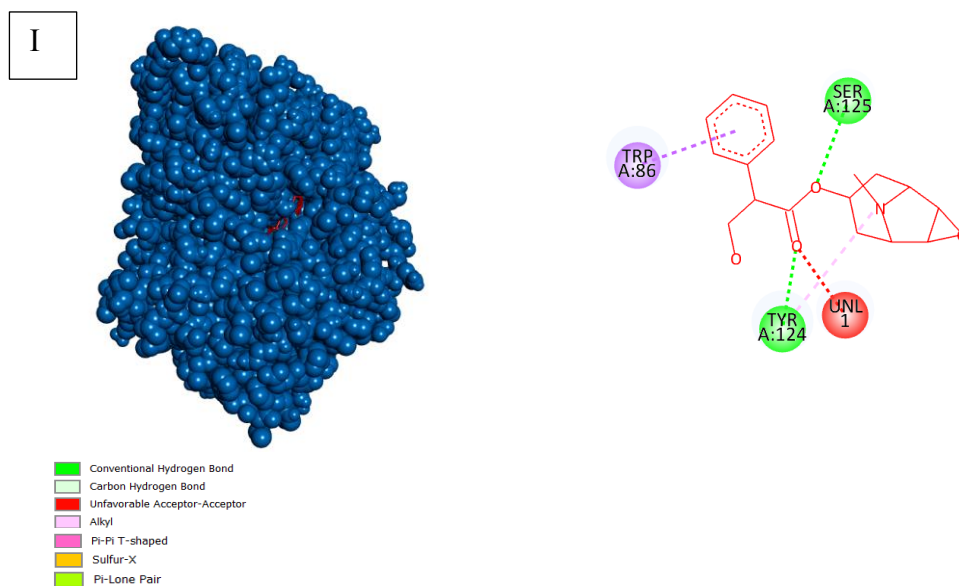


G



H



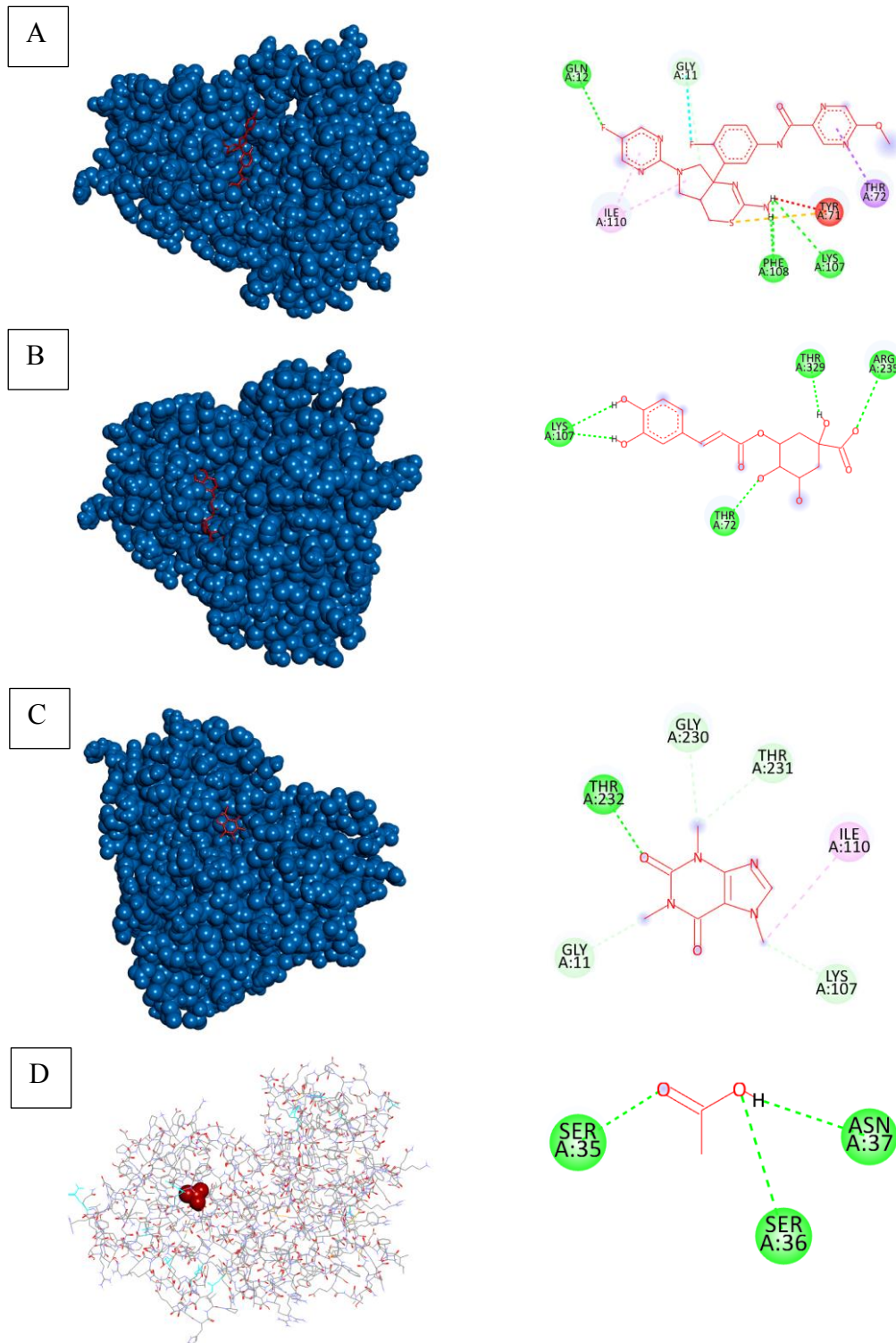


Gambar 4. 21 Visualisasi 3D dan 2D dari AChE terhadap senyawa aktif *cherry coffee*, *Native Ligand*, Donepezil, dan Skopolamin.

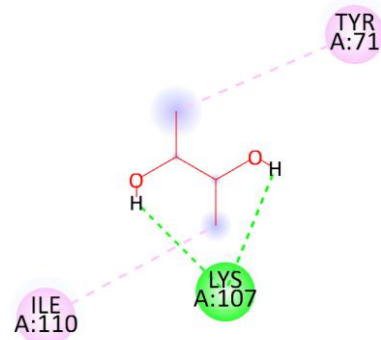
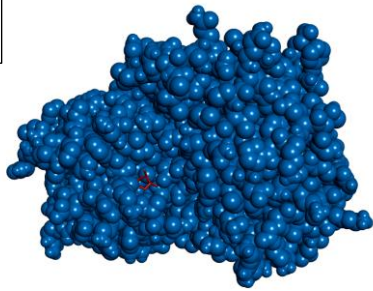
A. AChE-3VI; B. AChE-Asam Klorogenat; C. AChE-Kafein; D. AChE-*Acetic Acid*; E. AChE-2,3-butanediol; F. AChE-*maleic anhydride*; G. AChE-1,2-cyclopentanedione; H. AChE-Donepezil; dan I. AChE-Skopolamin.

Dari hasil visualisasi AChE terhadap senyawa aktif ekstrak *cherry coffee*, *native ligands*, donepezil, dan skopolamin didapatkan bahwa ikatan antara AChE-3VI memiliki 1 ikatan hidrogen pada sekuens asam amino TYR124; AChE-Asam Klorogenat memiliki 5 ikatan hidrogen pada sekuens asam amino *Histidine* (HIS) 447, GLY122, GLY121, ALA127, dan *Tryptophan* (TRP) 86; AChE -Kafein memiliki 6 ikatan hidrogen pada sekuens asam amino ALA127, GLN71, PRO88, TYR72, ASN87, dan GLY120; AChE-*Acetic Acid* memiliki 2 ikatan hidrogen pada sekuens asam amino PHE295 dan ARG296; AChE-2,3-butanediol memiliki 2 ikatan hidrogen pada sekuens asam amino HIS447 dan SER203; AChE- *maleic anhydride* memiliki 4 ikatan hidrogen pada sekuens asam amino HIS447, GLY121, GLY122, dan ALA204; AChE-1,2-cyclopentanedione memiliki 3 ikatan hidrogen pada sekuens asam amino HIS447, SER203, dan GLY122; AChE-Donepezil memiliki 3 ikatan hidrogen pada sekuens asam amino GLN71, SER125, dan HIS447; dan AChE-Skopolamin memiliki 2 ikatan hidrogen pada sekuens asam amino TYR124 dan SER125

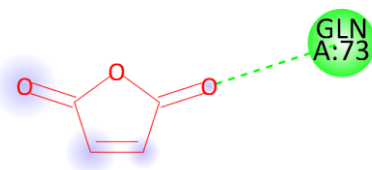
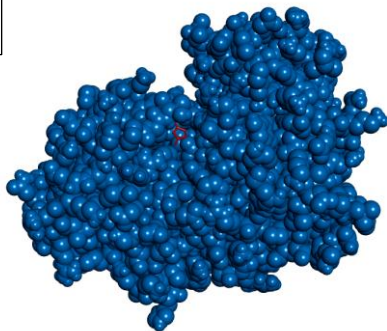
4.1.2.4.6 Visualiasi BACE1 Terhadap Senyawa Aktif Ekstrak *Cherry Coffee*, Donepezil, Skopolamin, dan *Native Ligand*



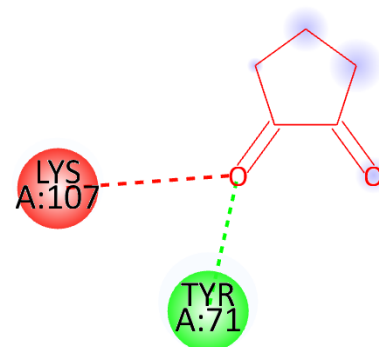
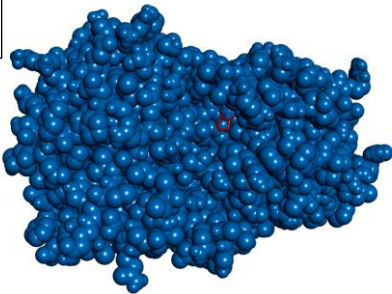
E



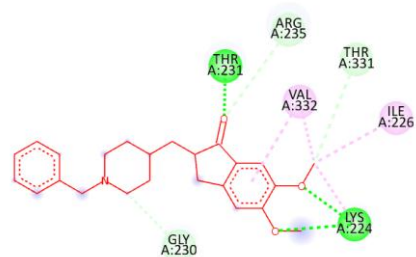
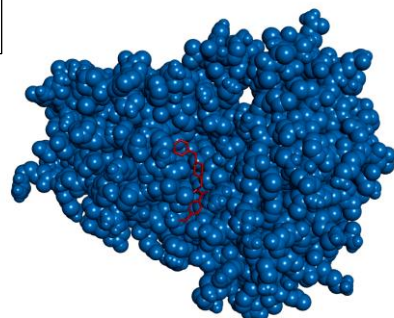
F

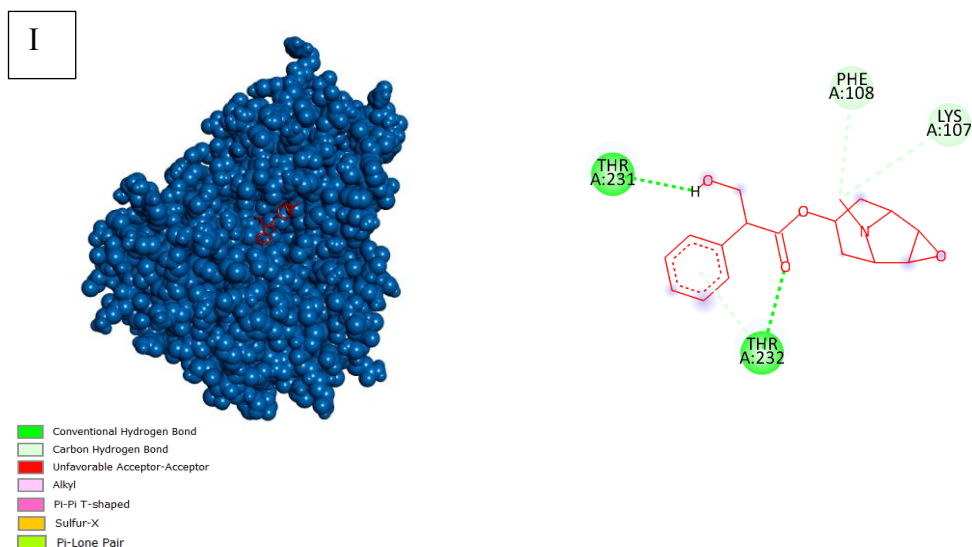


G



H



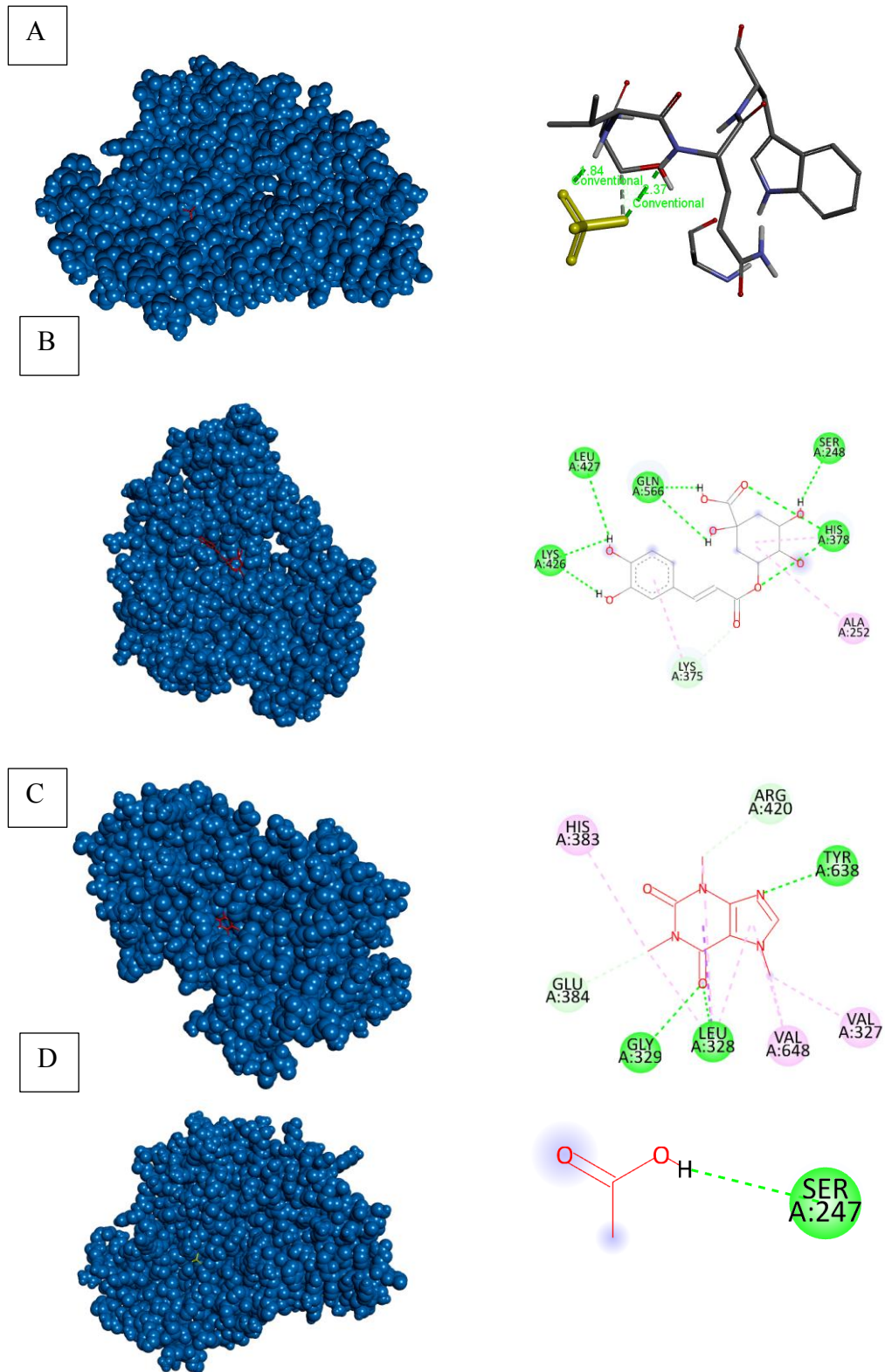


Gambar 4. 22 Visualisasi 3D dan 2D dari BACE1 terhadap senyawa aktif *cherry coffee*, *Native Ligand*, Donepezil, dan Skopolamin.

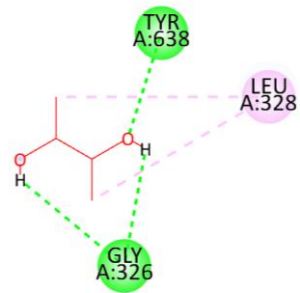
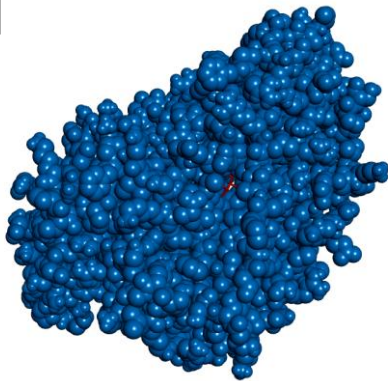
A. BACE1-ZR7; B. BACE1-Asam Klorogenat; C. BACE1-Kafein; D. BACE1-*Acetic Acid*; E. BACE1-2,3-*butanediol*; F. BACE1-*maleic anhydride*; G. BACE1-1,2-*cyclopentanedione*; H. BACE1-*Donepezil*; dan I. BACE1-Skopolamin.

Dari hasil visualisasi BACE1 terhadap senyawa aktif ekstrak *cherry coffee*, *native ligands*, donepezil, dan skopolamin didapatkan bahwa ikatan antara BACE1-ZR7 memiliki 4 ikatan hidrogen pada sekuens asam amino GLN12, GLY11, PHE108, dan LYS107; BACE1-Asam Klorogenat memiliki 4 ikatan hidrogen pada sekuens asam amino LYS107, THR329, ARG235, dan THR72; BACE1-Kafein memiliki 5 ikatan hidrogen pada sekuens asam amino THR232, GLY230, THR231, LYS107, dan GLY11; BACE1-*Acetic Acid* memiliki 3 ikatan hidrogen pada sekuens asam amino SER35, SER36, dan ASN37; BACE1-2,3-*butanediol* memiliki 1 ikatan hidrogen pada sekuens asam amino LYS107; BACE1-*maleic anhydride* memiliki 1 ikatan hidrogen pada sekuens asam amino GLN73; BACE1-1,2-*cyclopentanedione* memiliki 1 ikatan hidrogen pada sekuens asam amino TYR71; BACE1-*Donepezil* memiliki 5 ikatan hidrogen pada sekuens asam amino ARG235, THR231, THR331, LYS224, dan GLY230; dan BACE1-Skopolamin memiliki 4 ikatan hidrogen pada sekuens asam amino THR231, THR232, PHE108, dan LYS107.

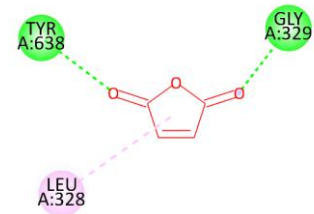
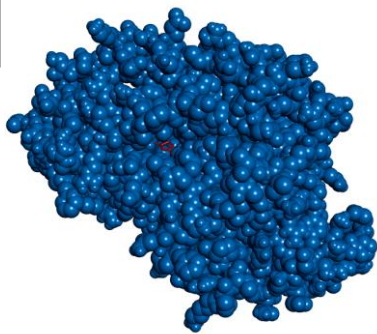
4.1.2.4.7 Visualiasi ADAM10 Terhadap Senyawa Aktif Ekstrak *Cherry Coffee*, Donepezil, Skopolamin, dan Native *Ligand*



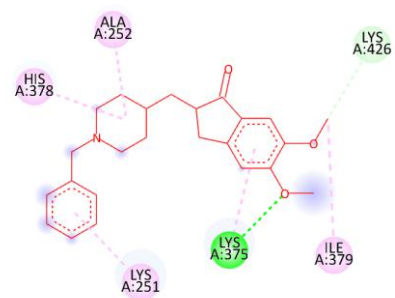
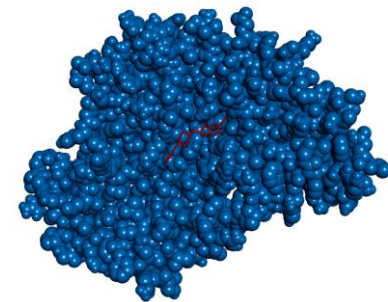
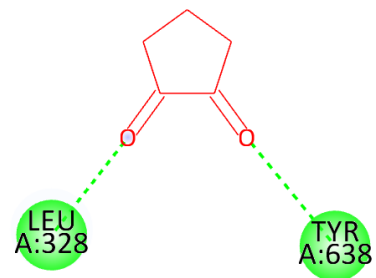
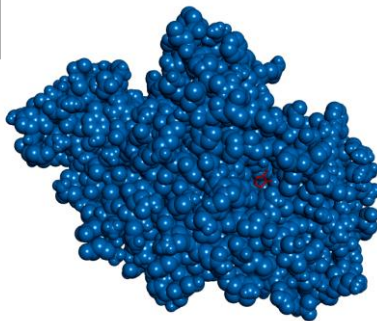
E

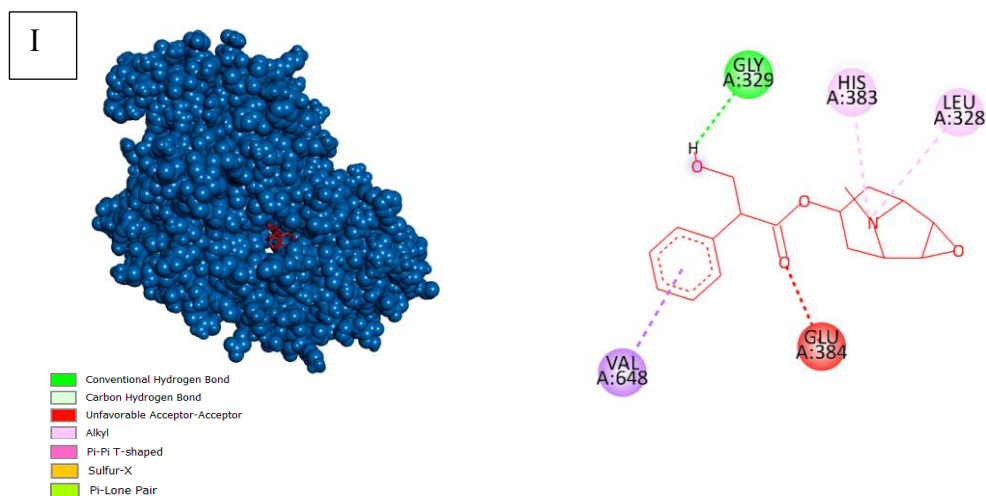


F



G



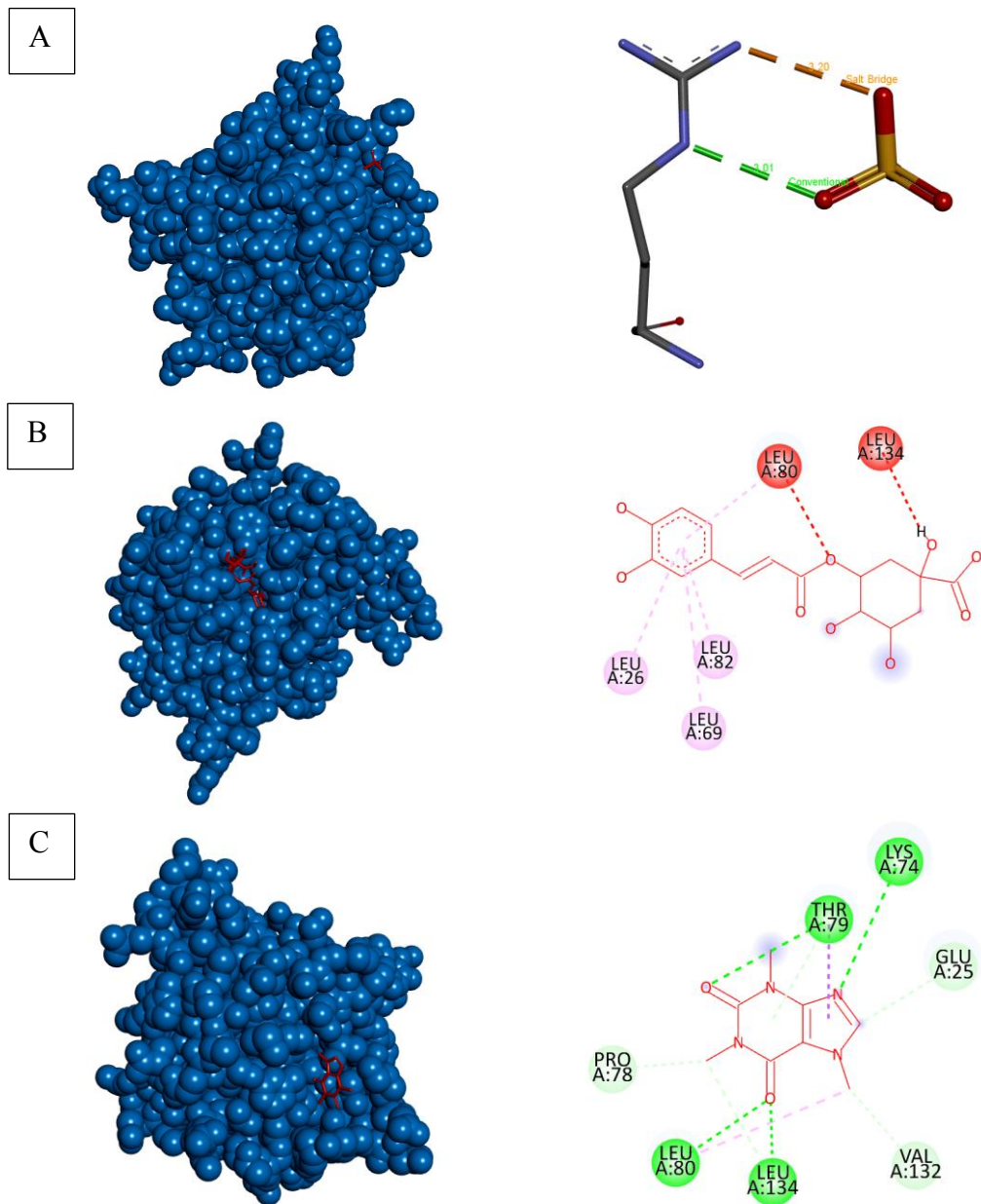


Gambar 4. 23 Visualisasi 3D dan 2D dari ADAM10 terhadap senyawa aktif *cherry coffee*, *Native Ligand*, Donepezil, dan Skopolamin.

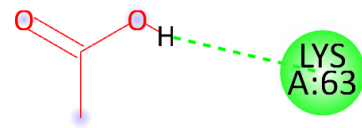
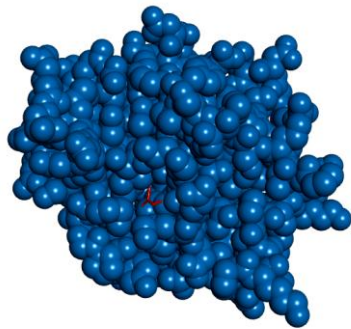
A. ADAM10-SO₄; B. ADAM10-Asam Klorogenat; C. ADAM10-Kafein; D. ADAM10-*Acetic Acid*; E. ADAM10-2,3-*butanediol*; F. ADAM10-*maleic anhydride*; G. ADAM10-1,2-*cyclopentanedione*; H. ADAM10-Donepezil; dan I. ADAM10-Skopolamin.

Dari hasil visualisasi ADAM10 terhadap senyawa aktif ekstrak *cherry coffee*, *native ligands*, donepezil, dan skopolamin didapatkan bahwa ikatan antara BACE1-SO₄ tidak memiliki ikatan hidrogen; ADAM10-Asam Klorogenat memiliki 6 ikatan hidrogen pada sekuens asam amino LEU427, GLN566, SER248, HIS378, LYS375, dan LYS426; ADAM10-Kafein memiliki 5 ikatan hidrogen pada sekuens asam amino ARG420, TYR638, LEU328, GLY329, dan GLU384; ADAM10-*Acetic Acid* memiliki 1 ikatan hidrogen pada sekuens asam amino SER247; ADAM10-2,3-*butanediol* memiliki 2 ikatan hidrogen pada sekuens asam amino TYR638, dan GLY326; ADAM10- *maleic anhydride* memiliki 2 ikatan hidrogen pada sekuens asam amino TYR638 dan GLY329; ADAM10-1,2-*cyclopentanedione* memiliki 2 ikatan hidrogen pada sekuens asam amino LEU328 dan TYR638; ADAM10-Donepezil memiliki 2 ikatan hidrogen pada sekuens asam amino LYS375 dan LYS426; dan ADAM10-Skopolamin memiliki 1 ikatan hidrogen pada sekuens asam amino GLY329.

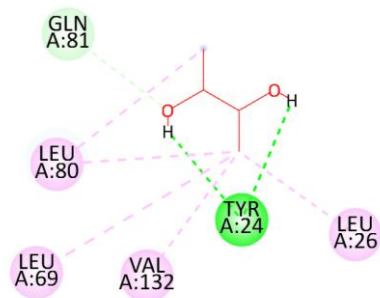
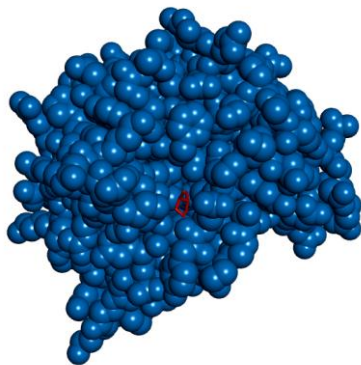
4.1.2.4.8 Visualiasi IL1 β Terhadap Senyawa Aktif Ekstrak *Cherry Coffee*, Donepezil, Skopolamin, dan *Native Ligand*



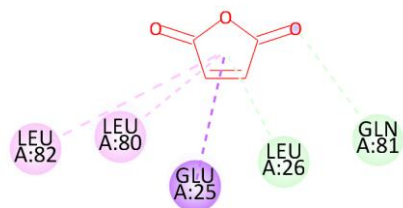
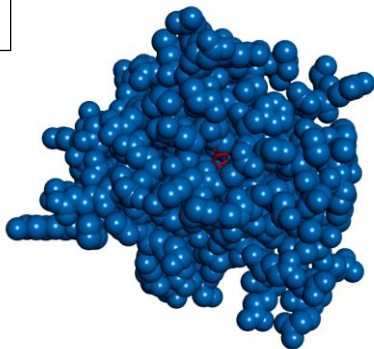
D



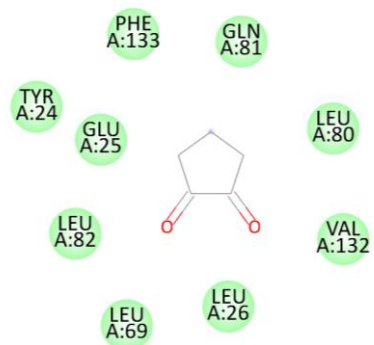
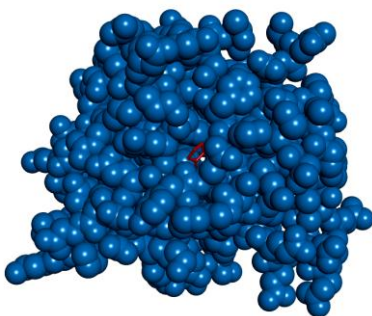
E

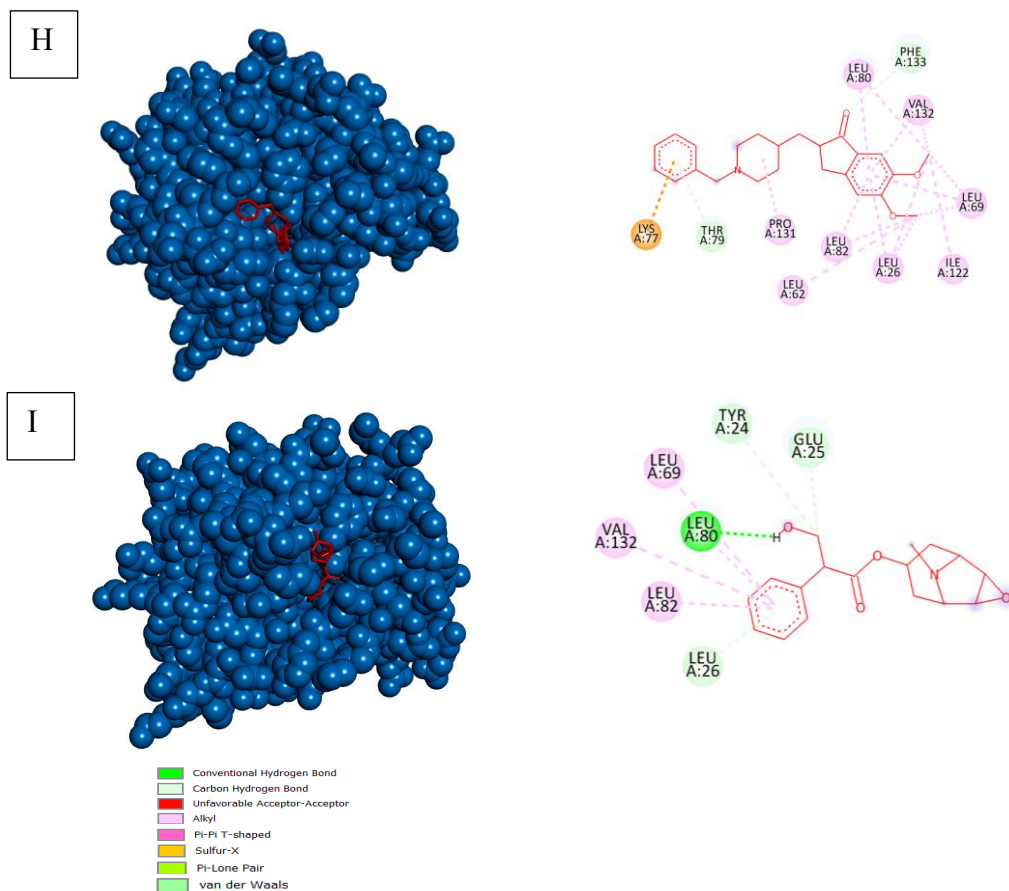


F



G





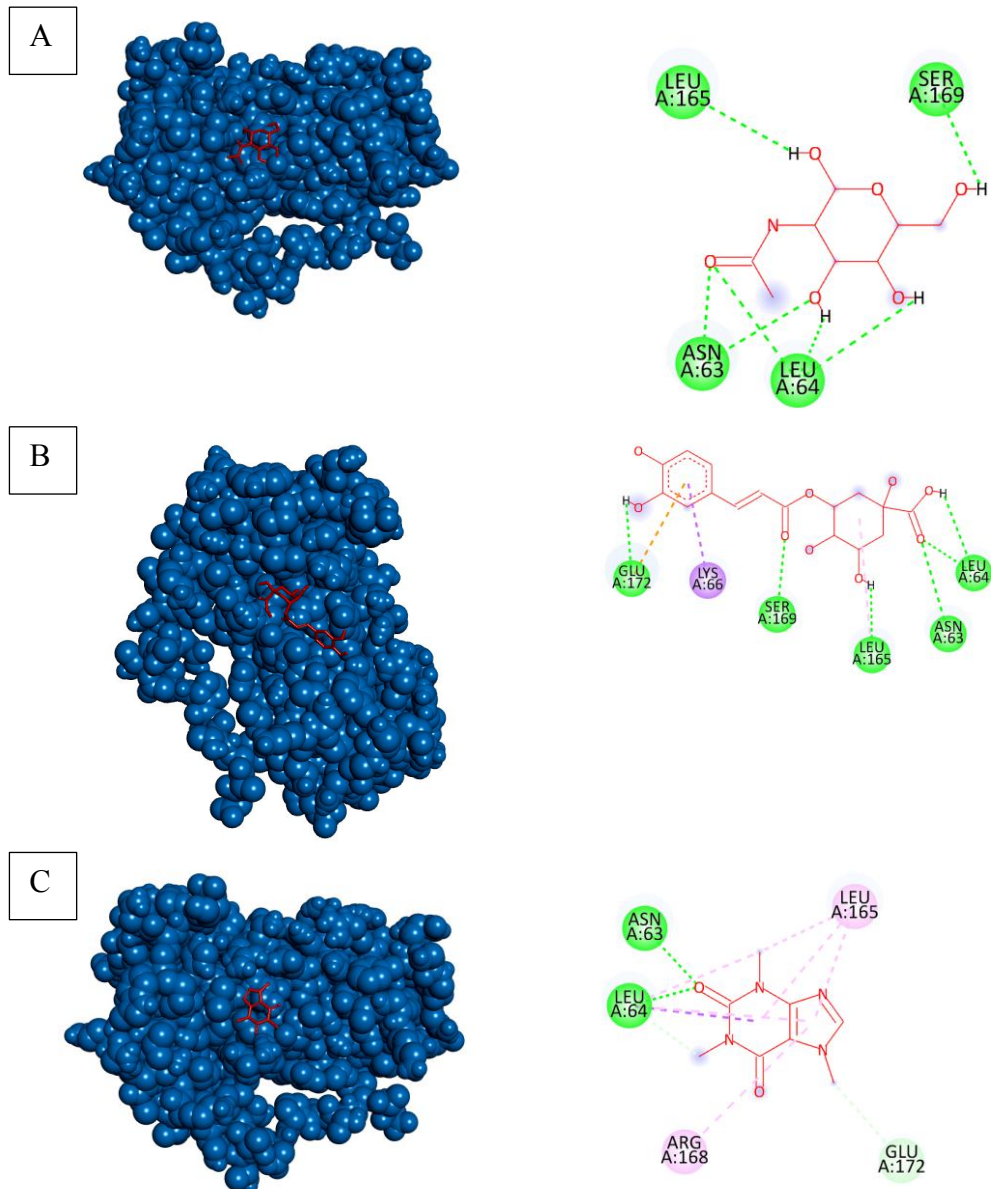
Gambar 4. 24 Visualisasi 3D dan 2D dari IL1 β terhadap senyawa aktif *cherry coffee*, *Native Ligand*, Donepezil, dan Skopolamin.

A. IL1 β -SO₄; B. IL1 β -Asam Klorogenat; C. IL1 β -Kafein; D. IL1 β -*Acetic Acid*; E. IL1 β -2,3-*butanediol*; F. IL1 β -*maleic anhydride*; G. IL1 β -1,2-*cyclopentanedione*; H. IL1 β -Donepezil; dan I. IL1 β -Skopolamin.

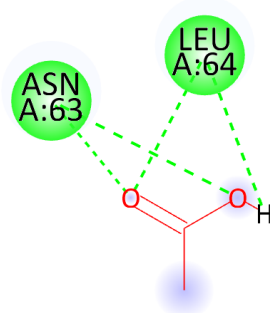
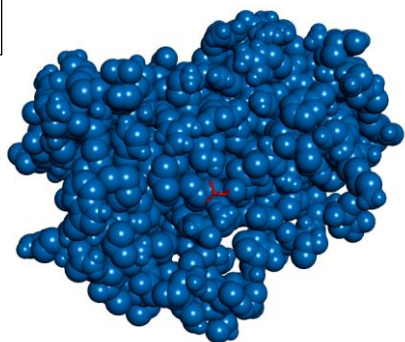
Dari hasil visualisasi IL1 β terhadap senyawa aktif ekstrak *cherry coffee*, *native ligands*, donepezil, dan skopolamin didapatkan bahwa ikatan antara IL1 β -SO₄ tidak memiliki ikatan hidrogen; IL1 β -Asam Klorogenat tidak memiliki ikatan hidrogen; IL1 β -Kafein memiliki 7 ikatan hidrogen pada sekuens asam amino LYS74, THR79, PRO78, LEU80, LEU134, dan VAL132; IL1 β -*Acetic Acid* memiliki 1 ikatan hidrogen pada sekuens asam amino LYS63; IL1 β -2,3-*butanediol* memiliki 2 ikatan hidrogen pada sekuens asam amino GLN81 dan TYR24; IL1 β - *maleic anhydride* memiliki 2 ikatan hidrogen pada sekuens asam amino LEU26 dan GLN81; IL1 β -1,2-*cyclopentanedione* tidak memiliki ikatan hidrogen; IL1 β -Donepezil memiliki 2 ikatan hidrogen pada sekuens asam amino

PHE133 dan THR79; dan IL1 β -Skopolamin memiliki 4 ikatan hidrogen pada sekuens asam amino GLU25, TYR24, LEU80, dan LEU26.

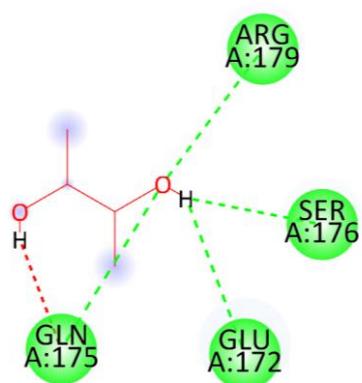
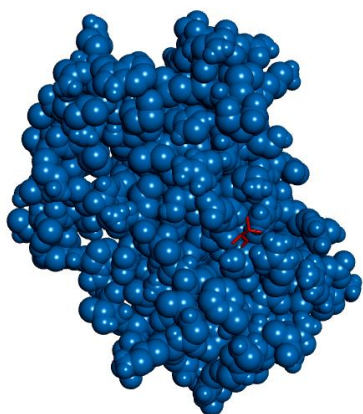
4.1.2.4.9 Visualiasi IL6 Terhadap Senyawa Aktif Ekstrak *Cherry Coffee*, Donepezil, Skopolamin, dan *Native Ligand*



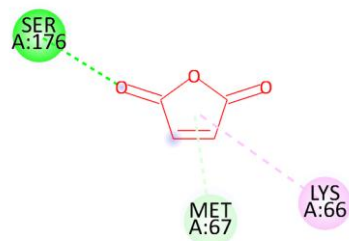
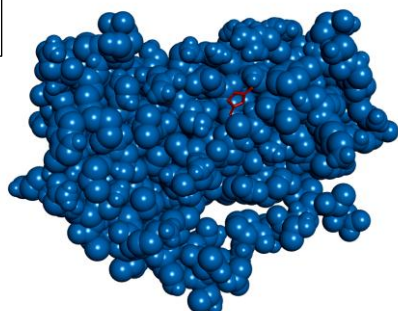
D



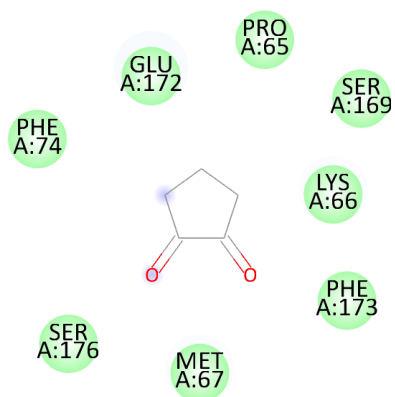
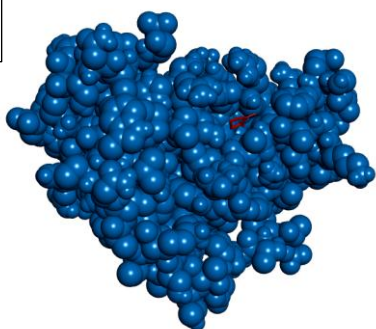
E

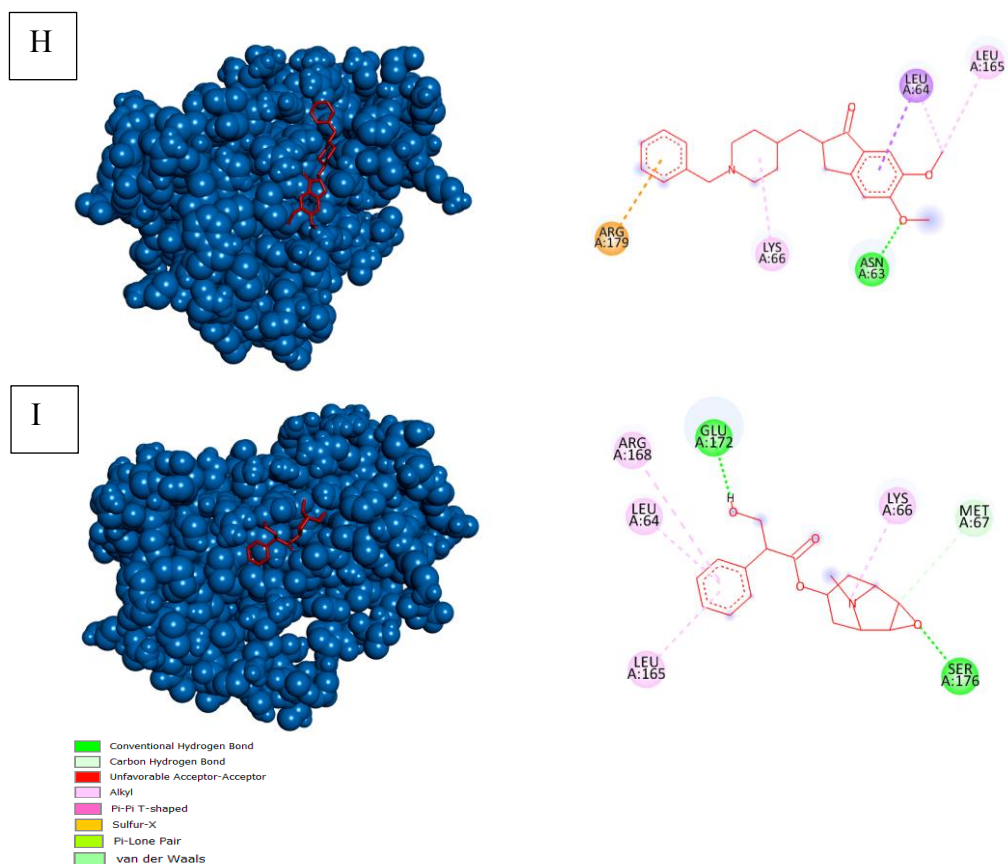


F



G





Gambar 4. 25 Visualisasi 3D dan 2D dari IL6 terhadap senyawa aktif *cherry coffee*, *Native Ligand*, Donepezil, dan Skopolamin.

A. IL6-NAG; B. IL6-Asam Klorogenat; C. IL6-Kafein; D. IL6-*Acetic Acid*; E. IL6-2,3-*butanediol*; F. IL6-*maleic anhydride*; G. IL6-1,2-*cyclopentanedione*; H. IL6-Donepezil; dan I. IL6-Skopolamin.

Dari hasil visualisasi IL6 terhadap senyawa aktif ekstrak *cherry coffee*, *native ligands*, donepezil, dan skopolamin didapatkan bahwa ikatan antara IL6 - NAG memiliki 4 ikatan hidrogen pada sekuens asam amino SER169, LEU165, ASN63, dan LEU64; IL6 -Asam Klorogenat memiliki 5 ikatan hidrogen pada sekuens asam amino GLU172, SER169, LEU165, ASN63, dan LEU64; IL6 - Kafein memiliki 3 ikatan hidrogen pada sekuens asam amino ASN63, LEU64, dan GLU172; IL6 -*Acetic Acid* memiliki 2 ikatan hidrogen pada sekuens asam amino ASN63 dan LEU64; IL6 -2,3-*butanediol* memiliki 4 ikatan hidrogen pada sekuens asam amino GLN175, GLU172, SER176 dan ARG179; IL6 - *maleic anhydride* memiliki 2 ikatan hidrogen pada sekuens asam amino SER176 dan *Metionin* (MET) 67; IL6-1,2-*cyclopentanedione* tidak memiliki ikatan hidrogen; IL6 - Donepezil memiliki 1 ikatan hidrogen pada sekuens asam amino ASN63; dan IL6

-Skopolamin memiliki 3 ikatan hidrogen pada sekuens asam amino GLU172, SER176, dan MET67.

4.2 Pembahasan

Analisis ADMETox dilakukan untuk melihat bagaimana farmakokinetika, farmakodinamika, dan toksisitas suatu senyawa yang akan digunakan sebagai potensial terapi. Maka dari itu, tujuan utama dari analisis ADMETox dilakukan adalah untuk melihat bagaimana interaksi senyawa di dalam tubuh.¹³⁷ Tabel kelas yang tertera menunjukkan sejauh mana sebuah senyawa aktif memenuhi sebuah kriteria untuk dipertimbangkan menjadi calon obat yang berpotensi. Aturan lima lipinski juga digunakan untuk meninjau kemampuan sebuah senyawa apakah memiliki efek farmakologi yang baik atau buruk. Adapun aturan dari lipinski yaitu berat molekul < 500 g/mol, nilai koefisien partisi ($\text{Log } P$) < 5 , jumlah hidrogen pendonor dan penerima harus kurang dari 5 dan 10 dengan minimal aturan yang terpenuhi adalah 2 dari 4.¹³⁷ Dari hasil analisa ini, semua senyawa dari ekstrak *cherry coffee* yang digunakan yaitu *acetic acid*, *2,3-Butanediol*, *Maleic Anhydride*, *1,2-Cyclopentanedion*, asam klorogenat, dan kafein masuk ke dalam aturan lima lipinski yang artinya semua senyawa ini dapat memberikan efek farmakologi yang baik.¹⁰²

Dari tabel *GI absorption*, senyawa *acetic acid*, *2,3-Butanediol*, *Maleic Anhydride*, *1,2-Cyclopentanedion*, dan kafein dapat diserap dengan baik di saluran pencernaan. Senyawa *acetic acid*, *2,3-Butanediol*, *Maleic Anhydride*, *1,2-Cyclopentanedion*, asam klorogenat, dan kafein masih belum mampu untuk menembus sawar darah otak atau BBB sedangkan donepezil memiliki kemampuan untuk menembus sawar darah otak. Namun ada beberapa cara untuk memaksimalkan potensi dari senyawa aktif dari ekstrak *cherry coffee* untuk menembus BBB yaitu dengan menggunakan teknologi nanopartikel dengan tujuan untuk memperkecil senyawa tersebut hingga diambang batas ukuran penembusan BBB yaitu < 200 nm sehingga senyawa tersebut bisa masuk ke dalam otak untuk memberikan efek farmakologinya yang lebih maksimal.¹³⁸

Dari hasil analisis penghambatan terhadap enzim CYP, senyawa *acetic acid*, *1,2-Cyclopentanedion*, asam klorogenat, dan kafein tidak memiliki

kemampuan untuk menghambat kelima jenis enzim CYP. Senyawa *2,3-Butanediol* hanya menghambat satu enzim CYP yaitu CYP2C9 namun dengan kemampuan yang kecil (+) dan senyawa *Maleic Anhydride* juga menghambat satu enzim CYP yaitu CYP1A2 dengan kemampuan menghambat yang kecil (+). Sedangkan senyawa donepezil sangat menghambat salah satu enzim CYP yaitu CYP2D6 yang ditandai dengan positif tiga (+++). Artinya, kemampuan donepezil untuk memberikan efek toksik lebih besar dibandingkan dengan senyawa aktif dari ekstrak *cherry coffee*.

Dari analisis toksisitas, senyawa *acetic acid*, *2,3-Butanediol*, asam klorogenat, dan kafein aman untuk dikonsumsi secara oral, tidak menimbulkan reaksi apabila diadministrasikan melalui kulit, tidak bersifat karsinogenik, dan tidak menimbulkan efek beracun apabila masuk ke dalam saluran pernafasan. Namun, senyawa *Maleic Anhydride* memiliki efek toksik yang sangat tinggi apabila diadministrasikan secara oral (+++), memicu reaksi apabila diadministrasikan melalui kulit (+++), dan apabila masuk ke dalam saluran pernafasan (++). Sedangkan senyawa *1,2-Cyclopentanedion* juga memiliki efek toksik apabila dikonsumsi secara oral (+) dan diadministrasikan melalui kulit (++) tapi tidak setinggi efek toksik dari *Maleic Anhydride*. Senyawa donepezil sangat toksik apabila masuk ke dalam saluran pernafasan (+++) dan skopolamin juga memiliki efek toksik yang tinggi apabila masuk ke dalam saluran pernafasan (++)

Pada pemilihan dari protein target, ditentukan beberapa kriteria yang harus terpenuhi mulai dari pemilihan resolusi, tahun terbit, adanya mutasi dan *native ligands*. Berdasarkan pemilihan resolusi, digunakan satuan Armstrong (Å) yang menandakan semakin kecilnya resolusi, maka semakin jelas penampilan dan penggambaran protein.¹³⁹ Tahun penerbitan dari protein digunakan untuk mengidentifikasi kelengkapan dari asam amino residu pada protein target. Protein yang diterbitkan pada tahun lebih terbaru, memiliki kelengkapan lebih pada asam amino residu dibandingkan protein yang terbit dari tahun yang lebih lama.^{136,140} penentuan dari asam amino residu sangat penting untuk melakukan penelitian dinamika molekuler sebagai tahap lanjutan dari doking molekuler.¹⁴¹ Mutasi yang terjadi pada protein dapat merubah sekuens dari asam amino residu pada protein

target. Jadi, pemilihan protein tanpa adanya mutasi menjadi pilihan utama dalam penelitian ini untuk merepresentasikan protein tersebut dalam keadaan normalnya.^{142,143} Namun, apabila pada data hanya tersedia protein dengan adanya mutasi, perlu dilihat kembali tempat terjadinya mutasi berada diposisi yang mana. Apabila saat doking didapatkan hasil visualisasi dengan posisi sekuens asam amino yang sama terhadap posisi mutasi, maka hasil doking dapat dikatakan tidak stabil. *Native ligands* juga menjadi faktor penentuan dalam pemilihan protein karena terjadinya ikatan dari protein dengan *native ligands* untuk memprediksikan sisi aktif dari protein target.¹⁴⁴ Maka dari itu, BDNF dengan kode 1B8M, *Caspase-2* dengan kode 6S9K, TNF- α dengan kode 7JRA, ACh dengan kode 5TVC, AChE dengan kode 8DT7, BACE1 dengan kode 7MYU, ADAM10 dengan kode 6BE6, IL1 β dengan kode 8RYS, dan IL6 dengan kode 5FUC menjadi pilihan yang tepat untuk doking molekuler pada penelitian ini.

Dari hasil doking molekuler yang telah dilakukan terhadap BDNF, *Caspase-2*, TNF- α , ACh, AChE, BACE1, ADAM10, IL1 β , dan IL6 didapatkan bahwa senyawa skopolamin dan donepezil memiliki afinitas yang tinggi berdasarkan hasil data energi pengikatan dan konstanta penghambatan yang paling rendah.¹⁴⁵ Pada energi pengikatan, semakin rendah hasil yang didapat hal ini mengindikasikan bahwa senyawa aktif memiliki ikatan yang kuat terhadap protein.¹³⁴ Sedangkan, konstanta penghambatan yang rendah memberikan informasi bahwa senyawa aktif tersebut memiliki kemampuan yang baik untuk memberikan efek farmakologinya.¹³⁴ Hasil RMSD pada protein *Caspase-2*, TNF- α , ACh, AChE, BACE1, ADAM10, IL1 β , dan IL6 menunjukkan kestabilan ikatan antara senyawa aktif terhadap protein yang harus dikonfirmasi dalam penelitian *In silico* lanjutan yaitu molekuler dinamika.¹³⁴ Meskipun dengan hasil yang tertera menunjukkan bahwa senyawa donepezil dan skopolamin memiliki afinitas yang terbaik, namun senyawa aktif ekstrak *cherry coffee* juga memiliki afinitas yang baik juga meskipun tidak sebaik donepezil dan skopolamin. Namun, dari penelitian yang telah dilakukan terhadap senyawa *acetic acid*, *2,3-Butanediol*, *Maleic Anhydride*, *1,2-Cyclopentanediol*, asam klorogenat, dan kafein, semua senyawa ini memiliki kemampuan untuk menghambat agregasi dan pembentukan

plak A β , meningkatkan ekspresi dari protein BDNF, meningkatkan aktivitas kolinergik dengan menghambat kerja AChE dan meningkatkan ACh, serta memiliki kemampuan untuk mencegah kerusakan sel yang ditimbulkan dari inflamasi akibat penumpukan dari A β .^{146–159}

Pada visualisasi 2D, semakin banyak ikatan hidrogen yang ditemukan maka semakin kuat dan stabil pula ikatan dari ligan terhadap protein target.¹³⁴ Berdasarkan pernyataan ini, terdapat tiga interaksi yang menghasilkan ikatan hidrogen sebanyak 7 yaitu ACh-Asam klorogenat, ACh- Skopolamin, dan IL1B-Kafein. Sedangkan interaksi yang tidak menghasilkan ikatan hidrogen sama sekali yaitu sebanyak tiga interaksi yaitu IL1B-Asam Klorogenat, IL1B-*1,2-Cyclopentanedione* dan IL1B-*2,3-Butanediol*. Asam amino residu yang ditemukan pada visualisasi 2D memiliki arti bahwa dimana tempat spesifik dan jenis ikatan apa yang terjadi antara ligan dan protein. Pada protein BDNF tidak dilakukan doking terhadap *native ligand* dikarenakan protein ini tidak memiliki *native ligand*-nya sendiri.

BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian dan pembahasan yang telah dilakukan mengenai bagaimana analisis interaksi senyawa aktif ekstrak *cherry coffee* pada Alzheimer melalui jalur *beta-amyloid*, neurotropin, kolinergik, dan neuroinflamasi melalui percobaan ADMETox dan doking molekuler, maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Senyawa aktif *acetic acid*, *2,3-Butanediol*, *Maleic Anhydride*, *1,2-Cyclopentanediol*, asam klorogenat, dan kafein pada ekstrak *cherry coffee* memenuhi analisis ADMETox sebagai kandidat obat.
2. Senyawa aktif pilihan pada ekstrak *cherry coffee* memiliki afinitas yang tinggi terhadap protein terkait Alzheimer melalui jalur *beta-amyloid* melalui analisis doking molekuler.
3. Senyawa aktif pilihan pada ekstrak *cherry coffee* memiliki afinitas yang tinggi terhadap protein terkait Alzheimer melalui jalur neurotropin melalui analisis doking molekuler.
4. Senyawa aktif pilihan pada ekstrak *cherry coffee* memiliki afinitas yang tinggi terhadap protein terkait Alzheimer melalui jalur kolinergik, melalui analisis doking molekuler.
5. Senyawa aktif pilihan pada ekstrak *cherry coffee* memiliki afinitas yang tinggi terhadap protein terkait Alzheimer melalui jalur neuroinflamasi melalui analisis doking molekuler.
6. Berdasarkan hasil visualisasi 2D, senyawa aktif pada ekstrak *cherry coffee* ikatan yang stabil terhadap protein terkait Alzheimer melalui jalur *beta-amyloid*, neurotropin, kolinergik, dan neuroinflamasi melalui ikatan hidrogen.

5.2 Saran

Adapun saran yang dapat diberikan dalam penelitian ini untuk menjadi sebuah penelitian acuan adalah:

1. Dilakukan penambahan lebih lanjut dari protein Alzheimer untuk menambah data mengenai efektivitas interaksi dari senyawa aktif ekstrak *cherry coffee*.
2. Dilakukan penelitian lebih lanjut terkait analisa dinamika molekuler untuk melihat kestabilan ikatan dan bagaimana interaksi senyawa aktif dari ekstrak *cherry coffee* terhadap fungsi fisiologis tubuh.

3. Dilakukan analisis *In vivo* lanjutan berupa ELISA atau RT-PCR untuk menentukan pengaruh pemberian ekstrak *cherry coffee* terhadap kadar protein terkait Alzheimer seperti BDNF, *Caspase-2*, TNF- α , ACh, AChE, BACE1, ADAM10, IL1 β , dan IL6.

DAFTAR PUSTAKA

1. Scheltens P, De Strooper B, Kivipelto M, et al. Alzheimer's disease. *Lancet*. 2021;397(10284):1577. doi:10.1016/S0140-6736(20)32205-4
2. Li X, Feng X, Sun X, Hou N, Han F, Liu Y. Global, regional, and national burden of Alzheimer's disease and other dementias, 1990–2019. *Front Aging Neurosci*. 2022;14. doi:10.3389/FNAGI.2022.937486/FULL
3. WHO. The top 10 causes of death. December 9, 2020. Accessed June 2, 2024. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>
4. Nichols E, Steinmetz JD, Vollset SE, et al. Estimation of the global prevalence of dementia in 2019 and forecasted prevalence in 2050: an analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *Lancet Public Health*. 2022;7(2):e105. doi:10.1016/S2468-2667(21)00249-8
5. Putri Bestari A. Mengenal Demensia Alzheimer. KEMENKES. October 6, 2023. Accessed June 15, 2024. https://yankes.kemkes.go.id/view_artikel/2819/mengenal-demensia-alzheimer
6. Breijyeh Z, Karaman R. Comprehensive Review on Alzheimer's Disease: Causes and Treatment. *Molecules*. 2020;25(24). doi:10.3390/MOLECULES25245789
7. Tahami Monfared AA, Byrnes MJ, White LA, Zhang Q. Alzheimer's Disease: Epidemiology and Clinical Progression. *Neurol Ther*. 2022;11(2):553. doi:10.1007/S40120-022-00338-8
8. Monteiro AR, Barbosa DJ, Remião F, Silva R. Alzheimer's disease: Insights and new prospects in disease pathophysiology, biomarkers and disease-modifying drugs. *Biochem Pharmacol*. 2023;211:115522. doi:10.1016/J.BCP.2023.115522
9. Abubakar MB, Sanusi KO, Ugusman A, et al. Alzheimer's Disease: An Update and Insights Into Pathophysiology. *Front Aging Neurosci*. 2022;14. doi:10.3389/FNAGI.2022.742408
10. Rukmangadachar LA, Bollu PC. Amyloid Beta Peptide. 2023;(March):3-5. Accessed June 15, 2024. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK459119/>
11. Chen GF, Xu TH, Yan Y, et al. Amyloid beta: structure, biology and structure-based therapeutic development. *Acta Pharmacologica Sinica* 2017 38:9. 2017;38(9):1205-1235. doi:10.1038/aps.2017.28
12. Hillen H. The Beta Amyloid Dysfunction (BAD) Hypothesis for Alzheimer's Disease. *Front Neurosci*. 2019;13. doi:10.3389/FNINS.2019.01154
13. Karisetty BC, Bhatnagar A, Armour EM, Beaver M, Zhang H, Elefant F. Amyloid- β Peptide Impact on Synaptic Function and Neuroepigenetic Gene Control Reveal New Therapeutic Strategies for Alzheimer's Disease. *Front Mol Neurosci*. 2020;13:577622. doi:10.3389/FNMOL.2020.577622/BIBTEX
14. Zhang H, Wei W, Zhao M, et al. Interaction between A β and Tau in the Pathogenesis of Alzheimer's Disease. *Int J Biol Sci*. 2021;17(9):2181. doi:10.7150/IJBS.57078
15. Vandergriendt C. Understanding Tau Protein and Its Role in Alzheimer's Disease. Healthline. November 1, 2023. Accessed June 15, 2024. <https://www.healthline.com/health/alzheimers/tau-protein-in-alzheimers-disease>

16. Wójcik P, Jastrzębski MK, Zięba A, Matosiuk D, Kaczor AA. Caspases in Alzheimer's Disease: Mechanism of Activation, Role, and Potential Treatment. *Molecular Neurobiology* 2023. 2023;1:1-20. doi:10.1007/S12035-023-03847-1
17. Ng TKS, Ho CSH, Tam WWS, Kua EH, Ho RCM. Decreased Serum Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) Levels in Patients with Alzheimer's Disease (AD): A Systematic Review and Meta-Analysis. *Int J Mol Sci.* 2019;20(2). doi:10.3390/IJMS20020257
18. Si ZZ, Zou CJ, Mei X, et al. Targeting neuroinflammation in Alzheimer's disease: from mechanisms to clinical applications. *Neural Regen Res.* 2022;18(4):708. doi:10.4103/1673-5374.353484
19. Gao L, Zhang Y, Sterling K, Song W. Brain-derived neurotrophic factor in Alzheimer's disease and its pharmaceutical potential. *Transl Neurodegener.* 2022;11(1). doi:10.1186/S40035-022-00279-0
20. Chen ZR, Huang JB, Yang SL, Hong FF. Role of Cholinergic Signaling in Alzheimer's Disease. *Molecules* 2022, Vol 27, Page 1816. 2022;27(6):1816. doi:10.3390/MOLECULES27061816
21. Bazzari AH, Bazzari FH. BDNF Therapeutic Mechanisms in Neuropsychiatric Disorders. *Int J Mol Sci.* 2022;23(15). doi:10.3390/IJMS23158417
22. Rosa E, Mahendram S, Ke YD, Ittner LM, Ginsberg SD, Fahnstock M. Tau downregulates BDNF expression in animal and cellular models of Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging.* 2016;48:135-142. doi:10.1016/J.NEUROBIOLAGING.2016.08.020
23. Goel P, Chakrabarti S, Goel K, Bhutani K, Chopra T, Bali S. Neuronal cell death mechanisms in Alzheimer's disease: An insight. *Front Mol Neurosci.* 2022;15. doi:10.3389/FNMOL.2022.937133
24. Wu M, Chen Z, Jiang M, et al. Friend or foe: role of pathological tau in neuronal death. *Molecular Psychiatry* 2023 28:6. 2023;28(6):2215-2227. doi:10.1038/s41380-023-02024-z
25. Blinkouskaya Y, Weickenmeier J. Brain Shape Changes Associated With Cerebral Atrophy in Healthy Aging and Alzheimer's Disease. *Front Mech Eng.* 2021;7. doi:10.3389/FMECH.2021.705653
26. Carvajal FJ, Inestrosa NC, Saez-Valero J, Miguel Hernandez U. Interactions of AChE with A β Aggregates in Alzheimer's Brain: Therapeutic Relevance of IDN 5706. *Front Mol Neurosci.* 2011;4:19. doi:10.3389/FNMOL.2011.00019
27. Yiannopoulou KG, Papageorgiou SG. Current and Future Treatments in Alzheimer Disease: An Update. *J Cent Nerv Syst Dis.* 2020;12. doi:10.1177/1179573520907397
28. Breijyeh Z, Karaman R. Comprehensive Review on Alzheimer's Disease: Causes and Treatment. *Molecules.* 2020;25(24). doi:10.3390/MOLECULES25245789
29. Walczak-Nowicka ŁJ, Herbet M. Acetylcholinesterase Inhibitors in the Treatment of Neurodegenerative Diseases and the Role of Acetylcholinesterase in their Pathogenesis. *Int J Mol Sci.* 2021;22(17). doi:10.3390/IJMS22179290

30. Sharma K. Cholinesterase inhibitors as Alzheimer's therapeutics. *Mol Med Rep.* 2019;20(2):1479. doi:10.3892/MMR.2019.10374
31. Singh R, Sadiq NM. Cholinesterase Inhibitors. Published online July 17, 2023. Accessed June 15, 2024. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK544336/>
32. Chen ZR, Huang JB, Yang SL, Hong FF. Role of Cholinergic Signaling in Alzheimer's Disease. *Molecules.* 2022;27(6). doi:10.3390/MOLECULES27061816
33. Cheong SL, Tiew JK, Fong YH, et al. Current Pharmacotherapy and Multi-Target Approaches for Alzheimer's Disease. *Pharmaceuticals.* 2022;15(12). doi:10.3390/PH15121560
34. Jian W xuan, Zhang Z, Zhan J hong, et al. Donepezil attenuates vascular dementia in rats through increasing BDNF induced by reducing HDAC6 nuclear translocation. *Acta Pharmacologica Sinica* 2019 41:5. 2020;41(5):588-598. doi:10.1038/s41401-019-0334-5
35. Lee S, Cho DC, Han I, Kim KT. Curcumin as a Promising Neuroprotective Agent for the Treatment of Spinal Cord Injury: A Review of the Literature. *Neurospine.* 2022;19(2):249. doi:10.14245/NS.2244148.074
36. Singh SK, Srivastav S, Castellani RJ, Plascencia-Villa G, Perry G. Neuroprotective and Antioxidant Effect of Ginkgo biloba Extract Against AD and Other Neurological Disorders. *Neurotherapeutics.* 2019;16(3):666. doi:10.1007/S13311-019-00767-8
37. Winiarska-Mieczan A, Kwiecień M, Jachimowicz-Rogowska K, Donaldson J, Tomaszewska E, Baranowska-Wójcik E. Anti-Inflammatory, Antioxidant, and Neuroprotective Effects of Polyphenols—Polyphenols as an Element of Diet Therapy in Depressive Disorders. *Int J Mol Sci.* 2023;24(3). doi:10.3390/IJMS24032258
38. Hsieh SC, Lu CC, Horng YT, et al. The bacterial metabolite 2,3-butanediol ameliorates endotoxin-induced acute lung injury in rats. *Microbes Infect.* 2007;9(12-13):1402-1409. doi:10.1016/J.MICINF.2007.07.004
39. Beh BK, Mohamad NE, Yeap SK, et al. Anti-obesity and anti-inflammatory effects of synthetic acetic acid vinegar and Nipa vinegar on high-fat-diet-induced obese mice. *Sci Rep.* 2017;7(1):6664. doi:10.1038/S41598-017-06235-7
40. de Souza MF, Luna CBB, Siqueira DD, et al. Toward the Improvement of Maleic Anhydride Functionalization in Polyhydroxybutyrate (PHB): Effect of Styrene Monomer and Sn(Oct)₂ Catalyst. *International Journal of Molecular Sciences* 2023, Vol 24, Page 14409. 2023;24(19):14409. doi:10.3390/IJMS241914409
41. Hirano T, Todoroki T, Morita R, et al. Anti-inflammatory effect of the conjugate of superoxide dismutase with the copolymer of divinyl ether and maleic anhydride against rat re-expansion pulmonary edema. *Journal of Controlled Release.* 1997;48(2-3):131-139. doi:10.1016/S0168-3659(97)00051-5
42. Xiong S, Su X, Kang Y, et al. Effect and mechanism of chlorogenic acid on cognitive dysfunction in mice by lipopolysaccharide-induced neuroinflammation. *Front Immunol.* 2023;14. doi:10.3389/FIMMU.2023.1178188/FULL

43. Munawaroh F, Arfian N, Laila R, Mega S, Cahyani D. Chlorogenic acid may improve memory function and decrease inflammation of frontal lobe in diabetic rat . July 4, 2023. Accessed June 4, 2024. <https://e-mjm.org/2023/v78n4/chlorogenic-acid.pdf>
44. Mullen W, Nemzer B, Ou B, et al. The antioxidant and chlorogenic acid profiles of whole coffee fruits are influenced by the extraction procedures. *J Agric Food Chem*. 2011;59(8):3754-3762. doi:10.1021/JF200122M
45. Nemzer B, Kalita D, Abshiru N. Quantification of Major Bioactive Constituents, Antioxidant Activity, and Enzyme Inhibitory Effects of Whole Coffee Cherries (*Coffea arabica*) and Their Extracts. *Molecules*. 2021;26(14). doi:10.3390/MOLECULES26144306
46. Miyazaki S, Fujita Y, Oikawa H, et al. Combination of syringaresinol-di-O- β -d-glucoside and chlorogenic acid shows behavioral pharmacological anxiolytic activity and activation of hippocampal BDNF-TrkB signaling. *Scientific Reports* 2020 10:1. 2020;10(1):1-12. doi:10.1038/s41598-020-74866-4
47. Cao C, Cirrito JR, Lin X, et al. Caffeine suppresses β -amyloid levels in plasma and brain of Alzheimer's transgenic mice. *J Alzheimers Dis*. 2009;17(3):681. doi:10.3233/JAD-2009-1071
48. Majid A, Garg S. Modeling Inhibitory Effects of Chlorogenic Acid on Amyloid Beta Aggregation. *Ind Eng Chem Res*. 2024;63(17):7636-7645. doi:10.1021/ACS.IECR.4C00695/ASSET/IMAGES/MEDIUM/IE4C00695_0008.G IF
49. Guan L, Yang H, Cai Y, et al. ADMET-score – a comprehensive scoring function for evaluation of chemical drug-likeness. *Medchemcomm*. 2018;10(1):148. doi:10.1039/C8MD00472B
50. Jia L, Gao H. Machine Learning for In Silico ADMET Prediction. *Methods Mol Biol*. 2022;2390:447-460. doi:10.1007/978-1-0716-1787-8_20
51. Kumar A, Sidhu J, Goyal A, Tsao JW, Svercauski J. Alzheimer Disease (Nursing). *StatPearls*. Published online 2021. Accessed June 11, 2024. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33760564>
52. Breijyeh Z, Karaman R. Comprehensive Review on Alzheimer's Disease: Causes and Treatment. *Molecules*. 2020;25(24). doi:10.3390/MOLECULES25245789
53. Sheppard O, Coleman M. Alzheimer's Disease: Etiology, Neuropathology and Pathogenesis. *Alzheimer's Disease: Drug Discovery*. Published online December 18, 2020:1-22. doi:10.36255/EXONPUBLICATIONS.ALZHEIMERSDISEASE.2020.CH1
54. Andrade-Guerrero J, Santiago-Balmaseda A, Jeronimo-Aguilar P, et al. Alzheimer's Disease: An Updated Overview of Its Genetics. *Int J Mol Sci*. 2023;24(4):3754. doi:10.3390/IJMS24043754
55. Bellenguez C, Küçükali F, Jansen IE, et al. New insights into the genetic etiology of Alzheimer's disease and related dementias. *Nat Genet*. 2022;54(4):412. doi:10.1038/S41588-022-01024-Z

56. König T, Stögmänn E. Genetics of Alzheimer's disease. *Wien Med Wochenschr.* 2021;171(11-12):249. doi:10.1007/S10354-021-00819-9
57. Leszek J, Mikhaylenko E V., Belousov DM, et al. The Links between Cardiovascular Diseases and Alzheimer's Disease. *Curr Neuropharmacol.* 2021;19(2):152. doi:10.2174/1570159X18666200729093724
58. Rabinovici GD. Late-onset Alzheimer Disease. *Continuum : Lifelong Learning in Neurology.* 2019;25(1):14. doi:10.1212/CON.0000000000000700
59. Hajjo R, Sabbah DA, Abusara OH, Al Bawab AQ. A Review of the Recent Advances in Alzheimer's Disease Research and the Utilization of Network Biology Approaches for Prioritizing Diagnostics and Therapeutics. *Diagnostics.* 2022;12(12). doi:10.3390/DIAGNOSTICS12122975
60. Hampel H, Hardy J, Blennow K, et al. The Amyloid- β Pathway in Alzheimer's Disease. *Molecular Psychiatry* 2021 26:10. 2021;26(10):5481-5503. doi:10.1038/s41380-021-01249-0
61. Zhang Y, Chen H, Li R, Sterling K, Song W. Amyloid β -based therapy for Alzheimer's disease: challenges, successes and future. *Signal Transduction and Targeted Therapy* 2023 8:1. 2023;8(1):1-26. doi:10.1038/s41392-023-01484-7
62. Morley JE, Farr SA, Nguyen AD, Xu F. What is the Physiological Function of Amyloid-Beta Protein? *The journal of nutrition, health & aging* 2019 23:3. 2019;23(3):225-226. doi:10.1007/S12603-019-1162-5
63. Mendez MF. Early-onset Alzheimer Disease and Its Variants. *Continuum (Minneap Minn).* 2019;25(1):34. doi:10.1212/CON.0000000000000687
64. Huang WJ, Zhang X, Chen WW. Role of oxidative stress in Alzheimer's disease. *Biomed Rep.* 2016;4(5):519. doi:10.3892/BR.2016.630
65. Miranda M, Morici JF, Zanoni MB, Bekinschtein P. Brain-Derived Neurotrophic Factor: A Key Molecule for Memory in the Healthy and the Pathological Brain. *Front Cell Neurosci.* 2019;13. doi:10.3389/FNCEL.2019.00363
66. Merighi A. Brain-Derived Neurotrophic Factor, Nociception, and Pain. *Biomolecules.* 2024;14(5). doi:10.3390/BIOM14050539
67. Colucci-D'amato L, Speranza L, Volpicelli F. Neurotrophic Factor BDNF, Physiological Functions and Therapeutic Potential in Depression, Neurodegeneration and Brain Cancer. *Int J Mol Sci.* 2020;21(20):1-29. doi:10.3390/IJMS21207777
68. Kowiański P, Lietzau G, Czuba E, Waśkow M, Steliga A, Moryś J. BDNF: A Key Factor with Multipotent Impact on Brain Signaling and Synaptic Plasticity. *Cell Mol Neurobiol.* 2018;38(3):579. doi:10.1007/S10571-017-0510-4
69. Azman KF, Zakaria R. Recent Advances on the Role of Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) in Neurodegenerative Diseases. *Int J Mol Sci.* 2022;23(12). doi:10.3390/IJMS23126827
70. Xue B, Waseem SMA, Zhu Z, et al. Brain-Derived Neurotrophic Factor: A Connecting Link Between Nutrition, Lifestyle, and Alzheimer's Disease. *Front Neurosci.* 2022;16:925991. doi:10.3389/FNINS.2022.925991/BIBTEX

71. Wang ZH, Xiang J, Liu X, et al. Deficiency in BDNF/TrkB Neurotrophic Activity Stimulates δ -Secretase by Upregulating C/EBP β in Alzheimer's Disease. *Cell Rep.* 2019;28(3):655. doi:10.1016/J.CELREP.2019.06.054
72. Sari LM. APOPTOSIS: MEKANISME MOLEKULER KEMATIAN SEL. *Cakradonya Dental Journal.* 2018;10(2):65-70. doi:10.24815/CDJ.V10I2.11701
73. Brown-Suedel AN, Bouchier-Hayes L. Got PIDD1? Natural killer cells clear polyploid cells to ensure a balanced genome. *EMBO J.* 2023;42(20). doi:10.15252/EMBJ.2023115307/ASSET/82F61E6B-CE26-467C-9562-C87CF71080F5/ASSETS/GRAPHIC/EMBJ2023115307-FIG-0001-M.PNG
74. Burigotto M, Fava LL. The PIDDosome: centrosome guardian and backup on the DNA damage response. *Mol Cell Oncol.* 2021;8(3). doi:10.1080/23723556.2021.1893625
75. Zeng M, Wang K, Wu Q, et al. Dissecting caspase-2-mediated cell death: from intrinsic PIDDosome activation to chemical modulation. *Protein Cell.* Published online April 27, 2024. doi:10.1093/PROCEL/PWAE020
76. Volik PI, Kopeina GS, Zhivotovsky B, Zamaraev A V. Total recall: the role of PIDDosome components in neurodegeneration. *Trends Mol Med.* 2023;29(12):996-1013. doi:10.1016/J.MOLMED.2023.08.008
77. Brown-Suedel AN, Bouchier-Hayes L. Caspase-2 Substrates: To Apoptosis, Cell Cycle Control, and Beyond. *Front Cell Dev Biol.* 2020;8:610022. doi:10.3389/FCELL.2020.610022/BIBTEX
78. Zhao Y, Dhani S, Zhivotovsky B. Unveiling caspase-2 regulation by non-coding RNAs. *Cell Death Dis.* 2022;13(9). doi:10.1038/S41419-022-05270-1
79. Kopeina GS, Zhivotovsky B. Caspase-2 as a master regulator of genomic stability. *Trends Cell Biol.* 2021;31(9):712-720. doi:10.1016/J.TCB.2021.03.002
80. Brown-Suedel AN, Bouchier-Hayes L. Caspase-2 Substrates: To Apoptosis, Cell Cycle Control, and Beyond. *Front Cell Dev Biol.* 2020;8. doi:10.3389/FCELL.2020.610022
81. Sladky VC, Villunger A. Uncovering the PIDDosome and caspase-2 as regulators of organogenesis and cellular differentiation. *Cell Death & Differentiation* 2020 27:7. 2020;27(7):2037-2047. doi:10.1038/s41418-020-0556-6
82. Lim Y, Dorstyn L, Kumar S. The p53-caspase-2 axis in the cell cycle and DNA damage response. *Experimental & Molecular Medicine* 2021 53:4. 2021;53(4):517-527. doi:10.1038/s12276-021-00590-2
83. Pockes S, Walters MA, Ashe KH. Targeting caspase-2 interactions with tau in Alzheimer's disease and related dementias. *Translational Research.* 2023;254:34-40. doi:10.1016/j.trsl.2022.10.009
84. Troy CM, Shelanski ML. Caspase-2 and tau—a toxic partnership? *Nature Medicine* 2016 22:11. 2016;22(11):1207-1208. doi:10.1038/nm.4227
85. Jackson EC. Cholinergic System | SpringerLink. Springer Nature Link. 2011. Accessed February 13, 2025. https://link.springer.com/referenceworkentry/10.1007/978-0-387-79948-3_1113

86. Halder N, Lal G. Cholinergic System and Its Therapeutic Importance in Inflammation and Autoimmunity. *Front Immunol.* 2021;12:660342. doi:10.3389/FIMMU.2021.660342
87. Sam C, Bordoni B. Physiology, Acetylcholine. *StatPearls*. Published online April 10, 2023. Accessed February 13, 2025. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557825/>
88. Picciotto MR, Higley MJ, Mineur YS. Acetylcholine as a neuromodulator: cholinergic signaling shapes nervous system function and behavior. *Neuron.* 2012;76(1):116. doi:10.1016/J.NEURON.2012.08.036
89. Purves D, Augustine GJ, Fitzpatrick D, et al. Acetylcholine. Published online 2001. Accessed February 13, 2025. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK11143/>
90. Hasselmo ME. The Role of Acetylcholine in Learning and Memory. *Curr Opin Neurobiol.* 2006;16(6):710. doi:10.1016/J.CONB.2006.09.002
91. Kim ME, Lee JS. Mechanisms and Emerging Regulators of Neuroinflammation: Exploring New Therapeutic Strategies for Neurological Disorders. *Current Issues in Molecular Biology* 2025, Vol 47, Page 8. 2024;47(1):8. doi:10.3390/CIMB47010008
92. Kiraly M, Foss JF, Giordano T. Neuroinflammation, Its Role in Alzheimer's Disease and Therapeutic Strategies. *Journal of Prevention of Alzheimer's Disease.* 2023;10(4):686-698. doi:10.14283/JPAD.2023.109
93. Tylutka A, Zabinski P, Walas L, Zembron-Lacny A. Neuroinflammation as a Link in Parkinson's and Alzheimer's Diseases: A Systematic Review and Meta- Analysis. *Aging and Disease.* 2024. Accessed February 13, 2025. https://www.researchgate.net/publication/387218745_Neuroinflammation_as_a_Link_in_Parkinson%27s_and_Alzheimer%27s_Diseases_A_Systematic_Review_and_Meta-_Analysis
94. Amelimojarad M, Amelimojarad M, Cui X. The emerging role of brain neuroinflammatory responses in Alzheimer's disease. *Front Aging Neurosci.* 2024;16:1391517. doi:10.3389/FNAGI.2024.1391517
95. Chen Z, Balachandran YL, Chong WP, Chan KKY. Roles of Cytokines in Alzheimer's Disease. *Int J Mol Sci.* 2024;25(11):5803. doi:10.3390/IJMS25115803
96. Rani V, Verma R, Kumar K, Chawla R. Role of pro-inflammatory cytokines in Alzheimer's disease and neuroprotective effects of pegylated self-assembled nanoscaffolds. *Current Research in Pharmacology and Drug Discovery.* 2023;4:100149. doi:10.1016/J.CRPBAR.2022.100149
97. MacDonnell K. What is a Coffee Cherry & How Does It Taste? A Coffee Fruit Guide | Coffee Affection. Coffee Affection. January 19, 2024. Accessed July 8, 2024. <https://coffeeaffection.com/coffee-cherry/>
98. Eckhardt S, Franke H, Schwarz S, Lachenmeier DW. Risk Assessment of Coffee Cherry (Cascara) Fruit Products for Flour Replacement and Other Alternative Food Uses. *Molecules.* 2022;27(23). doi:10.3390/MOLECULES27238435

99. Alqahtani S. In silico ADME-Tox modeling: progress and prospects. *Expert Opin Drug Metab Toxicol.* 2017;13(11):1147-1158. doi:10.1080/17425255.2017.1389897
100. Chang Y, Hawkins BA, Du JJ, Groundwater PW, Hibbs DE, Lai F. A Guide to In Silico Drug Design. *Pharmaceutics.* 2022;15(1):49. doi:10.3390/PHARMACEUTICS15010049
101. Benet LZ, Hosey CM, Ursu O, Oprea TI. BDDCS, the Rule of 5 and Drugability. *Adv Drug Deliv Rev.* 2016;101:89. doi:10.1016/J.ADDR.2016.05.007
102. McKerrow JH, Lipinski CA. The rule of five should not impede anti-parasitic drug development. *Int J Parasitol Drugs Drug Resist.* 2017;7(2):248. doi:10.1016/J.IJPDDR.2017.05.003
103. Pinzi L, Rastelli G. Molecular Docking: Shifting Paradigms in Drug Discovery. *Int J Mol Sci.* 2019;20(18). doi:10.3390/IJMS20184331
104. Pagadala NS, Syed K, Tuszynski J. Software for molecular docking: a review. *Biophys Rev.* 2017;9(2):91. doi:10.1007/S12551-016-0247-1
105. Zothantluanga JH, Chetia D. A beginner's guide to molecular docking. *Sciences of Phytochemistry.* 2022;1(2):37-40. doi:10.58920/SCIPHY01020037
106. Torres PHM, Sodero ACR, Jofily P, Silva-Jr FP. Key Topics in Molecular Docking for Drug Design. *Int J Mol Sci.* 2019;20(18). doi:10.3390/IJMS20184574
107. Bender BJ, Gahbauer S, Luttens A, et al. A practical guide to large-scale docking. *Nature Protocols* 2021 16:10. 2021;16(10):4799-4832. doi:10.1038/s41596-021-00597-z
108. Mohanty M, Mohanty PS. Molecular docking in organic, inorganic, and hybrid systems: a tutorial review. *Monatsh Chem.* 2023;154(7):683-707. doi:10.1007/S00706-023-03076-1/FIGURES/19
109. Xu X, Yan C, Zou X. Improving Binding Mode and Binding Affinity Predictions of Docking by Ligand-based Search of Protein Conformations: Evaluation in D3R Grand Challenge 2015. *J Comput Aided Mol Des.* 2017;31(8):689. doi:10.1007/S10822-017-0038-1
110. Chen G, Seukep AJ, Guo M. Recent Advances in Molecular Docking for the Research and Discovery of Potential Marine Drugs. *Mar Drugs.* 2020;18(11). doi:10.3390/MD18110545
111. RCSB PDB - 1B8M: BRAIN DERIVED NEUROTROPHIC FACTOR, NEUROTROPHIN-4. Accessed August 7, 2024. <https://www.rcsb.org/structure/1B8M>
112. RCSB PDB - 6S9K: Structure of 14-3-3 gamma in complex with caspase-2 peptide containing 14-3-3 binding motif Ser139 and NLS. Accessed August 8, 2024. <https://www.rcsb.org/structure/6S9K>
113. RCSB PDB - 7JRA: HUMAN TNF-ALPHA IN COMPLEX WITH 2-[5-(3-chloro-4-[(1R)-1-(2-fluorophenyl)ethyl]amino}quinolin-6-yl)pyrimidin-2-yl]propan-2-ol. RCSB PDB. Accessed February 7, 2025. <https://www.rcsb.org/structure/7JRA>
114. RCSB PDB - 5TVC: Crystal structure of a chimeric acetylcholine binding protein from *Aplysia californica* (Ac-AChBP) containing loop C from the human alpha 3

- nicotinic acetylcholine receptor in complex with (E,2S)-N-methyl-5-(5-phenoxy-3-pyridyl)pent-4-en-2-amine (TI-5312). RCSB PDB. 2016. Accessed February 7, 2025. <https://www.rcsb.org/structure/5TVC>
115. RCSB PDB - 8DT7: X-ray structure of human acetylcholinesterase in complex with oxime MMB4 (hAChE-MMB4). RCSB PDB. 2022. Accessed February 7, 2025. <https://www.rcsb.org/structure/8DT7>
 116. RCSB PDB - 7MYU: BACE-1 in complex with compound #22. RCSB PDB. 2021. Accessed February 10, 2025. <https://www.rcsb.org/structure/7MYU>
 117. RCSB PDB - 6BE6: ADAM10 Extracellular Domain. RCSB PDB. 2017. Accessed February 10, 2025. <https://www.rcsb.org/structure/6BE6>
 118. RCSB PDB - 8RYS: Human IL-1beta, unliganded. RCSB PDB. 2024. Accessed February 10, 2025. <https://www.rcsb.org/structure/8RYS>
 119. RCSB PDB - 5FUC: Biophysical and cellular characterisation of a junctional epitope antibody that locks IL-6 and gp80 together in a stable complex: implications for new therapeutic strategies. RCSB PDB. 2017. Accessed February 11, 2025. <https://www.rcsb.org/structure/5FUC>
 120. Acetic Acid | CH₃COOH | CID 176 - PubChem. PubChem. 2005. Accessed February 11, 2025. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/176>
 121. 2,3-Butanediol | C₄H₁₀O₂ | CID 262 - PubChem. PubChem. 2005. Accessed February 11, 2025. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/262>
 122. Maleic Anhydride | C₄H₂O₃ | CID 7923 - PubChem. PubChem. 2005. Accessed February 11, 2025. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/7923>
 123. 1,2-Cyclopentanedione | C₅H₆O₂ | CID 566657 - PubChem. PubChem. 2005. Accessed February 11, 2025. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/566657>
 124. Caffeine | C₈H₁₀N₄O₂ | CID 2519 - PubChem. PubChem. 2004. Accessed February 11, 2025. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/2519>
 125. Chlorogenic Acid | C₁₆H₁₈O₉ | CID 1794427 - PubChem. Accessed August 7, 2024. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/1794427>
 126. Donepezil | C₂₄H₂₉NO₃ | CID 3152 - PubChem. Accessed August 7, 2024. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/3152>
 127. Scopolamine Hydrobromide | C₁₇H₂₂BrNO₄ | CID 6603108 - PubChem. Accessed February 12, 2025. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/6603108>
 128. 1,1,1,3,3,3-Hexafluoro-2-propanol | C₃H₂F₆O | CID 13529 - PubChem. Accessed August 8, 2024. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/13529>
 129. 2-[5-(3-chloro-4-{{(1R)-1-(2-fluorophenyl)ethyl}amino}quinolin-6-yl)pyrimidin-2-yl]propan-2-ol | C₂₄H₂₂ClFN₄O | CID 126531356 - PubChem. PubChem. 2017. Accessed February 8, 2025. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/126531356>
 130. SID 381325023 - PubChem. PubChem. 2019. Accessed February 8, 2025. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/substance/381325023>
 131. SID 444687559 - PubChem. PubChem. 2021. Accessed February 8, 2025. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/substance/444687559>

132. Sulfate Ion | O4S-2 | CID 1117 - PubChem. PubChem . 2004. Accessed February 11, 2025. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/1117>
133. N-ACETYL-beta-D-GLUCOSAMINE | C8H15NO6 | CID 24139 - PubChem. PubChem. 2005. Accessed February 11, 2025. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/24139>
134. Kezia I, Mudjihartini N, Erlina L. Molecular Simulation Approach for Screening Bioactive Compounds using HerbalDB Database as Potential Candidate for Alzheimer's Inhibitor. Published online October 6, 2022:1-13. Accessed August 8, 2024. <https://scholar.ui.ac.id/en/publications/molecular-simulation-approach-for-screening-bioactive-compounds-u>
135. Erlina L, Paramita RI, Kusuma WA, et al. Virtual screening of Indonesian herbal compounds as COVID-19 supportive therapy: machine learning and pharmacophore modeling approaches. *BMC Complement Med Ther.* 2022;22(1). doi:10.1186/S12906-022-03686-Y
136. Boittier ED, Tang YY, Buckley ME, Schuurs ZP, Richard DJ, Gandhi NS. Assessing molecular docking tools to guide targeted drug discovery of cd38 inhibitors. *Int J Mol Sci.* 2020;21(15):1-19. doi:10.3390/IJMS21155183
137. Benet LZ, Hosey CM, Ursu O, Oprea TI. BDDCS, the Rule of 5 and drugability. *Adv Drug Deliv Rev.* 2016;101:89-98. doi:10.1016/J.ADDR.2016.05.007
138. Savall ASP, de Mello JD, Fidelis EM, et al. Nanoencapsulated Curcumin: Enhanced Efficacy in Reversing Memory Loss in An Alzheimer Disease Model. *Brain Sciences* 2024, Vol 14, Page 130. 2024;14(2):130. doi:10.3390/BRAINSKI14020130
139. Wu C, Liu Y, Yang Y, et al. Analysis of therapeutic targets for SARS-CoV-2 and discovery of potential drugs by computational methods. *Acta Pharm Sin B.* 2020;10(5):766-788. doi:10.1016/J.APSB.2020.02.008
140. Ojo OA, Adegboyega AE, Johnson GI, et al. Deciphering the interactions of compounds from *Allium sativum* targeted towards identification of novel PTP 1B inhibitors in diabetes treatment: A computational approach. *Inform Med Unlocked.* 2021;26:100719. doi:10.1016/J.IMU.2021.100719
141. Hemalata G, Sivakumari K, Rajesh S, Shyamala DK. IN SILICO MOLECULAR DOCKING STUIDES OF MURICIN J, MURICIN K AND MURICIN L COMPOUND FROM A. MURICATA AGAINST APOPTOTIC PROTEINS (CASPASE-3, CASPASE-9 AND β -ACTIN). *NNORIGINAL.* 2020;7. Accessed August 7, 2024. https://www.researchgate.net/publication/346084546_IN_SILICO_MOLECULAR_DOCKING_STUIDES_OF_MURICIN_J_MURICIN_K_AND_MURICIN_L_COMPOUND_FROM_A_MURICATA_AGAINST_APOPTOTIC_PROTEINS_CASPASE-3_CASPASE-9_AND_b-ACTIN
142. Vyse S, Huang PH. Targeting EGFR exon 20 insertion mutations in non-small cell lung cancer. *Signal Transduct Target Ther.* 2019;4(1). doi:10.1038/S41392-019-0038-9

143. Torres PHM, Sodero ACR, Jofily P, Silva-Jr FP. Key Topics in Molecular Docking for Drug Design. *Int J Mol Sci*. 2019;20(18). doi:10.3390/IJMS20184574
144. Muhammed MT, Aki-Yalcin E. Homology modeling in drug discovery: Overview, current applications, and future perspectives. *Chem Biol Drug Des*. 2019;93(1):12-20. doi:10.1111/CBDD.13388
145. Valencia PL, Sepúlveda B, Gajardo D, Astudillo-Castro C. Estimating the Product Inhibition Constant from Enzyme Kinetic Equations Using the Direct Linear Plot Method in One-Stage Treatment. *Catalysts* 2020, Vol 10, Page 853. 2020;10(8):853. doi:10.3390/CATAL10080853
146. Bezerra JR, de Souza Nascimento T, Tavares J, de Aguiar MSS, Maia MVV, de Andrade GM. Neuroprotective Effect of Chlorogenic Acid in an Animal Model of Sporadic Alzheimer's Disease Induced by Streptozotocin. *Mol Neurobiol*. Published online June 19, 2024;1-19. doi:10.1007/S12035-024-04299-X/METRICS
147. Heitman E, Ingram DK. Cognitive and neuroprotective effects of chlorogenic acid. *Nutr Neurosci*. 2017;20(1):32-39. doi:10.1179/1476830514Y.00000000146
148. Nguyen V, Taine EG, Meng D, Cui T, Tan W. Chlorogenic Acid: A Systematic Review on the Biological Functions, Mechanistic Actions, and Therapeutic Potentials. *Nutrients*. 2024;16(7):924. doi:10.3390/NU16070924
149. Molska M, Mruczyk K, Cisek-Woźniak A, et al. The Influence of Intestinal Microbiota on BDNF Levels. *Nutrients* 2024, Vol 16, Page 2891. 2024;16(17):2891. doi:10.3390/NU16172891
150. I Adenan M, A Jusril N, A Radzun K, Z Hafiz Z. Comparative Study on Anti-Acetylcholinesterase and Anti-Inflammatory Activities of Date and Apple Vinegars Fortified with Centella Asiatica. *International Journal of Engineering & Technology*. 2019;7(4.14):116-120. doi:10.14419/IJET.V7I4.14.27510
151. Goda R, Masumoto H, Okazaki O, Sudo K. Development of a pretreatment method for amyloid beta-protein analysis based on the effect of acetic acid on the dissolution of plasma polypeptides. *Biomed Chromatogr*. 2008;22(11):1279-1287. doi:10.1002/BMC.1058
152. Tanelian A, Nankova B, Hu F, Sahawneh JD, Sabban EL. Effect of acetate supplementation on traumatic stress-induced behavioral impairments in male rats. *Neurobiol Stress*. 2023;27:100572. doi:10.1016/J.YNSTR.2023.100572
153. Cigliano L, De Palma F, Petecca N, et al. 1,3-butanediol administration as an alternative strategy to calorie restriction for neuroprotection – Insights into modulation of stress response in hippocampus of healthy rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2025;182:117774. doi:10.1016/J.BIOPHA.2024.117774
154. Chen C, Bu L, Liu H, et al. Learning and memory impairment induced by 1,4-butanediol is regulated by ERK1/2-CREB-BDNF signaling pathways in PC12 cells. *Metab Brain Dis*. 2022;37(5):1451-1463. doi:10.1007/S11011-022-00963-0
155. Hsieh SC, Lu CC, Horng YT, et al. The bacterial metabolite 2,3-butanediol ameliorates endotoxin-induced acute lung injury in rats. *Microbes Infect*. 2007;9(12-13):1402-1409. doi:10.1016/J.MICINF.2007.07.004

156. Wu M Der, Cheng MJ, Wang BC, et al. Maleimide and maleic anhydride derivatives from the mycelia of *Antrodia cinnamomea* and their nitric oxide inhibitory activities in macrophages. *J Nat Prod*. 2008;71(7):1258-1261. doi:10.1021/NP070634K
157. Kikuchi H, Okazaki K, Sekiya M, et al. Synthesis and innate immunosuppressive effect of 1,2-cyclopentanediol derivatives. *Eur J Med Chem*. 2011;46(4):1263-1273. doi:10.1016/J.EJMECH.2011.01.049
158. Oboh G, Agunloye OM, Akinyemi AJ, Ademiluyi AO, Adefegha SA. Comparative study on the inhibitory effect of caffeic and chlorogenic acids on key enzymes linked to Alzheimer's disease and some pro-oxidant induced oxidative stress in rats' brain-in vitro. *Neurochem Res*. 2013;38(2):413-419. doi:10.1007/S11064-012-0935-6
159. Majid A, Garg S. Modeling Inhibitory Effects of Chlorogenic Acid on Amyloid Beta Aggregation. *Ind Eng Chem Res*. 2024;63(17):7636-7645. doi:10.1021/ACS.IECR.4C00695/ASSET/IMAGES/MEDIUM/IE4C00695_0008.GIF