

**STUDI INSILICO SENYAWA *3-O-FERULOYLQUINIC ACID*
DAN *CAFFEIC ACID* DALAM CERI KOPI UTUH SEBAGAI
INHIBITOR ASETILKOLINESTERASE PADA PENYAKIT
ALZHEIMER**

SKRIPSI



UMSU
Unggul | Cerdas | Terpercaya

Oleh:

Adinda Nabila Salsabila Ritonga

2108260219

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

**STUDI INSILICO SENYAWA *3-O-FERULOYLQUINIC ACID*
DAN *CAFFEIC ACID* DALAM CERI KOPI UTUH SEBAGAI
INHIBITOR ASETILKOLINESTERASE PADA PENYAKIT
ALZHEIMER**

**Skripsi Ini Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh
Kelulusan Sarjana Kedokteran**



Oleh:

Adinda Nabila Salsabila Ritonga

2108260219

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

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Saya yang bertandatangan dibawah ini menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk telah saya nyatakan dengan benar.

Nama : ADINDA NABILA SALSABILA RITONGA
NPM : 2108260219
Judul Skripsi : **STUDI INSILICO SENYAWA *3-O-FERULOYLQUINIC ACID* DAN *CAFFEIC ACID* DALAM CERI KOPI UTUH SEBAGAI INHIBITOR ASETILKOLINESTERASE PADA PENYAKIT ALZHEIMER**

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

Medan, 12 Agustus 2025



Adinda Nabila Salsabila Ritonga



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 : Adinda Nabila Salsabila ritonga
NPM : 2108260275
Judul : **Studi Insilico Senyawa 3-O-Feruloylquinic Acid dan Caffeic Acid Dalam Kopi Ceri Utuh Sebagai Inhibitor Asetilkolinesterase Pada Penyakit Alzheimer**

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. Hasanul Arifin, M.Ked(neu), Sp.N)

Penguji 2

(dr. Ilham Hariaji, M.Biomed)

Mengetahui,



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

Ketua Program

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

Ditetapkan di: Medan
Tanggal: 18 Agustus 2025

KATAPENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan judul **“Studi Insilico Senyawa 3-O-Feruloylquinic Acid Dan Caffeic Acid Dalam Ceri Kopi Utuh Sebagai Inhibitor Asetilkolinesterase Pada Penyakit Alzheimer”**.

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 paling utama kepada yang tercinta, sandaran terkuat penulis dalam hidup kedua orang tua penulis, Bapak Hamzah Ritonga selaku ayah penulis yang telah membesarkan serta mendidik penulis sedari kecil, terima kasih atas segala pengorbanan, kasih sayang, serta segala bentuk tanggung jawab atas kehidupan layak yang telah diberikan. Terima kasih telah menjadi salah satu alasan penulis untuk tetap semangat berjuang meraih gelar sarjana yang ayah impikan. Pintu surgaku, ibu tersayang Sapriati Hasibuan tidak ada kata yang sepenuhnya menggambarkan rasa syukur ini. Namun, dengan penuh cinta dan ketulusan terima kasih atas segalanya, terima kasih telah melahirkan, merawat, serta membesarkan penulis dengan penuh cinta. Terima kasih atas doa-doa yang tulus yang selalu mengiringi setiap langkah kaki ini dan selalu menjadi ibu yang sangat supportif. Menjadi suatu kebanggaan memiliki orang tua hebat yang selalu mendukung anaknya mencapai cita-cita. Semoga Allah SWT senantiasa memberikan Ayah dan Ibu kesehatan, kebahagiaan, serta umur yang panjang.
- 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. Dian Eriyawanty M.Kes., Sp.KK, 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. Hasanul Arifin, M.Ked(neu), Sp.N., selaku dosen penguji satu yang telah memberikan saran dan evaluasi berharga sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik.
- 6) dr. Ilham Hariaji, M. Biomed, selaku dosen penguji dua yang telah memberikan saran dan masukan yang berharga sehingga skripsi penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik.
- 7) Seluruh dosen dan staff Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara yang telah memberikan ilmu pengetahuan dan bantuan selama penulis menempuh pendidikan.
- 8) Yang teramat penulis sayangi, Abang dan Adik penulis, Imam Samudra Ritonga, Afif Febriza Azhar Ritonga, dan Nurul Alya Azzahra Ritonga. Terima kasih sudah menjadi keluarga yang selalu menjadi penyemangat penulis dengan memberikan hiburan dan semangat yang tiada henti serta selalu peduli terhadap penulis sehingga skripsi ini dapat diselesaikan dengan baik.
- 9) Teman penulis selama masa perkuliahan “Anaq Anyeong”, Zara Alaina Mashka, Deviana Ramadhani, Desyka Nur Syafitri, Akram Fadillah, Arya Noviardy, M. Diva Putra Parastan, dan Dhea Salsabila Harahap yang selalu kebersamai penulis, menjadi penyemangat dan menolong penulis selama masa perkuliahan mulai semester pertama. Serta Titin Tria Utami teman seperjuangan penulis selama skripsi, terima kasih untuk tetap menemani dan saling membantu bersama penulis sampai penulisan skripsi ini selesai.
- 10) Tak lupa juga teman-teman kos penulis Farhana Mahfudza, Feby Nadya, Roijatul Mardia, dan Desi Aprilia yang telah menemani penulis diawal

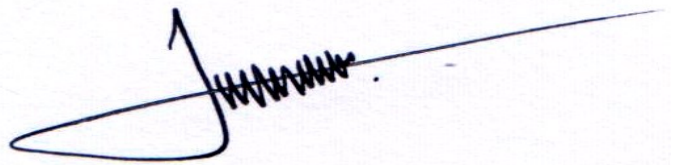
memasuki perkuliahan sampai lulus dan selalu menyemangati penulis.

11) Sahabat sahabat terbaik penulis dari SMA, Emik, Kulay, Nasya, dan Vita yang sudah menjadi pendengar yang baik atas segala cerita suka dan duka, yang sangat tahu apa yang penulis alami selama perkuliahan, terima kasih sudah selalu siap menjadi tempat penulis berbagi cerita serta selalu memberikan dukungan yang tiada henti kepada penulis. Dan juga terima kasih banyak penguji ucapkan kepada Yulfa dan Sarah yang sudah ikut andil dalam menghibur penulis dengan segala tingkah lucu dan manisnya.

12) Terakhir, saya ucapkan terima kasih kepada Adinda Nabila Salsabila Ritonga, ya! Diri saya sendiri. Apresiasi sebesar-besarnya yang telah berjuang untuk menyelesaikan apa yang telah dimulai. Sangat sulit bisa bertahan sampai dititik ini, terima kasih karena memutuskan tidak menyerah sesulit apapun perkuliahan ini dan selalu merayakan dirimu sendiri, walaupun sering kali putus asa atas apa yang telah diusahakan. Tetaplah jadi manusia yang mau berusaha dan tidak lelah untuk mencoba.

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, 12 Agustus 2025

A handwritten signature in blue ink, featuring a large, stylized initial 'A' followed by a series of loops and a long horizontal stroke extending to the right.

Adinda Nabila Salsabila Ritonga

**PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI SKRIPSI UNTUK
KEPENTINGAN AKADEMIS**

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

Nama : Adinda Nabila Salsabila Ritonga

NPM 2108260219

Fakultas : Kedokteran

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

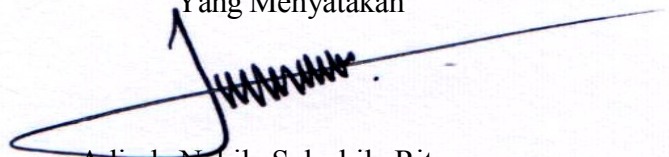
“STUDI INSILICO SENYAWA *3-O-FERULOYLQUINIC ACID* DAN *CAFFEIC ACID* DALAM CERI KOPI UTUH SEBAGAI INHIBITOR ASETILKOLINESTERASE PADA PENYAKIT ALZHEIMER”

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 : 12 Agustus 2025

Yang Menyatakan

Adinda Nabila Salsabila Ritonga

ABSTRAK

Latar Belakang: Penyakit Alzheimer merupakan bentuk paling umum dari demensia, mencakup 60–70% kasus global dan berdampak signifikan terhadap fungsi kognitif, terutama memori. Salah satu mekanisme utamanya adalah penurunan asetilkolin (ACh) akibat akumulasi beta-amiloid, sehingga penghambatan enzim asetilkolinesterase (AChE) menjadi target terapi utama. Senyawa alami seperti *3-O-feruloylquinic acid* dan *caffeic acid* dalam ekstrak kopi ceri utuh berpotensi sebagai agen neuroprotektif karena sifat antioksidan dan antiinflamasi. **Tujuan:** Mengevaluasi profil ADMETox (Absorpsi, Distribusi, Metabolisme, Ekskresi, dan Toksisitas) serta interaksi molekuler senyawa aktif kopi ceri utuh terhadap protein AChE dibandingkan dengan donepezil dan skopolamin. **Metode:** Penelitian *in silico* meliputi analisis ADMETox menggunakan ADMETlab 2.0, SwissADME, dan ProTox-III, serta *molecular docking* terhadap protein AChE (PDB ID: 8DT7). Parameter meliputi druglikeness, farmakokinetik, toksisitas, energi pengikatan, konstanta inhibisi, dan visualisasi ikatan ligan-protein. **Hasil:** Kedua senyawa memenuhi aturan Lipinski, seperti berat molekul, HBA, HBD, dan LogP. Tetapi hanya *caffeic acid* menunjukkan absorpsi gastrointestinal tinggi. Keduanya tidak menembus sawar darah otak (BBB). *3-O-feruloylquinic acid* tidak toksik, sedangkan *caffeic acid* bersifat rendah karsinogenik dan memiliki nilai toksisitas akut pada mulut yang rendah. Energi pengikatan terkuat ditunjukkan oleh donepezil (-9,80 kcal/mol) terhadap AChE diikuti *caffeic acid* (-1,73 kcal/mol). Visualisasi memperlihatkan ikatan hidrogen stabil antara *caffeic acid* dan AChE. **Kesimpulan:** Meskipun belum sekuat donepezil, *caffeic acid* menunjukkan potensi sebagai kandidat awal penghambat AChE. Perlu modifikasi struktur atau sistem penghantaran untuk meningkatkan efektivitasnya.

Kata Kunci: Alzheimer, Asetilkolinesterase, *3-O-feruloylquinic acid*, *caffeic acid*, ADMETox, Docking Molekuler, Kopi Ceri Utuh.

ABSTRACT

Introduction: Alzheimer's disease is the most common form of dementia, accounting for 60–70% of global cases and significantly impacting cognitive function, particularly memory. One of its primary mechanisms is the reduction of acetylcholine (ACh) due to the accumulation of beta-amyloid, making the inhibition of the acetylcholinesterase (AChE) enzyme a primary therapeutic target. Natural compounds such as 3-O-feruloylquinic acid and caffeic acid in whole coffee cherry extract have potential as neuroprotective agents due to their antioxidant and anti-inflammatory properties. **Objective:** To evaluate the ADMETox profile (Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion, and Toxicity) and molecular interactions of active compounds in whole coffee cherries with the AChE protein compared to donepezil and scopolamine. **Methods:** In silico studies included ADMETox analysis using ADMETlab 2.0, SwissADME, and ProTox-III, as well as molecular docking against the AChE protein (PDB ID: 8DT7). Parameters included druglikeness, pharmacokinetics, toxicity, binding energy, inhibition constant, and ligand-protein binding visualization. **Results:** Both compounds meet Lipinski's rules, such as molecular weight, HBA, HBD, and LogP. However, only caffeic acid shows high gastrointestinal absorption. Neither compound crosses the blood-brain barrier (BBB). 3-O-feruloylquinic acid is non-toxic, while caffeic acid is low in carcinogenicity and has a low acute oral toxicity value. The strongest binding energy is shown by donepezil (-9.80 kcal/mol) toward AChE, followed by caffeic acid (-1.73 kcal/mol). Visualization shows stable hydrogen bonds between caffeic acid and AChE. **Conclusion:** Although not as strong as donepezil, caffeic acid shows potential as an initial candidate for an AChE inhibitor. Structural modifications or delivery systems are needed to enhance its efficacy.

Keywords: Alzheimer's, Acetylcholinesterase, 3-O-Feruloylquinic Acid, Caffeic Acid, ADMETox, Molecular Docking, Whole Cherry Coffee.

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
KATA PENGANTAR	iv
PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI SKRIPSI	vii
ABSTRAK	viii
ABSTRACT	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
DAFTAR SINGKATAN	xvi
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	3
1.3. Tujuan Penelitian	4
1.3.1 Tujuan Umum	4
1.3.2 Tujuan Khusus	4
1.4. Manfaat Penelitian	4
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1. Alzheimer	5
2.2. Asetilkolin	6
2.3. Ceri Kopi Utuh	8
2.3.1 Taksonomi Ceri Kopi Utuh	8
2.3.2 Morfologi Ceri Kopi Utuh	8
2.3.3 Fitokomia Ceri Kopi Utuh	9
2.3.4 Efek Farmakologi Ceri Kopi Utuh	10
2.4. 3-O-Feruloylquinic acid	11
2.5. Caffeic acid	11

2.6. Docking Molekuler	12
2.7. Absorpsi, Distribusi, Metabolisme, Ekskresi, Toksisitas (ADMETox).....	13
2.8. Hubungan Asetilkolin dengan Alzheimer	14
2.9. Kerangka Teori.....	16
2.10. Kerangka Konsep.....	17
BAB 3 METODE PENELITIAN	18
3.1. Definisi Operasional.....	18
3.2. Jenis dan Rancangan Penelitian	20
3.3. Waktu dan Tempat Penelitian.....	20
3.4. Populasi dan Sampel Penelitian	20
3.4.1 Populasi Penelitian	20
3.4.2 Sampel Penelitian.....	20
3.5. Teknik Pengumpulan Data	21
3.5.1 Alat dan Bahan.....	21
3.5.1.1 Analisis ADMEXTox dan Docking Molekul.....	21
3.6. Analisis Data	21
3.6.1 Analisis ADMEXTox.....	21
3.6.2 Analisis Docking Molekular	22
3.6.2.2 Pencarian Data Senyawa Aktif Ekstrak Ceri Kopi Utuh	22
3.6.2.3 Pemodelan Struktur 3D Protein	22
3.6.2.4 Doking dan Visualisasi Ligand-Protein Complex.....	22
3.7. Pengolahan dan Analisis Data	23
3.7.1 Pengolahan Data.....	23
3.7.2.1 ADMETox.....	23
3.7.2.2 Docking Molekuler.....	23
3.7. Pengolahan dan Analisis Data	23
3.8. Alur penelitian.....	25
3.8.1 ADMETox	25
3.8.2 Docking Molekular	26
BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN.....	27
4.1. Hasil Penelitian	27

4.1.1 Hasil Analisis ADMETox Senyawa <i>3-0-Feruloylquinic Acid</i> , <i>Caffeic Acid</i> Ekstrak Kopi Ceri Utuh, Donepezil dan Skopalamine	27
4.1.2 Hasil Analisis ADMETox Senyawa <i>3-0-Feruloylquinic Acid</i> , <i>Caffeic Acid</i> Ekstrak Kopi Ceri Utuh, Donepezil dan Skopalamine	31
4.1.2.1 Hasil Analisis ADMETox Senyawa <i>3-0-Feruloylquinic Acid</i> , <i>Caffeic Acid</i> Ekstrak Kopi Ceri Utuh, Donepezil dan Skopalamine	31
4.1.2.2 Hasil Pencairan Data Senyawa 3-0 FeruloylQuinic Acid dan Caffeic acid.....	31
4.1.2.3 Hasil Analisis Interaksi Antara Protein dan Ligand	34
4.1.2.4 Hasil Visualisasi Lignd-Protein Complex	36
4.1.2.4.1 Visualisasi AChE Terhadap Senyawa Aktif Ekstrak Kopi Ceri Utuh, Donepezil, dan Skopalamine	31
4.2. Pembahasan.....	38
BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN	43
5.1. Kesimpulan	43
5.2. Saran	43
DAFTAR PUSTAKA.....	45
LAMPIRAN	57

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 3.1 Definisi Operasional	18
Tabel 4.1 Hasil Kode SMILES senyawa 3-O-feruloylquinic acid dan caffeic acid ceri kopi utuh, skopalamine, dan donepezil.....	27
Tabel 4.2 Hasil Analisis Druglikeness Senyawa 3-O-feruloylquinic acid dan caffeic acid Kopi Ceri Utuh	28
Tabel 4.3 Hasil Analisis Farmakokinetik Senyawa Aktif Kopi Ceri Utuh.....	29
Tabel 4.4 Hasil Analisis Toksisitas Senyawa Aktif Kopi Ceri Utuh	30
Tabel 4.5 Validasi Grid box protein AChE	34
Tabel 4.6 Hasil energi pengikatan (EP (kcal/mol)), konstanta penghambatan (K _p (uM)), dan RMSD (Å) antara protein ACh dan AChE terhadap ligan sebagai jalur kolinergik.....	35

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Sintesis asetilkolin	7
Gambar 2.2 Morfologi Ceri kopi utuh	8
Gambar 2.3 Tanaman Ceri kopi utuh	8
Gambar 2.4 Patofisiologi Asetilkolin	15
Gambar 2.5 Kerangka Teori	16
Gambar 4.1 Struktur protein AChE (8DT7)	31
Gambar 4.2 Struktur senyawa 3-O-feruloylquinic acid	32
Gambar 4.3 Struktur senyawa caffeic acid	32
Gambar 4.4 Struktur senyawa donepezil	33
Gambar 4.5 Struktur senyawa skopolamin	33
Gambar 4.6 Struktur senyawa 3VI native ligand dari AChE	34
Gambar 4.7 Visualisasi 3D dan 2D dari AChE terhadap senyawa aktif kopi ceri utuh, Native Ligand, Donepezil, dan Skopolamin	37

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. <i>Website</i> PubChem	57
Lampiran 2. <i>Website</i> ADMETLab 2	58
Lampiran 3. <i>Website</i> swissADME	60
Lampiran 4. <i>Website</i> Protox 3.0.....	61
Lampiran 5. Aplikasi AutoDock Tools	62
Lampiran 6. Aplikasi Discovery Studio	63
Lampiran 7. Daftar Riwayat Hidup	64
Lampiran 8. Artikel Ilmiah	Error! Bookmark not defined.

DAFTAR SINGKATAN

A β	: Beta Amiloid
ACh	: Asetilkolin
AChE	: Asetilkolinesterase
ADMETox	: Absorpsi, Distribusi, Metabolisme, Ekskresi, Toksisitas
APP	: <i>Amyloid Precursor Protein</i>
Asetil CoA	: Asetil Koenzim A
BACE1	: <i>Beta-sekretase 1</i>
BBB	: <i>Blood-Brain Barrier</i>
ChAT	: Asetiltransferase
CGA	: <i>Chlorogenic Acids</i>
CYP	: <i>Cytochrome P450</i>
EP	: Energi Pengikatan
FQA	: <i>3-O-feruloylquinic acid</i>
GI absorption	: <i>Gastrointestinal absorption</i>
HBA	: <i>Hydrogen Bond Acceptor</i>
HBD	: <i>Hydrogen Bond Donor</i>
IC50	: <i>Inhibition Concentration 50</i>
LC50FM	: <i>Lethal Concentration 50% for Fish Models</i>
LC50DM	: <i>Lethal Concentration 50% for Daphnia Models</i>
MW	: <i>Molecular Weight</i>
PDB	: <i>Protein Data Bank</i>
Presenilin 1	: <i>PS1/γ-sekretase</i>
SARS-CoV-2	: <i>Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2</i>
SMILES	: <i>Simplified Molecular Input Line Entry System</i>
WCCE2	: <i>Whole Coffee Cherry Extract</i>
WHO	: <i>World Health Organization</i>

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Demensia di seluruh dunia saat ini lebih dari 55 juta orang atau dari 60% terdapat hampir 10 juta kasus baru.¹ Saat ini, demensia menduduki peringkat ketujuh sebagai penyebab kematian, dan merupakan salah satu penyebab utama ketergantungan dan kecacatan pada orang tua di seluruh dunia. Jenis demensia yang paling umum adalah penyakit Alzheimer yang menyumbang 60 hingga 70 persen kasus.² Alzheimer di Indonesia sudah terdapat sekitar 27,9% atau sekitar 4,2 juta orang.³

Penyakit Alzheimer menggambarkan serangkaian gejala yang dapat mencakup kehilangan ingatan dan kesulitan dalam berpikir, memecahkan masalah, atau berbahasa.⁴ Menurut hipotesis kaskade amiloid, penumpukan A β (beta amiloid) memicu kaskade proses neurodegeneratif, seperti peradangan, stres oksidatif, dan akumulasi protein Tau, yang pada akhirnya menyebabkan gejala-gejala tersebut.⁵ Perkembangan plak amiloid, yang bertanggung jawab atas akumulasi beta-amiloid, kerusakan neuron, dan pembentukan kekusutan protein tau juga menyebabkan menurunnya asetilkolin.⁶ Plak amiloid adalah deposit abnormal yang terbentuk di otak akibat penumpukan protein beta-amiloid.⁷ Selain itu, plak amiloid dapat menyebabkan gangguan pada fungsi sinapsis, yang mengakibatkan penurunan efektivitas transmisi sinaptik. Hal ini dapat memengaruhi sistem kolinergik dengan mengurangi kemampuan neuron untuk melepaskan asetilkolin secara efisien.⁸ Reaksi inflamasi yang dipicu oleh plak amiloid dapat merusak neuron dan sistem kolinergik serta memperparah kerusakan kognitif.⁹

Sebuah laporan mengungkapkan bahwa pasien Alzheimer mengalami penurunan jumlah ACh (Asetilkolin) di dalam otak mereka. ACh berkurang karena terinduksinya stres oksidatif dan sitokin inflamasi diproduksi oleh A β (beta amiloid). Radikal bebas yang dihasilkan karena peptida amiloid telah terbukti menurunkan konsentrasi ACh dengan menyebabkan neuron kolinergik di

hipokampus mengalami degenerasi.¹⁰ Hal ini dibuktikan dari data klinis bahwa otak penderita Alzheimer menunjukkan neurodegenerasi berat dan reduksi neuron kolinergik serta defisiensi Ach yang berat dimana aktivitas asetilkolintransferase menurun secara signifikan, yang selanjutnya menggambarkan kerusakan sistem kolinergik pada penderita Alzheimer setelah cedera berat.¹¹ Sistem kolinergik adalah salah satu sistem neurotransmitter terpenting yang terlibat dalam pembelajaran dan memori yang secara istimewa mengalami degenerasi pada tahap awal Alzheimer.¹² Sistem kolinergik mengacu pada jalur saraf yang menggunakan neurotransmitter Ach. Ach berperan dalam aktivasi otot, pembelajaran, dan memori.¹³

Pengobatan Alzheimer saat ini yang menargetkan Ach berfokus pada inhibitor AChE (Asetilkolinesterase), seperti *donepezil*, *rivastigmine*, *galantamine*, dan *tacrine*. Obat-obatan ini bekerja dengan cara menghambat enzim asetilkolinesterase, sehingga memperlambat pemecahan asetilkolin di sinapsis.¹⁴ Dengan meningkatkan kadar asetilkolin di otak, gejala kognitif seperti gangguan memori dan kebingungan dapat diredakan meskipun penyakit Alzheimer tidak dapat disembuhkan sepenuhnya.¹⁵

Bahan aktif dari bahan alami saat ini sedang menjadi fokus pengembangan pengobatan berbagai penyakit, termasuk penyakit Alzheimer. *Caffeic acid* adalah salah satu senyawa bioaktif yang ditemukan dalam kopi, bersama dengan kafein, asam klorogenat, dan polifenol lainnya. Senyawa-senyawa ini telah dikaitkan dengan berbagai efek positif terhadap kesehatan otak, khususnya dalam pencegahan penyakit neurodegeneratif seperti Alzheimer.¹⁶ Selain itu, *caffeic acid* juga berkontribusi sebagai antioksidan dan anti-inflamasi yang dapat melindungi otak dari kerusakan dan menurunkan risiko penyakit Alzheimer.¹⁷ Efek protektif ini optimal jika konsumsi kopi tidak berlebihan, namun peran spesifik *caffeic acid* masih memerlukan penelitian lebih lanjut.¹⁸

Senyawa *3-O-feruloylquinic acid* adalah salah satu senyawa asam klorogenat yang ditemukan dalam biji kopi.¹⁹ Pada penelitian sebelumnya juga menunjukkan bahwa asam *3-O-feruloylquinic*, sebagai turunan dari asam ferulic, dapat melindungi otak dengan mengurangi stres oksidatif, peradangan, dan

kematian sel, serta dapat membantu mencegah atau mengobati gangguan neurologis seperti stroke, depresi, dan penyakit Alzheimer.²⁰ Ekstrak ceri kopi utuh kaya akan kafein, ekstrak ini dicampurkan dalam perbandingan tertentu, dapat berfungsi sebagai makanan fungsional dan meminimalkan risiko penyakit Alzheimer.²¹ Pada penelitian sebelumnya dilaporkan bahwa ceri kopi utuh memiliki kandungan antioksidan dan meningkatkan kadar faktor neurotropik otak.²²

Banyak penelitian yang telah melakukan percobaan langsung untuk melihat efek dari *3-O-feruloylquinic acid* dan *caffeic acid* terhadap progresivitas penyakit Alzheimer.²³ Namun belum ada yang melakukan penelitian langsung untuk melihat bagaimana jenis interaksi molekuler antara senyawa aktif dari ekstrak ceri kopi utuh yaitu *3-O-feruloylquinic acid* dan *caffeic acid* terhadap Alzheimer melalui protein terkait jalur neurotropin terhadap Alzheimer melalui protein terkait jalur *beta-amyloid*, neurotropin, kolinergik, dan neuroinflamasi apakah memiliki interaksi yang baik atau tidak.²⁴

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. Oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan analisis ADMETox terhadap senyawa aktif pada ekstrak kopi ceri utuh berupa *3-O-feruloylquinic acid* dan *caffeic acid* dan analisis docking molekuler terhadap protein terkait jalur asetilkolinesterase.

1.2. Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah bagaimana karakteristik ADMETox dan docking molekuler dari senyawa *3-O-feruloylquinic acid* dan *caffeic acid* dalam ceri kopi utuh sebagai inhibitor asetilkolinesterase pada penyakit Alzheimer?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan umum

Tujuan umum dari penelitian ini adalah untuk menganalisis ADMETox dan docking molekular dari senyawa *3-O-feruloylquinic acid* dan *caffeic acid* dalam ceri kopi utuh sebagai inhibitor asetilkolinesterase pada penyakit Alzheimer

1.3.2. Tujuan khusus

1. Menganalisis ADMETox senyawa *3-O-feruloylquinic acid* dan *caffeic acid* dalam ceri kopi utuh menggunakan situs ADMETlab 2.0, SwissADME, dan ProTox-III.
2. Menganalisis energi pengikatan dan konstanta penghambatan antara senyawa aktif *3-O-feruloylquinic acid* dan *caffeic acid* ekstrak ceri kopi utuh terhadap protein *AChE* melalui studi docking molekuler.
3. Menganalisis visualisasi 2D antara senyawa aktif ekstrak ceri kopi utuh terhadap protein AChE.

1.4. Manfaat Penelitian

Manfaat yang dapat ditawarkan oleh penelitian ini adalah:

1. Memberikan ide-ide baru kepada peneliti untuk membantu memajukan ilmu pengetahuan di bidang kedokteran berbahan dasar alam untuk pengobatan penyakit saraf khususnya penyakit Alzheimer.
2. Pengobatan penyakit Alzheimer yang baru, lebih efektif dan aman untuk meningkatkan kualitas hidup masyarakat.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Alzheimer

Otak memiliki miliaran neuron, yang masing-masing dengan cabang panjang. Cabang-cabang ini memungkinkan neuron untuk membentuk koneksi dengan neuron lain. Pada koneksi tersebut yang disebut sinapsis, informasi mengalir dalam semburan kecil zat kimia yang dilepaskan oleh satu neuron dan diserap oleh neuron lain.²⁵ Otak mengandung triliunan sinapsis yang memungkinkan sinyal bergerak cepat melalui otak. Sinyal-sinyal ini adalah dasar dari ingatan, pikiran, sensasi, emosi, gerakan, dan keterampilan.²⁶ Para peneliti sebelumnya telah mengidentifikasi banyak perubahan di otak yang dapat mengganggu sinyal kimia terutama kerusakan sinaptik dan kematian neuron yang menyebabkan masalah dengan berpikir, belajar, dan fungsi sehari-hari yang muncul sebagai akibat dari penyakit Alzheimer.²⁷

Akumulasi fragmen protein beta-amiloid menjadi gumpalan yang disebut plak beta-amiloid di luar neuron serta bentuk abnormal protein tau di dalam neuron merupakan perubahan otak yang terkait dengan penyakit Alzheimer.²⁸ Plak dan akumulasi beta-amiloid yang lebih kecil dapat merusak neuron dengan mengganggu komunikasi antar neuron di sinapsis. Di dalam neuron, jalinan tau menghalangi transportasi nutrisi dan molekul lain yang penting untuk fungsi normal dan kelangsungan hidup neuron sambil merusak koneksi antar neuron.²⁹ Akumulasi beta-amiloid dan tau diikuti oleh kerusakan dan penghancuran neuron yang disebut neurodegenerasi dan sel-sel otak lainnya. Neurodegenerasi bersama dengan akumulasi beta-amiloid dan tau, merupakan ciri utama penyakit Alzheimer.¹⁰

Gejala klinis penyakit Alzheimer yang paling umum adalah gangguan kognitif atau adanya gangguan memori episodik yang berlangsung progresif dan kemudian berkembang menjadi gangguan kognitif yang lebih luas, termasuk kesulitan berbicara, memecahkan masalah, dan menjalankan tugas-tugas sehari-hari.³⁰ Memori episodik adalah kemampuan menyimpan dan menceritakan ulang

pengalaman pribadi terkait waktu dan tempat. Selain itu juga dapat mengalami perubahan emosional dan perilaku seperti kebingungan, kecemasan, atau agresi. Penyakit ini diderita pada orang-orang lanjut usia terutama pada (>65 tahun) walaupun terkadang dapat ditemukan pada usia yang lebih muda.²⁶ Penurunan kemampuan mengenali sesuatu yang perlahan menjadi semakin parah akibat gangguan di dalam otak yang sifatnya progresif atau perlahan-lahan hingga akhirnya penderita menjadi tidak mampu mengingat dan mengenali sesuatu. Tanda lainnya yaitu kebingungan, penilaian yang buruk, gangguan berbicara, dan halusinasi.³¹

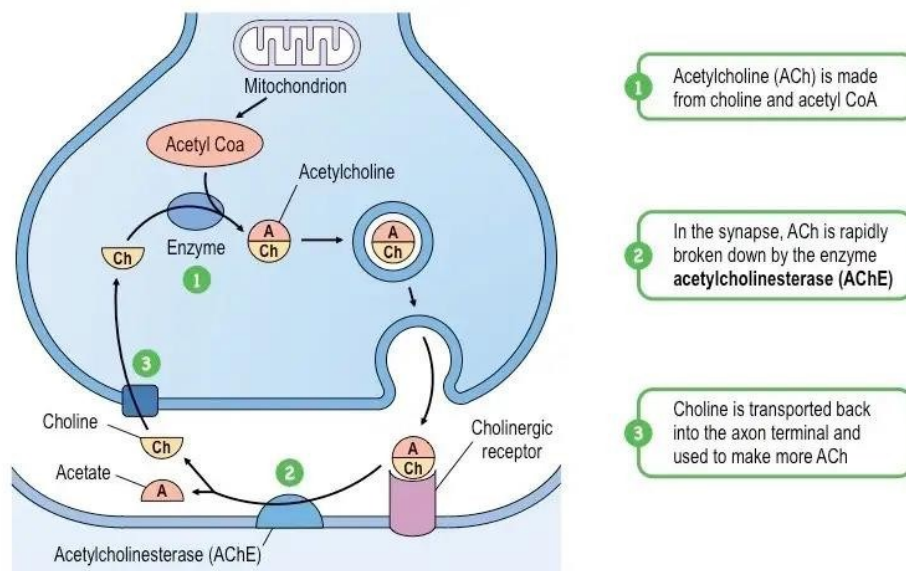
2.2. Asetilkolin

Asetilkolin adalah sebuah neurotransmitter yang berperan penting dalam sistem saraf, terutama dalam sistem saraf otonom.³² Ia bertanggung jawab untuk mengirimkan sinyal-sinyal antara neuron dan sel target, seperti otot atau sel-sel kelenjar.¹³ Proses dimana asetilkolin dilepaskan dari ujung saraf dan berikatan dengan reseptor di sel target disebut sebagai transmisi kolinergik. Asetilkolin diproduksi di terminal saraf neuron kolinergik.³³

Asetilkolin mempunyai dua reseptor yaitu reseptor nikotinik dan muskarinik.³² Reseptor nikotinik terletak di permukaan sel otot rangka, otot polos, dan di dalam sistem saraf pusat, reseptor ini bekerja cepat dan secara langsung menghasilkan respon kontraksi otot setelah terpapar asetilkolin.³⁴ Sedangkan reseptor muskarinik terdapat di jantung, otot polos, dan kelenjar dalam tubuh, berperan dalam pengaturan proses fisiologis yang lebih lambat, seperti denyut jantung, kontraksi otot polos, dan sekresi ginjal.³⁵

Sintesis asetilkolin dimulai dengan pembentukan asam amino kolin, kolin dihasilkan dalam tubuh melalui metabolisme lipid dan kemudian diangkut ke dalam neuron.³⁶ Di dalam neuron, kolin bergabung dengan asetil koenzim A (asetil CoA) melalui reaksi katalisis oleh enzim kolin asetiltransferase (ChAT).³⁷ Reaksi ini menghasilkan asetilkolin. Asetil CoA sendiri adalah substrat yang penting dalam banyak jalur metabolisme, termasuk dalam siklus asam sitrat di mitokondria sel.³⁸

Setelah di sintesis asetilkolin tidak langsung dilepaskan ke dalam celah sinaptik, asetilkolin disimpan dalam vesikel sinaptik untuk digunakan saat diperlukan.³⁷ Saat neuron menerima sinyal listrik, vesikel sinaptik mengalami fusi dengan membrane sinaptik yang menyebabkan pelepasan asetilkolin ke celah sinaptik. Asetilkolin yang dilepaskan menyeberang ke membrane postsinaptik dan berinteraksi dengan reseptor asetilkolin lalu menginisiasi respon postsinaptik baik berupa depolarisasi membrane atau sinyal lainnya, tergantung pada jenis reseptor yang terlibat.³⁹ Sinyal asetilkolin dihentikan oleh enzim Asetilkolinestrase (AChE) yang memecah asetilkolin menjadi asetat dan kolin. Kolin yang dihasilkan kemudian dapat diambil kembali oleh neuron presinaptik untuk digunakan kembali dalam sintesis asetilkolin yang baru.⁴⁰



Gambar 2.1 Sintesis asetilkolin⁴⁰

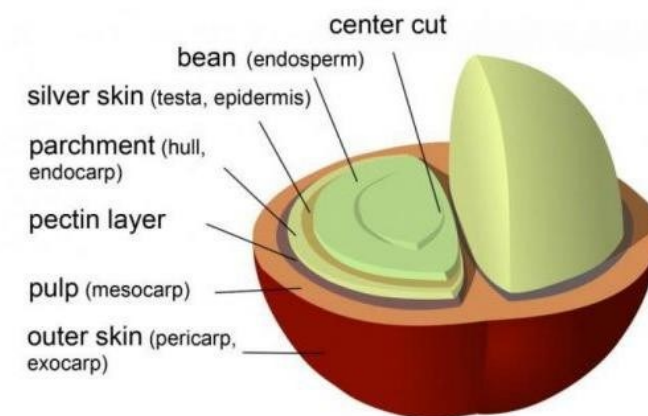
Asetilkolin juga terlibat dalam fungsi kognitif termasuk memori, belajar, dan perhatian.⁴¹ Beberapa area otak yang terlibat dalam fungsi kognitif seperti hipokampus dan korteks memiliki sistem saraf kolinergik yang kaya dengan neuron yang menggunakan asetilkolin sebagai neurotransmitter.¹³ Asetilkolin memainkan peran penting dalam pengaturan plastisitas sinaptik dan pembelajaran jangka panjang.⁴²

2.3. Ceri Kopi Utuh

2.3.1. Taksonomi Ceri kopi utuh

Ceri kopi utuh adalah buah kopi yang belum diolah terdiri dari kulit luarnya, daging buah, dan biji kopi di bagian dalamnya.⁴³ Ceri kopi utuh termasuk ke dalam Kerajaan (Plantae), Subkingdom (Viridiplantae), Infrakingdom (Streptophyta), Super Divisi (Embryophyta), Divisi (Tracheophyta), Sub Divisi (Spermatophyta), Kelas (Magnoliopsida), Superordo (Asteranae), Ordo (Gentinales), Famili (Rubiaceae), Genus (Coffea L.), Spesies (Coffea arabika L.).⁴⁴

2.3.2. Morfologi Ceri kopi utuh



Gambar 2.2 Morfologi Ceri kopi utuh.⁴⁵



Gambar 2.3 Tanaman Ceri kopi utuh.⁴⁶

Tanaman kopi arabika berasal dari hutan pegunungan di Etiopia, Afrika. Di habitat asalnya, tanaman ini tumbuh di bawah kanopi hutan tropis yang rimbun.⁴⁷ Tanaman ini banyak ditumbuhkan di dataran dengan ketinggian di atas 500 meter di atas permukaan laut. Tanaman kopi terdiri dari akar, batang, daun, bunga, dan buah, menurut morfologinya.⁴⁸ Tanaman kopi memiliki akar tunggang yang kuat dan tidak mudah rebah; sebagian besar akar berada di kedalaman 0–30 cm di bawah permukaan tanah.⁴⁹ Batang tanaman kopi adalah jenis tumbuhan berkayu yang tumbuh tegak ke atas dan memiliki warna putih keabu-abuan. Pada batang ada dua jenis tunas yaitu tunas seri, atau tunas reproduksi, tumbuh searah dengan tempat asalnya, dan tunas legitim, yang hanya dapat tumbuh sekali, membentuk sudut dengan tempat asalnya.⁵⁰

Daunnya berwarna hijau dan berbentuk menjorong dengan pangkal ujung yang meruncing. Karena ujung tangkai tumpul, bagian tepi daun terpisah. Satu pertulangan menyirip dari pangkal ujung hingga terusan tangkai.⁵¹ Daun juga berkilau bergantung pada spesiesnya.⁵² Tanaman kopi memiliki bunga yang relatif kecil, mahkota berwarna putih, dan aroma yang menyegarkan.⁵³ Kelopak bunga hijau terang yang akan membuka dengan mahkota bunga setelah dewasa dan akan menyerbukan untuk menghasilkan buah. Waktu yang diperlukan dari pembentukan bunga hingga buah matang berkisar antara 8 dan 11 bulan, tergantung pada jenis bunga dan faktor lingkungannya.⁵⁴

Buah pohon kopi terdiri dari daging buah dan biji.⁵⁵ Daging buahnya terdiri dari tiga lapisan: kulit luar (eksokarp), lapisan daging (mesokarp), dan stratum korneum yang tipis dan keras (endokarp).⁵⁶ Biji kopi biasanya berisi dua biji, namun bisa juga hanya berisi satu biji atau tidak ada biji sama sekali (kosong). Biji kopi memiliki morfologi yang berbentuk bulat telur dan bertekstur bulat telur.⁵⁵

2.3.3. Fitokimia Ceri kopi utuh

Kopi arabika mengandung senyawa kimia kompleks, senyawa yang paling banyak terdapat dalam kopi adalah asam klorogenat dan kafein.⁵⁷ Selain itu, kopi memiliki lebih dari ribuan bahan kimia alami seperti karbohidrat, lipid, senyawa

nitrogen, vitamin, mineral, alkaloid, dan senyawa fenolik, yang bermanfaat bagi kesehatan.⁵⁸

2.3.4. Efek Farmakologi Ceri kopi utuh

Secara kimia, ceri kopi utuh mengandung beragam senyawa yang menawarkan berbagai manfaat kesehatan serta nilai gizi yang signifikan, contohnya kafein.⁵⁹ Kafein adalah senyawa utama yang dikenal dari kopi, yang memberikan efek stimulan pada sistem saraf.⁶⁰ Kafein juga ditemukan dalam jumlah signifikan pada ceri kopi utuh, terutama pada biji kopinya.⁶¹

Selain kafein ceri kopi utuh juga mengandung asam klorogenat, antioksidan alami yang memiliki sifat antiinflamasi.⁶² Asam ini berperan penting dalam mengatur metabolisme glukosa.⁶³ Ceri kopi utuh kaya akan polifenol, yang merupakan antioksidan kuat. Senyawa triterpenoid ditemukan pada kulit buah ceri kopi utuh dan juga memiliki potensi sebagai antioksidan dan antiinflamasi.⁶⁴

Kafein (*1,3,7-trimethylxanthine*) adalah salah satu alkaloid utama yang ditemukan di berbagai makanan dan minuman.⁶⁵ Kafein bekerja memengaruhi SSP (sistem saraf pusat) karena bertindak sebagai inhibitor reseptor adenosin, sehingga neurotransmisi dopaminergik meningkat.⁶⁶ Selain itu, kafein juga berperan menghambat produksi β -amiloid dengan menghambat ekspresi Beta-sekretase 1 (BACE1) dan Presenilin 1 (PS1/ γ -sekretase).⁶⁷

Pada penelitian sebelumnya, para peneliti mengukur tingkat kafein dan menemukan sebesar 73%, yang menunjukkan bahwa penghambatan AChE terjadi karena adanya kafein dalam Whole coffee cherry extract (WCCE2) atau ekstrak ceri kopi utuh.⁶⁸ Kafein murni sintetis mendukung hipotesis ini, yang menunjukkan Inhibition Concentration (IC₅₀) sebesar 65 μg / mL dalam pengujian.⁶⁹ Dalam sebuah penelitian, asam klorogenat juga menunjukkan efek penghambatan moderat pada aktivitas AChE.⁷⁰

Secara keseluruhan, kopi ceri utuh adalah sumber alami senyawa bioaktif yang memiliki potensi manfaat bagi kesehatan, terutama karena kandungan antioksidan dan nutrisi lainnya yang mendukung metabolisme tubuh serta kesehatan jantung dan sistem kekebalan.^{71,72}

2.4. 3-O-Feruloylquinic acid

3-O-feruloylquinic acid (FQA) merupakan senyawa fenolik alami yang tergolong dalam kelompok asam klorogenat (Chlorogenic Acids atau CGA). CGA adalah senyawa ester yang terbentuk dari hasil reaksi antara asam sinamat (seperti asam kafeat, asam ferulat, dan asam p-kumarat) dengan asam kuinat.²⁰ Dalam hal ini, *3-O-feruloylquinic acid* terbentuk sebagai ester dari asam ferulat dan asam kuinat, di mana gugus feruloyl melekat pada posisi 3-O dari asam kuinat.²⁴ Nomor "3-O" dalam namanya menunjukkan posisi spesifik di mana asam ferulat terikat pada asam kuinat melalui ikatan ester.²³

Sejumlah studi menunjukkan bahwa *3-O-feruloylquinic acid*, bersama dengan senyawa asam klorogenat lainnya, berpotensi berperan sebagai penghambat alami enzim *asetilkolinesterase* (AChE).²⁴ Dengan menghambat enzim ini, *3-O-feruloylquinic acid* dapat memperlambat degradasi asetilkolin, sehingga meningkatkan konsentrasi neurotransmitter tersebut di celah sinaptik.²⁰ Peningkatan ketersediaan asetilkolin ini secara teoritis dapat membantu mendukung dan memperbaiki fungsi kognitif, yang sangat bergantung pada kelancaran transmisi sinyal asetilkolin.²³

2.5. Caffeic acid

Caffeic acid adalah salah satu senyawa bioaktif yang ditemukan dalam kopi, bersama dengan kafein, asam klorogenat, dan polifenol lainnya.⁷³ Senyawa-senyawa ini telah dikaitkan dengan berbagai efek positif terhadap kesehatan otak, khususnya dalam pencegahan penyakit neurodegeneratif seperti Alzheimer.⁷⁴ Senyawa dalam kopi, termasuk *caffeic acid*, berperan sebagai antioksidan yang dapat mengurangi peradangan di otak. Efek ini membantu melindungi sel-sel otak dari kerusakan oksidatif yang berkontribusi pada perkembangan penyakit Alzheimer dan Demensia.¹⁸

Konsumsi kopi dapat menurunkan kadar beta-amyloid (A β) plasma, yang merupakan salah satu biomarker utama dalam patogenesis penyakit Alzheimer. Penurunan kadar A β ini dapat memperlambat proses neurodegenerative.¹⁶ Beberapa studi menunjukkan bahwa konsumsi kopi secara rutin, yang

mengandung kafeic acid dan senyawa bioaktif lain, dapat memberikan efek protektif terhadap penurunan kognitif dan risiko Alzheimer.¹⁸

Caffeic acid adalah senyawa fenolik yang banyak diteliti karena potensi efeknya terhadap enzim asetilkolinesterase (AChE), yang berperan penting dalam regulasi neurotransmitter asetilkolin di otak.⁷⁴ Penghambatan AChE merupakan salah satu strategi utama dalam terapi penyakit Alzheimer dan gangguan kognitif lain. Studi molekuler menunjukkan bahwa kafeic acid dapat berikatan secara stabil di situs aktif AChE, dengan energi pengikatan sekitar -8,0 kcal/mol.¹⁷ Interaksi ini didukung oleh ikatan hidrofobik dan pi-anion, mirip dengan ligan asli AChE, sehingga kafeic acid berpotensi sebagai inhibitor AChE.⁷⁵

2.6. Docking Molekuler

Docking molekuler adalah pendekatan *in silico* yang banyak digunakan dalam pencarian senyawa aktif untuk pengembangan terapi baru.^{76,77} Metode ini membantu melihat interaksi antara protein dan ligan secara visual, sehingga meningkatkan keakuratan prediksi sebelum melangkah ke uji laboratorium.⁷⁸ Kelebihan metode ini terletak pada efisiensinya hemat biaya, cepat, sederhana, dan minim risiko sehingga populer dalam riset biomedis dan farmasetik.⁷⁹

Dalam praktiknya, docking molekuler dimulai dengan memperoleh struktur tiga dimensi (3D) dari target biologis, seperti protein, DNA, atau RNA.⁸⁰ Struktur target biasanya diakses dari database *Protein Data Bank* (PDB).⁸¹ Sementara itu, struktur ligan diperoleh dari sumber seperti *ZINC* atau *PubChem*. Setelah keduanya tersedia, ligan dan target diorientasikan untuk saling berinteraksi di situs aktif, membentuk kompleks yang stabil.⁸²

Hasil orientasi ini dinilai menggunakan nilai afinitas semakin rendah skor afinitas, semakin kuat kecenderungan ligan berikatan dengan target. Skor tersebut menjadi indikator utama untuk menilai potensi senyawa sebagai kandidat obat.⁸³ Berbagai temuan penelitian menunjukkan keberhasilan metode ini pada target terapi diabetes, hipertensi, serta penanggulangan virus SARS-CoV-2 (*Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2*).⁸⁴ Seiring kemajuan teknologi komputasi dan bioinformatika, docking molekuler diprediksi akan terus

berkembang dan memberikan kontribusi signifikan dalam penelitian obat-obatan masa depan.⁸⁵

2.7. Absorpsi, Distribusi, Metabolisme, Ekskresi, Toksisitas (ADMETox)

Proses penemuan kandidat terapi baru untuk mengatasi suatu penyakit merupakan tahapan yang memerlukan biaya besar serta prosedur yang kompleks.⁸⁶ Langkah-langkah tersebut mencakup pemilihan jenis penyakit, identifikasi target protein, hingga pelaksanaan uji praklinis dan uji klinis.⁸⁷ Pendekatan *in silico* hadir sebagai solusi yang dapat menyederhanakan tahap awal pengembangan obat, karena memungkinkan evaluasi awal tanpa perlu melakukan uji coba langsung pada hewan atau manusia.⁸⁸

Metode ini menawarkan banyak keuntungan, tidak sedikit kandidat terapeutik yang mengalami kegagalan dalam tahapan pengembangan lanjutan. Kegagalan ini umumnya disebabkan oleh kurangnya efektivitas terapi atau munculnya potensi toksisitas yang membahayakan.⁸⁹ Oleh karena itu, analisis terhadap aspek ADMETox (Absorpsi, Distribusi, Metabolisme, Ekskresi, dan Toksisitas) menjadi krusial dalam proses seleksi dan optimalisasi senyawa aktif sebagai kandidat terapi.⁹⁰

ADMETox merupakan metode evaluasi senyawa berdasarkan parameter farmakokinetik dan farmakodinamik.⁸⁸ Sejalan dengan prosedur docking molekuler, senyawa yang akan dikembangkan sebagai terapi perlu melalui tahapan seleksi ketat, seperti uji *druglikeness*, pengaruh terhadap enzim *Cytochrome P450* (CYP), serta tingkat toksisitas.⁹¹ Salah satu pedoman yang umum digunakan adalah aturan lima *Lipinski*, yang menetapkan bahwa suatu senyawa sebaiknya memenuhi paling tidak dua dari kriteria seperti, berat molekul di bawah 500 g/mol, *Hydrogen Bond Acceptors* <10 *Hydrogen Bond Donors* < 5, dan $\text{Log P} < 5$.⁸⁷ Apabila kriteria tersebut tidak terpenuhi, maka senyawa tersebut dinilai memiliki karakteristik ADMETox yang tidak mendukung dan sebaiknya tidak dipilih sebagai kandidat terapi.^{92,93}

2.8. Hubungan Asetilkolin dengan Alzheimer

Pada Alzheimer terjadi penurunan signifikan dalam fungsi sistem saraf kolinergik yang disebabkan oleh kerusakan dan kematian neuron kolinergik yang terletak di area-area penting otak, seperti nukleus basalis Meynert di dalam otak dan mengakibatkan penurunan kadar asetilkolin dalam sistem saraf pusat.⁹⁴ Sebagian besar gejala Alzheimer termasuk masalah memori dan gangguan berpikir yang dikaitkan dengan gangguan dalam fungsi kognitif yang dipengaruhi oleh asetilkolin.⁹⁵ Sistem saraf kolinergik memiliki peran penting dalam proses pembelajaran, memori, dan perhatian, yang mana penurunan kadar asetilkolin menyebabkan gangguan dalam proses-proses tersebut.⁹⁶

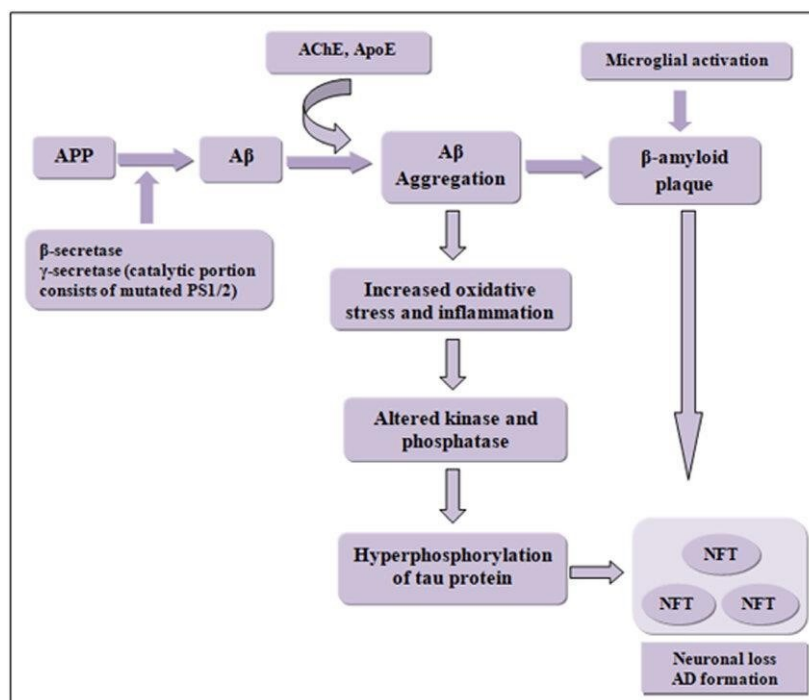
Asetilkolinesterase (AChE) merupakan enzim utama yang berperan dalam penghentian transmisi sinyal saraf kolinergik melalui pemecahan asetilkolin (ACh) menjadi kolin dan asam asetat.⁹⁷ Dalam kondisi normal, fungsi ini penting untuk menjaga keseimbangan aktivitas saraf dan mencegah overstimulasi. Namun, dalam konteks penyakit Alzheimer, AChE justru berperan destruktif melalui beberapa mekanisme patogenik. AChE tetap aktif secara berlebihan meskipun kadar ACh di otak menurun akibat kerusakan neuron kolinergik. Aktivitas enzimatik yang tidak menyesuaikan diri ini menyebabkan pemecahan ACh yang tersisa berlangsung sangat cepat, sehingga komunikasi antar neuron terganggu dan gejala kognitif seperti lupa dan kebingungan makin memburuk.⁹⁸

Selain itu AChE juga berinteraksi langsung dengan peptida β -amiloid ($A\beta$), yang merupakan komponen utama dari plak amyloid. Peptida $A\beta$ sendiri berasal dari pemecahan protein prekursor amiloid (APP – amyloid precursor protein), yang secara normal terdapat di membran sel neuron.⁹⁹ Proses ini terjadi melalui jalur enzimatik yang disebut jalur amiloidogenik, di mana APP dipotong secara berurutan oleh enzim β -sekretase (BACE1) dan γ -sekretase. Pemotongan ini menghasilkan fragmen peptida $A\beta$, khususnya $A\beta_{40}$ dan $A\beta_{42}$, yang bersifat hidrofobik dan cenderung menggumpal di luar sel.⁹⁸ $A\beta_{42}$ memiliki kecenderungan lebih tinggi untuk membentuk oligomer dan akhirnya fibril, yang kemudian terakumulasi menjadi plak amiloid di ruang ekstraseluler otak. Plak ini

bersifat toksik dan mengganggu fungsi sinaps, menyebabkan peradangan, stres oksidatif, dan kematian neuron secara progresif.¹⁰⁰

Interaksi ini terjadi melalui situs anionik perifer (*peripheral anionic site/PAS*) yang terdapat pada struktur AChE. Melalui situs tersebut, AChE menempel pada permukaan A β dan bertindak sebagai katalis dalam proses agregasi, yakni mempercepat penggabungan peptida A β menjadi struktur fibrilar padat yang beracun. AChE tidak hanya memicu agregasi, tetapi juga memperpendek fase awal (*lag phase*) dari pembentukan fibril A β , sehingga mempercepat proses pembentukan plak amiloid secara keseluruhan.⁹⁸

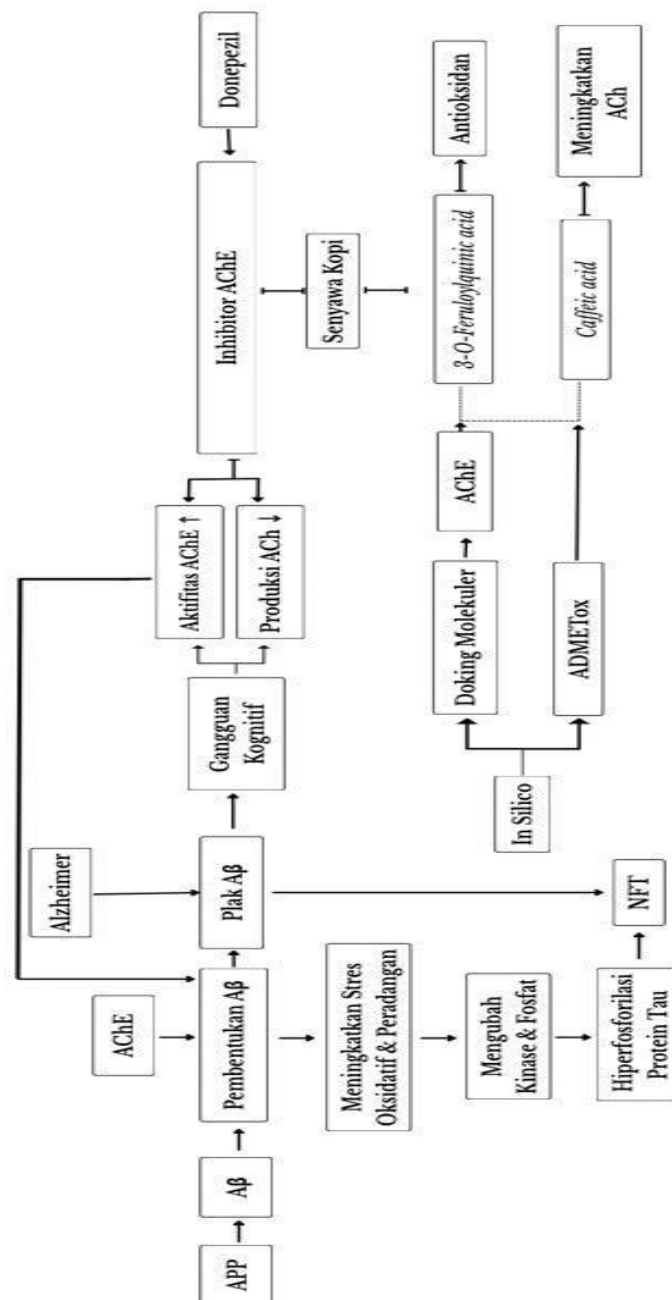
Kompleks yang terbentuk antara AChE dan A β terbukti memiliki toksisitas yang lebih tinggi dibandingkan A β yang berdiri sendiri. Kompleks ini lebih agresif dalam merusak sel saraf, mempercepat kematian neuron, dan menyebabkan gangguan kognitif yang khas pada penderita Alzheimer.¹⁰¹ Dengan demikian, AChE bukan hanya memperburuk defisit neurotransmisi melalui pemecahan asetilkolin, tetapi juga secara aktif berkontribusi dalam proses neurodegeneratif melalui perannya dalam pembentukan dan penguatan toksisitas plak amiloid.¹⁰²



Gambar 2.4 Patofisiologi Asetilkolin¹⁰³

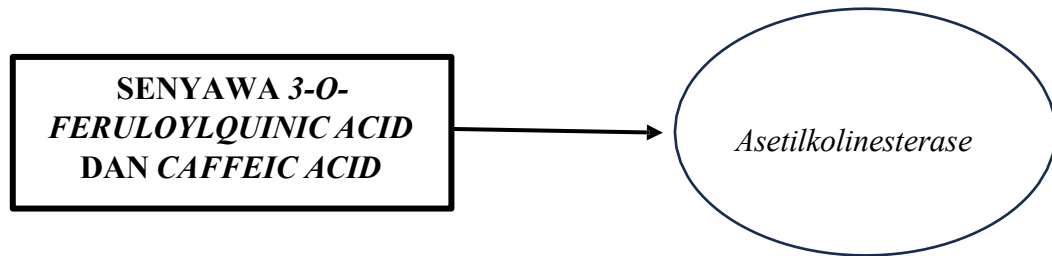
Salah satu pendekatan utama dalam pengobatan Alzheimer ialah menggunakan obat-obatan yang disebut asetilkolinesterase inhibitor.¹⁴ Obat-obatan seperti donepezil serta rivastigmine bekerja dengan meningkatkan kadar asetilkolin di sinapsis dengan menghambat enzim kolinesterase yang bertanggung jawab untuk pemecahan asetilkolin.¹⁰⁴

2.9. Kerangka Teori



Gambar 2.5 Kerangka Teori

2.10. 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
Protein AChE	Struktur 3D protein yang diperoleh melalui situs <i>Uniprot</i> dengan nomor ID: 8DT7 yang di docking molecular dengan senyawa target	Mengukur energi pengikatan dan konstanta penghambatan AChE dengan senyawa target menggunakan docking molekular	Ordinal	Semakin kecil energi pengikatan (< 0 kcal/mol) dan konstanta penghambatan (< 1 mM) maka semakin kuat interaksi ligan dan protein
Senyawa Skopalamin	Struktur senyawa aktif yang diperoleh dari situs <i>Uniprot</i> dengan nomor ID: 3000322	Mengukur energi pengikatan dan konstanta penghambatan AChE dengan senyawa target menggunakan docking molekular	Ordinal	Semakin kecil energi pengikatan (< 0 kcal/mol) dan konstanta penghambatan (< 1 mM) maka semakin kuat interaksi ligan dan protein

Senyawa Donepezil	Struktur senyawa aktif yang diperoleh dari situs <i>Uniprot</i> dengan nomor ID: 3152	Mengukur energi pengikatan dan konstanta penghambatan AChE dengan senyawa target menggunakan docking molekular	Ordinal	Semakin kecil energi pengikatan (< 0 kcal/mol) dan konstanta penghambatan (< 1 mM) maka semakin kuat interaksi ligan dan protein
Senyawa 3- <i>O</i> - <i>feruloylquinic</i> <i>acid</i>	Struktur senyawa aktif yang diperoleh dari situs <i>Uniprot</i> dengan nomor ID: 6451331	Mengukur energi pengikatan dan konstanta penghambatan AChE dengan senyawa target menggunakan docking molekular	Ordinal	Semakin kecil energi pengikatan (< 0 kcal/mol) dan konstanta penghambatan (< 1 mM) maka semakin kuat interaksi ligan dan protein
Senyawa <i>caffeic acid</i>	Struktur senyawa aktif yang diperoleh dari situs <i>Uniprot</i> dengan nomor ID: 689043	Mengukur energi pengikatan dan konstanta penghambatan AChE dengan senyawa target menggunakan docking molekular	Ordinal	Semakin kecil energi pengikatan (< 0 kcal/mol) dan konstanta penghambatan (< 1 mM) maka semakin kuat interaksi ligan dan protein

3.2. Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis 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 ceri kopi utuh, skopolamin, dan donepezil. Analisis doking molekuler menggunakan metode docking molekuler antara senyawa aktif ekstrak ceri kopi utuh, skopolamin, dan donepezil dengan protein target AChE.

3.3. Waktu dan Tempat Penelitian

Pelaksanaan penelitian dilakukan selama 1 bulan dari Juni-Juli 2025. Analisis ADMETox dan docking 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 AChE terhadap senyawa *3-O-feruloylquinic acid* dan *caffeic acid* ekstrak ceri kopi utuh, skopolamin, dan donepezil yang diperoleh melalui analisis *In silico*.

3.4.2. Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah senyawa *3-O-feruloylquinic acid* dan *caffeic acid* ekstrak ceri kopi utuh dan protein target AChE pada metode doking molekuler. Adapun kriteria inklusi protein AChE 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 docking molekuler:

1. Resolusi protein $> 3 \text{ \AA}$

2. Terdapat mutasi pada protein target (dengan sekuens yang sama saat visualisasi)

3.5. Teknik Pengumpulan Data

3.5.1. Alat dan bahan

3.5.1.1. Analisis ADMETox dan Docking 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/protox3/index.php?site=compound_input). Dan analisis docking 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/protox3/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 Docking Molekular

Pada penelitian ini dilakukan analisis komputasi berupa docking 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 Ceri Kopi Utuh

Struktur 2D dari senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak ceri kopi utuh diperoleh melalui situs *PubChem* (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>). Selanjutnya, file struktur 2D dengan format *.sdf dikonversi menjadi 3D, lalu diubah ke dalam format *.pdb menggunakan perangkat lunak *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 kotak 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. Docking Molekuler

Pengolahan data dari metode docking 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 docking 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

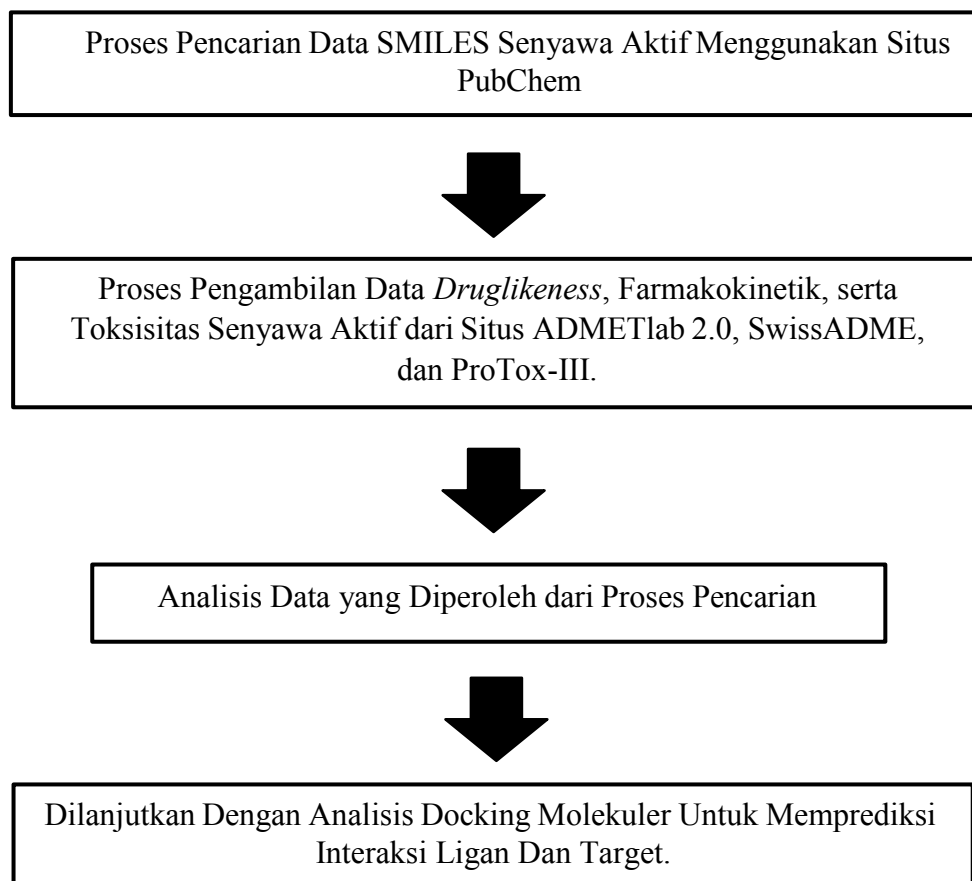
Data yang diperoleh kemudian dianalisis dengan mengacu pada pemenuhan kriteria aturan *lipinski*, yang mencakup parameter kelayakan obat secara farmakokinetik. Selain itu, dilakukan interpretasi terhadap kemampuan absorpsi gastrointestinal (GI) dan permeabilitas terhadap sawar darah-otak (BBB), evaluasi terhadap potensi penghambatan enzim *Cytochrome* P450 (CYP), serta penilaian terhadap tingkat toksisitas apabila senyawa dikonsumsi atau diadministrasikan ke dalam tubuh.

3.7.2.2. Docking Molekuler

Analisis hasil doking molekuler yang dilakukan menggunakan perangkat lunak *autodock tools* dievaluasi berdasarkan nilai energi ikatan (*binding energy*) dan konstanta inhibisi (*inhibition constant*). Tahap selanjutnya berupa visualisasi interaksi kompleks dilakukan dengan bantuan perangkat lunak *Discovery Studio*, *PyMOL*, dan *LigandScout*, yang berfungsi untuk mengidentifikasi jumlah serta jenis interaksi non-kovalen, seperti ikatan hidrogen dan residu asam amino yang terlibat. Visualisasi ini bertujuan untuk menentukan lokasi *active site* pada kompleks *Ligand-Protein*.

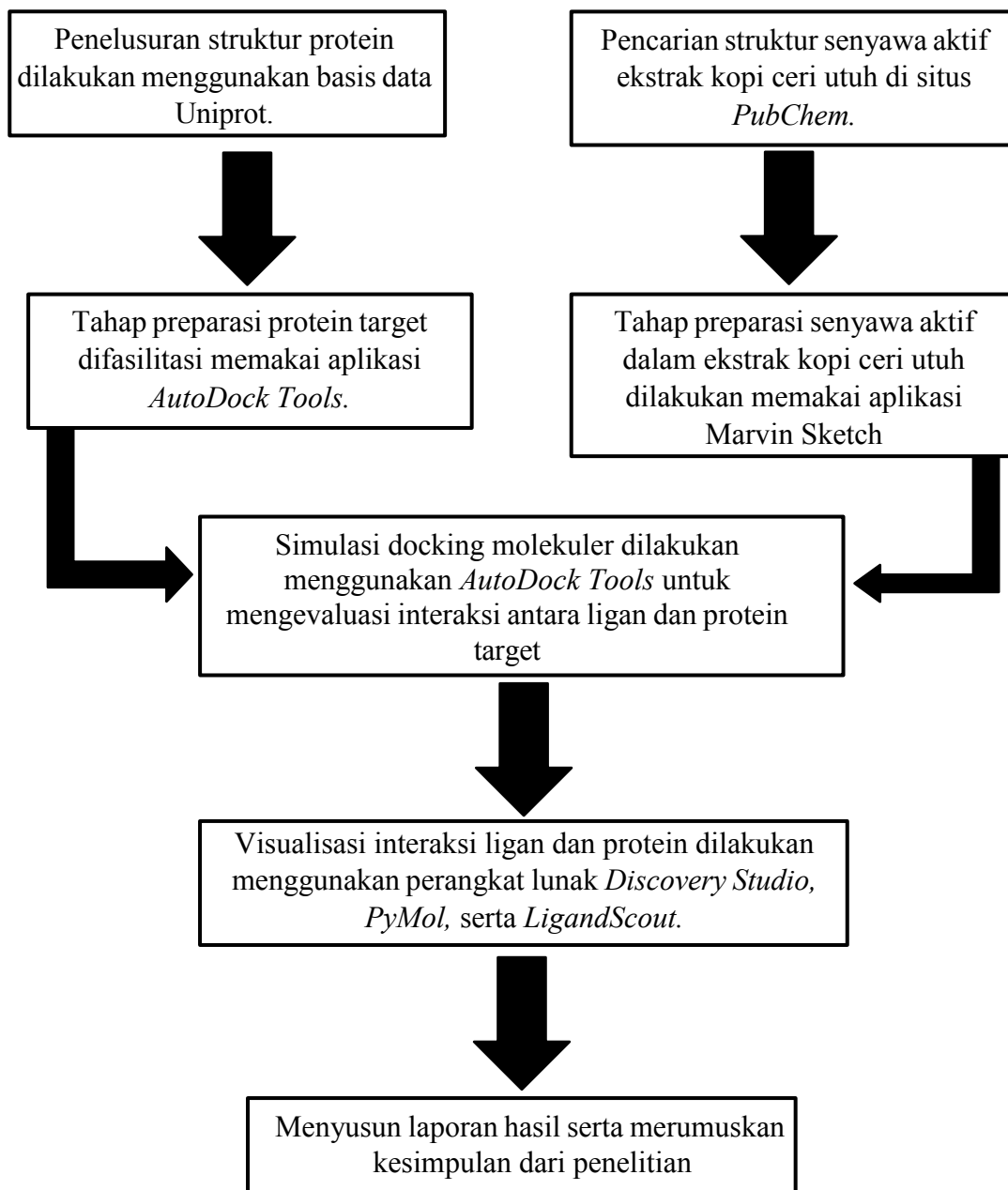
3.8. Alur penelitian

3.8.1. ADMETox



3.8.2. Docking Molekuler

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



BAB 4

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Hasil Penelitian

Analisis ADMETox pada senyawa *3-O-feruloylquinic acid* dan *caffeic acid* ceri kopi utuh, skopalamine, dan donepezil sebagai pembandingan. Dilakukan dengan menilai druglikeness, farmakokinetik, dan toksisitas. Pada analisis ADMETox menggunakan kode SMILES yang dimasukkan ke dalam website ADMETlab 2.0, SwissADME, dan ProTox-III. Kode SMILES diperoleh dari website PubChem. Adapun hasil kode SMILES dari setiap senyawa dapat dilihat dari tabel 4.1 berikut ini.

Tabel 4.1 Hasil Kode SMILES senyawa *3-O-feruloylquinic acid* dan *caffeic acid* ceri kopi utuh, skopalamine, dan donepezil.

No	Senyawa	SMILES	Link Website
1	<i>3-O-feruloylquinic acid</i>	<chem>COC1=C(C=CC(=C1)/C=C/C(=O)O[C@@H]2C[C@@](C[C@@H]([C@@H]2O)O)(C(=O)O)O</chem>	https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/pound/6451331
2	<i>caffeic acid</i>	<chem>C1=CC(=C(C=C1/C=C/C(=O)O)O)O</chem>	https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/pound/689043
3	Donepezil	<chem>COC1=C(C=C2C(=C1)CC(C2=O)C3CCN(CC3)CC4=CC=CC=C4)OC</chem>	https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/pound/3152
4	Skopalamine	<chem>CN1[C@@H]2CC(C[C@@H]1[C@@H]3[C@@H]2O3)OC(=O)C(CO)C4=CC=CC=C4</chem>	https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/pound/6451257

4.1.1. Hasil Analisis ADMETox Senyawa *3-O-Feruloylquinic Acid*, *Caffeic Acid* Ekstrak Kopi Ceri Utuh, Donepezil dan Skopalamine

Analisis ADMETox dilakukan dengan menilai karakteristik *druglikeness*, farmakokinetik, dan toksisitas senyawa *3-O-feruloylquinic acid* dan *caffeic acid* ekstrak kopi ceri utuh, donepezil dan skopalamine dengan bantuan website ADMETlab 2.0, SwissADME, dan ProTox-III. Pada analisis *druglikeness* menggunakan website ADMETlab 2.0 dengan link

<https://admetmesh.scbdd.com/service/evaluation/index>, dengan hasil yang ditunjukkan pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Hasil Analisis Druglikeness Senyawa *3-O-feruloylquinic acid* dan *caffeic acid* Kopi Ceri Utuh

<i>Senyawa</i>	<i>Druglikeness</i>			
	MW g/mol	HBA	HBD	Log P
3-O-FERULOYLQUINIC ACID	368.11	7	5	0.074
CAFFEIC ACID	180.04	4	3	1.01
SKOPOLAMIN	303.15	5	1	1.199
DONEPEZIL	379.21	4	0	4.191

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

Dari tabel 4.2. menunjukkan data druglikeness yang menunjukkan tentang berat molekul, HBA, HBD, dan Log P. Pada senyawa *3-O-feruloylquinic acid* ekstrak kopi ceri utuh memiliki berat molekul yang lebih besar dari skopolamin tetapi masih lebih kecil dari Donepezil, sedangkan senyawa *caffeic acid* lebih kecil daripada skopolamin dan Donepezil. Untuk nilai HBA pada senyawa *3-O-feruloylquinic acid* memiliki nilai yang lebih besar dari Skopolamin dan Donepezil, sedangkan senyawa *caffeic acid* memiliki nilai yang sama dengan Donepezil dan lebih rendah dari Skopolamin. Nilai HBD pada senyawa *3-O-feruloylquinic acid* dan *caffeic acid* lebih tinggi dari senyawa Donepezil dan Skopolamin. Dan untuk Log P memiliki nilai yang lebih rendah dari Skopolamin dan Donepezil.

Pada analisis farmakokinetik yang menggunakan website SwissADME (<http://www.swissadme.ch/>), dengan hasil yang ditunjukkan pada Tabel 4.3. Pada analisis farmakokinetik diperoleh hasil pada komponen penyerapan di saluran pencernaan (*Gastro intestinal (GI absorpstion)*), Penembusan pada sawar darah otak (*Blood brain barrier (BBB)*), dan penghambatan CYP. Nilai dari masing-masing komponen tersebut dapat dilihat pada tabel 4.3.

Tabel 4.3 Hasil Analisis Farmakokinetik Senyawa Aktif Kopi Ceri Utuh

Senyawa	Pharmakokinetics						
	GI absorp tio n	BBB perm ea nt	Penghambatan CYP				
			CYP 1A 2	CYP 2C 19	CYP 2C 9	CYP 2D 6	CYP 3A 4
3-O-FERULOYLQUINIC ACID	Low	No	---	---	---	--	---
CAFFEIC ACID	High	No	---	---	--	---	---
SKOPOLAMIN	High	No	---	---	---	--	--
DONEPEZIL	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 4.3. ditunjukkan bahwa senyawa *3-0-feruloylquinic acid* dari ekstrak ceri kopi utuh memiliki tingkat penyerapan yang rendah pada saluran cerna. Sedangkan senyawa *caffeic acid* memiliki tingkat penyerapan yang tinggi di saluran pencernaan sama seperti senyawa skopolamin dan donepezil. Dapat dilihat pada tabel, senyawa *3-0-feruloylquinic acid*, *caffeic acid*, dan skopolamin tidak dapat menembus sawar darah otak (BBB), sedangkan donepezil dapat menembus sawar darah otak. Pada penghambatan enzim sitokrom p (CYP) dari senyawa *3-0-feruloylquinic acid* dan skopolamin memiliki nilai penghambatan yang sama sebesar 0-0.1, kecuali pada CYP3A4. Penghambatan enzim sitokrom p (CYP) senyawa *caffeic acid* dan skopolamin memiliki nilai penghambatan yang sama sebesar 0-0.1, kecuali pada CYP2C19, CYP2D6, dan CYP3A4. Sedangkan pada donepezil memiliki nilai penghambatan yang lebih kecil pada CYP1A2, CYP2C19, CYP2D6, dan CYP3A4.

Hasil analisis selanjutnya adalah toksisitas yang menilai tingkat toksisitas pada mulut, kulit, pernafasan, tingkat karsiogenitas, LC_{50} (**Lethal Concentration 50%**) untuk *Daphnia*, LC_{50} (**Lethal Concentration 50%**) untuk *fish*, lipinski, dan kelas senyawa. Nilai dari masing-masing komponen tersebut dapat dilihat pada tabel 4.4.

Tabel 4.4 Hasil Analisis Toksisitas Senyawa Aktif Kopi Ceri Utuh

<i>Compound</i>	<i>Toxicity</i>						<i>Lipid</i>	<i>Kelas</i>
	<i>Oral Acute Toxicity</i>	<i>Skin sensitization</i>	<i>Carcinogenicity</i>	<i>Respiratory Toxicity</i>	<i>LC50 FM</i>	<i>LC50 DM</i>		
3-O-FERULOYLQUINIC ACID	---	---	---	+	3.477	4.133	Yes	5
CAFFEIC ACID	--	+++	-	-	4.064	4.506	Yes	4
SKOPOLAMINE	--	-	--	++	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 Toksik Tinggi); (+++) = 0,9-1 (Sangat Toksik).

Pada tabel 4.4. Senyawa *3-O-feruloylquinic acid* dari ekstrak kopi ceri utuh memiliki nilai toksisitas akut yang lebih rendah pada mulut dibanding skopolamin dan donepezil. Sedangkan senyawa *caffeic acid* memiliki nilai toksisitas akut pada mulut yang sama dengan skopolamin dan donepezil. Selanjutnya pada sensitivitas kulit senyawa *3-O-feruloylquinic acid* menunjukkan sensitivitas 0-0,1, lebih rendah dibandingkan dengan skopolamin dan donepezil. Sedangkan senyawa *caffeic acid* menunjukkan sensitivitas 0,9-1, lebih tinggi dibandingkan dengan skopolamin dan donepezil. Potensi sebagai karsinogen pada senyawa *3-O-feruloylquinic acid* juga lebih rendah dengan nilai 0-0,1 yang sama dengan donepezil dibandingkan dengan skopolamin. Sedangkan senyawa *caffeic acid* menunjukkan tingkat karsinogen yang lebih tinggi dibandingkan skopolamin dan donepezil. Untuk toksisitas terhadap sistem pernapasan senyawa *3-O-feruloylquinic acid* menunjukkan hasil yang kemungkinan toksik sedang dengan nilai 0,5-0,7 lebih rendah dari donepezil dan skopolamin, sedangkan pada senyawa *caffeic acid* menunjukkan nilai 0,3-0,5 yang mana juga lebih rendah

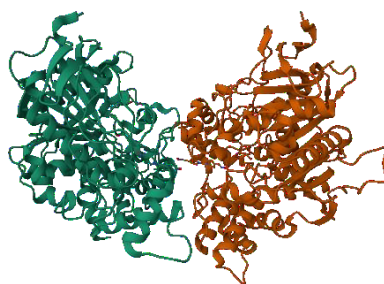
daripada donepezil dan skopolamin. Pada tingkat LC50FM dan LC50DM senyawa *3-O-feruloylquinic acid*, *caffeic acid* dan skopolamin memiliki tingkat toksisitas sedang, sedangkan donepezil memiliki tingkat toksisitas yang rendah.

4.1.2. Hasil Analisa Doking Molekuler

4.1.2.1. Hasil Pencarian Data Struktur Protein

Struktur dari protein AChE 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*.

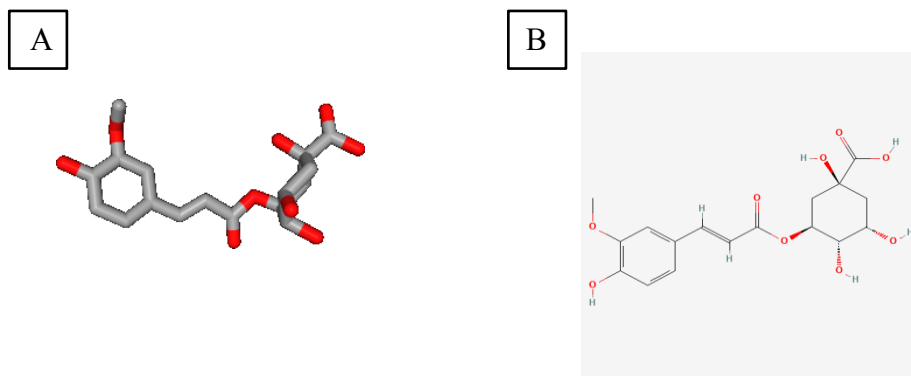
Berdasarkan penentuan pemilihan dari protein target, maka didapatkan protein AChE dengan kode 8DT7 (<https://www.rcsb.org/structure/8DT7>) yang diterbitkan pada tahun 2022 dengan resolusi 2.21 Å, tidak terdapat mutasi dan memiliki *native ligands* berupa *1,1'-methylenebis{4-[(E)-(hydroxyimino)methyl]pyridin-1-ium}* (3VI) (<https://www.rcsb.org/ligand-validation/8DT7/3VI>).¹⁰⁵



Gambar 4.1 Struktur protein AChE (8DT7).¹⁰⁵

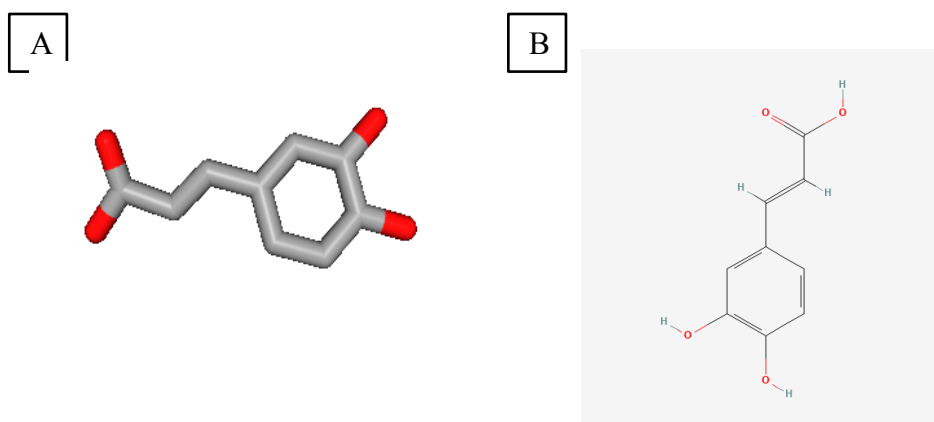
4.1.2.2. Hasil Pencarian Data Senyawa *3-O-feruloylquinic acid* dan *Caffeic acid*

Struktur senyawa aktif *3-O-feruloylquinic acid* diperoleh dari database *PubChem* dengan *PubChem* CID: 6451331 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/176>) yang diterbitkan pada tahun 2006 dengan formula molekul C₁₇H₂₀O₉ dan berat molekul 368.3 g/mol.¹⁰⁶



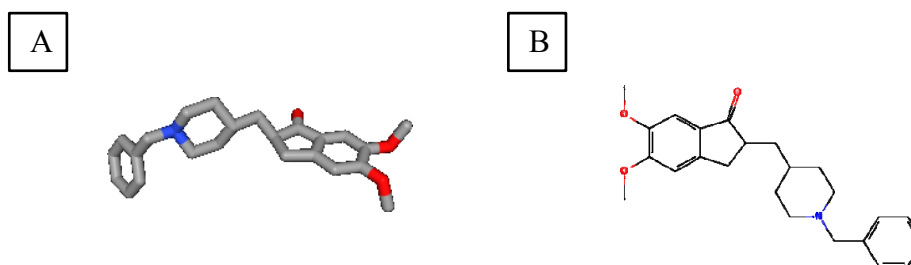
Gambar 4.2 Struktur senyawa *3-O-feruloylquinic acid*; A. 3 dimensi; B. 2 dimensi.¹⁰⁶

Pencarian data struktur senyawa aktif *caffeic acid* dilakukan menggunakan database *PubChem* dengan *PubChem* CID: 689043 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/262>) yang diterbitkan pada tahun 2004 dengan formula molekul $C_9H_8O_4$ dan berat molekul 180.16 g/mol.¹⁰⁷



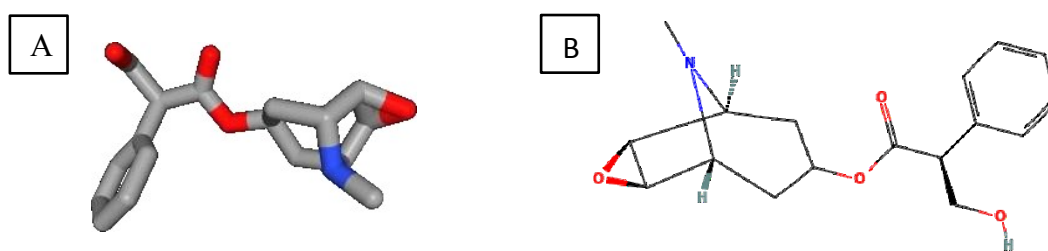
Gambar 4.3 Struktur senyawa *caffeic acid*; A. 3 dimensi; B. 2 dimensi.¹⁰⁷

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.¹⁰⁸



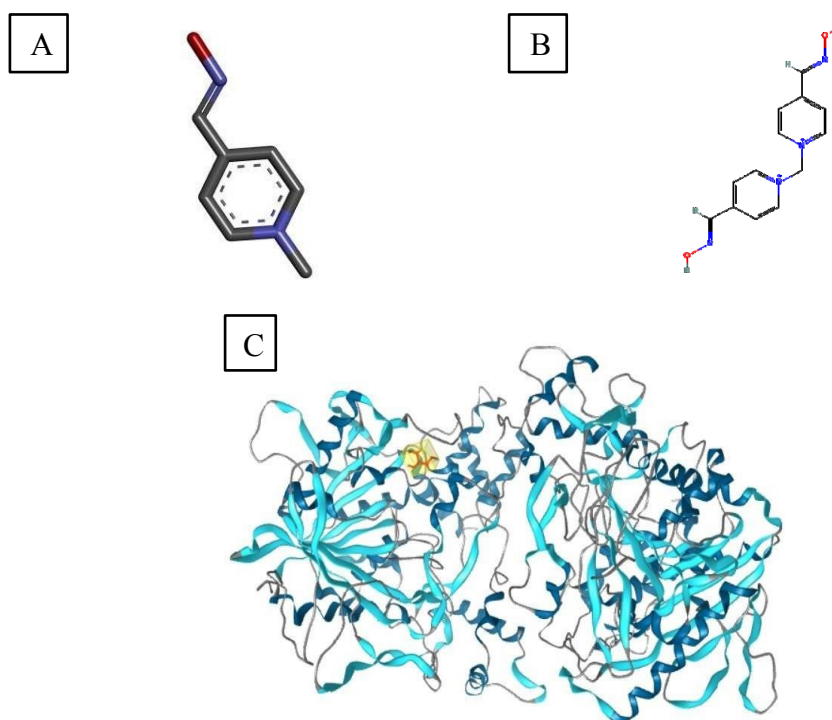
Gambar 4.4 Struktur senyawa donepezil; A. 3 dimensi; B. 2 dimensi.¹⁰⁸

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.¹⁰⁹



Gambar 4.5 Struktur senyawa skopolamin; A. 3 dimensi; B. 2 dimensi.¹⁰⁹

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.¹¹⁰



Gambar 4.6 Struktur senyawa 3VI native ligand dari AChE; A. 3 dimensi; B. 2 dimensi; C. keberadaan senyawa 3VI sebagai native ligands dari AChE (kotak kuning).¹¹⁰

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 AChE dilakukan doking ulang dengan menggunakan *native ligands* itu sendiri menggunakan validasi *grid box* 40x40x40, 50x50x50, dan 60x60x60.¹¹¹

Tabel 4.5 Validasi Grid box protein AChE

Protein	Grid Box	EP (kcal/mol)	RMSD (Å)
AChE	40x40x40	-0.89	10.344
	50x50x50	-3.90	9.018
	60x60x60	-4.69	8.503

Keterangan : 60x60x60 Grid Box yang dipilih

Berdasarkan hasil doking ulang protein AChE terhadap *native ligand* masing masing protein, digunakan *grid box* 60x60x60 karena memiliki energi pengikatan terendah. Namun, RMSD < 2 Å dapat diabaikan pada hasil validasi karena hasil ketiga validasi memiliki nilai RMSD > 2 Å. Prosedur ini dilakukan untuk memastikan bahwa senyawa aktif berada pada situs aktif dari protein target.¹¹²

Setelahnya, dilakukan doking molekuler dari senyawa aktif terhadap protein AChE menggunakan validasi *grid box* yang telah dilakukan. Didapatkan hasil doking molekuler sebagai berikut:

Tabel 4.6 Hasil energi pengikatan (EP (kcal/mol)), konstanta penghambatan (KP (uM)), dan RMSD (Å) antara protein ACh dan AChE terhadap ligan sebagai jalur kolinergik.

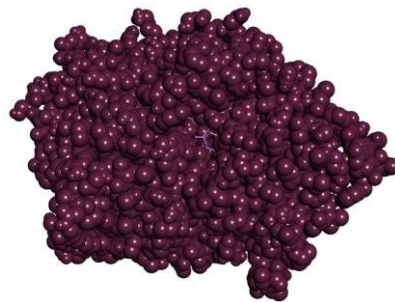
Komponen Bioaktif	AChE		
	EP	KP	RMSD
<i>3-O-feruloylquinic acid</i>	+6.79	-	105.983
<i>Caffeic Acid</i>	-1.73	5397	106.822
Donepezil	-9.80	0.0658	114.249
Skopolamin	+0.78	-	99.197

Berdasarkan data doking molekuler yang dilakukan pada protein jalur kolinergik, didapatkan energi pengikatan dan konstanta penghambatan tertinggi adalah *3-O-Feruloylquinic acid* terhadap AChE dengan nilai +6.79 kcal/mol, sedangkan energi pengikatan dan konstanta penghambatan terendah adalah donepezil terhadap AChE dengan nilai -9.80 kcal/mol dan 0.0658 uM. Hasil doking molekuler yang dilakukan terhadap senyawa aktif ekstrak kopi ceri utuh, donepezil, dan skopolamin terhadap AChE memiliki nilai < 0 kcal/mol kecuali asam klorogenat-AChE dan skopolamin-AChE bernilai +6.79 kcal/mol dan +0.78 kcal/mol.

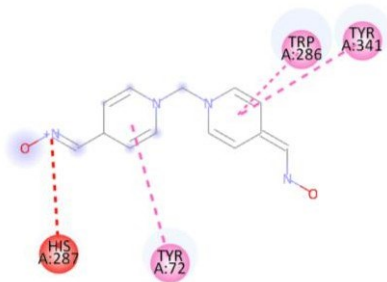
4.1.2.4. Hasil Visualisasi Lignd-Protein Complex

4.1.2.4.1. Visualisasi AChE Terhadap Senyawa Aktif Ekstrak Kopi Ceri Utuh, Donepezil, dan Skopolamin.

A



B

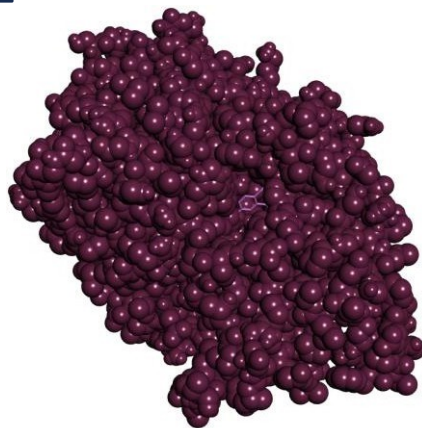


Interactions

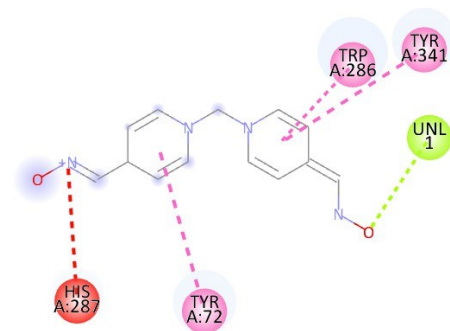
Unfavorable Positive-Positive
Pi-Pi Stacked

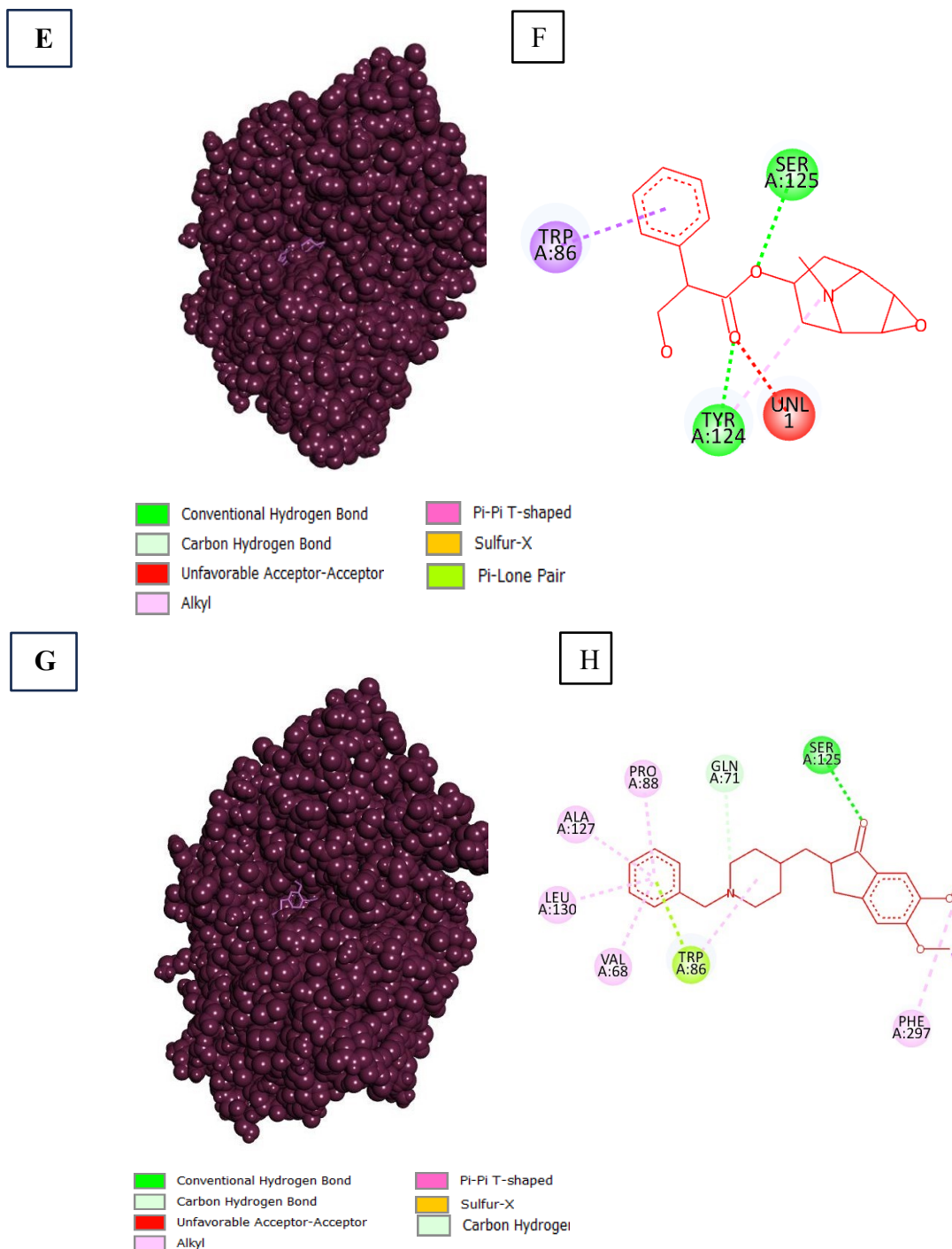
Pi-Pi T-shaped

C



D





Gambar 4.7 Visualisasi 3D dan 2D dari AChE terhadap senyawa aktif kopi ceri utuh, Native Ligand, Donepezil, dan Skopolamin.

A. Visualisasi 3D AChE-3-*O*-feruloylquinic acid; B. Visualisasi 2D AChE-3-*O*-feruloylquinic acid; C. Visualisasi 3D AChE-caffeic acid; D. Visualisasi 2D AChE-caffeic acid; E. Visualisasi 3D AChE-Skopolamin;

F. Visualisasi 2D AChE-Skopolamin; G. Visualisasi 3D AChE-
Donepezil; dan H. Visualisasi 2D AChE-Donepezil;

Dari hasil visualisasi AChE terhadap senyawa aktif ekstrak kopi ceri utuh, donepezil, dan skopolamin didapatkan bahwa ikatan antara AChE-3-*O*-*feruloylquinic acid* tidak memiliki ikatan hidrogen pada sekuens asam amino; AChE-*caffeic acid* memiliki 1 ikatan hidrogen pada sekuens asam amino UNL1; 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.

4.2. Pembahasan

Analisis ADMETox bertujuan untuk mengevaluasi karakteristik farmakokinetik, farmakodinamik, serta potensi toksisitas dari suatu senyawa yang diharapkan dapat dikembangkan sebagai agen terapi.¹¹³ Oleh karena itu, analisis ini menjadi langkah penting dalam memahami bagaimana suatu senyawa berinteraksi di dalam tubuh. Tabel klasifikasi yang disajikan memberikan gambaran sejauh mana senyawa aktif memenuhi kriteria untuk dijadikan kandidat obat. Penilaian ini juga mengacu pada aturan Lipinski, yang digunakan untuk menilai kemungkinan suatu senyawa memiliki aktivitas farmakologis yang baik.¹¹⁴ Kriteria dalam aturan tersebut meliputi berat molekul di bawah 500 g/mol, nilai Log P kurang dari 5, serta jumlah donor dan akseptor ikatan hidrogen masing-masing tidak lebih dari 5 dan 10, dengan minimal dua dari empat parameter yang harus terpenuhi. Berdasarkan hasil analisis, seluruh senyawa aktif dari ekstrak kopi ceri utuh, yakni 3-*O*-*feruloylquinic acid* dan *caffeic acid*, memenuhi kriteria Lipinski, yang menunjukkan bahwa senyawa-senyawa ini berpotensi memberikan efek farmakologis yang menguntungkan.¹¹⁵

Berdasarkan hasil analisis ADMETox menggunakan ADMETlab 2.0, SwissADME, dan ProTox-III, senyawa 3-*O*-*feruloylquinic acid* dan *caffeic acid* dari ekstrak kopi ceri utuh menunjukkan karakteristik yang berbeda dibandingkan senyawa pembanding, yaitu donepezil dan skopolamin. Dari segi *druglikeness*, senyawa 3-*O*-*feruloylquinic acid* memiliki berat molekul (MW) 368.11 g/mol, lebih tinggi dari skopolamin (303.15 g/mol) dan *caffeic acid* (180.04 g/mol),

tetapi sedikit lebih rendah dari donepezil (379.21 g/mol). Jumlah akseptor dan donor ikatan hidrogen (HBA dan HBD) pada *3-O-feruloylquinic acid* relatif tinggi (HBA: 7, HBD: 5), menandakan kemungkinan interaksi yang baik dengan enzim target, meskipun dapat berdampak negatif pada permeabilitas membran.¹¹⁶

Dari sisi ekskresi, seluruh senyawa memenuhi *Lipinski's rule of five*, yang menunjukkan bahwa sifat fisikokimianya memungkinkan eliminasi yang relatif baik baik melalui ginjal maupun jalur metabolik lainnya.¹¹⁷

Pada parameter absorpsi, senyawa *3-O-feruloylquinic acid* menunjukkan tingkat *gastrointestinal (GI) absorption* yang rendah, dengan nilai Log P sebesar 0,074 yang mengindikasikan kelarutan air tinggi namun permeabilitas membran yang rendah. Sebaliknya, *caffeic acid*, skopolamin, dan donepezil memiliki GI absorption tinggi, didukung oleh nilai Log P > 1 yang menunjukkan keseimbangan kelarutan dan permeabilitas yang lebih optimal. Perbedaan ini mengimplikasikan bahwa *3-O-feruloylquinic acid* kemungkinan kurang efisien untuk mencapai konsentrasi terapeutik melalui jalur oral dibandingkan senyawa lainnya.^{118,119}

Pada aspek distribusi, hanya donepezil yang menunjukkan kemampuan menembus *blood brain barrier* (BBB), suatu sifat penting untuk terapi penyakit neurodegeneratif seperti Alzheimer yang memiliki target aksi di sistem saraf pusat. Senyawa *3-O-feruloylquinic acid*, *caffeic acid*, dan skopolamin tidak dapat menembus BBB, sehingga efektivitasnya terhadap target di otak kemungkinan lebih rendah.^{120,121}

Jika suatu senyawa tidak dapat menembus *blood-brain barrier* (BBB), terdapat beberapa strategi atau metode yang dapat digunakan untuk meningkatkan permeabilitasnya ke dalam otak. Seperti, pertama bisa dilakukan modifikasi struktur kimia senyawa, contohnya mengubah struktur senyawa agar menjadi lebih lipofilik (larut lemak) dan memiliki ukuran molekul lebih kecil dapat meningkatkan kemampuan menembus BBB.¹²² Lalu bisa juga menggunakan sistem penghantaran obat (*Drug Delivery Systems*), seperti nanopartikel, liposom, dendrimer, atau vesikel yang dapat membawa senyawa menembus BBB.¹²³ Penggunaan Vektor Transporter Aktif (Carrier-mediated transport) seperti

mengkombinasikan senyawa dengan substrat transporter endogen di BBB seperti GLUT1 (glukosa transporter) atau LAT1 (large amino acid transporter) juga dapat dilakukan.¹²⁴

Selain itu Peningkatan Transpor Melalui Reseptor (Receptor-mediated transcytosis) seperti mengikatkan senyawa ke ligan atau antibodi yang dapat dikenali oleh reseptor di permukaan sel endotel BBB, seperti reseptor transferrin atau insulin.¹²⁵ Menggunakan Teknik Fisik, seperti Focused Ultrasound (FUS), Teknologi seperti FUS ini dikombinasikan dengan microbubbles dapat membuka BBB secara temporer dan reversibel.¹²⁶ Inhibitor Efflux Transporter (seperti P-gp Inhibitor), beberapa senyawa yang ditolak keluar dari otak oleh *efflux transporter* seperti P-glycoprotein (P-gp). Menghambat transporter ini dapat meningkatkan konsentrasi senyawa di otak, juga dapat dilakukan.¹²⁷

Hasil metabolisme yang dianalisis melalui penghambatan enzim sitokrom P450 (CYP) menunjukkan bahwa *3-O-feruloylquinic acid* memiliki profil yang relatif aman karena hampir tidak menghambat semua isoenzim CYP. *Caffeic acid* hanya menunjukkan hambatan rendah pada CYP2C19 dan CYP2D6, sedangkan skopolamin memiliki hambatan rendah pada CYP3A4. Sebaliknya, donepezil memiliki hambatan yang signifikan pada CYP2D6 (+++), sehingga berpotensi menimbulkan interaksi obat jika digunakan bersamaan dengan senyawa lain yang dimetabolisme oleh enzim tersebut. Inhibisi rendah terhadap CYP450 bisa bermakna dua hal, Positif artinya senyawa tidak menyebabkan interaksi obat sehingga aman digunakan bersama obat lain. Sedangkan negatif artinya senyawa terlalu cepat dimetabolisme (*substrat CYP*) atau bioavailabilitas rendah sehingga perlu strategi untuk memperlambat metabolisme.¹²⁸

Ada beberapa strategi yang dapat dilakukan untuk mengurangi metabolisme cepat oleh CYP450, yang pertama bisa dilakukan Modifikasi Struktur Kimia (Metabolic Soft Spot Modification), yaitu mengganti gugus yang mudah dimetabolisme (seperti gugus metil, fenil bebas) dengan gugus yang lebih tahan terhadap oksidasi oleh CYP450.¹²⁹ Inhibitor Metabolik Pendamping (Pharmacokinetic Enhancer), seperti Co-administration dengan senyawa yang secara selektif menghambat CYP450 untuk memperpanjang *half-life* senyawa

utama.¹³⁰ Formulasi obat dengan Sistem Sustained Release yang contohnya Jika senyawa dimetabolisme cepat karena tidak menghambat CYP450, maka pelepasan lambat (*controlled release*) akan mempertahankan kadar senyawa dalam plasma lebih stabil juga dapat dilakukan.¹³¹ Lalu *Prodrug Strategy* atau mengubah senyawa menjadi prodrug yang lebih stabil dan kurang dikenali oleh enzim CYP450, lalu diaktifkan di tempat target.¹³² Dan strategi lain yang dapat dilakukan yaitu modifikasi jalur eliminasi (Menghindari jalur CYP450) seperti mengalihkan metabolisme ke jalur non-CYP seperti UGT (glukuronidasi), sulfotransferase, atau metabolisme ginjal.¹³³

Analisis toksisitas menunjukkan bahwa *3-O-feruloylquinic acid* memiliki profil toksisitas yang paling aman dengan tidak adanya potensi toksisitas pada mulut, kulit, dan bersifat tidak karsinogenik, tetapi memiliki efek kemungkinan toksik sedang pada pernafasan. Berbeda dengan *caffeic acid* yang menunjukkan tingkat toksisitas tinggi pada kulit (*skin sensitization* (+++)), potensi karsinogenik ringan, dan nilai toksisitas pernafasannya lebih kecil. Skopolamin memiliki toksisitas pernapasan tinggi (++), sedangkan donepezil menunjukkan toksisitas pernapasan sangat tinggi (+++), meskipun toksisitas akuatiknya (LC50) relatif rendah dibanding senyawa lain.¹³⁴

Secara keseluruhan, profil ADMETox ini menunjukkan bahwa *3-O-feruloylquinic acid* unggul dari sisi keamanan dan minim risiko interaksi metabolik, namun memiliki kelemahan pada absorpsi dan penetrasi BBB. *Caffeic acid* unggul pada absorpsi, tetapi memiliki potensi toksisitas kulit yang signifikan. Donepezil tetap menjadi senyawa pembanding dengan penetrasi BBB optimal, meskipun berisiko interaksi obat akibat hambatan metabolik dan toksisitas pernapasan yang tinggi.^{135,136}

Studi *docking molekuler* dilakukan untuk mengevaluasi interaksi antara senyawa aktif dengan enzim asetilkolinesterase (AChE) yang menjadi target utama dalam pengobatan penyakit Alzheimer. Protein AChE yang digunakan memiliki kode PDB 8DT7, dengan resolusi 2.21 Å, tidak terdapat mutasi, dan memiliki native ligand (3VI) sebagai acuan interaksi. Validasi grid box dilakukan dengan tiga ukuran berbeda untuk menentukan parameter terbaik dalam *docking*.

Grid box 60x60x60 dipilih karena menghasilkan energi pengikatan terendah (-4.69 kcal/mol), walaupun seluruh nilai RMSD melebihi 2 Å, menandakan ketidaksempurnaan reproduksi posisi ligan, namun tetap digunakan sebagai pendekatan awal untuk pengikatan senyawa uji.¹³⁷

Hasil *docking molekuler* menunjukkan bahwa donepezil memiliki afinitas tertinggi terhadap AChE dengan energi pengikatan paling rendah (-9.80 kcal/mol) dan konstanta penghambatan sangat kecil (0.0658 µM), menandakan kekuatan ikatan dan potensi aktivitas biologis yang sangat baik. Sebaliknya, senyawa 3-*O-feruloylquinic acid* dan skopolamin menunjukkan energi pengikatan positif (+6.79 dan +0.78 kcal/mol), yang menunjukkan ketidakterikatan atau afinitas yang sangat lemah terhadap AChE. *Caffeic acid* memiliki energi pengikatan yang lemah (-1.73 kcal/mol) dan konstanta penghambatan yang tinggi (5397 µM), menandakan interaksi yang tidak efektif. Ini sejalan dengan hasil ADMETox sebelumnya yang menyebutkan bahwa *caffeic acid* tidak dapat melewati sawar darah otak dan memiliki potensi toksisitas kulit yang tinggi.¹³⁸

BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Dari hasil penelitian dan pembahasan yang telah dilakukan mengenai bagaimana analisis interaksi senyawa aktif ekstrak kopi ceri utuh pada Alzheimer melalui jalur asetilkolinesterase melalui percobaan ADMETox dan doking molekuler, maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Senyawa *3-O-feruloylquinic acid* dan *caffeic acid* dari ekstrak kopi ceri utuh memiliki profil keamanan yang baik dengan toksisitas rendah, tidak menghambat enzim CYP secara signifikan, dan memenuhi *Lipinski's rule of five*.
2. Hasil *molecular docking* menunjukkan bahwa baik *3-O-feruloylquinic acid* maupun *caffeic acid* dapat berinteraksi dengan protein target asetilkolinesterase (AChE), dengan energi pengikatan dan konstanta penghambatan yang menunjukkan afinitas tertentu terhadap situs aktif enzim. Meskipun afinitas ini tidak melebihi obat pembanding donepezil, hasilnya mengindikasikan bahwa kedua senyawa berpotensi berperan sebagai inhibitor AChE.
3. Visualisasi interaksi 2D menunjukkan bahwa kedua senyawa mampu membentuk ikatan hidrogen dan interaksi hidrofobik dengan residu asam amino penting pada situs aktif AChE. Pola interaksi ini memperkuat indikasi bahwa *3-O-feruloylquinic acid* dan *caffeic acid* dapat berkontribusi terhadap penghambatan aktivitas enzim, meskipun efektivitasnya masih perlu ditingkatkan melalui optimasi struktur atau penggunaan teknologi penghantaran obat yang tepat.

5.2. Saran

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

1. Penambahan variasi protein target Alzheimer diperlukan untuk memperluas data terkait efektivitas interaksi senyawa aktif dalam ekstrak kopi ceri utuh.

2. Modifikasi struktur molekul atau penggunaan sistem penghantaran obat seperti nanopartikel, *liposomal encapsulation*, atau *prodrug approach* untuk meningkatkan penetrasi *blood brain barrier* (BBB) pada *3-O-feruloylquinic acid* dan *caffeic acid*.
3. Studi lanjutan berupa analisis dinamika molekuler perlu dilakukan guna mengevaluasi kestabilan ikatan dan memahami interaksi senyawa aktif terhadap mekanisme fisiologis tubuh.
4. Pengujian *in vitro* dan *in vivo* terhadap aktivitas penghambatan asetilkolinesterase serta bioavailabilitas kedua senyawa, guna memvalidasi hasil prediksi *in silico*.

DAFTAR PUSTAKA

1. World Health Organization. Dementia. 2023.
2. Zhang XX, Tian Y, Wang ZT, Ma YH, Tan L, Yu JT. The Epidemiology of Alzheimer's Disease Modifiable Risk Factors and Prevention. *Journal of Prevention of Alzheimer's Disease*. 2021;8(3):313-321. doi:10.14283/jpad.2021.15
3. Maryam RS, Sahar J, Hastono SP, Harimurti K. Common symptoms of alzheimer's dementia that are easily recognizable by families. *Dementia e Neuropsychologia*. 2021;15(2):186-191. doi:10.1590/1980-57642021dn15-020005
4. Scheltens P, Strooper B De, Kivipelto M, et al. Alzheimer ' s disease. 2022;397(10284):1577-1590. doi:10.1016/S0140-6736(20)32205-4.Alzheimer
5. Nasb M, Tao W, Chen N. Alzheimer's Disease Puzzle: Delving into Pathogenesis Hypotheses. *Aging Dis*. 2024;15(1):43-73. doi:10.14336/AD.2023.0608
6. Kabra A, Ramteke A. Alzheimer Disease –Etiology, Pathophysiology and Treatment: An Overview. *Ann Rom Soc Cell Biol*. 2021;25(January):3548-3556.
7. Anwal L. a Comprehensive Review on Alzheimer'S Disease. *World J Pharm Pharm Sci*. 2021;10(7):1170. doi:10.20959/wjpps20217-19427
8. Danysz W, Parsons CG. Alzheimer's disease, β -amyloid, glutamate, NMDA receptors and memantine - Searching for the connections. *Br J Pharmacol*. 2012;167(2):324-352. doi:10.1111/j.1476-5381.2012.02057.x
9. Ma C, Hong F, Yang S. Amyloidosis in Alzheimer's Disease: Pathogeny, Etiology, and Related Therapeutic Directions. *Molecules*. 2022;27(4). doi:10.3390/molecules27041210
10. Iliyasu MO, Musa SA, Oladele SB, Iliya AI. Amyloid-beta aggregation implicates multiple pathways in Alzheimer's disease: Understanding the mechanisms. *Front Neurosci*. 2023;17. doi:10.3389/fnins.2023.1081938
11. Chen ZR, Huang JB, Yang SL, Hong FF. Role of Cholinergic Signaling in Alzheimer's Disease. *Molecules*. 2022;27(6):1-23. doi:10.3390/molecules27061816
12. Ahmed T, Zahid S, Mahboob A, Farhat SM. Cholinergic System and Post-translational Modifications: An Insight on the Role in Alzheimer's Disease. *Curr Neuropharmacol*. 2016;15(4):480-494. doi:10.2174/1570159x14666160325121145

13. Picciotto MR, Higley MJ, Mineur YS. Acetylcholine as a Neuromodulator: Cholinergic Signaling Shapes Nervous System Function and Behavior. *Neuron*. 2012;76(1):116-129. doi:10.1016/j.neuron.2012.08.036
14. Grossberg GT. Cholinesterase inhibitors for the treatment of Alzheimer's disease: Getting on and staying on. *Curr Ther Res Clin Exp*. 2003;64(4):216-235. doi:10.1016/S0011-393X(03)00059-6
15. Chen ZR, Huang JB, Yang SL, Hong FF. Role of Cholinergic Signaling in Alzheimer's Disease. *Molecules*. 2022;27(6). doi:10.3390/molecules27061816
16. Cizmarova B, Hubkova B, Bolerazska B, Marekova M, Birkova A. Caffeic acid: A brief overview of its presence, metabolism, and bioactivity. *Bioact Compd Health Dis*. 2020;3(4):74-81. doi:10.31989/bchd.v3i4.692
17. Xiong L, Li Q, Zhou X, et al. Anti-inflammatory and antioxidant effects of fenugreek in preventing mice model of Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis Rep*. 2025;9. doi:10.1177/25424823241312970
18. Pavlíková N. Caffeic Acid and Diseases—Mechanisms of Action. *Int J Mol Sci*. 2023;24(1). doi:10.3390/ijms24010588
19. Bicho NC, Leitão AE, Ramalho JC, De Alvarenga NB, Lidon FC. Identification of chemical clusters discriminators of Arabica and Robusta green coffee. *Int J Food Prop*. 2013;16(4):895-904. doi:10.1080/10942912.2011.573114
20. Pan W, Hu K, Bai P, et al. Design, synthesis and evaluation of novel ferulic acid-memoquin hybrids as potential multifunctional agents for the treatment of Alzheimer's disease. *Bioorg Med Chem Lett*. 2016;26(10):2539-2543. doi:10.1016/j.bmcl.2016.03.086
21. 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). doi:10.3390/nu16070924
22. Nemzer B, Edwards J, Kalita D. Matrix-Specific Effects on Caffeine and Chlorogenic Acid Complexation in a Novel Extract of Whole *Coffea arabica* Coffee Cherry by NMR Spectroscopy. *Molecules*. 2022;27(22). doi:10.3390/molecules27227803
23. Dias KST, de Paula CT, dos Santos T, et al. Design, synthesis and evaluation of novel feruloyl-donepezil hybrids as potential multitarget drugs for the treatment of Alzheimer's disease. *Eur J Med Chem*. 2017;130:440-457. doi:10.1016/j.ejmech.2017.02.043
24. Mugundhan V, Arthanari A, Parthasarathy PR. Protective Effect of Ferulic Acid on Acetylcholinesterase and Amyloid Beta Peptide Plaque Formation in Alzheimer's Disease: An In Vitro Study. *Cureus*. Published online February 13, 2024. doi:10.7759/cureus.54103

25. Caire MJRV. Physiology, Synapse.; 2023.
26. Maulita R, Suryana E. Neurosains Dalam Proses Belajar Dan Memori. Vol 8.; 2022. http://www.kompasiana.com/opajappy/neurosains-menelusuri-misteri-otak-manusia_
27. Choudhury A, Sahu T, Ramanujam PL, et al. Neurochemicals, Behaviours and Psychiatric Perspectives of Neurological Diseases. Neuropsychiatry. 2018;08(01). doi:10.4172/neuropsychiatry.1000361
28. Ashraf GM, Greig NH, Khan TA, et al. Protein Misfolding and Aggregation in Alzheimer's Disease and Type 2 Diabetes Mellitus HHS Public Access. Vol 13.; 2014.
29. Rajmohan R, Reddy PH. Amyloid-Beta and Phosphorylated Tau Accumulations Cause Abnormalities at Synapses of Alzheimer's disease Neurons. Journal of Alzheimer's Disease. 2017;57(4):975-999. doi:10.3233/JAD-160612
30. Tjandra Dewi V, Laksmidewi AAAP. Manifestasi Klinis dan Gambaran Pencitraan Struktural dan Fungsional Berbagai Subtipe Demensia. Cermin Dunia Kedokteran. 2023;50(11):594-599. doi:10.55175/cdk.v50i11.836
31. Pengembangan Linguistik dan Kebijakan Bahasa di Era Kenormalan Baru P, Asri T, Nurika Irma C, Wakhyudi Y. Prosiding Seminar Nasional Linguistik Dan Sastra (SEMANTIKS) 2021 Gangguan Berbahasa Tokoh Alice Dalam Film Still Alice : Kajian Psikolinguistik.; 2021. <https://jurnal.uns.ac.id/prosidingsemantiks>
32. Sam C; Bordoni B. Physiology, Acetylcholine.; 2023.
33. Philip L. Yeagle. The Membranes of Cells (Third Edition).; 2016.
34. Asep S.D. Neufarmakologi-Asetilkolin Dan Nore Efinefrin.; 2014.
35. Yohn SE, Weiden PJ, Felder CC, Stahl SM. Muscarinic acetylcholine receptors for psychotic disorders: bench-side to clinic. Trends Pharmacol Sci. 2022;43(12):1098-1112. doi:10.1016/j.tips.2022.09.006
36. Chen X, Qiu W, Ma X, et al. Roles and Mechanisms of Choline Metabolism in Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Cancers. Frontiers in Bioscience - Landmark. 2024;29(5). doi:10.31083/j.fbl2905182
37. Sam C; Bruno B. Physiology, Acetylcholine.; 2023.
38. Chhimpa N, Singh N, Puri N, Kayath HP. The Novel Role of Mitochondrial Citrate Synthase and Citrate in the Pathophysiology of Alzheimer's Disease. Journal of Alzheimer's Disease. 2023;94:S453-S472. doi:10.3233/JAD-220514
39. Indra I. Aktivitas Otonom.; 2013.

40. Cut N.M, Yulinah S.E, Gana S.A, Insanu M. Aktivitas Inhibisi Asetilkolinesterase Empat Jenis Sayuran Secara In Vitro. Vol 16.; 2019. www.unwahas.ac.id/publikasiilmiah/index.php/ilmufarmasidanfarmasiklinik
41. Huang Q, Liao C, Ge F, Ao J, Liu T. Acetylcholine bidirectionally regulates learning and memory. *Journal of Neurorestoratology*. 2022;10(2). doi:10.1016/j.jnrt.2022.100002
42. Zannone S, Brzosko Z, Paulsen O, Clopath C. Acetylcholine-modulated plasticity in reward-driven navigation: a computational study. *Sci Rep*. 2018;8(1). doi:10.1038/s41598-018-27393-2
43. Sirappa MP, Heryanto R, Silitonga YR. Standardisasi Pengolahan Biji Kopi Berkualitas.; 2024.
44. Sakinah L, Fajriah A, Bardan Nafis Firdausi M, Kiai Haji Achmad Siddiq Jember U. Keragaman Jenis Tumbuhan Di Taman Toga Biologi UIN Khas Jember. Vol 1.; 2023. <https://kalangan.amiin.or.id/>
45. Deutmar T, Doaly L, Situmorang DM. Seminar Nasional TREnD Technology of Renewable Energy and Development FTI Universitas.; 2021. <https://www.researchgate.net/publication/353900390>
46. Yuliandri MT. Anatomi Dari Buah Kopi. Otten coffee.
47. Radiansyah A.I. Produksi Kopi Arabika (*Coffea Arabica*) Pada Berbagai Jenis Tanaman Penaung Di Desa Pattaneteang Kecamatan Tompobulu.; 2020.
48. Dr. Ir. Adriani S.S.Mp. Budidaya Tanaman Kopi Di Berbagai Ketinggian Tempat.; 2022.
49. Dinna H.S. Studi Karakteristik Fisika Tanah Zona Perakaran dan Produksi Tanaman Kopi (*Coffea* sp.) di Kecamatan Wajak, Kabupaten Malang. Published online 2024.
50. Hendrawan dkk. Buku Agribisnis Budidaya Kopi. Published online 2022.
51. Hadisunarso MSi I. Modul 1 Morfologi Tumbuhan.; 2019.
52. Nappu MB, Kresna AB, Pengkajian B, et al. Karakter Agronomis Dan Hasil Tanaman Kopi Arabika Di Wilayah Sentra Pengembangan Di Sulawesi Selatan Agronomist Character And Results Of Coffee Arabica Plant In The Center Development In South Sulawesi. *Jurnal Agrisistem* Desember. 2016;12(2).
53. Randriani E.D. Pengenalan Varietas Unggul Kopi.; 2018.
54. Memenuhi U, Memperoleh P, Sarjana G, Pertanian T. Persepsi Petani Dalam Budidaya Kopi Organik Di Kecamatan Pematang Sidamanik Kabupaten Simalungun Tugas Akhir.; 2019.

55. Syahputra H. Karakterisasi Kematangan Buah Kopi Berdasarkan Warna Kulit Kopi Menggunakan Histogram Dan Momen Warna Penerbit Cv.Eureka Media Aksara.; 2023.
56. Siska. Formulasi Lulur Body Scrub Dari Ekstrak Etanol Serbuk Kopi Dan Ampas Kopi (*Coffea Arabica L.*); 2020.
57. Rahmawati I, Gustiani Akademi Farmasi Bumi Siliwangi Lt, Rancabolang No J, Bandung K. Analisis Kafein Pada Kopi Arabika (*Coffea Arabica L.*) Gununghalu Teknik Light Roasting.; 2023.
58. Nujannah F. Pengaruh Pelarut Purifikasi Terhadap Kadar Fenolik Total Ekstrak Biji Kopi Hijau Arabika (*Coffea Arabica L.*). Published Online 2020.
59. Pendidikan J, Konseling D. Universitas Pahlawan Tuanku Tambusai Literature Review: Pengujian Antioksidan Dalam Senyawa Kafein Pada Tanaman Kopi. Jurnal Pendidikan dan Konseling. 2022;4.
60. Justin E; John R. Richards; Amanda S. Battisti. Caffeine.; 2024.
61. Latunra AI, Johannes E, Mulihardianti B, Sumule O. Analisis Kandungan Kafein Kopi (*Coffea Arabica*) Pada Tingkat Kematangan Berbeda Menggunakan Spektrofotometer UV-VIS.; 2021. <https://journal.unhas.ac.id/index.php/jai2>
62. Sales AL, Iriundo-DeHond A, DePaula J, et al. Intracellular Antioxidant and Anti-Inflammatory Effects and Bioactive Profiles of Coffee Cascara and Black Tea Kombucha Beverages. *Foods*. 2023;12(9). doi:10.3390/foods12091905
63. Meng S, Cao J, Feng Q, Peng J, Hu Y. Roles of chlorogenic acid on regulating glucose and lipids metabolism: A review. Evidence-based Complementary and Alternative Medicine. 2013;2013. doi:10.1155/2013/801457
64. Esquivel P, Jiménez VM. Functional properties of coffee and coffee by-products. *Food Research International*. 2012;46(2):488-495. doi:10.1016/j.foodres.2011.05.028
65. Heckman MA, Weil J, de Mejia EG. Caffeine (1, 3, 7-trimethylxanthine) in foods: A comprehensive review on consumption, functionality, safety, and regulatory matters. *J Food Sci*. 2010;75(3). doi:10.1111/j.1750-3841.2010.01561.x
66. López-Cruz L, Salamone JD, Correa M. Caffeine and selective adenosine receptor antagonists as new therapeutic tools for the motivational symptoms of depression. *Front Pharmacol*. 2018;9(JUN). doi:10.3389/fphar.2018.00526

67. Zulkifly S, Darmawan I. Manfaat Kopi Untuk Mencegah Penyakit Alzheimer.; 2017. <https://www.researchgate.net/publication/334161851>
68. Silviana E, Santika M. Analisis Kandungan Kafein Pada Kopi Seduhan Warung Kopi Di Kota Banda Aceh. Vol 8.; 2020. <https://Pixabay.Com>
69. 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
70. Walczak-NŁJ, 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
71. Farias-PR, Park CS, Park Y. Mechanisms of action of coffee bioactive components on lipid metabolism. *Food Sci Biotechnol*. 2019;28(5):1287-1296. doi:10.1007/s10068-019-00662-0
72. Sholikhati A, Sukoharjanti BT, Rusidah Y. Potensi Ekstrak Kopi (*Coffea* Sp.) Sebagai Antioksidan: Review. Vol 4.; 2023.
73. Satria S, Waskitha W, Istyastono P, Dika F, Riswanto O. Molecular Docking Study of Caffeic Acid as An Acetylcholinesterase Inhibitor. Vol 2023.; 2023. www.journal.ugm.ac.id/v3/JFPA
74. Farmasi Indonesia Penghambatan Enzim Asetilkolinesterase Pada Penyakit Alzheimer Dari Ekstrak Etanol Daun Kelor J, Farmasi F, Pancasila Jalan Raya Lenteng Agung U, et al. Inhibition of Acetylcholinesterase Enzymes in Alzheimer's Disease from Ethanolic Extract of Moringa Leaves (*Moringa oleifera* Lam.). *Jurnal Farmasi Indonesia*. 2021;18(1).
75. Varesi A, Campagnoli LIM, Carrara A, et al. Non-Enzymatic Antioxidants against Alzheimer's Disease: Prevention, Diagnosis and Therapy. *Antioxidants*. 2023;12(1). doi:10.3390/antiox12010180
76. 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
77. 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
78. Pinzi L, Rastelli G. Molecular docking: Shifting paradigms in drug discovery. *Int J Mol Sci*. 2019;20(18). doi:10.3390/ijms20184331
79. Pagadala NS, Syed K, Tuszynski J. Software for molecular docking: a review. *Biophys Rev*. 2017;9(2):91-102. doi:10.1007/s12551-016-0247-1

80. Asmaliani I, Sukmawati, Kusuma AT, Fawwaz M. Molecular Docking and Hepatoprotective Evaluation of Jackfruit Leaf (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) in Rat Induced Isoniazid and Rifampin. *Biointerface Res Appl Chem.* 2024;14(6). doi:10.33263/BRIAC146.129
81. 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
82. Zothantluanga JH, Chetia D. A beginner's guide to molecular docking. *Sciences of Phytochemistry.* 2022;1(2):37-40. doi:10.58920/sciphy01020037
83. 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
84. Priya RH, Vasan PT. In Silico and Pharmacokinetic Activity of Bioactive Components from *Annona muricata* Leaves Against Breast Cancer. *Indian J Sci Technol.* 2024;17(13):1283-1291. doi:10.17485/IJST/v17i13.1949
85. 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):689-699. doi:10.1007/s10822-017-0038-1
86. Guan L, Yang H, Cai Y, et al. ADMET-score-a comprehensive scoring function for evaluation of chemical drug-likeness. *Medchemcomm.* 2019;10(1):148-157. doi:10.1039/C8MD00472B
87. Banks WA. The Blood–Brain Barrier and CNS Drug Delivery. In: *Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery.* Wiley; 2021:1-22. doi:10.1002/0471266949.bmc285
88. Chang Y, Hawkins BA, Du JJ, Groundwater PW, Hibbs DE, Lai F. A Guide to In Silico Drug Design. *Pharmaceutics.* 2023;15(1). doi:10.3390/pharmaceutics15010049
89. Chang Y, Hawkins BA, Du JJ, Groundwater PW, Hibbs DE, Lai F. A Guide to In Silico Drug Design. *Pharmaceutics.* 2023;15(1). doi:10.3390/pharmaceutics15010049
90. Wu F, Zhou Y, Li L, et al. Computational Approaches in Preclinical Studies on Drug Discovery and Development. *Front Chem.* 2020;8. doi:10.3389/fchem.2020.00726
91. 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

92. Guan L, Yang H, Cai Y, et al. ADMET-score-a comprehensive scoring function for evaluation of chemical drug-likeness. *Medchemcomm*. 2019;10(1):148-157. doi:10.1039/C8MD00472B
93. Wu F, Zhou Y, Li L, et al. Computational Approaches in Preclinical Studies on Drug Discovery and Development. *Front Chem*. 2020;8. doi:10.3389/fchem.2020.00726
94. Ferreira-Vieira TH, Guimaraes IM, Silva FR, Ribeiro FM. Send Orders for Reprints to Reprints@benthamscience.Ae Alzheimer's Disease: Targeting the Cholinergic System. Vol 14.; 2016.
95. Chen ZR, Huang JB, Yang SL, Hong FF. Role of Cholinergic Signaling in Alzheimer's Disease. *Molecules*. 2022;27(6):1-23. doi:10.3390/molecules27061816
96. Maurer S V., Williams CL. The cholinergic system modulates memory and hippocampal plasticity via its interactions with non-neuronal cells. *Front Immunol*. 2017;8(NOV). doi:10.3389/fimmu.2017.01489
97. Marucci G, Buccioni M, Ben DD, Lambertucci C, Volpini R, Amenta F. Efficacy of acetylcholinesterase inhibitors in Alzheimer's disease. *Neuropharmacology*. 2021;190. doi:10.1016/j.neuropharm.2020.108352
98. Reid GA, Darvesh S. Interaction of exogenous acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase with amyloid- β plaques in human brain tissue. *Chem Biol Interact*. 2024;395. doi:10.1016/j.cbi.2024.111012
99. Singh M, Kaur M, Kukreja H, Chugh R, Silakari O, Singh D. Acetylcholinesterase inhibitors as Alzheimer therapy: From nerve toxins to neuroprotection. *Eur J Med Chem*. 2013;70:165-188. doi:10.1016/j.ejmech.2013.09.050
100. Gajendra K, Pratap GK, Poornima D V., Shantaram M, Ranjita G. Natural acetylcholinesterase inhibitors: A multi-targeted therapeutic potential in Alzheimer's disease. *European Journal of Medicinal Chemistry Reports*. 2024;11. doi:10.1016/j.ejmcr.2024.100154
101. Cavalcante SF de A, Simas ABC, Barcellos MC, et al. Acetylcholinesterase: The "Hub" for Neurodegenerative diseases and chemical weapons convention. *Biomolecules*. 2020;10(3). doi:10.3390/biom10030414
102. Moreta MPG, Burgos-Alonso N, Torrecilla M, Marco-Contelles J, Bruzos-Cidón C. Efficacy of acetylcholinesterase inhibitors on cognitive function in alzheimer's disease. Review of reviews. *Biomedicines*. 2021;9(11). doi:10.3390/biomedicines9111689
103. Pathophysiology of Alzheimer's disease. In the amyloidogenic pathway,... | Download Scientific Diagram. Accessed July 25, 2025. <https://www.researchgate.net/figure/Pathophysiology-of-Alzheimers->

disease-In-the-amyloidogenic-pathway-APP-is-hydrolysed_fig1_361873967

104. Müller T. *E X P E R T O P I N I O N* Rivastigmine in the Treatment of Patients with Alzheimer's Disease. Vol 3.; 2017.
105. Full WwPDB X-Ray Structure Validation Report i o.; 2023. <http://www.wwpdb.org/validation/2017/FAQs#types>.
106. 3-O-Feruloylquinic acid | C₁₇H₂₀O₉ | CID 6451331 - PubChem. Accessed July 23, 2025. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/6451331>
107. Caffeic Acid | C₉H₈O₄ | CID 689043 - PubChem. Accessed July 23, 2025. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/689043>
108. Donepezil | C₂₄H₂₉NO₃ | CID 3152 - PubChem. Accessed July 23, 2025. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Donepezil>
109. Scopolamine Hydrobromide | C₁₇H₂₂BrNO₄ | CID 6603108 - PubChem. Accessed July 23, 2025. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Hyoscine-hydrobromide>
110. PubChem. Accessed July 23, 2025. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>
111. 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. doi:10.24036/EKSAKTA/VOL24-ISS02/401
112. 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,
113. Thomas-Brown PG, Ruddock PL, Gossell-Williams M. Pharmacokinetics. *Pharmacognosy: Fundamentals, Applications, and Strategies*, Second Edition. Published online July 30, 2023:559-577. doi:10.1016/B978-0-443-18657-8.00008-6
114. Caminero GSA, Marques SGH, Calil RL, Goulart Trossini GH. Absorption matters: A closer look at popular oral bioavailability rules for drug approvals. *Mol Inform*. 2023;42(11). doi:10.1002/MINF.202300115,
115. Yadav RK, Shrestha P, Timilsina K, et al. Antioxidant, Antibacterial Activity, In Silico Molecular Docking, and ADME-Toxicity Study of Lactone from Rhizome of *Angiopteris helferiana*. *J Chem*. 2024;2024(1):5623028. doi:10.1155/2024/5623028
116. Mohammadhassan R, Fallahi S, Mohammadalipour Z. ADMET and pharmaceutical activity analysis of caffeic acid diversities by in silico

- tools. *Letters in Applied NanoBioScience*. 2020;9(1):840-848. doi:10.33263/LIANBS91.840848
117. Lipinski CA, Lombardo F, Dominy BW, Feeney PJ. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Adv Drug Deliv Rev*. 2001;46(3):3-26. doi:10.1016/S0169-409X(00)00129-0
 118. Banerjee P, Dehnbostel FO, Preissner R. Prediction is a balancing act: Importance of sampling methods to balance sensitivity and specificity of predictive models based on imbalanced chemical data sets. *Front Chem*. 2018;6(AUG). doi:10.3389/FCHEM.2018.00362/FULL
 119. ProTox-3.0 - Prediction of TOXicity of chemicals. Accessed July 25, 2025. https://tox.charite.de/protox3/index.php?site=home&utm_source=chatgpt.com
 120. Shityakov S, Förster CY, Skorb E. Comparative in silico analysis of CNS-active molecules targeting the blood–brain barrier choline transporter for Alzheimer’s disease therapy. In *Silico Pharmacology* 2024 12:2. 2024;12(2):1-10. doi:10.1007/S40203-024-00245-W
 121. Jon J, Jeong J, Jung J, et al. Recent Advances in Donepezil Delivery Systems via the Nose-to-Brain Pathway. *Pharmaceutics* 2025, Vol 17, Page 958. 2025;17(8):958. doi:10.3390/PHARMACEUTICS17080958
 122. Pardridge WM. The blood-brain barrier: Bottleneck in brain drug development. *NeuroRx*. 2005;2(1):3-14. doi:10.1602/Neurorx.2.1.3/METRICS
 123. Saraiva C, Praça C, Ferreira R, Santos T, Ferreira L, Bernardino L. Nanoparticle-mediated brain drug delivery: Overcoming blood–brain barrier to treat neurodegenerative diseases. *Journal of Controlled Release*. 2016;235:34-47. doi:10.1016/J.JCONREL.2016.05.044
 124. Ohtsuki S, Terasaki T. Contribution of carrier-mediated transport systems to the blood-brain barrier as a supporting and protecting interface for the brain; importance for CNS drug discovery and development. *Pharm Res*. 2007;24(9):1745-1758. doi:10.1007/S11095-007-9374-5,
 125. Johnsen KB, Burkhardt A, Thomsen LB, Andresen TL, Moos T. Targeting The Transferrin Receptor For Brain Drug Delivery. *Prog Neurobiol*. 2019;181:101665. Doi:10.1016/J.Pneurobio.2019.101665
 126. Hynynen K, Mcdannold N, Vykhodtseva N, Jolesz FA. Noninvasive MR Imaging-Guided Focal Opening Of The Blood-Brain Barrier In Rabbits. *Radiology*. 2001;220(3):640-646. Doi:10.1148/Radiol.2202001804;Website:Website:Rsna-Site;Requestedjournal:Journal:Radiology;Wgroup:String:Rsna

127. Shuldiner AR, Relling M V., Peterson JF, Et Al. The Pharmacogenomics Research Network Translational Pharmacogenetics Program: Overcoming Challenges Of Real-World Implementation. *Clin Pharmacol Ther.* 2013;94(2):207-210.
Doi:10.1038/Cplt.2013.59;Wgroup:String:Publication
128. Biokimia, Sitokrom P450 - StatPearls - Rak Buku NCBI. Accessed July 31, 2025. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557698/>
129. Kalgutkar AS, Dalvie DK. Drug discovery for a new generation of covalent drugs. *Expert Opin Drug Discov.* 2012;7(7):561-581. doi:10.1517/17460441.2012.688744,
130. Zeldin RK, Petruschke RA. Pharmacological and therapeutic properties of ritonavir-boosted protease inhibitor therapy in HIV-infected patients. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy.* 2004;53(1):4-9. doi:10.1093/JAC/DKH029,
131. Novel drug delivery systems / Yie W. Chien | Catalogue | National Library of Australia. Accessed July 31, 2025. <https://catalogue.nla.gov.au/catalog/1549923>
132. Balant LP, Doelker E, Buri P. Prodrugs for the improvement of drug absorption via different routes of administration. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet.* 1990;15(2):143-153. doi:10.1007/BF03190197,
133. Masimirembwa CM, Bredberg Ui, Andersson TB. Metabolic stability for drug discovery and development: Pharmacokinetic and biochemical challenges. *Clin Pharmacokinet.* 2003;42(6):515-528. doi:10.2165/00003088-200342060-00002,
134. Satria S, Waskitha W, Istyastono P, Dika F, Riswanto O. Molecular Docking Study of Caffeic Acid as Acetylcholinesterase Inhibitor. *Journal of Food and Pharmaceutical Sciences.* 2023;2023(3):867-873. doi:10.22146/JFPS.7665
135. 3-O-Feruloylquinic acid - Safety Data Sheet. Accessed August 20, 2025. https://www.chemicalbook.com/msds/3-o-feruloylquinic-acid.htm?utm_source=chatgpt.com
136. Kiriyaama A. Mini Review Correspondence to: Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Characteristics of Donepezil: From Animal Models to Human Applications. *Journal of Drug Metabolism & Toxicology 1 J Drug Metab Toxicol.* 2024;15(4):1000350. doi:10.35248/2157-7609.24.15.350
137. 3-O-Feruloylquinic acid - Chemical Compound | PlantaeDB. Accessed July 25, 2025. https://plantaedb.com/compounds/3-o-feruloylquinic-acid?utm_source=chatgpt.com
138. Kumar S, Modi G. Design, synthesis, and biological evaluation of caffeic acid-based novel multifunctional molecules for the management of

Alzheimer's disease. Eur J Med Chem. 2025;296:117831.
doi:10.1016/J.EJMECH.2025.117831

LAMPIRAN

Lampiran 1. Website PubChem

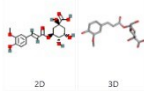
3-O-Feruloylquinic acid [C17H]
pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/6451331

National Library of Medicine
National Center for Biotechnology Information

PubChem About Docs Submit Contact Search PubChem

COMPOUND SUMMARY

3-O-Feruloylquinic acid

PubChem CID	6451331
Structure	
Primary Hazards	Laboratory Chemical Safety Summary (LCSS) Datasheet
Molecular Formula	C ₁₇ H ₂₀ O ₉

Synonyms
3-O-Feruloylquinic acid
1899-29-2
(1alpha,3alpha,4alpha,5beta)-1,3,4-Trihydroxy-5-((3-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-1-oxo-2-propenyl)oxy)cyclohexanecarboxylic acid
Cyclohexanecarboxylic acid, 1,3,4-trihydroxy-5-((3-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-1-oxo-2-propenyl)oxy)-, (1alpha,3alpha,4alpha,5beta)-
(1S,3R,4R,5R)-1,3,4-trihydroxy-5-((E)-3-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)prop-2-enyl)oxy-cyclohexanecarboxylic acid
[View More...](#)

Molecular Weight
368.3 g/mol
Computed by PubChem 2.2 (PubChem release 2025.04.14)

Dates
Create: 2006-04-29
Modify: 2025-07-21

1 Structures

2.1.4 SMILES
COC1=C(C=CC(=C1)/C=C/C(=O)O[C@H]2[C@@H]([C@@H]([C@H]([C@@H]2O)O)(C(=O)O)O)O
Computed by OEChem 2.3.0 (PubChem release 2025.04.14)
[PubChem](#)

2.2 Molecular Formula
C₁₇H₂₀O₉
Computed by PubChem 2.2 (PubChem release 2025.04.14)
[PubChem](#)

2.3 Other Identifiers

2.3.1 CAS
1899-29-2

CONTENTS
[Title and Summary](#)
1 Structures
2 Names and Identifiers
3 Chemical and Physical Properties
4 Spectral Information
5 Related Records
6 Chemical Vendors
7 Safety and Hazards
8 Literature
9 Patents
10 Classification
11 Information Sources

Lampiran 2. Website ADMETLab 2

3-O-Feruloylquinic acid | C17H₁₆O₇ | ADMETLab 2.0

admetmesh.scbdd.com/service/evaluation/index

Home / Services / ADMET Evaluation

Paste a single SMILES string [Draw a molecule using JMSE editor](#)

SMILES (=C1)/C=C/C(=O)O[C@H]2C[C@@H](C[C@@H]([C@@H]2O)O)(C(=O)O)O1 [Example](#)

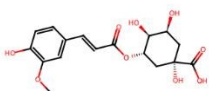
[Reset](#) [Submit](#)

Tip

- Before submitting, users should prepare a valid SMILES in case of errors.
- Molecules composed of more than 128 atoms are not recommended for evaluation.

Home / ADMET Evaluation / Evaluation Results

COC1=C(C=CC(=C1)/C=C/C(=O)O[C@H]2C[C@@H](C[C@@H]([C@@H]2O)O)(C(=O)O)O)O [Download as CSV](#) [Download as PDF](#)



Upper Limit Lower Limit Compound Properties

LogP LogS LogD nHA nHD TPSA nRot nRing MaxRing nHet fChar nRig

Physicochemical Property

Molecular Weight (MW)	368.110	1
Volume	348.769	1
Density	1.055	1
nHA	9	1
nHD	5	1
nRot	6	1
nRing	2	1
MaxRing	6	1
nRing	2	1
MaxRing	6	1
nHet	9	1
fChar	0	1
nRig	15	1
Flexibility	0.400	1
Stereo Centers	4	1
TPSA	153.750	1
logS	-1.822	1
logP	0.074	1
logD	0.030	1

Medicinal Chemistry

Medicinal Chemistry			
QED	0.347	1	1
SAscore	3.774	1	1
Fsp ³	0.412	1	1
MCE-18	59.500	1	1
NPscore	2.093	1	1
Lipinski Rule	Accepted	1	1
Pfizer Rule	Accepted	1	1
GSK Rule	Accepted	1	1
Golden Triangle	Accepted	1	1
PAINS	0 alert(s)	1	1
ALARM NMR Rule	3 alert(s)	1	1
BMS Rule	0	1	1

Toxicity

Toxicity			
hERG Blockers	---	1	1
H-HT	--	1	1
DILI	--	1	1
AMES Toxicity	---	1	1
Rat Oral Acute Toxicity	---	1	1
FDAMDD	+	1	1
Skin Sensitization	---	1	1
Carcinogenicity	---	1	1
Eye Corrosion	---	1	1
Eye Irritation	-	1	1
Respiratory Toxicity	+	1	1
Environmental Toxicity			
Bioconcentration Factor	0.316	1	1

ADMETlab 2.0
Drug Penetration

[Home](#)
[Services](#)
[Resources](#)
[Explanation](#)
[Publications](#)
[Contact](#)

SR-MMP

36.648%

●

?

Metabolism

CYP1A2 inhibitor	---	?
CYP1A2 substrate	---	?
CYP2C19 inhibitor	---	?
CYP2C19 substrate	---	?
CYP2C9 inhibitor	---	?
CYP2C9 substrate	++	?
CYP2D6 inhibitor	---	?
CYP2D6 substrate	--	?
CYP3A4 inhibitor	---	?
CYP3A4 substrate	---	?

Excretion

SR-p53

+++

●

?

Toxicophore Rules

Acute Toxicity Rule	0 alert(s)	?
Genotoxic Carcinogenicity Rule	1 alert(s)	DETAIL ?
NonGenotoxic Carcinogenicity Rule	1 alert(s)	DETAIL ?
Skin Sensitization Rule	7 alert(s)	DETAIL ?
Aquatic Toxicity Rule	4 alert(s)	DETAIL ?
NonBiodegradable Rule	0 alert(s)	?
SureChEMBL Rule	0 alert(s)	?
FAF-Drugs4 Rule	2 alert(s)	DETAIL ?

Tip: For the classification endpoints , the prediction probability values are transformed into six symbols: 0-0.1(---), 0.1-0.3(-), 0.3-0.5(-), 0.5-0.7(+), 0.7-0.9(++), and 0.9-1.0(+++).

Lampiran 3. Website swissADME

SwissADME

SwissDock | SwissParam | SwissSidechain | SwissBioisostere | SwissTargetPrediction | **SwissADME** | SwissSimilarity

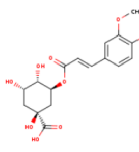
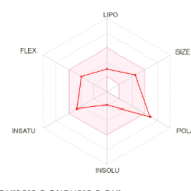
SwissADME
SwissDrugDesign

Home | About | FAQ | Help | Citing | Contact | Terms of Use

For information: We have changed the look and feel of our tool. However, we have **NOT** changed the underlying technologies and parameters. Consequently, this updated Web tool provides exactly the same results as the previous version.

Enter a list of SMILES here:
C(C=CC(=C1)/C=C/C(=O)O[C@@H]2C[C@@H](C[C@@H]([C@@H]2O)O)(C(=O)O)O)C

Molecule 1

SMILES: COc1cc(C=C/C(=O)O[C@@H]2C[C@@H](O)[C@H](C[C@@H]([C@@H]2O)O)C(=O)O)cc1O

Physicochemical Properties	
Formula	C17H20O9
Molecular weight	368.34 g/mol
Num. heavy atoms	26
Num. arom. heavy atoms	6
Fraction Csp3	0.41
Num. rotatable bonds	6
Num. H-bond acceptors	9
Num. H-bond donors	5
Molar Refractivity	87.97
TPSA	153.75 Å²
Lipophilicity	
Log P _{ow} (LOGP)	2.04

Water Solubility	
Log S (ESOL)	-1.84
Solubility	5.38e+00 mg/ml ; 1.46e-02 mol/l
Class	Very soluble
Log S (All)	-2.68
Solubility	7.76e-01 mg/ml ; 2.11e-03 mol/l
Class	Soluble
Log S (SILICOS-IT)	-0.29
Solubility	1.89e+02 mg/ml ; 5.13e-01 mol/l
Class	Soluble

Pharmacokinetics	
GI absorption	Low
BBB permeant	No
P-gp substrate	No
CYP1A2 inhibitor	No
CYP2C9 inhibitor	No
CYP2D6 inhibitor	No
CYP3A4 inhibitor	No
Log K _p (skin permeation)	-8.62 cm/s

Druglikeness	
Lipinski	Yes; 0 violation
Ghose	No; 1 violation: WLOGP<-0.4
Veber	No; 1 violation: TPSA>140
Egan	No; 1 violation: TPSA>131.6

Lampiran 4. Website Protox 3.0

Protox 3.0 - Prediction of TOX...

tox.charite.de/protox3/index.php?site=compound_input

PROTOX 3.0 TOX PREDICTION FAQ MODEL INFO STATISTICS IMPRESSUM LINKS/DOWNLOAD

Tox-Prediction

Here you can input a compound via pubchem search, smiles string or drawing:

Pubchem-Name: search | e.g. Tamoxifen Tolcazone Vorinostat Troglitazone Aspirin

Canonical Smiles: smiles | e.g. CC(C)=C(C1=CC=CC=C1C2=CC=C(C=C2)OCCN(C)C)C3=CC=CC=C3

Selected molecule : Tamoxifen

ChemDoodle®

Tox-Prediction

Here you can input a compound via pubchem search, smiles string or drawing:

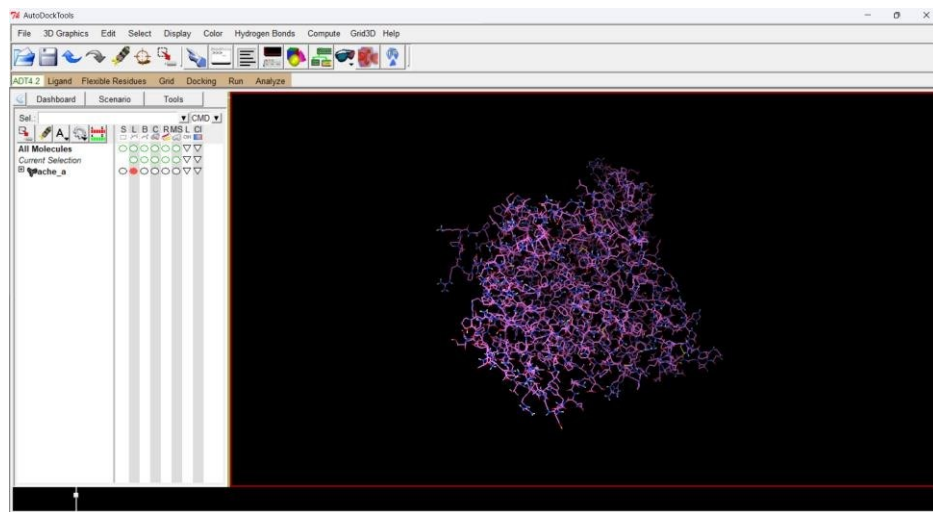
Pubchem-Name: search | e.g. Tamoxifen Tolcazone Vorinostat Troglitazone Aspirin

Canonical Smiles: smiles | e.g. COC1=C(C=CC(=C1)C=C(C(=O)O)[C@H]2C[C@@H](C[C@@H]3[C@@H]2O)O)(C(=O)O)O

Selected molecule : COC1=C(C=CC(=C1)C=C(C(=O)O)[C@H]2C[C@@H](C[C@@H]3[C@@H]2O)O)(C(=O)O)O

ChemDoodle®

Lampiran 5. Aplikasi AutoDock Tools



Lampiran 6. Aplikasi Discovery Studio



Lampiran 1. Artikel Ilmiah

STUDI INSILICO SENYAWA 3-O-FERULOYLQUINIC ACID DAN CAFFEIC ACID DALAM CERI KOPI UTUH SEBAGAI INHIBITOR ASETILKOLINESTERASE PADA PENYAKIT ALZHEIMER

Adinda Nabila Salsabila Ritonga¹

¹Fakultas Kedokteran, Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara
Email :

ABSTRAK

Latar Belakang: Penyakit Alzheimer merupakan bentuk paling umum dari demensia, mencakup 60–70% kasus global dan berdampak signifikan terhadap fungsi kognitif, terutama memori. Salah satu mekanisme utamanya adalah penurunan asetilkolin (ACh) akibat akumulasi beta-amiloid, sehingga penghambatan enzim asetilkolinesterase (AChE) menjadi target terapi utama. Senyawa alami seperti *3-O-feruloylquinic acid* dan *caffeic acid* dalam ekstrak kopi ceri utuh berpotensi sebagai agen neuroprotektif karena sifat antioksidan dan antiinflamasi. **Tujuan:** Mengevaluasi profil ADMETox (Absorpsi, Distribusi, Metabolisme, Ekskresi, dan Toksisitas) serta interaksi molekuler senyawa aktif kopi ceri utuh terhadap protein AChE dibandingkan dengan donepezil dan skopolamin. **Metode:** Penelitian in silico meliputi analisis ADMETox menggunakan ADMETlab 2.0, SwissADME, dan ProTox-III, serta molecular docking terhadap protein AChE (PDB ID: 8DT7). Parameter meliputi druglikeness, farmakokinetik, toksisitas, energi pengikatan, konstanta inhibisi, dan visualisasi ikatan ligan-protein. **Hasil:** Kedua senyawa memenuhi aturan Lipinski, seperti berat molekul, HBA, HBD, dan LogP. Tetapi hanya *caffeic acid* menunjukkan absorpsi gastrointestinal tinggi. Keduanya tidak menembus sawar darah otak (BBB). *3-O-feruloylquinic acid* tidak toksik, sedangkan *caffeic acid* bersifat rendah karsinogenik dan memiliki nilai toksisitas akut pada mulut yang rendah. Energi pengikatan terkuat ditunjukkan oleh donepezil (-9,80 kcal/mol) terhadap AChE diikuti *caffeic acid* (-1,73 kcal/mol). Visualisasi memperlihatkan ikatan hidrogen stabil antara *caffeic acid* dan AChE. **Kesimpulan:** Meskipun belum sekuat donepezil, *caffeic acid* menunjukkan potensi sebagai kandidat awal penghambat AChE. Perlu modifikasi struktur atau sistem penghantaran untuk meningkatkan efektivitasnya.

Kata Kunci: Alzheimer, Asetilkolinesterase, *3-O-feruloylquinic acid*, *caffeic acid*, ADMETox, Docking Molekuler, Kopi Ceri Utuh.

AN INSILICO STUDY OF 3-O-FERULOYLQUINIC ACID AND CAFFEIC ACID IN WHOLE COFFEE CHERRIES AS ACETYLCHOLINESTERASE INHIBITORS IN ALZHEIMER'S DISEASE

Adinda Nabila Salsabila Ritonga¹

¹Faculty of Medicine, Muhammadiyah University of North Sumatera

Email :

ABSTRACT

Introduction: Alzheimer's disease is the most common form of dementia, accounting for 60–70% of global cases and significantly impacting cognitive function, particularly memory. One of its primary mechanisms is the reduction of acetylcholine (ACh) due to the accumulation of beta-amyloid, making the inhibition of the acetylcholinesterase (AChE) enzyme a primary therapeutic target. Natural compounds such as 3-O-feruloylquinic acid and caffeic acid in whole coffee cherry extract have potential as neuroprotective agents due to their antioxidant and anti-inflammatory properties. **Objective:** To evaluate the ADMETox profile (Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion, and Toxicity) and molecular interactions of active compounds in whole coffee cherries with the AChE protein compared to donepezil and scopolamine. **Methods:** In silico studies included ADMETox analysis using ADMETlab 2.0, SwissADME, and ProTox-III, as well as molecular docking against the AChE protein (PDB ID: 8DT7). Parameters included druglikeness, pharmacokinetics, toxicity, binding energy, inhibition constant, and ligand-protein binding visualization. **Results:** Both compounds meet Lipinski's rules, such as molecular weight, HBA, HBD, and LogP. However, only caffeic acid shows high gastrointestinal absorption. Neither compound crosses the blood-brain barrier (BBB). 3-O-feruloylquinic acid is non-toxic, while caffeic acid is low in carcinogenicity and has a low acute oral toxicity value. The strongest binding energy is shown by donepezil (-9.80 kcal/mol) toward AChE, followed by caffeic acid (-1.73 kcal/mol). Visualization shows stable hydrogen bonds between caffeic acid and AChE. **Conclusion:** Although not as strong as donepezil, caffeic acid shows potential as an initial candidate for an AChE inhibitor. Structural modifications or delivery systems are needed to enhance its efficacy.

Keywords: Alzheimer's, Acetylcholinesterase, 3-O-Feruloylquinic Acid, Caffeic Acid, ADMETox, Molecular Docking, Whole Cherry Coffee.

PENDAHULUAN

Secara patofisiologis, penyakit Alzheimer ditandai oleh akumulasi plak beta-amiloid ($A\beta$) di luar neuron dan neurofibrillary tangles (protein tau abnormal) di dalam neuron. Agregasi protein ini memicu kaskade neurodegeneratif, termasuk neuroinflamasi, stres oksidatif, dan kematian neuron, yang secara signifikan mengganggu fungsi sinapsis pada sistem kolinergik. Hal ini menyebabkan defisit asetilkolin (ACh), neurotransmitter yang krusial untuk memori dan fungsi kognitif.

Pendekatan terapeutik saat ini, seperti donepezil, berfokus pada penghambatan enzim asetilkolinesterase (AChE) untuk meningkatkan ketersediaan ACh secara simptomatik, namun tidak menghentikan progresi penyakit. Terapi baru seperti antibodi monoklonal (lecanemab dan donanemab) menargetkan pembersihan plak amiloid untuk memperlambat penurunan kognitif. Penelitian modern kini beralih ke eksplorasi senyawa alami, seperti 3-O-feruloylquinic acid dan caffeic acid dari ceri kopi, sebagai inhibitor AChE potensial. Senyawa ini dievaluasi melalui metode komputasi (*in silico*) seperti molecular docking untuk mengidentifikasi kandidat obat baru yang lebih efektif dan aman.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan studi komputasi (*in silico*) yang mengaplikasikan analisis farmakokinetik-toksitas (ADMETox) dan simulasi penambatan molekuler (*molecular docking*). Tujuannya adalah untuk mengevaluasi potensi senyawa bioaktif dari ekstrak ceri kopi, yaitu **3-O-feruloylquinic acid** dan **caffeic acid**, sebagai inhibitor **asetilkolinesterase (AChE)**, dengan **donepezil** dan **skopolamin** sebagai ligan referensi.

Analisis ADMETox dilakukan menggunakan platform prediktif (ADMETlab 2.0, SwissADME, ProTox-III) berbasis struktur SMILES dari database PubChem. Parameter yang dievaluasi meliputi profil farmakokinetik (absorpsi gastrointestinal, permeabilitas sawar darah-otak), kelayakan sebagai obat (*druglikeness*) berdasarkan Aturan Lima Lipinski, dan profil toksisitas (toksisitas akut oral dan karsinogenisitas).

Prosedur *molecular docking* menggunakan struktur kristal protein AChE (PDB ID: 8DT7) sebagai reseptor target. Setelah preparasi struktur ligan dan reseptor, dilakukan validasi metode melalui *re-docking* ligan natif pada situs aktif protein. Simulasi penambatan dilaksanakan menggunakan AutoDock Tools untuk memprediksi afinitas ikatan (energi bebas Gibbs, konstanta inhibisi) dan modus interaksi. Visualisasi kompleks ligan-reseptor dianalisis menggunakan Discovery Studio, PyMOL, dan LigandScout untuk mengidentifikasi residu asam amino kunci dan interaksi non-kovalen, seperti ikatan hidrogen, yang menstabilkan ikatan tersebut.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Penelitian

Hasil Pencarian Data Struktur Protein

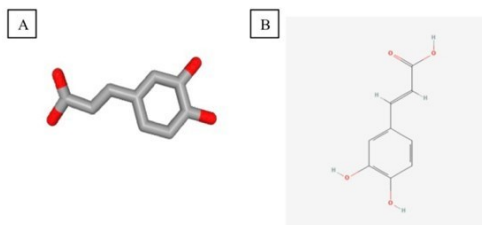
Berdasarkan penentuan pemilihan dari protein target, maka didapatkan protein AChE dengan kode 8DT7 (<https://www.rcsb.org/structure/8DT7>) yang diterbitkan pada tahun 2022 dengan resolusi 2.21 Å, tidak terdapat mutasi dan memiliki *native ligands* berupa *1,1'-methylenebis{4-[(E)-(hydroxyimino)methyl]pyridin-1-ium}* (3VI) (<https://www.rcsb.org/ligand-validation/8DT7/3VI>).



Gambar 1. Struktur protein AchE (8DT7)

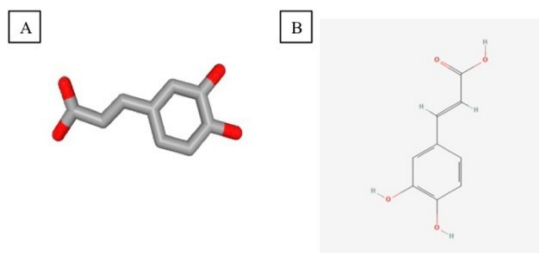
Hasil Pencarian Data Senyawa 3-*O*-feruloylquinic acid dan Caffeic acid

Struktur senyawa aktif 3-*O*-feruloylquinic acid diperoleh dari database *PubChem* dengan *PubChem* CID: 6451331(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/176>) yang diterbitkan pada tahun 2006 dengan formula molekul $C_{17}H_{20}O_9$ dan berat molekul 368.3 g/mol.



Gambar 2. Struktur senyawa 3-*O*-feruloylquinic acid; A. 3dimensi; B. 2 dimensi

Pencarian data struktur senyawa aktif *caffeic acid* dilakukan menggunakan database *PubChem*



dengan *PubChem* CID: 689043(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/262>) yang diterbitkan pada tahun 2004 dengan formula molekul $C_9H_8O_4$ dan berat molekul 180.16 g/mol.¹⁰⁷

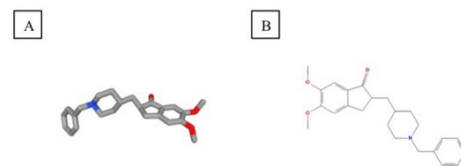
Gambar 3.

Struktur senyawa *caffeic acid*; A. 3 dimensi; B. 2dimensi.

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.

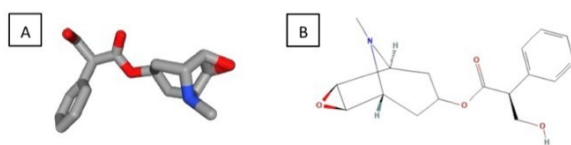
Gambar 4.



Struktur senyawa donepezil; A. 3 dimensi; B. 2dimensi.

Pencarian dari data struktur senyawa aktif skopolamin dilakukan menggunakan database *PubChem* dengan *PubChem* CID: 6603108

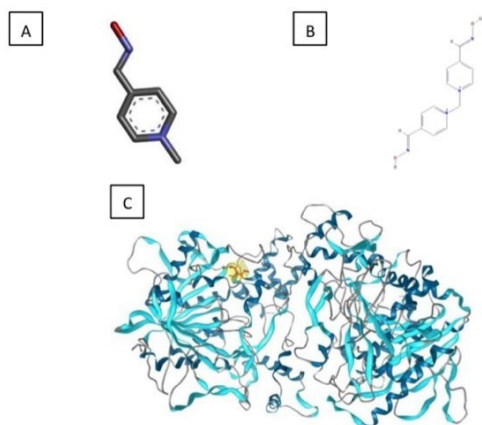
(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/6603108>) yang diterbitkan pada tahun 2006 dengan formula $C_{17}H_{21}BrNO_4$ dan berat molekul 384.3 g/mol.



Gambar 5.

Struktur senyawa skopolamin; A. 3 dimensi ; B. 2dimensi.

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.



Gambar 6.

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

Hasil Analisis ADMETox

Analisis ADMETox dilakukan untuk mengevaluasi sifat farmakokinetik dan toksisitas dari senyawa 3-O-feruloylquinic acid dan caffeic acid, serta membandingkannya dengan obat standar

donepezil dan skopolamin. Data awal berupa kode SMILES dari setiap senyawa diperoleh dari PubChem (Tabel 4.1) dan kemudian dianalisis menggunakan platform prediksi daring.

Tabel 1. Hasil Kode SMILES senyawa 3-O-feruloylquinic acid dan caffeic acid dari kopi utuh, skopolamin, dan donepezil.

No	Senyawa	SMILES	Link Website
1	3-O-feruloylquinic acid	<chem>COC1=C(C=CC(=C1)/C=C/C(=O)O[C@H]2C[C@@](C[C@@H](C[C@@H](C[C@@H]2O)O)(C(=O)O)O)O</chem>	https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/645133
2	caffeic acid	<chem>C1=CC(=C(C=C1/C=C/C(=O)O)O)O</chem>	https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/689043
3	Donepezil	<chem>COC1=C(C=CC(=C1)CC(C2=O)CC3CCN(C3)CC4=C(C=CC=C4)OC</chem>	https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/3152
4	Skopolamin	<chem>CN1[C@@H]2CC(C[C@@H]1)[C@@H]3[C@@H]2O3OC(=O)C(CO)C4=CC=CC=C4</chem>	https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/645125

Hasil analisis *druglikeness* (Tabel 2) menunjukkan bahwa semua senyawa, baik yang alami maupun yang pembanding, memenuhi kriteria Aturan Lima Lipinski,

yang mengindikasikan kelayakan mereka sebagai kandidat obat oral.

Tabel 2. Hasil Analisis *Druglikeness* Senyawa Aktif Kopi Ceri Utuh

Senyawa	<i>Druglikeness</i>			
	MW g/mol	HBA	HBD	Log P
3-O-FERULOYLQUINIC ACID	368.11	7	5	0.074
CAFFEIC ACID	180.04	4	3	1.01
SKOPOLAMINE	303.15	5	1	1.199
DONEPEZIL	379.21	4	0	4.191

Pada analisis farmakokinetik (Tabel 3), ditemukan bahwa hanya caffeic acid yang memiliki tingkat penyerapan gastrointestinal (*GI absorption*) yang tinggi, serupa dengan donepezil dan skopolamin.¹ Sebaliknya, 3-*O*-feruloylquinic acid menunjukkan penyerapan yang rendah.¹ Aspek yang paling kritis, yaitu kemampuan menembus sawar darah-otak (BBB), menunjukkan bahwa hanya donepezil yang memiliki kemampuan ini, sementara kedua senyawa alami dan skopolamin tidak dapat menembus BBB.

Tabel 3. Hasil Analisis Farmakokinetik Senyawa Aktif Kopi Ceri Utuh

<i>Pharmakokinetics</i>								
Senyawa	<i>GI absorption</i>	BBB permeant	Penghambatan CYP					
			CYP1A2	CYP2C19	CYP2C9	CYP2D6	CYP3A4	
3-O-FERULOYLQUINIC ACID	Low	No	---	---	---	---	---	---
CAFFEIC ACID	High	No	---	---	---	---	---	---
SKOPOLAMINE	High	No	---	---	---	---	---	---
DONEPEZIL	High	Yes	--	-	---	++ +	-	-

Keterangan: (-) = 0.3–0.5 (Kemungkinan menghambat kecil); (--) = 0.1–0.3 (Kemungkinan menghambat rendah); (---) = 0–0.1 (Tidak menghambat); (+) = 0.5–0.7 (Menghambat kecil); (++) = 0.7–0.9 (Menghambat sedang); (+++) = 0.9–1 (Sangat menghambat).

Hasil analisis toksisitas (Tabel 4) menunjukkan profil keamanan yang berbeda. Senyawa 3-*O*-feruloylquinic acid terbukti paling tidak toksik dengan nilai toksisitas akut oral, sensitivitas kulit, dan karsinogenisitas yang sangat rendah. Sementara itu, caffeic acid memiliki potensi karsinogenik dan toksisitas akut oral yang rendah, namun menunjukkan sensitivitas kulit yang tinggi.¹ Donepezil memiliki

toksistas pernapasan yang sangat tinggi, yang perlu diperhatikan dalam aplikasinya.

Tabel 4. Hasil Analisis Toksisitas Senyawa Aktif Kopi Ceri Utuh

Compound	Toxicity					LC50 FM	LC50 DM	Lipinski	Kelas
	Oral Acute Toxicity	Skin sensitization	Carcinogenicity	Respiratory Toxicity					
3-O-FERULOYLQUINIC ACID	---	---	---	+		3.477	4.133	Yes	5
CAFFEIC ACID	--	+++	-	-		4.064	4.506	Yes	4
SKOPOLAMINE	--	-	--	++		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 Daphnia 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 Toksik Tinggi); (+++) = 0,9-1 (Sangat Toksik).

Hasil Analisa Molecular Docking

Molecular docking dilakukan untuk mengevaluasi afinitas pengikatan dari senyawa aktif terhadap protein target asetilkolinesterase (AChE) (PDB ID: 8DT7). Proses validasi *grid box* dilakukan untuk memastikan bahwa simulasi *docking* berpusat pada situs aktif protein (Tabel 5). Ukuran *grid box* 60x60x60 dipilih karena menghasilkan energi pengikatan terendah (-4.69 kcal/mol) dengan ligan asli (3VI).

Protein	Grid Box	EP (kcal/mol)	RMSD (Å)
AChE	40x40x40	-0.89	10.344
	50x50x50	-3.90	9.018
	60x60x60	-4.69	8.503

Keterangan : *Grid Box* yang dipilih

Tabel 5. Validasi *Grid Box* protein AChE

Hasil simulasi *molecular docking* (Tabel 6) menunjukkan bahwa donepezil memiliki energi pengikatan (EP) yang paling rendah, yaitu -9.80 kcal/mol, diikuti oleh caffeic acid dengan EP -1.73 kcal/mol.¹ Konstanta penghambatan donepezil (0.0658 μ M) juga jauh lebih rendah dibandingkan caffeic acid (5397 μ M), menunjukkan afinitas pengikatan

yang jauh lebih kuat.¹ Senyawa 3-*O*-feruloylquinic acid dan skopolamin menunjukkan energi pengikatan positif (+6.79 dan +0.78 kcal/mol), mengindikasikan interaksi yang tidak menguntungkan dengan protein AChE.

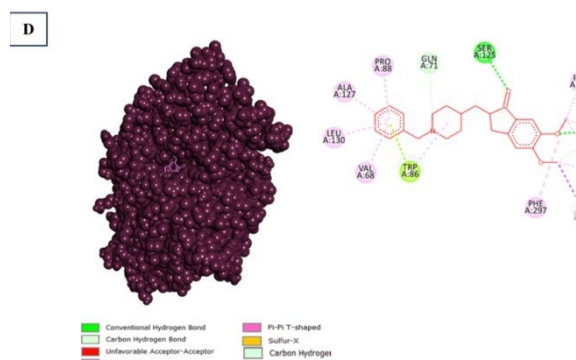
Tabel 6. Hasil energi pengikatan (EP (kcal/mol)) dan konstanta penghambatan (Ki (μM)) antara protein AChE terhadap ligan.

Komponen Bioaktif	AChE		
	EP	KP	RMSD
3- <i>O</i> -feruloylquinic acid	+6.79	-	105.983
Caffeic Acid	-1.73	5397	106.822
Donepezil	-9.80	0.0658	114.249
Skopolamin	+0.78	-	99.197

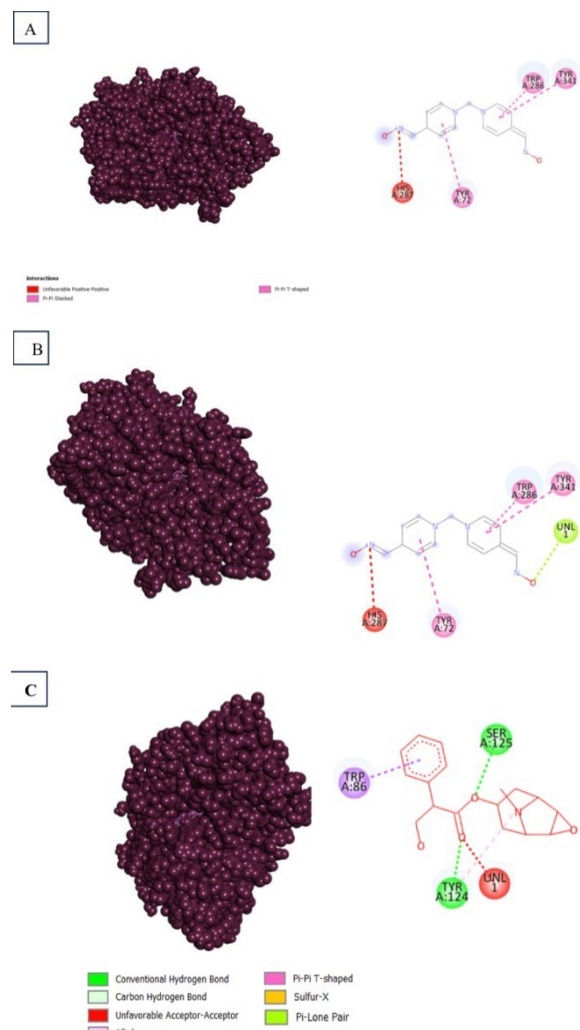
Visualisasi 2D dan 3D dari kompleks protein-ligan lebih lanjut mengungkapkan pola interaksi molekuler. Donepezil membentuk tiga ikatan hidrogen dengan residu asam amino GLN71, SER125, dan HIS447.¹ Caffeic acid, meskipun memiliki energi pengikatan yang jauh lebih lemah, berhasil membentuk satu ikatan hidrogen dengan residu UNL1.¹ Sebaliknya, 3-*O*-feruloylquinic acid tidak menunjukkan pembentukan ikatan hidrogen dengan sekuens asam amino manapun, yang konsisten dengan hasil energi pengikatan positifnya.¹

Hasil Visualisasi Ligand-Protein Complex

Visualisasi AChE Terhadap Senyawa



Aktif Ekstrak Kopi Ceri Utuh, Donepezil, dan Skopolamin.



Analisis ADMETox dan *molecular docking* memberikan wawasan mendalam mengenai potensi senyawa 3-*O*-feruloylquinic acid dan caffeic acid dari ceri kopi utuh sebagai kandidat inhibitor asetilkolinesterase (AChE).

Analisis Profil ADMETox

Hasil analisis ADMETox menunjukkan bahwa kedua senyawa alami memenuhi kriteria Lipinski, yang merupakan prasyarat awal untuk kelayakan obat oral.¹ Hal ini menunjukkan bahwa FQA dan CA memiliki berat molekul, LogP, serta jumlah HBA dan HBD dalam

rentang yang memungkinkan mereka memiliki aktivitas farmakologis yang baik.¹⁴

Namun, profil farmakokinetik yang lebih rinci mengungkap tantangan signifikan. Senyawa 3-*O*-feruloylquinic acid menunjukkan penyerapan gastrointestinal (GI) yang rendah, yang berarti bioavailabilitasnya mungkin tidak memadai untuk mencapai konsentrasi terapeutik yang diperlukan di dalam tubuh.¹ Lebih krusial lagi, baik 3-*O*-feruloylquinic acid maupun caffeic acid diprediksi tidak dapat menembus sawar darah-otak (BBB).¹ Keterbatasan ini menjadi hambatan utama bagi senyawa yang menargetkan sistem saraf pusat, karena obat harus dapat melintasi BBB untuk mencapai target aksinya di otak.⁸ Berbeda dengan donepezil yang memiliki kemampuan penetrasi BBB yang optimal, senyawa alami ini membutuhkan strategi khusus untuk dapat memberikan efek terapi di otak.¹ Potensi interaksi obat yang lebih rendah, seperti yang ditunjukkan oleh profil penghambatan enzim sitokrom P450 (CYP) yang minimal pada kedua senyawa alami dibandingkan dengan donepezil, dapat menjadi keunggulan. Donepezil memiliki potensi penghambatan yang signifikan pada CYP2D6, yang dapat menyebabkan interaksi obat jika diberikan bersamaan dengan obat lain yang dimetabolisme oleh enzim yang sama.¹

Meskipun demikian, keterbatasan farmakokinetik ini tidak menutup kemungkinan pemanfaatan senyawa ini. Berbagai strategi dapat dilakukan untuk meningkatkan permeabilitas BBB, seperti modifikasi struktur kimia agar lebih lipofilik, atau penggunaan sistem penghantaran obat yang canggih seperti nanopartikel atau liposom.¹⁰ Selain itu, pendekatan *prodrug*, di mana senyawa diubah menjadi bentuk yang lebih stabil

dan kemudian diaktifkan di tempat target, juga dapat dipertimbangkan.¹⁰

Analisis Hasil *Molecular Docking*

Hasil *molecular docking* menunjukkan perbandingan yang menarik. Donepezil, sebagai obat standar yang telah disetujui, menunjukkan afinitas pengikatan yang paling kuat dengan protein AChE, dengan energi pengikatan terendah (-9.80 kcal/mol) dan konstanta penghambatan yang sangat rendah (0.0658 μ M).¹ Afinitas yang kuat ini didukung oleh pembentukan beberapa ikatan hidrogen yang stabil dengan residu asam amino kunci pada situs aktif AChE.¹

Caffeic acid, di sisi lain, menunjukkan afinitas pengikatan yang jauh lebih lemah dengan energi pengikatan -1.73 kcal/mol.¹ Namun, visualisasi interaksi menunjukkan bahwa senyawa ini mampu membentuk ikatan hidrogen dengan protein AChE, yang mengindikasikan adanya interaksi spesifik.¹ Hasil ini kontras dengan beberapa studi lain yang melaporkan energi pengikatan yang jauh lebih menguntungkan untuk caffeic acid, seperti -8.022 kcal/mol.¹² Perbedaan yang mencolok ini dapat dijelaskan oleh beberapa faktor yang melekat pada metode *molecular docking*.¹⁹ Perbedaan dalam perangkat lunak *docking* (misalnya, AutoDock vs. YASARA), pemilihan protein PDB yang berbeda, dan penggunaan fungsi penilaian (*scoring function*) yang tidak sama dapat menghasilkan nilai numerik yang bervariasi.¹⁹ Oleh karena itu, hasil energi pengikatan harus diinterpretasikan secara hati-hati dan digunakan sebagai perbandingan relatif di dalam satu studi, bukan sebagai nilai absolut yang dapat dibandingkan antar studi yang berbeda.²⁰

Dalam konteks studi ini, meskipun energi pengikatan caffeic acid lemah, fakta bahwa interaksi spesifik terjadi, didukung oleh pembentukan ikatan hidrogen,

menunjukkan bahwa caffeic acid memiliki potensi awal sebagai kandidat inhibitor AChE.¹ Berbeda dengan caffeic acid, 3-O-feruloylquinic acid menunjukkan energi pengikatan positif (+6.79 kcal/mol) dan tidak ada pembentukan ikatan hidrogen, yang mengindikasikan bahwa senyawa ini tidak memiliki afinitas pengikatan yang berarti terhadap AChE dalam simulasi ini.¹

Lebih dari itu, potensi senyawa alami seperti caffeic acid mungkin tidak hanya terbatas pada penghambatan AChE sebagai agen tunggal. Mengingat sifat antioksidan dan anti-inflamasinya, caffeic acid dapat digunakan sebagai terapi adjuvan atau terapi kombinasi untuk mengatasi aspek lain dari patologi Alzheimer, seperti stres oksidatif.¹ Beberapa penelitian bahkan menunjukkan efek sinergis ketika caffeic acid dikombinasikan dengan donepezil, yang dapat meningkatkan efektivitas pengobatan secara keseluruhan.¹⁰ Pendekatan multi-target ini akan menjadi fokus penting dalam penelitian mendatang, di mana senyawa alami dapat melengkapi aksi obat-obatan konvensional, mengurangi dosis yang dibutuhkan, dan meminimalkan efek samping.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil analisis ADMETox dan *molecular docking* terhadap senyawa 3-O-feruloylquinic acid dan caffeic acid dari ekstrak ceri kopi utuh, dapat disimpulkan beberapa hal. Pertama, kedua senyawa alami ini menunjukkan profil *druglikeness* yang memenuhi kriteria Aturan Lima Lipinski, yang mengindikasikan kelayakan mereka sebagai kandidat obat. Selain itu, profil toksisitasnya secara umum lebih aman dibandingkan dengan Donepezil dan Skopolamin, terutama 3-O-feruloylquinic acid yang menunjukkan tingkat toksisitas yang sangat rendah. Kedua, meskipun

menunjukkan profil keamanan yang baik, terdapat perbedaan krusial dalam efektivitas dan farmakokinetik. Hasil *molecular docking* menunjukkan bahwa caffeic acid memiliki afinitas pengikatan yang menguntungkan (energi pengikatan negatif) dan mampu membentuk ikatan hidrogen dengan protein target, menjadikannya kandidat awal untuk penelitian lebih lanjut. Sebaliknya, 3-O-feruloylquinic acid menunjukkan energi pengikatan positif, yang secara termodinamika tidak disukai, secara efektif mengesampingkannya sebagai kandidat inhibitor AChE.

Ketiga, hambatan utama yang dihadapi oleh kedua senyawa ini adalah ketidakmampuan mereka untuk menembus sawar darah-otak (BBB). Donepezil, sebagai obat pembanding, unggul karena kemampuannya yang teruji dalam mendistribusikan diri ke sistem saraf pusat.¹ Oleh karena itu, meskipun caffeic acid memiliki potensi, tantangan farmakokinetik ini harus diatasi agar dapat berfungsi sebagai agen terapi untuk penyakit Alzheimer. Secara keseluruhan, caffeic acid menunjukkan potensi yang lebih besar dibandingkan 3-O-feruloylquinic acid sebagai kandidat inhibitor asetilkolinesterase. Studi ini menegaskan perlunya optimalisasi lebih lanjut untuk meningkatkan efektivitas caffeic acid sehingga dapat bersaing dengan obat-obatan yang sudah ada.

DAFTAR PUSTAKA

1. World Health Organization. Dementia. 2023.
2. Zhang XX, Tian Y, Wang ZT, Ma YH, Tan L, Yu JT. The Epidemiology of Alzheimer's Disease Modifiable Risk Factors and Prevention. *Journal of Prevention of Alzheimer's Disease*. 2021;8(3):313-321. doi:10.14283/jpad.2021.15.

3. Maryam RS, Sahar J, Hastono SP, Harimurti K. Common symptoms of alzheimer's dementia that are easily recognizable by families. *Dementia e Neuropsychologia*. 2021;15(2):186-191. doi:10.1590/1980-57642021dn15-020005.
4. Scheltens P, Strooper B De, Kivipelto M, et al. Alzheimer ' s disease. 2022;397(10284):1577-1590. doi:10.1016/S0140-6736(20)32205-4.Alzheimer.
5. Nasb M, Tao W, Chen N. Alzheimer's Disease Puzzle: Delving into Pathogenesis Hypotheses. *Aging Dis*. 2024;15(1):43-73. doi:10.14336/AD.2023.0608.
6. Kabra A, Ramteke A. Alzheimer Disease –Etiology, Pathophysiology and Treatment: An Overview. *Ann Rom Soc Cell Biol*. 2021;25(January):3548-3556.
7. Anwal L. a Comprehensive Review on Alzheimer'S Disease. *World J Pharm Pharm Sci*. 2021;10(7):1170. doi:10.20959/wjpps20217-19427
8. Danysz W, Parsons CG. Alzheimer's disease, β -amyloid, glutamate, NMDA receptors and memantine - Searching for the connections. *Br J Pharmacol*. 2012;167(2):324-352. doi:10.1111/j.1476-5381.2012.02057.x.
9. Ma C, Hong F, Yang S. Amyloidosis in Alzheimer's Disease: Pathogeny, Etiology, and Related Therapeutic Directions. *Molecules*. 2022;27(4). doi:10.3390/molecules27041210.
10. Iliyasu MO, Musa SA, Oladele SB, Iliya AI. Amyloid-beta aggregation implicates multiple pathways in Alzheimer's disease: Understanding the mechanisms. *Front Neurosci*. 2023;17. doi:10.3389/fnins.2023.1081938.
11. Chen ZR, Huang JB, Yang SL, Hong FF. Role of Cholinergic Signaling in Alzheimer's Disease. *Molecules*. 2022;27(6):1-23. doi:10.3390/molecules27061816.
12. Ahmed T, Zahid S, Mahboob A, Farhat SM. Cholinergic System and Post-translational Modifications: An Insight on the Role in Alzheimer's Disease. *Curr Neuropsychopharmacol*. 2016;15(4):480-494. doi:10.2174/1570159x14666160325121145.
13. Picciotto MR, Higley MJ, Mineur YS. Acetylcholine as a Neuromodulator: Cholinergic Signaling Shapes Nervous System Function and Behavior. *Neuron*. 2012;76(1):116-129. doi:10.1016/j.neuron.2012.08.036.
14. Grossberg GT. Cholinesterase inhibitors for the treatment of Alzheimer's disease: Getting on and staying on. *Curr Ther Res Clin Exp*. 2003;64(4):216-235. doi:10.1016/S0011-393X(03)00059-6.¹
15. Chen ZR, Huang JB, Yang SL, Hong FF. Role of Cholinergic Signaling in Alzheimer's Disease. *Molecules*. 2022;27(6). doi:10.3390/molecules27061816.¹
16. Cizmarova B, Hubkova B, Bolerazska B, Marekova M, Birkova A. Caffeic acid: A brief overview of its presence, metabolism, and bioactivity. *Bioact Compd Health Dis*. 2020;3(4):74-81. doi:10.31989/bchd.v3i4.692.¹
17. Xiong L, Li Q, Zhou X, et al. Anti-inflammatory and antioxidant effects of fenugreek in preventing mice model of Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis Rep*. 2025;9. doi:10.1177/25424823241312970.¹

18. Pavlíková N. Caffeic Acid and Diseases—Mechanisms of Action. *Int J Mol Sci.* 2023;24(1). doi:10.3390/ijms24010588.
19. Bicho NC, Leitão AE, Ramalho JC, De Alvarenga NB, Lidon FC. Identification of chemical clusters discriminators of Arabica and Robusta green coffee. *Int J Food Prop.* 2013;16(4):895-904. doi:10.1080/10942912.2011.573114.
20. Pan W, Hu K, Bai P, et al. Design, synthesis and evaluation of novel ferulic acid-memquin hybrids as potential multifunctional agents for the treatment of Alzheimer's disease. *Bioorg Med Chem Lett.* 2016;26(10):2539-2543. doi:10.1016/j.bmcl.2016.03.086.¹
21. 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). doi:10.3390/nu16070924.¹
22. Nemzer B, Edwards J, Kalita D. Matrix-Specific Effects on Caffeine and Chlorogenic Acid Complexation in a Novel Extract of Whole Coffea arabica Coffee Cherry by NMR Spectroscopy. *Molecules.* 2022;27(22). doi:10.3390/molecules27227803.¹
23. Dias KST, de Paula CT, dos Santos T, et al. Design, synthesis and evaluation of novel feruloyl-donepezil hybrids as potential multitarget drugs for the treatment of Alzheimer's disease. *Eur J Med Chem.* 2017;130:440-457. doi:10.1016/j.ejmech.2017.02.043.¹
24. Mugundhan V, Arthanari A, Parthasarathy PR. Protective Effect of Ferulic Acid on Acetylcholinesterase and Amyloid Beta Peptide Plaque Formation in Alzheimer's Disease: An In Vitro Study. *Cureus.* Published online February 13, 2024. doi:10.7759/cureus.54103.
25. Caire MJRV. *Physiology, Synapse.* 2023.
26. Maulita R, Suryana E. *Neurosains Dalam Proses Belajar Dan Memori.* Vol 8.; 2022. <http://www.kompasiana.com/opajappy/neurosains-menelusuri-misteri-otak-manusia>.
27. Choudhury A, Sahu T, Ramanujam PL, et al. *Neurochemicals, Behaviours and Psychiatric Perspectives of Neurological Diseases.* Neuropsychiatry. 2018;08(01). doi:10.4172/neuropsychiatry.1000361.
28. Ashraf GM, Greig NH, Khan TA, et al. *Protein Misfolding and Aggregation in Alzheimer's Disease and Type 2 Diabetes Mellitus* HHS Public Access. Vol 13.; 2014.
29. Rajmohan R, Reddy PH. Amyloid-Beta and Phosphorylated Tau Accumulations Cause Abnormalities at Synapses of Alzheimer's disease Neurons. *Journal of Alzheimer's Disease.* 2017;57(4):975-999. doi:10.3233/JAD-160612.
30. Tjandra Dewi V, Laksmidewi AAAP. *Manifestasi Klinis dan Gambaran Pencitraan Struktural dan Fungsional Berbagai Subtipe Demensia.* *Cermin Dunia Kedokteran.* 2023;50(11):594-599. doi:10.55175/cdk.v50i11.836
31. Pengembangan Linguistik dan Kebijakan Bahasa di Era Kenormalan Baru P, Asri T, Nurika Irma C, Wakhdyudi Y. *Prosiding Seminar Nasional Linguistik Dan Sastra (SEMANTIKS) 2021 Gangguan Berbahasa Tokoh Alice Dalam Film*

- Still Alice : Kajian Psikolinguistik. 2021.
32. Sam C; Bordoni B. Physiology, Acetylcholine. 2023.¹
 33. Philip L. Yeagle. The Membranes of Cells (Third Edition). 2016.
 34. Asep S.D. Neufarmakologi- Asetilkolin Dan Nore Efnefrin. 2014.
 35. Yohn SE, Weiden PJ, Felder CC, Stahl SM. Muscarinic acetylcholine receptors for psychotic disorders: bench-side to clinic. Trends Pharmacol Sci. 2022;43(12):1098-1112. doi:10.1016/j.tips.2022.09.006.
 36. Chen X, Qiu W, Ma X, et al. Roles and Mechanisms of Choline Metabolism in Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Cancers. Frontiers in Bioscience - Landmark. 2024;29(5). doi:10.31083/j.fbl2905182.
 37. Sam C; Bruno B. Physiology, Acetylcholine. 2023.
 38. Chhimpa N, Singh N, Puri N, Kayath HP. The Novel Role of Mitochondrial Citrate Synthase and Citrate in the Pathophysiology of Alzheimer's Disease. Journal of Alzheimer's Disease. 2023;94:S453-S472. doi:10.3233/JAD-220514.
 39. Indra I. Aktivitas Otonom. 2013.
 40. Cut N.M, Yulinah S.E, Gana S.A, Insanu M. Aktivitas Inhibisi Asetilkolinesterase Empat Jenis Sayuran Secara In Vitro. Vol 16.; 2019.
www.unwahas.ac.id/publikasiilmiah/index.php/ilmufarmasidanfarmasiklinik.
 41. Huang Q, Liao C, Ge F, Ao J, Liu T. Acetylcholine bidirectionally regulates learning and memory. Journal of Neurorestoratology. 2022;10(2). doi:10.1016/j.jnrt.2022.100002.
 42. Zannone S, Brzosko Z, Paulsen O, Clopath C. Acetylcholine-modulated plasticity in reward-driven navigation: a computational study. Sci Rep. 2018;8(1). doi:10.1038/s41598-018-27393-2.
 43. Sirappa MP, Heryanto R, Silitonga YR. Standardisasi Pengolahan Biji Kopi Berkualitas. 2024.
 44. Sakinah L, Fajriah A, Bardan Nafis Firdausi M, Kiai Haji Achmad Siddiq Jember U. Keragaman Jenis Tumbuhan Di Taman Toga Biologi UIN Khas Jember. Vol 1.; 2023. <https://kalangan.amiin.or.id/>
 45. Deutmar T, Doaly L, Situmorang DM. Seminar Nasional TREnD Technology of Renewable Energy and Development FTI Universitas. 2021.
 46. Yuliandri MT. Anatomi Dari Buah Kopi. Otten coffee.
 47. Radiansyah A.I. Produksi Kopi Arabika (Coffea Arabica) Pada Berbagai Jenis Tanaman Penaung Di Desa Pattaneteang Kecamatan Tompobulu. 2020.
 48. Dr. Ir. Adriani S.S.Mp. Budidaya Tanaman Kopi Di Berbagai Ketinggian Tempat. 2022.
 49. Dinna H.S. Studi Karakteristik Fisika Tanah Zona Perakaran dan Produksi Tanaman Kopi (Coffea sp.) di Kecamatan Wajak, Kabupaten Malang. Published online 2024.
 50. Hendrawan dkk. Buku Agribisnis Budidaya Kopi. Published online 2022.
 51. Hadisunarso MSi I. Modul 1 Morfologi Tumbuhan. 2019.
 52. Nappu MB, Kresna AB, Pengkajian B, et al. Karakter Agronomis Dan Hasil Tanaman Kopi Arabika Di Wilayah Sentra Pengembangan Di Sulawesi Selatan Agronomist Character And Results Of Coffee

- Arabica Plant In The Center Development In South Sulawesi. Jurnal Agrisistem Desember. 2016;12(2).
53. Randriani E.D. Pengenalan Varietas Unggul Kopi. 2018.
 54. Memenuhi U, Memperoleh P, Sarjana G, Pertanian T. Persepsi Petani Dalam Budidaya Kopi Organik Di Kecamatan Pematang Sidamanik Kabupaten Simalungun Tugas Akhir. 2019
 55. Syahputra H. Karakterisasi Kematangan Buah Kopi Berdasarkan Warna Kulit Kopi Menggunakan Histogram Dan Momen Warna Penerbit Cv.Eureka Media Aksara. 2023.
 56. Siska. Formulasi Lulur Body Scrub Dari Ekstrak Etanol Serbuk Kopi Dan Ampas Kopi (*Coffea Arabica* L.). 2020.
 57. Rahmawati I, Gustiani Akademi Farmasi Bumi Siliwangi Lt, Rancabolang No J, Bandung K. Analisis Kafein Pada Kopi Arabika (*Coffea Arabica* L.) Gununghalu Teknik Light Roasting. 2023.
 58. Nujannah F. Pengaruh Pelarut Purifikasi Terhadap Kadar Fenolik Total Ekstrak Biji Kopi Hijau Arabika (*Coffea Arabica* L.). Published Online 2020.
 59. Pendidikan J, Konseling D. Universitas Pahlawan Tuanku Tambusai Literature Review: Pengujian Antioksidan Dalam Senyawa Kafein Pada Tanaman Kopi. Jurnal Pendidikan dan Konseling. 2022;4.
 60. Justin E; John R. Richards; Amanda S. Battisti. Caffeine. 2024.
 61. Latunra AI, Johannes E, Mulihardianti B, Sumule O. Analisis Kandungan Kafein Kopi (*Coffea Arabica*) Pada Tingkat Kematangan Berbeda Menggunakan Spektrofotometer UV-VIS. 2021.
 62. Sales AL, Iriondo-DeHond A, DePaula J, et al. Intracellular Antioxidant and Anti-Inflammatory Effects and Bioactive Profiles of Coffee Cascara and Black Tea Kombucha Beverages. Foods. 2023;12(9). doi:10.3390/foods12091905.
 63. Meng S, Cao J, Feng Q, Peng J, Hu Y. Roles of chlorogenic acid on regulating glucose and lipids metabolism: A review. Evidence-based Complementary and Alternative Medicine. 2013;2013. doi:10.1155/2013/801457.
 64. Esquivel P, Jiménez VM. Functional properties of coffee and coffee by-products. Food Research International. 2012;46(2):488-495. doi:10.1016/j.foodres.2011.05.028.
 65. Heckman MA, Weil J, de Mejia EG. Caffeine (1, 3, 7-trimethylxanthine) in foods: A comprehensive review on consumption, functionality, safety, and regulatory matters. J Food Sci. 2010;75(3). doi:10.1111/j.1750-3841.2010.01561.x.¹
 66. López-Cruz L, Salamone JD, Correa M. Caffeine and selective adenosine receptor antagonists as new therapeutic tools for the motivational symptoms of depression. Front Pharmacol. 2018;9(JUN). doi:10.3389/fphar.2018.00526.¹
 67. Zulkifly S, Darmawan I. Manfaat Kopi Untuk Mencegah Penyakit Alzheimer. 2017.¹
 68. Silviana E, Santika M. Analisis Kandungan Kafein Pada Kopi Seduhan Warung Kopi Di Kota Banda Aceh. Vol 8.; 2020. <https://Pixabay.Com>.¹
 69. 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.
70. Walczak-NŁJ, 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.
 71. Farias-PR, Park CS, Park Y. Mechanisms of action of coffee bioactive components on lipid metabolism. *Food Sci Biotechnol*. 2019;28(5):1287-1296. doi:10.1007/s10068-019-00662-0.
 72. Sholikhati A, Sukoharjanti BT, Rusidah Y. Potensi Ekstrak Kopi (*Coffea Sp.*) Sebagai Antioksidan: Review. Vol 4.; 2023.
 73. Satria S, Waskitha W, Istyastono P, Dika F, Riswanto O. Molecular Docking Study of Caffeic Acid as An Acetylcholinesterase Inhibitor. Vol 2023.; 2023. www.journal.ugm.ac.id/v3/JFPA.
 74. Farmasi Indonesia Penghambatan Enzim Asetilkolinesterase Pada Penyakit Alzheimer Dari Ekstrak Etanol Daun Kelor J, Farmasi F, Pancasila Jalan Raya Lenteng Agung U, et al. Inhibition of Acetylcholinesterase Enzymes in Alzheimer's Disease from Ethanolic Extract of Moringa Leaves (*Moringa oleifera* Lam.). *Jurnal Farmasi Indonesia*. 2021;18(1).¹
 75. Varesi A, Campagnoli LIM, Carrara A, et al. Non-Enzymatic Antioxidants against Alzheimer's Disease: Prevention, Diagnosis and Therapy. *Antioxidants*. 2023;12(1). doi:10.3390/antiox12010180.¹
 76. Chen G, Seuкеp 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/md18110545.¹
 77. Torres PHM, Soderо ACR, Jofily P, Silva-Jr FP. Key topics in molecular docking for drug design. *Int J Mol Sci*. 2019;20(18). doi:10.3390/ijms20184574.¹
 78. Pinzi L, Rastelli G. Molecular docking: Shifting paradigms in drug discovery. *Int J Mol Sci*. 2019;20(18). doi:10.3390/ijms20184331.¹
 79. Pagadala NS, Syed K, Tuszynski J. Software for molecular docking: a review. *Biophys Rev*. 2017;9(2):91-102. doi:10.1007/s12551-016-0247-1.¹
 80. Asmalіani I, Sukmawati, Kusuma AT, Fawwaz M. Molecular Docking and Hepatoprotective Evaluation of Jackfruit Leaf (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) in Rat Induced Isoniazid and Rifampin. *Biointerface Res Appl Chem*. 2024;14(6). doi:10.33263/BRIAC146.129.¹
 81. Torres PHM, Soderо ACR, Jofily P, Silva-Jr FP. Key topics in molecular docking for drug design. *Int J Mol Sci*. 2019;20(18). doi:10.3390/ijms20184574.¹
 82. Zothantluanga JH, Chetia D. A beginner's guide to molecular docking. *Sciences of Phytochemistry*. 2022;1(2):37-40. doi:10.58920/sciphy01020037.¹
 83. Chen G, Seuкеp 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/md18110545.¹
84. Priya RH, Vasan PT. In Silico and Pharmacokinetic Activity of Bioactive Components from *Annona muricata* Leaves Against Breast Cancer. *Indian J Sci Technol.* 2024;17(13):1283-1291. doi:10.17485/IJST/v17i13.1949.¹
 85. 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):689-699. doi:10.1007/s10822-017-0038-1.¹
 86. Guan L, Yang H, Cai Y, et al. ADMET-score-a comprehensive scoring function for evaluation of chemical drug-likeness. *Medchemcomm.* 2019;10(1):148-157. doi:10.1039/C8MD00472B.¹
 87. Banks WA. The Blood–Brain Barrier and CNS Drug Delivery. In: *Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery.* Wiley; 2021:1-22. doi:10.1002/0471266949.bmc285.¹
 88. Chang Y, Hawkins BA, Du JJ, Groundwater PW, Hibbs DE, Lai F. A Guide to In Silico Drug Design. *Pharmaceutics.* 2023;15(1). doi:10.3390/pharmaceutics15010049.¹
 89. Chang Y, Hawkins BA, Du JJ, Groundwater PW, Hibbs DE, Lai F. A Guide to In Silico Drug Design. *Pharmaceutics.* 2023;15(1). doi:10.3390/pharmaceutics15010049.¹
 90. Wu F, Zhou Y, Li L, et al. Computational Approaches in Preclinical Studies on Drug Discovery and Development. *Front Chem.* 2020;8. doi:10.3389/fchem.2020.00726.¹
 91. 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.2016.05.007.¹
 92. Guan L, Yang H, Cai Y, et al. ADMET-score-a comprehensive scoring function for evaluation of chemical drug-likeness. *Medchemcomm.* 2019;10(1):148-157. doi:10.1039/C8MD00472B.¹
 93. Wu F, Zhou Y, Li L, et al. Computational Approaches in Preclinical Studies on Drug Discovery and Development. *Front Chem.* 2020;8. doi:10.3389/fchem.2020.00726.¹
 94. Ferreira-Vieira TH, Guimaraes IM, Silva FR, Ribeiro FM. Send Orders for Reprints to Reprints@benthamscience.Ae Alzheimer's Disease: Targeting the Cholinergic System. Vol 14.; 2016.¹
 95. Chen ZR, Huang JB, Yang SL, Hong FF. Role of Cholinergic Signaling in Alzheimer's Disease. *Molecules.* 2022;27(6):1-23. doi:10.3390/molecules27061816.¹
 96. Maurer S V., Williams CL. The cholinergic system modulates memory and hippocampal plasticity via its interactions with non-neuronal cells. *Front Immunol.* 2017;8(NOV). doi:10.3389/fimmu.2017.01489.¹
 97. Marucci G, Buccioni M, Ben DD, Lambertucci C, Volpini R, Amenta F. Efficacy of acetylcholinesterase inhibitors in Alzheimer's disease. *Neuropharmacology.* 2021;190. doi:10.1016/j.neuropharm.2020.108352.¹
 98. Reid GA, Darvesh S. Interaction of exogenous acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase with amyloid- β plaques in human brain tissue. *Chem*

- Biol Interact. 2024;395. doi:10.1016/j.cbi.2024.111012.¹
99. Singh M, Kaur M, Kukreja H, Chugh R, Silakari O, Singh D. Acetylcholinesterase inhibitors as Alzheimer therapy: From nerve toxins to neuroprotection. *Eur J Med Chem.* 2013;70:165-188. doi:10.1016/j.ejmech.2013.09.050.¹
 100. Gajendra K, Pratap GK, Poornima D V., Shantaram M, Ranjita G. Natural acetylcholinesterase inhibitors: A multi-targeted therapeutic potential in Alzheimer's disease. *European Journal of Medicinal Chemistry Reports.* 2024;11. doi:10.1016/j.ejmcr.2024.100154.¹
 101. Cavalcante SF de A, Simas ABC, Barcellos MC, et al. Acetylcholinesterase: The —Hubl for Neurodegenerative diseases and chemical weapons convention. *Biomolecules.* 2020;10(3). doi:10.3390/biom10030414.¹
 102. Moreta MPG, Burgos-Alonso N, Torrecilla M, Marco-Contelles J, Bruzos-Cidón C. Efficacy of acetylcholinesterase inhibitors on cognitive function in alzheimer's disease. *Review of reviews. Biomedicines.* 2021;9(11). doi:10.3390/biomedicines9111689.¹
 103. Pathophysiology of Alzheimer's disease. In the amyloidogenic pathway,... | Download Scientific Diagram. Accessed July 25, 2025. https://www.researchgate.net/figure/Pathophysiology-of-Alzheimers-disease-In-the-amyloidogenic-pathway-APP-is-hydrolysed_fig1_361873967.¹
 104. Müller T. EXPERT OPINION Rivastigmine in the Treatment of Patients with Alzheimer's Disease. Vol 3.; 2017.¹
 105. Full WwPDB X-Ray Structure Validation Report i o. 2023. <http://www.wwpdb.org/validation/2017/FAQs#types>.¹
 106. 3-O-Feruloylquinic acid | C17H20O9 | CID 6451331 - PubChem. Accessed July 23, 2025. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/6451331>.¹
 107. Caffeic Acid | C9H8O4 | CID 689043 - PubChem. Accessed July 23, 2025. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/689043>.¹
 108. Donepezil | C24H29NO3 | CID 3152 - PubChem. Accessed July 23, 2025. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Donepezil>.¹
 109. Scopolamine Hydrobromide | C17H22BrNO4 | CID 6603108 - PubChem. Accessed July 23, 2025. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Hyoscine-hydrobromide>.¹
 110. PubChem. Accessed July 23, 2025. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>.¹
 111. 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. doi:10.24036/EKSAKTA/VOL24-ISS02/401.¹
 112. 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.¹
 113. Thomas-Brown PG, Ruddock PL, Gossell-Williams M. Pharmacokinetics. *Pharmacognosy:*

- Fundamentals, Applications, and Strategies, Second Edition. Published online July 30, 2023;559-577. doi:10.1016/B978-0-443-18657-8.00008-6.¹
114. Caminero GSA, Marques SGH, Calil RL, Goulart Trossini GH. Absorption matters: A closer look at popular oral bioavailability rules for drug approvals. *Mol Inform.* 2023;42(11). doi:10.1002/MINF.202300115.¹
 115. Yadav RK, Shrestha P, Timilsina K, et al. Antioxidant, Antibacterial Activity, In Silico Molecular Docking, and ADME-Toxicity Study of Lactone from Rhizome of *Angiopteris helferiana*. *J Chem.* 2024;2024(1):5623028. doi:10.1155/2024/5623028.¹
 116. Mohammadhassan R, Fallahi S, Mohammadalipour Z. ADMET and pharmaceutical activity analysis of caffeic acid diversities by in silico tools. *Letters in Applied NanoBioScience.* 2020;9(1):840-848. doi:10.33263/LIANBS91.840848.¹
 117. Lipinski CA, Lombardo F, Dominy BW, Feeney PJ. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Adv Drug Deliv Rev.* 2001;46(1-3):3-26. doi:10.1016/S0169-409X(00)00129-0.¹
 118. Banerjee P, Dehnbostel FO, Preissner R. Prediction is a balancing act: Importance of sampling methods to balance sensitivity and specificity of predictive models based on imbalanced chemical data sets. *Front Chem.* 2018;6(AUG). doi:10.3389/FCHEM.2018.00362/FULL.¹
 119. ProTox-3.0 - Prediction of TOXicity of chemicals. Accessed July 25, 2025. https://tox.charite.de/protox3/index.php?site=home&utm_source=chatgpt.com.¹
 120. Shityakov S, Förster CY, Skorb E. Comparative in silico analysis of CNS-active molecules targeting the blood-brain barrier choline transporter for Alzheimer's disease therapy. In *Silico Pharmacology 2024* 12:2. 2024;12(2):1-10. doi:10.1007/S40203-024-00245-W.¹
 121. Jon J, Jeong J, Jung J, et al. Recent Advances in Donepezil Delivery Systems via the Nose-to-Brain Pathway. *Pharmaceutics* 2025, Vol 17, Page 958. 2025;17(8):958. doi:10.3390/PHARMACEUTICS17080958.¹
 122. Pardridge WM. The blood-brain barrier: Bottleneck in brain drug development. *NeuroRx.* 2005;2(1):3-14. doi:10.1602/Neurorx.2.1.3/METRIC S.¹
 123. Saraiva C, Praça C, Ferreira R, Santos T, Ferreira L, Bernardino L. Nanoparticle-mediated brain drug delivery: Overcoming blood-brain barrier to treat neurodegenerative diseases. *Journal of Controlled Release.* 2016;235:34-47. doi:10.1016/J.JCONREL.2016.05.044.¹
 124. Ohtsuki S, Terasaki T. Contribution of carrier-mediated transport systems to the blood-brain barrier as a supporting and protecting interface for the brain; importance for CNS drug discovery and development. *Pharm Res.* 2007;24(9):1745-1758. doi:10.1007/S11095-007-9374-5.¹
 125. Johnsen KB, Burkhart A, Thomsen LB, Andresen TL, Moos T. Targeting The Transferrin Receptor For Brain Drug Delivery. *Prog Neurobiol.*

- 2019;181:101665.
Doi:10.1016/J.Pneurobio.2019.101665.¹
126. Hynynen K, Mcdannold N, Vykhodtseva N, Jolesz FA. Noninvasive MR Imaging-Guided Focal Opening Of The Blood-Brain Barrier In Rabbits. *Radiology*. 2001;220(3):640-646.
Doi:10.1148/Radiol.2202001804;Website:Website:Rsna-Site;Requestedjournal:Journal:Radiology;Wgroup:String:Rsna.¹
127. Shuldiner AR, Relling M V., Peterson JF, Et Al. The Pharmacogenomics Research Network Translational Pharmacogenetics Program: Overcoming Challenges Of Real-World Implementation. *Clin Pharmacol Ther*. 2013;94(2):207-210.
Doi:10.1038/Cclpt.2013.59;Wgroup:String:Publication.¹
128. Biokimia, Sitokrom P450 - StatPearls - Rak Buku NCBI. Accessed July 31, 2025.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557698/>.¹
129. Kalgutkar AS, Dalvie DK. Drug discovery for a new generation of covalent drugs. *Expert Opin Drug Discov*. 2012;7(7):561-581.
doi:10.1517/17460441.2012.688744.¹
130. Zeldin RK, Petruschke RA. Pharmacological and therapeutic properties of ritonavir-boosted protease inhibitor therapy in HIV-infected patients. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2004;53(1):4-9.
doi:10.1093/JAC/DKH029.¹
131. Novel drug delivery systems / Yie W. Chien | Catalogue | National Library of Australia. Accessed July 31, 2025.
<https://catalogue.nla.gov.au/catalog/1549923>.¹
132. Balant LP, Doelker E, Buri P. Prodrugs for the improvement of drug absorption via different routes of administration. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet*. 1990;15(2):143-153.
doi:10.1007/BF03190197.¹
133. Masimirembwa CM, Bredberg Ui, Andersson TB. Metabolic stability for drug discovery and development: Pharmacokinetic and biochemical challenges. *Clin Pharmacokinet*. 2003;42(6):515-528.
doi:10.2165/00003088-200342060-00002.¹
134. Satria S, Waskitha W, Istyastono P, Dika F, Riswanto O. Molecular Docking Study of Caffeic Acid as Acetylcholinesterase Inhibitor. *Journal of Food and Pharmaceutical Sciences*. 2023;2023(3):867-873.
doi:10.22146/JFPS.7665.¹
135. 3-O-Feruloylquinic acid - Safety Data Sheet. Accessed August 20, 2025.
https://www.chemicalbook.com/msds/3-o-feruloylquinic-acid.htm?utm_source=chatgpt.com.¹
136. Kiriyaama A. Mini Review Correspondence to: Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Characteristics of Donepezil: From Animal Models to Human Applications. *Journal of Drug Metabolism & Toxicology* | J Drug Metab Toxicol. 2024;15(4):1000350.
doi:10.35248/2157-7609.24.15.350.¹
137. 3-O-Feruloylquinic acid - Chemical Compound | PlantaeDB. Accessed July 25, 2025.
https://plantaedb.com/compounds/3-o-feruloylquinic-acid?utm_source=chatgpt.com.¹
138. Kumar S, Modi G. Design, synthesis, and biological evaluation

of caffeic acid-based novel
multifunctional molecules for the
management of Alzheimer's disease.

Eur J Med Chem. 2025;296:117831.
doi:10.1016/J.EJMECH.2025.117831
.1