

STUDI *IN SILICO* PENGHAMBATAN AKTIVASI TLR2 EKSTRAK ETANOL DAUN SEMANGGI (*Marsilea crenata* Presl.)

In Silico Study of Inhibition of TLR2 by Ethanol Extract of Semanggi (Marsilea crenata Presl.) Leaves

**Burhan Ma'arif^{1*}, Destiya Argo Pamuji Fihuda¹, Faisal Akhmal Muslikh²,
Sadli Syarifuddin¹, Begum Fauziah¹, Dewi Perwito Sari³, dan Mangestuti Agil⁴**

¹Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan,
UIN Maulana Malik Ibrahim, Malang, Jawa Timur, Indonesia

²Magister Ilmu Farmasi, Departemen Ilmu Kefarmasian, Fakultas Farmasi,
Universitas Airlangga, Surabaya, Jawa Timur, Indonesia

³Program Studi Farmasi, Fakultas Sains dan Kesehatan,
Universitas PGRI Adi Buana, Surabaya, Jawa Timur, Indonesia

⁴Departemen Ilmu Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga, Surabaya, Jawa Timur, Indonesia

*e-mail: burhan.maarif@farmasi.uin-malang.ac.id

ABSTRACT

Neuroinflammation can cause Parkinson's Disease (PD), with one of the mechanisms being toll-like receptor 2 (TLR2) overactivation due to α -synuclein abnormalities and aggregation. In a previous study, semanggi leaves (Marsilea crenata Presl.) were shown to inhibit the progression of neuroinflammation through the estrogen-receptor (ER) dependent pathway. This study aims to predict the anti-neuroinflammation effect of semanggi leaves on another pathway, namely the inhibition of the TLR2 activation (ID 3A7B) pathway, with an in-silico study. The metabolite profiling compound of 96% ethanol extract of semanggi leaves was prepared with ChemDraw Ultra 12.0, and the pharmacokinetics and pharmacodynamics were examined using the SwissADME webtool. Geometry optimization of the compound was performed using Avogadro 1.0.1, and molecular docking of the compound to the 3A7B receptor was performed using Autodock vina (PyRx 0.8). The interaction visualization stage was carried out with Biovia Discovery Studio 2021, while the toxicity values of the compounds were analyzed using the ProTox II online tool. The results showed that four compounds meet the pharmacokinetic and pharmacodynamic criteria, toxicity, and have similar to the native ligand N-acetyl-D-glucosamine, a 3A7B antagonist with an anti-neuroinflammation effect. Therefore, 96% ethanol extract of semanggi leaves is predicted to inhibit PD progression with an anti-neuroinflammation mechanism potentially.

Keywords: Marsilea crenata Presl., Parkinson's Disease, neuroinflammation, in silico

ABSTRAK

Neuroinflamasi dapat menyebabkan *Parkinson Disease* (PD), dengan salah satu mekanismenya adalah aktivasi berlebih *toll-like receptor 2* (TLR2) akibat abnormalitas dan agregasi α -synuclein. Pada penelitian sebelumnya, daun semanggi (Marsilea crenata Presl.) terbukti menghambat progresivitas neuroinflamasi melalui jalur estrogen-receptor (ER) dependent. Penelitian ini bertujuan untuk memprediksi efek antineuroinflamasi daun semanggi pada jalur penghambatan aktivasi TLR2 (3A7B) dengan studi *in silico*. Senyawa hasil *metabolite profiling* sekunder dari ekstrak etanol 96% daun semanggi dipreparasi dengan ChemDraw Ultra 12.0, kemudian dilihat sifat farmakokinetik dan farmakodinamikanya dengan webtool SwissADME. Optimasi geometri pada senyawa dilakukan menggunakan Avogadro 1.0.1 dan *molecular docking* senyawa terhadap reseptor 3A7B dilakukan menggunakan Autodock vina (PyRx 0.8). Tahap visualisasi interaksi dilakukan dengan Biovia Discover Studio 2021, sedangkan nilai toksisitas senyawa dianalisis menggunakan ProTox II *online tool*. Hasil penelitian menunjukkan terdapat empat senyawa yang memenuhi kriteria farmakokinetik,

Received : 09-01-2022

Revised : 11-05-2022

Accepted : 02-06-2022

Publish : 01-07-2022

farmakodinamik, toksisitas, serta mempunyai kemiripan dengan native ligand N-acetyl-D-glucosamine. Oleh karena itu, ekstrak etanol 96% daun semanggi diprediksi memiliki potensi sebagai penghambat progresifitas PD dengan mekanisme antineuroinflamasi.

Kata kunci: *Marsilea crenata* Presl., *Parkinson Disease*, neuroinflamasi, *in silico*

PENDAHULUAN

Neuroinflamasi merupakan suatu bentuk respon dari sistem saraf pusat (SSP) dalam mengatasi zat neurotoksik agar tidak merusak jaringan saraf (Geeta, 2014). Akan tetapi, kondisi inflamasi yang berkelanjutan (*prolonged inflammation*) pada SSP dapat menginduksi kematian sel neuron hipokampus dan mengarah pada penurunan fungsi kognitif hingga mengakibatkan terjadinya penyakit neurodegeneratif (Chen *et al.*, 2016; Cherry *et al.*, 2014; Mizuno, 2015).

Parkinson disease (PD) merupakan salah satu penyakit neurodegeneratif dengan prevalensi tinggi pada geriatri usia 65 hingga 70 tahun (Balestrino & Schapira, 2020). Gejala PD yang dialami usia geriatri umumnya seperti tremor, bradikinesia, depresi, cemas, gangguan tidur, dan demensia (Syamsudin, 2015). Penyebab utama PD adalah penumpukan *lewy body* akibat abnormalitas agregasi α -synuclein (Suharti, 2020). *Alpha synuclein* (α -synuclein) dapat menyebabkan degenerasi dan apoptosis pada sel neuron. Selain itu, α -synuclein bertindak akibat aktivasi *toll like receptor 2* (TLR2) pada sel mikroglia yang kemudian mengarah pada peningkatan produksi sitokin proinflamasi. Hal ini menyebabkan neuroinflamasi TLR2 diekspresikan pada sel mikroglia (Cario, 2008) dan berperan dalam mengenali patogen termasuk zat neurotoksik (Borrello *et al.*, 2011).

Semanggi (*Marsilea crenata* Presl.) merupakan salah satu tumbuhan yang dimanfaatkan di Surabaya, Jawa Timur sebagai makanan khas masyarakat setempat. Penelitian sebelumnya membuktikan bahwa daun semanggi mampu menghambat progresivitas neuroinflamasi melalui jalur *estrogen-receptor (ER) dependent* dengan menurunkan ekspresi *major histocompatibility complex II* (MHCII) dan meningkatkan ekspresi arginase 1 (Arg1). Hal ini disebabkan oleh keberadaan ikatan agonis senyawa fitoestrogen dalam daun semanggi dengan ER (Ma'arif, 2020; Ma'arif *et al.*, 2020). Fitoestrogen merupakan senyawa dari tumbuhan dengan struktur cincin fenolik sehingga mampu bertindak seperti hormon estrogen. Golongan senyawa ini meliputi isoflavon, lignin, steroid, triterpenoid, dan koumestan (Ariyanti & Apriliana, 2016; Biben, 2012). Penelitian lainnya menjelaskan jika TLR2 dapat berikatan dengan senyawa fitoestrogen berupa golongan isoflavon sehingga berefek sebagai antiinflamasi, salah satu senyawa tersebut adalah genistein (Buathong *et al.*, 2015).

Penelitian ini merupakan tindak lanjut dari penelitian sebelumnya dengan tujuan untuk memprediksi efek antineuroinflamasi daun semanggi pada jalur penghambatan aktivasi TLR2 (ID 3A7B) melalui studi *in silico*. Reseptor tersebut dipilih karena merupakan reseptor TLR2 yang menjadi target penelitian, dimana penghambatan TLR oleh senyawa fitoestrogen menjadi dasar pengobatan neuroinflamasi (Villa *et al.*, 2016). Studi *in silico* merupakan metode simulasi komputasi menggunakan aplikasi dan webtool tertentu untuk memprediksi aktivitas senyawa dalam upaya penemuan obat baru. Metode *in silico* yang digunakan yaitu *molecular docking* antara reseptor dengan ligan (Makatita *et al.*, 2020; Prieto-Martínez *et al.*, 2018).

METODE

Alat

Alat yang digunakan berupa komputer personal ASUS A416MA-EB422TS dengan processor Intel Celeron. *Software* berupa Autodock Vina (PyRx 0.8), ChemDraw Ultra 12.0, Avogadro 1.0.1, dan Biovia Discovery Studio 2021 untuk uji *in silico*, SwissADME untuk uji sifat fisikokimia, dan Protox II *online tool* untuk uji toksisitas.

Bahan

Bahan dalam penelitian ini berupa 43 senyawa hasil *metabolit profiling* dari ekstrak etanol 96% daun semanggi dengan metode UPLC-QToF-MS/MS hasil penelitian sebelumnya (Ma'arif, 2020). Reseptor TLR2 dengan ID 3A7B diunduh melalui www.rcsb.org yang mengandung *native ligand N-acetil-D-glucosamine*. *Native ligand* ini berperan dalam menghambat aktivasi sel mikroglia penyebab neuroinflamasi (Hwang *et al.*, 2010).

Preparasi Sampel

Reseptor dipisahkan antara makromolekul dan *native ligand* menggunakan aplikasi Biovia Discovery Studio 2021, disimpan menggunakan format Sybyl Mol 2. Sebanyak 43 senyawa hasil *metabolit profiling* dari ekstrak etanol 96% daun semanggi dipreparasi untuk mendapatkan struktur 3D dengan ChemDraw Ultra 12.0 yang disimpan dalam format mol. Selanjutnya, senyawa tersebut dilakukan optimasi geometri menggunakan Avogadro 1.0.1 yang bertujuan untuk mendapatkan posisi senyawa yang stabil menggunakan metode MMFF94 dan disimpan dalam format Sybyl Mol 2 (Defitiana & Sanjaya, 2020).

Molecular Docking

Molecular docking terlebih dahulu dilakukan dengan validasi internal pada reseptor dan *native ligand* menggunakan Autodock vina (PyRx 0.8) untuk melihat nilai *root mean square deviation* (RMSD). Nilai RMSD merupakan salah satu parameter yang perlu dipenuhi untuk meninjau kesesuaian aplikasi yang akan digunakan. Pada penelitian ini nilai RMSD yang diperoleh kurang dari 2 Å sehingga menunjukkan bahwa aplikasi tersebut memiliki kesesuaian yang memadai. Tahap ini dilakukan dengan mengatur letak *gridbox*, dimana ligan berinteraksi dengan reseptor target untuk mengetahui titik koordinat *binding site* reseptor dan disimpan menggunakan menu csv (Rachmania *et al.*, 2016). Proses *molecular docking* pada setiap senyawa terhadap reseptor 3A7B dilakukan menggunakan Autodock vina (PyRx 0.8) dan visualisasi interaksi dilakukan dengan Biovia Discover Studio 2021 untuk melihat jarak farmakofor dan asam amino yang diikat. Hasil *molecular docking* senyawa ini dibandingkan dengan *native ligand* untuk mencari aktivitas yang serupa.

Analisis Fisikokimia

Senyawa antagonis diubah formatnya kedalam bentuk *simplified molecular-input line-entry system* (SMILES) menggunakan ChemDraw Ultra 12.0. Bentuk SMILES digunakan agar senyawa dapat dianalisis sifat fisikokimianya agar sebanding dengan senyawa dalam tata nama IUPAC (Sliwoski, 2014). Format tersebut kemudian disalin satu persatu pada *webtool* SwissADME (<http://www.swissadme.ch>) dan diklik *run* untuk mengetahui farmakokinetik dan farmakodinamik senyawa, berupa nilai topological polar surface area (TPSA), berat molekul, log P, *hydrogen bond acceptor* (HBA), *hydrogen bond donor* (HBD), dan pernyataan "Yes" atau "No" dalam memenuhi parameter hukum lima Lipinski.

Analisis Toksisitas

Analisis toksisitas dilakukan dengan memasukkan format SMILES untuk memprediksi nilai LD50 berdasarkan globally harmonized system (GHS) menggunakan ProTox II *online tool* (http://tox.charite.de/protox_II/). Format SMILES ditulis pada Canonical Smiles, kemudian klik Start Tox-Prediction.

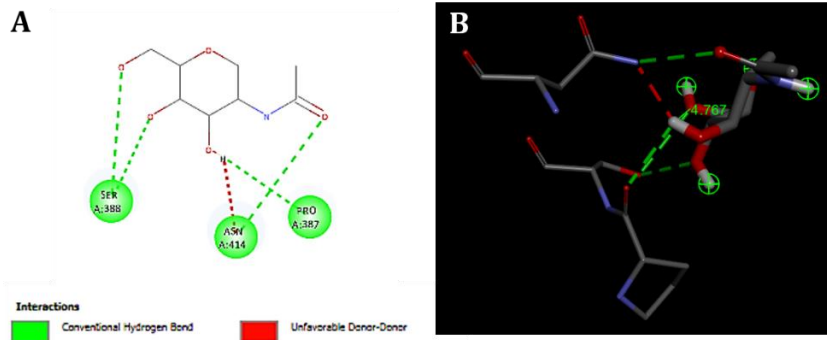
HASIL DAN PEMBAHASAN

Validasi metode dengan penambatan reseptor dan *native ligand* menggunakan Autodock Vina (PyRx 0.8) diperoleh nilai RMSD 1,476 Å. RMSD dengan nilai kurang dari 2 Å menunjukkan bahwa aplikasi tersebut sesuai untuk proses penambatan molekul yang memberi hasil mendekati hasil eksperimental (Nursamsiar *et al.*, 2020). Kemudian reseptor 3A7B dan 43 senyawa hasil *metabolite profiling* dengan UPLC-QToF-MS/MS dilakukan penambatan ulang dengan Autodock Vina (PyRx 0.8). Pengaturan dilakukan pada *gridbox* yang menjadi tempat interaksi asam amino pada *binding site* reseptor target. Senyawa ditambatkan pada *binding site* yang sama dengan *native ligand* (Rachmania *et al.*, 2016). Selanjutnya, dilakukan analisis dengan Biovia Discovery Studio 2021 untuk mengetahui asam amino yang terbentuk, jarak farmakofor, dan jenis ikatan.

Tabel 1. *Molecular docking* senyawa antagonis ekstrak etanol 96% daun semanggi dengan 3A7B

No.	Nama Senyawa	Binding Affinity (kcal/mol)	Asam Amino (Jenis Ikatan)	Jarak Farmakofor (Å)
1.	<i>Native Ligand</i> N-asetil-D-glukosamine	-2,8	Ser388 (hidrogen) Asn414 (hidrogen) Pro387 (hidrogen)	4,767
2.	<i>2-methyl-2-propanyl [1-(((2-methyl-2-propanyl)oxy)carbonyl)amino]cyclobutyl)methyl carbonate</i>	-2,1	Ser388 (hidrogen) Asn414 (hidrogen)	3,221
3.	<i>Cetylamine</i>	-1,6	Pro387 (alkil) Ser388 (hidrogen)	4,962
4.	<i>(2R)-2-[4-methoxy-3-(3-methoxypropoxy)benzyl]-3-methylbutanoic acid</i>	-2,2	Ser388 (unfavorable acceptor-acceptor) Asn414 (hidrogen)	5,567
5.	<i>2,2-dihydroxy-n,n,n-trimethylethanaminium</i>	-2,0	Asn414 (hidrogen) Ser388 (hidrogen)	2,427

Tabel 1 menunjukkan senyawa antagonis dengan 3A7B hasil *molecular docking*. Hasil visualisasi *native ligand* dengan aplikasi Biodiva Discovery Studio 2021 ditunjukkan pada Gambar 1. Senyawa hasil *metabolite profiling* dari ekstrak etanol 96% daun semanggi dapat dikatakan antagonis apabila mengikat minimal dua asam amino yang sama dengan *native ligand*, yaitu Ser 388 dan Asn 414/Pro 387. Semakin banyak jenis kesamaan asam amino yang diikat oleh senyawa metabolit sekunder pada ekstrak etanol 96% daun semanggi dengan *native ligand*, maka interaksi yang terbentuk dapat dikatakan semakin sama (Ekins *et al.*, 2007; Suhud, 2015). Asam amino yang terbentuk tersebut ditentukan nilai jarak farmakofornya ke asam amino yang lain. Jarak farmakofor merupakan jarak minimum molekul untuk berikatan dengan reseptor sehingga menimbulkan aktivitas (Jejurikar & Rohane, 2021). Perbandingan kedekatan nilai jarak farmakofor juga menentukan kesamaan aktivitas senyawa metabolit sekunder tersebut dengan *native ligand* (Mughtaridi *et al.*, 2018). *Binding affinity* yang dihasilkan menunjukkan nilai negatif, dimana semakin tinggi negatifitasnya, ikatan yang terbentuk semakin kuat dan stabil (Syahputra *et al.*, 2014).



Gambar 1. Visualisasi native ligand N-asetil-D-glukosamin dengan TLR2 (A: 2D; B: 3D)

Analisis *molecular docking* pada senyawa *metabolite profiling* ekstrak etanol 96% daun semanggi diketahui bahwa terdapat empat senyawa yang bersifat antagonis serupa dengan *native ligand*, yaitu *2-methyl-2-propanyl [1-(((2-methyl-2-propanyl)oxy)carbonyl)amino)cyclobutyl]methyl carbonate*; *cetylamine*; *(2r)-2-[4-methoxy-3-(3-methoxypropoxy)benzyl]-3-methylbutanoic acid*; dan *2,2-dihydroxy-n,n,n-trimethylethanaminium* (Tabel 1). Visualisasi Biodiva Discovery Studio 2021 pada masing-masing senyawa antagonis tersebut dengan TLR2 berturut-turut ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Visualisasi empat senyawa antagonis pada ekstrak etanol 96% daun semanggi dengan TLR2

No	Nama Senyawa	2D	3D
1.	<i>2-methyl-2-propanyl [1-(((2-methyl-2-propanyl)oxy)carbonyl)amino)cyclobutyl]methyl carbonate</i>		
2.	<i>Cetylamine</i>		
3.	<i>(2R)-2-[4-methoxy-3-(3-methoxypropoxy)benzyl]-3-methylbutanoic acid</i>		
4.	<i>2,2-dihydroxy-N,N,N-trimethylethanaminium</i>		

Potensi farmakokinetik dan farmakodinamik keempat senyawa antagonis diprediksi menggunakan *webtool* SwissADME diketahui bahwa seluruh tersebut dapat diterima oleh tubuh (Tabel 3). Empat senyawa tersebut memenuhi persyaratan parameter hukum lima Lipinski sehingga disimpulkan dapat diterima oleh tubuh. Parameter hukum Lima Lipinski diantaranya memiliki berat molekul < 500 g/mol, HBA < 10, HBD < 5, dan log P < 5. Berat molekul kurang dari 500 g/mol menandakan senyawa tersebut dapat menembus membran biologis. Nilai log P menyatakan kemampuan senyawa untuk dapat larut dalam cairan membran. H-aseptor dan H-donor menunjukkan kapasitas ikatan hidrogen, dimana semakin besar nilainya maka semakin tinggi energi yang diperlukan untuk proses absorpsi (Lipinski *et al.*, 2001). Keempat senyawa tersebut juga memiliki nilai TPSA < 79 Å², yang menunjukkan bahwa senyawa-senyawa tersebut mampu menembus sawar darah otak dan memberikan efek (Martin, 2005; Villa *et al.*, 2016).

Tabel 3. Analisis farmakokinetik dan farmakodinamik senyawa hasil *metabolite profiling* ekstrak etanol 96% daun semanggi yang antagonis dengan 3A7B

No.	Nama senyawa	Parameter hukum lima Lipinski				Hukum lima Lipinski	TPSA (Å ²)	Kelas LD ₅₀
		Berat molekul ≤ 500 (g/mol)	HBA ≤ 10	HBD ≤ 5	log P ≤ 5			
1.	<i>2-methyl-2-propanyl [1-((2-methyl-2-propanyl)oxy) carbonyl]amino) cyclobutyl] methyl carbonate</i>	301,38	3	3	2,63	Yes	73,86	IV
2.	<i>Cetylamine</i>	241,46	1	1	4,58	Yes	26,02	IV
3.	<i>(2R)-2-[4-methoxy-3-(3-methoxypropoxy) benzyl]-3-methylbutanoic acid</i>	310,39	5	1	3,00	Yes	64,99	V
4.	<i>2,2-dihydroxy-N,N,N-trimethylethanaminium</i>	120,17	2	2	-1,96	Yes	40,46	IV

Pada penelitian ini dilakukan juga prediksi toksisitas keempat senyawa antagonis dari ekstrak etanol 96% daun semanggi menggunakan ProTox II *online tool*. Parameter toksisitas ditunjukkan dengan nilai LD₅₀, yaitu prediksi dosis tunggal yang dapat membunuh 50% hewan coba dalam satu kali pemberian senyawa uji (Nurmianti & Gusmarwani, 2020). Tingkat toksisitas didasarkan pada GHS dikelompokkan menjadi 6 kelas, yaitu kelas 1 (LD₅₀ ≤ 5 mg/kg) dan kelas 2 (5 < LD₅₀ ≤ 50 mg/kg) fatal jika tertelan, kelas 3 (50 < LD₅₀ ≤ 300 mg/kg) beracun jika tertelan, kelas 4 (300 < LD₅₀ ≤ 2000 mg/kg) berbahaya jika tertelan, kelas 5 (2000 < LD₅₀ ≤ 5000 mg/kg) bisa berbahaya jika tertelan dan kelas 6 (LD₅₀ > 5000 mg/kg) tidak toksik (Supandi & Merdekawati, 2018). Semakin besar nilai LD₅₀ menandakan bahwa senyawa tersebut semakin tidak bersifat

toksik atau semakin aman dikonsumsi tubuh. Tabel 3 menunjukkan bahwa keempat senyawa antagonis tersebut memiliki toksisitas rendah, tiga senyawa berada termasuk dalam kelas 4 dan satu di kelas 5.

Berdasarkan hasil penelitian terdapat empat senyawa pada ekstrak etanol 96% daun semanggi yang berpotensi sebagai agen antineuroinflamasi melalui penghambatan TLR2. Senyawa-senyawa tersebut memenuhi parameter hukum lima Lipinski dengan toksisitas rendah, berturut-turut yaitu *2-methyl-2-propanyl* [1-(((2-methyl-2-propanyl)oxy)carbonyl)amino)cyclobutyl]methyl carbonate; *Cetylamine*; (2R)-2-[4-Methoxy-3-(3-methoxypropoxy)benzyl]-3-methylbutanoic acid; dan 2,2-dihydroxy-N,N,N-trimethylethanaminium. Abnormalitas agregasi α -synuclein bersifat toksik pada sel neuron dopaminergik dan berperan pada patogenesis utama terjadinya PD (Yulianti *et al.*, 2015). TLR2 memainkan peran dalam memicu aktivasi respon inflamasi di sel mikroglia yang disebabkan abnormalitas α -synuclein pada penyakit Parkinson (Dzamko *et al.*, 2017). Mutasi gen yang terjadi dapat menimbulkan abnormalitas α -synuclein seperti agregasi dan degenerasi yang merupakan penyusun utama *lewy body* (Lewis & Spillane, 2018). Abnormalitas α -synuclein akan direspon oleh sel mikroglia, karena aktivasi yang berlebihan menyebabkan terbentuknya sitokin proinflamasi (Gelosa *et al.*, 2017).

Patogen atau adanya kelainan yang menyerang tubuh akan direspon oleh sistem imun, dalam hal ini oleh TLR dengan membentuk pertahanan diri. Akan tetapi, aktivasi yang berlebih dari TLR dapat mengganggu homeostasis pada otak karena produksi sitokin proinflamasi yang berlebihan, sehingga menyebabkan berbagai penyakit (Hernandez-Lemus *et al.*, 2017). Peningkatan TLR2 meningkatkan aktivasi Nf-kB dan akan bertranslokasi dari sitoplasma ke nukleus, sehingga berikatan dengan DNA dan melakukan proses transkripsi. Hal ini mengakibatkan sel mikroglia teraktivasi menjadi kondisi *M1 polarity* dan mengaktifkan agen proinflamasi (Engler-Chiurazzi *et al.*, 2017; Penn, 2002). Penghambatan aktivitas TLR oleh senyawa hasil metabolite profiling dari ekstrak etanol 96% daun semanggi, menyebabkan penghambatan aktivitas dari mikroglia dari *M1 polarity* menjadi *M2 polarity* sehingga menjadi agen antineuroinflamasi (Cui *et al.*, 2013). Selain itu, penekanan aktivitas TLR2 dapat mengurangi agregasi dari α -synuclein yang akan mengurangi aktivasi glia dalam menyebabkan peradangan (Kwon *et al.*, 2019).

Mekanisme tersebut mendukung hasil prediksi bahwa keempat senyawa tersebut mampu mengikat TLR2, sehingga aktivasinya dapat dihambat. Penghambatan jalur TLR2 dapat membentuk dasar intervensi terapeutik baru dalam mengatasi neuroinflamasi (Dzamko *et al.*, 2017). Oleh karena itu, keempat senyawa hasil *metabolite profiling* dari ekstrak etanol 96% daun semanggi tersebut berpotensi untuk dikembangkan lebih lanjut sebagai agen antineuroinflamasi.

KESIMPULAN

Terdapat empat senyawa dalam ekstrak etanol 96% daun semanggi yang mempunyai kemiripan dengan *native ligand N-acetyl-D-glucosamine*, dan memenuhi syarat farmakokinetik, farmakodinamik, serta toksisitas berdasarkan studi *in silico*. *Native ligand N-acetyl-D-glucosamine* merupakan suatu antagonis 3A7B yang berefek antineuroinflamasi dengan aktivitas penekanan pada mikroglia sehingga menghambat aktivasi *Nf-kB*. Oleh karena itu, ekstrak etanol 96% daun semanggi diprediksi memiliki potensi antineuroinflamasi dalam menghambat progresifitas PD. Penelitian ini sebagai langkah awal bagi peneliti lain untuk melanjutkan penelitian *in vivo* maupun *in vitro*, sehingga dapat dikembangkan lebih lanjut menjadi suatu produk obat tradisional.

DAFTAR PUSTAKA

- Ariyanti, H., & Apriliana, E. (2016). Pengaruh Fitoestrogen terhadap Gejala Menopause. *Jurnal Majority*, 5(5), 1–5.
- Balestrino, R., & Schapira, A. H. V. (2020). Parkinson disease. *European Journal of Neurology*, 27(1), 27–42. <https://doi.org/10.1111/ENE.14108>
- Biben. (2012). Fitoestrogen: Khasiat terhadap Sistem Reproduksi, Non Reproduksi dan Keamanan Penggunaannya. *Seminar Ilmiah Nasional Estrogen Sebagai Sumber Hormon Alami*.
- Borrello, S., Nicolo, C., Delogu, G., Pandolfi, F., & Ria', F. (2011). TLR2: A Crossroads between Infections and Autoimmunity? In *International Journal of Immunopathy and Pharmacology* (Vol. 24, Issue 3).
- Buathong, N., Poonyachoti, S., & Deachapunya, C. (2015). Isoflavone Genistein Modulates the Protein Expression of Toll-like Receptors in Cancerous Human Endometrial Cells. *Journal of the Medical Association of Thailand = Chotmaihet Thangphaet*. Oct;98 Suppl 9:S31-8. PMID: 26817207.
- Cario, E. (2008). Barrier-protective function of intestinal epithelial toll-like receptor 2. *Mucosal Immunology*, 1(November), 62–66. <https://doi.org/10.1038/mi.2008.47>
- Chen, W. W., Zhang, X., & Huang, W. J. (2016). Role of neuroinflammation in neurodegenerative diseases (Review). *Molecular Medicine Reports*, 13(4), 3391–3396. <https://doi.org/10.3892/mmr.2016.4948>
- Cherry, J. D., Olschowka, J. A., & O'Banion, M. K. (2014). Neuroinflammation and M2 microglia: the good, the bad, and the inflamed. *Journal of Neuroinflammation*, 11. <https://doi.org/10.1186/1742-2094-11-98>
- Cui, L., Zahedi, P., Saraceno, J., Bristow, R., Jaffray, D., & Allen, C. (2013). Neoplastic cell response to tiopronin-coated gold nanoparticles. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 9(2), 264–273. <https://doi.org/10.1016/j.NANO.2012.05.016>
- Defitiana, W., & Sanjaya, I. G. M. (2020). Studi Komputatif Jalur Sintesis Asam Elagat dari Asam Galat. *UNESA Journal of Chemistry*, 9(1), 83–90.
- Dzamko, N., Gysbers, A., Perera, G., Bahar, A., Shankar, A., Gao, J., Fu, Y. H., & Halliday, G. M. (2017). Toll-like receptor 2 is increased in neurons in Parkinson's disease brain and may contribute to alpha-synuclein pathology. *Acta Neuropathologica*, 133(2), 303–319. <https://doi.org/10.1007/s00401-016-1648-8>
- Ekins, S., Mestres, J., & Testa, B. (2007). In silico pharmacology for drug discovery: applications to targets and beyond. *British Journal of Pharmacology*, 152, 21–37. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0707306>
- Engler-Chiurazzi, E. B., Brown, C. M., Povroznik, J. M., & Simpkins, J. W. (2017). Estrogens as neuroprotectants: Estrogenic actions in the context of cognitive aging and brain injury. *Progress in Neurobiology*, 157, 188–211. <https://doi.org/10.1016/j.PNEUROBIO.2015.12.008>
- Geeta, R. (2014). Novel Therapeutic Targets in Neuroinflammation and Neuropathic Pain. *Inflammation and Cell Signaling*, 1(3). <https://doi.org/10.14800/ICS.111>
- Gelosa, P., Colazzo, F., Tremoli, E., Sironi, L., & Castiglioni, L. (2017). Cysteinyl Leukotrienes as Potential Pharmacological Targets for Cerebral Diseases. *Mediators of Inflammation*, 2017. <https://doi.org/10.1155/2017/3454212>
- Hernandez-Lemus, E., Michael Ogundele, O., Mohamed El-Wazir, Y., Li, Q., Yang, H., Gao, W., & Xiong, Y. (2017). Citation: Inhibition of Toll-Like Receptor Signaling as a Promising Therapy for

- Inflammatory Diseases: A Journey from Molecular to Nano Therapeutics. *Frontiers in Physiology / Www.Frontiersin.Org*, 1, 508. <https://doi.org/10.3389/fphys.2017.00508>
- Hwang, S. Y., Shin, J. H., Hwang, J. S., Kim, S. Y., Shin, J. A., Oh, E. S., Oh, S., Kim, J. Bin, Lee, J. K., & Han, I. O. (2010). Glucosamine exerts a neuroprotective effect via suppression of inflammation in rat brain ischemia/reperfusion injury. *Glia*, 58(15), 1881–1892. <https://doi.org/10.1002/glia.21058>
- Jejurikar, B. L., & Rohane, S. H. (2021). Drug Designing in Discovery Studio. *Asian Journal of Research in Chemistry*, 14(2), 135–138.
- Kwon, S., Iba, M., Masliah, E., & Kim, C. (2019). Targeting Microglial and Neuronal Toll-like Receptor 2 in Synucleinopathies. *Experimental Neurobiology*, 28(5), 547. <https://doi.org/10.5607/EN.2019.28.5.547>
- Lewis, P., & Spillane, J. (2018). *Neurodegenerative Disease 1st Edition* (1st ed.). Cambridge:Academic Press.
- Lipinski, C. A., Lombardo, F., Dominy, B. W., & Feeney, P. J. (2001). Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 46(1–3), 3–26. [https://doi.org/10.1016/S0169-409X\(00\)00129-0](https://doi.org/10.1016/S0169-409X(00)00129-0)
- Ma'arif, B. (2020). *Aktivitas Antineuroinflamasi Ekstrak dan Fraksi Daun Semanggi (M. crenata Presl.) terhadap sel Mikroglia HMC3*. Universitas Airlangga.
- Ma'arif, B., Agil, M., & Laswati, H. (2020). The enhancement of Arg1 and activated ER β expression in microglia HMC3 by induction of 96% ethanol extract of *Marsilea crenata* Presl. leaves. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*, 30(6). <https://doi.org/10.1515/JBCPP-2019-0284>
- Makatita, F. A., Wardhani, R., & Nuraini. (2020). Riset in Silico Dalam Pengembangan Sains Di Bidang Pendidikan, Studi Kasus: Analisis Potensi Cendana Sebagai Agen Anti-Aging. *Jurnal ABDI*, 2(1), 33–39.
- Martin, Y. C. (2005). A Bioavailability Score. *Journal of Medicinal Chemistry*, 48(9), 3164–3170. <https://doi.org/https://doi.org/10.1021/jm0492002>
- Mizuno, T. (2015). Neuron-microglia interactions in neuroinflammation. *Clinical & Experimental Neuroimmunology*, 6, 225–231.
- Muchtaridi, Dermawan, D., & Yusuf, M. (2018). Molecular docking, 3D Structure-Based Pharmacophore Modeling, and ADME Prediction of Alpha Mangostin and Its Derivatives Against Estrogen Receptor Alpha. *Journal of Young Pharmacists*, 10(2), 252–259.
- Nurmianti, L., & Gusmarwani, S. (2020). Penentuan Lethal Dose 50% (LD₅₀) Pestisida Nabati dari Campuran Buah Bintaro, Sereh, Bawang Putih, Lengkuas. *Jurnal Inovasi Proses*, 5(1).
- Penn, D. (2002). Major Histocompatibility Complex (MHC). In *Encyclopedia of Life Sciences*. Macmillan Publishers Ltd: Nature Publishing Group.
- Prieto-Martínez, F. D., Arciniega, M., & Medina-Franco, J. L. (2018). Acoplamiento Molecular: Avances Recientes y Retos. *TIP Revista Especializada En Ciencias Químico-Biológicas*, 21, 65–87. <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2018.0.143>
- Rachmania, R. A., Supandi, & Cristina, F. A. D. (2016). Analisis Penambatan Molekul Senyawa Flavonoid Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl.) pada Reseptor α -Glukosidase sebagai Antidiabetes. *Jurnal Pharmacy*, 13(2), 239–251.

- Suharti. (2020). Patofisiologi Penurunan Kognitif pada Penyakit Parkinson. *UMI Medical Journal*, 5(1), 1–11. <http://jurnal.fk.umi.ac.id/index.php/umimedicaljournal/article/view/76/71>
- Suhud, F. (2015). Uji Aktivitas *In-silico* Senyawa Baru 1-Benzil-3-benzoilurea Induk dan Tersubstitusi sebagai Agen Antiproliferatif. *Jurnal Farmasi Indonesia*, 7(4), 245–251.
- Supandi, & Merdekawati, F. (2018). *In Silico* Study of Pyrazolylaminoquinazoline Toxicity by Lazar, Protox and Admet Predictor. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 8(9), 119–120. <https://doi.org/DOI: 10.7324/JAPS.2018.8918>
- Syahputra, G., Ambarsari, L., & Sumaryada, T. (2014). Simulasi Docking Kurkumin Enol, Bismetoksikurkumin Dan Analognya Sebagai Inhibitor Enzim 12-Lipoksigenase. *Jurnal Biofisika*, 10(1), 55–67.
- Syamsudin, T. (2015). Penyakit Parkinson. In T. Syamsuddin, Subagya, & M. Akbar (Eds.), *Panduan Tatalaksana Penyakit Parkinson dan Gangguan Gerak Lainnya. Kelompok Studi Movement Disorder* (pp. 9–31). Perhimpunan Dokter Spesialis Saraf Indonesia.
- Villa, A., Vegeto, E., Poletti, A., & Maggi, A. (2016). *Estrogens, Neuroinflammation, and Neurodegeneration*. <https://doi.org/10.1210/er.2016-1007>
- Yulianti, A. B., Sumarsono, S. H., Ridwan, A., & Yusuf, A. T. (2015). Hubungan Reactive Oxygen Species (ROS), Superoxide Dismutase (SOD) dengan Protein α -Sinuklein-Larut Air pada Batang Otak Tikus yang Diinduksi Rotenon. *Global Medical and Helath Communication*, 3(2). <https://doi.org/https://doi.org/10.29313/gmhc.v3i2.1508>