STUDI PENAMBATAN MOLEKUL FLAVONOID PADA RESEPTOR α-GLUKOSIDASE MENGGUNAKAN PLANTS

FLAVONOID MOLECULAR DOCKING STUDY AT α-GLUCOSIDASE RECEPTORS USING PLANTS

Budi Mulyati[1*], Riong Seulina Panjaitan[2]
[1]Teknik Industri, Fakultas Teknik, Universitas Nurtanio, Jl. Pajajaran No. 219, Bandung, Indonesia
[2]Ilmu Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas 17 Agustus 1945 Jakarta, Jakarta Utara, Indonesia
[*]Corresponding Author : b.mulyati@unnur.ac.id

ABSTRACT

Plants that contain flavonoids are widely used in traditional medicine. Flavonoids can reduce blood glucose levels with their ability as anti-oxidants. The purpose of this study was to determine natural compounds from flavonoid derivatives that have good affinity and conformation and their interactions in inhibiting α-glucosidase (an enzyme that breaks down carbohydrates into glucose) and determine the sequence of ligands that interact more strongly with α protein / enzyme. -glucosidase. Molecular docking is a computational method that aims to mimic the interaction of a ligand molecule with the protein it targets in in-vitro tests. Molecular docking between flavonoids and α-glucosidase receptors was carried out using the PLANTS method to see its affinity. The flavonoids used as ligands were flavones, flavanols and chalcone with the results of the docking scores respectively, -65.41, -64.39 and -63.07 where the standard ligand used in this study was deoxynojirimycin (-77.12). Meanwhile, the active side of the α-Glucosidase enzyme that binds to flavonoid ligands is Gly 555, Glu 526 and Pro 556.

Keywords: *Flavonoid, α-glucosidase enzyme, antidiabetic, PLANTS*

PENDAHULUAN

Diabetes tidak hanya menyebabkan kematian prematur di seluruh dunia, tetapi juga menyebabkan kebutaan, penyakit jantung dan gagal ginjal. Berdasarkan data dari International Diabetes Federation (IDF) tahun 2019, Indonesia menempati peringkat ke enam di dunia dengan penderita DM terbanyak [1]. Hampir semua provinsi di Indonesia menunjukkan peningkatan prevalensi pada tahun 2013-2018 kecuali Provinsi Nusa Tenggara Timur. Penderita diabetes mellitus pada masa pandemi seperti saat ini harus lebih waspada karena penderita diabetes merupakan kelompok lebih rentan terhadap virus Covid-19, karena kadar gula darah yang tidak stabil membuat penderita diabetes mellitus lebih beresiko saat terinfeksi Covid-19 [1]. Dari Hasil data diatas maka penyakit diabetes merupakan masalah besar yang harus diatasi. Berbagai upaya untuk mengobati penyakit diabetes terus dilakukan, yaitu mengembangkan berbagai jenis obat. Salah satunya adalah mencari sumber obat baru yang berasal dari bahan alam yaitu tanaman.

Banyak tanaman herbal yang mempunyai aktivitas menghambat kerja enzim α-glukosidase, sehingga karbohidrat yang masuk tidak langsung dipecah menjadi glukosa salah satunya adalah flavonoid. Flavonoid menurunkan kadar glukosa darah pada penderita diabetes dengan cara mengurangi penyerapan glukosa atau meningkatkan toleransi terhadap glukosa dan meningkatkan sekresi insulin, selain itu flavonoid dapat merangsang penyerapan glukosa pada jaringan perifer dan mengatur kerja enzim yang terlibat dalam jalur metabolisme karbohidrat [2]. Dalam perkembangannya hinga tahun 2011 ditemukan lebih dari 9000 flavanoid dan telah digunakan untuk suplemen kesehatan . Flavonoid dibagi menjadi beberapa sub kelompok berdasarkan substitusi karbon pada gugus aromatik sentral (C). Sub kelompok tersebut adalah : flavanol, flavanon, flavon, isoflavon, anthocyanidins, dan flavonol [3].

Beberapa penelitian tentang manfaat flavonoid sebagai antidiabetes telah dilakukan secara laboratorium diantaranya adalah penelitian oleh Elfahmi [4] membuktikan khasiat antidiabetes dari produk jadi obat herbal kategori jamu atau obat tradisional yang diproduksi oleh salah satu usaha mikro obat tradisional yang mengandung bahan aktif ekstrak tunggal brotowali (*Tinospora crispa*). Kandungan metabolit sekunder dari produk obat herbal tersebut adalah golongan alkaloid, flavonoid dan triterpenoid/steroid. Kadar flavonoid total yang

diukur menggunakan spektrofotmeter UV didapatkan sebesar 0,21% relatif dihitung terhadap kuersetin yang digunakan sebagai pembanding. Produk obat herbal tersebut menunjukkan aktivitas antidiabetes yang tergantung kepada dosis dan dosis 500 mg/kgBB mempunyai penurunan kadar glukosa maksimum sampai 75.35%. Kemudian berdasarkan hasil penelitian dan analisis data yang telah dilakukan oleh Haryoto [5] bahwa ekstrak etanol daun dan batang ubi jalar ungu dengan pemberian dosis 150, 300,dan 600 mg/kgBB dapat memberikan efek menurunkan kadar glukosa darah berturut –turut menjadi 65,59%; 71,34% ; dan 46,83 % pada tikus jantan galur Wistar yang diinduksi aloksan setelah perlakuan 14 hari. Ekstrak etanol daun dan batang ubi jalar ungu mengandung golongan senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, tanin dan senyawa fenolik.

Menurut Siswandono [6] teknik penemuan obat baru melalui studi komputasi yang merupakan cabang kimia dengan menggunakan hasil kimia teori, lalu diterjemahkan ke dalam program komputer untuk menghitung sifat-sifat dan perubahan dari molekul maupun dengan cara melakukan simulasi terhadap sistem-sistem yang besar (makromolekul seperti protein serta asam nukleat) dan sistem besar yang dapat mencakup kajian konformasi molekul serta perubahannya (misalnya, proses denaturasi protein), dan perubahan fase, serta memperkirakan sifat-sifat makroskopik (misalnya, kalor jenis) berdasarkan perilaku di tingkat atom dan molekul. Hal tersebut merupakan salah satu cara mengatasi permasalahan pengembangan obat baru. Metode kimia komputasi bisa memprediksi namun bukan berarti dapat digunakan secara langsung, dikarenakan sedikit sekali aspek kimia yang dapat dihitung secara tepat. Prinsip molecular docking adalah dengan mengikatkan subtrat atau ligan pada enzim sehingga membentuk konformasi molekul kompleks. Selain itu docking juga mempertimbangkan aspek kestabilan konformasi antara enzim dan ligan yang terbentuk tersebut [7]. Kemampuan komputasi yang meningkat merupakan peluang untuk mengembangkan simulasi dan kalkulasi dalam merancang obat. Docking PLANTS (Protein-Ligand ANT-System) didasarkan pada kelas algoritma optimasi stokastik yang disebut koloni semut (ACO = Ant Colony Optimazation). ACO terinspirasi oleh perilaku semut nyata menemukan jalan terpendek antara sarang dan sumber makanan. Semut ini digunakan untuk meniru seperti perilaku semut nyata dan menandai konformasi ligan energi rendah dengan pelacak-pelacak feromon. Informasi pelacak feromon buatan ini diubah dalam pengulangan (iterasi) berikutnya untuk menghasilkan konformasi energi rendah dengan probabilitas yang lebih tinggi [8]. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan simulasi penambatan molekul senyawa flavanoid untuk pencarian kandidat bahan baku obat antidibetes menggunakan metode PLANTS.

METODOLOGI PENELITIAN

Perangkat Keras

Seperangkat komputer dengan chip processorCore™ i5-1135G7 Processor 2.4GHz, 8.00 GB DDR4, VGA Card Intel® Iris® Xe Graphics.

Perangkat Lunak

Marvinsketch versi 5.2.5.1, *Marvinspace* versi 5.2.5.1, *PLANTS*, *Pymol* versi 2.4.1, YASARA, Ligplus versi v.2.2. Program database online yang digunakan PDB (Protein Data Bank) dengan kode 2JKE (https://www.rcsb.org/structure/2JKE), PASS online (*Prediction of Activity Spectra for Subtances*).

Validasi Protein Sampel

Tahapan awal yang dilakukan adalah preparasi protein. Protein yang digunakan adalah *α-Glukosidase* dari Bakteri *Thetaiotamicron* dengan ligan *deoxynojirimycin*. Struktur protein ini diambil dari protein data bank dengan kode 2JKE. Pertama protein ini kita validasi terlebih dahulu sehingga dapat mengetahui apakah perangkat keras yang kita gunakan layak untuk penelitian selanjutnya dengan menggunakan variasi ligan lain. Proses validasi ini dimulai dengan cara menghilangkan ligan dan logam yang tidak diperlukan. Kedua ligan alami dipreparasi menggunakan *Marvin Sketch* versi 5.2.5.1 dengan memberi protonasi pada pH 7,4 yang disesuaikan dengan pH tubuh manusia. Kemudian dicari konformasi terbaik ligan tersebut yang ditandai dengan ligan yang mempunyai energi paling rendah. Ketiga ligan dioptimasi dengan struktur kristal protein menggunakan program PLANTS hingga didapat *score docking*. Kemudian dipilih *score* terbaik lalu disimpan dalam bentuk file mol 2 dan dihitung besarnya nilai RMSD pose hasil optimasi dengan referensi hasil eksperimen atau struktur kristal protein dengan program YASARA (*Yet Another Scientific Artificial Reality Application*) yang bertujuan untuk menguji validasi protein sampel, ligan dan kinerja perangkat keras.

Validasi Ligan senyawa Pembanding

Tahapan selanjutnya adalah preparasi ligan senyawa pembanding dimana ligan senyawa dipreparasi menggunakan Marvin Sketch versi 5.2.5.1 pada pH 7,4 dengan struktur 2 dimensi. Kemudian ligan disimpan sebagai *ligand2D. mrv*., lalu kita membuat 10 konformasi untuk mencari konformasi yang memiliki energi terendah. Selanjutnya ligan yang mempunyai konformasi energi paling rendah dilakukan penambatan molekul dan memperhatikan skor docking. Prosedur diatas dilakukan untuk setiap satu ligan. Pada penelitian digunakan tiga variasi ligan yaitu flavanol, flavon, dan kalkon. Selanjutnya *score docking* yang terendah kemudian kita gabungkan dengan protein dan dibuat bentuk pdb-nya. Untuk melihat sisi aktif dari penambatan protein dan ligan tersebut, kita menggunakan ligplot.

Analisis Data

Pada penelitian ini proses analisis data dilakukan dengan cara mengolah data yang diperoleh melalui file best ranking *Ms. Excel 2019* kemudian kita hitung persentase score docking antara ligan dan protein lalu dibandingkan dengan ligan alami (https://www.rcsb.org/structure/2JKE) dan protein**.**

HASIL DAN PEMBAHASAN

Metode kimia komputasi untuk tujuan disain molekul baru, terutama senyawa obat, serta prediksi sifat fisiko-kimia telah menjadi metode pilihan utama sebagian besar industri farmasi berkaitan dengan pengembangan maupun penemuan obat. Aplikasi metode yang juga disebut in silico ini, berawal dari postulat dasar dalam paradigma disain obat klasik yang menyatakan bahwa efek obat dalam tubuh manusia merupakan suatu konsekuensi antara ligan (dalam hal ini obat) dan suatu makromolekul (protein). Proses penemuan obat cukup kompleks, bisa sampai 8-16 tahun. Tidak hanya lama, tetapi juga butuh biaya besar untuk bisa merilis satu molekul obat [9].

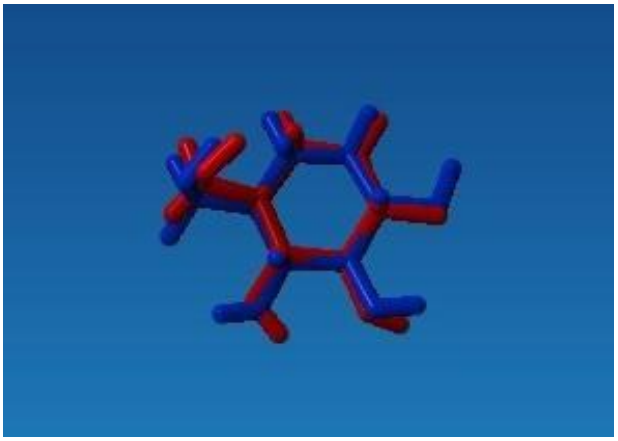
Hasil Validasi Protein Sampel Dan Ligan Referensi

Enzim α-glukosidase adalah enzim yang mengakatalisis pemotongan ikatan glikosidik pada oligosakarida. Beberapa glukosidase yang bekerja spesifik dalam memotong ikatan glikosidik bergantung pada jumlah, posisi atau konfigurasi grup hidroksil dalam molekul gula. Aktivitas glukosidase merupakan hal yang fundamental bagi beberapa proses biokimia seperti degradasi polisakarida menjadi monosakarida agar dapat diserap oleh organisme [10]. Oleh karena itu pada kondisi hiperglikemia dimana konsentrasi gula pada darah tinggi melebihi normal seperti yang terjadi pada diabetes, penghambatan kerja enzim α-glukosidase dapat membantu mengatasi kondisi hiperglikemia karena jumlah monosakarida yang dapat diserap oleh usus menjadi berkurang [11].

Tahap pertama melakukan simulasi penambatan molekul ligan baru dengan protein sampel (enzim α-glukosidase), dengan cara melakukan validasi protein tersebut dan menghitung nilai RMSD-nya dengan menggunakan perangkat lunak YASARA. Kemudian hasil validasi protein dengan ligan refensi (*deoxynojirimycin*) divisualisasikan dengan menggunakan perangkat lunak Pymol versi 2.4.1. Hasil visualisasi dapat dilihat pada Gambar 1.

RMSD menjelaskan mengenai nilai jarak atom pada satu konformasi dengan atom terdekat yang memiliki tipe sama dengan atom tersebut pada konformasi lain. Semakin kecil nilai RMSD menunjukkan bahwa posisi ligan yang diperkirakan semakin baik karena semakin mendekati konformasi asal [12]. Nilai RMSD < 2 Å menunjukkan bahwa semakin kecil kesalahan dari perhitungan, sehingga dapat dikatakan lebih akurat perhitungannya. Namun jika nilai RMSD > 2 Å menunjukkan bahwa penyimpangan dari hasil perhitungan lebih besar [13] sehingga hasil interaksi ligan dan reseptor secara in silico tidak dapat digunakan sebagai acuan. Dilain pihak, binding affinity merupakan ukuran kemampuan obat untuk berikatan dengan reseptor. Semakin kecil nilai binding affinity, maka afinitas antar reseptor dengan ligan semakin tinggi dan sebaliknya jika semakin besar nilai binding affinity maka afinitas antar reseptor semakin rendah [14]. Hasil dari validasi (α-glucosidase) diperoleh nilai 0,2990 Å, hal ini menunjukkan bahwa perangkat keras yang akan kita gunakan layak untuk melakukan penelitian selanjutnya dengan mengganti jenis ligan yang lain. Hasil visualisasi nilai RMSD dari ligan alami deoxynojirimycin dapat dilihat pada Gambar 2. Pada gambar ini dapat dilihat ligan yang berwarna merah merupakan ligan standar sedangkan yang berwarna biru merupakan ligan standar yang telah dipisahkan dari reseptornya kemudian kita uji penambatan molekulnya dengan reseptor.

Gambar 1. Visualisasi hasil validasi α-glukosidase dan ligan refferensi



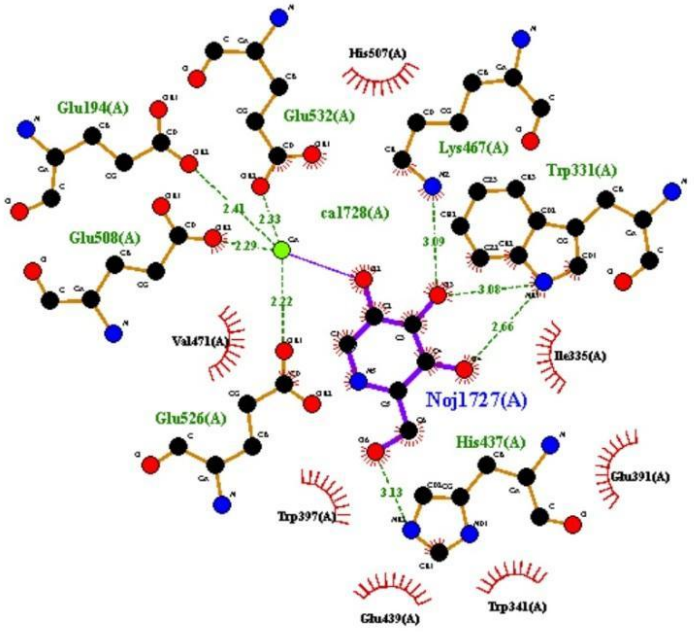
Gambar 2. Visualisasi hasil RMSD 0,2990 Å

Mekanisme penghambatan sampel terhadap enzim α-glukosidase adalah adanya interaksi antara substrat dengan sisi aktif enzim berupa ikatan hidrogen. Ikatan hidrogen adalah ikatan yang terjadi akibat gaya tarik antar unsur hidrogen dengan unsur yang bersifat elektronegatif besar seperti, oksigen (O), nitrogen (N) dan lain lain. Dengan kata lain semakin banyak gugus substitusi yang memiliki sifat keelektronegatifan pada inhibitor maka semakin kuat dan besar peluang sampel/inhibitor untuk menghambat kerja enzim [15].

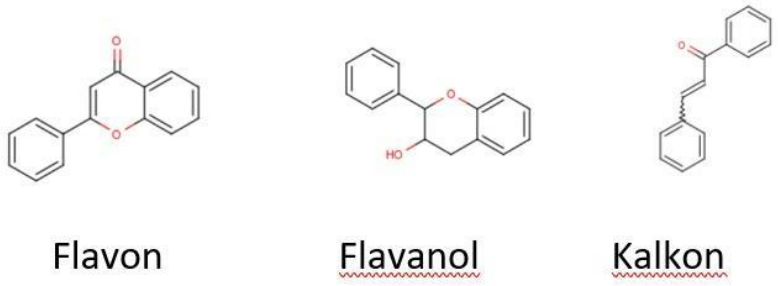
Score docking adalah hasil yang diperoleh dari analisis dengan perhitungan scoring function yang menghitung energi interaksi dan mengubahnya menjadi nilai numerik. Score docking terdiri dari 3 aspek relevan yang berbeda dalam docking dan desain, yaitu yang pertama kedudukan konfigurasi dihasilkan oleh pencarian docking untuk interaksi ligan dengan protein yang diberikan, aspek ini sangat penting dalam mendeteksi mode pengikatan terbaik dengan memperkirakan situasi secara eksperimen. Kemudian kedudukan ligan berbeda terhadap afinitas ikatannya pada protein, hal tersebut memprioritaskan ligan pada afinitasnya, aspek ini sangat penting dalam skrining virtual. Yang ketiga adalah kedudukan satu atau ligan berbeda terhadap afinitas ikatan pada protein yang berbeda, aspek ini penting untuk mempertimbangkan selektifitas dan spesifitasnya [16]. Pada penelitian ini nilai dari *score docking* dari ligan *deoxynojirimycin* adalah -77,12435. Score docking dari ligan standar sangat rendah karena membentuk ikatan hidrogen dengan tujuh residu asam amino yaitu His 437, Glu 526, Glu 508, Glu 194, Glu 532, Lys 467 dan Trp 331. Dari hasil penambatan molekul diatas dapat dilihat deoxynojirimycin mempunyai score docking paling rendah karena mempunyai atom oksigen di ujung sehingga lebih mudah untuk membentuk ikatan hidrogen dan adanya ion kalsium yang dapat mengikat empat residu asam amino yaitu Glu526, Glu508, Glu194 dan Glu532. Visualisasi sisi aktif dua dimensi deoxynojirimycin dengan α-Glukosidase dapat dilihat Gambar 3.

Hasil Validasi Protein Dengan Variasi Ligan

Persiapan ligan uji pada penelitian ini dimulai dengan cara mencari informasi ligan tersebut di PASS Online (http://www.pharmaexpert.ru/passonline). Berdasarkan software online ini, dapat diketahui sifat-sifat dari ligan uji tersebut meliputi : efek farmakologis, mekanisme aksi dan efek toksik ketika ligan uji tersebut berinteraksi dengan enzim/protein. Dengan kriteria dimana nilai Pa (Predicted Activities) lebih dari 0,7 maka ligan uji tersebut aman pada tubuh kita [17]. Selanjutnya, penggunaan perangkat lunak *Marvin Sketch versi 5.2.5.1* bertujuan membentuk struktur dua dimensi (2D) dari ligan uji dan membuat kondisinya menjadi pH 7,4, dimana pH tersebut merupakan pH tubuh manusia. Kemudian, dibuat sepuluh variasi konformasi pada masing-masing ligan tersebut untuk mencari konformasi stabil ligan. Struktur kimia ligan uji (flavanol, flavon dan kalkon) pada kondisi pH 7,4 yang digambarkan berdasarkan hasil simulasi konformasi dari perangkat lunak *Marvin Sketch versi 5.2.5.1* seperti tertera pada Gambar 4.



Gambar 3. Ligplot Deoxynojirimycin dengan α-Glukosidase



Gambar 4. Struktur Kimia Ligan Uji (*Marvin Sketch versi 5.2.5.1*)

Selanjutnya, diperoleh hasil *score docking* dari ketiga jenis ligan uji tersebut dengan protein/enzim α-glukosidase dan ligan pembanding ditabulasi seperti pada Tabel 1. Dengan asumsi dimana interaksi pembentukan kompleks α-Glukosidase dengan deoxynomirijin yang sudah divalidasi adalah 100% maka didapat persentase interaksi α-Glukosidase dengan ketiga ligan uji tersebut seperti pada Tabel 2.

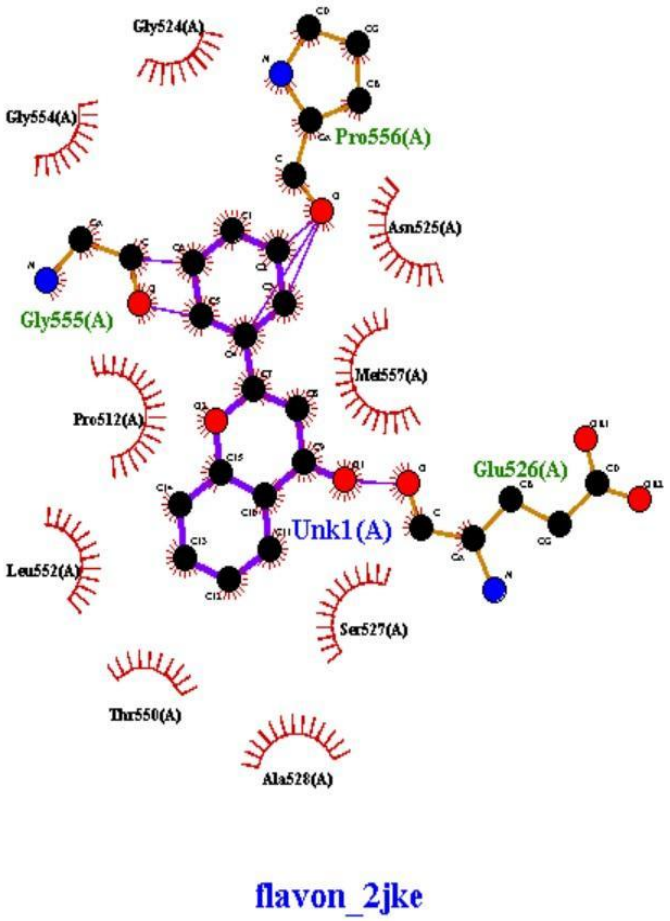
Tabel 1. Score docking α-Glukosidase dengan ligan flavonoid dan ligan alami sebagai pembanding

Nama Ligan	Score Docking	Keterangan
Deoxynojirimycin	-77,12	Ligan Standar
Flavon	-65,41	Ligan Uji
Flavanol	-64,39	Ligan Uji
Kalkon	-63,07	Ligan Uji

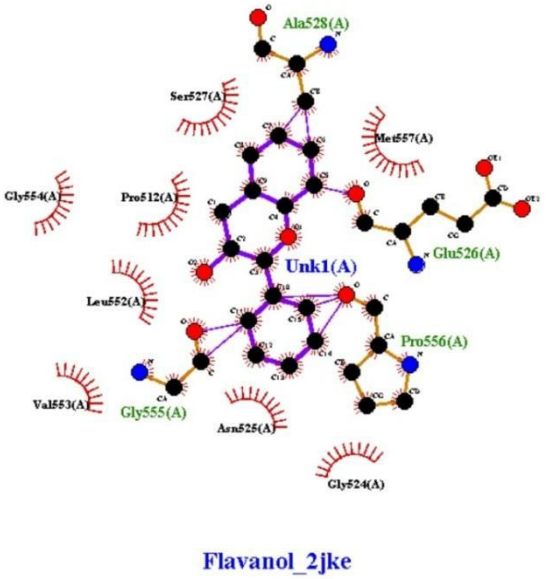
Tabel 2. Perbandingan Persentase α-Glukosidase terhadap ketiga ligan uji dengan ligan standar

Nama Ligan	Presentasi	Keterangan
Deoxynojirimycin	100%	Ligan Standar
Flavon	84,82%	Ligan Uji
Flavanol	83,49%	Ligan Uji
Kalkon	81,77 %	Ligan Uji

Flavon merupakan flavanoid yang sering ditemukan pada daun, buah dan bunga dalam bentuk glukosida. Tanaman yang banyak mengandung flavon diantaranya adalah seledri, kamomil, daun mint dan ginkgo biloba [17]. Pada penambatan molekul flavon dengan reseptor α-glukosidase mempunyai score docking yang paling tinggi hal ini dikarenakan terdapat tiga residu asam amino yang berikatan dengan ligan yaitu Glu 526, Gly 555 dan Pro 556. Pada Glu 526 terdapat jembatan garam karena adanya ikatan antar oksigen, dan pada residu Gly 555 terdapat ikatan hidrogen pada atom C5 dan C6. Pada residu Pro 556 terdapat tiga ikatan hidrogen antara atom C2, C3 dan C4 pada ligan dengan oksigen pada asam amino Pro 556. Terdapat ikatan hidrofobik dengan beberapa asam amino yang paling dekat yaitu Met 557, Pro 512, Ser527 serta beberapa asam amino lainnya. Seperti terlihat pada Gambar 5.



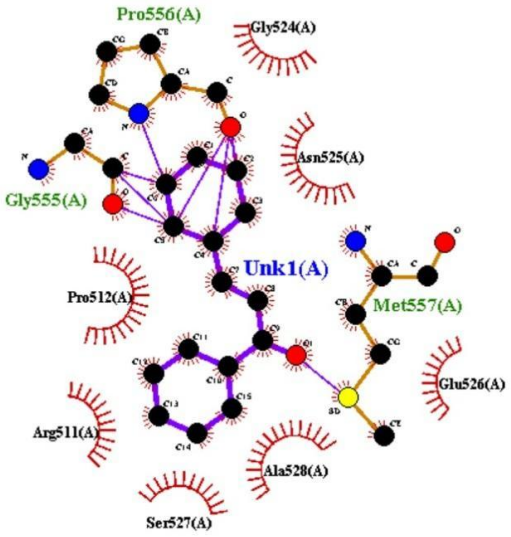
Gambar 5. Ligplot Flavon dengan α-Glukosidase



Gambar 6. Ligplot Flavanol dengan α-Glukosidase

Flavanol terkandung pada tomat, apel, anggur, bawang , beri dan lain-lain [17]. Pada ligan Flavanol ada empat buah asam amino yang terikat dengan ligan yaitu Pro 556, Gly 555, Glu 526 dan Ala 528. Atom C6 dan C7 dari ligan flavanol berikatan dengan atom karbon dari Alanin 528. Pada atom C5 berikatan dengan Glu 526 sedangkan atom C10, C15 dan C16 berikatan dengan atom oksigen dari Pro 556 dan C11 berikatan dengan atom Oksigen dari Gly 555. Gugus aromatik cincin B merupakan gugus yang bertanggung jawab atas aktivitas flavanol karena adanya ikatan rangkap konjugasi pada atom C10 dan C15 mempunyai kemampuan untuk perpindahan elektron dari cincin aromatik menuju radikal bebas [18].

Umumnya kalkon ditemukan pada tumbuhan seperti tomat, stroberi, pir, beri-berian dan gandum [17]. Flavonoid jenis kalkon dianggap potensial sebagai antidiabetes karena efektif sebagai α-glukosidase yang berfungsi mengatur homeostasis gula [19]. Menurut Sangeetha [20] secara umum, flavonoid menstimulasi protein /enzim α-glukosidase yang terdapat pada manusia dengan mekanisme memecah karbohidrat, membantu absorpsi karbohidrat dan meningkatkan sensitivitas insulin.



Gambar 7. Ligplot Kalkon dengan α-Glukosidase

Pada ligan Kalkon terdapat tiga asam amino yang berikatan dengan ligan kalkon yaitu Gly 555, Pro 556 dan Met 557. Atom oksigen dari ligan berikatan dengan sulfur dengan ikatan Met 557. Atom C5 berikatan dengan oksigen pada Gly 555. Atom C4 dan C5 juga membentuk ikatan dengan oksigen dari Pro 556.

Tabel 1 menunjukkan bahwa flavon memberikan skor docking yang paling rendah artinya flavon mempunyai ikatan dengan protein yang hampir serupa dengan ligan alami yaitu sebesar 84,82%. Hal ini menujukkan bahwa flavon mempunyai interaksi yang paling baik dikarenakan adanya ikatan oksigen dan konformasi ligan yang menyebabkan banyaknya ikatan hidrofobik pada tujuh asam amino yaitu Gly 542, Glysin 554, Pro 512, Leu 552, Thr 550, Ala 528, Ser 527, Met 557 dan Asn 525. Hasil molekuler docking memperlihatkan bahwa senyawa flavon yang terdapat pada seledri, kamomil, daun mint dan gingko biloba dapat berpotensi sebagai antidiabetes.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian ini diperoleh *score docking* α-glukosidase dengan ketiga ligan uji yaitu flavon (-65,41); flavanol (-64,39) dan kalkon (-63,07). Berdasarkan *score docking* tersebut maka persentase afinitas *score docking* α-glukosidase dengan ketiga ligan uji tersebut yaitu flavon (84,82%); flavanol (83,49%) dan kalkon (81,77%) artinya efektivitas ligan uji hampir mendekati efektivitas ligan standar.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Kementerian Riset dan Teknologi/Badan Riset dan Inovasi Nasional (Kemenristek/BRIN) yang telah mendanai penelitian ini dalam program Penelitian Dosen Pemula Tahun Anggaran 2021.

DAFTAR PUSTAKA

[1] Infodatin-2020-Diabetes-Melitus.pdf. Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI. ISSN 2442-7659

[2] Brahmachari, G., 2011, Bio-Flavanoids with ‘Promising Antidiabetic Potentials : A critical Survei, Research Signpost, 187-212.

[3] Tian-yang., Wang., Qing Li., Kai-shun Bi. (2018). Bioactive flavonoids In Medicinal Plants: Structure, Activity And Biological Fateasian. Journal Of Pharmaceutical Sciences, 13, 12–23.

[4] Elfahmi, dkk, 2019, Uji Aktivitas Antidiabetes Produk Obat Herbal yang mengandung Ekstrak Brotowali (Tinospora Crispa (L.) Miers ex Hoff.f & Thoms), Jurnal Sains dan Farmasi Klinis, Institut Teknologi Bandung, 2019, Halaman 214-219.

[5] Haryoto dan Ermia S, 2018, Efek Pemberian Ekstrak Etanol Daun Dan Batang Ubi Jalar Ungu (Ipomoea batatas L.) Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah Pada Tikus Jantan Galur Wistar Yang Diinduksi Aloksan, Talenta, USU, Vol 1, hal 139-143.

[6] Siswandono, Soekardjo B. 2000. Kimia Medisinal Pengembangan Obat Jilid I. Surabaya: Airlangga University Press.

[7] Rester, U. 2008. From Virtuality to Reality - Virtual Screening in Lead Discovery and Lead Optimization: A Medicinal Chemistry Perspective. Current Opinion in Drug Discovery & Development.11: 559-568

[8] Korb, 2010, http://www.tcd.uni-onstanz.de/research/plants.php

[9] Tjahjono, Daryono, 2020, 19744-komputasi-bantu-penemuan-dan-pengembangan-obat (ugm.ac.id)

[10] Tadera K, Minami Y, Takamatsu K, Matsuoka T, 2006., Inhibition of α-glukosidase and α-amylase by Flavanoids. J Nutr Sci

[11] Febrinda, A.E., Made Astawan, Tutik W dan Nancy D.Y., Kapasitas Antioksidan dan Inhibitor α-glukosidase Ekstrak Umbi Bawang Dayak, J.Teknol dan Industri Pangan, Vol. 24 No. 2, p. 161-167 http://journal.ipb.ac.id/indeks.php/jtip

[12] Lestari, T.2015. Studi Interaksi Turunan 1,3 Dibenzoiltiourea sebagai Ribonukleotida Reduktase Inhibitor. Tasikmalaya: STIKes Bakti Tuna Husada.

[13] Ferwadi, S., Rahmat G. dan Winni A. 2017. Studi Docking Molecular Senyawa Asam Sinamat dan Derivatnya sebagai Inhibitor Protein 1j4x pada Sel Kanker Serviks. Jurnal Kimia Mulawarman. Vol. 14(2): 84-90.

[14] Saputri, K. E., Nurul F., Erwinda K., Dedy P. dan Broto S. 2016. Docking Molekular Potensi Anti Diabetes Melitus Tipe 2 Turunan Zerumbon sebagai Inhibitor Aldosa Reduktase dengan Autodock-Vina. Chimica et Natura Acta. Vol. 4(1): 16-20

[15] Rahmiwati, Hilma., dkk., 2015, Aktivitas Antidiabetes Senyawa Analog Kalkon Dan Turunan Kalkon (Subtituen Naftalen)

Terhadap Enzim α-Glukosidase, Prosiding SEMIRATA bidang MIPA, BKS-PTN Barat, Universitas Tanjung Pura, Pontianak, Hal 180-189.

[16] Tandiara, K.T., 2013, Docking Senyawa Bahan Alam Golongan Alkaloid Terhadap Protein Glioma (GLI) Dengan Menggunakan PLANTS, Skripsi, Prodi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Hasanudin. Makasar

[17] Anonim, 2011, http://www.pharmaexpert.ru/passonline/applications.php

[18] Panche, A.N., Diwan A.D., Chandra , S.R., 2016 Flavanoids ; an overview. J.Nutr.Sci. 5, e47

[19] Alfaridz, F dan Riezki Amalia.,2018, Review Jurnal : Klasifikasi dan Aktifitas Farmakologi dari Senyawa Aktif Flavonoid, Fakultas Farmasi, Universitas Padjajaran, Farmaka, Vol 16 No.3

[20] Hummel, C.S., Lu, C., Liu, J., Ghezzi, C., Hirayama, B.A., Loo, D.D.F., Kepe, V., Barrio, J.R., Wright, E.M., 2012. Structural selectivity of human SGLT inhibitors. Am. J. Physiol. Cell Physiol. 302, 373–382.

[21] Sangeetha, S.K.., Umamaheswari, S., Reddy, M., Kalkura, N.S., 2016. Flavonoids : Therapeutic Potential of Natural Pharmacological Agents. Int. J. Pharm. Sci. Res. 7, 3924–3930.