



## In Silico Study of Secondary Metabolite Compounds in Parsley (*Petroselinum crispum*) as a Drug Therapy for Blood Cancer (Myeloproliferative Neoplasm (MPN)) targeting JAK-2

Rizky Prasiska Wulandari, Kevin Gabriel, Halwa Aulia Nurdin, Diffa Hauna F. Pakhrul, Sbiq Salmandhiya Harits, Natashya Prameswari, Alya Puteri Agustina Pribadi, dan Diah Lia Aulifa

Jurusan Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran  
Jalan Raya Bandung Sumedang KM 21 Telp. (022)7796200 Jatinangor 45363

### Info Artikel

Diterima : 14-06-2023

Disetujui : 25-08-2023

Dipublikasikan : 31-08-2023

#### Keywords:

Parsley

JAK-2

Molecular Docking

Myeloproliferative Neoplasm

### Abstrak

Myeloproliferative neoplasm (MPN) adalah penyakit gangguan pada sel induk hematopoietik klonal. Salah satu mutasi gen yang sering ditemukan adalah pada kinase JAK2, sehingga JAK2 dapat dijadikan target pengobatan MPN. Dalam penelitian ini dilakukan pengujian aktivitas kandungan senyawa metabolit sekunder pada tanaman parsley terhadap kinase JAK2 secara In Silico. Tujuannya agar didapatkan kandidat baru dalam terapi farmakologi MPN. Hal ini dapat diketahui dari hasil docking ulang ligan alami (5-amino-3-[(4-cyanophenyl)amino]-N-phenyl-1H-1,2,4-triazole-1-carboxamid e) dan docking kelima belas ligan uji yang merupakan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada tanaman peterseli. Gridbox yang digunakan berkoordinat pada x center : 10.06, y center -7.342, z center -20.32 dengan unit 0.375 Å. Senyawa yang paling berpotensi berikatan dengan JAK2 adalah luteolin.

### Abstract

Myeloproliferative neoplasm (MPN) is a clonal hematopoietic stem cell disorder. A commonly found related gene mutation is a mutation of the JAK2 kinase, thus making it a potential MPN pharmacotherapeutic target. The activity of the secondary metabolites of parsley herb were tested on JAK2 in-silico, with the goal being to develop a potential MPN pharmacotherapeutic agent candidate. This was done by redocking a native ligand(5-amino-3-[(4-cyanophenyl)amino]-N-phenyl-1H-1,2,4-triazole-1-carbo xamide) and docking 15 test ligands which are secondary metabolites of parsley herb to JAK2. The Gridbox that was used is situated on x center : 10.06, y center -7.342, z center -20.32 with 0.375 Å units. The test ligand with the best binding potential to JAK2 is luteolin.

## Pendahuluan

*Myeloproliferative neoplasm* (MPN) adalah penyakit gangguan sel induk hematopoietik klonal. Penyakit ini ditandai dengan proliferasi yang tidak beraturan, yang disebabkan oleh abnormalitas genetik pada tingkat sel punca. Myelofibrosis (MF), polisitemia vera (PV), dan trombositemia (ET) adalah klasifikasi dari MPN dengan tingkat kejadian global 0,3-1,5; 1,5-2, dan 1,03-2,5 per 100.000/tahun (Harrison, *et al.*, 2017). *Myeloproliferative neoplasm* (MPN) ditandai dengan adanya beberapa mutasi gen yang terjadi seperti mutasi MPL, LNK, NF1, EZH2, IDH1 dan IDH2, c-CBL, dan JAK2. Salah satu mutasi yang sering dijumpai merupakan mutasi pada JAK2 (V617F), yaitu sekitar 96% pada polisitemia vera (PV) dan 65% pada trombositemia (ET) dan myelofibrosis (MF). Penghambatan reseptor JAK2 telah diketahui efektif dalam menangani *Myeloproliferative neoplasm* (MPN) (Pandey, *et al.*, 2022).

Terapi farmakologi MPN yang umum digunakan saat ini dengan mekanisme menghambat reseptor JAK2 adalah Ruxolitinib. Berdasarkan penelitian Mesa, *et al.*, (2017), pada pasien pengobatan MPN dengan regimen obat Ruxolitinib dilaporkan adanya efek samping berupa anemia serta trombositopenia. Oleh karenanya untuk mendapatkan alternatif terapi farmakologi dengan meminimalisir efek samping terapi, dilakukan metode *in silico* pada tanaman parsley (*Petroselinum crispum*). Tanaman parsley atau peterseli merupakan salah satu jenis tanaman musiman yang mudah ditemukan di Indonesia. Tanaman parsley banyak digunakan masyarakat Indonesia sebagai bahan tambahan makanan dan obat tradisional yaitu sebagai obat batuk dan demam (Widyaningrum, 2011). Dalam penelitian lebih lanjut, tanaman parsley diketahui memiliki efektivitas sebagai antioksidan, antiinflamasi, dan telah dilaporkan berpotensi sebagai antikanker (Michalaki *et al.*, 2023).

Metode *in silico* menggunakan pemodelan atau simulasi dengan bantuan komputasi dalam penemuan obat baru dinilai cukup efektif (Pelkonen, *et al.*, 2011). Studi *in silico* memerlukan prosedur yang divalidasi untuk mengidentifikasi kemungkinan interaksi senyawa ligan terhadap reseptor. Selain itu, studi *in silico* juga berguna dalam identifikasi senyawa bahan alam terhadap protein target (Hardianto, *et al.*, 2019).

Lipinski's Rule of Five, umum juga disingkat sebagai RO5, adalah nilai maksimal untuk LogP (5), bobot molekuler (500), akseptor ikatan hidrogen (10), dan donor ikatan hidrogen (5) yang digunakan sebagai parameter '*drug-likeness*' yang diajukan oleh Lipinski, Lombardo, Dominy dan Feeney pada 1997. Set nilai tersebut dinamakan sedemikian rupa sebagai mnemonik dari nilai-nilainya yang semuanya adalah kelipatan 5. Nilai-nilai RO5 digunakan sebagai parameter untuk ketersediaan oral dan absorpsi atau permeasi dari senyawa obat dan panduan untuk desain molekul utama pada proses *drug discovery*. Perlu dicatat bahwa molekul-molekul calon senyawa obat baru yang tidak memenuhi RO5 tetap berpotensi sebagai senyawa obat baru (Yang, *et al.*, 2020; Lipinski, *et al.*, 2012).

Pengujian parameter RO5 pada senyawa isolat dilakukan secara *in-silico* menggunakan situs web SwissADME, yang menggunakan *Application Programming Interface* (API) OpenBABEL untuk nilai bobot molekuler, jumlah donor ikatan hidrogen, dan jumlah akseptor ikatan hidrogen. Rata-rata dari *implicit LogP* yang didapat dari perhitungan energi bebas Gibbs, LogP dari XLOGP3, LogP dari metode Wildmann-Crippen, LogP dari metode Moriguchi, dan LogP dari SILICOS-IT digunakan untuk memperhitungkan nilai LogP (Daina, *et al.*, 2017).

Uji ADMET (Absorpsi, distribusi, metabolisme, eliminasi, dan toksisitas) secara *in-silico* dilaksanakan untuk memastikan keamanan dan efektivitas senyawa isolat sebagai senyawa obat. Dari segi komputasional, terdapat beberapa metode yang dapat digunakan suatu program untuk menguji sifat ADMET senyawa-senyawa kandidat, dengan salah satu pendekatan yang paling modern dan efektif adalah dengan *machine learning* (Ferreira dan Andricopoulo, 2019).

Secara umum, prediksi ADMET dilaksanakan berdasarkan QSAR (*Quantitative Structure-Activity Relationship*), QSPR (*Quantitative Structure-Property Relationship*), dan hubungan sifat fisikokimia dengan aktivitas senyawa. Program yang digunakan untuk menguji sifat ADMET senyawa isolat adalah situs web PreADMET, yang memiliki fungsi pengujian ADME dan toksisitas. Prediksi QSPR dari senyawa yang diuji didapat dari modul TOPOMOL. Uji ADME yang tersedia dan digunakan pada situs tersebut dalam pengujian ini adalah uji absorpsi model HIA (*Human Intestinal Absorption*) *in-silico* dan model Caco-2 *in-silico* yang diadaptasi dari uji *in-vitro*, serta uji distribusi model penetrasi BBB (*Blood-Brain Barrier*, sawar darah-otak) dan model PPB (*Plasma Protein Binding*). Uji ADME tersebut dijalankan dengan menggunakan *genetic functional approximation* untuk memilih nilai dari analisis modul TOPOMOL yang relevan, yang kemudian diproses dengan *neural network Resilient back-propagation* (Rprop) untuk menghasilkan model nonlinier. Uji toksisitas yang tersedia pada situs tersebut adalah model mutagenisitas *Salmonella* Ames dan uji model karsinogenitas pada tikus dan mencit jangka waktu 2 tahun, yang menggunakan proses *backwards elimination* dan Rprop (PreADMET, 2017b).

Untuk menentukan aktivitas senyawa isolat parsley terhadap protein target, dilaksanakan *molecular docking*, yang merupakan metode desain obat berbasis struktur (*structure-based drug design*, SBDD) yang paling umum. *Molecular docking* adalah metode desain obat yang paling lazim digunakan apabila struktur

3D dari protein target telah tersedia, dimana metode ini bertujuan untuk memahami dan memprediksi rekognisi molekuler, secara struktural (dari mode *binding* potensial yang ditemukan) dan berdasarkan energi (dari afinitas *binding* yang terprediksi), terkhusus untuk rekognisi molekuler antara ligan dengan protein target (Stanzione, *et al.*, 2021).

Model protein target yang digunakan dibuat berdasarkan struktur 3D domain pseudokinase JH2 dari JAK2, dengan ligan alami berupa inhibitor kompetitif situs ATP (5-amino-3-[(4-cyanophenyl)amino]-N-phenyl-1H-1,2,4-triazole-1-carboxamide; PDB ID 6OAV). Domain tersebut, khususnya dengan mutasi VAL617PHE, diketahui berhubungan erat dengan gangguan mieloproliferatif, semisal MPN (Liosi, *et al.*, 2020). *Docking* dilaksanakan dengan menggunakan program AutoDock 4, yang menggunakan algoritma genetik Lamarckian dan *simulated annealing* untuk menjalankan proses *molecular docking*. AutoDock 4 juga tergolong sebagai salah satu program skrining virtual yang paling umum digunakan (Sabe, *et al.*, 2021). Perhitungan preparatif untuk AutoDock 4 dilaksanakan dengan AutoGrid 4, dan persiapan file model serta analisis hasil docking dilakukan dengan AutoDock Tools & BioVia Discovery Studios® (Jamkhande, *et al.*, 2017).

## Metode

Studi literatur digunakan untuk mengetahui aktivitas dan kandungan metabolit sekunder pada tanaman Parsley. Studi kepustakaan juga dilakukan untuk menentukan reseptor yang akan disimulasikan secara komputasi dengan ligan-ligan.

Setelah dilakukan studi literatur, metabolit sekunder yang terdapat dalam tanaman Parsley dilakukan prediksi sifat fisika berdasarkan aturan Lipinski Rule of Five (RO5). Prediksi aturan Lipinski menggunakan situs SwissADME dimana pada website tersebut terdapat fitur untuk melihat karakteristik fisikokimia dari suatu senyawa. Aturan lipinski dilakukan untuk menentukan apakah memungkinkan senyawa metabolit sekunder tersebut dapat dijadikan obat dengan pemberian dengan rute oral.

Senyawa-senyawa metabolit sekunder pada tanaman Parsley juga dilihat dari prediksi ADME/Tox dengan memasukkan struktur senyawa ke situs PreADMET dimana pada situs tersebut dilakukan uji ADME (Absorpsi, Distribusi, Metabolisme, Ekskresi) dan uji toksisitas. Uji ADME dan uji toksisitas dilakukan secara terpisah. Ligan-ligan yang ingin diuji satu-persatu dilakukan uji ADME, yang diikuti dengan uji toksisitas, yang menghasilkan data absorpsi, distribusi, metabolisme, ekskresi, dan toksisitas untuk setiap senyawa. Dari uji ADME dicatat nilai hasil uji HIA, uji permeabilitas jaringan sel Caco-2, uji nilai fraksi perikatan protein plasma (*Plasma Protein Binding*, PPB), dan uji penetrasi sawar darah-otak. Dari uji toksisitas dicatat sifat mutagen senyawa berdasarkan uji mutagenisitas dan sifat karsinogen berdasarkan uji karsinogenitas pada model mencit dan tikus.

Untuk mengetahui potensi senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam tanaman Parsley sebagai agen terapi kanker darah Myeloproliferative Neoplasm (MPN) yang dapat bekerja pada reseptor JAK-2 dilakukan *molecular docking*. Dalam *molecular docking* dibutuhkan bantuan software Autodock & Biovia Discovery Studios. Docking dilakukan pada laptop HP Pavilion Gaming Laptop Intel(R) Core(TM) i5-10300H CPU @ 2.50GHz 2.50 GHz.

Dalam melakukan docking perlu disiapkan working folder yang berisi autogrid4.exe dan autodock4.exe, serta reseptor dan ligan uji dalam format pdbqt yang telah di preparasi. Preparasi ligan dengan menggunakan aplikasi Biovia Discovery Studio dengan menghilangkan molekul air dan ligan groups. Receptor yang telah dihilangkan molekul air dan ligan group, dilakukan charges dengan charges kollman dan menambahkan ikatan hidrogen hanya pada bagian polarnya. Charges kollam dalam docking molekuler adalah muatan parsial atom-atom dalam molekul mempengaruhi interaksi antar-molekul, seperti tarikan elektrostatik dan interaksi antara muatan yang berlawanan. Penentuan muatan parsial ini berperan penting dalam menentukan keseimbangan elektrostatik dan bentuk molekul selama proses docking. Preparasi ligan menggunakan aplikasi Autodock dengan melakukan charges dengan compute Gasteiger, menambahkan ikatan hidrogen, dan mengatur ikatan hidrogen merge nonpolar.

Dalam metode docking ini untuk melihat parameter interaksi antara ligan uji dengan reseptor. Parameter yang dilihat adalah konstanta inhibisi, binding energi, dan ikatan spesifik yang terjadi antara ligan dengan reseptor. Parameter-parameter tersebut memiliki nilai penerimaannya, yaitu konstanta inhibisi yang dengan nilai konsentrasi terkecil, binding energi dengan nilai negatif, dan ikatan asam amino yang terjadi antara ligan dan reseptor.

Setelah ligan dan reseptor dipreparasi, langkah yang dilakukan berikutnya adalah melakukan pengaturan docking. Pengaturan docking dilakukan menggunakan aplikasi Autodock. Langkah pertama yang dilakukan akan melakukan setting untuk mendefinisikan antara ligan dan reseptor, lalu dilakukan pengaturan grid box dan disimpan sebagai file dalam bentuk gpf. Selanjutnya, dilakukan pengaturan untuk parameter docking sebagai genetic algorithm dan output docking dalam lamarckian GA, lalu hasil pengaturan disimpan dalam bentuk dpf.

Docking dilakukan dengan command prompt (CMD). Pada CMD dituliskan perintah ke-1 berupa `autogrid4 -p dock.gpf -l dock.glg`. Setelah perintah pertama terselesaikan, dilanjutkan dengan perintah ke-2 berupa `autodock4 -p dock.dpf -l dock.dlg`. Command prompt akan melakukan perintah dan hasil docking dapat dilihat dengan menggunakan aplikasi Autodock. Untuk visualisasi ikatan ligan dengan asam amino pada reseptor dapat dilihat dengan aplikasi Biovia Discovery Studio.

### Hasil dan Pembahasan

Berdasarkan analisis GC/MS yang dilakukan oleh Caboni, *et al.*, (2014), pada tanaman parsley dapat ditemukan senyawa myricetin. Kemudian dikembangkan dalam metode HPLC-QTOF/MS untuk pemisahan, identifikasi dan kuantifikasi furanokumarin dalam ekstrak metanol Parsley, ditemukan senyawa xanthotoxin, psoralen, bergapten, dan oxypeucedanin. Pada penelitian yang dilakukan Bimmaharyanto, *et al.*, (2022), dilakukan skrining fitokimia ekstrak daun parsley menggunakan reagen NaOH 10% dan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> sehingga diketahui pada ekstrak terkandung senyawa apigenin dan luteolin dengan menunjukkan hasil positif berupa perubahan warna menjadi jingga dan coklat. Analisis UHPLC-DAD-MS yang dilakukan oleh Slimstad, *et al.*, (2020), menunjukkan adanya senyawa karotenoid, asam askorbat, dan tokoferol. Braglia, *et al.*, menggunakan analisis HPLC-DAD, dan didapatkan pada parsley mengandung senyawa kumarin dan chrisin.

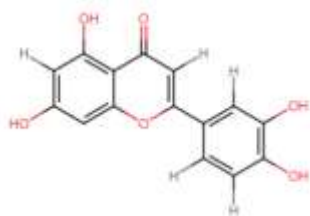
Mutasi gen yang paling umum pada pengidap MPN adalah mutasi yang ditemukan pada reseptor JAK2-V617F. Mutasi JAK2 terletak pada akson 14 yang membatalkan aktivitas pengaturan negatif dari domain pseudokinase JH2 dari JAK2 *tyrosine kinase* yang dikodekan. Oleh karena itu, mutasi JAK2 mengarah pada pensinyalan JAK2 kinase aktif konstitutif. Selain berperan dalam pensinyalan sitokin, JAK2 berperan sebagai pengatur epigenetik yang dapat memfosforilasi histone H3Y41 serta arginine methyltransferase PRMT5. Adanya fosforilasi H3Y41 akan memblokir pengikatan heterokromatin 1 $\alpha$  sehingga terjadi perubahan ekspresi gen. Fosforilasi PRMT5 oleh JAK2-V617F, dapat menyebabkan penurunan aktivitas metiltransferase PRMT5 sehingga mengurangi metilasi H2A dan H4. Telah dilakukan metode *in vivo* untuk menjelaskan peran mutasi JAK2 terhadap induksi MPN menggunakan beberapa model tikus berupa transplantasi sumsum tulang, transgenik, dan model knock-in. Hasil semua model tersebut menunjukkan bahwa mutasi JAK2 dapat menyebabkan MPN pada tikus (Them dan Kralovics, 2013).

Lima belas senyawa metabolit sekunder tanaman Parsley, yaitu karotenoid, asam askorbat, tokoferol, luteolin, apigenin, kumarin, phthalides, chrisin, tangeritin, zeaxanthin, xanthotoxin, psoralen, bergapten, oxypeucedanin, dan myricetin dilakukan prediksi sifat fisikokimia berdasarkan aturan Lipinski Rule of Five (RO5). Hal ini bertujuan agar mencegah kegagalan dari senyawa ketika dikembangkan menjadi suatu obat karena rendahnya permeasi atau absorpsi (Harvey dan Champe, 2013). Aturan lipinski mampu melihat permeabilitas senyawa dengan mekanisme difusi pasif terhadap lipid bilayer pada target, serta dapat digunakan untuk mempertimbangkan apakah senyawa dapat diadministrasikan secara oral. Lipinski RO5 memiliki persyaratan yang terdiri dari berat molekul tidak boleh diatas 500 Da, nilai koefisien partisi (logP) tidak lebih dari 5, jumlah ikatan donor dan ikatan hidrogen harus kurang dari 5, dan akseptor ikatan hidrogen harus kurang dari 10. Senyawa uji dikatakan memenuhi persyaratan untuk dijadikan sediaan oral apabila tidak lebih dari satu pelanggaran terhadap aturan Lipinski RO5 (Lipinski, 2004).

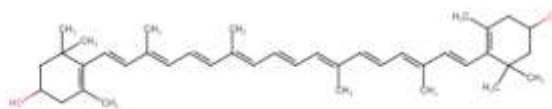
Hasil dari prediksi Lipinski RO5 ke-15 disajikan pada **Tabel 1**. Didapatkan 13 senyawa dalam tanaman parsley yang memenuhi aturan Lipinski. Senyawa zeaxanthin dan karotenoid melanggar dua aturan Lipinski RO5. Dengan begitu zeaxanthin dan karotenoid tidak memenuhi persyaratan untuk dijadikan sediaan oral. Zeaxanthin memiliki berat molekul lebih dari 500 Da dan koefisien partisi (LogP) lebih dari 5 yang berarti senyawa tersebut akan mengalami kesulitan menembus membran sel dan terikat kuat dengan membran sehingga akan sulit mengenali enzim target, serta dapat bersifat toksik karena terikat kuat pada membran sel sehingga akan lebih sulit untuk diekskresikan.

**Tabel 1.** Hasil Aturan Lipinski RO5

No.	Nama Senyawa	Berat Molekul (< 500 Da)	Log P (<5)	Ikatan Hidrogen		Lipinski RO5
				Donor (<5)	Akseptor (< 10)	
1.	Phthalides	134.13	1.46	0	2	Terpenuhi
2.	Kumarin	146.14	1.82	0	2	Terpenuhi
3.	Asam askorbat	176.12	-1.24	4	6	Terpenuhi
4.	Psoralen	186.16	2.12	0	3	Terpenuhi
5.	Bergapten	216.19	2.16	0	4	Terpenuhi
6.	Xanthotoxin	216.19	2.16	0	4	Terpenuhi
7.	Chrisin	254.24	2.55	2	4	Terpenuhi
8.	Apigenin	270.24	2.11	3	5	Terpenuhi
9.	Luteolin	286.24	1.73	4	6	Terpenuhi
10.	Oxypeucedanin	286.28	2.73	0	5	Terpenuhi
11.	Myricetin	318.24	0.79	6	8	Terpenuhi
12.	Tangeritin	372.37	3.02	0	7	Terpenuhi
13.	Tokoferol	430.7	8	1	2	Terpenuhi
14.	Zeaxanthin	568.87	10.54	2	2	Tidak terpenuhi
15.	Karotenoid	568.9	9.79	4	6	Tidak terpenuhi



1a. Struktur Luteolin



1b. Struktur Zeaxanthin

**Gambar 1.** Contoh Struktur Senyawa yang Memenuhi Aturan Lipinski (1a) dan Tidak Memenuhi Aturan Lipinski (1b)

Setelah dilakukan prediksi fisiko kimia menggunakan aturan Lipinski RO5, ke-15 senyawa metabolit sekunder pada tanaman Parsley juga dilihat dari prediksi ADME/Tox. Hal ini dilakukan agar dapat memprediksi profil absorpsi, distribusi, metabolisme, ekskresi, dan toksisitas dari senyawa. Hasil dari prediksi ADME/Tox dapat dilihat pada **Tabel 2**.

**Tabel 2.** Hasil Prediksi ADME/Tox

No.	Nama Senyawa	Absorpsi		Distribusi		Toksisitas		
		HIA (%)	Caco-2 (nm/se c)	PPB (%)	BBB	Mutagen	Karsinogen	
							Mouse	Rat
1.	Karotenoid	97.07461 2	55.5216	95.0746 12	17.5907	Non-mutagen	positive	positive
2.	Asam Askorbat	33.157259	2.48366	5.303528	0.11727	Non-mutagen	negative	negative
3.	Tokoferol	97.8039	27.9384	100	19.6531	Non-mutagen	negative	negative
4.	Luteolin	79.42723	4.53973	99.71723	0.36758	Mutagen	negative	negative
5.	Apigenin	88.12283	10.5468	97.2534	0.56511	Mutagen	Positive	Positive
6.	Kumarin	97.17664	24.5901	28.7616	0.93984	Mutagen	Positive	Negative
7.	Phthalides	100	22.0956	13.09117	1.66251	Mutagen	Positive	Negative
8.	Chrisin	92.64397	2.47825	95.0956	0.93256	Mutagen	Negative	Negative
9	Tangeritin	98.8861	53.6054	87.17323	0.02736	Mutagen	Negative	Positive
10.	Zeaxanthin	95.50145 8	54.9323	100.000 000	16.1213	Non-Mutagen	Positive	Positive
11.	Xanthotoxin	98.16830	43.4713	93.0463	2.07653	Mutagen	Negative	Positive
12.	Psoralen	98.42894	37.7452	91.06917	2.37135	Mutagen	Positive	Positive
13.	Bergapten	98.16830	43.4713	91.65848	2.07653	Mutagen	Negative	Positive
14.	Oxypeucedanin	98.50393	37.8565	83.39835	1.02688	Mutagen	Negative	Negative
15.	Myricetin	40.9640	0.99139	96.78481	0.11030	Mutagen	Negative	Positive

Prediksi absorpsi senyawa uji berdasarkan pada parameter *Human Intestinal Absorption* (HIA) dan *human colon adenocarcinoma* (Caco-2). HIA merupakan prediksi penyerapan suatu obat atau senyawa di dalam usus manusia. Klasifikasi HIA dibagi menjadi tiga, yaitu senyawa yang diserap dengan buruk memiliki rentang nilai 0-20%, diserap dengan sedang 20-70%, dan diserap dengan baik 70-100%. Berdasarkan data yang diperoleh maka didapatkan bahwa senyawa yang memiliki penyerapan yang sedang adalah myricetin dan asam askorbat. Sedangkan data 13 senyawa lainnya menunjukkan prediksi penyerapan yang baik. *Human colon adenocarcinoma* (Caco-2) merupakan prediksi kemampuan permeabilitas perpindahan obat melalui sel epitel adenocarcinoma usus besar. Klasifikasi sel Caco-2 dibagi menjadi tiga, yaitu permeabilitas rendah dengan nilai kurang dari empat, permeabilitas sedang 4-70, dan permeabilitas tinggi lebih dari 70. Dari 15 senyawa yang diuji, didapatkan 3 senyawa memiliki permeabilitas yang rendah yaitu myricetin, chrisin, dan asam askorbat. Sedangkan 12 senyawa lainnya memiliki permeabilitas sedang.

Profil distribusi meliputi BBB (*Blood Brain Barrier*) dan PPB (*Plasma Protein Binding*). BBB adalah parameter yang bertujuan untuk menentukan kemampuan suatu obat dalam menembus ke daerah sawar otak. Nilai BBB yang lebih dari 2 menunjukkan bahwa senyawa memiliki kemampuan tinggi dalam menembus ke daerah sawar otak. Hal ini ditunjukkan pada senyawa karotenoid, tokoferol, dan zeaxanthin. Senyawa asam askorbat, luteolin, apigenin, kumarin, phthalides, chrisin, xanthotoxin, psoralen, bergapten, oxypeucedanin, dan myricetin memiliki nilai BBB 0,1-2 yang menunjukkan bahwa senyawa memiliki kemampuan sedang dalam menembus ke daerah sawar otak. Suatu senyawa dinilai memiliki kemampuan yang rendah jika memiliki nilai BBB dibawah 0,1 seperti yang ditunjukkan oleh senyawa tangeritin. Senyawa obat yang mempengaruhi sistem saraf pusat harus mempunyai kemampuan menembus daerah sawar otak. Namun, apabila senyawa obat tidak mempunyai pengaruh terhadap sistem saraf pusat maka senyawa obat tidak boleh menembus hingga daerah sawar otak.

PPB adalah parameter yang bertujuan untuk memperkirakan distribusi senyawa obat berdasarkan ikatan protein dalam darah. Distribusi senyawa obat dalam darah dinilai baik jika kemampuan ikatan protein plasmanya semakin besar. Nilai PPB di atas 90% menandakan bahwa senyawa dapat mengikat secara kuat, seperti yang ditunjukkan oleh senyawa karotenoid, tokoferol, luteolin, apigenin, chrisin, zeaxanthin, xanthotoxin, psoralen, bergapten, oxypeucedanin, dan myricetin (Pre-ADMET, 2017a).

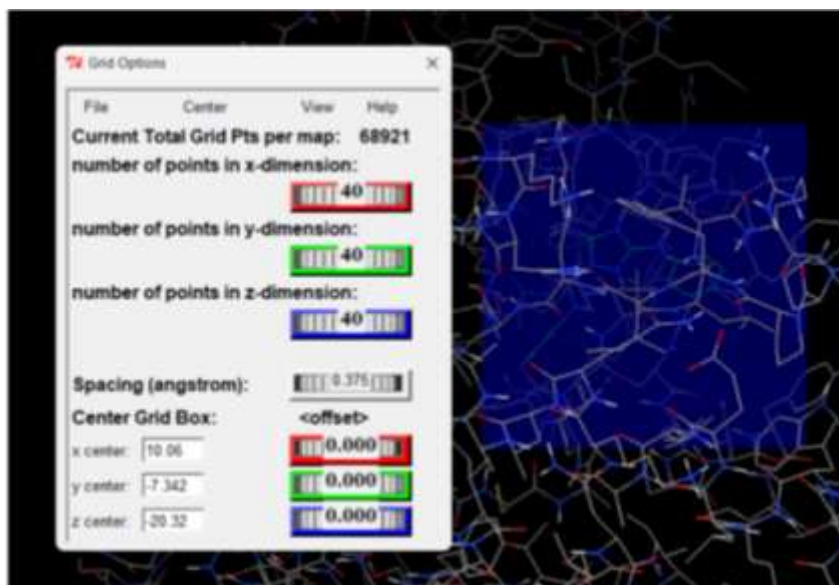
Dapat diamati pada (tabel 2), terdapat data toksisitas yang mencakup mutagen dan toksisitas menggambarkan apakah ligan yang diuji dapat bersifat mutagenik dan/atau karsinogenik pada tikus dan mencit. Pertama-tama dilihat terlebih dahulu sifat mutageniknya. Data yang didapat menunjukkan bahwa 15 ligan uji yang diprediksi sifat mutageniknya, terdapat 3 senyawa yang bersifat non-mutagen dan 12 senyawa yang bersifat mutagen. Hal ini menunjukkan bahwa rata-rata senyawa ligan uji yang digunakan dapat berpotensi menyebabkan mutasi genetik sehingga harus dilakukan penelitian lebih lanjut. Selanjutnya, pada data karsinogen yang diuji pada tikus melalui prediksi ADME/Tox didapat bahwa 8 senyawa yang bersifat karsinogenik dan 7 senyawa yang bersifat non-karsinogenik. Sedangkan pada mencit, data yang didapat menunjukkan bahwa 6 senyawa bersifat karsinogenik dan 9 senyawa bersifat non-karsinogenik. Dari data karsinogenik, dapat disimpulkan bahwa terdapat beberapa senyawa ligan uji yang bersifat karsinogenik pada mencit dan/atau tikus.

Lima belas senyawa metabolit sekunder menjadi ligan uji yang akan dilakukan penambatan molekuler dengan reseptor JAK-2 6OAV. Dilakukan simulasi penambatan molekuler (*docking*) untuk memprediksi ikatan antara ligan dengan reseptor pada sisi aktifnya, yang bertujuan untuk pengembangan atau penemuan obat baru. Langkah yang perlu dilakukan dalam metode docking ini adalah melakukan preparasi ligan dan reseptor.

Dalam preparasi reseptor, langkah pertama yang dilakukan adalah mengunduh reseptor yang terdapat ligan alaminya dalam format PDB. Pada reseptor dilakukan penghilangan molekul air dan ligan group menggunakan aplikasi Biovia Discovery Studio. Hal ini bertujuan agar dapat memaksimalkan interaksi ligan dengan reseptor dan mempercepat durasi simulasi docking, serta meminimalisir adanya bias dengan memastikan bahwa yang berinteraksi hanyalah ligan dan reseptor (Sari, *et al.*, 2020; Dewi dan Ginarsih, 2021). Reseptor ditambahkan muatan parsial Kollman dan penambahan ikatan hidrogen hanya pada bagian polarnya menggunakan aplikasi Autodock. Hal ini dikarenakan pada umumnya terjadi interaksi ikatan ligan dan reseptor karena adanya ikatan hidrogen dan menyesuaikan dengan pH di dalam tubuh (Hazar, *et al.*, 2020). Reseptor JAK-2 6OAV yang telah dipreparasi disimpan dalam format pdbqt.

Preparasi ligan diawali dengan melakukan optimasi geometri terlebih dahulu menggunakan Chem3D untuk memperoleh hasil konformasi molekul yang paling stabil dengan energi potensial yang paling rendah sesuai dengan konformasi sesungguhnya (Lestari, 2015). Kemudian ligan diberikan tambahan muatan gasteiger menggunakan aplikasi Autodock untuk menyesuaikan dengan keadaan lingkungan pada saat proses penambatan molekul (Kolina *et al.*, 2018). Dilakukan merge nonpolar pada atom hidrogen (H) dengan tujuan agar ketika proses simulasi docking hanya atom H polar saja yang berinteraksi dengan reseptor JAK-2. Ligan yang telah dipreparasi disimpan dalam bentuk file pdbqt.

Berikutnya, ditentukan koordinat dan area kantung aktif pada reseptor JAK-2 dengan menggunakan fitur pengaturan pada *grid box*. Hal ini dilakukan untuk mengetahui posisi aktivitas ligan alami dengan reseptor yang digunakan.



**Gambar 2.** Grid Box Sisi Aktif Ligan Alami pada Aplikasi AutodockTools-1.5.6

Pada **Gambar 2**, merupakan grid box posisi dimana sisi aktif dari ligan alami (5-amino-3-[(4-cyanophenyl)amino]-N-phenyl-1H-1,2,4-triazole-1-carboxamide) berikatan dengan reseptor yang dipilih. Posisi Grid Box terletak pada (x center : 10.06 ; y center : -7.342 ; z center : -20.32). Setelah didapat posisi Grid box ligan alami, Grid box ini digunakan ketika melakukan proses docking terhadap ligan uji. Hal ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antara ligan yang diuji dengan reseptor yang dipilih dimana sebagai perbandingan, menggunakan lokasi aktivitas sisi aktif dari ligan alami (5-amino-3-[(4-cyanophenyl)amino]-N-phenyl-1H-1,2,4-triazole-1-carboxamide).

Hal-hal yang dijadikan parameter pada proses docking adalah Cluster RMSD pada ligan alami, Cluster pada ligan uji, *Binding Energy*,  $K_i$ , dan interaksi dengan asam amino yang meliputi ikatan hidrogen, ikatan van der Waals, dan jenis ikatan lainnya. Pada ligan alami, nilai cluster RMSD harus bernilai <2 karena hal ini menandakan bahwa ligan alami yang digunakan memiliki kemiripan dengan struktur referensi pada protein ini. Cluster yang diambil pada saat melakukan proses docking ligan uji yaitu ketika ligan uji memiliki cluster bernilai 0. Selanjutnya, binding energi juga harus bernilai negatif yang artinya ikatan yang terjadi antara ligan dengan reseptor bersifat spontan. Nilai  $K_i$  juga merupakan parameter yang perlu diperhatikan, dimana semakin kecil nilai  $K_i$  pada suatu ligan, artinya semakin kecil konstanta inhibisinya atau dengan kata lain, ikatan antara ligan dengan reseptor semakin kuat. Selain itu, Interaksi dengan asam amino yang diharapkan adalah ikatan hidrogen, karena ikatan hidrogen merupakan ikatan yang sangat kuat untuk ligan dan asam amino. Hasil docking diperoleh dalam bentuk format file *gpf* yang kemudian dilihat data docking berupa cluster, binding energy, dan konstanta inhibisi pada aplikasi Autodock. Penambatan molekuler yang dihasilkan juga dapat divisualisasikan menggunakan Biovia Discovery sehingga diketahui ikatan yang terjadi antara ligan dengan reseptor. Data penambatan molekuler yang diperoleh dapat dengan jelas disajikan pada **Tabel 3**.



**Tabel 3.** Luaran Simulasi Penambatan Molekuler

No	Senyawa	Cluster	Binding energy (kkal/mol)	Ki (uM)	Interaksi dengan asam amino		
					Ikatan hidrogen	Ikatan van der waals	Lain-lain
1.	M3A: 5-amino-3-[(4-cyanophenyl)amino]-N-phenyl-1H-1,2,4-triazole-1-carboxamide (Ligan alami)	0.0	-8.23	0.92343	SER A : 698 GLN A : 626 GLU A : 627 VAL A : 629	-	LYS A : 581 LEU A : 680 LEU A : 579 LEU A : 551 PHE A : 628 LYS A : 677 ILE A : 559
2.	Luteolin	0.0	-8.13	1.1	GLN A : 553 SER A : 698 LYS A : 581 GLN A : 626 VAL A : 629	-	ILE A : 559 LEU A : 579 LEU A : 680
3.	Chrysin	0.0	-7.85	1.76	VAL A : 629 GLU A : 627 LYS A : 581 SER A : 698	-	LEU A : 680 LEU A : 579 LEU A : 551
4.	Xanthotoxin	0.0	-7.31	4.39	GLN A : 626 SER A : 698 LYS A : 581 VAL A : 629	-	LEU A : 579 LEU A : 680
5.	Karotenoid	0.0	+647000	Unavailable	-	-	-
6.	Asam Askorbat	0.0	-4.35	645.93	GLU A : 627 VAL A : 629 SER A : 633	-	-
7.	Kumarin	0.0	-5.86	50.36	LYS A : 681 SER A : 698	-	VAL A : 629 LEU A : 680 LEU A : 579
8.	Phthalides	0.0	-5.29	133.58	-	-	LEU A : 579 LEU A : 680
9.	Bergapten	0.0	-7.06	6.85	SER A : 698 LYS A : 581	-	LEU A : 551 ILE A : 559 VAL A : 629 LEU A : 680 LEU A : 579
10.	Oxypeucedanin	0.0	-8.22	986.06	SER A : 698 LYS A : 581 SER A : 633 LYS A : 677 VAL A : 629	-	LEU A : 551 ILE A : 559 PHE A : 628 LEU A : 680 LEU A : 579
11.	Tocopherols	0.0	-8.39	47.09	-	-	LEU A : 551 PHE A : 628 LEU A : 579 VAL A : 629 LEU A : 680
12.	Apigenin	0.0	-8.16	3.06	VAL A : 629 GLU A : 627 SER A : 698 LYS A : 581	-	LEU A : 551 LEU A : 680 LEU A : 579
13.	Myricetin	0.0	-7.68	5.99	LEU A : 551 THR A : 636 SER A : 633 GLY A : 632 VAL A : 629 GLU A : 627 GLN A : 626	-	LEU A : 579 LEU A : 680
14.	Psoralen	0.0	-7.13	5.98	VAL A : 629 SER A : 698 LYS A : 581 ASN A : 678	-	LEU A : 579 LEU A : 680
15.	Tangeritin	0.0	-7.56	2.88	VAL A : 629 GLU A : 627 GLN A : 626 LYS A : 677 LYS A : 581 SER A : 633 LEU A : 551	-	PHE A : 628 GLY A : 632 LEU A : 579 LEU A : 680 ILE A : 559
16.	Zeaxanthin	0.0	+1280000	Unavailable	-	-	-

Pada **Tabel 3**, didapatkan data yang menunjukkan hasil *re-docking* ligan alami dan juga hasil docking ligan uji. Pada ligan alami, didapatkan binding energi dengan reseptor bernilai negatif. Hal ini menandakan bahwa ikatan antara ligan alami dengan reseptor berlangsung secara spontan. Nilai  $K_i$  yang didapatkan pada ligan alami termasuk rendah yang berarti ikatan antara ligan alami dengan reseptor cukup kuat. Setelah itu, terdapat juga banyak ikatan hidrogen yang juga menandakan bahwa ikatan antara ligan alami dengan reseptor JAK-2 cukup kuat.

Pada **Tabel 3** juga, ditunjukkan hasil ketika selesai melakukan proses *docking* terhadap 15 senyawa yang menjadi ligan uji dengan menggunakan posisi *gridbox* yang sama dengan posisi *gridbox* pada saat melakukan *re-docking* ligan alami. Pada proses docking ligan uji, dilakukan sebanyak 10 koformer untuk mendapatkan hasil yang paling optimal. Hasilnya, 15 ligan uji ini memiliki cluster yang bernilai 0.0, 13 ligan uji memiliki *binding energy* yang bernilai negatif dan hanya 2 yang memiliki binding energy positif seperti karotenoid dan zeaxanthin. Hal ini berarti kedua senyawa tersebut tidak dapat berikatan secara langsung dengan reseptor JAK-2. Selanjutnya konstanta inhibisi pada ligan uji juga cukup beragam. Pada hal ini, senyawa yang memiliki konstanta inhibisi paling kecil adalah luteolin. Setelah itu, ikatan dengan asam amino dari ketiga belas ligan uji bermacam-macam, terkecuali karotenoid dan zeaxanthin karena mereka tidak dapat berikatan secara langsung. Dikarenakan ikatan yang diharapkan dengan asam amino adalah ikatan hidrogen, maka senyawa ligan uji yang memiliki ikatan hidrogen terbanyak adalah myricetin. Namun, senyawa ligan uji yang paling optimal adalah luteolin dikarenakan binding energy dan konstanta inhibisi luteolin lebih kecil jauh daripada myricetin.



**Gambar 3.** Overlay Ligan Alami Sebelum (Hijau) dan Sesudah Proses Docking (Biru)

Pada **Gambar 3**, diperlihatkan kemiripan posisi dari ligan alami dari sebelum proses docking dan sesudah proses *docking*. Dengan ini, dapat disimpulkan bahwa sesudah melalui proses *docking*, ligan alami tetap memiliki struktur serta sisi aktif dan posisi yang sangat mirip dengan ligan alami sebelum proses *docking*.

Ligan yang memiliki potensi yang paling baik adalah ligan yang memiliki binding energi dan konstanta inhibisi terkecil. Binding energy merupakan energi yang dibutuhkan untuk dapat berikatan dengan reseptor target (Azis, *et al.*, 2016). Binding energi pada docking kali ini dapat diartikan sebagai energi yang dibutuhkan oleh masing-masing ligan agar dapat berinteraksi dengan reseptor JAK-2. Semakin rendah nilai binding energi maka semakin besar afinitas yang terjadi antara reseptor dengan ligan.

Berdasarkan hasil docking, terdapat 2 ligan yang memiliki binding energi positif. Kedua senyawa tersebut adalah karotenoid dan zeaxanthin yang berarti ligan tersebut memiliki afinitas ikatan yang rendah dengan reseptor JAK-2. Hal ini didukung oleh data bahwa karotenoid dan zeaxanthin tidak memiliki ikatan dengan reseptor. Selain memiliki dua ligan dengan binding energi positif, terdapat 1 ligan dengan binding energi negatif yang lebih besar daripada ligan alami, yaitu tokoferol. Tokoferol memiliki afinitas yang besar dengan reseptor JAK-2.

Konstanta inhibisi merupakan konsentrasi yang diperlukan oleh ligan dalam menghambat reseptor (Hazar, *et al.*, 2020). Ligan yang baik dalam hasil docking adalah ligan yang memiliki konstanta inhibisi dengan nilai terkecil. Hal ini berkaitan dengan target pengobatan kanker untuk menghambat enzim Janus Kinase-2 yang terlibat dalam transduksi sinyal seluler dan mutasi genetik yang berlebih pada pasien kanker Myeloproliferative Neoplasm.

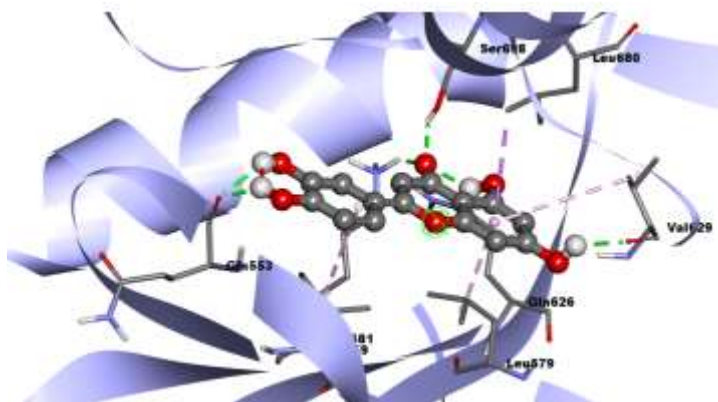
Terdapat 2 ligan yang tidak memiliki aktivitas menghambat JAK-2, yaitu karotenoid dan zeaxanthin. Hal ini terjadi karena binding energi kedua ligan tersebut bernilai positif yang sangat besar sehingga mengakibatkan tidak adanya ikatan yang terjadi antara ligan dengan reseptor. Ketidakterdapatnya ikatan yang terjadi antara ligan dan reseptor yang menandakan tidak ada interaksi sehingga karotenoid dan zeaxanthin tidak memiliki konstanta inhibisi. Luteolin merupakan ligan yang memiliki konstanta inhibisi paling kecil dibandingkan ligan lainnya, tetapi tidak lebih kecil daripada ligan alaminya sebesar 0,92343  $\mu\text{M}$ . Dengan

begitu ligan luteolin memiliki efektivitas menghambat JAK-2 lebih baik daripada ke-14 ligan lainnya, Semua ligan tidak memiliki konstanta inhibisi yang lebih baik daripada ligan alaminya.

Tokoferol merupakan ligan yang memiliki binding energi terkecil dibandingkan dengan ligan uji lainnya dan ligan alami. Namun, tokoferol tidak memiliki konstanta inhibisi yang lebih baik daripada ligan alami maupun luteolin yang memiliki binding energi lebih besar. Efektivitas ligan dalam menghambat JAK-2 tidak hanya dipengaruhi oleh besarnya binding energi saja, tetapi dipengaruhi oleh jenis ikatan yang terjadi.

Interaksi yang terjadi antara reseptor dan ligan dapat terjadi ikatan hidrogen, ikatan van der waals, maupun ikatan lainnya, seperti ikatan alkil, ikatan pi-alkil. Ikatan hidrogen dan ikatan van der waals merupakan ikatan yang penting dalam interaksi reseptor dengan ligan (Ratu, *et al.*, 2021). Hal inilah yang dapat menjelaskan mengalami tokoferol memiliki binding energi yang lebih kecil daripada ligan alami, tetapi memiliki konstanta inhibisi yang jauh lebih besar daripada luteolin yang memiliki binding energi sebesar -8,13 lebih besar daripada ligan alami. Tokoferol tidak memiliki ikatan hidrogen dan ikatan van der waals, di mana ikatan hidrogen dan ikatan van der waals merupakan ikatan yang kuat.

Untuk menghasilkan aktivitas inhibisi pada JAK-2 diperlukan ligan yang dapat berikatan kuat dengan tempat pengikatan JAK-2 Janus Homology-2, tetapi mengikat lemah ke tempat pengikatan JAK-2 Janus Homology-1. Ikatan-ikatan tersebut, yaitu GLU A: 627, GLN A: 626, LYS A: 581, PHE A: 595, PHE A: 628, VAL: 617 dan VAL A: 629 untuk JH2, dan GLU A:930, TYR A: 931, dan LEU A: 932 untuk JH1 (Liosi, *et al.*, 2020). Luteolin sebagai ligan uji memiliki ikatan hidrogen dengan reseptor daripada ligan alami, tetapi konsentrasi yang diperlukan untuk menghambat JAK-2 masih lebih besar daripada ligan alami. Hal ini karena luteolin tidak memiliki ikatan hidrogen dengan asam glutamat dalam sekuens protein yang memiliki nomor residu 627 yang penting dalam sebagian besar gangguan mieloproliferatif.



**Gambar 4.** Visualisasi Interaksi Luteolin dengan JAK-2

Begitu pula dengan tokoferol yang memiliki binding energi terkecil jika dibandingkan dengan ligan alami dan ligan uji lainnya, memiliki konstanta inhibisi yang tidak lebih kecil daripada ligan alami karena tidak adanya interaksi ikatan hidrogen maupun van der waals dengan reseptor. Myricetin dan psoralen memiliki interaksi ikatan hidrogen yang lebih banyak daripada luteolin, tetapi keduanya tidak lebih baik konstanta inhibisinya daripada luteolin dan ligan alami. Myricetin dan psoralen tidak berinteraksi dengan asam amino yang memiliki nomor residu yang memiliki efektivitas potensial terhadap penghambatan aktivitas Janus Kinase-2.

### Simpulan

Berdasarkan dari pengujian RO5, ADMET, dan molecular docking terhadap 15 senyawa metabolit sekunder Parsley, didapatkan senyawa Luteolin memiliki potensi yang terbaik sebagai inhibitor Janus Kinase-2 karena berikatan dengan residu asam amino pada protein tersebut dengan konstanta inhibisi sebesar 1.1  $\mu\text{M}$  dan binding energi sebesar -8.13 kkal/mol.

### Daftar Referensi

Azis, F.K., Nukitasari, C., Oktavianingrum, F.A., Ariyati, L.W., dan Santoso. 2016. Hasil in silico senyawa Z12501572, Z00321025, SCB5631028 dan SCB13970547 dibandingkan turunan zerumbon terhadap human liver glycogen phosphorylase (115Q) sebagai antidiabetes. *Jurnal kimia VALENSI*, 2(2): 120-124.

- Bimmaharyanto, D. E., Umboro, E. O., dan Apriliyani, F. 2022. Aktivitas Antifungi Ekstrak Etanol Daun Parsley (*Petroselinum Crispum*) Terhadap Pertumbuhan Jamur *Candida Albicans* Secara Invitro. *Jurnal Kesehatan Qamarul Huda*, 10(2): 224-231.
- Braglia, R., Costa, P., Di Marco, G., D'Agostino, A., Redi, E. L., Scuderi, F., ... dan Canini, A. 2022. Phytochemicals and quality level of food plants grown in an aquaponics system. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 102(2): 844-850.
- Caboni, P., Saba, M., Oplos, C., Aissani, N., Maxia, A., Spiroudi, U.M., Casu, L., dan Ntalli, N., 2014. Nematicidal activity of furanocoumarins from parsley against *Meloidogyne* spp. *Society of Chemical Industry*.
- Daina, A., Michielin, O., dan Zoete, V. 2017. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Scientific Reports*, 7: 42717.
- Dewi, N.L.P.L., dan Ginarsih, N.M.A. 2021. Molecular docking ellagic acid sebagai agen anti-photoaging secara in silico. *Acta Holist. Pharm*, 3(1): 22-30.
- Ferreira, L.L.G., dan Andricopulo, A.D. 2019. ADMET modeling approaches in drug discovery. *Drug Discovery Today*, 24(5): 1157-1165.
- Gashgari, R., Selim, S., Abdel-Mawgoud, M. 2020. Arbuscular mycorrhizae induce a global metabolic change and improve the nutritional and health benefits of pennyroyal and parsley. *Acta Physiol Plant*, 42: 102.
- Hardianto, A., Yusuf, M., Liu, F., and Ranganathan, S. 2019. Structure-Based Drug Design Workflow. Dalam Ranganathan, S., Nakai, K., Sconbach C., and Gribskov, M. *Encyclopedia of Bioinformatics and Computational Biology*, 3: 273-282.
- Harrison, C.N., Koschmieder, S., Foltz, L., Guglielmelli, P., Flindt, T., Koehler, M., Mathias, J., Komatsu, N., Boothroyd, R.N., Spierer, A., Ronco, J.P., Stokes, G.T., Waller, J., dan Mesa, R.A. 2017. The impact of myeloproliferative neoplasms (MPNs) on patient quality of life and productivity: results from the international MPN Landmark survey. *Ann Hematol*, 96: 1653-1665.
- Harvey, R.A. dan Champe, P.C. 2013. *Farmakologi Ulasan Bergambar Edisi 4*. Jakarta: EGC.
- Hazar, N., Arumsari, A., dan Faqih, T.M. 2020. Analisis mekanisme interaksi senyawa turunan ftalosianin terhadap reseptor HasAp pada *Pseudomonas aeruginosa* dengan metode in silico. *Prosiding Farmasi*, 6(2): 749-756.
- Jamkhande, P.G., Ghante, M.H., dan Ajgunde, B.R. 2017. Software based approaches for drug designing and development: A systematic review on commonly used software and its applications. *Bulletin of Faculty of Pharmacy, Cairo University*, 55(2): 203-210.
- Kartaningsih, E. D. 2015. *Panduan Penyusunan Studi Literatur*. Mojokerto: Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat Politeknik Kesehatan Majapahit Mojokerto.
- Kolina, J., Sumiwi, S.A., dan Levita, J. 2019. Mode ikatan metabolit sekunder di tanaman akar kuning (*Arcangelisia flava* L.) dengan nitrat oksida sintase. *Fitofarmaka Jurnal Ilmiah Farmasi*, 8(1): 50-58,
- Lestari, T. 2015. Studi interaksi senyawa turunan 1,3-Dibenzoiltiourea sebagai ribonukleotida reduktase inhibitor. *Jurnal Farmasi Indonesia*, 7(3): 163-169.
- Liosi, M., Krimmer, S.G., Newton, A.S., Dawson, T.K., Puleo, D.E., Cutrona, K.J., Suzuki, Y., Schlessinger, J., dan Jorgensen, W.L. 2020. Selective Janus Kinase 2 (JAK2) pseudokinase ligands with a diamino-triazole core. *J Med Chem.*, 28;63(10): 5324-5340.
- Lipinski, C. A., F. Lombardo, B. W. Dominy, dan P. J. Feeney. 2012. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 64(1-3): 4-17.
- Mesa, R., Vannucchi, A. M., Yacoub, A., Zachee, P., Garg, M., Lyons, R., ... dan Martino, B. 2017. The efficacy and safety of continued hydroxycarbamide therapy versus switching to ruxolitinib in patients with polycythaemia vera: a randomized, double-blind, double-dummy, symptom study (RELIEF). *British journal of haematology*, 176(1): 76-85.
- Michalaki, Afroditi, Haralabos C. Karantonis, Anastasia S. Kritikou, Nikolaos S. Thomaidis, dan Marilena E. Dasenaki. 2023. Ultrasound-Assisted Extraction of Specific Phenolic Compounds from

- Petroselinum crispum Leaves Using Response Surface Methodology and HPLC-PDA and Q-TOF-MS/MS Identification. *Applied Sciences* 13 (2): 798
- Pandey, G., Kuykendall, A.T. dan Reuther, G.W. 2022. JAK2 inhibitor persistence in MPN: uncovering a central role of ERK activation. *Blood Cancer J*, 12(13).
- Pelkonen, O., Turpeinen, M., dan Raunio, H. 2011. In Vivo In Vitro In Silico Pharmacokinetic Modelling in Drug Development. *Clinical Pharmacokinetics*, 50 (8): 483-491.
- Pre-ADMET. 2017a. ADME Prediction. Tersedia daring di <https://preadmet.webservice.bmdrc.org/adme-prediction/>. [Diakses pada 7 Juni 2023].
- Pre-ADMET. 2017b. Description of PreADMET. Tersedia daring di <https://preadmet.webservice.bmdrc.org/description-of-preadmet/>. [Diakses pada 11 Juni 2023].
- Ratu, B.D.P.M., Bodhi, W., Budiarmo, F., Kepel, B.J., Fatimawali, F., dan Manampiring, A. 2021. Molecular docking senyawa gingerol dan zingiberol pada Tanaman Jahe sebagai Penanganan COVID-19. *eBiomedik*, 9(1): 126–130.
- Sabe, V.T., Ntombela, T., Jhamba, L.A., Maguire, G.E.M., Govender, T., Naicker, T., dan Kruger, H.G. 2021. Current trends in computer aided drug design and a highlight of drugs discovered via computational techniques: A review. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 224: 113705.
- Sari, I.W., Junaidin, J., dan Pratiwi, D. 2020. Studi molecular docking senyawa flavonoid herba kumis kucing (*Orthosiphon stamineus* B.) pada reseptor  $\alpha$ -glukosidase sebagai antidiabetes tipe 2. *Jurnal Farmagazine*, 7(2): 54–60.
- Slimestad, R., Fossen, T., dan Brede, C. 2020. Flavonoids and other phenolics in herbs commonly used in Norwegian commercial kitchens. *Food chemistry*, 309: 125678.
- Stanzione, F., Giangreco, I., dan Cole, J.C. 2021. 'Use of molecular docking computational tools in drug discovery' dari Witty, D.R., & Cox, B. (eds.) *Progress in Medicinal Chemistry*. Amsterdam, Oxford, dan Cambridge: Elsevier.
- Them, N.C.C., dan Kralovics, R. 2013. Genetic Basis of MPN: Beyond JAK2-V617F. *Curr Hematol Malig Rep*, 8:299–306
- Widyaningrum, H., dan Tim Solusi Alternatif. 2011. *Kitab Tanaman Obat Nusantara*. Yogyakarta: Media Pressindo.
- Yang, W., Gadgil, P., Krishnamurthy, V.R., Landis, M., Mallick, P., Patel, D., Patel, P.J., Reid, D.L., dan Sanchez-Felix, M. 2020. The Evolving Druggability and Developability Space: Chemically Modified New Modalities and Emerging Small Molecules. *The AAPS Journal*, 2020(22):21.