

STUDI IN-SILICO SENYAWA UMBI LOBAK PUTIH (*Raphanus sativus* L.) SEBAGAI KANDIDAT ANTI INSOMNIA

Noer Fauziah Rahman¹, Nurzadrina Wahyuddin¹, Marwati Marwati¹

¹ Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Makassar, Makassar, Indonesia, 90242

Kata Kunci :

Anti insomnia,
Raphanus sativus, In-silico, Molekuler docking

ABSTRAK

Insomnia adalah gangguan tidur yang umum dan tersebar luas yang disebabkan oleh berbagai faktor risiko. Insomnia jangka panjang dapat menyebabkan masalah serius termasuk kecemasan, nyeri kronis, penyakit kardiovaskular, hingga gagal jantung. Pengobatan insomnia konvensional memberikan kemanjuran moderat tetapi dapat menyebabkan berbagai efek samping termasuk sedasi, penambahan berat badan, keluhan gastrointestinal, insomnia rebound dan efek samping lainnya. Penggunaan bahan alam dipercaya memiliki efek samping minimal sebagai pengobatan alternatif. Salah satu bahan alam yang dipercaya memiliki efek sebagai anti insomnia adalah lobak (*Raphanus sativus* L.). Penelitian ini bertujuan untuk mengeksplorasi senyawa dari umbi lobak (*Raphanus sativus* L.) sebagai kandidat obat anti insomnia. Dilakukan penelusuran senyawa melalui studi docking in-silico menggunakan aplikasi AutoDock[®]. Hasil penambatan senyawa R. sativus menunjukkan semua senyawa dapat berinteraksi dengan sisi aktif reseptor GABA. Interaksi terbaik ditunjukkan oleh senyawa 13, 14, dan 16, dengan nilai energi bebas ikatan -9.73, -9.38, dan -7.74 kkal/mol, sedangkan ligan alami diazepam memiliki nilai energi bebas ikatan -8.4 kkal/mol. Interaksi antar molekul dengan residu asam amino yang paling mirip dengan ligan alami adalah Tyr58, Val203, Tyr210, Tyr160, Phe100, Phe77, His102, Ser205. Dapat disimpulkan bahwa ketiga senyawa tersebut diprediksi berpotensi sebagai agen anti insomnia.

PENDAHULUAN

Salah satu gangguan tidur yang paling umum adalah insomnia, yang ditandai dengan gangguan awal tidur, pemeliharaan tidur, atau kualitas tidur yang buruk, yang menyebabkan gangguan fungsi tubuh pada kehidupan sehari-hari, dengan kemungkinan terjadinya tekanan psikologis (1). Insomnia kronis adalah gangguan umum yang mempengaruhi lebih dari sepertiga populasi orang dewasa di dunia (2). Diperkirakan sekitar seperempat penduduk dunia menderita insomnia dalam berbagai derajat dan hampir 10% mengalami insomnia kronis (3)(4). Berdasarkan penelitian yang dilakukan Peltzer dan Pengpid (2019) di Indonesia (5), dari 31.432 partisipan yang diuji, sekitar 33,3% memiliki insomnia sub-ambang dan 11,0% memiliki gejala insomnia yang signifikan secara klinis. Di Inggris melaporkan prevalensi 7,9% dengan kejadian tahunan 36,6% insomnia akut. Insomnia dipicu oleh berbagai stresor seperti konflik interpersonal, stres di tempat kerja, perubahan sementara jadwal atau lokasi, situasi baru yang membutuhkan penyesuaian, atau penggunaan obat-obatan, dan umumnya hilang setelah stresor tidak lagi hadir (6). Penelitian juga menunjukkan bahwa pada pandemik COVID-19 meningkatkan prevalensi insomnia di beberapa wilayah di dunia (7) (8).

Insomnia dapat menyebabkan penurunan fokus, penilaian, memori dan kapasitas kerja sehari-hari, mengurangi kualitas hidup, dan secara serius dapat mempengaruhi fungsi sosial dan aktivitas mental dalam kehidupan sehari-hari (9). Penggunaan obat-obatan memiliki kemanjuran moderat tetapi menyebabkan beberapa efek samping seperti sedasi, penambahan berat badan, pusing, sakit kepala, dan keluhan gastrointestinal (10). Selain itu, efek samping sementara yang ditimbulkan

insomnia menyebabkan orang-orang pada umumnya tidak

mencari perawatan medis dan sering beralih pada pengobatan non-farmakologis atau over-the-counter, dan obat-obatan herbal (6).

Terapi alternatif dan penggunaan tanaman obat untuk pengobatan insomnia mengalami peningkatan selama beberapa dekade terakhir (11). Kelompok Obat Herbal memiliki total effective rate (TER) yang jauh lebih tinggi untuk perbaikan insomnia (12). Oleh karena itu, peningkatan penggunaan produk bahan alam untuk mencegah dan mengobati gangguan neurodegeneratif dan kejiwaan, termasuk insomnia semakin diminati (13).

Lobak (*Raphanus sativus* L.) memiliki banyak manfaat, beberapa diantaranya digunakan untuk mengatasi insomnia, diabetes melitus, faringitis, sinusitis, sirosis jantung, diuretik, infeksi bakteri, dan detoksifikasi toksin. Umbi lobak mengandung zat aktif seperti flavonoid, polifenol, dan saponin (14). Selain itu, penelitian sebelumnya melaporkan bahwa glukosinolat dalam genus Brassica mungkin memberikan efek neuroprotektif melalui modulasi respons inflamasi pada sistem saraf pusat (15).

Selain efek kuratifnya pada insomnia, tidak banyak penelitian yang membahas mekanisme sedatif dari lobak. Mekanisme yang mungkin dari penghambatan in-vivo dapat dilakukan dengan menggunakan simulasi docking pada reseptor GABA. Mekanisme aksi farmakologis utama yang dimiliki oleh sebagian besar obat sedatif adalah bekerja melalui neurotransmitter gamma-aminobutyric acid (GABA) atau melalui stimulasi reseptor GABA-AA. Orientasi pengikatan dan jenis interaksi yang mungkin menjadi penyebab dibalik

Masuk 01-06-2023
Revisi 03-07-2023
Diterima 02-08-2023

DOI: 10.20956/mff.Special Issue

Korespondensi

Noer Fauziah Rahman
nrfziah.rahman@gmail.com

Copyright

© 2023 Majalah Farmasi
Farmakologi Fakultas Farmasi -
Makassar

Diterbitkan tanggal
11 September 2023

Dapat Diakses Daring Pada:
<http://journal.unhas.ac.id/index.php/mff>



efek farmakologisnya adalah adanya interaksi dengan reseptor GABA. Hal ini dapat dimanfaatkan untuk mencari target yang relevan berdasarkan struktur senyawa dan struktur 3D target protein untuk mendapatkan senyawa target potensial (16).

Berdasarkan latar belakang di atas maka dilakukan penelitian tentang studi in-silico dengan memanfaatkan salah satu bahan alam yaitu umbi lobak putih (*Raphanus sativus* L.) dalam mengatasi salah satu gangguan tidur yaitu insomnia.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Struktur kristal dua dimensi (2D) dan tiga dimensi (3D) dari 40 senyawa umbi R. sativus diunduh dari website Pubchem (www.pubchem.ncbi.nlm.nih.gov), diubah ke dalam format (*.pdb) menggunakan perangkat lunak OpenBabel® (www.openbabel.org), dan dioptimasi menggunakan perangkat lunak Avogadro (<https://avogadro.cc>), sedangkan bentuk 3D protein 6X3X diunduh dari RSCB PSB (<http://www.rscb.org>). Penghilangan molekul-molekul air dan molekul yang tidak diharapkan keberadaannya, serta visualisasi menggunakan perangkat lunak BIOVIA® Discovery Studio Visualizer (www.discover.3ds.com), dan docking molekuler menggunakan perangkat lunak AutoDockTools® seri 1.5.7.

Prosedur Kerja

Preparasi Protein dan Ligan

Perangkat lunak BIOVIA® Discovery Studio Visualizer digunakan untuk memisahkan ligan alami dari protein sehingga didapatkan berkas ligan alami dan protein tanpa ligan, serta menghilangkan keberadaan molekul-molekul air serta molekul yang tidak diinginkan, kemudian disimpan dalam format (*.pdb). Bentuk 3D ligan uji dari umbi R. sativus yang telah diunduh dari website Pubchem dikonversi ke dalam format (*.pdb) menggunakan perangkat lunak OpenBabel®. Senyawa ligan uji yang digunakan dioptimasi menggunakan perangkat lunak Avogadro® menggunakan force field MMFF94.

Validasi Molekuler Docking

Docking dilakukan terhadap ligan alami untuk mencari konformasi 3D ligan alami terhadap reseptor dengan menyamakan koordinat pusat masa struktur dan besaran gridbox dari binding site pocket. Konformasi hasil docking yang diperoleh disejajarkan dengan konformasi ligan alami sehingga mendapatkan hasil pengukuran kristalografi yang dinyatakan dalam nilai Root Mean Square Deviation (RMSD). Parameter metode docking dinyatakan valid jika nilai RMSD maksimum 2,0 Å.

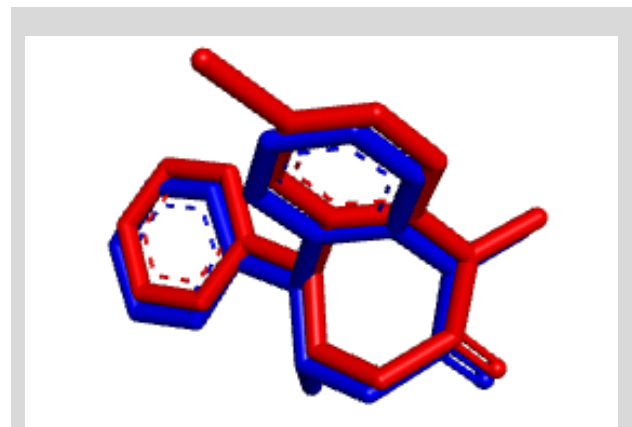
Molekuler Docking dan Analisis Data

Simulasi molekuler dilakukan menggunakan software MGLTools versi 1.5.7. yang dilengkapi dengan AutoDock. Sebanyak 40 ligan uji ditambahkan ke dalam sisi aktif protein dengan grid dan koordinat grid box yang didapatkan dari hasil validasi molekuler. Struktur 3D kristal protein (reseptor GABA) dengan kode PDB 6X3X diunduh dari Protein Data Bank (PDB). Kriteria pemilihan struktur kristal adalah protein yang tidak bermutasi, berasal dari organisme Homo sapiens dengan resolusi di bawah 3 Å. Perangkat lunak Discovery studio visualizer digunakan untuk visualisasi dan mempersiapkan protein dengan menghilangkan molekul air dan kofaktor, serta menambah atom hidrogen polar kemudian disimpan dalam format file pdb (*.pdb). Docking ligan (senyawa uji R. sativus) dengan reseptor (GABA) dilakukan dengan menggunakan penautan ligan-reseptor

serta pengamatan interaksi dengan residu asam amino menggunakan visualisator. Hasil yang diperoleh dari simulasi penambatan kemudian diidentifikasi, dievaluasi, dan dieksplorasi interaksi molekuler yang terbentuk antara reseptor dan molekul senyawa uji berdasarkan nilai energi bebas ikatan, serta residu asam amino yang berperan dalam interaksi.

PEMBAHASAN

Sebelum dilakukan studi penambatan molekuler terhadap 40 senyawa uji, dilakukan validasi terlebih dahulu untuk menentukan beberapa parameter yang akan dilakukan setelahnya. Validasi dilakukan untuk mengetahui kemiripan konformasi antara ligan alami dengan ligan hasil penambatan ulang. Nilai koordinat pusat untuk tempat interaksi ligan dan protein adalah X=89,59 Å; Y=125,888 Å; Z=205,54 Å dengan ukuran dimensi npts (number of grid points) adalah 40x40x40.



Tabel 1. Nilai energi bebas ikatan senyawa uji

Hasil validasi atau re-docking (Gambar 1) menunjukkan bahwa reseptor GABA (RSCB: 6X3X) dan ligan alami yang digunakan memiliki nilai RMSD 0,47 Å. Nilai RMSD yang lebih kecil dari 2,0 menunjukkan bahwa metode docking molekuler yang digunakan memberikan hasil yang mendekati hasil eksperimen. Nilai RMSD yang semakin kecil menunjukkan posisi ligan hasil penambatan molekuler ulang memiliki posisi yang semakin mendekati posisi ligan hasil kristalografi (17).

Tabel 1. Nilai energi bebas ikatan senyawa uji

Senyawa	ΔG (kkal/mol)	KI
Ligan alami	-8,4	697,54 nM
Senyawa 13 (4-OH-glucobrassicin)	-9,73	74,04 nM
Senyawa 14 (Glucobrassicin)	-9,38	133,96 nM
Senyawa 16 (Glucoraphenin)	-7,74	2,13 μ M

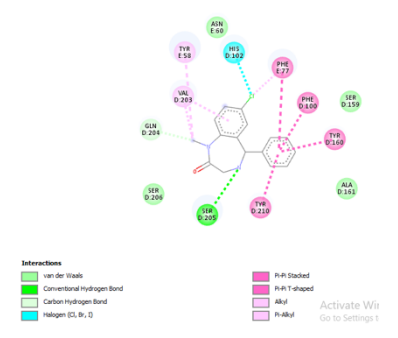
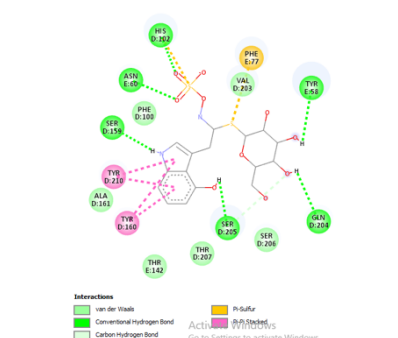
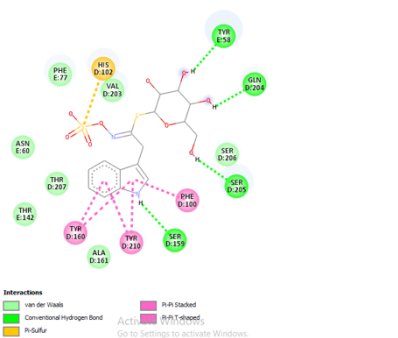
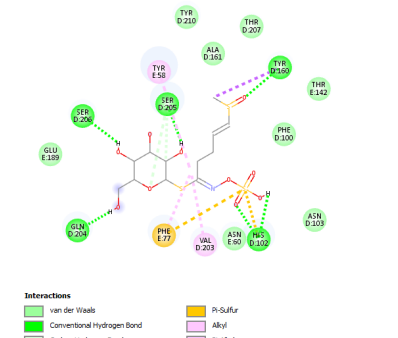
Simulasi molekuler dilakukan menggunakan software AutoDockTools versi 1.5.7. Ligan uji didocking ke dalam sisi aktif protein dengan grid box (40x40x40) dan koordinat grid box (x; y; z) 89,59 Å; 125,88 Å; 205,54 Å. Hasil analisis berupa energi bebas ikatan, ikatan hidrogen, dan pola pengikatan dengan residu asam amino pada sisi aktif protein. Struktur 3D kristal protein (reseptor GABA) dengan kode PDB 6X3X diunduh dari Protein Data Bank (PDB). Pemilihan struktur kristal adalah protein yang tidak bermutasi, berasal dari organisme Homo sapiens dengan resolusi 2,92 Å. Perangkat lunak Discovery studio visualizer digunakan untuk visualisasi dan mempersiapkan protein dengan menghilangkan molekul air dan faktor-faktor yang tidak diinginkan, serta penambahan atom hidrogen, kemudian disimpan dalam format file pdb (*.pdb). Docking ligan (senyawa uji R. sativus) dengan reseptor (GABA) dilakukan dengan menggunakan

penautan ligan-reseptor serta pengamatan interaksi dengan residu asam amino menggunakan visualisator.

Semua senyawa uji memiliki nilai energi bebas Gibbs (ΔG) yang bernilai negatif dengan variasi nilai dari -2,71 hingga -9,73 kkal/mol. Nilai ini digunakan untuk memprediksi apakah suatu reaksi dapat berjalan secara spontan atau tidak. Semakin negatif nilai ΔG berarti reaksi dapat berlangsung dengan spontan, selain itu juga menunjukkan tingkat kestabilan yang baik antara ligan dan protein target (reseptor) sehingga ikatan yang terbentuk akan semakin kuat (18). Berdasarkan data hasil simulasi penambatan molekuler yang terdapat pada Tabel 1, didapatkan sebanyak dua senyawa uji dari umbi *R. sativus* yang memiliki nilai energi

bebas lebih kecil dibandingkan ligan alami dan satu senyawa uji yang memiliki nilai energi bebas lebih besar dan mendekati nilai ligan alami dengan pola pengikatan yang mirip pada residu asam aminonya. Senyawa 13 (4-OH-glucobrassicin) dan senyawa 14 (Glucobrassicin) masing-masing memiliki nilai energi bebas ikatan -9,73 dan -9,38 kkal/mol, dan senyawa 16 (Glucoraphenin) memberikan nilai energi bebas ikatan sebesar -7,74 kkal/mol. Interaksi ikatan antara ligan uji dan residu asam amino yang sama dengan yang terdapat pada ikatan reseptor dan ligan alami menunjukkan kemiripan jenis interaksi atau aktivitas. Interaksi antar molekul dengan residu asam amino yang paling mirip dengan ligan alami dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 1. Nilai energi bebas ikatan senyawa uji

Nama	Residu Asam Amino	Gambar
Ligand alami	Tyr58, Val203, Tyr210, Tyr160, Phe100, Phe77, His102, Ser205	
Senyawa 13	His102, Asn60, Ser159, Tyr58, Gln204, Ser205, Tyr160, Tyr210, Phe77	
Senyawa 14	Tyr58, Gln204, Ser205, Phe100, Ser159, Tyr210, Tyr160, His102	
Senyawa 16	Tyr58, Tyr160, Ser205, Ser206, Gln204, Phe77, Val203, His102	

Ligan alami membentuk beberapa interaksi, satu interaksi ikatan hidrogen dengan Ser205, gugus 5-fenil membentuk empat interaksi susun π - π dengan Phe77, Phe100, Tyr160 dan Tyr210, sedangkan atom klorin membentuk interaksi halogen dengan His102. Analisis jenis interaksi dengan residu asam amino yang ada pada sisi pengikatan 6X3X dilakukan pada semua senyawa yang dianggap memiliki potensi interaksi, yaitu senyawa 13, 14, dan 16. Senyawa 13 membentuk ikatan hidrogen dengan asam amino Ser205, Gln204, Tyr58, His102, Asn60, Ser159; senyawa 14 membentuk ikatan hidrogen dengan Tyr58, Gln204, Ser205, Ser159; sementara senyawa 16 membentuk ikatan hidrogen dengan His102, Gln204, Ser206, Ser205, dan Tyr160. Perbedaan dalam nilai pengikatan dipengaruhi oleh ikatan yang terbentuk. Ikatan hidrogen memiliki peran penting dalam menentukan besar kecilnya nilai afinitas ikatan yang dihasilkan dari proses docking karena memiliki energi yang lebih tinggi dari hidrofobik obligasi (19).

Mekanisme aksi farmakologis yang dimiliki oleh sebagian besar obat sedatif adalah melalui neurotransmitter GABA atau stimulasi reseptor GABA-A α . Barbiturat dan benzodiazepin adalah agen yang paling umum digunakan dan efektif untuk pengobatan insomnia selama bertahun-tahun. Fungsi fisiologis utamanya adalah untuk memodulasi reseptor GABA-A, yang berperan dalam pengaturan tidur dan etiologi insomnia. Aktivasi sel GABAergik di otak depan basal dan area preoptik tampaknya mengoordinasikan onset tidur melalui efek langsung dan/atau melalui penghambatan sel yang mendorong aktivasi kortikal (20).

Turunan benzodiazepin adalah obat pilihan yang banyak digunakan sebagai sedatif-hipnotik karena memiliki efikasi dan batas keamanan lebih besar dibanding turunan sedatif-hipnotik lain yang menyangkut efek samping, pengembangan toleransi, ketergantungan obat, interaksi obat dan kematian akibat kelebihan dosis. Turunan benzodiazepin mengikat reseptor khas di otak dan meningkatkan transmisi sinaptik GABAergik (21). Interaksi ini menyebabkan kanal klorida terbuka yang mengakibatkan masuknya ion klorida. Masuknya anion ini menyebabkan potensial membran menjadi lebih negatif. Keelektronegatifan menyebabkan kanal kalsium tidak dapat membuka sehingga menyebabkan kadar intraseluler kalsium menurun. Penurunan kadar kalsium tidak akan mampu mempercepat neurotransmitter yang mengandung vesikel dan interaksi neurotransmitter selanjutnya, sehingga reseptor akan diminimalkan dan impuls tubuh terhambat (22). Ketiga senyawa uji yang memiliki aktivitas terbaik diperkirakan menghasilkan efek yang mirip dengan benzodiazepin. Oleh karena itu, dapat diprediksi bahwa senyawa uji 13, 14, dan 16 memiliki mekanisme yang mirip dengan benzodiazepin dalam penghambatan impuls syaraf. Pada saat yang sama, penting untuk diketahui bahwa ada banyak jalur mekanisme lain yang mungkin menimbulkan efek sedatif, serta diperlukan uji lanjutan seperti uji in-vitro dan in-vivo untuk mengevaluasi efektivitas ketiga ligan uji tersebut.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa umbi lobak putih diprediksi memiliki potensi sebagai agen anti insomnia. Hal ini dapat dilihat dari interaksi yang terjadi antara ligan senyawa uji dan reseptor.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Kementrian Pendidikan, Kebudayaan, Riset, dan Teknologi yang telah memberikan bantuan dana selama penelitian berlangsung.

DAFTAR PUSTAKA

1. Anggadiredja K, Ketut Adnyana I, Safitri D, Rahmawati SF, Hendrayana T. Ethanol extract of *Gardenia augusta* (L.) Merr. Flowers Produces Sleep Improvement in Rat Model. *Pharmacog J*. 2019;11(6):1449-54. <http://dx.doi.org/10.5530/pj.2019.11.224>
2. Poursaleh Z, Vahedi E, Movahhed M, Ahmadian-Attari MM, Jafari M, Kashani LMT, et al. Sedative effects of a traditional polyherbal formulation (Monavvem) in patients with chronic insomnia: A randomized double-blind placebo-controlled trial. *Eur J Integr Med*. 2022 Jan 1;49:101608. <https://doi.org/10.1016/j.eujim.2021.101608>
3. Feyzabadi Z, Rezaeitab F, Badiie S, Taghipour A, Moharari F, Soltanifar A, et al. Efficacy of Violet oil, a traditional Iranian formula, in patients with chronic insomnia: A randomized, double-blind, placebo-controlled study. *J Ethnopharmacol*. 2018 Mar 25;214:22-8. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.11.036>
4. Porwal A, Yadav YC, Pathak K, Yadav R. An Update on Assessment, Therapeutic Management, and Patents on Insomnia. *Biomed Res Int*. 2021;2021. <https://doi.org/10.1155/2021/6068952>
5. Peltzer K, Pengpid S. Prevalence, Social and Health Correlates of Insomnia among Persons 15 Years and Older in Indonesia. *Psychol Heal Med*. 2019;24(6):757-68. <https://doi.org/10.1080/13548506.2019.1566621>
6. Abdellah SA, Berlin A, Blondeau C, Guinobert I, Guilbot A, Beck M, et al. A combination of *Eschscholtzia californica* Cham. and *Valeriana officinalis* L. extracts for adjustment insomnia: A prospective observational study. *J Tradit Complement Med*. 2020;10(2):116-23. <https://doi.org/10.1016/j.jtcme.2019.02.003>
7. Cénat JM, Blais-Rochette C, Kokou-Kpolou CK, Noorishad PG, Mukunzi JN, McIntee SE, et al. Prevalence of symptoms of depression, anxiety, insomnia, posttraumatic stress disorder, and psychological distress among populations affected by the COVID-19 pandemic: A systematic review and meta-analysis. *Psychiatry Res*. 2021;295(November 2020). <https://doi.org/10.1016/j.psychres.2020.113599>
8. Krishnamoorthy Y, Nagarajan R, Saya GK, Menon V. Prevalence of psychological morbidities among general population, healthcare workers and COVID-19 patients amidst the COVID-19 pandemic: A systematic review and meta-analysis. *Psychiatry Res [Internet]*. 2020;293(May):113382. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.psychres.2020.113382>
9. Cui Y, Zheng W, Xu L, Meng Y, Wang Y, Chang X. Distribution of elements extracted from symptom patterns and characteristics of polysomnograph of common symptom patterns of insomnia with Traditional Chinese Medicine. *J Tradit Chinese Med = Chung i tsa chih ying wen pan*. 2016;36(5):649-53. [https://doi.org/10.1016/S0254-6272\(16\)30085-1](https://doi.org/10.1016/S0254-6272(16)30085-1)
10. Lopresti AL, Smith SJ, Ali S, Metse AP, Kalns J, Drummond PD. Effects of a *Bacopa monnieri* extract (Bacognize®) on stress, fatigue, quality of life and sleep in adults with self-reported poor sleep: A randomised, double-blind, placebo-controlled study. *J Funct Foods*. 2021 Oct 1;85:104671. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2021.104671>
11. Taherzadeh Z, Khaluyan H, Iranshahy M, Rezaeitab F, Eshaghi Ghalibaf MH, Javadi B. Evaluation of sedative effects of an intranasal dosage form containing saffron, lettuce seeds and sweet violet in primary chronic insomnia: A randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *J Ethnopharmacol*. 2020 Nov 15;262:113116. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113116>
12. Kwon CY, Lee B, Chung SY, Kim JW, Kim SH. Herbal medicine for insomnia in elderly with hypertension: A systematic review and meta-analysis. *Eur J Integr Med*. 2019 Sep 1;30:100961. <https://doi.org/10.1016/j.eujim.2019.100961>
13. Sham T-T, Yuen AC-Y, Ng Y-F, Chan C-O, Mok DK-W, Chan S-W. A Review of The Phytochemistry and Pharmacological Activities of Raphani Semen. Evidence-Based Complement Altern Med [Internet]. 2013;2013. <https://doi.org/10.1155/2013/636194>
14. Anggraini F, Satari MH, Mariam MS. Bacterial inhibition test of methanolic extracts of strawberry (*Fragaria x ananassa* Duchesne), lime (*Citrus aurantifolia*), and radish (*Raphanus sativus* L.), towards *Streptococcus Sanguis* ATCC 10556. *Padjadjaran J Dent*. 2018;30(2):98. <https://doi.org/10.24198/pjd.vol30no2.18325>
15. Cuzzola VF, Galuppo M, Iori R, De Nicola GR, Cassata G, Giacoppo S, et al. Beneficial Effects of (RS)-Glucoraphanin on The Tight Junction Dysfunction in A Mouse Model of Restraint Stress. *Life Sci*. 2013;93(7):288-305. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2013.07.003>
16. Zheng Y, Wu J, Feng X, Jia Y, Huang J, Hao Z, et al. In silico Analysis and Experimental Validation of Lignan Extracts from *Kadsura longipedunculata* for Potential 5-HT_{1A}R Agonists. 2015; <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0130055>
17. Mustarichie R, Saptarini NM, Megantara S. Molecule Attachment and Prediction of ADMET Compounds in *Cinnamomum burmannii* on Orexin Receptor as Anti-insomnia. 2022;14(3):576-83. <http://dx.doi.org/10.5530/pj.2022.14.74>
18. Nursamsiar N, Mangande MM, Awaluddin A, Nur S, Asnawi A. In Silico Study of Aglycon Curculigoside A and Its Derivatives as alpha-Amilase Inhibitors. *Indones J Pharm Sci Technol J*. 2020;7(1):29-37. <https://doi.org/10.24198/ijpst.v7i1.23062>

19. Mahmudah R, Adnyana I, Sukandar E. Molecular docking studies of α -mangostin, γ -mangostin, and xanthone on peroxisome proliferator-activated receptor gamma diphenyl peptidase-4 enzyme, and aldose reductase enzyme as an antidiabetic drug candidate. *J Adv Pharm Technol Res.* 2021;12(2):196–208. https://doi.org/10.4103%2Fjaptr.JAPTR_255_20
20. Singh A, Zhao K. Treatment of Insomnia With Traditional Chinese Herbal Medicine. *Int Rev Neurobiol.* 2017 Jan 1;135:97–115. <https://doi.org/10.1016/bs.irn.2017.02.006>
21. Siswandono., Soekardjo B. *Kimia Medisinal 2.* 2nd ed. Surabaya: Airlangga University Press; 2000. 236–237 p.
22. Al-Awthan YS, Rauf A, Rashid U, Bawazeer S, Naz S, Bahattab O, et al. Sedative-hypnotic effect and in silico study of dinaphthodiospyrrols isolated from *Diospyros lotus* Linn. *Biomed Pharmacother.* 2021 Aug 1;140:111745. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.111745>