

Molecular docking of the bioactive compound *Ocimum sanctum* as an inhibitor of Sap 1 *Candida albicans*

Gusnia Meilin Gholam¹

¹ Departemen Biokimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, IPB University, Bogor, 16680, Indonesia.

DOI: <https://doi.org/10.29303/sjp.v3i1.157>

Article Info

Received : 2022-03-15

Revised : 2022-04-05

Accepted : 2022-04-20

Abstract: *Candida albicans* (*C. albicans*) is the norm microbiota that lives in humans' oral cavity, digestive tract, and urinary tract. However, *C. albicans*, under certain circumstances can cause superficial infections of the mucosa such as oropharyngeal candidiasis (OPC) or vulvovaginal candidiasis (VVC) and even systemic infections. *Secreted aspartic proteinase* (Sap) 1 plays a role in the phenotype change of *C. albicans*. The study aimed to perform molecular docking using the bioactive compound *Ocimum sanctum* to inhibit Sap 1 *C. albicans*. Methods used include preparation of protein structures, ligands preparation, simulation of docking, and analysis and visualization. The results showed Apigenin had the highest binding energy of 7,792 kcal/mol and was followed by methyl eugenol ligand 5,361 kcal/mol, Citral 5,307 kcal/mol, Ursolic acid 4,967 kcal/mol, and Taxol 2,118 kcal/mol. Known interactions from the docking results showed that the four ligands hit the catalytic residue Asp32/Asp218, but only ursolic acid did not hit the catalytic residue. This study concludes that all ligands have binding energies that inhibit Sap 1, resulting in various interactions, amino acid residue contacts, and dissociation constants.

Keywords: *Candida albicans*, Molecular docking, Sap 1, *Ocimum sanctum*.

Citation: Gholam, G. M. (2022). Molecular docking of the bioactive compound *Ocimum sanctum* as an inhibitor of Sap 1 *Candida albicans*. *Sasambo Journal of Pharmacy*, 3(1), 18-24. <https://doi.org/10.29303/sjp.v3i1.157>

Pendahuluan

Candida albicans (*C. albicans*) merupakan mikrobiota normal pada manusia yang berada pada rongga mulut, saluran pencernaan, dan saluran *urinogenitary* hingga mencapai 70%. Namun, diketahui jika dalam kondisi tertentu jamur ini dapat menyebabkan infeksi superfisial pada mukosa seperti *oropharyngeal candidiasis* (OPC) atau *vulvovaginal candidiasis* (VVC) dan bahkan jika *C. albicans* dapat menembus aliran darah, akan dapat menyebabkan infeksi sistemik yang mengancam jiwa (Wächtler et al., 2012). *C. albicans* diketahui menghasilkan *secreted aspartic proteinase* (Sap), Sap pada *C. albicans* mempunyai keluarga gen yang terdiri dari Sap 1 hingga Sap 10. Sap terbukti secara *in vitro* mempunyai peran yang berbeda-beda. Borelli et al., (2008)

menyebutkan bahwa Sap 1 mempunyai peran yang signifikan dalam virulensi terhadap infeksi lokal dan sistemik oleh *C. albicans*. Sap 1 membantu dalam peralihan fenotip. Subfamili Sap1-3 diperkirakan memiliki fungsi yang sama pada permukaan *mucocutaneous* secara *in vivo*, sehingga dapat menggunakan substrat yang sama (Naglik et al., 2004). Selain itu, adanya Sap yang berbeda-beda, telah lama dikaitkan dengan virulensi dari *C. albicans* sejak ditemukan (Correia et al., 2010; Hube et al., 1997). Sap merupakan protein ekstraselular dari *Candida* dan juga salah satu faktor penting dalam virulensinya. Sap diketahui dapat menekan produksi protein hospes yang mempunyai peran dalam imunitas seperti albumin, hemoglobin, keratin dan sekresi IgA (Sjam, 2012). Tantangan saat ini, kurangnya vaksin antijamur dan terbatasnya jumlah zat antimikotik yang tersedia

Email: gusnia_26@apps.ipb.ac.id (*Corresponding Author)

yang dapat berkontribusi pada kesulitan dalam mengobati penyakit yang ditimbulkan oleh *C. albicans* (seperti kandidiasis sistemik) (Polke, et al, 2015).

Organisasi kesehatan dunia (WHO) melaporkan bahwa sekitar 4 miliar orang (80% dari populasi dunia) menggunakan obat-obatan herbal untuk beberapa aspek perawatan kesehatan mereka. Obat herbal telah diakui WHO sebagai komponen penting dalam perawatan kesehatan dan sekitar 11% dari 252 obat berasal dari tanaman. Tanaman obat diketahui memiliki peran dalam farmakologi seperti antioksidan, antivirus, antikanker, antimikroba, antijamur, dan antiparasit (Shakya, 2016). Tanaman obat merupakan sumber yang kaya akan metabolit sekunder yang secara kimiawi dan taksonomi sangat beragam fungsinya (Borah & Biswas, 2018; Shakya, 2016).

Ocimum sanctum L. atau lebih dikenal sebagai kemangi (Tulsi) merupakan tanaman herbal dan dianggap sebagai salah satu sumber obat dan mempunyai banyak metabolit sekunder dan minyak atsiri yang direkomendasikan untuk pengobatan malaria, diare, bronkitis, pen yakit kulit, radang sendi, sakit mata, demam kronis. Selain itu, *Ocimum sanctum* juga menunjukkan efek sebagai antikanker, antijamur, antimikroba, antifertilitas, hepatoprotektif, pelindung jantung, antiemetik, antidiabetik, dan analgesik (Borah & Biswas, 2018). **Tabel 1** menunjukkan senyawa bioaktif pilihan yang mempunyai sifat sebagai antidiabetik, antibakterial, antijamur, antipiretik dan antikanker (Shakya, 2016).

Era teknologi, rancangan kandidat obat dapat dibantu dengan alat bioinformatika dan terbukti sangat inovatif yang mempunyai kemungkinan hasil mendekati akurat dan dapat menekan biaya menjadi lebih hemat, serta mempunyai efisiensi waktu yang cukup lebih cepat. Penambatan molekuler merupakan salah satu teknik dalam bioinformatika untuk menganalisis adanya kemungkinan terbentuk ikatan molekul ligan dengan reseptor secara spesifik (Tumilaar, Siampa, & Tallei, 2021).

Berdasarkan penjelasan diatas, penelitian ini bertujuan melakukan penambatan molekuler menggunakan senyawa bioaktif *Ocimum sanctum* untuk menghambat Sap 1 *C. albicans*.

Metode

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah laptop HP 250 G5 Notebook PC dengan sistem operasi Windows 10 Professional 64-bit dan spesifikasi prosessor Intel ® Core TM i3-6006U. Dilengkapi dengan 4,00 GB RAM. Perangkat lunak yang diunakan yaitu YASARA Structure dan BIOVIA Discovery studio.

Bahan yang digunakan adalah Reseptor Sap 1 *Candida albicans* yang diunduh dalam format file (.pdb)

dari PDB (<https://www.rcsb.org/>). Ligan yang digunakan yaitu Apigenin, Taxol, Ursolic acid, Citral, dan Methyl eugenol (Tabel 1).

Preparasi struktur protein

Struktur tiga dimensi (3D) Sap 1 diunduh dari PDB (<https://www.rcsb.org/>) (S. K. Pandey et al., 2019), dengan kode PDB ID "2QZW" dan dipreparasi menggunakan YASARA structure dengan menghilangkan molekul air, penambahan atom hidrogen (Gonzalez, Rae, Colacino, & Richardson, 2019; Borelli et al., 2008). Penelitian ini menggunakan Chain A Sap 1.

Preparasi Ligan

Struktur tiga dimensi (3D) diambil dari PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) (Tabel 1) (S. K. Pandey et al., 2019). Preparasi ligan dan minimalisasi energi menggunakan prosedur pada YASARA structure. Ligan disimpan dalam format *_ligand.sdf (* mempresentasikan harus memiliki nama atau angka yang sama dengan file *_receptor.sce) (Gao et al., 2021).

Simulasi Penambatan

Penambatan dilakukan menggunakan VINA yang terletak pada Play macro YASARA structure (Valmas, Dedes, & Dimarogona, 2020; Venkatachalam & Ettrich, 2021). Untuk simulasi penambatan, residu katalitik Sap 1 digunakan untuk mengatur area target penambatan. Pertama, *cube simulation cell* diatur dalam Extend 5 A pada area residu katalitik Asp32 dan Asp218, kemudian dapat disimpan dalam *_receptor.sce dalam file YASARA structure. Kedua, *play macro* yang digunakan adalah dock_run dengan pengaturan 25 runs dan metode VINA pada YASARA structure (Cortés-Benítez, Roy, Perreault, Maltais, & Poirier, 2021; Gao et al., 2021; Valmas et al., 2020). Hasil penambatan secara otomatis berupa energi ikatan (kcal/mol), konstanta disosiasi (pM) dan kontak residu asam amino (Srivastava, et al, 2018).

Analisis dan Visualisasi

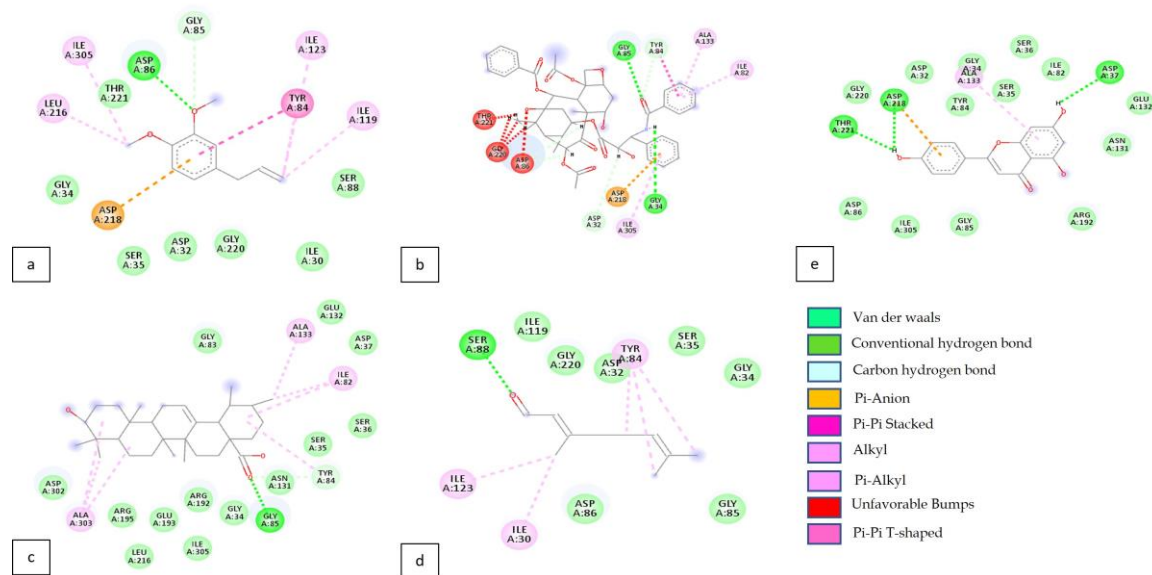
BIOVIA Discovery Studio digunakan untuk melihat kompleks ligan dengan protein agar terlihat tipe ikatan dari hasil penambatan (Raj, Lee, et al, 2022).

Tabel 1. Komponen bioaktif *Ocimum sanctum* (A. K. Pandey, Singh, & Tripathi, 2014; Shakya, 2016)

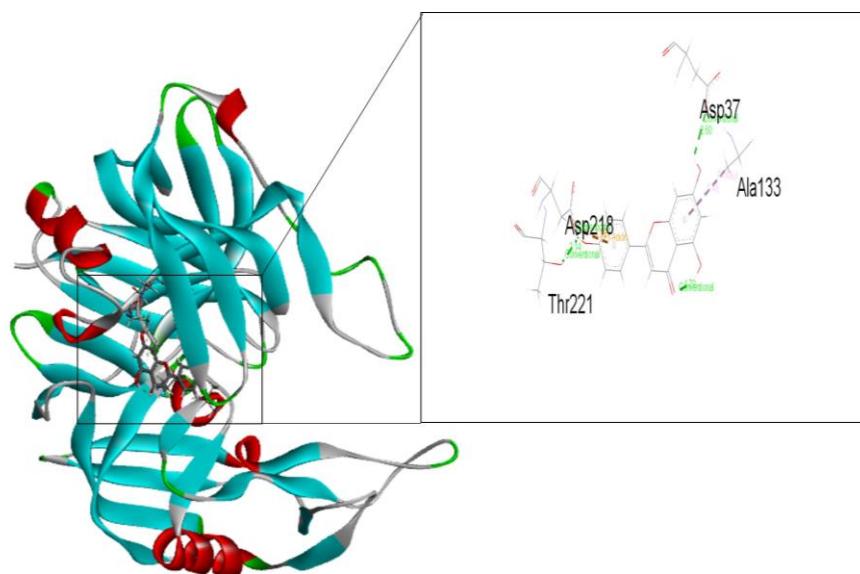
cid	ligan
5280443	Apigenin
36314	Taxol
64945	Ursolic acid
638011	Citral
7127	Methyl eugenol

Tabel 2. Hasil penambatan molekuler

Ligan	Energi ikatan (kkal/mol)	Konstanta diosisasi (pM)	Kontak residu asam amino dari YASARA structure	Tipe-tipe ikatan
Apigenin	7.792	194,262 x 10 ⁻⁴	Asp32 Gly34 Ser35 Ser36 Asp37 Ile82 Tyr84 Gly85 Asp86 Asn131 Glu132 Ala133 Arg192 Asp218 Gly220 Thr221 Ile305	Gambar 1e
Methyl eugenol	5.361	117,580 x 10 ⁻⁶	Ile30 Asp32 Gly34 Ser35 Tyr84 Gly85 Asp86 Ser88 Ile119 Ile123 Leu216 Asp218 Gly220 Thr221 Ile305	Gambar 1a
Citral	5.307	128,800 x 10 ⁻⁶	Ile30 Asp32 Gly34 Ser35 Tyr84 Gly85 Asp86 Ser88 Ile119 Ile123 Gly220	Gambar 1d
Ursolic acid	4.967	228,633 x 10 ⁻⁶	Gly34 Ser35 Ser36 Asp37 Ile82 Gly83 Tyr84 Gly85 Asn131 Glu132 Ala133 Arg192 Glu193 Arg195 Leu216 Asp302 Ala303 Ile305	Gambar 1c
Taxol	2.118	280,211 x 10 ⁻⁸	Val12 Ser13 Ile30 Asp32 Gly34 Ser35 Ser36 Asp37 Ile82 Gly83 Tyr84 Gly85 Asp86 Ser88 Ile 119 Pro120 Gln121 Ile123 Asn131 Glu132 Ala133 Glu193 Arg195 Leu216 Asp218 Gly220 Thr221 Thr222 Ile223 Tyr225 Ser301 Ala303 Ile305	Gambar 1b



Gambar 1. (a) Visualisasi 2D ligan Methyl eugenol terhadap Sap 1. (b) Visualisasi 2D ligan Taxol terhadap Sap 1. (c) Visualisasi 2D ligan Ursolic acid terhadap Sap 1. (d) Visualisasi 2D ligan Citral terhadap Sap 1. (e) Visualisasi 2D ligan Apigenin terhadap Sap 1.



Gambar 2. Visualisasi 3D kompleks Apigenin dengan Sap 1 *Candida albicans*

Hasil dan Pembahasan

Penelitian ini menggunakan YASARA *structure* untuk penambatan molekuler lima senyawa bioaktif pilihan dari *Ocimum sanctum* antara lain Apigenin, Taxol, Ursolic acid, Citral dan Methyl eugenol dalam menghambat target reseptor yaitu Sap 1 *C. albicans*. File dalam bentuk *receptor* dan *ligand* digunakan untuk *set target* dan *play macro*. File *play macro* yang digunakan dalam membantu penambatan yaitu *dockrun_mcr* dan digunakan untuk menghitung interaksi antara reseptor dan ligan secara individu. Hasil dari penambatan menggunakan YASARA *structure* meliputi energi ikatan (kkal/mol), konstanta disosiasi (pM), dan kontak residu asam amino (Srivastava et al., 2018).

Tabel 2 menunjukkan hasil penambatan molekuler. Energi ikatan paling positif yaitu Apigenin (7.792 kkal/mol) dan berturut-turut Methyl eugenol (5.361 kkal/mol), Citral (5.307 kkal/mol), Ursolic acid (4.967 kkal/mol), dan Taxol (2.118 kkal/mol). Semakin positif energi ikatan, maka suatu senyawa mempunyai interaksi yang kuat dengan reseptor, sebaliknya apabila suatu senyawa mempunyai energi ikatan yang menunjukkan nilai negatif, maka senyawa tersebut tidak mengikat dengan baik pada reseptor target (Ali, Salleh, Leow, Rahman, & Ali, 2020; Srivastava et al., 2018).

Sap 1 mempunyai residu katalitik pada residu asam amino Asp32 dan Asp218 (Borelli et al., 2008). Dari hasil penambatan, terlihat bahwa Apigenin, Methyl eugenol dan Taxol mengenai kedua residu katalitik Asp32 dan Asp218, serta beberapa residu asam

amino lainnya. Citral hanya mengenai satu residu katalitik pada Asp32, sedangkan Ursolic acid tidak memiliki kontak residu katalitik. Dalam penelitian oleh Borelli et al., (2008) memberikan daftar beberapa kantong pengikat substrat, sehingga hasil dari penelitian ini dapat merujuk pada penelitiannya untuk membantu mengidentifikasi ligan-ligan yang mempunyai interaksi dengan kantong pengikat substrat.

Setiap ligan membentuk ikatan van der waals pada beberapa residu asam amino, Apigenin terletak pada residu asam amino Asp32, Gly34, Ser35, Ser36, Ile82, Gly85, Glu132, Asn131, Asp86, Arg192, Gly220, Ile305. Methyl eugenol terletak pada residu asam amino Ile30, Asp32, Gly34, Ser35, Gly85, Gly220, Thr221. Citral terletak pada residu asam amino Asp32, Gly34, Ser35, Gly85, Asp86, Ile119, Gly220. Ursolic acid terletak pada residu asam amino Gly34, Ser35, Ser36, Asp37, Gly83, Glu132, Asn131, Arg192, Glu193, Arg195, Leu216, Asp302. Hanya Taxol yang tidak membentuk van der waals. Van der waals berperan dalam menstabilkan ikatan reseptor-ligan melalui interaksi dipol-dipol seperti pi-pi, pi-cation dan atau pi-sigma (Hariono & Rollando, 2016).

Ikatan hidrogen terbentuk disetiap ligan dengan detail residu asam amino yaitu Apigenin pada residu asam amino Asp37, Asp218, dan Thr221. Methyl eugenol pada residu asam amino Gly85 dan Asp86. Citral pada residu asam amino Ser88. Ursolic acid pada residu asam amino Gly85 dan Taxol pada residu asam amino Asp32, Gly34, Tyr84, Gly85. Adanya ikatan hidrogen berperan dalam molekul obat, yang mana

dapat mempertahankan kompleks molekul, sehingga hal ini memicu adanya pembentukan respons biologis terhadap target protein (Kharisma, Ansori, Widyananda, Utami, & Nugraha, 2020). Penelitian yang dilakukan oleh Borelli et al., (2008) menunjukkan jenis ikatan yang diharapkan terbentuk oleh adanya kandidat inhibitor bagi Sap yaitu ikatan hidrogen dan interaksi hidrofobik. Terlihat melalui visualisasi 2D bahwa seluruh ligan uji mempunyai kedua interaksi tersebut. Keseluruhan tipe interaksi dan kontak residu asam amino yang terbentuk dapat dilihat secara detail melalui visualisasi 2D pada **Tabel 2** dan **Gambar 1**. Ikatan hidrogen dan interaksi hidrofobik mempunyai peran yang penting dalam membantu mengaktifkan respons biomolekul seperti protein (Kharisma, Ansori, Widyananda, Utami, & Nugraha, 2020). Sap 1 mempunyai asam amino yang bersifat asam dan asam amino yang bersifat basa pada residu asam amino Asp37, Asp86, Glu193, dan Arg195 pada Sap 1 (Borelli et al., 2008). Setiap ligan uji dalam penelitian ini setidaknya mempunyai kontak dengan salah satu residu asam amino tersebut. Adanya kontak pada residu asam amino aktif pada Sap 1 dapat menandakan adanya aktivitas terhadap target molekul. S. K. Pandey et al., (2019) menjelaskan bahwa terbentuknya pengikatan ligan ke situs aktif target juga menunjukkan adanya kemungkinan bahwa ligan mampu mengantarkan modulasi fungsional dalam molekul target. Teori ini juga terbukti diamati pada penelitian lain, yang mana menunjukkan bahwa ligan dan pengikatannya ke dalam situs aktif dapat menyebabkan perubahan fungsional molekul target (S. K. Pandey et al., 2019).

Gambar 2 menunjukkan kompleks ligan-reseptor dari ligan uji Apigenin terhadap Sap 1 dengan mengenai beberapa residu asam amino Sap 1 dengan ikatan hidrogen dan interaksi hidrofobik. Ligan uji Apigenin mempunyai energi ikatan yang paling tinggi dibanding ligan uji lainnya.

Berdasarkan **Gambar 1**, terlihat bahwa ligan Taxol membentuk tipe ikatan *Unfavorable* dengan residu asam amino Asp 86, Gly220, dan Thr 221 pada Sap 1 setelah simulasi penambatan. Adanya tipe ikatan ini dapat mempengaruhi kestabilan aktivitas obat. Terbentuknya semua jenis dari ikatan *Unfavorable* antara/dalam kompleks ligan-protein dapat mengurangi stabilitas kompleks karena jenis ikatan ini diketahui menunjukkan adanya gaya tolak-menolak yang terjadi antara 2 molekul dan atom (Dhorajiwala et al., 2019). Maka dari itu, ligan uji Taxol mungkin kurang stabil terhadap aktivitasnya terhadap penghambatan Sap 1.

Kesimpulan

Ligan Apigenin mempunyai energi ikatan paling tinggi yaitu 7.792 kkal/mol dan disusul ligan Methyl eugenol 5.361 kkal/mol, Citral 5.307 kkal/mol, Ursolic acid 4.967 kkal/mol, dan Taxol 2.118 kkal/mol. Semua ligan mempunyai energi ikatan yang menghambat Sap 1, menghasilkan berbagai tipe interaksi, kontak residu asam amino dan konstanta disosiasi. Terdapat sembilan tipe interaksi yang terbentuk dari hasil penambatan (Gambar 1). Seluruh ligan dapat dianalisis lebih lanjut efek dalam tubuh secara *In silico* dan dapat dilanjutkan secara *In vitro* pada ligan yang mempunyai energi ikatan paling positif dari senyawa bioaktif *Ocimum sanctum* yang mampu menghambat Sap 1 *C. albicans*. Keempat ligan mengenai residu katalitik Sap 1, hanya satu ligan yang tidak mengenai residu katalitik yaitu Ursolic acid.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Prof. Dr. Ir. I Made Artika, M.App.Sc dan Departemen Biokimia, IPB University atas akses YASARA *structure*.

Daftar Pustaka

- Ali, N. S. M., Salleh, A. B., Leow, T. C., Rahman, R. N. Z. R. A., & Ali, M. S. M. (2020). The Influence of Calcium toward Order/Disorder Conformation of Repeat-in-Toxin (RTX) Structure of Family I.3 Lipase from *Pseudomonas fluorescens* AMS8. *Toxins*, 12(579), 1-14. <https://doi.org/10.3390/toxins12090579>
- Borah, R., & Biswas, S. P. (2018). Tulsi (*Ocimum sanctum*), excellent source of phytochemicals. *International Journal of Environment, Agriculture and Biotechnology*, 3(5), 1732-1738.
- Borelli, C., Ruge, E., Jung, H. L., Schaller, M., Vogelsang, A., Monod, M., ... Maskos, K. (2008). X-ray structures of Sap1 and Sap5: Structural comparison of the secreted aspartic proteinases from *Candida albicans*. *Proteins: Structure, Function and Genetics*, 72(4), 1308-1319. <https://doi.org/10.1002/prot.22021>
- Correia, A., Lermann, U., Teixeira, L., Cerca, F., Botelho, S., Gil Da Costa, R. M., ... Pais, C. (2010). Limited role of secreted aspartyl proteinases Sap1 to Sap6 in *Candida albicans* virulence and host immune response in murine hematogenously disseminated candidiasis. *Infection and Immunity*, 78(11), 4839-4849.

<https://doi.org/10.1128/IAI.00248-10>

- Cortés-Benítez, F., Roy, J., Perreault, M., Maltais, R., & Poirier, D. (2021). 16-Picolyl-androsterone derivative exhibits potent 17 β -HSD3 inhibitory activity, improved metabolic stability and cytotoxic effect on various cancer cells: Synthesis, homology modeling and docking studies. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 210(October 2020), 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2021.105846>
- Dhorajiwala, TM., Halder, ST., Samant, L. (2019). Comparative *in silico* molecular docking analysis of L-Threonine-3-Dehydrogenase, a protein target against african trypanosomiasis using selected phytochemicals. *J App Biotechnol*, 6(3), 101-108. doi:10.29252/JABR.06.03.04
- Gao, M., Nie, K., Qin, M., Xu, H., Wang, F., & Liu, L. (2021). Molecular mechanism study on stereoselectivity of α or β hydroxysteroid dehydrogenases. *Crystals*, 11(3), 1–25. <https://doi.org/10.3390/cryst11030224>
- Gonzalez, T. L., Rae, J. M., Colacino, J. A., & Richardson, R. J. (2019). Homology models of mouse and rat estrogen receptor- α ligand-binding domain created by *in silico* mutagenesis of a human template: Molecular docking with 17 β -estradiol, diethylstilbestrol, and paraben analogs. *Computational Toxicology*, 10(October 2018), 1–16. <https://doi.org/10.1016/j.comtox.2018.11.003>
- Hariono, M., & Rollando. (2016). Molecular docking of compounds from *Chaetomium* sp. against human estrogen receptor alpha in searching anti breast cancer. *Jurnal Farmasi Sains dan Komunitas*, 13(1), 35–43.
- Hube, B., Sanglard, D., Odds, F. C., Hess, D., Monod, M., Schäfer, W., ... Gow, N. A. R. (1997). Disruption of each of the secreted aspartyl proteinase genes SAP1, SAP2, and SAP3 of *Candida albicans* attenuates virulence. *Infection and Immunity*, 65(9), 3529–3538. <https://doi.org/10.1128/iai.65.9.3529-3538.1997>
- Kharisma, V. D., Ansori, A. N. M., Widyananda, M. H., Utami, S. L., & Nugraha, A. P. (2020). Molecular simulation: The potency of conserved region on E6 HPV-16 as a binding target of black tea compounds against cervical cancer. *Biochemical and Cellular Archives*, 20(August), 2795–2802. <https://doi.org/10.35124/bca.2020.20.S1.2795>
- Naglik, J., Albrecht, A., Bader, O., & Hube, B. (2004). *Candida albicans* proteinases and host/pathogen interactions. *Cellular Microbiology*, 6(10), 915–926. doi:10.1111/j.1462-5822.2004.00439.x
- Pandey, A. K., Singh, P., & Tripathi, N. N. (2014). Chemistry and bioactivities of essential oils of some *Ocimum* species: An overview. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 4(9), 682–694. <https://doi.org/10.12980/APJTB.4.2014C77>
- Pandey, S. K., Yadav, S., Goel, Y., Temre, M. K., Singh, V. K., & Singh, S. M. (2019). Molecular docking of anti-inflammatory drug diclofenac with metabolic targets: Potential applications in cancer therapeutics. *Journal of Theoretical Biology*, 465, 117–125. <https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2019.01.020>
- Polke, M., Hube, B., & Jacobsen, I. D. (2015). *Candida* survival strategies. In *Advances in Applied Microbiology* (Vol. 91). <https://doi.org/10.1016/bs.aambs.2014.12.002>.
- Raj, V., Lee, J.-H., Shim, J.-J., & Lee, J. (2022). Antiviral activities of 4H-chromen-4-one scaffold-containing flavonoids against SARS-CoV-2 using computational and *in vitro* approaches. In *Journal of Molecular Liquids* (Vol. 353). <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2022.118775>
- Shakya, A. K. (2016). Medicinal plants: Future source of new drugs. *International Journal of Herbal Medicine*, 4(4), 59–64. <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.1395.6085>
- Sjam, K. R. (2012). Kolonisasi *Candida* dalam Rongga Mulut. *Majalah Kedokteran FK UKI*, 28(1), 39–47.
- Srivastava, S., Shree, P., Pandey, H., & Tripathi, Y. B. (2018). Incretin hormones receptor signaling plays the key role in antidiabetic potential of PTY-2 against STZ-induced pancreatitis. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 97(July 2017), 330–338. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.10.071>
- Tumilaar, S. G., Siampa, J. P., & Tallei, T. E. (2021). Penambatan Molekuler Senyawa Bioaktif dari Ekstrak Etanol Daun Pangi (*Pangium edule*) Terhadap Reseptor Protease HIV-1. *Jurnal Ilmiah Sains*, 21(1), 6–16. <https://doi.org/10.35799/jis.21.1.2021.30282>
- Valmas, A., Dedes, G., & Dimarogona, M. (2020). Structural Studies of a Fungal Polyphenol Oxidase with Application to Bioremediation of

Contaminated Water. *Proceedings*, 66(1), 10.
<https://doi.org/10.3390/proceedings2020066010>

Venkatachalam, K. V., & Ettrich, R. H. (2021). Role of aspartic acid residues D87 and D89 in APS kinase domain of human 3'-phosphoadenosine 5'-phosphosulfate synthase 1 and 2b: A commonality with phosphatases/kinases. *Biochemistry and Biophysics Reports*, 28, 101155.
<https://doi.org/10.1016/j.bbrep.2021.101155>

Wächtler, B., Citiulo, F., Jablonowski, N., Förster, S., Dalle, F., Schaller, M., ... Hube, B. (2012). *Candida albicans*-epithelial interactions: Dissecting the roles of active penetration, induced endocytosis and host factors on the infection process. *PLoS ONE*, 7(5).
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0036952>