

STUDI IN SILICO PREDIKSI TOKSISITAS DAN AKTIFITAS SENYAWA XANTHOANGELOL SEBAGAI INHIBISI ENZYM TIROSINASE

Agung Dewantoro^{1*} Anjas Wilapangga²

¹STIKes Widya Dharma Husada Tangerang, Kota Tangerang Selatan, 15417, Indonesia

²Doctoral Program of Pharmaceutical Sciences, Faculty of Pharmacy Universitas Pancasila, Jakarta 12640, Indonesia

ARTICLE INFORMATION	ABSTRACT
<p><i>*Corresponding Author</i> Agung Dewantoro Dewantoro89@gmail.com</p>	<p><i>The tyrosinase enzyme plays an important role in the synthesis of melanin, which caused the process of skin hyperpigmentation. One of the main chemical constituent in the Ashitaba plant is Xanthoangelol which has antioxidant properties. The antioxidant activity of Xanthoangelol compound is also thought to have the activity of inhibiting the tyrosinase enzyme. In silico test is a method in the development of new drugs. The in silico method provides an evaluation of the potential pharmacologic activities of chemical compound by docking using the Molegro Virtual Docker computer program. The receptor used uses Protein Tyrosinase PDB Code 3NQ1 with KOJ_B_1351 Ligand. Xanthoangelol and Kojic Acid toxicity prediction was carried out using the pkCSM online tool program. Data analysis was performed by comparing the bond energies of the docking results between Xanthoangelol, Kojic Acid, and Ligands at the target receptors. The in silico test results showed that the bond energy of Xanthoangelol was -96.1232 kcal/mol, Kojic Acid -43.6097 kcal/mol, and Ligand KOJ_B_1351 -48.2213 kcal/mol. The in silico test results using the Mollegro program and the pkCSM online tool show that the Xanthoangelol compound has the potential to inhibit the tyrosinase enzyme and has relatively low toxicity, so it can be used as a candidate as a face lightening agent.</i></p>
<p>Keywords: Ashitaba; Xanthoangelol; pkCSM; Molegro Virtual Docking; Tyrosinase; 3NQ1</p>	
<p>Kata Kunci : Ashitaba; Xanthoangelol; pkCSM; Molegro Virtual Docking; Tirosinase; 3NQ1</p>	<p>Enzim tirosinase berperan penting pada sintesis melanin.yang berperan pada proses hiperpigmentasi kulit., Salah satu kandungan utama Pada tanaman Ashitaba ialah Xanthoangelol yang mempunyai sifat Antioksidan. Aktifitas Antioksidan pada senyawa Xanthoangelol ini diperkirakan juga memiliki aktifitas menghinibisi enzyme tirosinase. Uji <i>in silico</i> merupakan metode dalam pengembangan obat baru. Metode <i>in silico</i> memberikan evaluasi terhadap potensi aktifitas farmakologis suatu senyawa obat dengan melakukan <i>docking</i> menggunakan program komputer <i>Molegro Virtual Docker</i>. Reseptor yang digunakan menggunakan Protein Tirosinase Kode PDB 3NQ1 dengan Ligan KOJ_B_1351. Prediksi toksisitas Xanthoangelol dan Asam Kojic dilakukan menggunakan program pkCSM online tool. Analisis data dilakukan dengan membandingkan energi ikatan hasil docking antara Xanthoangelol, Asam Kojic, dan Ligan pada reseptor target. Hasil uji <i>in silico</i> menunjukkan bahwa energi ikatan Xanthoangelo -96.1232 kkal/mol, Asam Kojic -43.6097 kkal/mol, dan Ligan KOJ_B_1351 -48.2213 kkal/mol. Hasil uji <i>in silico</i> menggunakan program mollegro dan pkCSM online tool menunjukkan bahwa senyawa Xanthoangelol mempunyai potensi untuk menghinibisi enzim tirosinase dan memiliki toksisitas yang relatif rendah, sehingga dapat dijadikan kandidat sebagai Bahan pencerah wajah.</p>

PENDAHULUAN

Melasma adalah kelainan kulit yang ditandai dengan hiperpigmentasi pada area kulit yang terpapar sinar matahari, terutama wajah. Melasma termasuk dalam kategori kelainan kulit yang dialami di beberapa negara dengan paparan sinar matahari yang intens seperti Indonesia. Enzim yang berperan dalam hiperpigmentasi adalah tirosinase. Enzim tirosinase merupakan metaloenzim yang mengikat atom Cu dan berperan merubah tirosin menjadi L-DOPA yang akhirnya menjadi melanin. (Syahputra et al, 2022. Rendon et al, 2006). Pencegahan sintesis melanin yang berlebihan dapat dilakukan dengan cara meregulasi tirosinase. Pencegahan melasma banyak dilakukan melalui penggunaan kosmetik yang ditambahkan dengan inhibitor tirosinase. Senyawa yang biasa digunakan sebagai inhibitor tirosinase adalah asam kojat, merkuri, arbutin, dan asam askorbat, akan tetapi senyawa-senyawa tersebut karsinogen (Syahputra et al, 2022. Gupta et al, 2006). Berdasarkan hal itu, maka dibutuhkan eksplorasi bahan alam yang digunakan sebagai inhibitor enzim tirosinase, salah satunya adalah Ashitaba (*Angelika Keiskei Koidzumi*) (Kil et al, 2017).

Chalcones terdiri dari berbagai macam senyawa yang umumnya terdapat pada tanaman Ashitaba. Secara struktural, senyawa dengan struktur 4-hidroksikalkon

dianggap memiliki potensi sebagai inhibitor pada enzim tirosinase karena kesamaan struktural antara 4-hidroksikalkon dan enzim tirosin. Salah satu senyawa chalcone yang terdapat pada tanaman ashitaba (*Angelika Keiskei Koidzumi*) adalah Xanthoangelol. Dalam pengembangan obat baru yang berasal dari alam, secara konvensional yang biasa dilakukan adalah isolasi senyawa yang diduga mempunyai aktivitas dan kemudian diuji dengan enzim yang sesuai dengan aktivitasnya sampai ditemukan senyawa yang sangat potensial (Xiao et al, 2022. Kusumawardhany et al, 2021. Zain et al, 2020).

Pada penelitian terdahulu diketahui senyawa Xanthoangelol yang terkandung dalam tanaman ashitaba memiliki aktifitas anti Oksidan yang sangat poten. sehingga dengan adanya aktifitas anti oksidan yang dimiliki oleh senyawa xanthoangelol maka senyawa xanthoangelol diprediksi juga dapat memberikan aktifitas menghambat enzim tirosinase yang berperan penting dalam terjadinya proses hiperpigmentasi pada kulit (Sugii et al, 2005. Kostopoulou et al, 2018).

Kimia komputasi medisinal dapat menggambarkan senyawa secara tiga dimensi (3D) dan dilakukan komparasi atas dasar kemiripan dan energi dengan senyawa lain yang sudah diketahui

aktivitasnya (*pharmacophore query*) (Aulifa et al, 2022). Berbagai senyawa turunan dan analog dapat “disintesis” secara *in silico* atau yang sering diberi istilah senyawa hipotetik. Aplikasi komputer melakukan kajian interaksi antara senyawa hipotetik dengan reseptor yang telah diketahui data struktur 3D secara *in silico*. Kajian ini dapat memprediksi aktivitas senyawa- senyawa hipotesis dan sekaligus dapat mengeliminasi senyawa-senyawa yang memiliki aktivitas rendah (Sibarani et al)

Docking molecular secara *in silico* digunakan untuk mengetahui potensi aktivitas farmakologis suatu senyawa dengan bantuan komputer. Interaksi reseptor dan ligan dapat diprediksi menggunakan visualisasi tiga dimensi. sehingga pengembangan obat baru dapat lebih efektif dan efisien. Dengan uji *in silico* ini juga dapat mengurangi faktor coba-coba karena senyawa tidak harus disintesis atau tersedia terlebih dahulu (Enade,2023).

TUJUAN PENELITIAN

Untuk memperkirakan aktifitas farmakologi senyawa xanthoangelol dalam menghambat enzim tirosinase dan toksisitasnya terhadap reseptor dilakukan studi *in silico* menggunakan aplikasi *online* pkCSM dan Molegro Virtual Docker (MVD) dengan protein berkode PDB 3NQ1

dan Sebagai ligan pembandingnya adalah Kojic Acid (Pires et al, 2015).

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu Laptop VivoBook_ASUSLaptop X412FA dengan spesifikasi Windows 10 dengan 64-bit operating system, x64-based processor (Intel(R) Pentium(R) CPU 5405U @ 2.30GHz (4 CPUs), ~2.3GHz), software Chemoffice dan Program Docking yang digunakan adalah Molegro Virtual Docker. Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah struktur kristal *Tyrosinase from Bacillus megaterium in complex with inhibitor kojic acid* (PDB Kode 3NQ1) kode didapatkan dari hasil pencarian di website Bank Data Protein. Struktur Xhantoangelol dalam bentuk 3D diperoleh dari website *National Library of Medicine*.

PREPARASI STRUKTUR PROTEIN DAN LIGAN

Data struktur 3D kristal reseptor yang digunakan untuk analisis molekuler docking diperoleh dari situs protein data bank (PDB). Pada penelitian ini Yang digunakan adalah struktur kristal tyrosinase dari *Bacillus megaterium in complex dengan inhibitor kojic acid* pada sisi aktif protein (Mardianingrum et al, 2022). Reseptor berupa makromolekul dipisahkan

dari molekul lain seperti molekul air dan ligan alaminya. Kandungan utama pada tanaman Ashitaba yaitu senyawa Xhantoangelol, Kemudian senyawa Xhantoangelol dilanjutkan ke proses penggambaran struktur menggunakan aplikasi Chemdraw 20.0 yang dilanjutkan dengan bentuk 3D menggunakan aplikasi Chem 3D, Dalam bentuk isomer kandungan senyawa Xhantoangelol yaitu (E)-1-[3-[(2E)-3,7-dimethylocta-2,6-dienyl]-2,4-dihydroxyphenyl]-3-(4-hydroxyphenyl)prop-2-en-1-one, Kemudian dilakukan optimalisasi menggunakan Tools MMFF94 Pada Chem 3D. diperoleh energy sebesar 75.3448 kcal/mol (Hariyanti et al, 2020. Puspaningtyas et al, 2013).

Prediksi Toksisitas menggunakan pkCSM online.

Untuk memprediksi toksisitas Xanthoangelol dapat digunakan aplikasi pkCSM *online*. Program ini dapat memprediksi parameter farmakokinetika dan toksisitas. Struktur Xanthoangelol dalam format SDF diubah ke dalam file SMILES menggunakan SMILES *translator*, selanjutnya diprediksi menggunakan aplikasi pkCSM (Pires et al. Lohohola et al, 2021)

DOCKING DAN ANALISIS ASAM AMINO.

Docking dan analisis asam amino dapat dilakukan menggunakan program

Molegro Virtual Docker, dan semua tahapan menggunakan bentuk gambaran 3D. Ada beberapa langkah proses docking, yaitu: a) Mengunduh reseptor dari situs Protein Data Bank. Reseptor yang diunduh harus mengandung ligan. b) Menambahkan atom H pada reseptor (karena reseptor yang diunduh dihilangkan) dan memperbaiki protein reseptor yang diunduh, apabila ada kesalahan/kekurangan asam-asam amino yang ada. Tahap ini biasanya dilakukan secara otomatis oleh program komputer. c) Deteksi posisi pada reseptor, tempat obat akan terikat (berinteraksi). Tempat tersebut berupa lubang-lubang (*cavities*) pada struktur reseptor. d) Meletakkan struktur 3D senyawa ke dalam lubang terpilih. Ada beberapa cara untuk meletakkan struktur senyawa dalam lubang, dalam program Molegro Virtual Docker dilakukan dengan cara “align” yaitu menempelkan tiga atom senyawa ke tiga atom yang sama pada ligan yang ada pada reseptor. Atom yang terpilih umumnya adalah atom-atom pada gugus farmakofor. e) Melihat gambaran (*view*) posisi senyawa dalam lubang reseptor (*cavities*). Ada beberapa gambaran untuk melihat lingkungan senyawa, antara lain: gambaran hidrofobik, itu untuk melihat lingkungan hidrofobik senyawa, gambaran elektronik, untuk melihat lingkungan elektronik senyawa, dan gambaran ikatan H senyawa dan reseptor. Asam-asam amino yang terlibat pada proses interaksi obat-

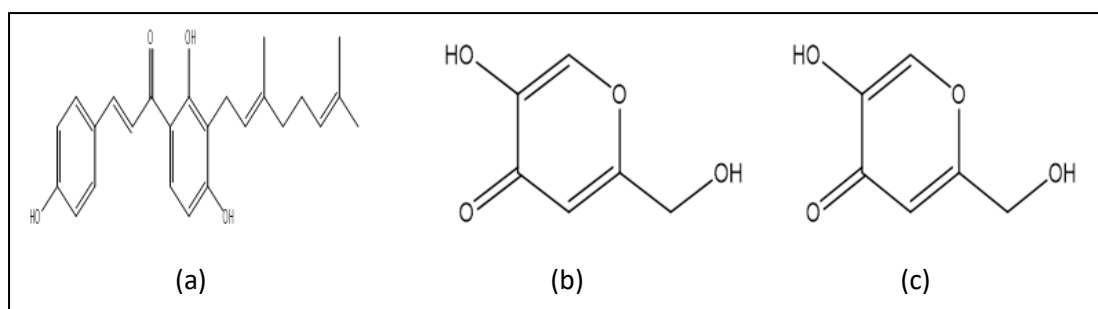
reseptor dan gugus-gugus farmakofor dapat dilihat dari gambaran ikatan H senyawa dan reseptor.f) Melakukan docking senyawa pada reseptor, yang dilakukan secara otomatis dengan program Molegro Virtual Docker. Hal yang perlu diperhatikan dalam proses ini adalah pemilihan senyawa yang didocking dan *cavity* tempat obat akan berinteraksi (Ahmad et al, 2014). Parameter

yang diukur dalam proses docking adalah nilai energi yang terlibat, berupa *MolDock Score*, *Rerank Score*, dan *Hbond*, serta nilai RMSD (*Root Mean Square Deviation*). Untuk mengukur kekuatan ikatan obat-reseptor, parameter yang sering digunakan adalah nilai *Rerank Score* (Priani et al, 2021).

HASIL

Pembuatan Struktur menggunakan Aplikasi ChemDraw ditunjukkan pada gambar 1. Setelah pembuatan struktur dalam format

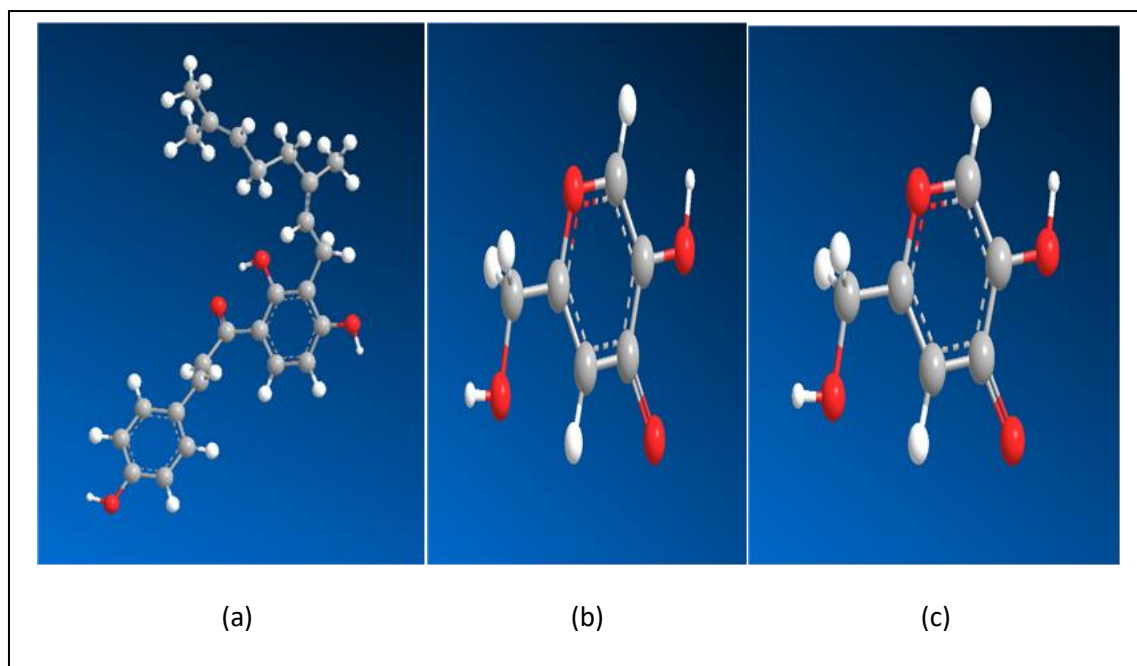
2D dilanjutkan dan di kopi dalam bentuk 3D ChemDraw dan dilanjutkan untuk proses Doking ditunjukkan dalam Gambar 1



Gambar 1. Struktur 2D Xanthoangelol (a); Asam Kojic (b); Ligan KOJ_B_1351

Dari struktur 2 D tersebut digunakan untuk membuat struktur 3D dan penentuan energi minimal dengan menggunakan program Chemdraw karena pada semua tahapan

docking harus dilakukan dalam model struktur 3D. Model struktur 3D ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 2. Struktur 3D Xanthoangelol (a); Asam Kojic (b); Ligan KOJ_B_1351

Tabel 1 : Prediksi Toksisitas Xanthoangelol dan interpretasinya

Sifat	Nama model	Nilai prediksi	Satuan	Interpretasi
Toksisitas	AMES	Tidak	Ya/tidak	Tidak mutagenik
Toksisitas	<i>Oral Rat Acute Toxicity</i> (LD50)	2.093	(mol/kg)	Tidak toksik
Toksisitas	<i>Oral Rat Chronic Toxicity</i> (LOAEL)	1.309	(log mg/kg_bb/hari)	Log dosis terendah yang bisa menimbulkan efek samping 1.309 mg/kg BB/hari
Toksisitas	Hepatotoksisitas	Tidak	Ya/tidak	Tidak hepatotoksik

Prediksi Toksisitas Xanthoangelol

Hasil prediksi toksisitas *in silico* ditunjukkan pada tabel 1. Dari tabel tersebut diketahui bahwa xanthoangelol tidak toksik, tidak mutagenic, tidak hepatotoksik dan dosis terendah yang dapat menimbulkan efek samping cukup tinggi yang ditunjukkan oleh nilai log dosis yakni 1.309 mg/kg BB/hari.

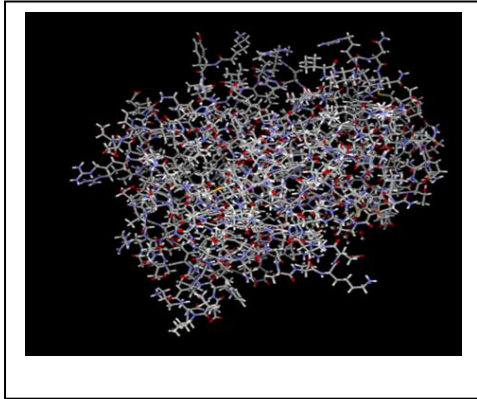
Docking Dan Analisis Asam Amino

Reseptor Tyrosinase *from Bacillus megaterium in complex with inhibitor Kojic*

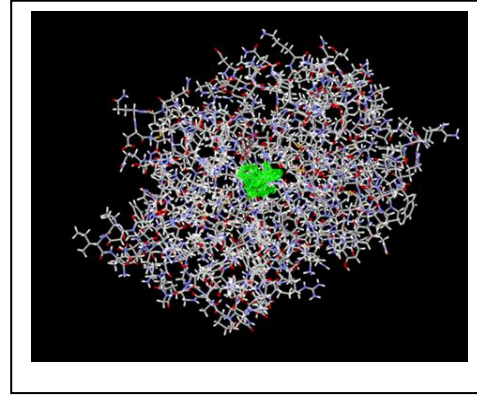
yang telah diunduh pada situs Protein Data Bank dengan kode 3QN1, dan telah diimpor pada program Molegro Virtual Docker ditunjukkan pada Gambar 3. Program MVD akan secara otomatis mengoreksi protein yang telah diimpor, dan secara langsung melakukan penambahan atom H dan mengoreksi apabila ada beberapa asam amino residu protein yang salah. Hasil deteksi tempat berinteraksi antara ligan dan reseptor

(cavity) pada reseptor *Tyrosinase from Bacillus megaterium in complex with inhibitor Kojic* ditunjukkan oleh Gambar 4

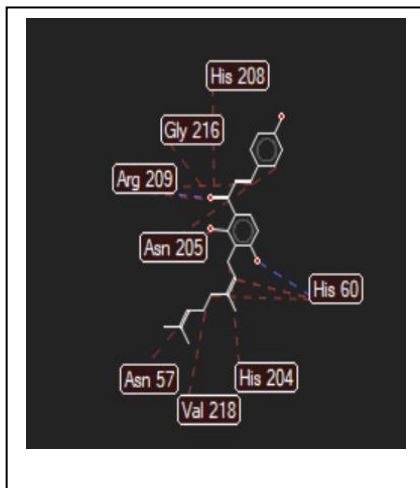
Lubang (cavity) yang digunakan adalah Cavity 1 pada volume 43.008, Ligan KOJ_B_1351.



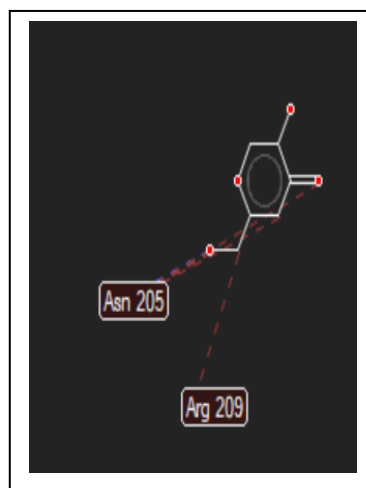
Gambar 3. Struktur protein 3NQ1



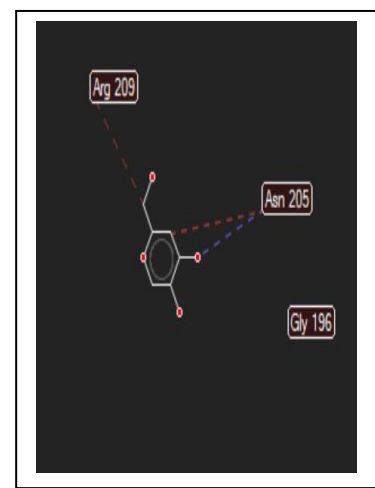
Gambar 4. Hasil deteksi lubang (cavity) reseptor 3NQ1



(a)



(b)



(c)

Gambar 5. Hasil deteksi tempat berinteraksi dengan reseptor Xanthoangelol (a); Asam Kojic (b); Ligan KOJ_B_1351 (c)

Tabel 2. Hasil skor docking dari Xanthoangelol, Asam Kojic, 70ucoidan dan Ligan KOJ_B_1351 dalam interaksinya dengan reseptor 3NQ1

Ligan	MolDock Score	Rerank Score	RMSD
Xanthoangelol	-162.631	-96.1232	7.86023
Asam Kojic	-83.68228	-43.60973	12.46075
Ligan KOJ_B_1351	-61.56436	-48.2213	6.66639

PEMBAHASAN

Berdasarkan Hasil skor docking Xanthoangelol, Asam Kojic dan Ligan KOJ_B_1351 dalam proses interaksinya dengan reseptor tyrosinase dengan protein 3NQ1 dapat dilihat pada Tabel 2. Dari Tabel 2 terlihat bahwa urutan *rerank score* keempat senyawa dari rendah ke tinggi adalah Xanthoangelol < Ligan KOJ_B_1351 < Asam Kojic. *Rerank score* merupakan nilai yang mencerminkan energi ikatan yang dibutuhkan untuk membentuk ikatan dengan reseptor, sehingga dari nilai tersebut dapat diprediksi aktivitas suatu senyawa, dilihat semakin rendahnya nilai *rerank score*, sehingga ikatan antara ligan dan reseptor juga akan makin stabil. Akibatnya aktivitas senyawa juga dapat dikatakan semakin tinggi dibandingkan dengan senyawa yang memiliki nilai *rerank score* lebih tinggi. Hasil simulasi docking di atas dapat diprediksi bahwa Xanthoangelol memiliki aktivitas lebih tinggi dari pada Asam Kojic sebagai control positifnya. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh *Xiao Yina et al* yang melakukan pengujian efek inhibisi tyrosinase oleh senyawa

xanthoangelol dimana diperoleh hasil bahwa kemampuan senyawa xanthoangelol dapat menghambat enzim tyrosinase hamper setara dengan control positifnya yakni asam kojic (Xiao et al, 2022).

KESIMPULAN

Melalui studi *in silico* yang dilakukan terhadap senyawa Xanthoangelol dapat diprediksi bahwa senyawa Xanthoangelol tidak toksik dan baru menimbulkan efek samping pada dosis yang lebih tinggi dari log dosis 1.309 mg/kg BB/hari. Sehingga senyawa xanthoangelol dikatakan merupakan senyawa yang relative aman untuk digunakan. Berdasarkan hasil docking molecular yang dilakukan Interaksi Xanthoangelol dengan reseptor protein 3NQ1 lebih besar daripada Asam Kojic dan Ligan KOJ_B_1351. Sehingga dapat dikatakan bahwa senyawa xanthoangelol diperkirakan memiliki aktifitas yang lebih poten dibandingkan dengan senyawa asam kojat sebagai control positifnya dalam meng inhibisi enzim tyrosinase dan Asam amino reseptor yang terlibat dalam interaksi dengan

Xanthoangelol, Asam Kojic dan Ligan KOJ_B_1351 adalah Asn205B.

DAFTAR PUSTAKA

- Aulifa, D.L., Adnyana, I.K., Sukrasno, S. and Levita, J., 2022. Inhibitory activity of xanthoangelol isolated from *Ashitaba* (*Angelica keiskei* Koidzumi) towards α -glucosidase and dipeptidyl peptidase-IV: in silico and in vitro studies. *Heliyon*, 8(5), p.e09501.
- Enade, P.I. 2023. Peran Komputer dalam Penemuan Obat. <http://www.komputasi.lipi.go.id/utama.cgi?cetakartikel&1324087835>. 11 Januari 2023.
- Gupta, A.K., Gover, M.D., Nouri, K. and Taylor, S., 2006. The treatment of melasma: a review of clinical trials. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 55(6), pp.1048-1065.
- Hariyanti, H., Kurmardi, K., Yanuar, A. and Hayun, H., 2021. Ligand based pharmacophore modeling, virtual screening, and molecular docking studies of asymmetrical hexahydro-2H-indazole analogs of curcumin (AIACs) to discover novel estrogen receptors alpha ($ER\alpha$) inhibitor. *Indonesian Journal of Chemistry*, 21(1), pp.137-147.
- Kil, Y.S., Pham, S.T., Seo, E.K. and Jafari, M., 2017. *Angelica keiskei*, an emerging medicinal herb with various bioactive constituents and biological activities. *Archives of pharmacal research*, 40, pp.655-675.
- Kostopoulou, I. and Detsi, A., 2018. Recent developments on tyrosinase inhibitors based on the chalcone and aurone scaffolds. *Current Enzyme Inhibition*, 14(1), pp.3-17.
- Kusumawardhany, P.A., Dewi, A.D.R., Iswadi, H., Widjaja, M.E. and Hoan, H., 2021. *Tanaman Malaikat dari Trawas Indonesia, Ashitaba (Seledri Jepang)*. Direktorat Penerbitan & Publikasi Ilmiah Universitas Surabaya.
- Lohohola, P.O., Mbala, B.M., Bambi, S.M.N., Mawete, D.T., Matondo, A. and Mvondo, J.G.M., 2021. In Silico ADME/T properties of quinine derivatives using SwissADME and pkCSM webservers. *International Journal of TROPICAL DISEASE & Health*, 42(11), pp.1-12.
- Mardianingrum, R., Susanti, S. and Salsabila, S., 2022, December. Prediksi Aktivitas Senyawa Turunan Terpenoid dari Tanaman Wortel (*Daucus carota*) sebagai Kandidat Antimelanogenesis secara In Silico. In *Prosiding Seminar Nasional Diseminasi Hasil Penelitian Program Studi S1 Farmasi* (Vol. 2, No. 1).
- Pires, D.E., Blundell, T.L. and Ascher, D.B., 2015. pkCSM: predicting small-molecule pharmacokinetic and toxicity properties using graph-based signatures. *Journal of medicinal chemistry*, 58(9), pp.4066-4072.
- Priani, S.E. and Fakhri, T.M., 2021. Identifikasi Aktivitas Inhibitor Enzim Tirosinase Senyawa Turunan Flavonoid pada Kulit Buah Cokelat (*Theobroma cacao* L) secara In Silico. *ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia*, 17(2), pp.168-176.
- Puspaningtyas, A.R., 2013. Molecular Docking Using Molegro Virtual Docker (Mvd) on Water Extract of Guava Fruit (*Psidium Guajava*, Linn) and Sweet Orange (*Citrus Sinensis*, Peels) as Inhibitor on Enzyme Tyrosinase as Positive Control of

- Whitening Agent. *Indonesian Journal of Applied Chemistry*, 15(1), p.106895.
- Rendon, M., Berneburg, M., Arellano, I. and Picardo, M., 2006. Treatment of melasma. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 54(5), pp.S272-S281.
- SAIFUDDIN, A., 2014. *Studi in Silico Gendarusin A, B, C, D, dan E Untuk Prediksi Absorpsi dan Aktivitas Terhadap Hialuronidase (EC 3.2.1.35)* (Doctoral dissertation, UNIVERSITAS AIRLANGGA).
- Sibarani, L.L., Sintesis, Uji Aktivitas dan Studi Molecular Docking Senyawa Pirazolin 2-(5-(3-Bromofenil)-1-Fenil-4, 5-Dihidro-1h-Pirazol-3-Il) Fenol Sebagai Inhibitor Enzim Tirosinase.
- Sugii, M., Ohkita, M., Taniguchi, M., Baba, K., Kawai, Y., Tahara, C., Takaoka, M. and Matsumura, Y., 2005. Xanthoangelol D isolated from the roots of *Angelica keiskei* inhibits endothelin-1 production through the suppression of nuclear factor- κ B. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 28(4), pp.607-610.
- Utami, D., Syahputra, R. and Widyaningsih, W., 2022. Studi Docking Molekular Aktivitas Penghambatan Enzim Tirosinase Ubi Jalar (*Ipomoea batatas* L. Lam). *Pharmacon: Jurnal Farmasi Indonesia*, 19(1), pp.21-34.
- Xiao, Y. and Lee, I.S., 2022. Effects of Microbial Transformation on the Biological Activities of Prenylated Chalcones from *Angelica keiskei*. *Foods*, 11(4), p.543.
- Zain, D.N., 2020. Chalcone Content In The Ethanol Extract Of *Angelica Keiskei* Leaves by Spectrophotometric Method. *Journal of Pharmacopolium*, 2(3).