

POTENSI FLAVONOID BIJI ADAS (*Foeniculum vulgare* Mill) SEBAGAI ANTIANEMIA

Erinda Nur Pratiwi^{1*}, Retno Wulandari², Ajeng Maharani Pratiwi³, Siti Nurjanah⁴, Annisa Cindy Nurul Afni⁵

^{1,2,3,4,5}Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Kusuma Husada Surakarta

Email: erindanurp@ukh.ac.id^{1*}, enotikno@gmail.com², ajengpratiwi937@gmail.com³,
sitinurjanah@ukh.ac.id⁴, cindy_anissa@ukh.ac.id⁵

Abstract

Anemia is a common disease worldwide, especially in developing countries. In adults, anemia occurs in women of childbearing age, especially pregnant and breastfeeding women because they often experience iron deficiency. Overall, anemia occurs in 45% of women in developing countries and 13% in developed countries. According to the World Health Organization (WHO), anemia in pregnancy is defined as a hemoglobin level of less than 11 g/dl. The pathophysiology of iron deficiency anemia (IDA) is caused by a disruption in iron homeostasis in the body. If iron stores in the bone marrow are reduced, the erythropoiesis process will be disrupted, resulting in disruption of erythrocyte formation, this indicates IDA. Iron binding and erythrocyte activity will induce the hormone erythropoietin (EPO) in the kidneys, which affects bone marrow activity in iron stores. Fennel seeds (*Foeniculum vulgare* Mill) contain various flavonoid compounds that can improve iron deficiency anemia. This study aims to prove the potential of flavonoids from fennel seeds as an antianemia therapy through an in-silico approach. This study used AutoDockTools 1.5.6. The materials used included two-dimensional structures of flavonoid test compounds that had been drawn and optimized with VegaZZ. The crystallized structures of target macromolecules, namely EPO, Hepcidin, TIBC, and erythrocytes, were obtained from the Protein Data Bank website. A toxicity prediction test was used to detect the toxicity level of flavonoid compounds in fennel seeds.

Keyword: fennel seeds, anemia, insilico

Abstrak

Anemia merupakan penyakit yang umum terjadi di seluruh dunia, terutama di negara-negara berkembang. Pada kelompok dewasa, anemia terjadi pada wanita usia subur, terutama ibu hamil dan ibu menyusui karena sering mengalami kekurangan zat besi. Secara keseluruhan anemia terjadi pada 45% wanita di negara berkembang dan 13% di negara maju. Menurut World Health Organization (WHO), anemia pada kehamilan didefinisikan sebagai kadar hemoglobin kurang dari 11 gr/dl. Patofisiologi anemia defisiensi besi (ADB) disebabkan oleh adanya gangguan homeostasis besi dalam tubuh. Bila simpanan besi dalam sumsum tulang berkurang, maka proses eritropoiesis akan terganggu sehingga terjadi gangguan pada pembentukan eritrosit, hal ini mengindikasikan adanya ADB. Pengikatan besi dan aktivitas eritrosit akan menginduksi hormon eritropoietin (EPO) pada ginjal yang mempengaruhi aktivitas sumsum tulang belakang terhadap simpanan besi. Biji adas (*Foeniculum vulgare* Mill) mengandung berbagai senyawa flavonoid untuk perbaikan status anemia defisiensi besi. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan potensi flavonoid dari biji adas sebagai terapi antianemia melalui pendekatan insilico. Penelitian ini menggunakan AutoDockTools 1.5.6. Materi yang digunakan meliputi struktur dua dimensi senyawa uji flavonoid yang telah digambar dan dioptimasi dengan VegaZZ. Struktur makromolekul target yaitu EPO, Hepcidin, TIBC, dan Eritrosit yang telah dikristalkan diperoleh dari website Protein Data Bank. Uji prediksi toksisitas yang digunakan untuk mendeteksi tingkat toksisitas dari senyawa flavonoid biji adas.

Kata Kunci: biji adas, anemia, insilico

1. Pendahuluan

Anemia merupakan penyakit yang umum terjadi di seluruh dunia, terutama di negara-negara berkembang. Pada kelompok dewasa, anemia terjadi pada wanita usia subur, terutama ibu hamil dan ibu menyusui karena sering mengalami kekurangan zat besi. Secara keseluruhan anemia terjadi pada 45% wanita di negara berkembang dan 13% di negara maju (Edison, 2019). Menurut World Health Organization (WHO), anemia pada kehamilan didefinisikan sebagai kadar hemoglobin kurang dari 11 gr/dl (19).

Di Indonesia, berdasarkan hasil riset kesehatan dasar, angka kejadian anemia masih tinggi, dengan 37,1% ibu hamil menderita anemia (10). Jenis anemia yang paling sering ditemukan pada kehamilan adalah anemia defisiensi besi (20). Peran utama eritrosit sebagai sel darah merah yang

memiliki kandungan hemoglobin yang berperan penting terhadap kadar oksigen berupa *reactive oksigen spesies* (ROS). Dalam kondisi normal, ROS dibersihkan dari sel oleh aksi *superoksida dismutase* (SOD), *katalase*, atau *glutathione* (GSH) *peroksidase*. Pada Anemia Defisiensi Besi (ADB), akibat adanya ROS yang meningkat maka akan merusak IkB sehingga NF- κ B mengalami translokasi dari sitoplasma ke nucleus makrofag dan bertindak sebagai faktor transkripsi makrofag akan mengekspresikan sitokin inflamasi IL-6, TNF- α , TGF- β . Makrofag yang aktif juga akan melepaskan sitokin profibrogenetik diantaranya *transforming growth factor*- β 1 (TGF- β 1). Ekspresi TNF- α yang meningkat akan memicu terjadinya disfungsi sel endotel dan peningkatan *Caspase-3* karena melalui induksi *caspase* 8, 9 yang akan mengaktivasi *caspase-3* sebagai eksekutor *caspase* untuk mengatur inflamasi dan jejaring pensiyalan apoptosis dalam menghancurkan struktur seluler seperti fragmentasi DNA atau degradasi protein sitoskeletal, maka dapat menyebabkan apoptosis pada sel tubulus proksimal dan eritropoiesis di sumsum tulang sehingga kadar eritropoietin berkurang yang menyebabkan eritrosit juga berkurang. Produksi ROS meningkat akan terjadi inflamasi. Pada anemia defisiensi besi terjadi inflamasi meningkatkan ekspresi hepsidin hepatik melalui makrofag yang menghasilkan IL-6. Saat terjadi inflamasi terjadi peningkatan kadar hepsidin menyebabkan penyerapan zat besi dalam makrofag, hal ini dicerminkan dengan kadar feritin yang menurun dan kapasitas pengikatan besi total (TIBC) meningkat. Saat simpanan zat besi menurun di sumsum tulang mengganggu proses eritropoiesis sehingga terjadi gangguan saat pembentukan eritrosit, hal ini menandakan terjadi anemia defisiensi besi (25).

Pengikatan zat besi dan aktivitas eritrosit akan menginduksi hormon eritropoietin (EPO) di ginjal yang mempengaruhi aktivitas sumsum tulang belakang terhadap penyimpanan zat besi (16). Hormon eritropoietin (EPO) mengendalikan proliferasi progenitor eritroid, fase awal eritropoiesis terminal, sedangkan kebutuhan zat besi meningkat pada tahap akhir diferensiasi proeritroblas menjadi retikulosit, untuk sintesis heme dan penggabungannya menjadi hemoglobin (13).

Tanaman adas merupakan suatu tanaman yang termasuk dalam familia *Apiaceae*. Tanaman adas banyak dibudidayakan di daerah yang tropis seperti Indonesia, tanaman yang mempunyai khasiat dalam pengobatan tradisional, bagian tanaman yang memiliki khasiat adalah biji dan daun adas. Komponen kandungan senyawa yang utama dalam tanaman adas adalah flavonoid dan fenolik (2). Analisis kandungan kimia tanaman adas menunjukkan kandungan minyak sebesar 6,3%, protein 9,5%, lemak 10%, mineral 13,4%, serat 18,5% dan karbohidrat 42,3%. Mineral dan vitamin yang terkandung dalam adas terdiri dari kalsium, fosfor, besi, sodium, potasium, tiamin, riboflavin, niasin, dan vitamin C (2).

Konseptualisasi dan pengembangan senyawa baru sebagai agen antianemia dan melakukan pengujian *in silico* melalui pendekatan *docking* molekuler memiliki keunggulan dibandingkan pendekatan *in vivo* dan *in vitro*. Selain memprediksi mekanisme kerja, studi informatika biokimia dapat memprediksi profil farmakokinetik dan toksisitas. Profil farmakokinetik dan toksisitas penting karena digunakan untuk menentukan keberadaan zat aktif dalam tanaman dan kemungkinan efek sampingnya (5), (21). Bagaimana struktur input docking dikonfigurasi sama pentingnya dengan proses docking itu sendiri, dan menafsirkan hasil metode pencarian stokastik terkadang dapat menjadi tantangan (4). Berdasarkan hal diatas maka peneliti ingin membuktikan potensi flavonoid dari biji adas sebagai terapi antianemia melalui pendekatan *in-silico*.

2. Metode

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah pemeriksaan laboratorium GCMS untuk menganalisis kandungan flavonoid biji adas (*Foeniculum vulgare* Mill). Jenis penelitian yang dijalankan berupa deskriptif kualitatif secara *in silico* dengan teknik yang digunakan meliputi *molecular docking* dan prediksi toksisitas yang bertujuan menemukan interaksi ikatan dan energi afinitas antara ligan dan reseptor serta mengidentifikasi absorpsi, distribusi, metabolisme, ekskresi dan profil toksisitas dengan cepat dan akurat. Creswell & Creswell menuturkan bahwa penelitian deskriptif kualitatif merupakan bagian paradigma *post-positivistik* dimana pengetahuan dikonstruksi dan digambarkan oleh data, bukti dan pertimbangan logis melalui

observasi mendalam yang memiliki sifat konjektural dan tidak pernah mendapatkan kebenaran absolut, sehingga penelitian harus sanggup mengembangkan pernyataan yang relevan dengan sesuai situasi yang sebenarnya. *In silico* sebagai metode yang memakai kemampuan komputer dalam perancangan obat sebagai penunjang dari *in vitro* dan *in vivo* (21).

3. Hasil dan Pembahasan

Penelitian ini menggunakan pemeriksaan laboratorium GCMS (*Gas Chromatography-Mass Spectrometry*) untuk menganalisis kandungan flavonoid biji adas (*Foeniculum vulgare Mill*). Jenis penelitian yang dijalankan berupa deskriptif kualitatif secara *in silico* dengan teknik yang digunakan meliputi *molecular docking* dan prediksi toksisitas yang bertujuan menemukan interaksi ikatan dan energi afinitas antara ligan dan reseptor serta mengidentifikasi absorpsi, distribusi, metabolisme, ekskresi dan profil toksisitas dengan cepat dan akurat. Penelitian ini dilakukan dengan cara *in silico* dengan menggunakan *molecular docking* terkait senyawa yang terkandung dalam biji adas (*Foeniculum vulgare Mill*) dengan senyawa uji yaitu flavonoid sebagai acuan sebelum dilakukan uji GCMS, yang selanjutnya senyawa uji disesuaikan dengan hasil GCMS dan selanjutnya dilakukan *docking*.

a. Ekstraksi Biji Adas (*Foeniculum vulgare Mill*)

Biji adas (*Foeniculum vulgare Mill*) yang diperoleh dari daerah Pakem, Cangkringan, Yogyakarta, Indonesia melalui Merapi Farma Herbal. Ekstraksi biji dengan biji yang diperoleh secara manual, dibersihkan, kemudian dikeringkan dengan oven pada suhu 45°C. Pembuatan ekstrak biji adas dilakukan dengan cara sebagai berikut yaitu biji adas yang sudah kering kemudian diblender dan diayak sampai mendapatkan serbuk biji labu yang halus.

b. Uji GCMS Biji Adas (*Foeniculum vulgare Mill*)

Analisis kromatografi dilakukan dengan menggunakan alat GCMS Kolom HP-5MS UI, dengan *software* kromatogram Cromeleon 7, database library NIST 2014. Sistem ini dilengkapi dengan kolom berukuran panjang 30 meter dengan memanfaatkan gas helium sebagai pembawa gas. Injector dipertahankan pada suhu 230°C, *split flow* 50ml/min, *split ratio* 50, dan front inlet flow 1,00 ml/min. preparasi sampel yaitu dengan sampel pasta dilarutkan dengan pelarut sesuai dengan catatan EtOH ad 1,5 ml dalam *microtube*, kemudian divortex hingga homogen dengan disentrifuge 9500 rpm selama 3 menit, lalu ambil supernatant dalam vial GC, kemudian larutan sampel siap di injek. Berikut hasil uji GCMS kandungan senyawa biji adas:

Tabel 5.1 Uji GCMS Biji Adas (*Foeniculum vulgare Mill*)

Komponen	Waktu retensi	Rel.Area %
D-Limonene	5,23	0,85
L-Fenchone	6,16	0,92
Estragole	7,97	9,20
Benzene, 1-methoxy-4	9,30	7,84
Hexadecanoic acid	17,17	7,51
Hexadecanoic acid, ethyl ester	17,28	2,09
cis-Vaccenic acid	18,95	33,97
cis-Vaccenic acid	19,05	26,72
Butylphosphonic acid	25,57	1,05
Nonacosan-10-one	26,35	1,65

Berdasarkan tabel 5.1 kromatogram GCMS dari biji adas (*Foeniculum vulgare Mill*) menunjukkan bahwa ada 10 senyawa dengan rel.area dengan prosentase tertinggi yang terkandung dari total 65 senyawa seperti yang terlihat pada Gambar 5.1, beberapa senyawa yang memiliki luas puncak lebih dari 5% dicantumkan pada tabel 5.2. Analisis GCMS menunjukkan adanya beberapa senyawa penting yang ditunjukkan pada Gambar 5.1. Dari kromatogram, puncak yang berbeda diperoleh pada waktu retensi yang berbeda. Senyawa

dengan luas puncak lebih besar dari 5% dicantumkan pada Tabel 5.2. Biji adas (*Foeniculum vulgare Mill*) mengandung estragole, hexadecenoic acid, dan vaccenic acid.

c. Uji Insilico

Uji *In Silico* pada penelitian ini menggunakan perangkat keras berupa laptop dengan merk "ASUS" X455L dengan spesifikasi Prosesor Intel Dual Core N2840, up to 2.58 GHz, Ram DDR3 2 Giga Byte. Harddisk 500 Giga Byte, kartu grafis Intel HD Graphics dan perangkat lunak berupa VegaZZ 2.4, AutoDockTools 1.5.6, BIOVIA Discovery Studio 2024 versi 24.1, PyMOL 2.3.3 dan web server PubChem, serta proTox. Bahan yang digunakan meliputi struktur dua dimensi senyawa uji squalene yang telah digambar dan dioptimasi dengan VegaZZ. Dua struktur makromolekul target yaitu EPO dan Hepsidin yang telah dikristalkan diperoleh dari *website* Protein Data Bank.

Tabel 5.2 Hasil Penambatan *Docking* (Uji *In Silico*)

Protein sasaran	Afinitas energi (ikatan ΔG) (kkal / mol) $\pm$ SD	RMSD ($\text{\AA}$)
EPO		1,005
Ligand asli	-1,10 $\pm$ 0,22	
Estragole	-3,51 $\pm$ 0	
Hexadecanoic acid	-1,02 $\pm$ 0,27	
Hepsidin		0,847
Ligand asli	-9,58 $\pm$ 0,007	
Estragole	-5,14 $\pm$ 0	
Hexadecanoic acid	-5,55 $\pm$ 0,14	

Pembahasan

Uji Insilico Biji adas (*Foeniculum vulgare Mill*)

Dari hasil kromatogram GCMS (*Gas Chromatography-Mass Spectrometry*) dari biji adas menunjukkan bahwa ada 10 senyawa dengan *relative area* dengan persentase tertinggi yang terkandung dari total 65 senyawa seperti yang terlihat pada Gambar 5.1, beberapa senyawa yang memiliki luas puncak lebih dari 5% dicantumkan pada tabel 5.2. Analisis GCMS menunjukkan adanya beberapa senyawa penting yang ditunjukkan pada Gambar 5.1. Dari kromatogram, puncak yang berbeda diperoleh pada waktu retensi yang berbeda. Senyawa dengan luas puncak lebih besar dari 5% dicantumkan pada Tabel 5.2. Biji adas (*Foeniculum vulgare Mill*) mengandung estragole, hexadecenoic acid, dan vaccenic acid.

Analisis GCMS dari biji adas (*Foeniculum vulgare Mill*) ditemukan adanya estragole yang kemungkinan berkontribusi dalam hemoglobin. Estragol dan anetol merupakan metabolit sekunder yang terdapat dalam berbagai herba yang umum digunakan seperti adas, kemangi, dan adas manis. Estragol bersifat genotoksik dan karsinogenik pada hewan pengerat, yang bergantung pada pembentukan 1'-sulfoksiestragol setelah hidroksilasi dan sulfokonjugasi selanjutnya yang dikatalisis oleh CYP dan SULT. Baru-baru ini dihipotesiskan bahwa anetol dapat dibioaktivasi melalui jalur metabolisme yang sama. Dengan menginkubasi estragol dengan fraksi S9 hepatic dari tikus dan manusia, terbentuk adisi spesifik dengan hemoglobin (5).

Telah ditunjukkan sebelumnya bahwa anetol juga dapat dibioaktivasi olehnsulfokonjugasi, yang menghasilkan pembentukan asam merkapturat yang secara struktural identik dengan asam yang terbentuk dari estragol. Kadar *adduct* dalam hemoglobin dan DNA menunjukkan bahwa bioaktivasi estragol masing-masing 6,2 kali atau 5,6 kali lebih efisien, dibandingkan dengan anetol (5).

Berdasarkan hasil uji *in silico* pada tabel 5.2 tersebut, hasil penambatan estragole dengan reseptor EPO memiliki *binding energy* yang lebih kecil daripada ligan asli sehingga energi yang diperlukan untuk interaksi ligan resptor semakin kecil dan reseptor menjadi lebih stabil. Ditinjau dari kesamaan residu asam amino pada hasil penambatan reseptor EPO dengan senyawa uji, tidak ada kesamaan asam amino dari interaksi yang terdeteksi antara reseptor, dan ligan asli,

namun pada hasil penambatan reseptor EPO dan hepcidin memiliki beberapa kesamaan asam amino dengan ikatan non hidrogen. Hasil RMSD menunjukkan bahwa semua parameter senyawa bernilai $<2\text{\AA}$ sehingga dinyatakan baik.

Berdasarkan visualisasi 3D interaksi antara pengujian ligan dan reseptor. Ligan berinteraksi dengan residu asam amino dari masing-masing protein, yaitu SOD, NF- κ B, TGF β 1, EPO dan hepcidin melalui ikatan hidrogen dan ikatan non-hidrogen lainnya. Jika kita melihat kesamaan residu asam amino pada hasil docking reseptor NF- κ B, TGF β 1 dan EPO dengan senyawa uji, tidak ada asam amino yang mirip dari interaksi yang terdeteksi antara reseptor dan ligan asli, namun pada hasil docking reseptor SOD dan hepcidin memiliki beberapa asam amino yang sama dengan ikatan non-hidrogen. Pada hasil docking reseptor SOD, kesamaan asam amino meliputi Glu100, Lys23, Pro28, Glu21. Pada hasil docking reseptor hepcidin, kesamaan asam amino meliputi Glu239, Glu291, Leu241.

4. Kesimpulan

Dari hasil uji GCMS (*Gas Chromatography-Mass Spectrometry*) dari biji adas menunjukkan senyawa dengan luas puncak lebih besar dari 5% yaitu *estragole*.

Dari hasil uji insilico didapatkan hasil penambatan *estragole* dengan reseptor EPO memiliki *binding energy* yang lebih kecil daripada ligan asli. Hasil RMSD menunjukkan bahwa semua parameter senyawa bernilai $<2\text{\AA}$ sehingga dinyatakan baik.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Universitas Kusuma Husada Surakarta yang telah memberikan dukungan **FINANCIAL** sehingga terlaksananya penelitian.

Daftar Pustaka

- [1] Alves VM, Muratov E, Capuzzi SJ, Politi R, Low Y, Braga RC, Zakharov AV, Sedykh A, Mokshyna E, Farag S, Andrade CH, Kuz'min V, Fourches D, Tropsha A. Alarms about structural alerts. *Green Chem.* 2016; 18(16):4348-4360.
- [2] Ananta, K. D., & Santoso, B. Kajian Ikatan 3D Molekuler Senyawa Terpilih Ketumbar (*Coriandrum sativum*) dan Adas Bintang (*Anisi Stellati*) terhadap sintase 6, 7-dimetil-8-ribitillumazin (2VI5, 2C92) *Mycobacterium tuberculosis*. STIKES PKU Muhammadiyah Surakarta. 2018; 320–327.
- [3] Aryanto, E., Sugiarto, A.D., Darmawan, P.H., & Pande, N.P.Y.A. Gambaran Anemia pada Kehamilan Trimester III di Bagian Obstetri dan Ginekologi RSUD Waikabubak, Nusa Tenggara Timur periode 2019-2020. *Intisari Sains Medis.* 2021; Vol 12, Number 2: 463-467. doi: 10.15562/ism.v12i2.1010.
- [4] Chen T, Shu X, Zhou H, Beckford FA, Misir M. Algorithm selection for protein–ligand docking: strategies and analysis on ACE. *Sci Rep.* 2023; 13(1):8219.
- [5] Daina A, Michielin O, Zoete V. SwissADME: A free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Sci Rep.* 2017; 7:1–13.
- [6] Du X, Li Y, Xia YL, Ai SM, Liang J, Sang P, Ji XL, Liu SQ. Insights into protein–ligand interactions: Mechanisms, models, and methods. *Int J Mol Sci.* 2016; 17(2):1–34.
- [7] Edison, E., Kebidanan, A., & Bone, L. Hubungan Tingkat Pendidikan Dengan Kejadian Anemia Pada Ibu Hamil Anemia Ibu Hamil Tingkat Pendidikan. *Universitas Muhammadiyah Tangerang*, 4. 2019.
- [8] Fatma Esra Gunes, “Medical use of squalene as a natural antioxidant,” *J. Marmara Univ. Inst. Heal. Sci.*, no. January, p. 1, 2013.
- [9] Inayati I, Arifin NH, Febriansah R, Indarto D, Suryawati B, Hartono H. Trans-Cinnamaldehyde Inhibitory Activity Against mrkA, treC, and luxS Genes in Biofilm-forming *Klebsiella pneumoniae*: An In Silico Study. *Trop J Nat Prod Res.* 2023; 7:4249–4255.

- [10] Kemenkes RI. Profil Kesehatan Indonesia. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2022.
- [11] Kim S, Chen J, Cheng T, Gindulyte A, He J, He S, Li Q, Shoemaker BA, Thiessen PA, Yu B, Zaslavsky L, Zhang J, Bolton EE. PubChem in 2021: New data content and improved web interfaces. *Nucl Acids Res.* 2021; 49(D1), D1388–D1395.
- [12] Mora JR, Marrero-Ponce Y, García-Jacas CR, Suarez Causado A. Ensemble Models Based on QuBiLS-MAS Features and Shallow Learning for the Prediction of Drug Induced Liver Toxicity: Improving Deep Learning and Traditional Approaches. *Chem Res Toxicol.* 2020; 33(7):1855–1873.
- [13] Muckenthaler MU, Rivella S, Hentze MW, Galy B. A red carpet for iron metabolism. *Cell.* 2017; 168(3):344–361.
- [14] Muttaqin, F.Z., Pratama, M.F., Kurniawan, F. Molecular Docking and Molecular Dynamic Studies of Stilbene Derivative Compounds as Sirtuin-3 (SIRT3) Histone Deacetylase Inhibitor on Melanoma Skin Cancer and Their Toxicities Prediction. *Journal of Pharmacopolium.* 2019; Vol. 2, No. 2, 112–121.
- [15] N. I. Ibrahim, S. Fairus, M. S. Zulfarina, and I. N. Mohamed, “The Efficacy of Squalene in Cardiovascular Disease Risk - A Systematic Review,” 2020.
- [16] Pagani, A., Nai, A., Silvestri, L., & Camaschella, C. Hepcidin and Anemia: A Tight Relationship. *Frontiers in Physiology.* 2019; 10, 1–7. <https://doi.org/10.3389/fphys.2019.01294>.
- [17] Pebriana, R. B., Romadhon, A. F., Yunianto, A., Rokhman, M. R., Fitriyah, N. Q., Jenie, R. I., & Meiyanto, E. Docking Kurkumin Dan Senyawa Analognya Pada Reseptor Progesteron: Studi Interaksinya Sebagai Selective Progesterone Receptor Modulators (SPRMs). Fakultas Farmasi Universitas Gajah Mada. Yogyakarta. 2012.
- [18] Pora B, Qian Y, Caulier B, Comini S, Looten P, Segueilha L. Method for The Preparation and Extraction of Squalene from Microalgae. United States Patent Application Publication. No.: US 2014/0088201 A1, March, 27 2014; 2.
- [19] Proverawati, A. Anemia dan Anemia Kehamilan. Yogyakarta: Penerbit Buku Nuha Medika; 2018.
- [20] Putri, Y. R., & Hastina, E. Asuhan Keperawatan Maternitas Pada Kasus Komplikasi Kehamilan, Persalinan, dan Nifas. CV. Pena Persada. 2020.
- [21] Rahim F, Putra PP, Ismed F, Putra AE, Lucida H. Molecular Dynamics, Docking and Prediction of Absorption, Distribution, Metabolism and Excretion of Lycopene as Protein Inhibitor of Bcl2 and DNMT1. *Trop J Nat Prod Res.* 2023; 7(7):3439–3444.
- [22] R. Amarowicz, “Squalene: A natural antioxidant,” *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, vol. 111, no. 5, pp. 411–412, 2009.
- [23] Santoyo A.H, Aldo Y. T. B., Victor A., Héctor V. C., & Claudia M. B. Protein-Protein and Protein Ligand Docking. Mexico: InTech. 2013.
- [24] Suharti N, Sari MR, Dillasamola D, Putra PP. In Silico and In Vitro Study of The Ethanol Extract of The White Garland Lily (*Hedychium coronarium* J. Koenig) as a Tyrosinase Inhibitor. *Trop J Nat Prod Res.* 2023; 7(6):3125–3129.
- [25] Stockwell, B. R., Angeli, J. P., Bayir, H., Bush, A. I., Conrad, M., Dixon, S. J., Fulda, S., Gascon, S., Hatzios, S. K., Kagan, V. E., Noel, K., Jiang, X., Linkermann, A., Murphy, M. E., Overholtzer, M., Oyagi, A., Pagnussat, G. C., Park, J., Ran, Q., Zhang, D. D. Ferroptosis: A Regulated Cell Death Nexus Linking Metabolism, Redox Biology, and Disease. *Cell*, 2017; 171(2), 273–285. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.09.021>.
- [26] World Health Organization (WHO) (2021). Leading Causes of Maternal Death in the World.
- [27] Y. Kohno, Y. Egawa, S. Itoh, S. ichi Nagaoka, M. Takahashi, and K. Mukai, “Kinetic study of quenching reaction of singlet oxygen and scavenging reaction of free radical by squalene in n butanol,” *Biochim. Biophys. Acta (BBA)/Lipids Lipid Metab.*, vol. 1256, no. 1, pp. 52–56, 1995.