

Studi Potensi Senyawa Antioksidan dari Kulit Jeruk Nipis (*Citrus Aurantifolia*) secara in Silico

Rustaman^{1*}, Regaputra Satria Janitra², Annisyaban Fatiha Azzahra², Farhan Azhwin Maulana³, Fauzian Giansyah Rohmatulloh⁴, Wanda Destiarani⁴, Ari Hardianto^{1,4}, Muhammad Yusuf^{1,4}, Iman Permana Maksum¹

¹Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Padjadjaran, Jl. Raya Bandung-Sumedang km. 21 Jatinangor, Sumedang, Jawa Barat, 45363.

²Program Studi Magister Bioteknologi, Fakultas Sekolah Pascasarjana, Universitas Padjadjaran, Jl. Dipatiukur 35, Bandung, Jawa Barat, 40132.

³Departemen Life Sciences, National Central University, 32001 No. 300, Zhongda Road, Zhongli District, Taoyuan City, Taiwan.

⁴Pusat Riset Bioteknologi Molekuler dan Bioinformatika, Universitas Padjadjaran, Jl. Singaperbangsa 2, Bandung, Jawa Barat, 40132.

*Penulis korespondensi: rustaman@unpad.ac.id

DOI: <https://doi.org/10.24198/cna.v11.n3.49717>

Abstrak: Antioksidan merupakan senyawa yang dapat mencegah atau menghambat oksidasi molekul lain, yang pada makhluk hidup berperan dalam mempertahankan pertumbuhan dan metabolisme yang normal. Studi aktivitas antioksidan individual pada senyawa dari jeruk nipis telah dilakukan. Senyawa yang dipelajari difokuskan pada bergamottin, citropten dan asam klorogenat. Tujuan dari penelitian ini adalah mempelajari hubungan antara struktur molekul dengan aktivitas antioksidannya melalui perhitungan secara kimia komputasi potensial ionisasi, *electrodonating power*, dan *net electrophilicity*. Seluruh perhitungan dilakukan menggunakan program komputasi Gaussian 09 Revision D.01, pada level teori APFD/6-31+G(d) pada keadaan muatan netral (deprotonasi, negatif), positif (netral), dan negatif (negatif dua). Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa citropten dan asam klorogenat berpotensi sebagai antioksidan. Vitamin C, asam galat, dan asam klorogenat dalam keadaan terdeprotonasi memiliki sifat antioksidan yang lebih kuat daripada keadaan netral. Analisis ADMET menunjukkan bahwa bergamottin, citropten dan asam klorogenat mampu menghambat enzim sitokrom P450 sehingga dapat pula meningkatkan bioavailabilitas antioksidan, maka bergamottin, citropten dan asam klorogenat dapat pula berperan tidak langsung terhadap aktivitas antioksidan.

Kata kunci: antioksidan, *electrodonating power*, asam klorogenat, jeruk nipis, citropten.

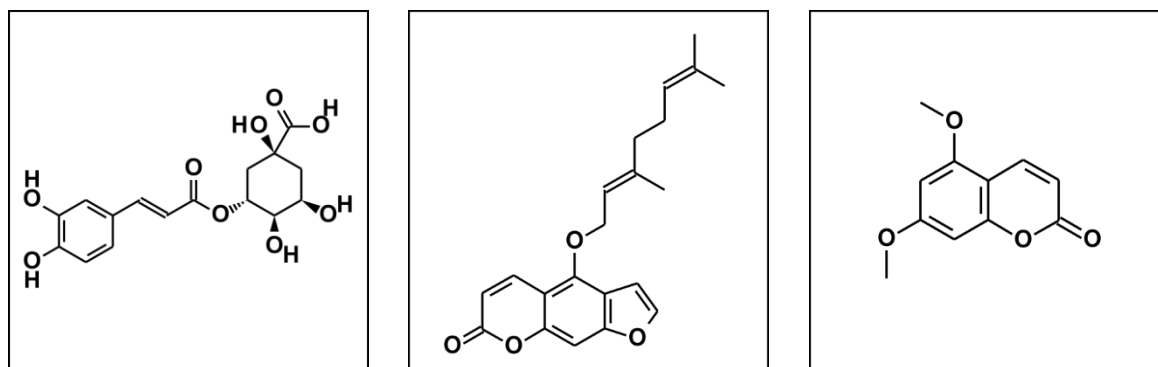
Abstract: Antioxidants are compounds that can prevent or inhibit the oxidation of other molecules, which play a role in maintaining normal growth and metabolism in living organisms. Individual antioxidant activity studies on compounds from lime have been carried out. The compounds studied focused on bergamottin, citropten and chlorogenic acid. The aim of this research is to study the relationship between molecular structure and antioxidant activity through quantum computational calculations of ionization potential, *electrodonating power* and *net electrophilicity*. All calculations were carried out using the Gaussian 09 Revision D.01 computing program, at the APFD/6-31+G(d) theory level in neutral (deprotonated, negative), positive (neutral), and negative (negative two) charge states. The results obtained indicate that citropten and chlorogenic acid have potential as antioxidants. Vitamin C, gallic acid, and chlorogenic acid in the deprotonated state have stronger antioxidant properties than in the neutral state. ADMET analysis indicates that bergamottin, citropten, and chlorogenic acid can inhibit cytochrome P450 enzymes, thereby potentially increasing the bioavailability of antioxidants. Therefore, bergamottin, citropten, and chlorogenic acid may also play an indirect role in antioxidant activity.

Keywords: antioxidant, *electrodonating power*, chlorogenic acid, lime, citropten.

PENDAHULUAN

Pada Desember 2019 terjadi *outbreak* virus corona jenis baru bernama SARS-CoV-2 yang menyebabkan *coronavirus disease* 2019 (COVID-

19). Virus tersebut pertama kali ditemukan di pasar ikan Wuhan Cina. COVID-19 memiliki persentase kematian sebesar 2%, berbeda jauh dengan penyakit pernapasan yang disebabkan MERS-CoV dan SARS-



Asam Klorogenat

Bergamottin

Citropten

Gambar 1. Struktur 2D asam klorogenat, bergamottin, dan citropten

CoV yaitu sekitar 30%. Namun, COVID-19 mudah menyebar dari manusia ke manusia yang mengakibatkan banyak korban jiwa berjatuhan (Phan 2020; Zhu *et al.* 2020). SARS-CoV-2 menginfeksi sel alveolar *epithelial* sehingga menyebabkan stres oksidatif dan inflamasi pada paru-paru penderitanya. Eliminasi radikal bebas merupakan salah satu strategi untuk mengatasi COVID-19 (Nasi *et al.* 2020; Silvagno *et al.* 2020).

Antioksidan adalah senyawa yang dapat mencegah atau menghambat oksidasi molekul lain dengan cara menghambat proses inisiasi atau propagasi pada reaksi oksidasi berantai. Antioksidan mengubah radikal bebas menjadi bentuk yang tidak reaktif (Panda, 2012). Mekanisme kerja utama antioksidan adalah melalui transfer atom hidrogen dan transfer elektron. Pada makhluk hidup antioksidan berperan melindungi biomolekul seperti protein, asam nukleat, lemak tak jenuh ganda, dan gula dari kerusakan (Leopoldini *et al.* 2004). Tumbuhan memproduksi beragam senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan untuk mempertahankan pertumbuhan dan metabolisme yang normal. Senyawa antioksidan yang diproduksi oleh tumbuhan meliputi golongan senyawa polifenol, flavonoid, turunan senyawa asam hidroksamat, kumarin, vitamin, dan asam organik (Maesaroh dkk. 2018; Sun *et al.* 2016).

Berkaca dari kearifan lokal Sunda, jeruk nipis digunakan sebagai obat pilek (Sumarlina dkk. 2017). Jeruk nipis terbukti memiliki aktivitas anti inflamasi (Prastiwi & Ferdiansyah 2017). Ekstrak etanolik dari kulitnya memiliki aktivitas antioksidan (Khasanah dkk. 2014). Sedangkan penelitian Loizzo *et al.* (2012) menunjukkan bahwa kandungan utama ekstrak metanol dari kulit dan daun jeruk nipis adalah senyawa fenolik dan flavonoid, dengan mayoritasnya adalah asam fenolat. Mayoritas dari asam fenolat tersebut adalah asam klorogenat (Czech *et al.* 2021) Aktivitas antioksidan sebanding dengan total kandungan senyawa asam fenolat (Indriyani *et al.*

2023). Sedangkan kandungan utama minyak esensial kulit jeruk nipis adalah bergamottin dan citropten (Masson *et al.* 2016). Walaupun demikian, kandungan metabolit sekunder dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya, lokasi geografis, komposisi tanah, waktu panen, dan bagian tanaman yang digunakan. Kandungan asam fenolat dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti tingkat kematangan buah dan pelarut yang digunakan dalam ekstraksi (Indriyani *et al.* 2023). Maka, sampel jeruk nipis dan metode ekstraksi yang berbeda dapat memberikan aktivitas antioksidan yang berbeda.

Oleh sebab itu, studi aktivitas antioksidan individual pada senyawa dari jeruk nipis perlu dilakukan. Pendekatan kimia komputasi menjadi tahap awal dalam mempelajari hubungan struktur dengan aktivitas antioksidannya melalui perhitungan potensial ionisasi dan *electrodonating power* serta *net electrophilicity*. Pada penelitian ini senyawa yang dipelajari difokuskan pada bergamottin, citropten dan asam klorogenat dengan standar yang digunakan yaitu vitamin C dan asam galat pada keadaan netral dan deprotonasi. Struktur 2D asam klorogenat, bergamottin, dan citropten ditunjukkan pada Gambar 1.

BAHAN DAN METODE

Seluruh struktur senyawa diperoleh dari ZINC15 (<https://zinc15.docking.org>) dalam format *.mol2 (Sterling & Irwin 2015). Vitamin C memiliki pK_{a1} pada -OH sebesar 4,2 (Levine *et al.* 2020), sedangkan pK_{a1} -COOH pada asam galat dan asam klorogenat adalah 4,0 dan 3,5 (Eslami *et al.* 2010; Seruga & Tomac 2014). Oleh karena itu, keadaan deprotonasi juga dimodelkan untuk ketiga senyawa tersebut. Struktur tersebut dioptimasi pada level teori APFD/6-31+G(d) pada keadaan muatan netral (deprotonasi, negatif), positif (netral), dan negatif (negatif dua). Perhitungan frekuensi pada level teori yang sama dilakukan untuk memastikan bahwa struktur yang diperoleh bukan *saddle point*. Fungsional APFD

memiliki akurasi yang baik dan tidak memerlukan sumber daya komputasi yang terlalu besar sehingga dapat diterapkan pada komputer *workstation* biasa (Foresman & Frisch 2015). Seluruh perhitungan dilakukan menggunakan Gaussian 09 Revision D.01 (Frisch *et al.* 2013).

Potensial ionisasi (PI) dihitung dengan rumus:

$$PI = G(A^{oksidasi}) - G(A), \quad (1)$$

dengan $G(A^{oksidasi})$ dan $G(A)$ adalah energi bebas senyawa pada keadaan oksidasi (kehilangan satu elektron) dan awal. Sedangkan afinitas elektron (AE) dihitung dengan rumus:

$$AE = G(A) - G(A^{reduksi}), \quad (2)$$

dengan $G(A^{reduksi})$ adalah energi bebas senyawa pada keadaan reduksi (menerima satu elektron). Pada molekul netral dan deprotonasi, keadaan awal mengacu pada muatan netral dan negatif, keadaan oksidasi mengacu pada muatan positif dan netral, sedangkan keadaan reduksi mengacu pada muatan negatif dan negatif dua. *Electrodonating* (ω^-) dan *electroaccepting power* (ω^+) dihitung dengan rumus (Gázquez *et al.* 2007):

$$\omega^- = \frac{(3PI + AE)^2}{16(PI - AE)}, \quad (3)$$

$$\omega^+ = \frac{(PI + 3AE)^2}{16(PI - AE)}, \quad (4)$$

Net electrophilicity ($\Delta\omega^\pm$) dihitung menggunakan rumus (Chattaraj *et al.* 2009):

$$\Delta\omega^\pm = \omega^\pm - \left(\frac{1}{\omega^\mp} \right). \quad (5)$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Transfer elektron tunggal merupakan salah satu mekanisme kerja antioksidan dalam menangkal radikal bebas. Pada mekanisme tersebut antioksidan mendonorkan satu elektron pada radikal bebas sehingga antioksidan menjadi radikal, oleh sebab itu kemampuan donor elektron menjadi hal krusial pada aktivitas antioksidan. Kemampuan donor elektron dapat dipelajari melalui perhitungan PI, semakin kecil nilai PI maka semakin mudah suatu senyawa mendonorkan elektron pada radikal bebas, sehingga semakin tinggi aktivitas antioksidannya (Leopoldini *et al.* 2004).

Mekanisme kerja antioksidan juga dapat ditinjau melalui transfer elektron parsial. Antioksidan bertindak sebagai nukleofil, sedangkan radikal bebas/oksidan sebagai elektrofil. Senyawa dengan ω^- rendah akan memiliki kemampuan donor fraksi elektron yang baik, sedangkan senyawa dengan ω^+ tinggi akan memiliki kemampuan menerima fraksi elektron yang baik (Gázquez *et al.*, 2007). Studi Martínez *et al.* (2008) pada sifat antioksidan karotenoid, vitamin, dan melatonin, serta studi pada (Cerezo *et al.* 2012) sifat antioksidan isomer β -karoten menunjukkan bahwa ω^- berhubungan langsung dengan aktivitas antioksidan serta memiliki korelasi yang baik dengan hasil eksperimen. Nilai ω^+ relatif terhadap ω^- dinyatakan dengan $\Delta\omega^\pm$. Senyawa dengan $\Delta\omega^\pm < 0,59$ eV tergolong nukleofil, $\Delta\omega^\pm$ pada rentang 0,59 hingga 1,29 eV tergolong elektrofil sedang, sedangkan $\Delta\omega^\pm > 1,29$ eV tergolong elektrofil kuat (Chattaraj *et al.* 2009; Fonseca *et al.* 2022).

Data PI, ω^- , dan $\Delta\omega^\pm$ ditampilkan pada Tabel 1. Hasil perhitungan menunjukkan bahwa pH turut mempengaruhi sifat antioksidan. Vitamin C, asam galat, dan asam klorogenat keadaan terdeprotonasi memiliki sifat antioksidan lebih kuat daripada keadaan netral. Keadaan terdeprotonasi dari ketiga senyawa tersebut merupakan representasi pada

Tabel 1. Nilai PI, AE, ω^- , ω^+ , $\Delta\omega^\pm$ Senyawa

No	Senyawa	Energi / eV				
		PI	AE	ω^-	ω^+	$\Delta\omega^\pm$
1	Vitamin C	8,2136	0,3519	4,9658	0,6830	0,4817
2	Vitamin C (deprotonasi)	2,9188	-3,5788	0,2579	0,5878	-3,2900
3	Asam Galat	8,1232	0,2169	4,7786	0,6086	0,3993
4	Asam Galat (deprotonasi)	3,4546	-3,2778	0,4661	0,3777	-1,7676
5	Bergamottin	7,3850	0,8353	5,0437	0,9336	0,7353
6	Citropten	7,6723	0,5446	4,8679	0,7594	0,5540
7	Asam klorogenat	7,4746	0,8919	5,1615	0,9782	0,7845
8	Asam klorogenat (deprotonasi)	4,1742	-1,0013	1,6030	0,0165	-0,6073

keadaan pH fisiologis. Oleh karena itu membandingkan kekuatan sifat antioksidan dengan standar (vitamin C dan asam galat) pada keadaan terdeprotonasi lebih realistis. Perhitungan PI dan ω^- menunjukkan bahwa bergamottin, citropten, dan asam klorogenat memiliki sifat antioksidan lebih lemah daripada standar. Walau demikian nilai $\Delta\omega^\pm$ mengindikasikan bahwa citropten dan asam klorogenat berpotensi sebagai antioksidan. Penelitian (Zhang *et al.* 2003) menunjukkan bahwa asam klorogenat efektif sebagai antioksidan penangkal radikal OH. Penelitian Lee *et al.* (2022) menunjukkan bahwa citropten dapat bekerja sebagai antiinflamasi kronis pada usus besar yang salah satu penyebabnya adalah radikal bebas. Sedangkan peran bergamottin dapat meningkatkan bioavailabilitas obat karena berperan sebagai penghambat kuat enzim sitokrom P450, termasuk CYP3A4 yang terlibat dalam metabolisme banyak obat (Liu *et al.* 2017), yang mungkin dapat berperan tidak langsung terhadap aktivitas antioksidan.

Eksperimen Khasanah dkk. (2014) menyatakan bahwa aktivitas vitamin C dalam menangkal 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) 10 kali lebih baik daripada ekstrak etanolik kulit buah jeruk nipis. Vitamin C memiliki IC_{50} 4,768 $\mu\text{g/ml}$, sedangkan ekstrak etanolik kulit buah jeruk nipis sebesar 54,458 $\mu\text{g/ml}$. Uji kualitatif kandungan senyawa dalam ekstrak etanolik tersebut menunjukkan keberadaan vitamin C. Khasanah dkk. (2014) menduga bahwa kadar vitamin C dalam ekstrak etanolik mempengaruhi aktivitas antioksidan ekstrak tersebut. Hal tersebut didukung oleh penelitian Czech *et al.* (2021) yang menunjukkan bahwa komponen utama kulit jeruk nipis adalah senyawa fenolat dengan konsentrasi 282,7 mg GAE/100 g, sedangkan konsentrasi vitamin C hanya 24,35 mg/100g.

Senyawa fenolat pada kulit jeruk nipis memiliki fungsi sebagai proteksi tanaman dari sinar UV. Semakin tinggi paparan sinar UV pada kulit buah maka akan semakin banyak senyawa fenolat yang dihasilkan (Barros *et al.* 2012). Mayoritas dari senyawa fenolat tersebut adalah asam klorogenat. (Czech *et al.* 2021). Penelitian Czech *et al.* (2021) menunjukkan bahwa kapasitas antioksidan kulit jeruk nipis lebih tinggi dibandingkan daging dan buahnya. Hal tersebut menimbulkan dugaan bahwa mekanisme kerja asam klorogenat sebagai antioksidan dapat pula dengan menyerap sinar UV yang berperan dalam inisiasi pembentukan radikal bebas. Hal ini didukung dengan penelitian Velkoska-Markovska *et al.* (2020) bahwa asam klorogenat menyerap sinar UV pada panjang gelombang 220 dan 325 nm.

Analisis ADMET menggunakan program PreADMET dilakukan untuk mengurangi risiko dalam pengembangan suplemen antioksidan. Berdasarkan aspek absorpsi, Bergamottin dan Citropten dapat terserap dengan baik di dalam usus dibandingkan senyawa lainnya. Kedua senyawa tersebut juga menunjukkan nilai permeabilitas

tertinggi (Tabel 2). Dalam hal distribusi, parameter PPB menunjukkan bahwa Bergamottin larut dalam darah dan terdistribusi dengan baik di seluruh tubuh. Studi terhadap dataset 150 senyawa menunjukkan bahwa senyawa dengan $\log BB > 0,40$ dikatakan dapat dengan mudah menyeberangi BBB sementara senyawa dengan $\log BB < 0,40$ didistribusikan ke otak dengan tidak lebih baik (Lobell *et al.* 2003; Ma *et al.* 2005). Pada penelitian ini ditunjukkan bahwa seluruh senyawa memiliki peluang besar untuk menyeberangi penghalang otak, terkecuali Citropten.

Analisis senyawa kandidat sebagai substrat CYP atau sitokrom P450, yaitu enzim yang terlibat dalam berbagai proses metabolisme obat atau dalam hal ini suplemen antioksidan, diperlukan untuk memperkirakan proses metabolisme yang mungkin terjadi (Lynch & Price 2007). Sebagai substrat, senyawa kandidat dapat bertindak sebagai induktor yang merangsang CYP dan meningkatkan aktivitas enzim ini. Hal tersebut dapat meningkatkan metabolisme substrat lain untuk enzim CYP dengan mengurangi paparan terhadap senyawa kandidat. Sebaliknya, jika sebagai inhibitor yang menghambat aktivitas enzim CYP, senyawa kandidat dapat mengurangi metabolisme obat lain yang merupakan substrat untuk enzim CYP sehingga meningkatkan paparan terhadap senyawa kandidat itu sendiri (Dixit *et al.* 2017; Ghosal 2020). Hasil analisis menunjukkan bahwa sebagian besar senyawa paling tidak dapat menghambat aktivitas dari 2 jenis enzim CYP. Senyawa asam galat, bergamottin, dan asam klorogenik bahkan memiliki aktivitas inhibisi terhadap 3 jenis enzim CYP.

Uji toksisitas dilakukan berdasarkan prediksi mutagenisitas melalui simulasi uji Ames dan simulasi uji karsinogenisitas pada *mouse* dan *rat*. Hasilnya menunjukkan bahwa semua senyawa kandidat kecuali asam klorogenik terdeprotonasi bersifat mutagenik. Hasil uji Ames yang positif menunjukkan dugaan senyawa dapat menginduksi reaktivitas DNA. Tetapi pengujian lanjutan yang ekstensif secara *in vivo* untuk menilai potensi mutagenik dan karsinogenik akan diperlukan untuk menilai potensi risiko. Kemudian, terdapat juga hasil positif untuk asam galat, bergamottin, citropten, dan asam klorogenik dalam hal karsinogenisitas. Namun, seiring penelitian uji genotoksisitas berlanjut, menjadi jelas bahwa banyak senyawa kandidat obat yang saat ini memberikan temuan positif entah tidak bersifat karsinogenik atau karsinogen dengan mekanisme aksi nongenotoksik. Hal tersebut mengimplikasikan bahwa banyak senyawa memiliki informasi genotoksisitas yang tidak relevan untuk menilai resiko kanker. Bahkan beberapa di antaranya mungkin menjadi obat-obatan yang bermanfaat. (Friedrich & Olejniczak 2011; Walmsley & Billinton 2011). Terlebih lagi, semua senyawa yang dianalisis pada penelitian ini berasal dari isolasi bahan alam pada tanaman jeruk nipis.

Tabel 2. Analisis ADMET terhadap senyawa metabolit pada tanaman jeruk menggunakan program PreADMET.

No.	Senyawa	Absorpsi		Distribusi		Metabolisme				Mutagen	Karsinogen (mouse/rat)
		HIA (%)	Caco2 (nm/s)	PPB (%)	BBB (C_{otak} / C_{darah})	Inhibisi CYP2C1 9	Inhibisi CYP2C 9	Inhibisi CYP2D6	Inhibisi CYP3A 4		
1	Vitamin C	33,16	2,48	5,30	0,117	Tidak	Ya	Tidak	Ya	Ya	Tidak/Tidak
2	Vitamin C (deprotonasi)	34,83	2,73	3,92	0,293	Tidak	Ya	Tidak	Ya	Ya	Tidak/Tidak
3	Asam galat	53,69	13,85	65,38	0,348	Ya	Ya	Tidak	Ya	Ya	Tidak/Ya
4	Asam galat (deprotonasi)	54,12	14,49	47,91	0,352	Ya	Ya	Tidak	Ya	Ya	Tidak/Ya
5	Bergamottin	97,39	49,82	99,31	0,362	Ya	Ya	Tidak	Ya	Ya	Ya/Tidak
6	Citropten	97,85	46,93	78,49	1,819	Ya	Ya	Tidak	Tidak	Ya	Tidak/Ya
7	Asam klorogenat	20,43	18,71	41,96	0,034	Ya	Ya	Tidak	Ya	Ya	Ya/Tidak
8	Asam klorogenat (deprotonasi)	18,54	18,85	33,37	0,038	Ya	Ya	Tidak	Ya	Tidak	Ya/Tidak

KESIMPULAN

Citropten dan asam klorogenat berpotensi sebagai antioksidan. Nilai $\Delta\omega\pm$ mengindikasikan bahwa kedua senyawa tersebut berperan sebagai pendonor fraksi elektron (nukleofil). Sifat antioksidan dipengaruhi oleh pH. Vitamin C, asam galat, dan asam klorogenat keadaan terdeprotonasi memiliki sifat antioksidan lebih kuat daripada keadaan netral. Sedangkan analisis ADMET menunjukkan bahwa bergamottin, citropten dan asam klorogenat mampu menghambat enzim sitokrom P450 sehingga dapat meningkatkan bioavailabilitas antioksidan. Maka bergamottin, citropten dan asam klorogenat dapat pula berperan tidak langsung terhadap aktivitas antioksidan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Kami mengucapkan terima kasih kepada Kemendikbudristek atas pendanaan pada Riset Percepatan Lektor Kepala (RPLK) nomor 1959/UN6.3.1/PT.00/2021 dan Hibah Penelitian ALG nomor 1549/UN6.3.1/PT.00/2023.

DAFTAR PUSTAKA

- Barros, H.R.D.M., Ferreira, T.A.P.D.C. & Genovese, M.I. (2012). Antioxidant capacity and mineral content of pulp and peel from commercial cultivars of citrus from Brazil. *Food Chemistry*. **134**(4):1892–1898.
- Cerezo, J., Zúñiga, J., Bastida, A., Requena, A., Cerón-Carrasco, J. P. & Eriksson, L. A. (2012). Antioxidant properties of β -carotene isomers and their role in photosystems: insights from ab initio simulations. *The Journal of Physical Chemistry A*. **116**(13): 3498–3506.
- Chattaraj, P.K., Chakraborty, A. & Giri, S. (2009). Net electrophilicity. *The Journal of Physical Chemistry A*. **113**(37): 10068–10074.
- Czech, A., Malik, A., Sosnowska, B. & Domaradzki, P. (2021). Bioactive substances, heavy metals, and antioxidant activity in whole fruit, peel, and pulp of citrus fruits. *International Journal of Food Science*. **2021**: 1–14.
- Dixit, V. A., Lal, L.A. & Agrawal, S.R. (2017). Recent advances in the prediction of non-CYP450-mediated drug metabolism. *WIREs Computational Molecular Science*. **7**(6): e1323.
- Eslami, A.C., Pasanphan, W., Wagner, B.A. & Buettner, G.R. (2010). Free radicals produced by the oxidation of gallic acid: An electron paramagnetic resonance study. *Chemistry Central Journal*. **4**: 1–4.
- Fonseca, G.V., Fernandes, G.F., Machado, F.B. & Ferrão, L.F. (2022). Electronic structure and physicochemical properties of the metal and semimetal oxide nanoclusters. *Journal of Molecular Modeling*. **28**(10): 307.
- Foresman, J. B., & Frisch, A. (2015). *Exploring Chemistry with Electronic Structure Methods*. Gaussian, Inc. Pittsburgh.
- Friedrich, A. & Olejniczak, K. (2011). Evaluation of carcinogenicity studies of medicinal products for human use authorised via the European centralised procedure (1995–2009). *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. **60**(2): 225–248.
- Frisch, M. J., Trucks, G. W., Schlegel, H. B., Scuseria, G. E., Robb, M. A., Cheeseman, J. R., Scalmani, G., Barone, V., Mennucci, B., Petersson, G. A., Nakatsuji, H., Caricato, M., Li, X., Hratchian, H. P., Izmaylov, A. F., Bloino, J., Zheng, G., Sonnenberg, J. L., Hada, M., ... Fox, D. J. (2013). Gaussian 09 (Revision D.01). Gaussian, Inc.
- Gázquez, J.L., Cedillo, A. & Vela, A. (2007). Electrodonating and electroaccepting powers. *The Journal of Physical Chemistry A*. **111**(10): 1966–1970.
- Ghosal, A. (2020). Evaluation of the clearance mechanism of non-CYP-mediated drug metabolism and DDI as a victim drug. In Ma, S & Chowdhury, S.K. (Eds). *Identification and Quantification of Drugs, Metabolites, Drug Metabolizing Enzymes, and Transporters*. 2nd Ed. Pp. 237–271. Elsevier. Amsterdam.
- Indriyani, N.N., Anshori, J.A., Permadi, N., Nurjanah, S. & Julaeha, E. (2023). Bioactive components and their activities from different parts of *Citrus aurantifolia* (christm.) Swingle for food development. *Foods*. **12**(10): 2036.
- Khasanah, I., Ulfah, M. & Sumantri. (2014). Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanolik kulit buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dengan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). *Jurnal Ilmu Farmasi dan Farmasi Klinik*. **11**(2): 9–17.
- Panda, S.K. (2012). Assay guided comparison for enzymatic and non-enzymatic antioxidant activities with special reference to medicinal plants. *Antioxidant Enzyme*. **14**: 382–400.
- Lee, H.S., Kim, E.N. & Jeong, G.S. (2022). Ameliorative effect of citropten isolated from *Citrus aurantifolia* peel extract as a modulator of T cell and intestinal epithelial cell activity in DSS-induced colitis. *Molecules*. **27**(14): 4633.
- Leopoldini, M., Marino, T., Russo, N. & Toscano, M. (2004). Antioxidant properties of phenolic compounds: H-atom versus electron transfer mechanism. *The Journal of Physical Chemistry A*. **108**(22): 4916–4922.
- Levine, M., Ebenuwa, I. & Violet, P.-C. (2020). Vitamin C. In Brewer, G.J & Prasad, A. (Eds). *Essential and Toxic Trace Elements and Vitamins in Human Health*. 1st Ed. Academic Press. Massachusetts.
- Liu, Y., Ren, C., Cao, Y., Wang, Y., Duan, W., Xie, L., Sun, C. & Li, X. (2017). Characterization and purification of bergamottin from *Citrus grandis* (L.) Osbeck cv. Yongjiazaoxiangyou and its antiproliferative activity and effect on glucose consumption in HEPG2 cells. *Molecules*. **22**(7): 1227.

- Lobell, M., Molnár, L. & Keserü, G.M. (2003). Recent advances in the prediction of blood-brain partitioning from molecular structure. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. **92**(2): 360-370.
- Loizzo, M.R., Tundis, R., Bonesi, M., Menichini, F., De Luca, D., Colica, C. & Menichini, F. (2012). Evaluation of *Citrus aurantifolia* peel and leaves extracts for their chemical composition, antioxidant and anti-cholinesterase activities: *Citrus aurantifolia* bioactivity. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. **92**(15): 2960–2967.
- Lynch, T. & Price, A.M.Y. (2007). The effect of cytochrome P450 metabolism on drug response, interactions, and adverse effects. *American Family Physician*. **76**(3): 391-396.
- Ma, X.L., Chen, C. & Yang, J. (2005). Predictive model of blood-brain barrier penetration of organic compounds. *Acta Pharmacologica Sinica*. **26**(4): 500-512.
- Maesaroh, K., Kurnia, D. & Al Anshori, J. (2018). Perbandingan metode uji aktivitas antioksidan DPPH, FRAP dan FIC terhadap asam askorbat, asam galat dan kuersetin. *Chimica Et Natura Acta*. **6**(2): 93-100.
- Martínez, A., Rodríguez-Gironés, M. A., Barbosa, A. & Costas, M. (2008). Donator acceptor map for carotenoids, melatonin and vitamins. *The Journal of Physical Chemistry A*. **112**(38): 9037-9042.
- Masson, J., Liberto, E., Beolor, J.C., Brevard, H., Bicchi, C. & Rubiolo, P. (2016). Oxygenated heterocyclic compounds to differentiate Citrus spp. essential oils through metabolomic strategies. *Food Chemistry*. **206**: 223-233.
- Nasi, A., McArdle, S., Gaudernack, G., Westman, G., Melief, C., Rockberg, J., Arens, R., Kouretas, D., Sjölin, J. & Mangsbo, S. (2020). Reactive oxygen species as an initiator of toxic innate immune responses in retort to SARS-CoV-2 in an ageing population, consider N-acetylcysteine as early therapeutic intervention. *Toxicology Reports*. **7**: 768–771.
- Phan, T. (2020). Novel coronavirus: From discovery to clinical diagnostics. *Infection, Genetics and Evolution*. **79**: 104211.
- Prastiwi, S.S. & Ferdiansyah, F. (2017). Kandungan dan aktivitas farmakologi jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* Swing.). *Farmaka*. **15**(2): 1-8.
- Seruga, M. & Tomac, I. (2014). Electrochemical behaviour of some chlorogenic acids and their characterization in coffee by square-wave voltammetry. *International Journal of Electrochemical Science*. **9**(11): 6134-6154.
- Silvagno, F., Vernone, A. & Pescarmona, G. P. (2020). The role of glutathione in protecting against the severe inflammatory response triggered by COVID-19. *Antioxidants*. **9**(7): 624.
- Sterling, T. & Irwin, J.J. (2015). ZINC 15–ligand discovery for everyone. *Journal of Chemical Information and Modeling*. **55**(11): 2324-2337.
- Sumarlina, E.S.N., Heriyanto & Husen, I. R. (2017). Pengobatan tradisional berbasis kearifan lokal naskah mantra. *Jurnal Pengabdian Kepada Masyarakat*. **1**(4): 212–218.
- Sun, G.M., Zhang, X.M., Soler, A. & Marie-Alphonsine, P.A. (2016). Nutritional composition of pineapple (*Ananas comosus* (L.) Merr.). In Simmonds, M.S.J & Preedy, V.R. (Eds). *Nutritional composition of fruit cultivars*. Pp. 609-637. Academic Press. Massachusetts.
- Velkoska-Markovska, L., Jankulovska, M.S., Petanovska-Ilievska, B. & Hristovski, K. (2020). Development and validation of RRLC–UV method for determination of chlorogenic acid in green coffee. *Acta Chromatographica*. **32**(1): 34-38.
- Walmsley, R. M., & Billinton, N. (2011). How accurate is in vitro prediction of carcinogenicity?. *British Journal Of Pharmacology*. **162**(6): 1250-1258.
- Zhang, L.Y., Cosma, G., Gardner, H., Vallyathan, V. & Castranova, V. (2003). Effect of chlorogenic acid on hydroxyl radical. *Molecular and Cellular Biochemistry*. **247**, 205-210.
- Zhu, N., Zhang, D., Wang, W., Li, X., Yang, B., Song, J., Zhao, X., Huang, B., Shi, W., Lu, R., Niu, P., Zhan, F., Ma, X., Wang, D., Xu, W., Wu, G., Gao, G. F. & Tan, W. (2020). A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. *New England Journal of Medicine*. **382**(8): 727–733.