MASALIQ
Jurnal Pendidikan dan Sains

e-ISSN: 2808-8115
p-ISSN: 2809-1051

Terindeks: Sinta 5, Copernicus, Dimensions, Scilit, Lens, Crossref, Garuda, Google Scholar, Base, etc

https://doi.org/10.58578/masaliq.v6i6.12640

Potensi Senyawa Bioaktif dari *Manilkara zapota* sebagai Agen Antiporosis melalui Pendekatan *In Silico* terhadap Protein RANKL (3URF)

Potential of Bioactive Compounds from Manilkara zapota as Antiporosis Agents through an In Silico Approach Targeting RANKL Protein (3URF)

Intan Elwis Khairina Muzia & Alizar Ulianas
Universitas Negeri Padang
intanelwiskharinamuzia@gmail.com; alizarulianas@fmipa.unp.ac.id

Submitted:	Revised:	Accepted:	Published:
Sep 30, 2026	Oct 29, 2026	Nov 9, 2026	Nov 14, 2026

Abstract

Osteoporosis is characterized by reduced bone mass and an imbalance between bone formation and resorption. Receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand (RANKL) plays an important role in osteoclast differentiation, making it a potential target for the development of osteoporosis therapies. This study aimed to evaluate the potential of bioactive compounds from *Manilkara zapota* as candidate antiosteoporosis agents through an *in silico* approach using molecular docking against the RANKL protein (PDB ID: 3URF). Ten bioactive compounds were used as test ligands, with denosumab as the positive control. The study stages included protein and ligand preparation, redocking validation, molecular docking, drug-likeness evaluation, and ADMET prediction. Redocking yielded an RMSD value of 0.8827 Å. All test compounds yielded negative binding affinity scores against RANKL, indicating potential ligand–protein interactions based on computational modeling. Most compounds met the drug-likeness criteria and were predicted to have favorable ADMET profiles, whereas myricetin-3-O-glucoside and chlorogenic acid did not meet several drug-likeness parameters. These findings provide a preliminary computational basis for exploring bioactive compounds from *M. zapota* as candidate antiosteoporosis agents. However, docking scores and predicted pharmacokinetic properties do not yet demonstrate the compounds' biological activity, effectiveness, or safety, making further *in vitro* and *in vivo* testing necessary.

Keywords: *Manilkara zapota*; Osteoporosis; RANKL; Molecular Docking; ADMET

Masaliq Journal is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International License

Abstrak: Osteoporosis ditandai oleh penurunan massa tulang dan ketidakseimbangan antara pembentukan serta resorpsi tulang. *Receptor Activator of Nuclear Factor Kappa-B Ligand* (RANKL) berperan penting dalam diferensiasi osteoklas sehingga menjadi target potensial pengembangan terapi osteoporosis. Penelitian ini bertujuan mengevaluasi potensi senyawa bioaktif *Manilkara zapota* sebagai kandidat agen antiosteoporosis melalui pendekatan *in silico* menggunakan penambatan molekuler terhadap protein RANKL (PDB ID: 3URF). Sepuluh senyawa bioaktif digunakan sebagai ligan uji dengan denosumab sebagai kontrol positif. Tahapan penelitian mencakup preparasi protein dan ligan, validasi penambatan ulang, penambatan molekuler, evaluasi *drug-likeness*, serta prediksi ADMET. Penambatan ulang menghasilkan nilai RMSD sebesar 0,8827 Å. Seluruh senyawa uji menghasilkan skor afinitas pengikatan negatif terhadap RANKL, yang menunjukkan potensi interaksi ligan–protein berdasarkan pemodelan komputasional. Sebagian besar senyawa memenuhi kriteria *drug-likeness* dan diprediksi memiliki profil ADMET yang baik, sedangkan *myricetin-3-O-glucoside* dan *chlorogenic acid* tidak memenuhi beberapa parameter *drug-likeness*. Temuan ini memberikan dasar komputasional awal untuk mengeksplorasi senyawa bioaktif *M. zapota* sebagai kandidat agen antiosteoporosis. Namun, skor penambatan dan prediksi sifat farmakokinetik belum membuktikan aktivitas biologis, efektivitas, maupun keamanan senyawa, sehingga diperlukan pengujian lanjutan secara *in vitro* dan *in vivo*.

Kata Kunci: *Manilkara zapota*; Osteoporosis; RANKL; Penambatan Molekuler; ADMET.

PENDAHULUAN

Osteoporosis merupakan gangguan metabolik pada jaringan tulang yang berkaitan dengan berkurangnya massa tulang, perubahan mikroarsitektur, dan meningkatnya kerentanan terhadap fraktur karena ketidakseimbangan remodeling tulang (Zhou et al., 2023). Penyakit ini menjadi salah satu masalah kesehatan global yang prevalensinya terus meningkat, terutama pada populasi lanjut usia dan wanita pascamenopause, sehingga memberikan dampak yang besar terhadap kualitas hidup dan beban ekonomi di berbagai negara (Zhou et al., 2023). Proses remodeling tulang berlangsung melalui koordinasi aktivitas osteoblas dan osteoklas, sedangkan diferensiasi serta aktivasi osteoklas terutama dikendalikan oleh jalur Receptor Activator of Nuclear Factor-κB Ligand (RANKL). Interaksi antara RANKL dan reseptor RANK akan mengaktifkan proses osteoklastogenesis sehingga meningkatkan resorpsi tulang. Oleh karena itu, protein RANKL menjadi salah satu target utama dalam pengembangan terapi osteoporosis (Chen et al., 2023; Chi et al., 2023). Walaupun Denosumab dapat menekan aktivitas RANKL, penggunaannya masih menghadapi beberapa keterbatasan, antara lain biaya terapi yang relatif tinggi, kebutuhan penggunaan berkelanjutan, serta kemungkinan munculnya efek yang tidak diinginkan (Chen et al., 2023).

Tanaman obat merupakan salah satu sumber yang banyak dieksplorasi dalam pencarian kandidat obat karena menghasilkan beragam metabolit sekunder dengan aktivitas

biologis yang luas (Zhang et al., 2023). *Manilkara zapota* (L.) P. Royen atau sawo diketahui memiliki berbagai kelompok senyawa bioaktif, meliputi flavonoid, senyawa fenolik, triterpenoid, tanin, saponin, dan alkaloid (Rivas-gastelum et al., 2023). Beberapa senyawa yang telah berhasil diidentifikasi dari tanaman ini, antara lain myricetin, chlorogenic acid, caffeic acid, gallic acid, betulinic acid, oleanolic acid, β-amyrin, germanicol, L-arabinose, dan myricetin-3-*O*-glucoside, dilaporkan memiliki aktivitas biologis yang berpotensi mendukung kesehatan tulang melalui penghambatan stres oksidatif dan proses inflamasi yang berkaitan dengan osteoklastogenesis (Rivas-gastelum et al., 2023; Zhang et al., 2023). Namun, data mengenai kemampuan langsung senyawa tersebut berinteraksi dengan RANKL masih terbatas sehingga diperlukan kajian lebih lanjut.

Kemajuan teknologi komputasi memungkinkan penapisan awal kandidat obat melalui pendekatan *in silico* tanpa harus langsung melakukan seluruh rangkaian eksperimen biologis. *Molecular docking* merupakan salah satu pendekatan *in silico* yang dapat digunakan untuk memperkirakan kecenderungan ikatan, orientasi ligan, serta interaksi yang mungkin terbentuk pada protein target sebelum dilakukan pengujian secara in vitro maupun in vivo (Daina et al., 2017). Selain itu, analisis drug-likeness dan Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion, and Toxicity (ADMET) dapat digunakan untuk mengevaluasi sifat fisikokimia, farmakokinetik, serta profil keamanan suatu senyawa sehingga membantu proses seleksi kandidat obat yang lebih potensial (Pires et al., 2015).

Berdasarkan uraian tersebut, penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi potensi sepuluh senyawa bioaktif dari *Manilkara zapota*, yaitu betulinic acid, caffeic acid, chlorogenic acid, gallic acid, germanicol, L-arabinose, myricetin, β-amyrin, myricetin-3-*O*-glucoside, dan oleanolic acid sebagai kandidat agen antiporosis melalui pendekatan in silico menggunakan metode molecular docking terhadap protein RANKL (PDB ID: 3URF), dengan Denosumab sebagai ligan pembanding. Selain analisis molecular docking, dilakukan pula evaluasi *drug-likeness* dan ADMET untuk mengidentifikasi senyawa yang memiliki karakteristik terbaik sebagai kandidat agen antiporosis alami. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi dasar ilmiah bagi pengembangan senyawa bioaktif dari *Manilkara zapota* sebagai kandidat terapi osteoporosis yang selanjutnya dapat divalidasi melalui penelitian in vitro dan in vivo.

METODE

1. Preparasi Protein

Struktur tiga dimensi protein Receptor Activator of Nuclear Factor Kappa-B Ligand (RANKL) dengan PDB ID 3URF diambil dari Research Collaboratory for Structural Bioinformatics Protein Data Bank (RCSB PDB). Struktur protein kemudian dipreparasi dengan menghilangkan molekul yang tidak berperan dalam proses penambatan, seperti molekul air, ion, dan ligan kokristal. Atom hidrogen kemudian ditambahkan agar keadaan protonasi protein sesuai dengan kondisi yang digunakan dalam simulasi. Tahap minimisasi energi dilakukan untuk memperbaiki geometri struktur, mengurangi tumbukan sterik (*steric clashes*), serta menghasilkan konformasi protein yang lebih stabil sehingga siap digunakan sebagai reseptor dalam simulasi molecular docking.

2. Preparasi Ligan

Sebanyak sebelas ligan digunakan dalam penelitian ini, yang terdiri atas sepuluh senyawa bioaktif dari *Manilkara zapota*, yaitu β-amyrin, betulinic acid, chlorogenic acid, caffeic acid, gallic acid, germanicol, L-arabinose, myricetin-3-*O*-glucoside, myricetin, dan oleanolic acid, serta Denosumab sebagai ligan pembanding. Struktur tiga dimensi seluruh ligan diperoleh dari basis data **PubChem** dalam format Structure Data File (SDF). Selanjutnya, setiap ligan dikonversi ke format Protein Data Bank (PDB) dan dilakukan optimasi geometri menggunakan medan gaya Merck Molecular Force Field 94 (MMFF94) untuk memperoleh konformasi yang paling stabil. Penambahan muatan parsial juga dilakukan sebagai persiapan sebelum simulasi molecular docking.

3. Validasi Redocking

Validasi metode dilakukan melalui proses redocking menggunakan ligan asli (native ligand) yang terdapat pada struktur kristal protein RANKL (PDB ID: 3URF). Ligan tersebut didocking kembali ke dalam sisi aktif protein menggunakan parameter yang sama dengan simulasi molecular docking. Kesesuaian hasil prediksi dengan struktur kristal dinilai berdasarkan Root Mean Square Deviation (RMSD). Protokol docking dinyatakan valid apabila menghasilkan nilai RMSD $\leq$ 2,0 Å, yang menunjukkan bahwa metode mampu mereproduksi posisi ligan pada sisi aktif protein secara akurat.

4. Molecular Docking

Simulasi molecular docking dilakukan menggunakan perangkat lunak AutoDock Vina. Lokasi pengikatan (binding site) ditentukan berdasarkan posisi ligan asli pada struktur protein RANKL. Masing-masing ligan didocking ke dalam grid box yang telah ditentukan untuk mengevaluasi afinitas pengikatan dan pola interaksi dengan protein target. Hasil docking kemudian diurutkan berdasarkan nilai binding affinity (kcal/mol), di mana nilai energi ikatan yang lebih negatif menunjukkan afinitas interaksi yang lebih kuat. Konformasi dengan energi ikatan terendah dipilih sebagai pose terbaik untuk dianalisis lebih lanjut, termasuk identifikasi jenis interaksi yang terbentuk antara ligan dan residu asam amino pada sisi aktif protein.

5. Prediksi ADMET

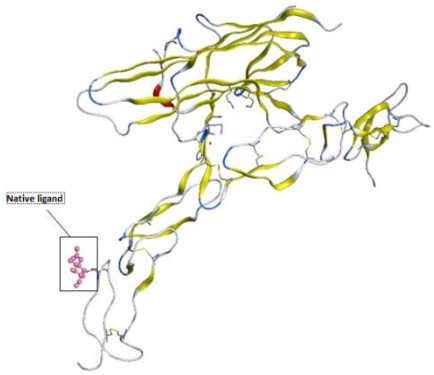
Seluruh senyawa yang telah dianalisis melalui molecular docking selanjutnya dievaluasi sifat farmakokinetik dan profil toksisitasnya menggunakan platform daring SwissADME dan ProTox-II. Parameter yang dianalisis meliputi absorpsi saluran cerna (gastrointestinal absorption), permeabilitas terhadap blood–brain barrier (BBB), potensi penghambatan enzim sitokrom P450 (CYP450), kelarutan dalam air, risiko hepatotoksisitas, mutagenisitas, serta estimasi nilai LD_{50}. Selain itu, dilakukan evaluasi terhadap karakteristik drug-likeness untuk menilai kelayakan masing-masing senyawa sebagai kandidat obat. Hasil prediksi tersebut digunakan untuk membandingkan potensi farmakokinetik dan keamanan senyawa bioaktif dari *Manilkara zapota* dengan Denosumab sebagai obat standar dalam terapi osteoporosis.

HASIL

1. Struktur protein target

Struktur tiga dimensi protein target Receptor Activator of Nuclear Factor Kappa-B Ligand (RANKL) dengan PDB ID: 3URF berhasil divisualisasikan untuk mengidentifikasi sisi aktif (binding pocket) yang digunakan dalam proses molecular docking (Gambar 1). Struktur protein tersusun atas α-helix**,** β-sheet, dan loop, sedangkan binding pocket merupakan lokasi interaksi antara ligan asli (native ligand) dan senyawa uji. Protein RANKL berperan penting dalam diferensiasi dan aktivasi osteoklas melalui jalur pensinyalan RANKL/RANK sehingga menjadi salah satu target utama dalam pengembangan terapi

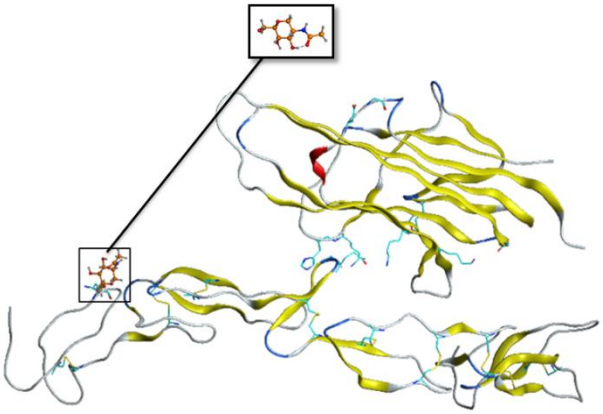
osteoporosis (Chen et al., 2023). Oleh karena itu, protein ini dipilih sebagai target untuk mengevaluasi potensi senyawa bioaktif dari *Manilkara zapota* sebagai kandidat agen antiporosis.



Gambar 1. Surface topology protein 3URF

2. Validasi docking

Validasi metode molecular docking dilakukan melalui proses redocking menggunakan ligan asli (native ligand) pada protein target Receptor Activator of Nuclear Factor Kappa-B Ligand (RANKL) (PDB ID: 3URF) untuk mengevaluasi keandalan parameter docking yang digunakan. Hasil redocking memberikan RMSD sebesar 0,8827 Å, lebih rendah daripada batas 2,0 Å yang digunakan dalam penelitian ini. Nilai tersebut menunjukkan kesesuaian posisi antara ligan hasil prediksi dan ligan pada struktur kristal. Selain itu, ligan hasil redocking tetap berinteraksi dengan beberapa residu asam amino pada sisi aktif protein, yang mengindikasikan bahwa protokol molecular docking mampu mereproduksi pola pengikatan ligan secara baik. Oleh karena itu, parameter docking yang digunakan dinilai layak untuk analisis interaksi senyawa bioaktif *Manilkara zapota* terhadap protein RANKL.



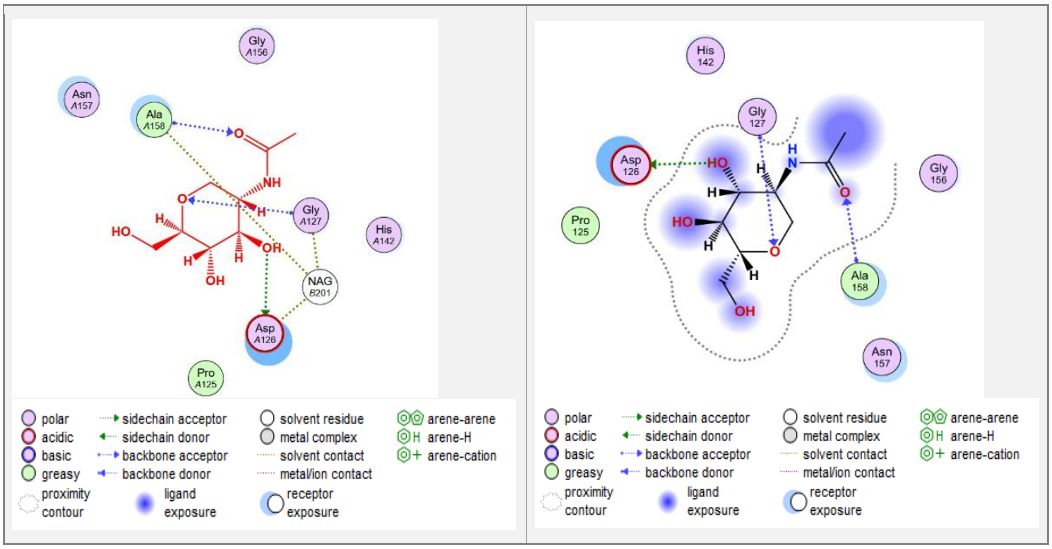
Gambar 2. Overlay crystal ligand dan redocking ligand RANKL

3. Molekular Docking

Hasil molecular docking menunjukkan nilai afinitas pengikatan (binding affinity) masing-masing senyawa bioaktif *Manilkara zapota* terhadap protein Receptor Activator of Nuclear Factor Kappa-B Ligand (RANKL) (PDB ID: 3URF). Nilai afinitas pengikatan setiap senyawa disajikan pada Tabel 1, sedangkan visualisasi interaksi antara ligan dan residu asam amino pada sisi aktif protein ditampilkan dalam bentuk diagram 2D (Gambar 3).

Tabel 1. Perbandingan interaksi kristal ligan dengan redocking RANKL

Compounds	S (Kcal/Mol)	Rmsd	H Bond	Metal Bond	Ionic Bond	Binding Factor	% Similarity
Co-crystal ligand	-	-	H-donor ASP 73 ASP 73 H-acceptor HOH 453 SER 129 TRP 60	-	-	-	H-bond donor similarity: 75% H-bond acceptor similarity: 40%
Re-docking ligand	-6.9485	0.8827	H-donor ASP 73 SER 129 TRP 60 H-acceptor TRP 88 TRP 88				



Gambar 3. Perbandingan interaksi native ligand dan hasil redocking ligand RANKL

Hasil docking menunjukkan bahwa seluruh senyawa bioaktif *Manilkara zapota* memiliki *binding affinity* negatif terhadap RANKL, yang mengindikasikan bahwa seluruh ligan mampu berinteraksi dengan protein target dan membentuk kompleks ligan–protein yang stabil. Nilai binding affinity yang diperoleh bervariasi pada setiap senyawa, menunjukkan

adanya perbedaan kekuatan interaksi terhadap protein RANKL. Selain nilai energi ikatan, hasil docking juga memperlihatkan perbedaan jumlah dan jenis interaksi yang terbentuk antara ligan dengan residu asam amino pada sisi aktif protein, seperti ikatan hidrogen (hydrogen bond) dan interaksi hidrofobik. Perbedaan pola interaksi tersebut memberikan informasi mengenai kecenderungan masing-masing senyawa dalam berasosiasi dengan protein target dan menjadi dasar untuk analisis lebih lanjut mengenai potensi senyawa bioaktif *Manilkara zapota* sebagai kandidat agen antiporosis.

4. Analisis Dru-Likeness (Lipinski dan Veber)

Hasil evaluasi drug-likeness berdasarkan Lipinski's Rule of Five dan Veber Rule disajikan pada Tabel 2. Penilaian *drug-likeness* menunjukkan bahwa sebagian besar senyawa yang diuji memiliki karakteristik fisikokimia yang sesuai dengan parameter kandidat obat oral berdasarkan parameter berat molekul, nilai LogP, jumlah donor dan akseptor ikatan hidrogen, jumlah ikatan rotasi, serta luas permukaan polar topologi (*Topological Polar Surface Area*, TPSA). Namun, beberapa senyawa menunjukkan satu atau lebih pelanggaran terhadap aturan tersebut. Myricetin-3-*O*-glucoside memiliki berat molekul, jumlah donor dan akseptor ikatan hidrogen, serta nilai TPSA yang melebihi batas yang dipersyaratkan, sedangkan chlorogenic acid menunjukkan pelanggaran pada jumlah donor dan akseptor ikatan hidrogen serta nilai TPSA. Di sisi lain, senyawa seperti caffeic acid**,** gallic acid**,** myricetin**,** L-arabinose**,** betulinic acid**,** β-amyrin**,** germanicol**,** dan oleanolic acid memenuhi sebagian besar parameter drug-likeness. Dengan demikian, hasil *drug-likeness* memberikan gambaran awal mengenai kelayakan fisikokimia senyawa sebelum dipertimbangkan pada tahapan pengembangan berikutnya.

Tabel 2. Evaluasi Drug-likeness senyawa bioaktif berdasarkan Lipinski's Rule of Five dan Veber Rule

No	**Compound Name**	**Lipinski Ro5**				**Veber**		***Bioavailability Score***	**Probabel**
		H-Donor (<5)	H-*Acceptor* (<10)	Log P (<5)	Mw (g/mol) (<500)	*Rotatable Bonds* (≤ 10)	PSA Å (<140)		
1.	Betulinic acid	2	3	7,08	456,7	2	57,53	0,85	*Drug-like molecule*
2.	Caffeic acid	3	4	1,19	180,16	2	77,76	0,56	*Drug-like molecule*
3.	Chlorogenic acid	6	9	-0,64	354,31	5	164.75	0,11	*Drug-like molecule*

4.	Gallic acid	4	5	0,5	170,12	1	97,99	0,56	*Drug-like molecule*
5.	Germanicol	0	2	8,73	468,75	2	192,398	0,55	*Drug-like molecule*
6.	L-arabinose	4	5	-2,58	150,13	0	90,15	0,55	*Drug-like molecule*
7.	Myricetin	6	8	1,69	318,24	1	151,59	0,55	*Drug-like molecule*
8.	Beta-amyrin	1	1	8,16	426,72	0	20,23	0,55	*Drug-like molecule*
9.	Myricetin 3-O-Glucoside	9	13	-0,83	480,38	4	230,74	0,17	*Drug-like molecule*
10.	Oleanolic acid	2	3	7,23	456,7	1	57,53	0,85	*Drug-like molecule*
11.	Denosumab (Control positif)	2	7	5,09	480,52	6	110,85	0,55	*Drug-like molecule*

5. Analisis ADMET Senyawa Bioaktif

No	Compound	GI	Water solubility (log mol/L)	Caco2 permeability (log Papp in 10-6 cm/s)	Intestinal absorption (% Absorbed)	PgpSubstrate	Pgp Inhibitor	VDss (human)(log L/kg)	Fraction unbound (human)(Fu)	CYP1A2Inhibitor	CYP2C19Inhibitor	CYP2C9Inhibitor	CYP2D6Inhibitor	CYP3A4Inhibitor	Renal OCT2(Substrate)	Total Clearance	Kelas toksisitas	Max. tolerated dose(log mg/kg/day)	Oral Rat Acute Toxicity (LD_{50}) (mol/kg)	Hepatotoxicity	AMES toxicity
1.	Betulinic acid	Low	-3,396	1,192	100	No	No	-1,118	0	No	No	Yes	No	No	No	0,116	-	0,3	2,322	Yes	No
2.	Caffeic acid	High	-1,671	0,264	68,465	No	No	-0,446	0,522	No	No	No	No	No	No	0,52	-	-0,106	2,422	No	No
3.	Chlorogenic acid	Low	-2,702	-0,835	22,257	No	No	-1,357	0,526	No	No	No	No	No	No	0,325	-	1,053	2,067	Yes	No
4.	Gallic acid	High	-1,736	-0,102	39,954	No	No	-0,109	0,57	No	No	No	No	Yes	No	0,599	-	-0,335	2,087	No	No
5.	Germanicol	Low	-6,755	1,326	98,713	No	Yes	0,182	0	No	No	No	No	No	No	-0,114	-	-0,001	2,435	No	No
6.	L-arabinose	Low	-0,19	0,405	62,456	No	No	-0,426	0,949	No	No	No	No	No	No	0,559	-	2,097	1,017	No	No
7.	Myricetin	Low	-2,978	0,126	71,15	No	No	0,396	0,064	Yes	No	No	No	Yes	No	0,462	-	0,822	2,784	No	No
8.	Beta-amyrin	Low	-6,585	1,249	96,018	No	Yes	0,315	0	No	No	No	No	No	No	-0,044	-	-0,312	2,296	No	No
9.	Myricetin 3-O-Glucoside	Low	-2,902	-0,833	41,578	No	No	0,703	0,128	No	No	No	No	No	No	0,479	-	0,456	2,596	No	Yes
10.	Oleanolic acid	Low	-3,147	1,188	100	No	No	-1,02	0	No	No	No	No	No	No	-0,081	-	0,335	2,246	No	No
11.	Denosumab (Control positif)	High	-3,153	0,809	100	Yes	Yes	0,463	0,095	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	No	0,372	-	0,434	2,923	Yes	No

Hasil prediksi ADMET disajikan pada Tabel 3. Sebagian besar senyawa bioaktif *Manilkara zapota* diperkirakan mempunyai absorpsi gastrointestinal yang tinggi, sedangkan myricetin-3-*O*-glucoside diprediksi memiliki absorpsi yang rendah. Pada parameter metabolisme, mayoritas senyawa tidak berpotensi menghambat enzim CYP450, meskipun beberapa senyawa fenolik diprediksi menghambat satu atau lebih isoenzim CYP. Dari parameter toksisitas yang dianalisis, hampir seluruh senyawa tidak memperlihatkan prediksi

mutagenisitas dan sebagian besar tidak menunjukkan hepatotoksisitas, sehingga secara umum memiliki profil farmakokinetik dan keamanan yang baik sebagai kandidat agen antiporosis.

PEMBAHASAN

Hasil validasi metode molecular docking menunjukkan nilai Root Mean Square Deviation (RMSD) sebesar 0,8827 Å, sehingga memenuhi kriteria validitas karena berada di bawah batas penerimaan ≤2,0 Å. Nilai RMSD tersebut menunjukkan bahwa protokol *docking* mampu mereproduksi posisi ligan asli (native ligand) pada sisi aktif protein Receptor Activator of Nuclear Factor Kappa-B Ligand (RANKL) (PDB ID: 3URF) dengan tingkat akurasi yang baik. Hasil ini menunjukkan bahwa prosedur yang diterapkan dapat menghasilkan kembali posisi native ligand pada binding site RANKL dengan penyimpangan yang kecil sehingga layak digunakan untuk mengevaluasi interaksi senyawa bioaktif *Manilkara zapota* terhadap protein RANKL (Ferreira et al., 2015; Pantsar & Poso, 2018). Hasil ini sejalan dengan penelitian Pantsar dan Poso (2018) yang menyatakan bahwa nilai RMSD kurang dari 2,0 Å menunjukkan kesesuaian yang baik antara konformasi ligan hasil prediksi dan struktur kristal, sehingga meningkatkan kepercayaan terhadap hasil simulasi molecular docking.

Berdasarkan hasil molecular docking, seluruh senyawa bioaktif *Manilkara zapota* memiliki nilai binding affinity yang bernilai negatif, yang menunjukkan bahwa seluruh ligan mampu berinteraksi secara spontan dengan protein RANKL dan membentuk kompleks ligan–protein yang stabil. Selain itu, setiap senyawa menghasilkan jumlah serta jenis interaksi yang berbeda dengan residu asam amino pada sisi aktif protein, seperti ikatan hidrogen (hydrogen bond) dan interaksi hidrofobik. Variasi tersebut dapat dikaitkan dengan perbedaan ukuran molekul, susunan struktur, serta gugus fungsional yang dimiliki ligan (Pagadala et al., 2017). Ikatan hidrogen dapat berkontribusi terhadap kestabilan kompleks melalui interaksi dengan residu tertentu pada protein (Torres et al., 2019). Mengingat protein RANKL merupakan regulator utama diferensiasi dan aktivasi osteoklas, kemampuan senyawa bioaktif *Manilkara zapota* berinteraksi dengan protein ini menunjukkan potensi sebagai kandidat agen antiporosis melalui mekanisme penghambatan jalur pensinyalan RANKL/RANK (Boyle et al., 2003).

Hasil evaluasi *drug-likeness* menunjukkan bahwa sebagian besar senyawa bioaktif *Manilkara zapota* memenuhi parameter Lipinski's Rule of Five dan Veber Rule, sehingga memiliki karakteristik fisikokimia yang mendukung untuk dikembangkan sebagai kandidat

obat oral. Namun, myricetin-3-*O*-glucoside menunjukkan beberapa pelanggaran terhadap aturan Lipinski karena memiliki jumlah donor dan akseptor ikatan hidrogen, serta nilai Topological Polar Surface Area (TPSA) yang melebihi batas yang direkomendasikan. Demikian pula, chlorogenic acid memiliki nilai TPSA yang tinggi sehingga diperkirakan dapat memengaruhi permeabilitas membran dan bioavailabilitas oral. Sebaliknya, senyawa seperti caffeic acid, gallic acid, betulinic acid, β-amyrin, germanicol, L-arabinose, myricetin, dan oleanolic acid memenuhi sebagian besar parameter yang dipersyaratkan. Menurut (Lipinski et al., 2001), aturan Lipinski digunakan sebagai pendekatan awal untuk memprediksi kemungkinan suatu senyawa memiliki absorpsi dan permeabilitas yang baik, sedangkan (Veber et al., 2002) menjelaskan bahwa jumlah ikatan rotasi dan nilai TPSA juga berpengaruh terhadap bioavailabilitas oral. Selain itu, Daina et al. (2017) menyatakan bahwa evaluasi *drug-likeness* merupakan tahap penting dalam proses penemuan obat berbasis komputasi.

Prediksi ADMET menunjukkan bahwa sebagian besar senyawa bioaktif *Manilkara zapota* memiliki profil farmakokinetik yang cukup baik. Sebagian besar senyawa diprediksi memiliki absorpsi gastrointestinal yang tinggi, sedangkan myricetin-3-*O*-glucoside menunjukkan absorpsi yang lebih rendah. Pada aspek metabolisme, mayoritas senyawa tidak diprediksi menghambat enzim sitokrom CYP450, meskipun beberapa senyawa fenolik berpotensi menghambat satu atau lebih isoenzim CYP. Berdasarkan parameter toksisitas, hampir seluruh senyawa tidak menunjukkan potensi mutagenisitas berdasarkan uji AMES, dan sebagian besar juga diprediksi tidak bersifat hepatotoksik. Hasil tersebut menunjukkan bahwa sebagian besar senyawa bioaktif *Manilkara zapota* memiliki profil keamanan yang cukup baik sebagai kandidat agen antiporosis. Meskipun demikian, hasil prediksi ADMET masih bersifat komputasional sehingga memerlukan konfirmasi melalui pengujian *in vitro* dan *in vivo*. (Banerjee et al., 2018) menjelaskan bahwa prediksi ADMET secara *in silico* sangat bermanfaat dalam proses seleksi awal kandidat obat karena mampu memperkirakan sifat farmakokinetik dan toksisitas sebelum dilakukan pengujian eksperimental. Hal yang sama juga dijelaskan oleh (Cheng et al., 2012), yang menyatakan bahwa evaluasi ADMET dapat meningkatkan efisiensi seleksi kandidat obat sebelum memasuki tahap pengujian biologis.

Secara keseluruhan, hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa bioaktif dari *Manilkara zapota* memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai kandidat agen antiporosis melalui penghambatan protein RANKL. Potensi tersebut didukung oleh validitas metode *molecular docking*, kemampuan seluruh senyawa membentuk kompleks yang stabil dengan protein target, karakteristik *drug-likeness* yang memadai, serta profil ADMET yang relatif baik.

Namun demikian, hasil penelitian ini masih merupakan prediksi berbasis komputasi sehingga diperlukan pengujian biologis lebih lanjut untuk mengonfirmasi aktivitas antiosteoporosis serta keamanan senyawa tersebut (Daina et al., 2017).

KESIMPULAN

Berdasarkan studi *in silico* yang dilakukan, sepuluh senyawa bioaktif *Manilkara zapota* menunjukkan potensi awal sebagai kandidat agen antiporosis melalui interaksi dengan RANKL. Validasi metode *molecular docking* menghasilkan nilai RMSD sebesar 0,8827 Å, yang menunjukkan bahwa protokol *docking* yang digunakan valid dan memiliki akurasi yang baik. Hasil *molecular docking* memperlihatkan bahwa seluruh senyawa uji memiliki nilai *binding affinity* negatif, yang mengindikasikan kemampuan membentuk kompleks yang stabil dengan protein target. Evaluasi *drug-likeness* menunjukkan bahwa sebagian besar senyawa memenuhi kriteria Lipinski's Rule of Five dan Veber Rule, meskipun myricetin-3-*O*-glucoside dan chlorogenic acid menunjukkan beberapa pelanggaran terhadap parameter tersebut. Selain itu, hasil prediksi ADMET menunjukkan bahwa sebagian besar senyawa memiliki profil farmakokinetik dan keamanan yang baik, ditandai dengan absorpsi gastrointestinal yang tinggi, tidak menghambat sebagian besar enzim CYP450, serta tidak menunjukkan potensi mutagenisitas maupun hepatotoksisitas. Dengan demikian, *Manilkara zapota* memiliki prospek untuk dikaji lebih lanjut sebagai sumber kandidat antiporosis, namun masih diperlukan pengujian *in vitro* dan *in vivo* untuk mengonfirmasi aktivitas biologis, mekanisme kerja, dan keamanannya.

DAFTAR PUSTAKA

Banerjee, P., Eckert, A. O., Schrey, A. K., & Preissner, R. (2018). ProTox-II: A webserver for the prediction of toxicity of chemicals. *Nucleic Acids Research, 46*(W1), W257–W263.

Boyle, W. J., Simonet, W. S., & Lacey, D. L. (2003). Osteoclast differentiation and activation. *Nature, 423*, 337–342.

Chen, J., Liao, X., & Gan, J. (2023). Review on the protective activity of osthole against the pathogenesis of osteoporosis. *Frontiers in Pharmacology, 14*, Article 1236893. https://www.frontiersin.org/journals/pharmacology/articles/10.3389/fphar.2023.1236893/full

Cheng, F., Li, W., Zhou, Y., Shen, J., Wu, Z., Liu, G., & Lee, P. W. (2012). *Supplementary information for the article: admetSAR: A comprehensive source and free tool for assessment of chemical ADMET properties*.

Chi, G., Qiu, L., Ma, J., Wu, W., & Zhang, Y. (2023). The association of osteoprotegerin and RANKL with osteoporosis: A systematic review with meta-analysis. *Journal of Orthopaedic Surgery and Research, 18*, Article 839. https://link.springer.com/article/10.1186/s13018-023-04179-5

Daina, A., Michielin, O., & Zoete, V. (2017). SwissADME: A free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Scientific Reports, 7*, Article 42717.

Ferreira, L. G., dos Santos, R. N., Oliva, G., & Andricopulo, A. D. (2015). Molecular docking and structure-based drug design strategies. *Molecules, 20*(7), 13384–13421. https://doi.org/10.3390/molecules200713384

Lipinski, C. A., Lombardo, F., Dominy, B. W., & Feeney, P. J. (2001). Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced Drug Delivery Reviews, 46*(1–3), 3–26.

Pagadala, N. S., Syed, K., & Tuszynski, J. (2017). Software for molecular docking: A review. *Biophysical Reviews, 9*, 91–102. https://link.springer.com/article/10.1007/s12551-016-0247-1

Pantsar, T., & Poso, A. (2018). Binding affinity via docking: Fact and fiction. *Molecules, 23*(8), Article 1899. https://www.mdpi.com/1420-3049/23/8/1899

Pires, D. E. V., Blundell, T. L., & Ascher, D. B. (2015). pkCSM: Predicting small-molecule pharmacokinetic and toxicity properties using graph-based signatures. *Journal of Medicinal Chemistry, 58*(9), 4066–4072.

Rivas-Gastelum, M. F., Garcia-Amezquita, L. E., Garcia-Varela, R., & Sánchez-López, A. L. (2023). *Manilkara zapota* "chicozapote" as a fruit source of health-beneficial bioactive compounds and its effects on chronic degenerative and infectious diseases, a review. *Frontiers in Nutrition, 10*, Article 1194283. https://doi.org/10.3389/fnut.2023.1194283

Torres, P. H. M., Sodero, A. C. R., Jofily, P., & Silva-Jr, F. P. (2019). Key topics in molecular docking for drug design. *International Journal of Molecular Sciences, 20*(18), Article 4574. https://www.mdpi.com/1422-0067/20/18/4574

Veber, D. F., Johnson, S. R., Cheng, H.-Y., Smith, B. R., Ward, K. W., & Kopple, K. D. (2002). Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates. *Journal of Medicinal Chemistry, 45*(12), 2615–2623.

Zhang, G., Liu, Z., Li, Z., Zhang, B., Yao, P., & Qiao, Y. (2023). Therapeutic approach of natural products that treat osteoporosis by targeting epigenetic modulation. *Frontiers in Genetics, 14*, Article 1182363. https://doi.org/10.3389/fgene.2023.1182363

Zhou, C., Shen, S., Zhang, M., Luo, H., Zhang, Y., Wu, C., Zeng, L., & Ruan, H. (2023). Mechanisms of action and synergetic formulas of plant-based natural compounds from traditional Chinese medicine for managing osteoporosis: A literature review. *Frontiers in Medicine, 10*, Article 1235081. https://www.frontiersin.org/journals/medicine/articles/10.3389/fmed.2023.1235081/full