



***Molecular Docking Approach Of Brewed Coffee Compounds  
As Neuroprotective Agent***

**Kajian Molekuler Docking Senyawa Kopi Seduh Sebagai Agen Neuroproteksi**

**Dewi Ratih Tirto Sari<sup>1\*</sup>, Reni Ustiatik<sup>2</sup>, Siti Zamilatul Azkiyah<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Program Studi Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Ibrahimy

<sup>2</sup>Departemen Ilmu Tanah, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya

\*[e-mail : dewiratihirtosari@ibrahimiy.ac.id](mailto:dewiratihirtosari@ibrahimiy.ac.id)

<b>Article History</b>	Received : 11 02 2023	Revised : 25 02 2023	Accepted : 25 03 2023
------------------------	-----------------------	----------------------	-----------------------

**Abstract:** *This study identified the potential neuroprotective effect of eight compounds in brewed coffee through acetylcholinesterase inhibition by molecular docking. Molecular docking approach was conducted in this study. Eight compounds involved 2-Ethyl- 3,5 – dimethylpyrazine, Guaiacol, 2-Isobutyl-3- methoxy pyrazine, 2- Methylpropanal, 3-Methyl – 2 – butene – 1 - thiol, 3-Methylbutanal, Furaneol, and 2 – Furfurylthiol were retrieved their structure from PubChem NCBI database and redocked with acetylcholinesterase by Molegro virtual docker version 5.0. then, the docking results were visualized and analyzed by PyMol 2.3 and Discovery Studio version 21.1.1. the docking studies performed that eight brewed coffee compound showed interaction with acetylcholinesterase at the protein gate and active sites. Even the interaction was not found in catalytic triad, the interaction of ligands – protein change the conformation and prevent the breaking down of acetylcholine to acetic acid and choline. This study suggested that eight brewed coffee compounds potentially as neuroprotective effect trough blocking acetylcholinesterase protein.*

**Keywords:** *acetylcholinesterase; brewed coffee compounds; molecular docking; neuroprotective*

**Abstrak:** Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi potensi senyawa yang terkandung dalam kopi seduh sebagai agen neuroprotektif melalui kajian molekuler docking. Delapan senyawa yang terkandung dalam kopi seduh, yaitu 2-Ethyl- 3,5 – dimethylpyrazine, Guaiacol, 2-Isobutyl-3- methoxy pyrazine, 2- Methylpropanal, 3-Methyl – 2 – butene – 1 - thiol, 3-Methylbutanal, Furaneol, dan 2 – Furfurylthiol diunduh dari PubChem NCBI dan kemudian didocking dengan acetylcholinesterase dengan program Molegro virtual docker version 5.0. selanjutnya hasil docking divisualisasi dan dianalisis menggunakan PyMol 2.3 dan Discovery Studio version 21.1.1. Hasil docking menunjukkan delapan senyawa kopi seduh berinteraksi dengan acetylcholinesterase pada *gate* dan sisi aktif. Meskipun residu yang diikat oleh kedelapan senyawa bukan merupakan daerah katalitik, tetapi interaksi ini menyebabkan perubahan konformasi protein, sehingga dapat mencegah hidrolisis acetylcholine menjadi asam asetat dan kolin. Penelitian ini disimpulkan bahwa kedelapan senyawa kopi seduh berpotensi sebagai agen neuroproteksi melalui penghambatan acetylcholinesterase.

**Kata Kunci:** *acetylcholinesterase; molecular docking; neuroproteksi; senyawa kopi seduh*

**How to cite:** Sari, Dewi Ratih Tirto. 2023. Kajian Molekuler Docking Senyawa Kopi Seduh Sebagai Agen Neuroproteksi. Natural Science: Jurnal Penelitian Bidang IPA dan Pendidikan IPA, 9(1): 103-111.



Licenses may copy, distribute, display and perform the work an make derivative and remixes based on it only if they give the author or licensor credits (attribution) in the manner specified by these. Licenses may copy, distribute, display, and perform the work and make derivative works a remixes based on it only for non-commercial purposes

## A. Pendahuluan

Kopi merupakan salah satu komoditas ekspor Indonesia, dengan keragaman jenis dan cita rasa kopi yang unik. Cita rasa atau aroma kopi yang unik pada setiap daerah bervariasi, yang dipengaruhi oleh beberapa faktor. Faktor lingkungan seperti kesuburan tanah, kandungan unsur hara, mikroorganisme tanah, tanaman pendamping/tumpangsari disekitar tanaman kopi akan berpengaruh pada cita rasa kopi (Jurburg et al., 2020; Prates Júnior et al., 2021). Jenis kopi secara umum ada kopi robusta dan arabica. Kopi robusta memiliki kecenderungan rasa yang pahit, sedangkan kopi arabica cenderung asam (Gobbi et al., 2023). Faktor lainnya yang berpengaruh terhadap cita rasa kopi yaitu teknik pengolahan kopi, mulai dari umur panen, pengeringan, teknik roasting, kematangan, hingga teknik seduh (Cordoba et al., 2019; Gobbi et al., 2023; Stanek et al., 2021). Kopi yang di *roasting* dengan kematangan yang berbeda akan menghasilkan rasa dan aroma yang berbeda pula. Demikian juga dengan teknik seduh kopi. Teknik *roasting* dan penyeduhan kopi secara tidak langsung berpengaruh terhadap senyawa metabolit kopi (Kocadağlı & Gökmen, 2016; Ludwig et al., 2012). Penyajian kopi dengan direbus atau dikenal dengan Turkish dilaporkan mengandung kafein 850 – 2330 mg/L, espresso memiliki kadar kafein yang lebih tinggi yakni hingga 5334 mg/L. kopi yang difilter mengandung kadar kafein hingga 2008 mg/L, French press hingga 1564 mg/L, dan mocha 2268 mg/L (Witkowska et al., 2020). Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa ekstraksi kopi juga berpengaruh pada aktivitas antioksidan. *Roasting* biji kopi mampu meningkatkan 20% aktivitas antioksidan yang diukur dengan Trolox. Selain itu, kopi espresso juga dapat meningkatkan kadar senyawa 5-caffeoylquinic acid dalam kopi dan meningkatkan aktivitas antioksidan hingga 76% (Kocadağlı & Gökmen, 2016).

Berbagai bioaktivitas kopi telah dipaparkan pada penelitian sebelumnya. Kulit kopi yang mengandung malic acid, quinic acid, chlorogenic acid memiliki aktivitas antivirus dengan menghambat spike glycoprotein SARSCOV-2, Main protease, dan papain like protease (Bare et al., 2022). Aktivitas senyawa kopi juga dilaporkan melalui kajian *in silico* mampu berpotensi sebagai antidiabetes (Bare, Helvina, et al., 2019), antihipertensi (Bare, Sari, et al., 2019). Selain itu kandungan kafein dan theobromine kopi juga dilaporkan dapat mengurangi gangguan neuron (Sari & Krisnamurti, 2022). meskipun aktivitas neuroprotektif senyawa kafein dan theobromine kopi telah dilaporkan, namun senyawa aromatic lain yang terkandung dalam kopi seduh belum teridentifikasi. Oleh karena itu, penelitian ini mengidentifikasi potensi senyawa yang terkandung dalam kopi seduh, diantaranya 2-Ethyl- 3,5 – dimethylpyrazine, Guaiacol, 2-Isobutyl-3- methoxy pyrazine, 2- Methylpropanal, 3-Methyl – 2 – butene – 1 - thiol, 3-Methylbutanal, Furaneol, dan 2 – Furfurylthiol sebagai agen neuroprotektif melalui penghambatan acetylcholinesterase secara *in silico*.

## B. Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan pendekatan *in silico* untuk mengidentifikasi sisi aktif senyawa kopi seduh terhadap protein target neuroprotektif. Protein target neuroprotektif yaitu acetylcholinesterase (Ache), yang diunduh struktur tiga

dimensinya dari Protein Data Bank dengan kode PDB ID 4EY6 (Cheung et al., 2012b). Senyawa yang terkandung dalam kopi seduh yakni sepuluh senyawa, diantaranya 2 - Furfurylthiol (CID\_7363), 3-Methyl - 2 - butene - 1 - thiol (CID\_146586), 2-Methylpropanal (CID\_6561), 3- Methylbutanal (CID\_11552), Guaiacol (CID\_460), Furaneol (CID\_19309), 2-Isobutyl-3- methoxypyrazine (CID\_32594), dan 2-Ethyl- 3,5 - dimethylpyrazine (CID\_26334). Delapan senyawa tersebut diunduh struktur 3D dari pangkalan data PubChem NCBI dengan kode akses masing-masing. Struktur protein acetylcholinesterase (Ache) dibuka dengan Molegro Virtual Docker versi 5.0 dan dioptimalisasi (Bitencourt-Ferreira & de Azevedo, 2019). Optimalisasi struktur protein diatur dengan parameter *init string: population size = 50; cavity = true; creation Energy Threshold = 100; pose Generator = 10, 10, 30; recombine = true; max simplex = 750; simplex steps = 300; simplex distance factor = 1; cluster threshold = 1.00; keep max poses = 5.*

Docking dilakukan dengan menginteraksikan 8 senyawa yang terkandung dalam kopi seduh dengan protein acetylcholinesterase. Docking dilakukan menggunakan program Molegro virtual docker versi 5.0 pada grid protein X: -4.5A; Y:-48.74A; Z:-16.29A, radius 12. Parameter docking diantaranya random session: 1439404622. Optimisasi docking dengan parameter *MolDock SE params: population size = 50, randomizeligand=1, cavity=1, recombine=1, creation energy threshold = 100, simplex distance factor = 1, simplex steps = 300, step size = [0.6,1.66667,0.05,0.5], mutate factor = 0.3, debug = 0, preoptimize = 0, mutate 2 = 0, mutate 1 = 0, deoptimize = 0, local optimize = 0, max simplex = 750, pose generator = [10,10,30]. Evaluator: Grid Resolution: 0.3, Torsion scheme: 1, Damp factor: 1, Include ligand electrostatics: No Use Sp2Sp2 bond term: No, Skip torsion term: No, Use EPenal: Yes, Use EIntra: Yes Use EInter: Yes, Max iterations: 1500, Ignore structural waters: No, Ignore cofactors: No, Tabu Clustering: disabled, treshold: 2, penalty: 100, rmsd calc: id., SoftenPotential: false.* Hasil docking divisualisasi dengan PyMol versi 2.3 dan dianalisis dengan program Discovery Studio versi 21.1.1.

### C. Hasil dan Pembahasan

Berdasarkan tampilan tiga dimensi kompleks struktur ligand - acetylcholinesterase, semua senyawa bioaktif yang terkandung dalam kopi seduh berikatan pada daerah yang sama yaitu sisi inhibitor. Menariknya, senyawa 3-Methyl - 2 - butene - 1 - thiol juga menunjukkan ikatan di residu-residu yang merupakan sisi aktif gate atau jalur masuknya ligand pada protein acetylcholinesterase (Gambar 1).

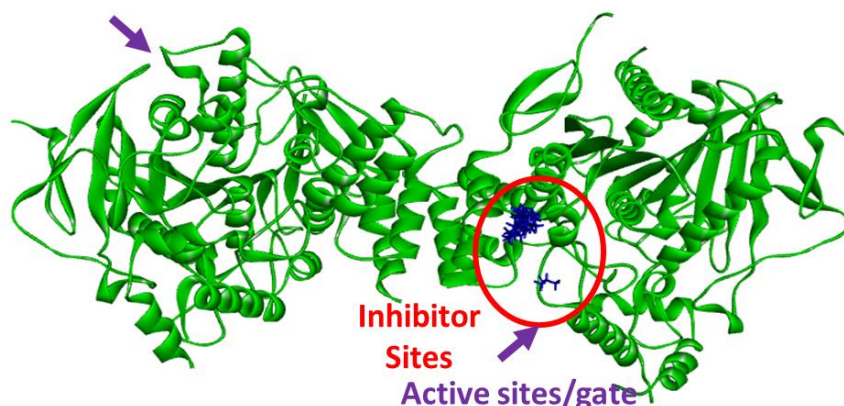
Senyawa Guaiacol menunjukkan 2 ikatan hydrogen pada residu HIS405 dan TRP532, keduanya mengikat atom hydrogen. Selain itu senyawa Guaiacol mengikat acetylcholinesterase dengan enam interaksi hidrofobik. Residu LEU536 mengikat atom karbon dengan interaksi hidrofobik jenis alkyl. Residu HIS405 dan TRP532 mengikat atom karbon C7 dengan  $\pi$ -alkyl. Selain itu juga terdapat dua residu yang mengikat

cincin benzene dengan  $\pi$ -alkyl/hidrofobik, yakni PRO235 dan PRO410. Senyawa 2-Methylpropanal berikatan dengan residu ARG296 acetylcholinesterase pada atom oksigen (O1) dengan ikatan hidrogen. Beberapa residu acetylcholinesterase juga teridentifikasi berikatan dengan atom karbon 2- Methylpropanal dengan alkyl hidrofobik, yakni LEU289, PRO290, ARG296, PRO290, ARG296, dan PRO368 (Gambar 2).

Senyawa 2 – Furfurylthiol juga menunjukkan interaksi dengan residu ASN233 dan ASN533 dengan ikatan hydrogen. Residu CYS409 juga teridentifikasi mengikat sulfur dengan ikatan  $\pi$ -sulfur. Residu PRO410 dan PRO235. Senyawa 3- Methylbutanal juga menunjukkan interaksi dengan acetylcholinesterase dengan 1 ikatan hydrogen pada residu ASN233 dan tiga interaksi hidrofobik pada residu PRO235, PRO410, dan HIS405. Furaneol mengikat protein acetylcholinesterase dengan dua ikatan hydrogen dan 6 interaksi hidrofobik. HIS405 mengikat atom oksigen dan ASN533 mengikat atom hydrogen, keduanya berikatan dengan ikatan hydrogen. Residu LEU536, CYS409, dan PRO410 mengikat atom C5, C6, dan C6 secara berurutan dengan interaksi hidrofobik alkyl. Residu HIS405 mengikat atom karbon C5 dengan  $\pi$ -alkyl, sedangkan TRP532 menunjukkan dua interaksi hidrofobik pada ikatan  $\pi$ -alkyl dengan C6. Senyawa 2-Ethyl- 3,5 – dimethylpyrazine menunjukkan interaksi dengan acetylcholinesterase dengan 1 ikatan hydrogen pada residu HIS405 dan 10 interaksi hidrofobik, 5 jenis interaksi alkyl dan 5 lainnya merupakan  $\pi$ -alkyl. Atom karbon C2 senyawa 2-Ethyl- 3,5 – dimethylpyrazine mengikat residu PRO235 dan PRO410, atom karbon C6 juga mengikat 2 residu yakni CYS409 dan PRO410 dengan interaksi alkyl. Selain itu, teridentifikasi 3 residu yang mengikat atom C6 dengan  $\pi$ -alkyl, yakni HIS405, TRP532 dan TRP532. Atom C8 diikat oleh residu LEU536 dengan interaksi alkyl, HIS405 dan TRP532 dengan interaksi  $\pi$ -alkyl. Residu PRO235 mengikat cincin benzene dengan  $\pi$ -alkyl.

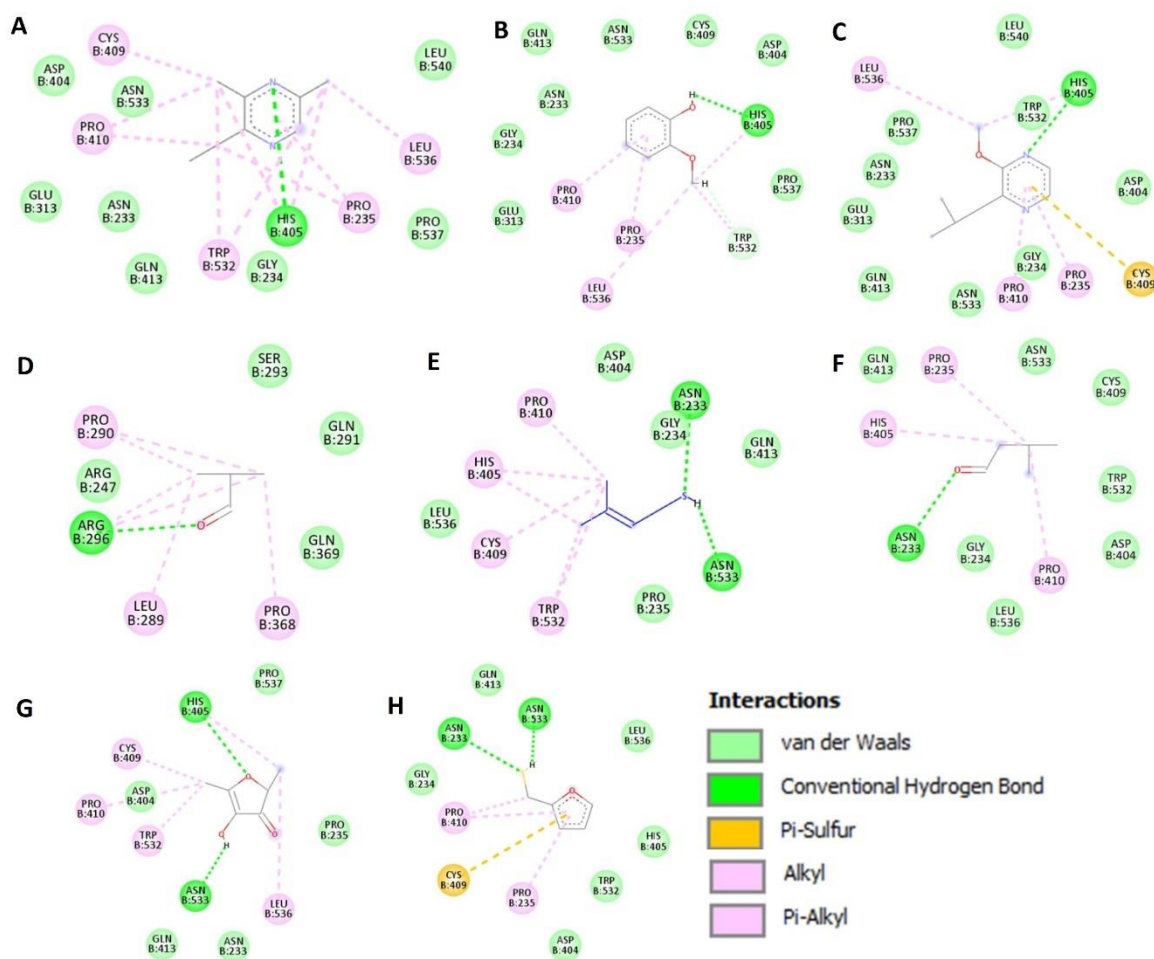
Senyawa 2-Isobutyl-3- methoxypyrazine menunjukkan satu ikatan hydrogen dan empat interaksi hidrofobik dengan acetylcholinesterase. Residu yang mengikat dengan ikatan hydrogen yaitu HIS405. Residu CYS409 mengikat cincin benzene dengan interaksi  $\pi$ -sulfur, selain itu residu PRO235 dan PRO410 juga menunjukkan ikatan dengan cincin benzen dengan ikatan  $\pi$ -alkyl. Residu LEU536 mengikat atom C9 dengan alkyl. Atom karbon C9 juga diikat oleh residu HIS405 dengan  $\pi$ -alkyl. Senyawa 3-Methyl – 2 – butene – 1 – thiol menunjukkan 2 ikatan hydrogen dan 8 interaksi

hidrofobik. Residu ASN233 mengikat atom sulfur dengan ikatan hydrogen, residu ASN533 juga menunjukkan ikatan hydrogen dengan mengikat atom hydrogen H10. Atom karbon C4 berikatan dengan residu CYS409 dan PRO410 dengan alkyl, selain itu residu HIS405, TRP532 dan TRP532 mengikat C4 dengan  $\pi$ -alkyl. Residu HIS405, TRP532, dan TRP532 juga menunjukkan interaksi dengan C3 dengan  $\pi$ -alkyl.



**Gambar 1.** Struktur 3D kompleks senyawa dalam kopi seduh, struktur acetylcholinesterase ditunjukkan dengan struktur pita hijau, sedangkan senyawa ditunjukkan dengan warna biru. Lingkaran merah menunjukkan daerah *inhibitor site* senyawa kopi, sedangkan panah ungu menunjukkan sisi aktif atau *gate* protein

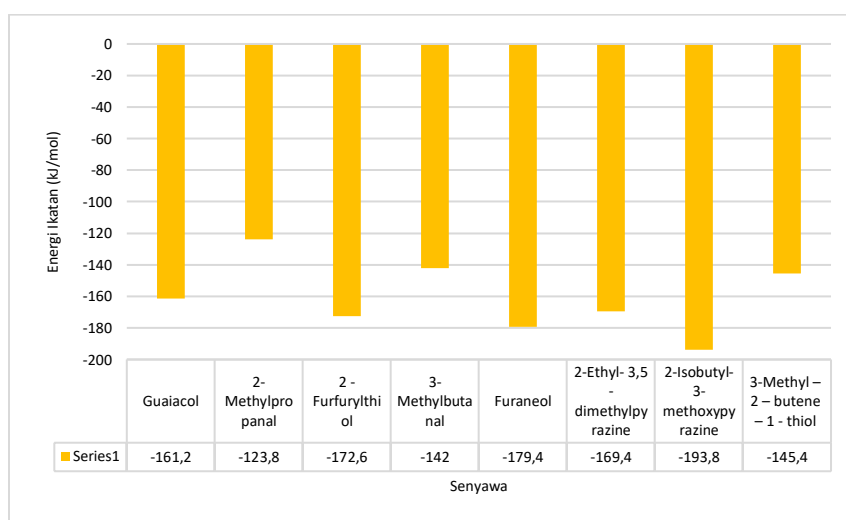
Energi ikatan senyawa 2-Isobutyl-3- methoxy pyrazine menunjukkan energi ikat yang paling rendah yakni -193,8 kJ/mol. Selanjutnya diikuti oleh furaneol dengan energi ikatan -179,4 kJ/mol. Energi yang paling tinggi yaitu 2- Methylpropanal dengan energi ikatan -123,8 kJ/mol (Gambar 3). Energi ikatan yang rendah mengindikasikan senyawa lebih kuat mengikat protein, karena kontribusinya dengan satu ikatan hydrogen, 3 interaksi hidrofobik, satu interaksi  $\pi$ -sulfur. Selain itu juga terdapat 9 gaya van der Waals yang berkontribusi dalam pembentukan energi. Semakin tinggi energi ikatan pada kompleks ligand – protein maka semakin lemah interaksinya. Energi ikatan ini dipengaruhi oleh beberapa factor, diantaranya jumlah ikatan, jenis ikatan, dan struktur ligand atau protein. Semakin banyak jumlah ikatan dan variasi jenis ikatan yang tinggi akan menurunkan energi ikata. Demikian pula struktur ligand / protein yang semakin kompleks, maka energi semakin rendah. Ikatan yang kuat antara ligand dengan protein target menyebabkan senyawa tidak mudah lepas dari kompleks senyawa – protein (Bare, Maulidi, et al., 2019; Bare et al., 2020; Krisnamurti et al., 2021; Sari, Dewi Ratih Tirto; Krisnamurti, 2021; Sari et al., 2022; Sari & Krisnamurti, 2022).



**Gambar 2.** Struktur 2D kompleks ikatan senyawa kopi seduh dengan protein acetylcholinesterase, A. 2-Ethyl- 3,5 – dimethylpyrazine, B. Guaiacol, C. 2-Isobutyl-3- methoxypyrazine, D. 2- Methylpropanal, E. 3-Methyl – 2 – butene – 1 - thiol, F. 3- Methylbutanal, G. Furaneol, H. 2 – Furfurylthiol.

Acetylcholinesterase merupakan enzim yang menghidrolisis acetylcholine menjadi choline dan asam asetat, yang berperan dalam aktivitas neuron, khususnya dalam fase istirahat setelah aktivasi neuron (Cheung et al., 2012a; Kwon et al., 2010; Zhao et al., 2017). Acetylcholinesterase juga menjadi target penghambatan dalam tindakan pencegahan maupun pengobatan. Berbagai inhibitor acetylcholinesterase yang dikembangkan, diantaranya senyawa alkaloid steroid seperti mokluangins A-C, antidysentericine, holaphyllamine, dan methylholaphyllamine (Cheenpracha et al., 2016). Donepezil, tacrine, rivastigmine dan galantamine telah dilaporkan sebagai inhibitor AChE reversible dan telah dikomersialkan sebagai obat alzheimer (Ali et al., 2017). Kajian molekuler docking dan molekuler dinamic acetylcholinesterase juga telah dilaporkan dalam beberapa penelitian untuk mengidentifikasi mekanisme potensi suatu senyawa atau molekul sebagai inhibitor acetylcholinesterase. Protein acetylcholinesterase dibagi menjadi beberapa domain, diantaranya catalytic triad, peripheral anionic site, acyl pocket, anionic site, oxyanionic hole, dan aromatic patch (Kiametis et al., 2017). Sisi katalitik acetylcholinesterase yaitu serine 203, histidine 447 dan glutamate 337, sedangkan daerah pengikatan inhibitor alosterik

acetylcholinesterase yaitu Trp286, Tyr124, Tyr72, Tyr341, dan Asp74. Acetylcholine mengikat di residu Ala204, Ser203, Glu202, Gly120, Gly122, Gly131, Phe297, Gly448, His447, dan Trp66 (Cheenpracha et al., 2016; Cheung et al., 2012a). Berdasarkan penelitian ini, kajian docking senyawa kopi seduh terhadap acetylcholinesterase menunjukkan pengikatan pada daerah non-katalitik. Namun, energi ikatan yang kuat antara senyawa kopi seduh dengan protein acetylcholinesterase menyebabkan konformasi protein native yang berubah, sehingga dimungkinkan acetylcholine tidak dapat mengikat protein di daerah substrat dan senyawa yang terkandung dalam kopi seduh berpotensi sebagai neuroprotektif.



Gambar 3. Energi ikatan senyawa kopi seduh dengan acetylcholinesterase

## D. Simpulan

Kopi seduh (*brewed coffee*) mengandung delapan senyawa bioaktif, diantaranya 2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazine, Guaiacol, 2-Isobutyl-3-methoxypyrazine, 2-Methylpropanal, 3-Methyl-2-butene-1-thiol, 3-Methylbutanal, Furaneol, dan 2-Furfurylthiol. Kedelapan senyawa tersebut berikatan kuat dengan acetylcholinesterase di sisi aktif protein dan berpotensi sebagai agen neuroprotektif dengan mekanisme perubahan konformasi protein. Perubahan konformasi protein menyebabkan aktivitas acetylcholinesterase yang menurun akibat substrat tidak mengikat di daerah nativenya.

## Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih kami sampaikan kepada CV.Delta Science yang telah memfasilitasi riset berupa software yang digunakan untuk analisis *in silico*.

## Daftar Pustaka

Ali, M. R., Sadoqi, M., Møller, S. G., Boutajangout, A., & Mezei, M. (2017). Assessing the binding of cholinesterase inhibitors by docking and molecular dynamics studies.

- Journal of Molecular Graphics & Modelling*, 76, 36–42.  
<https://doi.org/10.1016/j.jmglm.2017.06.027>
- Bare, Y., Helvina, M., Elizabeth, A., & Sari, D. R. T. (2019). Potensi Asam Kafeat Pada Kopi Sebagai Simultan Gen Peroxixme Proliferator-Activated Receptor Gamma (Ppar-Î³): Studi in Silico. *Saintek Lahan Kering*, 2(Vol 2 No 2 (2019): JSLK Desember 2019), 52–53. <http://savana-cendana.id/index.php/SLK/article/view/866>
- Bare, Y., Helvina, M., Krisnamurti, G. C., & S, M. (2020). The Potential Role of 6-gingerol and 6-shogaol as ACE Inhibitors in Silico Study. *Biogenesis: Jurnal Ilmiah Biologi*, 8(2), 210. <https://doi.org/10.24252/bio.v8i2.15704>
- Bare, Y., Maulidi, A., Sari, D. R. T., & Tiring, S. S. N. D. (2019). Studi in Silico Prediksi Potensi 6-Gingerol sebagai inhibitor c-Jun N-terminal kinases (JNK). *Jurnal Jejaring Matematika Dan Sains*, 1(2), 59–63. <https://doi.org/10.36873/jjms.v1i2.211>
- Bare, Y., Sari, D. R., Rachmad, Y. T., Tiring, S. S. N. D., Rophi, A. H., & Nugraha, F. A. D. (2019). Prediction Potential Chlorogenic Acid As Inhibitor Ace (In Silico Study). *Bioscience*, 3(2), 197. <https://doi.org/10.24036/0201932105856-0-00>
- Bare, Y., Timba, F. S., Putra, S. H. J., Nirmalasari, M. Y., Sari, D. R. T., & Taek, M. M. (2022). KAJIAN SENYAWA HEXOSE DAN MALIC ACID SEBAGAI INHIBITOR PAPAINE LIKE PROTEASE ( PLPro ) CORONA VIRUS. *Biosense*, 05(01), 128–137.
- Bitencourt-Ferreira, G., & de Azevedo, W. F. (2019). Docking Screens for Drug Discovery. In G. Bitencourt-Ferreira & W. F. de Azevedo (Eds.), *Methods in Molecular Biology* (Vol. 2053). Humana Press. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9752-7\\_12](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9752-7_12)
- Cheenpracha, S., Jitonnom, J., Komek, M., Ritthiwigrom, T., & Laphookhieo, S. (2016). Acetylcholinesterase inhibitory activity and molecular docking study of steroidal alkaloids from *Holarrhena pubescens* barks. *Steroids*, 108, 92–98. <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2016.01.018>
- Cheung, J., Rudolph, M. J., Burshteyn, F., Cassidy, M. S., Gary, E. N., Love, J., Franklin, M. C., & Height, J. J. (2012a). Structures of human acetylcholinesterase in complex with pharmacologically important ligands. *Journal of Medicinal Chemistry*, 55(22), 10282–10286. <https://doi.org/10.1021/jm300871x>
- Cheung, J., Rudolph, M. J., Burshteyn, F., Cassidy, M. S., Gary, E. N., Love, J., Franklin, M. C., & Height, J. J. (2012b). Structures of Human Acetylcholinesterase in Complex with Pharmacologically Important Ligands. *Journal of Medicinal Chemistry*, 55(22), 10282–10286. <https://doi.org/10.1021/jm300871x>
- Cordoba, N., Pataquiva, L., Osorio, C., Moreno, F. L. M., & Ruiz, R. Y. (2019). Effect of grinding, extraction time and type of coffee on the physicochemical and flavour characteristics of cold brew coffee. *Scientific Reports*, 9(1), 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-44886-w>
- Gobbi, L., Maddaloni, L., Prencipe, S. A., & Vinci, G. (2023). Bioactive Compounds in Different Coffee Beverages for Quality and Sustainability Assessment. In *Beverages* (Vol. 9, Issue 1). <https://doi.org/10.3390/beverages9010003>
- Jurburg, S. D., Shek, K. L., & McGuire, K. (2020). Soil microbial composition varies in response to coffee agroecosystem management. *FEMS Microbiology Ecology*, 96(9). <https://doi.org/10.1093/femsec/fiaa164>
- Kiametis, A. S., Silva, M. A., Romeiro, L. A. S., Martins, J. B. L., & Gargano, R. (2017). Potential acetylcholinesterase inhibitors: molecular docking, molecular dynamics, and in silico prediction. *Journal of Molecular Modeling*, 23(2). <https://doi.org/10.1007/s00894-017-3228-9>



- Kocadağlı, T., & Gökmen, V. (2016). Effect of roasting and brewing on the antioxidant capacity of espresso brews determined by the QUENCHER procedure. *Food Research International*, 89, 976–981. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.03.004>
- Krisnamurti, G. C., Sari, D. R., & Bare, Y. (2021). Capsaicinoids from *Capsicum annuum* as an Alternative FabH Inhibitor of Mycobacterium Tuberculosis : In Silico Study. *Makara Journal of Science*, 25(4), 195–202. <https://doi.org/10.7454/mss.v25i4.1248>
- Kwon, S. H., Lee, H. K., Kim, J. A., Hong, S. I., Kim, H. C., Jo, T. H., Park, Y. I., Lee, C. K., Kim, Y. Bin, Lee, S. Y., & Jang, C. G. (2010). Neuroprotective effects of chlorogenic acid on scopolamine-induced amnesia via anti-acetylcholinesterase and anti-oxidative activities in mice. *European Journal of Pharmacology*, 649(1–3), 210–217. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2010.09.001>
- Ludwig, I. A., Sanchez, L., Caemmerer, B., Kroh, L. W., De Peña, M. P., & Cid, C. (2012). Extraction of coffee antioxidants: Impact of brewing time and method. *Food Research International*, 48(1), 57–64. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.02.023>
- Prates Júnior, P., Veloso, T. G. R., de Cássia Soares da Silva, M., da Luz, J. M. R., Oliveira, S. F., & Kasuya, M. C. M. (2021). *Soil Microorganisms and Quality of the Coffee Beverage BT - Quality Determinants In Coffee Production* (L. Louzada Pereira & T. Rizzo Moreira (eds.); pp. 101–147). Springer International Publishing. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-54437-9\\_3](https://doi.org/10.1007/978-3-030-54437-9_3)
- Sari, Dewi Ratih Tirto; Krisnamurti, G. C. (2021). 1-dehydrogingerdione , Senyawa Volatil Jahe sebagai Agen Sedatif substitutif  $\gamma$  - aminobutyrate ( GABA ); Kajian Biokomputasi. *Prosiding Seminar Nasional Biologi*, 7(1), 389–395. <https://doi.org/https://doi.org/10.24252/psb.v7i1.24709>
- Sari, D. R. T., & Krisnamurti, G. C. (2022). In Silico Repositioning Strategies of Theobromine and Caffeine for Psychiatric and Neurological Disorders. *Proceeding International Conference on Religion, Science and Education*, 1, 685–692.
- Sari, D. R. T., Yusuf, H., Sifaiyah, L., Camelia, N. D., & Bare, Y. (2022). Kajian Farmakoinformatika Senyawa Brazilin dan 3-O-Methyl Brazilin *Caesalpinia sappan* Sebagai Terapi Demam Berdarah Dengue. *Al-Kimiya: Jurnal Ilmu Kimia Dan Terapan*, 9(1), 19–25.
- Stanek, N., Zarębska, M., Biłos, Ł., Barabosz, K., Nowakowska-Bogdan, E., Semeniuk, I., Błaszczewicz, J., Kulesza, R., Matejuk, R., & Szkutnik, K. (2021). Influence of coffee brewing methods on the chromatographic and spectroscopic profiles, antioxidant and sensory properties. *Scientific Reports*, 11(1), 1–13. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-01001-2>
- Witkowska, A. M., Mironczuk-Chodakowska, I., Terlikowska, K. M., Kulesza, K., & Zujko, M. E. (2020). Coffee and its biologically active components: Is there a connection to breast, endometrial, and ovarian cancer? - a review. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 70(3), 207–222. <https://doi.org/10.31883/pjfn/120017>
- Zhao, T., Su, G., Wang, S., Zhang, Q., Zhang, J., Zheng, L., Sun, B., & Zhao, M. (2017). Neuroprotective Effects of Acetylcholinesterase Inhibitory Peptides from Anchovy (*Coilia mystus*) against Glutamate-Induced Toxicity in PC12 Cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(51), 11192–11201. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b03945>