

Daya hambat ekstrak daun Kelor (*Moringa oleifera*) terhadap *Aeromonas hydrophila*: studi awal untuk pengobatan aeromoniasis.

Inhibition potency of drumstick leaf extract (*Moringa oleifera*) towards *Aeromonas hydrophila*: Preliminary Study for Aeromoniasis Treatment

Hapsari Kenconoajati^{1*} dan Nina Rofi' Rukmana¹

¹Program Studi Akuakultur, PSDKU Banyuwangi, Fakultas Perikanan dan Kelautan, Universitas Airlangga

Jl. Wijaya Kusuma 113, Banyuwangi, Jawa Timur, Telp: 0333-417788, Fax: 0333-428890

*Email: hapsari@fpk.unair.ac.id

Abstrak

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui daya antibakteri ekstrak etanol daun kelor terhadap *Aeromonas hydrophila* secara in vitro. Kandungan total flavonoid, alkaloid, tannin dan saponin ekstrak etanol daun kelor diuji menggunakan metode spektrofotometri. Uji antibakteri dilakukan dengan metode difusi cakram dan pengenceran tabung. Ekstrak etanol daun kelor mengandung total flavonoid sebesar 71.9 mg ekuivalen quercetin/g, total alkaloid sebesar 3 mg ekuivalen quinine/g, tannin sebesar 24.7 mg ekuivalen tannic acid/g dan saponin sebesar 44.4 mg/g. Hasil uji antibakteri menunjukkan adanya aktivitas penghambatan pertumbuhan *Aeromonas hydrophila* oleh ekstrak daun kelor secara signifikan ($P < 0.05$). Zona hambat terbesar dihasilkan oleh ekstrak daun kelor dengan konsentrasi 100% yaitu $9.9 \pm 0,162$ mm. Konsentrasi hambat minimal ekstrak daun kelor sebesar 3,125%, sedangkan konsentrasi bunuh minimal sebesar 6,25%. Berdasarkan penelitian ini dapat disimpulkan bahwa daun kelor dapat digunakan sebagai bahan alam alternatif antibakteri yang dapat diaplikasikan khususnya pada bidang akuakultur.

Kata kunci: *Aeromonas hydrophila*, daya hambat, ekstrak daun kelor

Abstract

The aim of this study was to know antibacterial potency of ethanolic extract of drumstick leaf against *Aeromonas hydrophila* in vitro. Total flavonoid, alkaloid, tannin and saponin of the ethanolic drumstick leaf extract were analyzed using spectrophotometry. Antibacterial activity test was carried out by disk diffusion and tube dilution method. Ethanolic extract of drumstick leaf contained flavonoids total as 71.9 mg quercetine equivalent/g, alkaloids total as 3 mg quinine equivalent/g, tannin as 24.7 mg tannic acid equivalent/g and saponin as 44.4 mg/g. The result of antibacterial test showed significant inhibition of *Aeromonas hydrophila* by drumstick leaf extract ($P < 0.05$). The highest inhibition zone was produced by drumstick leaf extract with concentration of 100% which is $9.9 \pm 0,162$ mm. The minimum inhibition concentration (MIC) of drumstick leaf extract is 3.125%, while the minimum bactericidal concentration (MBC) is 6.25%. Based on this study, it can be concluded that drumstick leaf can be used as an alternative natural product of antibacterial agent which can be applied especially in aquaculture.

Keywords: *Aeromonas hydrophila*, inhibition potency, drumstick leaf extract

PENDAHULUAN

Aeromonas hydrophila merupakan jenis bakteri Gram-negatif yang secara alami banyak ditemukan pada perairan. Bakteri ini dikenal sebagai penyebab penyakit *Motile Aeromonad Septicemia* (MAS) yang ditandai dengan adanya luka pada kulit, dan hemoragi pada insang (Vijayakumar *et al.*, 2017).

Bakteri *Aeromonas hydrophila* merupakan jenis bakteri patogen oportunistik yang menyerang ikan dalam kondisi lemah atau stress. Patogenitas dari bakteri ini disebabkan oleh adanya protein ekstraseluler yang dihasilkannya seperti aerolisin, lipase, kitinase, amilase, gelatinase, hemolisin, dan enterotoksin (Dias *et al.*, 2016). Infeksi bakteri ini dapat menyebabkan kematian masal mencapai 60-100% dalam rentang waktu 2-11 hari pada *catfish*, *carps* dan *perch* (Sarkar and Rashid, 2012).

Pengobatan terhadap infeksi aeromonas banyak dilakukan oleh pembudidaya dengan memberikan antibiotik. Namun, penggunaan antibiotik dalam jangka panjang dapat memunculkan beberapa efek negatif, diantaranya terjadinya pencemaran

lingkungan karena residu antibiotik dan berkurangnya efektivitas antibiotik karena resistensi patogen (Schmidt *et al.*, 2000). Oleh karena itu, pengembangan bahan alternatif yang dapat menggantikan antibiotik menjadi fokus utama dalam penelitian terkini. Tanaman obat merupakan bahan alternatif yang dapat dikembangkan sebagai pengganti antibiotik. Selain ketersediaannya yang melimpah, tanaman obat ini dinilai lebih ramah lingkungan dibandingkan antibiotik (Singh, 2015).

Kelor (*Moringa oleifera*) merupakan salah satu spesies dari family Moringaceae yang banyak tumbuh di daerah tropis hingga subtropis Asia dan Afrika (Iqbal and Bhangar, 2006). Daun kelor merupakan salah satu bagian tanaman kelor yang potensial untuk dimanfaatkan. Selain kandungan protein, vitamin dan mineralnya yang tinggi, daun kelor juga memiliki kandungan senyawa aktif diantaranya adalah senyawa fenolik dan flavonoid seperti asam kriptoklorogenat, isoquercetin, quercetin, kaempferol, astragalol, rutin dan vicenin-2

(Coppin *et al.*, 2013; Muhammad *et al.*, 2013).

Kandungan senyawa aktif di dalam kelor diketahui memiliki berbagai macam aktifitas biologis antara lain sebagai antioksidan, antidiabetes, antikanker, antifungi, anti-inflamasi dan antibakteri (Gopalakrishnan *et al.*, 2016). Ekstrak daun kelor telah diteliti memiliki kemampuan dalam menghambat bakteri Gram-negatif maupun Gram-positif seperti *Staphylococcus aureus*, *Vibrio parahaemolyticus*, dan *Aeromonas caviae* (Peixoto *et al.*, 2011). Berdasarkan hal tersebut, penelitian ini dilakukan bertujuan untuk mengetahui kemampuan ekstrak daun kelor dalam menghambat pertumbuhan *Aeromonas hydrophila*.

BAHAN DAN METODE

Persiapan Ekstrak Etanol Daun Kelor

Daun kelor dikumpulkan dari areal persawahan Kabupaten Banyuwangi, dicuci dan dikeringanginkan selama 7 hari. Daun kelor yang telah kering digiling dan ditimbang sebanyak 500 gram. Kemudian, daun kelor dimaserasi

dalam 1.5 L pelarut etanol selama 24 jam kemudian disaring. Fraksi etanol dipekatkan menggunakan rotary vacuum evaporator hingga diperoleh ekstrak kental dan disimpan dalam suhu 4 °C.

Kandungan Fitokimia Ekstrak Daun Kelor

Ekstrak etanol daun kelor dianalisis kandungan fitokimianya meliputi kandungan total flavonoid, total alkaloid, total tannin, dan saponin menggunakan metode spektrofotometri UV-Visible. Analisis fitokimia dilakukan di Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kelor

Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun kelor dilakukan menggunakan metode difusi kertas cakram Kirby Bauer seperti yang dilakukan oleh Genovese *et al.* (2012), dengan beberapa modifikasi. Isolat *Aeromonas hydrophila* diperoleh dari kultur koleksi Institut Pertanian Bogor. Uji difusi cakram dilakukan untuk mengetahui kemampuan aktivitas antibakteri ekstrak daun kelor berdasarkan pembentukan zona

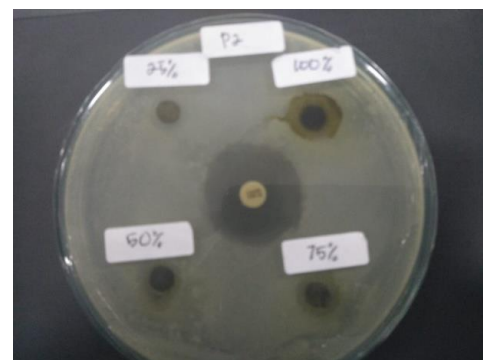
hambat. Kepadatan *Aeromonas hydrophila* dihitung menggunakan metode *Total Plate Count* (TPC) hingga menghasilkan kepadatan setara Mc Farland standar ($\pm 10^6$ - 10^8 CFU/mL). *Trypticase Soy Agar* (TSA) digunakan sebagai media uji. Kertas cakram berdiameter 6 mm yang telah direndam dalam setiap perlakuan ekstrak daun kelor dengan konsentrasi 25, 50, 75, dan 100 % diletakkan pada media uji yang telah mengandung *Aeromonas hydrophila*. DMSO digunakan sebagai kontrol negatif dan *oxytetracycline* digunakan sebagai kontrol positif. Isolat uji kemudian diinkubasi pada suhu 32 °C selama 24 jam, setelah itu dilakukan pengamatan adanya zona hambat yang ditandai dengan terbentuknya zona bening disekitar kertas cakram.

Konsentrasi hambat minimal (KHM) dan konsentrasi bunuh minimal (KBM) ekstrak daun kelor ditentukan menggunakan metode pengenceran tabung. Larutan ekstrak dilarutkan dalam media *Nutrient Broth* (NB) secara berseri hingga menghasilkan konsentrasi 25, 12.5, 6.25, 3.125, 1.56, 0.78, 0.39, 0.195, dan 0.09%. Kemudian, suspensi

bakteri sebanyak 0.2 mL ditambahkan dalam seri larutan tersebut dan diinkubasi pada suhu 32°C selama 24 jam. Daya hambat bakteri diketahui dengan menginokulasikan campuran dalam tabung pengenceran pada media TSA dengan metode streak dan diinkubasi kembali pada suhu 32°C selama 24 jam.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) pada konsentrasi yang berbeda menunjukkan adanya aktivitas antibakteri terhadap *Aeromonas hydrophila* yang ditunjukkan adanya daya hambat berupa zona bening di sekitar kertas cakram pada Gambar 1.



Gambar 1. Zona hambat ekstrak daun kelor terhadap bakteri *Aeromonas hydrophila*

Semakin besar diameter zona hambat yang dihasilkan menunjukkan semakin tingginya kemampuan ekstrak atau zat dalam menghambat

pertumbuhan bakteri. Hasil uji difusi cakram ekstrak daun kelor terhadap *Aeromonas hydrophila* ditampilkan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Diameter zona hambat *Aeromonas hydrophila*

Perlakuan	Diameter Zona Hambat (mm)
DMSO	0.00 ^d ± 0,000
Oksitetrasiklin	23.5 ^a ± 0.59
25% ekstrak	7.50 ^c ± 1.22
50% ekstrak	8.20 ^{bc} ± 0.79
75% ekstrak	9.70 ^b ± 1.46
100% ekstrak	9.90 ^b ± 1.62
P-value	<0.001

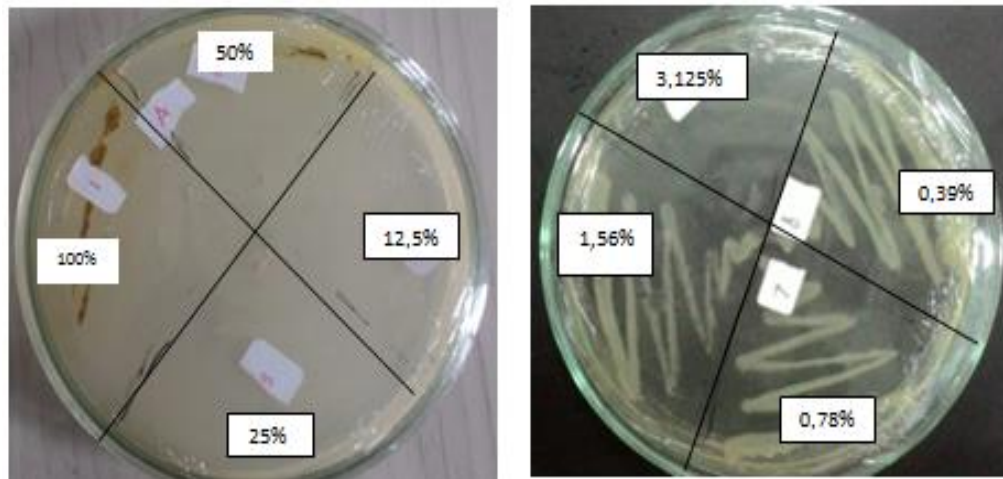
Keterangan : Data ditampilkan dalam nilai rata-rata ± SD; Nilai rata-rata pada kolom yang diikuti huruf *superscript* berbeda menunjukkan perbedaan signifikan antar perlakuan (P<0.05)

Berdasarkan dari hasil analisis data menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan (P<0,05) pada perlakuan tanpa pemberian ekstrak dan perlakuan dengan pemberian ekstrak. Hasil terbaik terdapat pada konsentrasi ekstrak 100% dengan rata-rata diameter zona hambat sebesar 9.90±1.62 mm sedangkan kelompok perlakuan terendah terletak pada konsentrasi 25% dengan rata-rata diameter zona hambat sebesar 7.50±1.22 mm. Berdasarkan hasil tersebut menunjukkan bahwa semakin tinggi dosis ekstrak yang

digunakan maka semakin besar pula diameter zona hambat yang terbentuk.

Dimetilsulfoksida (DMSO), sebagai kontrol negatif, menunjukkan tidak adanya zona hambat sehingga dapat disimpulkan bila aktivitas antibakteri berasal dari senyawa aktif pada ekstrak etanol daun kelor. Bila dibandingkan dengan perlakuan oksitetrasiklin, maka aktivitas antibakteri ekstrak daun kelor tergolong sangat lemah. Rata-rata nilai daya hambat oksitetrasiklin terhadap bakteri *Aeromonas hydrophila* sebesar 23.5 ± 0.59 mm. Sesuai penelitian yang dilakukan Indu et al., (2006), oksitetrasiklin memiliki daya hambat bakteri sangat aktif karena menghasilkan zona hambat lebih besar dari 16 mm.

Konsentrasi Bunuh Minimal ekstrak daun kelor terhadap bakteri *Aeromonas hydrophila* terdapat pada pemberian konsentrasi ekstrak daun kelor 6,25%. Hal ini terlihat dari tidak adanya pertumbuhan bakteri pada media TSA, sedangkan Konsentrasi Hambat Minimal terdapat pada konsentrasi 3,125%. Hasil uji dilusi dapat dilihat pada gambar 3.



Gambar 3. Streak Hasil Uji Dilusi Ekstrak Daun Kelor terhadap *Aeromonas hydrophila*

Aktivitas antibakteri yang ditunjukkan oleh ekstrak etanol daun kelor diketahui berasal dari kandungan senyawa fitokimia di dalamnya. Senyawa fitokimia merupakan suatu substansi kimia dihasilkan oleh tanaman sebagai metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, tannin, terpenoid dan saponin. Secara alami, senyawa ini terdapat dalam tanaman sebagai suatu mekanisme perlindungan diri dari penyakit dan kerusakan dari lingkungan luar. Dalam beberapa penelitian disebutkan bahwa senyawa ini memiliki aktivitas biologis tertentu diantaranya antimikroba, antioksidan, antikanker, dan peningkat system imun (Saxena *et al.*, 2013; Singh, 2015).

Berdasarkan dari hasil penelitian, ekstrak etanol daun kelor

yang diperoleh melalui metode maserasi menunjukkan keberadaan kandungan fitokimia meliputi flavonoid, alkaloid, tannin dan saponin. Hasil ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Patel *et al.* (2014), menunjukkan kandungan fitokimia berupa alkaloid, flavonoid, saponin, steroid, dan tannin pada ekstrak etanol daun kelor. Proporsi kandungan fitokimia ekstrak etanol daun kelor pada penelitian ini adalah sebagai berikut total flavonoid sebesar 71.9 mg ekuivalen quercetin/g, total alkaloid sebesar 3 mg ekuivalen quinine/g, tannin sebesar 24.7 mg ekuivalen tannic acid/g dan saponin sebesar 44.4 mg/g. Secara kuantitatif, kandungan fitokimia yang terbanyak adalah flavonoid, sedangkan

kandungan yang terkecil adalah alkaloid.

Flavonoid adalah merupakan senyawa polifenol yang memiliki berat molekul yang rendah dan banyak ditemukan pada tumbuhan. Flavonoid memiliki kerangka atom karbon sebanyak 15 atom yang tersusun dalam kerangka dasar C₆-C₃-C₆. Beranekaragam gugus fungsi dapat terikat pada senyawa ini sehingga menyebabkan perbedaan struktur, reaktivitas, kestabilan, dan kelarutan dari flavonoid. Keanekaragaman struktur dan fungsi dari flavonoid membuat senyawa ini memiliki peran yang luas pada tanaman. Fungsi utamanya pada tanaman adalah memproteksi tanaman dari stress yang berasal dari lingkungan seperti radiasi sinar UV, panas, dan pathogen (Khalid *et al.*, 2019).

Erian *et al.* (2016), melaporkan bahwa kandungan flavonoid total ekstrak etanol daun kelor sebesar 20.43 mg QE/g, sedangkan Sulastri *et al.*, (2018) menyebutkan bahwa kandungan flavonoid total ekstrak etanol daun kelor sebesar 96 mg QE/g. Hasil yang diperoleh pada penelitian ini menunjukkan jumlah

yang berbeda. Hal ini dikarenakan kelimpahan flavonoid pada suatu tanaman akan bervariasi bergantung pada factor lingkungan dan tempat tumbuh tanaman tersebut (Ma *et al.*, 2018). Flavonoid diketahui memiliki aktivitas antibakteri dengan menjalankan mekanisme yaitu menghambat sintesis asam nukleat dari bakteri, merusak fungsi membrane sitoplasma, menghambat metabolisme dari bakteri, menghambat sintesis membrane sel dan mengagregasi sel bakteri (Cushnie and Lamb, 2005; Xie *et al.*, 2015).

Tanin termasuk senyawa fenolik yang memiliki struktur bervariasi dan memiliki kemampuan dalam mengikat dan mempresipitasi protein. Di dalam tanaman, tanin digolongkan menjadi 3 golongan yang memiliki karakteristik yang berbeda yaitu *hydrolyzable tanin* (HT), *condensed tannin* (CT) dan *phlorotannin* (PT) (Huang *et al.*, 2018). Toksisitas tannin pada mikroorganisme terjadi melalui mekanisme penghambatan enzim ekstraseluler bakteri, penghambatan metabolisme bakteri dengan menghambat reaksi fosforilasi

oksidative bakteri, pembentukan kompleks dengan mengikat ion logam sehingga meningkatkan permeabilitas membran bakteri (Scalbert, 1991).

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun kelor mengandung senyawa fitokimia berupa flavonoid, alkaloid, saponin dan tannin yang mampu menghambat pertumbuhan *Aeromonas hydrophila* secara in vitro. Penelitian lebih lanjut secara in vivo sangat diperlukan untuk mengetahui efektivitas ekstrak daun kelor dalam pengobatan Aeromoniasis pada ikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Coppin, J.P., Xu, Y., Chen, H., Pan, M., Ho, C., Simon, J.E., Wu, Q., 2013. Determination of flavonoids by LC / MS and anti-inflammatory activity in *Moringa oleifera*. *J. Funct. Foods* 5, 1892–1899. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2013.09.010>.
- Cushnie, T.P.T., Lamb, A.J., 2005. Antimicrobial activity of flavonoids. *Int. J. Antimicrob. Agents* 26, 343–356. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2005.09.002>.
- Dias, M.K.R., Sampaio, L.S., Proietti-junior, A.A., Yoshioka, E.T.O., Rodrigues, D.P., Rodriguez, A.F.R., Ribeiro, R.A., Faria, F.S.E.D. V, Ozório, R.O.A., Tavares-dias, M., 2016. Lethal dose and clinical signs of *Aeromonas hydrophila* in *Arapaima gigas* (Arapaimidae), the giant fish from Amazon. *Vet. Microbiol.* 188, 12–15. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2016.04.001>.
- Erian, N.S., Hamed, H.B., Alnidawi, N.A.A., Elhalwagi, A., Elhamid, E.M.A., Farid, M., 2016. Biochemical studies on *Moringa oleifera* leaves extract. *J. Biol. Agric. Healthc.* 6, 33–42.
- Genovese, G., Faggio, C., Gugliandolo, C., Torre, A., Spanò, A., Morabito, M., Maugeri, T.L., 2012. In vitro evaluation of antibacterial activity of *Asparagopsis taxiformis* from the Straits of Messina against pathogens relevant in aquaculture. *Mar. Environ. Res.* 73, 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2011.10.002>.
- Gopalakrishnan, L., Doriya, K., Kumar, D.S., 2016. *Moringa oleifera*: A review on nutritive importance and its medicinal application. *Food Sci. Hum. Wellness* 5, 49–56. <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2016.04.001>.
- Huang, Q., Liu, X., Zhao, G., Hu, T., Wang, Y., 2018. Potential and challenges of tannins as an alternative to in-feed antibiotics for farm animal production. *Anim. Nutr.* 4, 137–150. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2017.09.004>.
- Indu, M.N., Hatha, A.A.M., Abirosh, C., Harsha, U., Vivekanandan, G., 2006. Antimicrobial activity of some of the South-Indian spices against serotypes of *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Listeria monocytogenes* and *Aeromonas hydrophila*. *Brazilian J. Microbiol.* 37, 153–158.
- Iqbal, S., Bhangar, M.I., 2006. Effect of season and production location on antioxidant activity of *Moringa oleifera* leaves grown in Pakistan. *J. Food Compos. Anal.* 19, 544–551. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2005.05.001>.
- Khalid, M., Rahman, S., Bilal, M., Dan-feng, H., 2019. Role of flavonoids in plant interactions with the environment and against human pathogens - A review. *J. Integr. Agric.* 18, 211–230.

- [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(19\)62555-4](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(19)62555-4).
- Ma, Z.F., Ahmad, J., Zhang, H., Khan, I., Muhammad, S., 2018. Evaluation of phytochemical and medicinal properties of Moringa (*Moringa oleifera*) as a potential functional food. *South African J. Bot.* <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2018.12.002>.
- Muhammad, A.A., Pauzi, N.A.S., Arulselvan, P., Abas, F., Fakurazi, S., 2013. In vitro wound healing potential and identification of bioactive compounds from *Moringa oleifera* Lam. *Biomed Res. Int.* 2013. <https://doi.org/10.1155/2013/974580>.
- Patel, P., Patel, N., Patel, D., Desai, S., Meshram, D., 2014. Phytochemical analysis and antifungal activity of *Moringa oleifera*. *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.* 6, 144–147.
- Peixoto, J.R.O., Silva, G.C., Costa, R.A., de Sousa Fontenelle, J. res L., Vieira, G.H.F., Filho, A.A.F., Vieira, R.H.S. dos F., 2011. In vitro antibacterial effect of aqueous and ethanolic *Moringa* leaf extracts. *Asian Pac. J. Trop. Med.* 4, 201–204. [https://doi.org/10.1016/S1995-7645\(11\)60069-2](https://doi.org/10.1016/S1995-7645(11)60069-2).
- Sarkar, M.J.A., Rashid, M.M., 2012. Pathogenicity of the bacterial isolate *Aeromonas hydrophila* to catfishes , carps and perch. *J. Bangladesh Agric. Univ.* 10, 157–161.
- Saxena, M., Saxena, J., Nema, R., Singh, D., Gupta, A., 2013. Phytochemistry of medicinal plants. *J. Pharmacogn. Phytochem.* 1, 168–182.
- Scalbert, A., 1991. Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry* 30, 3875–3883.
- Schmidt, A.S., Bruun, M.S., Dalsgaard, I., Pedersen, K., Larsen, J.L., 2000. Occurrence of antimicrobial resistance in fish-pathogenic and environmental bacteria associated with four danish rainbow trout farms. *Appl. Environ. Microbiol.* 66, 4908–4915.
- Singh, R., 2015. Medicinal plants : A review. *J. Plant Sci.* 3, 50–55. <https://doi.org/10.11648/j.jps.s.2015030101.18>.
- Sulastri, E., Zubair, M.S., Anas, N.I., Abidin, S., Hardani, R., Yulianti, R., Aliyah, 2018. Total phenolic, total flavonoid, quercetin content and antioxidant activity of standardized extract of *Moringa oleifera* leaf from regions with different elevation. *Pharmacogn. J.* 10, s104–s108.
- Vijayakumar, S., Vaseeharan, B., Malaikozhundan, B., Gobi, N., Ravichandran, S., Karthi, S., Ashokkumar, B., Sivakumar, N., 2017. A novel antimicrobial therapy for the control of *Aeromonas hydrophila* infection in aquaculture using marine polysaccharide coated gold nanoparticle. *Microb. Pathog.* 110, 140–151. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2017.06.029>.
- Wonglapsuwan, M., Kongmee, P., Suanyuk, N., 2016. Roles of phagocytosis activating protein (PAP) in *Aeromonas hydrophila* infected *Cyprinus carpio*. *Dev. Comp. Immunol.* 59, 25–33. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2015.12.021>.
- Xie, Y., Yang, W., Tang, F., Chen, X., Ren, L., 2015. Antibacterial activities of flavonoids : structure-activity relationship and mechanism. *Curr. Med. Chem.* 22, 132–149. <https://doi.org/10.2174/0929867321666140916113443>.