
**Studi In Silico Senyawa Alkaloid Herba Bakung Putih
(*Crinum Asiaticum* L.) pada Penghambatan Enzim Siklooksigenase (COX)**

**In Silico Study of Alkaloid Herba Bakung Putih (*Crinum Asiaticum* L.) on
Inhibition of Cyclooxygenase Enzyme (COX)**

Rizky Arcinthy Rachmania, Hariyanti, Ririh Zikriah, Aditya Soultan

Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi dan Sains, Universitas Muhammadiyah Prof. Dr. HAMKA, Islamic Center, Jl. Delima II/IV Perumnas Klender, Jakarta Timur, 13460, Telp. (021) 8611070

Email : arcinthy.rizky@gmail.com

Received: April 2018; Revised: July 2018; Accepted: November 2018; Available Online: November 2018

Abstrak

Inflamasi merupakan suatu respon terhadap cedera jaringan yang melibatkan proses fisiologis aktivasi enzim siklooksigenase (COX) yang memiliki dua isoform yaitu enzim siklooksigenase-1 (COX-1) dan siklooksigenase-2 (COX-2). Penggunaan obat antiinflamasi golongan Anti Inflamasi Non Steroid (AINS) dan golongan steroid mempunyai efek samping dalam penggunaan jangka panjang. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui delapan senyawa alkaloid aktif herba bakung putih (*Crinum asiaticum* L.) untuk digunakan sebagai antiinflamasi dengan cara menghambat enzim COX-1 dan COX-2. Metode penambatan molekul (*molecular docking*) untuk prediksi struktur kompleks senyawa-protein yang dinamakan *docking* ligan-protein menggunakan *software* PLANTS 1.2. dimana skor ChemPLP terendah yang merupakan energy bebas adalah parameter penambatan molekul. Senyawa herba bakung putih yang memperoleh skor CHEMPLP terendah yaitu hippadine -83.3684 Kkal/mol dan pratorimin -83.2661 Kkal/mol serta pembanding aspirin -67.3292 Kkal/mol dan paracetamol -66.3535 Kkal/mol. Penambatan molekul pada COX-2 menunjukkan lycobetaine -87.3991 Kkal/mol lebih rendah daripada senyawa pembanding celecoxib -85.3729 Kkal/mol terhadap reseptor siklooksigenase-2 (COX-2). Hasil ini menunjukkan senyawa alkaloid bakung putih hippadin, pratorimin dan lycobetaine memiliki afinitas dan kestabilan yang lebih baik dibandingkan dengan senyawa pembanding. Hasil *drug scan*, hippadin, pratorimin dan lycobetain memenuhi kriteria untuk dijadikan sediaan dalam bentuk oral. Dapat disimpulkan senyawa herba bakung putih diprediksi memiliki potensi sebagai senyawa antiinflamasi.

Kata kunci : Siklooksigenase, *Crinum asiaticum* L., penambatan molekul.

Abstract

Inflammation is a response to tissue injury involving the physiological process of cyclooxygenase enzyme activation which has two isoforms, cyclooxygenase-1 (COX-1) and cyclooxygenase-2 (COX-2) enzymes. The use of anti-inflammatory drugs of Non Steroidal Anti Inflammatory (AINS) and steroid groups has side effects in long-term use. The objective of this study was to find out eight active white herbic alkaloid compounds (*Crinum asiaticum* L.) to be used as anti-inflammatory by inhibiting COX-1 and COX-2 enzymes. Molecular docking method for the prediction of complex structures of proteins called ligand-protein docking using the PLANTS 1.2 software. where the lowest ChemPLP score which is free energy is the molecular tethering parameter. The herbaceous white herbaceae compound obtained the lowest CHEMPLP score of hippadine -83.3684 Kcal / mol and pratorimin -83.2661 Kcal / mol and aspirin comparator -67.3292 Kcal / mol and paracetamol -66.3535 Kcal / mol. Molecular docking in COX-2 shows lycobetaine -87.3991 Kcal / mol is lower than that of the celecoxib -85.3729 Kcal / mol comparator against the cyclooxygenase-2 receptor (COX-2). These

results show that the white lycopene alkaloid compounds hyppadine, pratorimin and lycobetaine have better affinity and stability than the comparative compounds. The results of drug scans, hippadin, pratorimin and lycobetaine have the criteria for oral preparations. It can be concluded that herbaceous white herbaceae are predicted to have potential as anti-inflammatory compounds.

Keywords: Cyclooxygenase, *Crinum asiaticum* L., molecular docking.

DOI: <http://10.15408/jkv.v4i2.7686>

1. PENDAHULUAN

Peradangan (inflamasi) merupakan respon protektif normal terhadap cedera jaringan yang melibatkan berbagai proses fisiologis di dalam tubuh seperti aktivasi enzim, pelepasan mediator, diapedesis atau pergerakan sel darah putih melalui kapiler ke daerah peradangan, migrasi sel, kerusakan dan perbaikan jaringan (Kumar, 2011). Namun, jika peradangan tidak diobati dapat menyebabkan timbulnya penyakit seperti rinitis vasomotor, rematoid arthritis, dan aterosklerosis (Ilakkiya *et al.*, 2013).

Mekanisme terjadinya radang sangat dipengaruhi oleh senyawa dan mediator yang dihasilkan oleh asam arakidonat. Bila membran sel mengalami kerusakan oleh suatu rangsangan kimiawi, fisik, atau mekanis maka enzim fosfolipase diaktifkan untuk mengubah fosfolipida yang terdapat di membran sel tersebut menjadi senyawa prostaglandin dan tromboksan (Nørregaard *et al.*, 2015). Enzim siklooksigenase (COX) yang terlibat dalam reaksi memiliki 2 isoform, yaitu COX-1 dan COX-2 (Łanocha-Arendarczyk *et al.*, 2018; Stolfi *et al.*, 2013). Meskipun kedua enzim pada dasarnya berkerja dengan cara yang sama, penghambatan selektif dapat membuat perbedaan dalam hal efek samping. COX-1 dianggap konstitutif enzim, ditemukan pada kebanyakan mamalia sel. Pada COX-2 tidak terdeteksi dalam jaringan normal kebanyakan. COX-2 biasanya khusus untuk jaringan yang meradang, ada banyak iritasi lambung kurang terkait dengan COX-2 inhibitor, dengan penurunan risiko ulserasi lambung (Nandave *et al.*, 2006). COX-1 terdapat di kebanyakan jaringan antara lain di trombosit, ginjal, dan saluran cerna (Radifar *et al.*, 2013).

Pada umumnya pengobatan yang digunakan untuk mengatasi terjadinya inflamasi adalah obat modern dari golongan Anti Inflamasi Non Steroid (AINS) dan golongan steroid yang berguna untuk

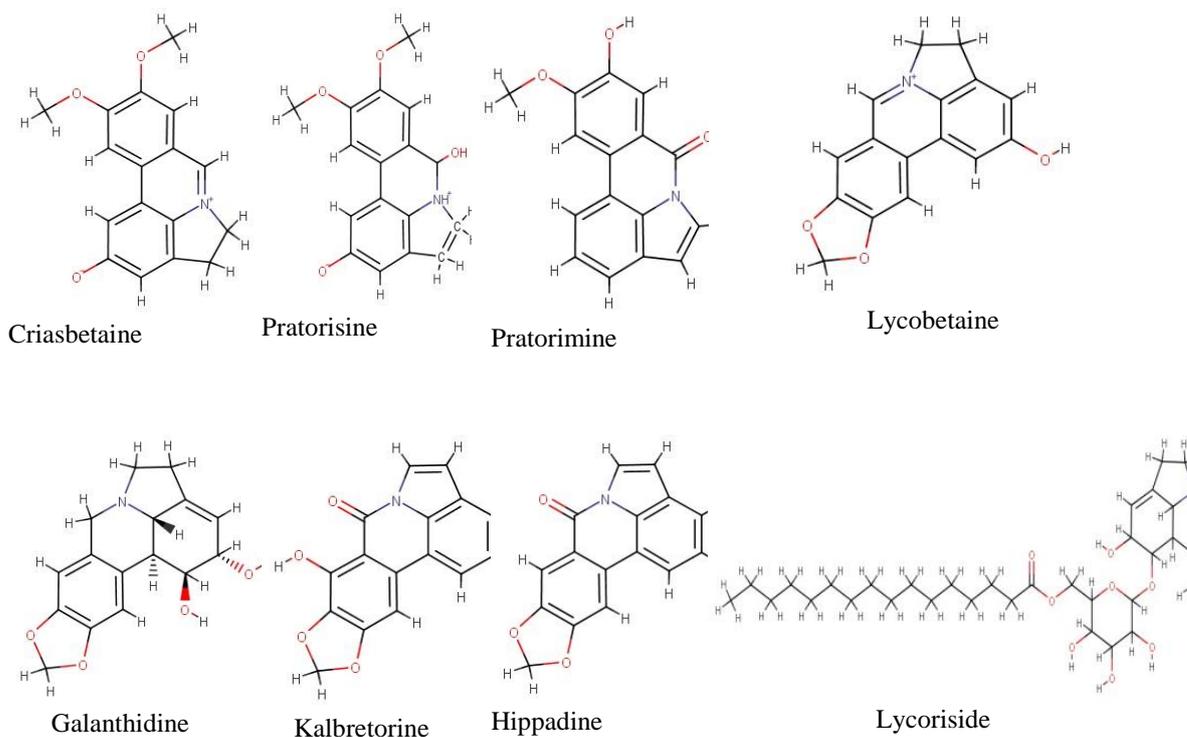
mengurangi pembengkakan dan rasa sakit akibat peradangan. AINS terdiri dari kelompok AINS non-selektif yang bekerja dengan menghambat enzim siklooksigenase (COX-1 dan COX-2) sehingga menurunkan produksi prostaglandin, sedangkan kelompok AINS lain (selektif COX-2 inhibitor) bekerja dengan menghambat enzim COX-2. Obat AINS yang tidak menimbulkan efek samping berupa iritasi lambung adalah kelompok AINS yang selektif, dengan menghambat enzim COX-2. Salah satu obat yang menghambat enzim COX-2 adalah Celecoxib (Stolfi *et al.*, 2013). Celecoxib berfungsi menghambat enzim COX-2 yang mengakibatkan sintesa prostaglandin pun terhambat. Karena prostaglandin merupakan mediator untuk rasa nyeri pada tubuh (BPOM RI, 2005; Stolfi *et al.*, 2013). Parasetamol tidak mempengaruhi nyeri yang ditimbulkan efek langsung prostaglandin, ini menunjukkan bahwa parasetamol menghambat sintesa prostaglandin dan bukan blokade langsung prostaglandin. Aspirin adalah senyawa antiinflamasi golongan AINS yang memiliki aktivitas penghambat radang dengan mekanisme kerja menghambat biosintesis prostaglandin dari asam arakhidonat melalui penghambatan aktivitas enzim siklooksigenase (Schwier dan Tran, 2016). Tetapi dalam penggunaannya obat-obat ini mempunyai risiko toksisitas gastrointestinal, toksisitas jantung, dan lainnya dalam penggunaan jangka panjang (Oniga *et al.*, 2017; Stolfi *et al.*, 2013). Untuk alasan ini, ada kebutuhan untuk memiliki obat antiinflamasi dengan efek samping yang lebih ringan saat digunakan. Oleh karena itu, tumbuhan lebih banyak dipilih sebagai alternatif yang alami untuk pengobatan berbagai penyakit (Madhavi *et al.*, 2012). Basis data khusus untuk *lead compounds* berbasis herbal sudah banyak dikembangkan. China, Jepang, Taiwan, dan Indonesia semua memiliki basis data tersebut. Informasi dari basis data herbal tersebut sudah banyak

dijadikan sumber data untuk penelitian *molecular simulation* salah satunya adalah penambatan molekuler (*molecular docking*) (Parikesit *et al.*, 2018)

Herba bakung putih mengandung banyak senyawa alkaloid. Bakung putih (*Crinum asiaticum* L.) merupakan ramuan obat yang memiliki efek terapi sebagai anti inflamasi (Haque *et al.*, 2014; Patel, 2017). Senyawa lycorin yang terdapat pada ekstrak etanol bakung putih bermanfaat sebagai anti inflamasi (Kim *et al.*, 2006). Akan tetapi tidak hanya lycorin saja senyawa alkaloid yang terdapat pada bakung putih (Kim *et al.*, 2006; Patel, 2017)). Senyawa lain seperti criasbetaine, hippadine, kalbretorine, lycorisode, pratorimine, pratorisine, galanthidine, lycobetaine juga terdapat dalam bakung putih (Refaat *et al.*, 2012) (Gambar 1). Tetapi belum terbukti dari senyawa-senyawa tersebut mana yang lebih baik dibandingkan paracetamol, aspirin dan celecoxib terhadap enzim COX.

Pendekatan tradisional dalam penemuan obat baru memakan waktu yang lama, kurang efisien dan memerlukan biaya yang sangat tinggi (Tripathi dan Misra, 2017). Metode *in silico* salah satunya penambatan

molekul (*molecular docking*) dapat digunakan untuk membantu menemukan senyawa senyawa yang kemungkinan besar berpotensi sebagai obat, dengan membutuhkan waktu yang relatif singkat (Zukrullah *et al.*, 2012). Pengembangan senyawa aktif dari *Crinum asiaticum* L. sebagai antiinflamasi (inhibitor enzim COX) juga dapat dilakukan dengan penambatan molekuler. Pengembangan tersebut diantaranya mencakup desain senyawa dan interaksi senyawa tersebut dengan enzim atau reseptor. Dalam hal ini, senyawa alkaloid dari *Crinum asiaticum* L. perlu di uji interaksinya dengan reseptor enzim COX dengan 2 isoform yaitu COX-1 dan COX-2 melalui uji *in silico* sehingga dapat mengetahui bagaimana senyawa alkaloid pada bakung dapat berikatan dengan reseptor COX dan memiliki afinitas yang lebih baik dibandingkan dengan paracetamol, aspirin dan celecoxib sebagai ligan pembanding melalui metode penambatan molekuler dengan membandingkan energy bebas berupa skor CHEMPLP menggunakan *software* PLANTS 1.2. Secara *in silico* juga ditentukan senyawa yang memiliki bioavailabilitas oral melalui aturan *Lipinski Rule of Five*.



Gambar 1. Senyawa Alkaloid Herba Bakung (Refaat *et al.*, 2012)

2. METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Program penambatan molekul ini bekerja menggunakan LINUX dengan sistem UBUNTU 16 dengan 64 bit. Perancangan ligand dan visualisasi dilakukan melalui *Operating System Windows 10. Software* yang digunakan yaitu PLANTS 1.2 (<http://www.tcd.uni-konstanz.de/research/plants.php>) yang digunakan untuk penambatan, YASARA 17.4.17 (<http://www.yasara.org/viewdl.htm>) yang digunakan untuk preparasi protein dan visualisasi, MarvinSketch 17.9.0 (<http://www.chemaxon.com/marvin/download-user.html>) yang digunakan untuk preparasi ligand dan Molegro Molecular Viewer 2.5 yang digunakan untuk visualisasi.

Struktur 3D siklooksigenase-1 (COX-1) dan siklooksigenase-2 (COX-2) diunduh dari *Protein Data Bank* dengan situs <http://www.rcsb.org/pdb> yang berformat .pdb. Sebelumnya, reseptor yang akan digunakan dilihat pada jurnal yang akan digunakan sebagai bahan acuan. Struktur 3D ligand yang digunakan adalah celecoxib, parasetamol, aspirin dan senyawa Alkaloid dari *Crinum asiaticum* L., yaitu criasbetaine, hippadine, kalbretorine, lycoriside, pratorimine, pratorisine, galanthidine, lycobetaine yang dirancang dengan Marvin Sketch dengan format .mol2 dan .mrv.

Prosedur Penelitian

Penyiapan Struktur Protein

Pengunduhan makromolekul COX-1 dan COX-2 dari *Protein Data Bank* dengan situs <http://www.rcsb.org/pdb>. Makromolekul protein yang dipilih adalah COX-1 (4O1Z) dari Domba (*Ovis Aries*) dengan format .pdb (Oniga *et al.*, 2017) dan COX-2 (6COX) (Agistia *et al.*, 2013). Makromolekul protein dipisahkan dari pelarut dan ligand atau residu non standar. Pemisahan makromolekul dari molekul yang tidak diperlukan dilakukan dengan menggunakan program YASARA (*edit > delete > residu*). Penghilangan molekul air (*edit > delete > water*) dan penambahan hidrogen pada struktur (*edit > add > hidrogen to all*). Hasil tersebut disimpan dengan nama protein dalam format .mol2.

Preparasi Struktur Ligand

Struktur ligand diunduh pada situs www.pubchem.ncbi.nlm.nih.gov dalam bentuk 2D. Protonasi diubah pada pH 7,4 dengan menggunakan Marvin Sketch (*Calculation > Protonation > Major Microspecies*), data yang didapat disimpan dengan format .mrv. File yang telah disimpan dengan format .mrv dibuka dan dilakukan pencarian konformasi dengan *software* yang sama lalu disimpan dengan format .mol2 (*Calculation > Conformation > Conformer*).

Validasi Metode Penambatan Molekul

Sebelum *virtual screening*, dilakukan validasi untuk menentukan nilai *root mean square deviation* (RMSD). Validasi menggunakan program YASARA (*Analyze > RMSD > Molecule*) dengan memasukan ligand spesifik dan reseptor dengan format .mol2. Sebuah protokol diterima apabila RMSD *heavy atom* sebesar kurang dari 2.0 Angstrom.

Penambatan Molekul dengan PLANTS 1.2

Docking dilakukan pada sistem operasi Linux karena Program PLANTS 1.2 hanya dapat digunakan didalam Linux. Hasil preparasi ligand dan reseptor dipindahkan dalam format .mol2. Pada langkah selanjutnya untuk mencari sisi pengikatan didapat dengan perintah `“./PLANTS --mode bind ref_ligand.mol2 5 protein.mol2”`. Untuk menjalankan proses *docking* dimasukkan perintah `“./PLANTS --mode screen plantsconfig”`. Hasil *docking* dengan dapat dilihat pada terminal dengan memasukan perintah `“cd results/”` dilanjutkan dengan `“more bestranking.csv”` pilih dari 10 konformasi mana yang lebih kecil nilainya.

Analisis dan Visualisasi Penambatan Molekul

Hasil *docking* dapat dilihat pada *output* dalam format *notepad*. Penentuan konformasi kompleks hasil *docking* dilakukan dengan memilih konformasi yang memilih skor CHEMPLP atau energi bebas paling rendah. Hasil *docking* divisualisasi menggunakan *software* YASARA untuk melihat jarak ikatan hidrogen $< 3.5 \text{ \AA}$.

Drug Scan

Drug Scan dilakukan menggunakan <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/assay/assay.cgi>. Analisis dilakukan dengan mengunggah *file* ligan yang akan diuji dalam format .mol. Kemudian hasil yang didapat diunduh dalam bentuk PDF.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Tahap awal pada proses *docking* adalah penyiapan struktur protein, pemilihan protein pada situs PDB didasarkan pada protein yang ingin diujikan. Enzim siklooksigenase-1 (COX-1) dan siklooksigenase-2 (COX-2) dalam format .pdb diunduh dari *database* protein *Research Collaboratory for Structural Bioinformatics* (RCSB) yang diakses melalui situs <http://www.rcsb.org/>. Protein yang dipilih untuk COX-1 yaitu kode PDB 4O1Z merupakan kompleks enzim dengan meloxicam (ligan asli) yang merupakan golongan obat NSAID, yang diperoleh dari fraksinasi oleh X-Ray kristalografi dari Domba (*Ovis Aries*) dan tersusun atas 569 asam amino. Sedangkan protein yang dipilih untuk COX-2 adalah yaitu kode PDB 6COX merupakan kompleks enzim dengan inhibitor selektif S58 (ligan asli) yang diperoleh dari fraksinasi oleh X-Ray kristalografi dari mencit (*Mus musculus*) dan tersusun atas 587 asam amino. Struktur protein yang diunduh dari PDB umumnya memiliki struktur protein yang masih mengandung pelarut (air), dan residu lainnya pada proses preparasi akan diperoleh struktur protein tanpa *ligan asli* dan struktur *ligan asli*. Struktur protein dengan kode PDB 4O1Z dan 6COX dipilih karena memiliki nilai resolusi yang rendah yaitu 2.4 Å (4O1Z) dan 2.8 Å (6COX). Nilai yang rendah tersebut menunjukkan protein reseptor tersebut memiliki kualitas model yang baik. Selain itu, kode PDB 4O1Z terkompleks dengan senyawa inhibitor nonselektif yaitu meloxicam (MXM) yang memang sudah diujikan secara *in vitro* terhadap enzim COX-1 pada manusia (*Homo sapiens*) yang memiliki IC50 1000-36600 nM (www.bindingdb.org/jsp/dbsearch/PrimarySearch_pdbids.jsp?pdbids_submit=Search&pdbids=4O1Z). Kode PDB 6COX dipilih karena terkompleks dengan senyawa inhibitor COX-2 S58 yang sudah diujikan pada reseptor enzim COX-2 manusia (*Homo sapiens*) secara *in vitro* yang memiliki IC50 sebesar 50 nM (www.bindingdb.org/jsp/dbsearch/PrimarySearch_pdbids.jsp?pdbids_submit=Search&pdbids=6COX).

Struktur protein yang diperoleh adalah protein yang telah kehilangan *ligan asli*, molekul lain seperti air serta atom-atom tunggal lainnya, sehingga pada proses *docking* yang berinteraksi hanya senyawa uji dengan protein (Kitchen *et al.*, 2004). Ligan dan molekul air ini harus dihilangkan dari makromolekul protein karena dapat memperpanjang durasi simulasi *docking*. Penambahan atom hidrogen yang dimaksud adalah memunculkan atom hidrogen yang ada pada struktur sehingga terlihat secara tiga dimensi yang berperan dalam interaksi dengan ligan. Simulasi *docking* semua proses penyiapan struktur makromolekul protein menggunakan *software* YASARA.

Ligan yang digunakan dalam penelitian adalah ligan asli, ligan pembanding, dan ligan dari senyawa alkaloid herba bakung (*Crinum asiaticum L.*), yaitu criasbetain, galanthidin, hippadin, kalbretorin, lycobetain, lycorisid, pratorimin dan pratorisin. Ligan asli yang dipakai adalah ligan yang berada pada COX-1 dari makromolekul 4O1Z adalah meloxicam (MXM) (Oniga *et al.*, 2017), sedangkan untuk COX-2 dari makromolekul 6COX adalah inhibitor selektif (S58). Pemisahan MXM dan S58 dari 4O1Z dan 6COX menggunakan YASARA. Optimasi struktur dilakukan untuk mengubah geometri dari molekul ke energy yang lebih rendah dari suatu sistem dan untuk menghasilkan konformasi yang lebih stabil. Optimasi struktur ligan asli meloxicam, S58 dan ligan senyawa alkaloid herba bakung putih (*Crinum asiaticum L.*) yang sudah didapat, protonasinya dicek pada pH 7.4 dengan *software* Marvin Sketch, dengan maksud menyesuaikan kondisi pH tubuh, ligan disesuaikan dengan pH tubuh, karena proses *docking* meniru reaksi yang terjadi didalam tubuh sehingga didapat hasil yang optimal (Agistia *et al.*, 2013). Merubah ligan asli dan ligan senyawa alkaloid pada format .mrv menjadi sepuluh bentuk 3D yang mempunyai energi bebas yang berbeda pada setiap bentuknya, proses ini juga dapat disebut optimasi. Pada proses optimasi ligan asli dan ligan senyawa alkaloid telah melalui proses pengulangan pencarian energi bebas, sehingga didapat sepuluh konformasi 3D yang mempunyai energi bebas yang optimal untuk selanjutnya dilakukan proses *docking*.

Identifikasi protokol *docking* yang tepat merupakan langkah kunci untuk

memperoleh validitas pose docking (Oniga *et al.*, 2017). Validasi metode *docking* pada penelitian ini dilakukan dengan *re-docking* ligan asli pada kelompok protein yang diunduh dari situs PDB (*Protein Data Bank*). Untuk evaluasi validasi, parameter yang dilihat adalah RMSD (*Root Mean Square Deviation*) dan pose secara visual (Moitessier *et al.*, 2008). RMSD merupakan pengukuran dua pose dengan membandingkan posisi atom antara struktur eksperimental dengan struktur yang di *docking* atau yang di prediksi (Hawkins *et al.*, 2008) nilai RMSD < 2,0 Å biasanya digunakan sebagai kriteria kesuksesan metode *docking* (Hevener *et al.*, 2009; Jain dan Nicholls, 2008; Moitessier *et al.*, 2008)). Hasil dari validasi penelitian ini didapat nilai RMSD 1.5687 Å untuk reseptor COX-1 kode PDB 4O1Z dan nilai RMSD 1.2169 Å untuk reseptor COX-2 kode PDB 6COX, hasil validasi yang didapat membuktikan bahwa kode pdb 4O1Z dan 6COX dapat digunakan karena nilai RMSD tidak lebih dari 2,0 Å. Semakin nilai RMSD mendekati nol maka pose salinan ligan asli dengan ligan *copy* semakin mirip. Hal ini menunjukkan protokol yang dikembangkan diterima dan dapat dikembangkan lebih lanjut untuk skrining virtual dalam usaha penemuan senyawa baru (Purnomo, 2011; Purnomo, 2013). Visualisasi pose validasi antara ligan asli dengan ligan *copy* menunjukkan bahwa struktur dua molekul (Gambar 2) memiliki kemiripan posisi dan sudut dari setiap atomnya. Hal ini berarti konformasi struktur ligan asli dari PDB dengan ligan *copy* hasil *docking* mirip dan terpilih dengan baik (Adelina, 2014). Pada RMSD >2.0 Å akan terlihat dua molekul yang berbeda secara signifikan jika dilihat dari sudut dan posisinya, meskipun memiliki jumlah atom yang sama.

Docking merupakan metode simulasi untuk mengetahui orientasi antara ligan dengan reseptor. Sisi pengikatan COX-1 untuk reseptor 4O1Z yang telah diketahui pada saat penambatan ulang (*redocking*) sehingga dapat diketahui titik pusat kordinat yang didapat dengan nilai $x = 252.107 \text{ \AA}$, $y = 106.98 \text{ \AA}$, $z = 4.70794 \text{ \AA}$ dan pada *radius* = 11.9576 Å. Sedangkan COX-2 untuk 6COX titik pusat kordinat yang didapat dengan nilai $x = 23.6651 \text{ \AA}$, $y = 23.3126 \text{ \AA}$, $z = 47.8865 \text{ \AA}$ dan pada *radius* = 11.3323 Å. Hasil docking yang diperoleh antara COX-1 dan COX-2 dengan ligan pada Bakung Putih dapat dilihat pada

Tabel 1. Penambatan molekul bertujuan untuk mengetahui orientasi antara ligan dan ligan asli terhadap enzim COX-1 dan COX-2 untuk membentuk ikatan yang stabil. Adapun parameter kestabilan yang ditentukan adalah energi bebas Gibbs (ΔG) dan interaksi ikatan kimia yang terbentuk. *Docking* merupakan pendekatan untuk desain rasional obat menggunakan komputasi untuk menguji aktivitas biologis suatu senyawa (Reddy dan Reddy, 2013). Penambatan molekul banyak digunakan untuk memprediksi apakah suatu senyawa memiliki aktivitas atau tidak, serta dapat berguna dalam pengembangan senyawa dengan aktivitas yang lebih baik. Kode reseptor yang digunakan harus sudah tervalidasi dengan nilai RMSD < 2.0 Å hal ini menunjukkan protokol yang dikembangkan diterima dan dapat dikembangkan lebih lanjut untuk skrining virtual dalam usaha penemuan senyawa baru. Proses *docking*, memerlukan ligan senyawa alkaloid dalam format .mol2 yaitu ligan yang sudah diminimasi di *marvin sketch* sehingga akan menghasilkan 10 konformasi bentuk 3D dengan energi bebas yang berbeda. *Software* yang digunakan untuk *docking* adalah *PLANTS1.2* dalam *operating system linux*. Proses *docking* tidak dapat dilakukan sekaligus tapi secara bergantian antara ligan senyawa alkaloid. Penambatan molekul bekerja pada dua sistem : windows dan linux sehingga perlu prosedur khusus untuk mengamankan hasil penambatan molekul agar tidak mengganggu proses *docking* selanjutnya.

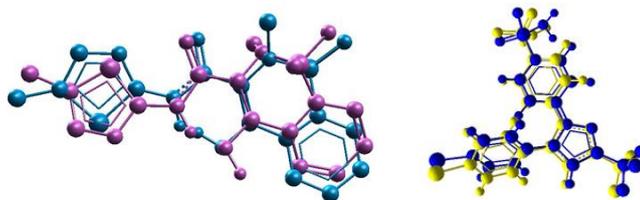
Satu kali proses *docking* akan menghasilkan sepuluh konformasi terbaik ligan dari kompleks protein-ligan yang kemungkinan terjadi. Sepuluh konformasi tersebut dipilih konformasi yang memiliki skor CHEMPLP yang terkecil. Skor CHEMPLP yang dihasilkan pada saat kompleks protein-ligan terbentuk dapat menunjukkan afinitas dari ligan terhadap reseptor. Semakin tinggi afinitas dari suatu ligan terhadap protein, maka skor CHEMPLP akan semakin kecil, sebaliknya apabila skor CHEMPLP semakin besar maka afinitas semakin kecil. Tabel 1 adalah nilai energi bebas dari masing-masing ligan terhadap protein COX-1 dan COX-2 sebagai reseptor. Hasil docking yang memprediksi interaksi senyawa criasbetain, galanthidin, hippadin, kalbretorin, lycobetain, lycorisid, pratorimin dan pratorisin dengan enzim COX-1 dari protein yang memiliki kode

PDB 4O1Z yang terkompleks dengan meloxicam (Tabel 1), dapat diketahui bahwa nilai skor dari beberapa senyawa tersebut memiliki skor CHEMPLP lebih kecil dibandingkan dengan ligan asli meloxicam, karena makin kecil skor suatu hasil *docking* berarti kompleks protein-ligan makin stabil sehingga ligan senyawa makin poten. Jika dibandingkan dengan pembandingnya (parasetamol dan aspirin) maka nilai skor CHEMPLP parasetamol dan aspirin lebih tinggi dibandingkan dengan criasbetain, galanthidin, hippadin, kalbretorin, lycobetain, lycorisid, pratorimin dan pratorisin. Pada senyawa lycorisid terjadi ketidakstabilan skor energi pada konformasi di setiap pengulangan *docking* untuk memiliki interaksi kestabilan yang baik adalah adanya peran gugus fungsi, ikatan hidrogen (jumlah ikatan hidrogen dan panjang ikatan hidrogen) yang terbentuk, dan daerah interaksi hidrofob (Bissantz *et al.*, 2010; Patil *et al.*, 2010). Senyawa criasbetaine, galanthidin, hippadin, kalbretorin, lycobetain, pratorimin dan pratorisin mempunyai skor CHEMPLP yang stabil pada konformasinya. Hippadin dan pratorimin merupakan senyawa prediksi yang paling poten dibandingkan dengan pembanding dan ligan aslinya untuk dijadikan agen anti inflamasi.

Berdasarkan Tabel 1 interaksi dengan COX-2 dapat dibandingkan antara ke-8 ligan tersebut *score* CHEMPLP criasbetaine, galanthidine, hippadine, kalbretorine, prastorimine dan pratorisine lebih besar daripada celecoxib sebagai pembanding dan ligan lainnya yaitu lycobetaine dan lycorisidenilai energi bebas lebih kecil daripada celecoxib. Dibandingkan dengan parasetamol dan aspirin, delapan ligan senyawa alkaloid bakung putih memiliki *score*

CHEMPLP yang lebih kecil. Hasil ini dapat diartikan bahwa lycobetaine dibandingkan dengan celecoxib mempunyai ikatan yang lebih stabil dan afinitas yang lebih baik terhadap reseptor COX-2. Pada senyawa lycoriside terjadi ketidakstabilan *score* CHEMPLP pada lima kali pengulangan penambatan, dengan berbeda *score* CHEMPLP terkecil pada setiap konformasi. Sedangkan enam ligan lainnya memiliki ikatan yang kurang stabil dengan reseptor jika dibandingkan dengan celecoxib. Hal ini menunjukkan lycobetaine memiliki afinitas lebih baik daripada celecoxib. Visualisasi hasil penambatan molekul antara ligan dengan reseptor COX-1 dan COX-2 dapat dilihat pada Tabel 2 dan Gambar 2 dan 3.

Interaksi reseptor dengan ligan yang terbentuk setelah proses penambatan divisualisasikan dengan menggunakan *software molegro molecular viewer*. Garis-garis putus mendeksripsikan ikatan hidrogen yang terjadi antara residu dengan gugus pada ligan. Pengamatan interaksi residu (asam amino) bertujuan untuk mengidentifikasi interaksi yang terjadi antara ligan dan reseptor. Ikatan hidrogen merupakan ikatan yang unik karena hanya atom hidrogen yang dapat mengemban muatan positif pada pH fisiologis sembari masih terikat secara kovalen dalam molekul dan atom hidrogen merupakan atom yang cukup kecil untuk berdekatan dengan atom elektronegatif kedua (Rollando, 2017). Ikatan hidrogen cukup penting untuk aktivitas biologis. Ikatan hidrogen merupakan interaksi yang dapat menstabilkan ikatan ligan dan ikatan reseptor. Interaksi lain antara ligan dan reseptor yang dapat meningkatkan kestabilan konformasi adalah interaksi elektrostatik dan interaksi *van der Waals*.



Gambar 2. Visualisasi *Superpose* Ligan Asli dengan Ligan *Copy* Menggunakan *Software Molegro Molecular Viewer*. Keterangan : (a) Struktur Meloxicam (4-hydroxy-2-methyl-N-(5-methyl-1,3-thiazol-2-yl)-2H-1,2-benzothiazine-3-carboxamide 1,1-dioxide), Ligan asli berwarna ungu dan ligan *copy* berwarna biru, (b) S58 (1-phenylsulfonamide-3-trifluoromethyl-5-parabromophenylpyrazole), ligan asli berwarna kuning, ligan *copy* warna biru

Tabel 1. Hasil Penambatan Molekul antara Ligan Pembanding dan Ligan Bakung Putih dengan COX-1 dan COX-2 Menggunakan *Software PLANTS*

Ligan	Skor CHEMPLP (Kkal/mol)	
	Enzim COX-1 (4O1Z)	Enzim COX-2 (6COX)
Ligan Asli 4O1Z MXM (Meloxicam)	-79.8619	-
Ligan Asli 6COX S58	-	-77.4746
Ligan Pembanding Paracetamol	-66.3535	-67.4422
Ligan Pembanding Aspirin	-67.3292	-71.9260
Ligan Pembanding Celecoxib	-	-85.3729
Criasbetain	-70.4006	-71.9671
Galanthidin	-75.5672	-81.5418
Hippadin	-83.3684	-80.7919
Kalbretorin	-80.9120	-81.2413
Lycobetain	-82.7950	-87.4009
Lycorisid	-71.1068	-87.2719
Pratorimin	-83.2661	-78.4331
Pratorisin	-71.5087	-76.2386

Tabel 2. Hasil Visualisasi Penambatan Molekul Antara Ligan Pembanding dan Ligan Bakung Putih dengan COX Menggunakan *Software PLANTS*

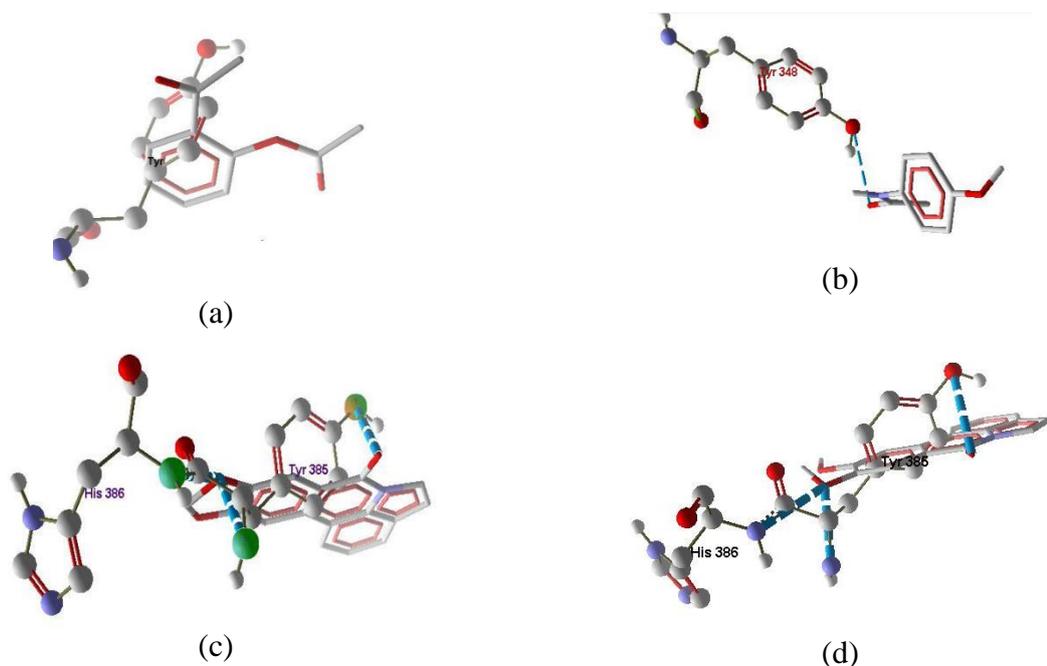
Ligan	Residu AsamAmino yang Berikatan	Jarak Ikatan (Å)	Gugus Fungsi yang Berikatan
Reseptor COX-1 (4O1Z)			
Aspirin	-	-	-
Parasetamol	Tirosin 385	1.60	Atom O pada Gugus aldehida
	Tirosin 385	1.77	Atom N pada Gugus aldehida
	Tirosin 348	3.00	Atom O pada Gugus aldehida
Hippadine	Tirosin 385	2.82	Atom N pada Gugus amida
	Tirosin 385	3.06	Atom N pada Gugus amida
	Histidin 386	3.00	Atom O pada Gugus Eter
Pratorimine	Histidin 386	2.81	Atom O pada Gugus hidroksi
	Tirosin 385	2.62	Atom N pada Gugus amida
	Tirosin 385	3.09	Atom N pada Gugus amida
Reseptor COX-2 (6COX)			
Celecoxib	Serine530	2.5366	Atom O pada Gugus Sulfonamida
	Serine530	3.0342	Atom O pada Gugus Sulfonamida
	Serine 530	3.1561	Atom N pada Gugus Sulfonamida
Lycobetaine	Threonine 206	2.7295	Atom O pada Gugus Phenol
	Phenylalanine205	2.4437	Atom N pada Gugus Phenol
	Phenylalanine 205	3.3187	Atom O pada Gugus Phenol
	Histidin 207	2.7495	Atom N pada Gugus Phenol

Berdasarkan Tabel 2 dapat dilihat perbandingan residu dari dua ligan terbaik serta pembanding aspirin dan parasetamol setelah dilakukan proses *docking*. Pada ligan pembanding parasetamol (Gambar 2b) berikatan dengan Tirosin 385 dan Tirosin 348 yang terdapat pada dua atom O jarak ikatan 1.60 Å dan 1.77 Å dan satu atom N jarak

ikatan 3.0 Å yang terbentuk pada gugus fungsi aldehida, tetapi pada ligan pembanding aspirin tidak terjadi ikatan hidrogen (Gambar 2a), ikatan kimia yang memungkinkan terjadi adalah ikatan-ikatan lemah seperti ikatan van der Waals. Pada dua skor terbaik ligan senyawa herba bakung putih (*Crinum asiaticum* L.) diantaranya hippadin (Gambar

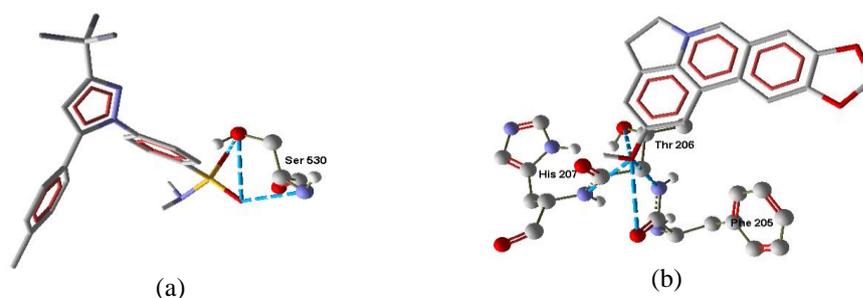
2c) berikatan dengan Tirosin 385 dan Histidin 380 yang terdapat pada dua atom N jarak ikatan 2.82 Å dan 3.06 Å yang terbentuk pada gugus fungsi amida dan satu atom O jarak ikatan 3.0 Å pada gugus eter, pratorimin (Gambar 2d) berikatan dengan Histidin 386 dan Tirosin 385 yang terdapat pada atom O jarak ikatan 2.81 Å pada gugus fungsi hidroksi serta dua atom N jarak ikatan 2.62 Å dan 3.09 Å pada gugus fungsi amida. Hal ini dapat disimpulkan bahwa senyawa hippadin dan pratorimin memiliki interaksi lebih baik dibandingkan dengan parasetamol dan aspirin

karena memiliki interaksi kestabilan yang baik adalah adanya peran gugus fungsi, ikatan hidrogen (jumlah ikatan hidrogen dan panjang ikatan hidrogen) yang terbentuk (Bissantz *et al.*, 2010; Patil *et al.*, 2010). Ikatan hidrogen dapat terjadi antara intermolekul dan intramolekul, rentang ikatan hidrogen yang baik adalah pada 2.5-3.5 Å (Syahputra *et al.*, 2014), sehingga senyawa hippadin memiliki ikatan yang lebih baik dari pada parasetamol, yang memungkinkan bahwa akan lebih poten untuk sebagai agen antiinflamasi dengan menghambat enzim siklooksigenase-1.



Gambar 2. Visualisasi Kontak Residu Ligan dengan Reseptor Siklooksigenase-1 (COX-1) Menggunakan *Software Molegro Molecular Viewer*

Keterangan: (a) Aspirin, Ligan berinteraksi dengan residu Tirosin (b) Parasetamol, Ligan berinteraksi dengan residu Tirosin, (c) Hippadin, Ligan berinteraksi dengan residu Tirosin dan Histidin, (d) Pratorimin, Ligan berinteraksi dengan residu Histidin dan Tirosin. Atom berbentuk bulat berwarna merah adalah aseptor dan biru adalah donor, garis biru putus-putus adalah jarak ikatan.



Gambar 3. Visualisasi Kontak Residu Ligan dengan Reseptor Siklooksigenase-2 (COX-2) Menggunakan *Software Molegro Molecular Viewer*. Keterangan: (a) Celecoxib, ligan berinteraksi dengan residu Serin, (b) Lycobetain, ligan berinteraksi dengan residu Histidin, Fenilalanin dan Treonin. Atom berbentuk bulat berwarna merah adalah aseptor dan biru adalah donor, garis biru putus-putus adalah jarak ikatan.

Perbandingan residu pada reseptor COX-2 dari ligan terbaik dan celecoxib setelah dilakukan proses penambatan (Tabel 2). Pada sisi pengikatan yang telah ditentukan, ligan pembanding celecoxib berikatan hanya pada serine 530, dengan membentuk ikatan dua atom O dan satu atom N dengan gugus sulfonamida pada ligan celecoxib (Gambar 3a), sedangkan pada ligan lycobetaine terdapat interaksi dengan threonine 206, phenylalanine 205 dan Histidin 207 dengan gugus fenol pada lycobetaine (Gambar 3b). Hal ini dapat disimpulkan bahwa senyawa lycobetain memiliki interaksi lebih banyak dengan reseptor COX-2 dibandingkan dengan celecoxib dan lycobetain memiliki jarak ikatan yang lebih kecil. Semakin kecil jarak ikatan berarti bahwa ikatan yang terjadi semakin kuat dan tidak mudah untuk terlepas, begitu sebaliknya semakin besar jarak ikatan yang terjadi maka semakin lemah dan mudah terlepas. Dari data yang sudah didapat, senyawa lycobetaine memiliki ikatan yang lebih kuat dan stabil daripada celecoxib dan memungkinkan memiliki peran sebagai inhibitor COX-2 yang lebih baik dibandingkan dengan celecoxib sebagai pembanding. Pada asam amino yang berikatan dengan celecoxib dan lycobetaine tidak dapat diartikan sebagai sisi aktif dari reseptor, karena proses docking merupakan virtual screening pada senyawa aktif untuk melihat kestabilan dan afinitas senyawa terhadap reseptor.

Drug-likeness adalah konsep kualitatif yang digunakan untuk menggambarkan kemiripan suatu senyawa sebagai kandidat obat seperti, keseimbangan kompleks dari berbagai sifat molekuler dan ciri struktural yang menentukan apakah molekul tertentu serupa dengan obat yang telah diketahui. Sifat molekuler ini terutama hidrofobitas, distribusi elektronik, karakteristik ikatan hidrogen, ukuran molekul dan fleksibilitas dan sifat farmakofor lainnya memengaruhi perilaku molekul dalam organisme hidup, termasuk bioavailabilitas, sifat penghantaran, afinitas terhadap protein, reaktivitas, toksisitas, stabilitas metabolic lainnya (Leeson, 2016; Mishra *et al.*, 2017). Aturan 5 (Ro5) atau *Lipinski Rule of Five* adalah seperangkat pedoman silico yang diterapkan pada penemuan obat untuk memprioritaskan senyawa dengan kemungkinan peningkatan penyerapan oral yang tinggi (Doak *et al.*, 2014). *Lipinski Rule of Five* dapat digunakan

untuk menentukan farmakokinetik suatu senyawa sebagai kandidat obat (Benet *et al.*, 2016). *Drug-likeness* yang dievaluasi oleh *Lipinski Rule of Five* membahas empat parameter parameter fisikokimia sederhana (berat molekul ≤ 500 , $\log P \leq 5$, donor ikatan hydrogen ≤ 5 , akseptor ikatan hidrogen ≤ 10) yang berhubungan dengan 90% obat aktif oral yang telah melewati status klinis fase II (Lipinski, 2004; Lipinski, 2016).

Sifat fisikokimia ligan hippadin, pratorimin dan lycobetain (Tabel 4) berdasarkan aturan Lipinski digunakan untuk menentukan karakter hidrofobik atau hidrofilik suatu senyawa untuk melalui membran sel secara difusi pasif. Nilai $\log P$ hippadin, pratorimin dan lycobetain menyatakan koefisien kelarutan dalam lemak/air yang memiliki rentang -0.4 s/d 5. Berat molekul yang lebih dari 500 Da tidak dapat berdifusi menembus membran sel dengan cara difusi pasif. Semakin besar nilai $\log P$, maka semakin hidrofobik molekul tersebut. Molekul yang memiliki sifat terlalu hidrofobik cenderung memiliki tingkat toksisitas yang tinggi karena akan tertahan lebih lama pada lipid bilayer dan terdistribusi lebih luas di dalam tubuh sehingga selektifitas ikatan terhadap enzim target menjadi berkurang. Nilai $\log P$ yang terlalu negatif juga tidak baik karena jika molekul tersebut tidak dapat melewati membran lipid bilayer. Jumlah donor dan akseptor ikatan hidrogen mendeskripsikan semakin tinggi kapasitas ikatan hidrogen, maka semakin tinggi energi yang dibutuhkan agar proses absorpsi dapat terjadi. Secara umum aturan lipinski menggambarkan solubilitas senyawa tertentu untuk menembus membran sel oleh difusi pasif (Lipinski *et al.*, 1997). *Topological Polar Surface Area* (TPSA) adalah parameter fisiokimia yang sangat berguna dari molekul yang memberikan informasi tentang polaritas senyawa. Parameter ini dievaluasi untuk menganalisis sifat penghantaran obat (Mishra *et al.*, 2017). Nilai TPSA pada hippadin, pratorimin dan lycobetain menunjukkan nilai <60 yang bioavailabilitasnya dapat diterima karena obat sepenuhnya diserap lebih dari 90%. Sehingga dapat disimpulkan dua senyawa herba bakung putih (*Crinum asiaticum* L.) yang memperoleh skor terbaik adalah hippadin, pratorimin dan lycobetain serta memenuhi syarat lipinski dan dapat dijadikan sediaan bentuk oral.

Tabel 4. Hasil prediksi lipinski terhadap aspirin, paracetamol, hippadin, pratorimin dan lycobetain

Ligan	Prediksi Lipinski				
	BM (g/mol)	Log P	HBD ^a	HBA ^b	TPSA
Aspirin	180.159	1.2	1	4	63.43
Paracetamol	151.165	0.5	2	2	49.3
Celecoxib	381.37	3.836	1	6	86.36
Hippadin	263.252	3.1	0	3	40.5
Pratorimin	265.268	2.9	1	3	51.5
Lycobetaine	266.27	2.708	1	3	42.57

4. SIMPULAN

Senyawa alkaloid herba bakung (*Crinum asiaticum* L.) memiliki potensi sebagai antiinflamasi terhadap enzim siklooksigenase (COX) yang memiliki 2 isoform yaitu COX-1 dan COX-2 berdasarkan metode penambatan molekul dan dapat dijadikan sediaan oral berdasarkan aturan *Lipinski Rule of Five*. Senyawa-senyawa tersebut yaitu hippadin dan pratorimin yang memiliki interaksi lebih baik terhadap COX-1 dibandingkan senyawa pembanding yaitu aspirin dan parasetamol, sedangkan lycobetain memiliki interaksi lebih baik terhadap COX-2 dibandingkan senyawa pembandingnya yaitu celecoxib. Untuk mengetahui kestabilan interaksi ikatan disarankan menggunakan simulasi *molecular dynamics*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis ucapkan terima kasih kepada Lemlitbang UHAMKA atas bantuan berupa dana PPI tahun anggaran 2017 Nomor : 518/F.03.07/2017.

DAFTAR PUSTAKA

- Adelina R. 2014. Uji Molecular Docking Annomuricin E dan Muricapentocin pada Aktivitas Antiproliferasi (Molecular Docking Studies of Annomuricin E and Muricapentocin on Antiproliferation Activity). *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 12(1): 32–36.
- Agistia DD, Purnomo H, Tegar M, Nugroho AE. 2013. Interaction Between Active Compounds From *Aegle marmelos* Correa. as Anti Inflammation Agent with COX-1 and COX-2 Receptor. *Traditional Medicine Journal*. 18(2): 80–87.
- Benet LZ, Hosey CM, Ursu O, Oprea TI. 2016. BDDCS, the Rule of 5 and drugability. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 101: 89–98.
- Bissantz C, Kuhn B, Stahl M. 2010. A medicinal chemist's guide to molecular interactions. *Journal of Medicinal Chemistry*. 53(14): 5061–5084.
- BPOM RI. 2005. *Informasi Terkait Aspek Keamanan Celebrex (Celecoxib)*. Jakarta: Badan Pengawas Obat dan Makanan.
- Doak B, Over B, Giordanetto F, Kihlberg J. 2014. Oral Druggable Space beyond the Rule of 5: Insights from Drugs and Clinical Candidates. *Chemistry & Biology*. 21(9): 1115–1142.
- Haque M, Jahan S, Rahmatullah M. 2014. Ethnomedicinal Uses of *Crinum Asiaticum* : a Review. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 3(9): 119–128.
- Hawkins P, Warren G, Skillman A, Nicholls A. 2008. How to do an Evaluation: Pitfalls and Traps. *Journal of Computer-Aided Molecular Design*. 22(3): 179–190.
- Hevener KE, Zhao W, Ball D M, Babaoglu K, Qi J, White S W, Lee RE .2009. NIH Public Access. *Journal of Chemical Information Model*. 49(2): 444–460.
- Ilakkiya R, Neelvizhi K, Tamil SS, Bharatidasan R, Rekha D. 2013. A comparative study of anti-inflammatory activities of certain herbal leaf extracts. *International Journal of Pharmacy Ang Integrated Life Sciences*. 1(2): 67–77.
- Jain A, Nicholls A. 2008. Recommendations for Evaluation of Computational Methods. *Journal of Computer-Aided Molecular Design*. 22: 133–139.
- Kim Y, Kim K, Park S, Lee S, Kim Y, Kim Y, Kim

- K. 2006. Anti-Inflammanatory Activity of *Crinum asiaticum* Linne var. *Japonicum* Extract and Its Application as a Cosmeceutical Ingredient. *Journal of Cosmetic Science*. 59(5): 419–430.
- Kitchen DB, Decornez H, Furr JR, Bajorath J. 2004. Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: Methods and applications. *Nature Reviews Drug Discovery*. 3(11): 935–949.
- Kumar K. 2011. Evaluation of Wound Healing Activity of Leaves of *Crinum asiaticum* L. *International Journal of Phytotherapy*. 1(1): 16–20.
- Łanocha-Arendarczyk N, Baranowska-Bosiacka I, Kot K, Gutowska I, Kolasa-Wołoskiuk A, Chlubek D, Kosik-Bogacka D. 2018. Expression and activity of COX-1 and COX-2 in *acanthamoeba* sp.-infected lungs according to the host immunological status. *International Journal of Molecular Sciences*. 19(1): 1–17.
- Leeson P. 2016. Molecular Inflation, Attrition and the Rule of Five. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 101: 22–23.
- Lipinski C. 2004. Lead-and Drug-like Compounds: The Rule-of-Five Revolution. *Drug Discovery Today: Technologies*. 1(4): 337–341.
- Lipinski C. 2016. Rule of Five in 2015 and Beyond: Target and Ligand Structural Limitations, Ligand Chemistry Structure and Drug Discovery Project Decisions. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 101: 34–41.
- Lipinski C, Lombardo F, Dominy B, Feeney P. 1997. Experimental and Computational Approaches to Estimate Solubility and Permeability in Drug Discovery and Development Settings. *Advance Drug Delivery Reviews*. 23(1–3): 3–25.
- Madhavi P, Rao M, Vakati K, Rahman H, Eswaraiah M. (2012). Evaluation of Anti-Inflammatory Activity of *Citrullus lanatus* Seed Oil by In-vivo and In-vitro Models. *International Research Journal of Pharmaceutical and Applied Sciences*. 2(4): 104–108.
- Mishra SS, Sharma CS, Singh HP, Pandiya H. 2017. In Silico Pharmacokinetic and Toxicity Study of Some Selected Antidepressant Drugs. *Chemistry Research Journal*. 2(1): 42–45.
- Moitessier N, Englebienne P, Lee D, Lawandi J, Corbeil C. 2008. Towards the Development of Universal, Fast and Highly Accurate Docking Scoring Methods: a Long Way to Go. *British Journal of Pharmacology*. 153(1): 7–26.
- Nandave MD, Ojha SK, Arya DS. 2006. Should Selective COX-2 Inhibitors be Used More? *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 68(3): 281–285.
- Nørregaard R, Kwon TH, Frøkiær J. 2015. Physiology and pathophysiology of cyclooxygenase-2 and prostaglandin E2 in the kidney. *Kidney Research and Clinical Practice*. 34(4): 194–200.
- Oniga SD, Pacureanu L, Stoica CI, Palage MD, Crăciun A, Rusu LR, Araniciu C. 2017. COX inhibition profile and molecular docking studies of some 2-(Trimethoxyphenyl)-Thiazoles. *Molecules*. 22(9): 1–15.
- Parikesit AA, Nurdiansyah R, Agustriawan D. Telaah Sistematis Terhadap Basis Data Bahan Alam Untuk Pengembangan Produk Suplemen Herbal. *Prosiding SEMNASTAN 0*, no. 0 (22 January 2018): 62–68. Accessed 28 January 2018
- Patel D. 2017. *Crinum asiaticum* Linn: A Medicinal Herb as Well as Ornamental Plant in Central India. *International Journal of Environmental Science & Natural Resources*. 6(1): 1–7.
- Patil R, Das S, Stanley A, Yadav L, Sudhakar A, Varma AK. 2010. Optimized hydrophobic interactions and hydrogen bonding at the target-ligand interface leads the pathways of Drug-Designing. *PLoS ONE*. 5(8): 1–10.
- Radifar M, Yuniarti M, Istyastono E. 2013. PyPLLF – dibantu Redocking Indomethacin – (R) – Alpha – Etil – Ethanamide ke Cyclooxygenase-1. *Indonesian Journal of Chemistry*. 13(3): 283–286.
- Reddy BR, Reddy LP. 2013. Harmony Search Optimization for Flexible Docking. *International Journal Of Innovative Technology And Research*. 1(6): 615–616.
- Refaat J, Kamel MS, Ramadan MA, Ali AA. 2012. *Crinum*; An endless source of bioactive principles: a review, part 1. *Crinum alkaloids: lycorine-type alkaloids*. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*.

- 3(7): 1883–1890.
- Schwier N, Tran N. 2016. Non-steroidal anti-inflammatory drugs and aspirin therapy for the treatment of acute and recurrent idiopathic pericarditis. *Pharmaceuticals*. 9(17): 1–18.
- Stolfi C, De Simone V, Pallone F, Monteleone G. 2013. Mechanisms of action of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and mesalazine in the chemoprevention of colorectal cancer. *International Journal of Molecular Sciences*. 14(9): 17972–17985.
- Syahputra G, Ambarsari L, Sumaryada T. 2014. Simulasi Docking Senyawa Kurkumin dan Analognya Sebagai Inhibitor Enzim 12-Lipoksigenase. *Jurnal Biofisika*. 10(1) : 55-67
- Tripathi A, Misra K. 2017. Molecular Docking: A structure-based drug designing approach. *JSM Bioinformatics, Genomics and Proteomics*. 5(2): 1–5.
- Zukrullah M, Aswad M, Subehan S. 2012. Kajian Beberapa Senyawa Antiinflamasi Docking Terhadap Siklooksigenase-2 Secara In Silico. *Majalah Farmasi Dan Farmakologi*. 16(1): 37–44.