



## ***In Silico and In Vitro Studies on Compounds in Turmeric (*Curcuma domestica*) as Anti-inflammatory for Cyclooxygenase-2 (COX-2)***

**Devani O. Winardi<sup>1\*</sup>, Syahla A. Alliyah<sup>1</sup>, Shafa N. Fadilah<sup>1</sup>, Jessyca Sirait<sup>1</sup>, Hafidh B. A. Putra<sup>1</sup>, Neli Neli<sup>1</sup>, Nurhanifah Puspitadewi<sup>1</sup>, Muchtaridi Muchtaridi<sup>2</sup>, Ade Zuhrotun<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Program Studi S<sup>1</sup> Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran, Jawa Barat Indonesia

<sup>2</sup>Departemen Analisis dan Kimia Medisinal, Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran, Sumedang, Indonesia

<sup>3</sup>Departemen Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran, Sumedang, Indonesia

Submitted 30 May 2023; Revised 06 June 2023; Accepted 24 June 2023; Published 31 July 2023

\*Corresponding author: [devani20001@mail.unpad.ac.id](mailto:devani20001@mail.unpad.ac.id)

### **Abstract**

Turmeric contains curcuminoid compounds which have been confirmed from various studies to have various benefits for the body, including antiviral, antibacterial, antioxidant, anticarcinogenic, and anti-inflammatory properties. Research on the effectiveness and potential of anti-inflammatory properties of the compounds contained in turmeric was carried out based on *in silico* and *in vitro* studies. Methods used are prediction of physicochemical and pharmacokinetic properties, molecular docking, pharmacophore modeling, and toxicity testing using the BSLT method. The results obtained all the test compounds complied with the Lipinski rules of five, but some of the test compounds were mutagens and carcinogens. A compound with high anti-inflammatory potential is dihydrocurcumin, which has a binding energy of -8.25 kcal/mol, Ki of 0.898  $\mu$ M, and hydrogen bonds similar to those formed between native ligand and COX-2 protein. Based on the results of the BSLT, it was found that the turmeric infusion extract had toxic protectives thus it has a poor potential as an anti-inflammatory for dysmenorrhea.

**Keywords:** Anti-inflammatory, BSLT, Cyclooxygenase-2, Dysmenorrhea, Molecular Docking, Turmeric.

## **Studi *In Silico* dan *In Vitro* Senyawa Aktif pada Rimpang Kunyit (*Curcuma domestica*) sebagai Antiinflamasi pada *Cyclooxygenase-2* (COX-2)**

### **Abstrak**

Rimpang kunyit mengandung senyawa kurkuminoid yang telah dikonfirmasi dari berbagai studi memiliki berbagai khasiat bagi tubuh, diantaranya adalah sebagai antivirus, antibakteri, antioksidan, antikarsinogenik, dan antiinflamasi. Penelitian ini dilakukan untuk menguji keefektifan dan potensi sifat antiinflamasi pada senyawa-senyawa yang terkandung dalam kunyit yang dilakukan berdasarkan studi *in silico* dan *in vitro*. Metode yang digunakan adalah prediksi sifat fisikokimia dan sifat farmakokinetik, penambatan molekul, pemodelan farmakofor, dan pengujian toksisitas menggunakan metode BSLT. Hasil yang diperoleh adalah senyawa-senyawa uji memenuhi *Lipinski rules of five*, beberapa senyawa hasil uji bersifat mutagen dan karsinogen. Senyawa dengan potensi antiinflamasi tinggi adalah dihidrokurkumin yang memiliki binding energy sebesar -8,25 kkal/mol, Ki sebesar 0.898  $\mu$ M, serta ikatan hidrogen yang sama dengan ikatan hidrogen yang terbentuk antara *native ligand* dan protein COX-2. Dari hasil BSLT, ditemukan bahwa ekstrak infus kunyit memiliki sifat toksik, sehingga memiliki potensi yang kurang baik sebagai antiinflamasi untuk dysmenorrhea.

**Kata Kunci:** Antiinflamasi, BSLT, Siklooksigenase-2, Dismenore, Penambatan Molekul, Rimpang kunyit.

## 1. Pendahuluan

Kondisi manusia yang mengalami peralihan menjadi remaja umumnya terjadi pada usia 11 tahun sampai 20 tahun. Dimana, terjadi perubahan-perubahan fisiologi, psikologi, dan organ-organ reproduksi setiap individu<sup>1</sup>. Pada perempuan, salah satu tanda dari perkembangan organ reproduksi adalah terjadinya menstruasi<sup>2</sup>.

Pada remaja, banyak terjadi gangguan menstruasi, salah satunya adalah nyeri menstruasi atau dismenore<sup>2</sup>. Dismenore, berasal dari bahasa Yunani dengan arti *abnormal monthly flow*, adalah kondisi umum pada 90% populasi wanita. Rasa sakit yang dirasakan adalah rasa kram pada otot, seringkali disertai gejala-gejala seperti mual, muntah, diare, sakit punggung bagian bawah, dan sakit kepala<sup>3</sup>. Dismenore terjadi karena pelepasan prostaglandin yang berlebih, menyebabkan kontraksi uterus semakin tinggi, sehingga menyebabkan rasa nyeri pada saat menstruasi<sup>4</sup>. Dismenore digolongkan menjadi dismenore primer dan sekunder. Dismenore primer adalah dismenore yang sering ditemui pada remaja, dimana tidak disebabkan oleh kelainan pada organ reproduksi. Dismenore sendiri dapat diakibatkan oleh beberapa faktor, antara lain riwayat keluarga, perokok aktif dan pasif, obesitas, alkohol, kurangnya aktivitas fisik, usia menarche lebih awal, volume darah haid banyak, dan stres<sup>5</sup>.

Penderita dismenore umumnya menggunakan obat antiinflamasi non steroid (NSAID) untuk meredakan dismenore. NSAID diduga dapat menurunkan tekanan intra-uterin dan menekan frekuensi prostaglandin F2 *alpha* yang merupakan suatu *cyclooxygenase-2* (COX-2)<sup>6</sup>. Berbagai obat NSAID seperti ibuprofen, asam mefenamat, naproxen, dan ketoprofen terbukti memiliki efek menyembuhkan dismenore primer dengan menghambat siklooksigenase yang dapat menurunkan prostaglandin<sup>6</sup>. Namun, obat NSAID masih memiliki beberapa efek samping pada saluran pencernaan, seperti nyeri ulu hati, mual, dan muntah, serta pada ginjal dan hati<sup>6</sup>.

Vioxx atau rofecoxib telah dikembangkan sebagai NSAID selektif untuk

COX-2 dengan memblokir induksi isoenzim COX-2 secara selektif yang berperan dalam rasa nyeri dan inflamasi tanpa mempengaruhi isoenzim COX-1 yang menjaga integritas mukosa gastrointestinal dan menjaga fungsi trombosit. Keselektifan yang dimiliki rofecoxib ini adalah alasan rofecoxib lebih disukai daripada NSAID non-selektif<sup>7</sup>.

Efek antiinflamasi mudah ditemukan pada bahan alami, contohnya rimpang kunyit yang mengandung bermacam-macam senyawa kimia yang terbagi menjadi 2 kelompok besar, kurkuminoid dan minyak atsiri<sup>8</sup>. Kurkuminoid, terdiri atas kurkumin, demetoksikurkumin, dan bidemetoksikurkumin, merupakan komponen senyawa aktif yang memiliki berbagai khasiat bagi tubuh, diantaranya sebagai antivirus, antibakteri, antioksidan, antikarsinogenik, dan antiinflamasi<sup>9</sup>. Aktivitas antiinflamasi dari kurkumin telah dibuktikan dengan kemampuannya menghambat pembentukan prostaglandin dan menekan aktivitas enzim siklooksigenase<sup>27</sup>.

Dalam penelitian *In Silico*, penambatan molekular dapat memprediksi konformasi protein dan ligan digabungkan bersama struktur protein melalui komputer, dimana dapat menghitung nilai afinitas suatu ikatan, memprediksi geometri dan sifat elektronik molekul, dan mengidentifikasi kedudukan ligan<sup>14</sup>. Analisis *In Vitro* ekstrak infusa kunyit menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Metode BSLT digunakan sebagai metode skrining tanaman obat untuk menentukan nilai toksisitas menggunakan *Lethal Concentration* (LC<sub>50</sub>)<sup>12</sup>.

## 2. Metode

### 2.1. Alat

**Uji *In Silico*.** Seperangkat laptop dengan spesifikasi *Windows* 10, RAM 4,00 GB, *Prosesor Intel(R) Celeron(R) N4000 CPU @ 1.10GHz* 1.10 GHz, 64-bit *operating system, x64-based processor* melibatkan *software Autodock Tools, Chemdraw Ultra 12.0, Chem3D Pro 12.0, dan Discovery Studio 2016*. Laman internet sebagai sumber data, diantaranya *Protein Data Bank, PubChem, Preadme, dan SwissADME32*.

**Uji In Vitro.** Peralatan laboratorium alat-alat gelas (Pyrex®), *blender*, neraca analitik, cawan penguap, pipet tetes, sekat kotak plastik transparan, dan kardus yang telah dilapisi lakban hitam, botol vial 10 mL, *microwell*, dan mikroskop binokuler.

## 2.2. Bahan

**Uji In Silico.** Struktur 3D Vioxx yang diunduh dari laman *Protein Data Bank* dengan format data .pdb pada kode PDB 5KIR, Struktur 2D dan 3D senyawa aktif yang terkandung dalam rimpang kunyit (kurkumin, desmetoksikurkumin, bisdesmetoksikurkumin, dihidrokurkumin,  $\alpha$ -tumeron, seskuiterpen, *zingiberene*,  $\beta$ -bisabolene, *D-fructose*, dan atlanton) yang diunduh dari PubChem dengan format .pdb.

Uji In Vitro. Rimpang kunyit (*Curcuma domestica Val.*) dan didapatkan dari toko jamu Babah kuya di Jalan Pasar Barat No.44, Kelurahan Kebon Jeruk, Kecamatan Andir, Kota Bandung. Telur udang *Artemia salina Leach*, *aquadest*, garam kasar, ragi (Fermipan), air minum (Amidis).

## 2.3. Prosedur

**Prediksi sifat fisikokimia berdasarkan aturan Lipinski.** Struktur dua dimensi (2D) dan tiga dimensi (3D) pada senyawa-senyawa yang telah dipelajari diunduh dari PubChem dengan format .pdb lalu disiapkan menggunakan Chem3D dengan meminimalisasi energi, hasil yang diperoleh disimpan dalam format .mol. Analisis kemudian dilakukan secara *online* melalui SwissADME (<http://www.swissadme.ch/index.php>) dengan mengimpor senyawa dalam format .mol dan menjalankan analisis kesesuaian obat digunakan untuk oral<sup>37</sup>.

**Prediksi sifat farmakokinetik dan toksisitas.** Mengunjungi laman <https://preadmet.webservice.bmdrc.org>, memilih *Drug-likeness prediction* untuk memprediksi sifat *drug-likeness*. Struktur senyawa yang akan diuji digambar pada kolom yang tertera lalu ditekan pilihan submit atau dapat digunakan struktur senyawa 3D pada *file* .mol, Dilihat hasil *Drug-likeness* muncul kemudian diunduh untuk menyimpan hasil prediksi.

Lakukan untuk semua senyawa uji<sup>37</sup>.

**Penambatan Molekul.** Enzim *cyclooxygenase-2* (PDB ID: 5KIR) diunduh dengan format .pdb. Reseptor dipisahkan dari ligannya dan dihapus molekul airnya dengan menggunakan *software Discovery Studio 2016*. Preparasi ligan dilakukan dengan prosedur yang sama dengan reseptor kemudian disimpan dengan format .pdb. Kemudian ditambahkan *Gasteiger charges*, muatan *kollman*, dan atom hidrogen polar dengan menggunakan *Software AutoDockTools-1.5.6*. Ligan disimpan dengan format .pdbqt. Selanjutnya, *redocking* antara ligan alami dengan protein untuk memvalidasi metode. *Running redocking* pada *command prompt* dan ketika proses selesai, *file* dlq yang terbuat dibuka pada *notepad* dan nilai RMSD diamati<sup>37</sup>.

Preparasi ligan uji dilakukan pada *Software AutoDockTools-1.5.6* dan prosedur yang sama dengan ligan alami. Setelah ligan uji siap, *docking* ligan uji dan protein dilakukan pada *Software command prompt* dengan memasukkan koordinat *GridBox* yang sama seperti koordinat pada validasi metode kemudian dijalankan<sup>37</sup>.

**Pemodelan Farmakofor.** *Database* diunduh dari laman <http://dude.docking.org> yaitu protein Cox-2 dengan kode PDB 3ln1 dengan format sdf.gz. Kemudian pada *software LigandScout* buka *file database* senyawa *active* yang telah diunduh dan disimpan dalam format ldb. Kembalikan default awal dengan menekan '*Restore Factory Defaults*', kemudian buka *file active.ldb*, tekan Ligan-set lalu kelompokkan kumpulan ligan sesuai dengan karakteristik farmakofor 3D menggunakan tombol *Cluster* lalu kelompokkan dan atur sebagai *training set*. Tabel diurutkan dengan mengklik tajuk kolom '*Cluster-ID*'. Senyawa dengan nilai ukuran *cluster* tertinggi dan memiliki *Cluster-ID* yang sama diatur dengan memilih molekul *cluster* yang akan digunakan. *File* disimpan dalam format .pmz<sup>34</sup>.

Untuk membuat kurva ROC, dibuka *file* senyawa *active* dalam bentuk .pmz. Kemudian, masukan *file decoy.sdf* dan *active.sdf* lalu didapatkan kurva ROC yang

kemudian disimpan dengan format PNG lalu tentukan nilai AUC tertinggi dari 10 model senyawa yang akan diskriminasi. Data senyawa uji kemudian dianalisis dengan mengamati *pharmacophore fit score*.

Uji Toksisitas dengan Metode BSLT. Pembuatan ekstrak dengan menghaluskan 30 g simplisia kunyit dan dilarutkan dalam 150 mL aquades pada gelas *beaker* dan dipanaskan pada suhu 90°C selama 30 menit lalu didinginkan. Kemudian, 5 mL ekstrak diuapkan lalu dihitung konsentrasi ekstrak. Kemudian, dibuat variasi konsentrasi ekstrak sebesar 125, 250, 500, 1000, 2000, 4000, dan 6000 ppm dengan mengencerkan larutan ekstrak dengan aquades<sup>35</sup>.

Kemudian, medium dan air laut buatan dibuat dengan melarutkan 20 g garam laut ke dalam 500 mL air merk amidis dan diaduk hingga larut. Air garam disaring dan dimasukkan ragi kering sebanyak 3 mg ke dalam air garam<sup>35</sup>.

Suspensi larva disiapkan, medium air laut buatan dimasukkan ke dalam wadah medium penetasan. Telur *Artemia salina* sebanyak 17 g dimasukkan ke dalam bagian wadah yang diberi tutup gelap. Telur dibiarkan menetas menjadi larva pada suhu kamar 2x24 jam dengan aerasi menggunakan pompa aquarium<sup>35</sup>.

Pengujian toksisitas dengan larva udang dilakukan pada *vial* dan *microwell*. Untuk pengujian pada *vial* dilakukan dengan 21 *vial* ditara pada 5 mL dan 10 mL yang dimasukkan 10 ekor larva udang kemudian ditambahkan

5 mL air garam pada masing-masing *vial*<sup>35</sup>. Masing-masing variasi konsentrasi ekstrak ditambahkan ke dalam tiga *vial* yang berisi larva udang dan air garam kemudian didiamkan selama 24 jam di bawah sinar lampu. Hitung kematian larva pada tiap *vial*. Untuk pengujian pada *microwell*, dilakukan dengan memasukkan larva udang ke dalam *microwell* dengan menggunakan micropipet 100  $\mu$ L<sup>36</sup>. Masing-masing variasi konsentrasi ekstrak dimasukkan ke dalam tiga sumur (*well*) menggunakan micropipet 100  $\mu$ L<sup>35</sup>. *Microplate* didiamkan selama 24 jam di bawah sinar lampu. Setelah 24 jam, hitung kematian larva udang pada tiap sumur. Pada tiap sumur *microwell* ditambahkan 100  $\mu$ L metanol lalu tunggu beberapa menit. Hitung kembali kematian larva udang dengan rumus<sup>36</sup>:

$$\% \text{Kematian} = \frac{\text{jumlah larva yang mati}}{\text{jumlah larva uji}} \times 100\%$$

### 3. Hasil

#### 3.1. Prediksi sifat fisikokimia berdasarkan aturan Lipinski

Terdapat sepuluh senyawa aktif yang diduga terdapat pada sampel uji berdasar pada literatur yang digunakan, sepuluh senyawa tersebut dianalisis dengan metode komputasi (Prediksi Lipinski). Dari penelitian ini, didapatkan hasil dimana sepuluh senyawa aktif yang dianalisis memenuhi persyaratan aturan lipinski (Tabel 1).

#### 3.2. Prediksi Sifat Farmakokinetik dan Toksisitas

**Tabel 1.** Prediksi sifat fisikokimia berdasarkan aturan Lipinski

Nama Senyawa	Berat Molekul (<500 Da)	Log P (<5)	Ikatan Hidrogen		Keterangan
			Donor (<5)	Akseptor (<10)	
<i>Native Ligand</i>	330.48	2.91	1	4	Memenuhi
Kurkumin	368.38	3.03	2	6	Memenuhi
Dihidrokurkumin	370.40	2.97	2	6	Memenuhi
Desmetoksikurkumin	338.35	3.00	2	5	Memenuhi
<i>Bisdemethoxycurcumin</i>	308.33	2.83	2	4	Memenuhi
<i>Alpha Tumeron</i>	218.33	3.59	0	1	Memenuhi
<i>Sesquiterpene</i>	382.40	0.58	2	8	Memenuhi
<i>Zingiberene</i>	204.35	4.46	2	6	Memenuhi
<i><math>\beta</math>-Bisabolene</i>	204.35	4.83	0	0	Memenuhi
<i>D-Fructose</i>	180.16	0.52	5	6	Memenuhi
Atlanton	218.33	4.03	0	1	Memenuhi

**Tabel 2.** Prediksi Sifat Farmakokinetik dan Toksisitas

Nama Senyawa	Absorpsi		Distribusi		Toksisitas	
	HIA (%)	Caco-2 (nm/sec)	PPB (%)	BBB	Mutagen	Karsinogen
<i>Native Ligand</i>	96.28	2.27	84.07	0.13	Mutagen	carcino_mouse : - carcino_rat : -
Kurkumin	94.40	200.73	88.03	0.09	Non Mutagen	carcino_mouse : - carcino_rat : +
Dihidrokurkumin	94.26	201.567	88.49	0.09	Non Mutagen	carcino_mouse : - carcino_rat : +
Desmetoksikurkumin	94.03	21.01	89.91	0.22	Non Mutagen	carcino_mouse : - carcino_rat : +
<i>Bisdemethoxycurcumin</i>	93.75	214.03	93.82	0.78	Non Mutagen	carcino_mouse : - carcino_rat : +
<i>Alpha Turmeron</i>	100	555.77	100	3.79	Mutagen	carcino_mouse : + carcino_rat : +
<i>Sesquiterpene</i>	76.18	201.43	37.93	0.12	Non Mutagen	carcino_mouse : + carcino_rat : +
<i>Zingiberene</i>	100	234.04	100	15.19	Non Mutagen	carcino_mouse : - carcino_rat : +
<i><math>\beta</math>-Bisabolene</i>	100	23.41	100	15.06	Mutagen	carcino_mouse : - carcino_rat : +
<i>D-Fructose</i>	22.35	1.59	38.65	0.06	Mutagen	carcino_mouse : - carcino_rat : -
Atlanton	100	55.69	100	6.08	Mutagen	carcino_mouse : + carcino_rat : +

Berdasar Tabel 2, telah diperoleh nilai sifat farmakokinetika seperti absorpsi (HIA, permeabilitas CaCO<sub>2</sub>), distribusi (PPB, BBB) dan karsinogen sepuluh senyawa yang diuji. Senyawa bisdemetoksikurkumin, *alpha turmeron*, *zingiberene*,  *$\beta$ -Bisabolene*, dan atlanton menempati nilai PPB yang baik. Dari senyawa *alpha turmeron*, *zingiberene*,  *$\beta$ -Bisabolene*, dan atlanton, didapatkan nilai BBB yang baik. Pada toksisitas, sifat mutagen didapatkan dari senyawa *alpha turmeron*,  *$\beta$ -Bisabolene*, dan *D-fructose*. Sedangkan pada cakupan karsinogen, dominan senyawa uji bersifat tidak karsinogen pada mencit dan bersifat karsinogen pada tikus (Tabel 2).

### 3.3. Penambatan Molekul

Penambatan molekul memprediksi geometri dan interaksi protein dalam bentuk kompleksnya dengan senyawa yang diuji berupa ligand. Nilai energi ikatan paling rendah terdapat pada ligan pembanding dihidrokurkumin (-10.13 kkal/mol) dan nilai konstanta inhibisi terendah pada ligan pembanding *bisdemetoxycurcumin* (1.81

$\mu$ M). Desmetoksikurkumin menduduki peringkat pertama ligan uji yang mempunyai ikatan hidrogen terbanyak (Tabel 3)

### 3.4. Pemodelan Farmakofor

Didapatkan data tingkat kemiripan antara modifikasi senyawa uji dengan ligan standar melalui skrining virtual menggunakan model 3D farmakofor berbasis fitur yang tervalidasi. Dari hasil pemodelan farmakofor didapatkan senyawa yang paling aktif berikatan dengan reseptornya adalah atlanton dengan nilai *pharmacophore-fit* sebanyak 33,11% dan *hit rate* sebesar 90, 80% seperti yang tertera pada (Gambar 1)

### 3.5. Uji Toksisitas dengan Metode BSLT

Pada pengujian toksisitas dengan metode BSLT pada *vial* didapatkan persamaan dari kurva *linear* antara probit %kematian dan log konsentrasi ekstrak yaitu  $y = 2,876x - 0,9067$  dengan nilai  $R^2 = 0,664$  (Gambar 2). Persamaan ini digunakan untuk mencari nilai LC<sub>50</sub> yang didapatkan pada konsentrasi 114,2878 ppm atau 114.287,8  $\mu$ g/L.

**Tabel 3.** Luaran Simulasi Penambatan Molekul

Senyawa	Cluster	$\Delta G$ (kkal/ mol)	Ki ( $\mu M$ )	Interaksi dengan asam amino		
				Ikatan hidrogen	Ikatan van der waals	Lain-lain
Native Ligand	1	-9.54	101.40	Conventional Hydrogen Bond: ILE A:517, ARG A:513, PHE A: 518, Carbon Hydrogen bond: HIS A:90, ALA A: 527	-	Pi Sulfur: MET A:522
			nM			Amide -Pi Stacked: GLY A:526, Pi-Alkyl: VAL A:349, LEU A: 352, Pi-Sigma: A: 523
Kurkumin	1	-9.03	0.242	Conventional Hydrogen Bond: ARG A:120, HIS A:356, PHE A:357, Carbon Hydrogen Bond: VAL A:349, ASN A:350, MET A:522, VAL A: 523	-	Alkyl dan Pi-Alkyl
			$\mu M$			LEU A:359, LEU A:93, ALA A:527, LEU A:352
Dihidrokurkumin	1	-7.82	1.86	Conventional Hydrogen Bond: ARG A:120, ASN A:350, LEU A:93, PHE A:357, Carbon Hydrogen Bond: LEU A:352	-	-
			$\mu M$			
Desmetoksikurkumin	3	-7.83	1.81	Conventional Hydrogen Bond: ARG A:513, PHE A:357, ARG A:120, ASN A:350	-	Alkyl: LEU A:93
			$\mu M$			
Bisdemethoxycurcumin	3	-8.25	0.898	Conventional Hydrogen Bond: HIS A:90, TYR A:355, ARG A:513, Carbon Hydrogen Bond: SER A:530	-	Alkyl dan Pi-Alkyl: VAL A:523, LEU A:352, TRP A:387, VAL A:349, ALA A:527
			$\mu M$			Pi-Sigma: TYR A:385,
Alpha Tumeron	1	-7.68	2.34	Carbon Hydrogen Bond	-	Alkyl dan Pi-Alkyl: VAL A:523, HIS A:90, PHE A:518, ILE A:517, ALA A:527, TRP A:387, PHE A:381, LEU A:384
			$\mu M$			
Sesquiterpene	2	-6.79	10.53	Conventional Hydrogen Bond: HIS A:356, ARG A:513, PHE A:357, LEU A:352	-	Alkyl dan Pi-Alkyl: VAL A:349, HIS A:90
			$\mu M$			Pi-Sigma: TYR A:385, Alkyl dan Pi-Alkyl: HIS A: 90, ALA A: 516, PHE A:518, VAL A:523, TRP A: 387, ALA A:527, VAL A:349, PHE A: 381, LEU A: 384
Zingiberene	1	-7.82	1.86	-	-	Pi-Sigma: TYR A:385, Alkyl dan Pi-Alkyl: VAL A: 349, ALA A: 527, VAL A: 523, PHE A: 518, LEU A: 352, TRP A: 387, LEU A: 384, PHE A: 381
			$\mu M$			
$\beta$ -Bisabolene	1	-7.70	2.26	-	-	A: 381
			$\mu M$			
D-Fructose	1	-0.97	195.02	Conventional Hydrogen Bond LYS A:215	-	-
			mM			
Atlanton	2	-3.48	2.21	Conventional Hydrogen Bond : ASN A:144, ARG A:216	-	Alkyl dan Pi-Alkyl : PHE A:220, LEU B:238
			mM			

Pada pengujian pada *microwell* didapatkan persamaan *linear*  $y = 1,181x - 1,458$  dengan nilai  $R^2 = 0,8367$  (Gambar 2). Didapatkan nilai  $LC_{50}$  pada konsentrasi 998,052 ppm atau 990.852  $\mu g/L$ .

#### 4. Pembahasan

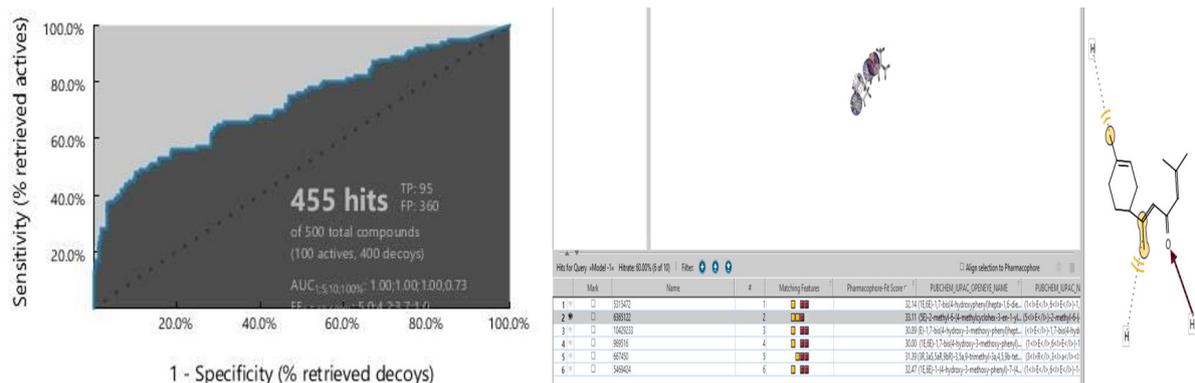
##### 4.1. Prediksi Sifat Fisikokimia Berdasarkan Aturan Lipinski

Prediksi sifat fisikokimia dilakukan untuk menentukan bioavailabilitas zat aktif pada sediaan oral yang berhubungan dengan permeabilitas dan solubilitas zat aktif pada saluran pencernaan<sup>38</sup>. Aturan Lipinski dapat menentukan karakter hidrofilik/hidrofobik suatu senyawa untuk berdifusi pasif melalui membran sel<sup>8</sup>.

Berdasarkan hasil prediksi yang dilakukan, semua senyawa memenuhi kriteria Lipinski. Hal ini menunjukkan bahwa kesepuluh senyawa tersebut telah memenuhi syarat pada lima parameter atau yang dikenal dengan “*rule of five*” (Tabel 1)<sup>5</sup>. Lima parameter tersebut adalah log P dengan syarat  $\leq 5$ , berat molekul dengan syarat  $\leq 500$  g/mol, donor ikatan hidrogen dengan syarat  $\leq 5$ , dan akseptor ikatan hidrogen dengan syarat  $\leq 10$ <sup>38</sup>.

##### 4.2. Prediksi Sifat Farmakokinetik dan Toksisitas

Prediksi sifat farmakokinetik dan toksisitas dilakukan pada *website* Pre-ADMET yang terdiri dari absorpsi, distribusi,



**Gambar 1.** Kurva Validasi Metode ROC dan Hasil Pemodelan Farmakofor Atlanton

dan toksisitas. Absorpsi terdiri dari HIA (*Human Intestinal Absorption*) dan  $\text{CaCO}_2$ . Berdasarkan hasil pada Tabel 2, hampir semua senyawa memiliki nilai HIA yang baik, dimana nilai yang baik berada pada rentang 70–100 %<sup>33</sup>. Namun pada senyawa *D-fructose* nilai HIA tergolong cukup, menandakan hampir semua senyawa yang diujikan memiliki penyerapan yang baik pada usus manusia. Pada parameter  $\text{CaCO}_2$ , senyawa *D-fructose* menunjukkan nilai yang buruk sedangkan senyawa lain menunjukkan nilai yang cukup. Hal ini menandakan senyawa tersebut memiliki permeabilitas yang buruk melalui *barier* antar epitel usus<sup>10</sup>. Permeabilitas yang baik ditunjukkan jika nilai lebih besar dari 70<sup>33</sup>.

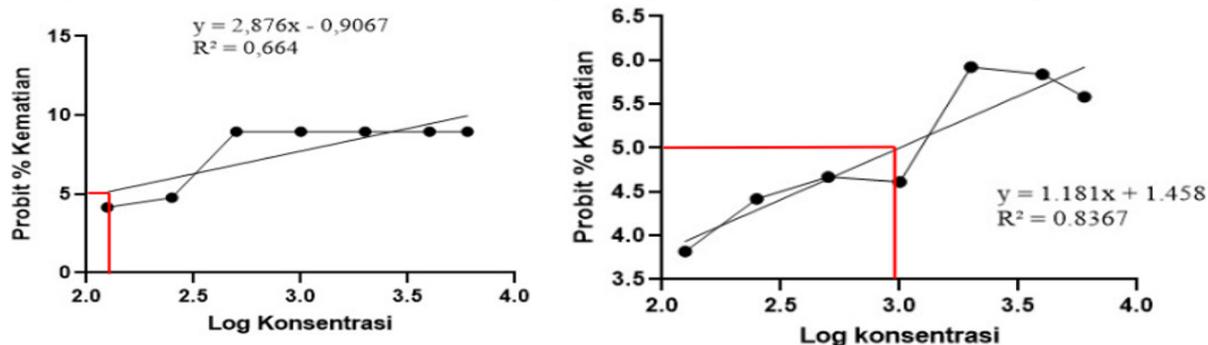
Parameter distribusi terdiri dari PPB (*Plasma Protein Binding*) dan BBB (*Blood Brain Barrier*). Nilai PPB menunjukkan keterikatan senyawa dengan protein plasma, dimana jika nilai lebih besar dari 90%, maka senyawa terikat kuat dengan plasma<sup>33</sup>. Sedangkan BBB menunjukkan absorpsi pada SSP. Terdapat dua golongan nilai BBB, yaitu nilai lebih besar dari 0,3 dapat dianggap mudah melewati sawar darah otak sedangkan nilai lebih kecil dari -1 tidak terdistribusi dengan baik ke otak<sup>38</sup>. Senyawa dengan

nilai PPB yang baik, terdapat pada senyawa bisdemetoksikurkumin, *alpha turmeron*, *zingiberene*,  $\beta$ -*Bisabolene*, dan atlanton. Sedangkan senyawa dengan nilai BBB yang baik terdapat pada senyawa *alpha turmeron*, *zingiberene*,  $\beta$ -*Bisabolene*, dan atlanton (Tabel 2).

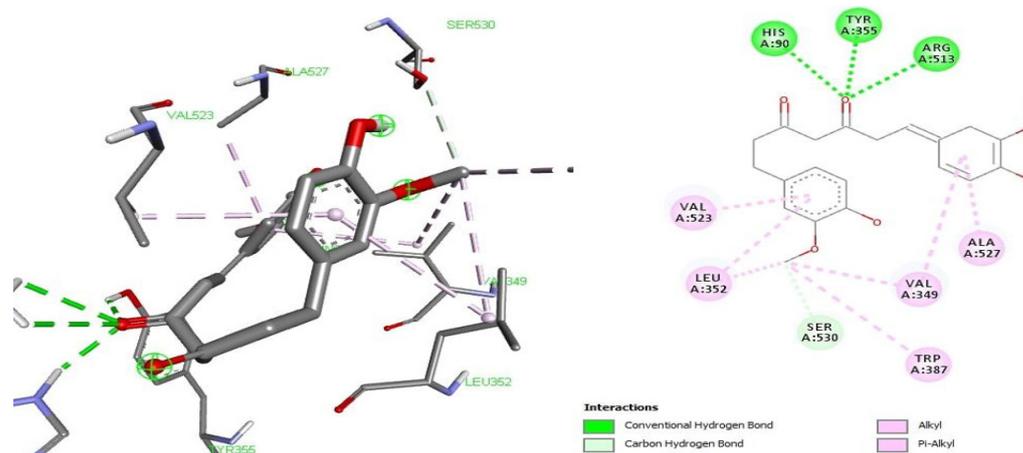
Pada toksisitas terdiri dari parameter mutagen dan karsinogen. Senyawa yang bersifat mutagen terdapat pada senyawa *alpha turmeron*,  $\beta$ -*Bisabolene*, dan *D-fructose*. Sedangkan pada parameter karsinogen, hampir semua senyawa bersifat tidak karsinogen pada mencit dan bersifat karsinogen pada tikus. Namun senyawa *sesquiterpene* dan *alpha turmeron* bersifat karsinogen pada mencit dan tikus serta pada senyawa *D-fructose* bersifat tidak karsinogen pada keduanya.

#### 4.3. Penambatan Molekul

*Molecular docking* merupakan metode yang digunakan untuk memprediksi model pengikatan berbagai ligan dalam alur molekul target, yang berguna dalam pengembangan suatu obat baru dengan aktivitas yang lebih baik<sup>11</sup>. *Molecular docking* memerlukan dua komponen penting yaitu reseptor dan ligan. Pada penelitian ini dipilih struktur



**Gambar 2.** Grafik kurva *linear* pengujian toksisitas pada *vial* (kiri) dan *microwell* (kanan)



**Gambar 3.** Interaksi Senyawa dihidrokurkumin dengan COX-2

3D protein dari reseptor siklooksigenase-2 dengan kode Pdb 5KIR dan resolusi 2.70Å serta digunakan 10 senyawa alami dari rimpang kunyit (*Curcuma domestica*), yaitu kurkumin, desmetoksikurkumin, bisdesmetoksikurkumin, dihidrokurkumin, *alpha-tumeron*, *seskuitepen*, *zingiberene*, *β-bisabolene*, *D-fructose*, dan atlanton sebagai ligan uji<sup>31</sup>.

Dilakukan preparasi dan pemisahan protein (reseptor) dengan *native ligand* dari protein tersebut yang bertujuan untuk menyediakan ruang untuk terjadinya ikatan atau interaksi<sup>18</sup>.

Validasi metode *molecular docking* merupakan tahap dilakukannya penambatan ulang *native ligand* protein COX-2 dengan protein COX-2 yang telah dipreparasi. Dilakukan penambahan hidrogen agar interaksi antar ligan dan protein terjadi secara optimal dan *docking* memiliki suasana yang mirip dengan pH dalam tubuh manusia (pH=7)<sup>15</sup>. Selain penambahan hidrogen, dilakukan pengaturan *grid box* agar terbentuk konformasi antara *native ligand* dengan protein target<sup>19</sup>. Ligan uji umumnya bersifat fleksibel, karena itu diperlukan metode *semi rigid* untuk mencegah adanya perubahan *binding site*.

Nilai RMSD diukur untuk mengevaluasi penyimpangan, dimana nilai RMSD yang besar menunjukkan adanya penyimpangan yang besar dan sebaliknya<sup>18</sup>. Nilai RMSD yang valid yaitu <2Å<sup>21</sup>. Berdasarkan hasil yang diperoleh didapatkan nilai RMSD sebesar 1,46Å (Tabel 3), dengan demikian metode *molecular docking* yang

digunakan telah tervalidasi. Metode *docking* yang tervalidasi kemudian digunakan untuk men-docking reseptor COX-2 pada masing-masing ligan uji dengan minimalisasi energi dahulu agar ligan menjadi lebih stabil selama proses docking berlangsung<sup>18</sup>.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, senyawa kurkumin dan dihidrokurkumin memiliki nilai *binding energy* rendah yaitu -9.03kkal/mol dan -8.25 kkal/mol. Nilai tersebut lebih tinggi jika dibandingkan dengan *binding energy native ligand* pada protein COX-2 (Tabel 3). Hal tersebut menunjukkan adanya kemampuan untuk berikatan, tetapi potensinya lebih lemah daripada *native ligand*nya. Selain itu, dari pengujian yang dilakukan dapat diketahui bahwa interaksi dihidrokurkumin dan protein COX-2 membentuk ikatan hidrogen dan residu asam amino ARG5<sup>18</sup> (Gambar 3) dimana ikatan tersebut sama dengan ikatan hidrogen yang terbentuk antara *native ligand* dan protein COX-2<sup>29</sup> (Tabel 3). Keterlibatan residu asam amino dalam interaksi ligan-reseptor akan mempengaruhi kestabilan konformasi dari reseptor androgen. Selain itu, sifat residu yang terlibat juga dapat mempengaruhi stabilitas koneksi antara ligan dengan reseptor.

Hal ini menunjukkan dihidrokurkumin memiliki sisi aktif tempat berikatan yang sama pada protein COX-2 dengan *native ligand* sehingga akan menghasilkan afinitas yang sama dengan *native ligand* nya dalam menghambat protein COX-2.

#### 4.4. Pemodelan Farmakofor

Farmakofor merupakan gugus-gugus

yang terdapat di dalam suatu ligan yang membentuk posisi 3D yang akan dikenali oleh reseptornya secara spesifik karena memiliki pola yang unik. Pemodelan farmakofor dilakukan untuk melihat kemiripan suatu senyawa uji dengan database *active* dan *decoy*<sup>17</sup>.

Validasi metode dilakukan sebelum pemodelan farmakofor untuk memastikan reabilitas farmakofor pada *Ligandscout* menggunakan *active set* dan *decoy set*. Pada validasi ini, *active set* dan *decoy set* yang digunakan masing-masing sebanyak 100 dan 400.

Dari validasi, dihasilkan kurva ROC (*Receiver Operating Characteristic*) dengan nilai AUC (*Area Under Curve*). Nilai AUC valid jika nilainya lebih besar dari 70%. Selain itu, model farmakofor dikatakan baik jika model tersebut dapat mengidentifikasi sebagian besar senyawa *active* dan sebagian kecil senyawa *decoy*<sup>20</sup>. Dari 10 model, nilai AUC tertinggi terdapat pada model 1 (Gambar 1) yaitu sebesar 73% dengan 455 *hits* yang dapat dikatakan valid karena sudah memenuhi persyaratan nilai AUC.

Kemudian, dilakukan pengujian terhadap 10 senyawa pada kunyit dan didapatkan 6 senyawa hit yang diprediksikan dapat berikatan dengan reseptor COX-2, yaitu bisdemetoksikurkumin, atlanton, dihidrokurkumin, kurkumin, seskuiterpen, dan demetoksikurkumin. Nilai *pharmacophore fit* tertinggi terdapat pada senyawa atlanton yaitu sebesar 33,11. Semakin besar nilai *pharmacophore fit*, maka semakin baik efektivitasnya. Nilai *pharmacophore fit*, berkaitan dengan keaktifan suatu fitur untuk berikatan dengan reseptornya<sup>23</sup>.

#### 4.5. Uji Toksisitas dengan Metode BSLT

Uji dengan metode BSLT bertujuan untuk mengetahui apakah senyawa berpotensi sebagai racun dengan mengamati tingkat toksisitas ekstrak yang mengandung senyawa uji terhadap hewan uji<sup>13</sup>. Uji toksisitas dilakukan pada larva *Artemia salina* Linch. dan sediaan infusa simplisia rimpang kunyit (*Curcuma longae Rhizoma*). Kemampuannya dalam beradaptasi terhadap

kondisi ekstrem, menggunakan beberapa sumber nutrisi, dan ketersediaan kistanya untuk dikumpulkan, membuat genus *Artemia* ideal untuk digunakan pada uji toksisitas<sup>30</sup>. Infundasi adalah metode untuk mencari dan mendapatkan kandungan zat aktif yang larut dalam air dari bahan-bahan nabati. Digunakan sediaan infusa supaya dapat menyerupai cara pembuatan jamu oleh masyarakat yaitu dengan cara merebus bahan yang diperlukan<sup>22</sup>.

LC<sub>50</sub> merupakan nilai konsentrasi suatu ekstrak yang dapat menyebabkan kematian hingga 50% pada suatu populasi organisme uji<sup>23</sup>. Menurut Meyer et al (1982), suatu ekstrak dikatakan toksik bila nilai LC<sub>50</sub> tidak lebih dari 1.000 mg/L dan sangat toksik bila nilai LC<sub>50</sub> tidak lebih dari 30 mg/L. Sedangkan bila nilai LC<sub>50</sub> melebihi 1.000 mg/L, maka ekstrak dikatakan tidak toksik<sup>24</sup>.

Pada perhitungan kematian larva udang, jumlah larva yang mati dimaksudkan sebagai larva udang yang mati sebelum penambahan metanol, sedangkan jumlah larva uji dimaksudkan sebagai jumlah larva udang yang mati setelah penambahan metanol. Dari persentase kematian, didapatkan nilai probitnya yang kemudian digunakan untuk pembuatan kurva linear antara probit %kematian dan log konsentrasi ekstrak uji. Persamaan yang didapatkan dari kurva linear ini yang digunakan untuk menentukan LC<sub>50</sub>. Kandungan metabolit sekunder yang bersifat toksik dalam ekstrak rimpang kunyit merupakan penyebab kematian 50% pada larva udang<sup>28</sup>. Membran kulit udang *A.salina* yang sangat tipis menyebabkan terjadinya difusi zat dari lingkungan yang memengaruhi metabolisme tubuhnya<sup>25</sup>. Hasil nilai LC<sub>50</sub> pada *vial* dan *microwell* menunjukkan ekstrak bersifat toksik serta tingginya senyawa bioaktif pada ekstrak rimpang kunyit. Semakin tinggi senyawa bioaktif maka nilai LC<sub>50</sub> akan semakin kecil<sup>26</sup>. Nilai LC<sub>50</sub> yang rendah atau berada di bawah 1000 ppm dapat juga menunjukkan adanya senyawa sitotoksik yang kuat sehingga diperlukan penyelidikan lebih lanjut<sup>23</sup>.

## 5. Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang telah

dilakukan, dapat disimpulkan bahwa kunyit memiliki potensi yang kurang baik sebagai antiinflamasi untuk *dysmenorrhea*. Hasil penambatan molekul senyawa-senyawa pada kunyit, memiliki afinitas yang baik pada reseptor 5KIR. Namun, berdasarkan hasil pemodelan farmakofor dan uji toksisitas, senyawa dalam kunyit masih memiliki efektivitas yang rendah serta masih bersifat toksik terhadap larva *Artemia salina*. Sehingga hal ini, masih perlu dilakukan penelitian lebih lanjut.

#### Daftar Pustaka

1. Larasati TA, Alatas F. Dismenore Primer dan Faktor Risiko Dismenore Primer pada Remaja. *Majority*. 2016;5(3):79-84.
2. Nurfadillah H, Maywati S, Aisyah IS. Faktor-Faktor Yang Berhubungan Dengan Kejadian Dismenore Primer pada Mahasiswi Universitas Siliwangi. *Jurnal Kesehatan komunitas Indonesia*. 2021;17(1):247-256.
3. Sima RM, Sulea M, Radosa JC, Findelee S, Hamoud BH, Popescu M, et al. The Prevalence, Management and Impact of Dysmenorrhea on Medical Students' Lives—A Multicenter Study. *Healthcare*. 2022;10(157):1-10.
4. Handayani, Gamayanti IL, Julia M. Dismenore dan Kecemasan pada Remaja. *Sari Pediatri*. 2013;15(1):27-31.
5. Nursamsiar, Toding AT, Awaluddin A. Studi In Silico Senyawa Turunan Analog Kalkon dan Pirimidin sebagai Antiinflamasi: Prediksi Absorpsi, Distribusi, dan Toksisitas. *Pharmacy: Jurnal Farmasi Indonesia (Pharmaceutical Journal of Indonesia)*. 2016;13(1): 92–100.
6. Sari W, Harahap D, Saleh MMI. Prevalensi Penggunaan Obat Anti-Inflamasinon-Steroid (Oains) Pereda Dismenore di Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijayapalembang. *Majalah Kedokteran Sriwijaya*. 2018;50(3):154-165.
7. McIntyre W, Evans, G. The Vioxx® legacy: Enduring lessons from the not so distant past. *Cardiology Journal*. 2014;21(2):1-3.
8. Lipinski C. Lead-and Drug-Like Compounds: The Rule-of-Five Revolution. *Drug Discovery Today: Technologies*. 2004;1(4):337-341.
9. Kusbiantoro D, Purwaningrum Y. Pemanfaatan kandungan metabolit sekunder pada tanaman kunyit dalam mendukung peningkatan pendapatan masyarakat. *Jurnal Kultivasi*. 2018;17(1):544-549.
10. Kelutur F, Mustarichie R, Umar A. Virtual screening kandungan senyawa kipas laut (*Gorgonia mariae*) sebagai Antiasma. *Jurnal Penelitian Kimia*. 2020;16(2):199-210.
11. Pratama A, Rifai Y, Marzuki A. Docking Molekuler Senyawa 5, 5'-Dibromometilsesamin. *Majalah Farmasi dan Farmakologi*. 2017; 21(3):67-69.
12. Puspitasari E, Rozirwan, Hendri M. Uji Toksisitas dengan Menggunakan Metode Brine Shrimp Lethality Test (Bslt) Pada Ekstrak Mangrove (*Avicennia Marina*, *Rhizophora Mucronata*, *Sonneratia Albadan Xylocarpus Granatum*) yang Berasal dari Banyuasin, Sumatera Selatan. *Jurnal Biologi Tropis*. 2018;18(1):91-103.
13. Muaja AD, Koleangan HSJ, Runtuwene MRJ. Uji Toksisitas dengan Metode BSLT dan Analisis Kandungan Fitokimia Ekstrak Daun Soyogik (*Saurauia bracteosa* DC) dengan Metode Soxhletasi. *Jurnal MIPA UNSRAT*. 2013;2(2):115-118.
14. Nusantoro YR, Fadlan A. Analisis Sifat Mirip Obat, Prediksi ADMET, dan Penambatan Molekular Isatinil-2-Aminobenzoilhidrazon dan kompleks logam transisi Co(II), Ni(II), Cu(II), Zn(II) Terhadap BCL2-XL. *Akta Kimia Indonesia*. 2020;5(2):114-126
15. Frimayanti N, Lukman A, Nathania L. Studi molecular docking senyawa 1, 5-benzothiazepine sebagai inhibitor dengue DEN-2 NS2B/NS3 serine protease. *CHEMPUBLISH JOURNAL*. 2021;6(1):54-62.
16. Fatimah D, Oktaviani D, Widiyastuti

- S, Arnanda, Q, Lestari S, Ramadhan S, Megantara S. Pemodelan Farmakofor, Skrining Virtual, Dan Penambatan Molekul Senyawa Metabolit Dalam Ekstrak Daun Salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.) Sebagai Senyawa Antihipertensi. *Jurnal Farmasi Galenika*. 2020;7(2):91-107.
17. Susanti NMP, Laksmiani NPL, Dewi PPP, Dewi PYC. Molecular Docking Terpinen-4-ol pada Protein IKK sebagai Antiinflamasi pada Aterosklerosis secara In Silico. *Jurnal Farmasi Udayana*. 2019;8(1):44-49.
  18. Rachmania RA, Supandi, Cristina FAD. Analisis Penambatan Molekul Senyawa Flavonoid Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl.) pada Reseptor  $\alpha$ -Glukosidase sebagai Antidiabetes. *Pharmacy*. 2016;13(2):239-251.
  19. Suherman M, Prasetiawati R, Ramdan D. Virtual Screening Of Tamarind Active Compounds (*Tamarindus indica* L.) on Selective Inhibitor Siklooksigenase-2. *Jurnal Ilmiah Farmako Bahari*. 2020;11(2):125-136
  20. Muttaqin FZ, Ismail H, Hubbi NM. Studi molecular docking, molecular dynamic, dan prediksi toksisitas senyawa turunan alkaloid naftiridin sebagai inhibitor protein kasein kinase 2- $\alpha$  pada kanker leukemia. *J of Pharmacoscript*. 2019;2(2):131-151.
  21. Muchtaridi M, Syahidah H, Subarnas A, Yusuf M, Bryant S, dan Langer T. Molecular Docking and 3D-Pharmacophore Modeling to Study the Interactions of Chalcone Derivatives with Estrogen Receptor Alpha. *Pharmaceuticals*. 2017;10(4), 81.
  22. Depkes RI. *Farmakope Herbal Indonesia Edisi I*. Jakarta: Dirjen Bina Kefarmasian dan Alat Kesehatan-Depkes RI; 2008.
  23. Nurcholis W, Priosoeryanto P, Purwakusumah E, Katayama T, Suzuki T. Antioxidant, Cytotoxic Activities and Total Phenolic Content of Four Indonesian Medicinal Plants. *Valensi*. 2012;2(4):501-510.
  24. Meyer B, Ferrigni N, Putnam J, Jacobsen L, Nichols D, Mc Laughlin J. Brine shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents. *J. Planta Medica*. 1982;45(5):31-45.
  25. Mudjiman A. *Budidaya Udang Putih*. Jakarta: Penerbit Swadaya;1989.
  26. Sumihe G, Runtuwene M, Rorong J. Analisis Fitokimia Dan Penentuan Nilai Lc50 Ekstrak Metanol Daun Liwas. *Jurnal Ilmiah Sains*. 2014;14(2):125-128.
  27. Khotimah, SN, Muhtadi, A. Review Artikel: Beberapa Tumbuhan yang Mengandung Senyawa Aktif Antiinflamasi. *Jurnal Farmaka*. 2021;14(2):28-40.
  28. Jannah, DW, Maunatin, A, dan Jannah, A. Identifikasi dan Uji Toksisitas terhadap Larva Udang (*Artemia salina* L.) Ekstrak Bekatul Menggunakan Variasi Jenis Pelarut dan Lama Ekstraksi. *Alchemy: Journal of Chemistry*. 2020;8(2):16-23.
  29. Lingwan, M., Shagun, S., Pant, Y., Kumari, B., Nanda, R., & Masakapalli, S. K. Antiviral phytochemicals identified in *Rhododendron arboreum* petals exhibited strong binding to SARS-CoV-2 MPro and Human ACE2 receptor [diunduh 2 Maret 2022]. Tersedia dari : <https://doi.org/10.20944/preprints202008.0530.v1>
  30. Rajabi, S, Ramazani, A, Hamidi, M, dan Naji, T. *Artemia salina* as a model organism in toxicity assessment of nanoparticles. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2015;23(1):20.
  31. Orlando, BJ, & Malkowski, MG. Crystal structure of rofecoxib bound to human cyclooxygenase-2. *Acta Crystallographica Section F: Structural Biology Communications*. 2016;72(10): 772-776.
  32. Dewayani AR, Ghaliya S, Parameswari N, Pribadi APA, Ahadi HM, Aulifa DL, Elaine AA, Sitinjak BDP. Studi In Silico Senyawa Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Sebagai Inhibitor BRAF V600E Kinase Pada Kanker Melanoma. 2023;11(2): 30-38.
  33. Mardianingrum, R., Bachtiar, K. R., Susanti, S., Nuraisah, A. N. A., &

- Ruswanto, R. Studi In Silico Senyawa 1, 4-Naphthalenedione-2-Ethyl-3-Hydroxy sebagai Antiinflamasi dan Antikanker Payudara. *ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia*. 2021;17(1):83-95.
34. Athharani, N. S., Sutadipura, N., & Susanti, Y. Studi Penambatan Molekul Senyawa Curcuma longa pada Bakteri Resisten Carbapenem *Acinetobacter baumannii* dengan Metode In Silico. *Jurnal Integrasi Kesehatan dan Sains*. 2021;3(1):124-130.
35. Kurniawan, H., & Ropiqa, M. Uji toksisitas ekstrak etanol daun ekor kucing (*Acalypha hispida* Burm. f.) dengan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Journal Syifa Sciences and Clinical Research*. 2021;3(2):52-62.
36. Jelita, S. F., Setyowati, G. W., & Ferdinand, M. Uji Toksisitas Infusa *Acalypha siamensis* Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Farmaka*. 2020;18(1):14-22.
37. Pradani, T. C., Manampiring, A. E., Kepel, B. J., Budiarmo, F. D., & Bodhi, W. Molecular Docking Terhadap Senyawa Kurkumin dan Arturmeron pada Tumbuhan Kunyit (*Curcuma Longa* Linn.) yang Berpotensi Menghambat Virus Corona. *eBiomedik*. 2021;9(2):14-22.
38. Apriali, K. D., Triana, E., Farhani, M. I., Khoirunnisa, A., & Nur'aini, Y. A. Studi Penambatan Molekul dan Prediksi Admet Senyawa Metabolit Sekunder Tanaman Kelor (*Moringa Oleifera* L.) Sebagai Inhibitor Bace1 Pada Penyakit Alzheimer. *Fitofarmaka: Jurnal Ilmiah Farmasi*. 2022;12(1):58-67.
39. Arwansyah, A. Simulasi Molecular Docking Senyawa Kurkumin dan Analognya Sebagai Selective Androgen Receptor Modulators (SARMs) pada Kanker Prostat. *Dinamika*. 2015;5(2):61-75.