

Docking dan Uji Toksisitas Secara *Insilico* untuk Mendapatkan Kandidat Obat Analgesik

Okta Nursanti^{1*}, Abdul Aziz², Ginayanti Hadisoebroto²

¹Fakultas Farmasi Militer Universitas Pertahanan Republik Indonesia

²Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Program Studi Farmasi
Universitas Al- Ghifari

Email: okta.nursanti@yahoo.co.id; kakang_36@yahoo.com; gina.hs11@gmail.com

Korespondensi:

Okta Nursanti

Fakultas Farmasi Militer Universitas Pertahanan Republik Indonesia
okta.nursanti@yahoo.co.id

Abstrak

Salah satu upaya penemuan obat baru untuk mengobati nyeri yang sering terjadi di masyarakat adalah dengan penapisan senyawa bioaktif yang berasal dari alam. Flavonoid merupakan salah senyawa bioaktif alami yang memiliki berbagai khasiat dalam pengobatan seperti sebagai antibakteri, antijamur, antivirus, antioksidan, antiinflamasi, antialergi, antinyeri dan antitumor. Senyawa bioaktif yang terdapat di flavonoid yang memiliki aktivitas sebagai antinyeri seperti gingerol, linalool, limonen, zingeron, zingiberol, anthocyanin, melatonin. Penelitian ini dilakukan untuk mempelajari interaksi senyawa bioaktif flavonoid dengan target reseptor cyclooxygenase 2 yang di unduh dari Protein Data Bank dengan kode 51KR. Untuk mengetahui besarnya interaksi senyawa bioaktif dengan target dilakukan dengan penapisan virtual melalui Protoc II Web Server untuk mengetahui toksisitas. Perangkat lunak penambatan molekul yang digunakan adalah Arguslab versi 4.0.1 dan untuk visualisasi hasil menggunakan Discovery Studio 2016. Dari hasil penambatan molekul (*Molecular Docking*) menunjukkan bahwa ketujuh senyawa diatas aman. Binding Energy ketujuh ligan tersebut lebih rendah dibandingkan ligan alami Asam Mefenamat pada RMSD < 2 Angstrom, sehingga dapat ditarik kesimpulan bahwa senyawa gingerol, linalool, limonen, zingeron, zingiberol, anthocyanin dan melatonin dapat digunakan sebagai obat antinyeri.

Kata Kunci: *protoc II web server; molekular docking; arguslab; discovery studio; analgetic*

Docking and Toxicity Testing Insilico to Get Candidates for Analgesic Drug

Abstract

One of the findings of the discovery of new drugs for healing that often occur in society is a screening of bioactive compositions derived from nature. Flavonoid is a bioactive mixture that has various medicinal properties such as antibacterial, antifungal, antiviral, antioxidant, anti-inflammatory, hypo-allergenic, anti-pain, and anti-tumor

properties. Bioactive compounds found in flavonoids that have An anti-pain activity such as gingerol, linalool, limonene, zingerone, zingiberol, anthocyanin, and melatonin. This research was conducted to discuss the interaction of bioactive flavonoids with cyclooxygenase 2 target receptors which are different from Protein Data Bank with code 51KR. To find out the importance of interactions with bioactive with targets carried out by virtual blocking through Protox II, Web Server to determine toxicity. The molecular tethering software used is Arguslab version 4.0.1 and for visualizing the results using Discovery Studio 2016. The molecular docking, results showed the seven comparisons above are safe. The Binding Energy of the seven ligands is more than the natural ligands of Mefenamic Acid in RMSD <2 Angstroms, so conclusions can be drawn as gingerol, linalool, limonene, zingerone, zingiberol, anthocyanin, and melatonin can be used as anti-pain medications.

Keywords: *protox II web server; molecular docking; arguslab; discovery studio; analgesic*

Received: 11 April 2022

Accepted: 17 Juni 2022

PENDAHULUAN

Proses penemuan obat baru merupakan sebuah rangkaian yang sangat panjang dan melibatkan berbagai disiplin ilmu⁽¹⁾. Proses penemuan obat baru, baik NCE (*New Chemical Entities*) maupun NBE (*New Biological Entities*) memerlukan biaya yang sangat besar⁽²⁾. Dari data yang dilansir oleh *Kalorama Information*, industri farmasi mengeluarkan tidak kurang dari US\$ 95 milyar selama 10 tahun terakhir, biaya *Research and development* industri farmasi meningkat drastis, dari US\$ 59 milyar pada tahun 2001, menjadi US\$ 131,7 milyar pada tahun 2011, meningkat lebih dari 2 kali lipat⁽³⁾. Sementara jumlah obat yang disetujui menurun dari rata-rata 86 pertahun menjadi 77 NCE (*New Chemical Entities*)/NBE (*New Biological Entities*) (Parexel, *Sourcebook Biopharmaceutical R&D 2011/2012, FDA*)⁽⁴⁾.

Kombinasi mensintesis dan uji aktivitas obat menjadi sangat rumit dan memerlukan waktu yang lama untuk sampai pada pemanfaatan obat⁽⁵⁾, masalah ini menjadi tantangan bagi para pakar peneliti untuk menemukan cara yang lebih efektif dan efisien dalam menemukan senyawa sebagai calon obat baru⁽⁵⁾. Salah satu upaya yang banyak dilakukan adalah pemanfaatan metode kimia komputasi (*computational chemistry*)⁽⁶⁾. Hal tersebut menunjukkan adanya kemajuan di bidang kimia komputasi, sehingga peneliti dapat menggunakan komputer untuk mengoptimasi aktivitas, geometri dan reaktivitas sebelum senyawa disintesis secara eksperimental⁽⁷⁾. Langkah ini bertujuan menghindari sintesis suatu senyawa yang membutuhkan waktu dan biaya mahal, tetapi senyawa baru tersebut tidak memiliki aktivitas seperti yang diharapkan⁽⁸⁾.

Keberadaan komputer yang dilengkapi dengan aplikasi kimia komputasi memungkinkan ahli kimia komputasi medisinal menggambarkan senyawa obat secara tiga dimensi (3D) dan melakukan komparasi atas dasar kemiripan dan energi dengan senyawa lain yang sudah diketahui memiliki aktivitas tinggi (*pharmacophore query*)^{(9),(10)}. Berbagai senyawa turunan dan analog dapat "*disintesis*" secara *in silico* atau yang sering diberi istilah senyawa hipotetik^{(11),(12)}. Dua metode yang saling melengkapi dalam penggunaan komputer sebagai alat bantu penemuan obat adalah *ligand-based drug*.

design (LBDD) yaitu rancangan obat berdasarkan ligan yang sudah diketahui, *structure-based drug design* (SBDD) yaitu rancangan obat berdasarkan struktur target yang didasarkan pada struktur target reseptor yang bertanggung jawab atas toksisitas dan aktivitas suatu senyawa didalam tubuh⁽¹³⁾.

Indonesia kaya akan tumbuh-tumbuhan, yang berdasarkan pengalaman telah dimanfaatkan oleh nenek moyang sejak zaman dahulu kala untuk memenuhi keperluan hidup, salahsatunya untuk pengobatan⁽¹⁴⁾. Sampai saat ini pemanfaatan tumbuhan sebagai obat tradisional masih dilakukan disamping obat-obatan modern, bahkan ada kecenderungan meningkat^{(15),(16)}. Hal ini terlihat di pedesaan, terlebih lagi pada daerah terpencil yang jauh dari fasilitas kesehatan modern. Beberapa tumbuhan yang sering digunakan sebagai obat adalah Jahe (*Zingiber officinale*) dan buah Ceri (*Prunus avium*). Bagian dari tanaman yang sering dimanfaatkan adalah rimpang, kulit, dan daging buah. Rimpang Jahe (*Zingiber officinale*) dan buah Ceri (*Prunus avium*), berkhasiat untuk mengobati nyeri, peradangan, sebagai anti koagulan, menurunkan tekanan darah, gigitan serangga, dan rematik^{(17),(18)}. Nyeri adalah sensori subyektif dan emosional yang tidak menyenangkan yang didapat terkait dengan kerusakan jaringan aktual maupun potensial, beberapa senyawa yang berhasil diisolasi dari tanaman Jahe (*Zingiber officinale*) dan buah Ceri (*Prunus avium*) adalah gingerol, linalool, limonen, zingeron, zingiberol, anthocyanin, melatonin⁽¹⁷⁾. Namun potensi senyawa-senyawa yang terkandung didalam tanaman Jahe (*Zingiber officinale*) dan buah Ceri (*Prunus avium*) belum pernah dibuktikan senyawa mana yang memiliki efektifitas tinggi sebagai analgesik.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat

Perangkat Keras (*Hardware*)

Perangkat Keras (*Hardware*) yang akan digunakan pada penelitian ini adalah sebuah laptop merek ACER dengan spesifikasi: Intel Core™ i3-2350M dengan RAM 4GB, *Hardisk* 500GB, VGA Intel HD *Graphics* 3000, System operasi Windows 7 64 bit.

Perangkat Lunak (*Software*)

Perangkat lunak (*Software*) yang digunakan meliputi:

- ChEBI*, *webserver* yang digunakan untuk pencarian stuktur ligan, dapat diakses secara gratis di (<https://www.ebi.ac.uk/chebi/>).
- Protox Web Server*, *webserver* yang digunakan untuk prediksi toksisitas, dapat diakses secara gratis di (<http://tox.charite.de>).
- pkCSM*, *webserver* yang digunakan untuk melihat *ADMET* dari suatu ligan uji, dapat diakses secara gratis di (<http://biosig.unimelb.edu.au>).
- Protein Data Bank*, *webserver* yang digunakan untuk pencarian *reseptor*, dapat diakses secara gratis di (<https://www.rcsb.org/>).
- ArgusLab*, *software* ini digunakan untuk *molecular docking* dan preparasi reseptor dapat di *download* secara gratis di (<http://www.arguslab.com/arguslab.com/ArgusLab.html>).
- Discovery Studio*, *software* ini digunakan untuk visualisasi ligan dan analisis asam amino, di *download* secara gratis di (<http://www.3dsbiovia.com>).

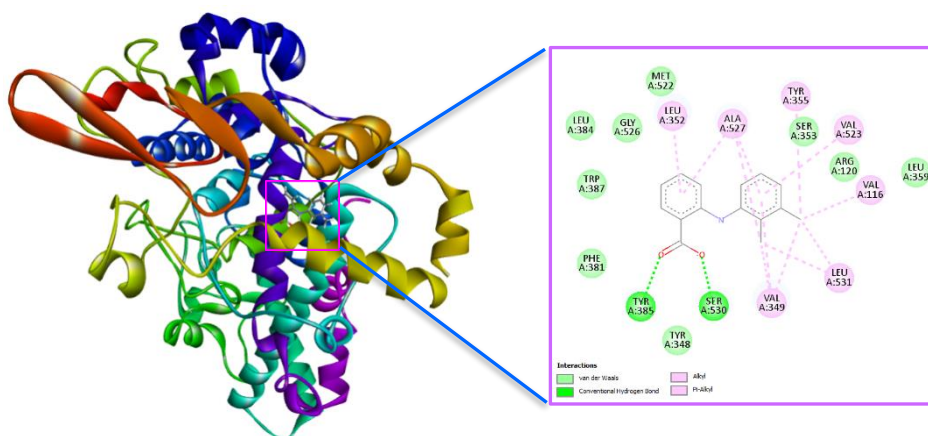
Bahan

1. Ligan Uji

Ligan uji yang dimaksud adalah senyawa tanaman jahe dan buah ceri (gingerol, linalool, limonen, zingeron zingiberol, anthocyanin, melatonin) yang didownload dari ChEBI dalam format *molfile*.

2. Reseptor

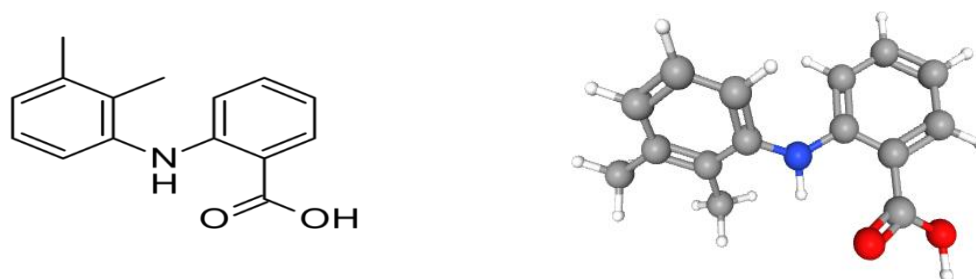
Struktur dari reseptor *cyclooxygenase* yang di download dari Protein Data Bank dalam format *pdb*.



Gambar 1. Reseptor Cyclooxygenase-2^{19,20}

3. Ligan Pemandang

Ligan pemandang menggunakan asam mefenamat yang *didownload* dari ChEBI dalam format *molfile*.



Gambar 2. Struktur Asam Mefenamat^{19,20}

Rancangan Penelitian

Pencarian ligan Uji

Pencarian senyawa tanaman Jahe (*Zingiber officinale*) dan buah Ceri (*Prunus avium*) bisa di *download* dari ChEBI database (<https://www.ebi.ac.uk/chebi/>). Chemical Entities of Biological Interest (ChEBI) adalah kamus *entitas* molekuler yang tersedia secara bebas yang berfokus pada senyawa kimia kecil, istilah *entitas* mengacu pada atom, molekul, ion, pasangan ion, radikal, ion radikal, kompleks, *conformer*, yang berbeda secara isotopik dan dapat diidentifikasi sebagai *entitas* yang dapat dibedakan secara terpisah. Berikut langkah pencarian ligan di ChEBI :

1. Masuk ke *database* ChEBI dengan mengakses webserver gratis (<https://www.ebi.ac.uk/chebi/>).

2. Pada kolom 'search' masukan nama senyawa yang akan kita teliti, setelah muncul senyawa yang dimaksud, klik nama senyawa tersebut.
3. Setelah terlihat nama senyawa dan struktur molekulnya dalam 2D, kemudian *download* dengan format *molfile* pada pilihan format senyawa tersebut.
4. Namun jika nama senyawa yang kita cari tidak ditemukan maka, kita menggambar struktur senyawa tersebut pada lembar kerja yang telah disediakan.
5. Semua struktur 2D senyawa aktif ini di *download* dari *ChEBI* dalam format *molfile* dan di *save* sesuai dengan namanya masing-masing.

Uji Toksisitas

Senyawa tanaman Jahe (*Zingiber officinale*) dan buah Ceri (*Prunus avium*) di uji di *Protox Web Server* dengan mengakses secara gratis di (<http://tox.charite.de>). *Protox Web Server* adalah laboratorium virtual untuk memprediksi toksisitas dari molekul yang sangat kecil. Berikut langkah-langkah uji toksisitas :

1. Masuk ke *database Protox Web Server* dengan mengakses webserver gratis (<http://tox.charite.de>).
2. Setelah terbuka halaman *Protox Web Server*, sorot menu bar, klik menu 'TOX PREDICTION' dan akan diarahkan pada halaman baru untuk uji toksisitas.
3. Pada kolom 'search' 'Pubchem-Name' masukan nama senyawa yang akan kita teliti, setelah muncul senyawa yang dimaksud, maka akan ditampilkan pada lembar kerja struktur dari senyawa tersebut dalam tampilan 2D.
4. Pada tampilan 'additional models' centang semua model toksik prediksi kemudian tekan tombol 'start tox-prediction' disebelah kanan bawah, tunggu beberapa saat sampai muncul halaman hasil prediksi toksisitas.
5. Setelah muncul halaman hasil prediksi toksisitas, disana akan ditampilkan prediksi *LD50*, *average similarity*, *prediction accuracy*.

Penambatan Molekul (*Molecular Docking*)

Dalam penelitian ini dilakukan *molecular docking* tanaman Jahe (*Zingiber officinale*) dan buah Ceri (*Prunus avium*) yang akan menjadi ligan dengan menggunakan *software ArgusLab*. *Software* ini merupakan program yang terintegrasi untuk memprediksi interaksi antara ligan dengan reseptor, *software* ini dapat menangani aspek dalam proses *docking*, dari preparasi molekul hingga penentuan situs aktif reseptor.

Berikut langkah penambatan molekul (*Molecular Docking*):

1. Buka *software ArgusLab*, tunggu beberapa saat.
2. Klik menu file, open, cari lokasi kita menyimpan file, Open file pdb dengan format pdb file.
3. Setelah terbuka, expand folder reseptor kita dan cari folder misc (disini tempat ligan pembanding berada).
4. Pilih ligan pembanding yang sudah diketahui, pilih menu *edit*, pilih 'hide unselected'.
5. Klik icon *center molecule*, hapus gugus *hydrogens*.
6. Klik kanan pada ligan, pilih *make ligand group from this residue*, maka hasilnya akan tampil di folder *groups*.
7. Buka folder *groups*, pilih ligan, klik kanan pilih *make a BindingSite group for this group*, maka akan tampil *bindingsite*.
8. Kembali ke menu file, open, cari tempat kita menyimpan senyawa tanaman dengan format *molfile*.

9. Setelah terbuka, expand folder senyawa tanaman kita dan cari folder misc (disini tempat senyawa tanaman berada).
10. Klik kanan pada senyawa tanaman, pilih *make ligand group from this residue*, maka hasilnya akan tampil di folder *groups*.
11. Klik icon *set up a dock calculation*, pada kolom ligan, pilih senyawa jahe kita, kemudian pada kolom *binding site bounding box* pilih *calculate size*, kemudian klik *start* untuk memulai *docking*.
12. Tunggu sekitar 10 detik hingga proses *docking* selesai dan hasil *docking* ditampilkan pada lembar yang telah disediakan.

Analisa Hasil

1. Nilai/skor *binding energy* yang didapat dari *molecular docking* antara tanaman Jahe (*Zingiber officinale*) dan buah Ceri (*Prunus avium*) dengan reseptor *cyclooxygenase* dibandingkan dengan hasil/skor *binding energy molecular docking* antara ligan alami asam mefenamat dengan reseptor *cyclooxygenase*.
2. Jika hasil/skor *binding energy* yang didapat dari tanaman Jahe (*Zingiber officinale*) dan buah Ceri (*Prunus avium*) lebih kecil/rendah dari *binding energy* ligan alami asam mefenamat, maka dapat disimpulkan bahwa beberapa senyawa tersebut dapat bersaing untuk berikatan dengan reseptor *cyclooxygenase* sebagai *antagonis*.
3. Hasil/skor *binding energy* yang terbaik yang didapatkan dari hasil *molecular docking* ditampilkan dalam bentuk tabel

HASIL DAN PEMBAHASAN

HASIL

Protox Web Server adalah laboratorium virtual untuk prediksi toksisitas pada molekul kecil(21). Prediksi toksisitas senyawa merupakan bagian penting dari proses pengembangan desain obat(22). Perkiraan toksisitas komputasi tidak hanya lebih cepat dari penentuan dosis toksik pada hewan, tetapi juga dapat membantu mengurangi jumlah percobaan hewan. Dalam pelaksanaan uji toksisitas virtual, *protox web server* memprediksi berbagai titik akhir toksisitas seperti toksisitas akut, hepatotoksitas, sitotoksitas, karsinogenisitas, mutagenisitas, imunotoksitas, hasil buruk pada jalur dan target toksisitas.

Tabel 1. Hasil Prediksi Toksisitas

Senyawa	LD ₅₀ Mg/Kg	Prediksi Kelas Toksisitas
Gingerol	250	3
Linalool	2200	5
Limonene	4400	5
Zingeron	2580	5
Zingiberenol	2340	5
Anthocyanin	3200	5
Melatonin	1250	4
As Mefenamat	525	4

Berdasarkan hasil prediksi toksisitas menggunakan *Protox Web Server* didapat data hasil prediksi toksisitas seperti pada Tabel 1 maka didapat senyawa dari masing tanaman Jahe (gingerol, linalool, limonene, camphor, zingeron zingiberol), buah ceri (anthocyanin, melatonin). Dari tabel diatas diperoleh data dimana linalool, limonen, zingeron, zingiberenol, anthocyanin berada dikelas 5 prediksi toksisitas, sedangkan

melatonin terdapat pada kelas 4 sedangkan gingerol berada di kelas 3, pada penjelasan *Protox Web Server* prediksi toksisitas dijelaskan bahwa semakin kecil angka atau bilangan maka semakin toksik prediksi suatu senyawa, sebaliknya jika semakin besar angka atau bilangan maka semakin aman suatu senyawa tersebut(21)(22).

Tabel 2. Toksisitas Target Organ

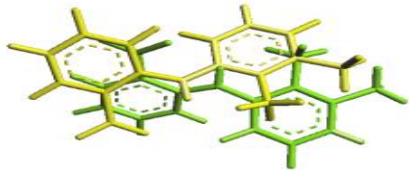

Senyawa	Hepatotoksik	Karsinogen	Imunotoksitas	Mutagen	Sitotoksitas
Gingerol	Tidak	Tidak	Ya	Tidak	Tidak
Linalool	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak
Limonene	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak
Zingeron	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak
Zingiberenol	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak
Anthocyanin	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak
Melatonin	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak
As Mefenamat	Ya	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak

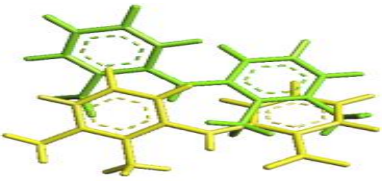

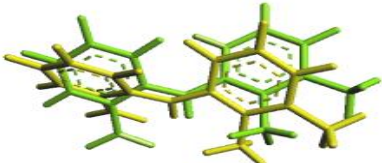

Berdasarkan Tabel 2, diperoleh data bahwa gingerol memiliki efek toksisitas pada imun dan asam mefenamat sebagai ligan pembanding memiliki toksisitas pada hepar, sedangkan keenam senyawa alami tanaman lainnya yaitu linalool, limonen, zingeron, zingiberenol, anthocyanin, dan melatonin tidak memiliki efek toksisitas pada target organ secara virtual. Dengan demikian bahwa gingerol, linalool, limonen, zingeron, zingiberenol, anthocyanin dan melatonin, lebih aman dibandingkan asam mefenamat.

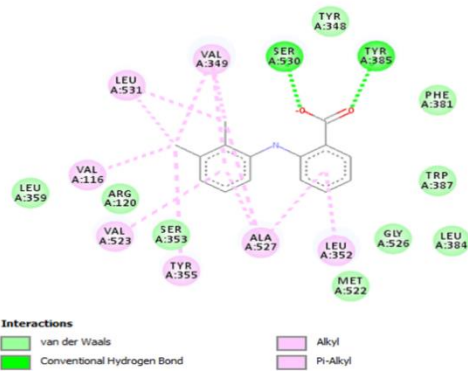
Validasi Metode Docking dengan RMSD

Validasi metode docking dilakukan dengan cara redocking antara ligan alami dengan reseptor cyclooxygenase 2 (Tabel 3). Validasi tersebut digunakan pengecekan validasi, parameter yang digunakan untuk docking senyawa uji pada proses redocking yang dilihat adalah RMSD (Gambar 1 dan 2). RMSD merupakan parameter yang menggambarkan seberapa besar perubahan interaksi permukaan ligan pada struktur kristal sebelum dan sesudah docking. Metode docking dikatakan valid apabila nilai RMSD kurang dari 2 Angstrom, yang artinya parameter docking yang digunakan telah valid, sehingga bisa digunakan untuk docking senyawa uji

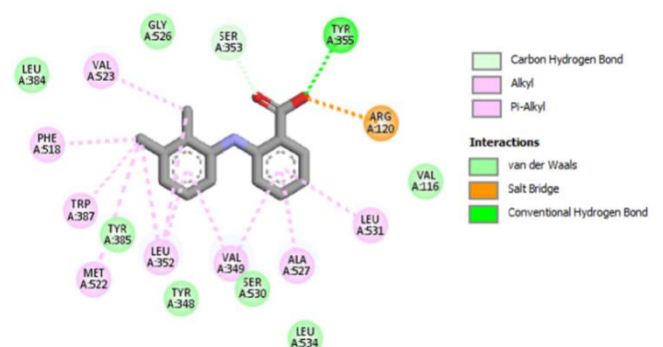
Tabel 3. Hasil Validasi Docking Asam Mefenamat

Algoritma	Nilai RMSD (Angstrom)	Gambar
GADock-Dock-Rigid	4.8047	
GADock-Dock-Flexible	2.2884	

Algoritma	Nilai RMSD (Angstrom)	Gambar
GADock-Dock-Torsions	6.3623	
ArgusDock-Dock-Rigid	3.1160	
ArgusDock-Dock-Flexible	1.4870	
ArgusDock-Dock-Torsions	2.4507	



Gambar 1. Visualisasi Asam Amino



Gambar 2. Ikatan Asam Amino Native

Docking (Penambatan Molekul)

Dalam penelitian ini dilakukan molecular docking senyawa gingerol, linalool, limonen, zingeron, zingiberol, anthocyanin, dan melatonin akan menjadi ligan dengan protein cyclooxygenase 2 yang telah diunduh dari Protein Data Bank dengan menggunakan software Arguslab versi 4.0.1 (Tabel 4). Parameter yang digunakan pada proses *molecular docking* dengan Arguslab versi 4.0.1 antara lain pada RMSD (*Root Mean Square Deviation*) < 2 dilihat binding energi (kcal/mol) protein reseptor cyclooxygenase 2 yang terkecil(23)(24).

Tabel 4. Visualisasi Asam Amino

Ligan	Binding Energi (kcal/mol)	Rata-rata
Gingerol	-11.03	-10.80
	-10.70	
	-10.69	
Linalool	-9.96	-9.74
	-9.73	
	-9.53	
Limonen	-10.61	-10.21
	-10.04	
	-10.00	
Zingeron	-9.61	-9.00
	-8.73	
	-8.68	
Zingiberol	-12.51	-11.58
	-11.38	
	-10.87	
Anthocyanin	-11.70	-11.13
	-11.33	
	-10.36	
Melatonin	-8.63	-8.62
	-8.62	
	-8.63	
Asam Mefenamat	-8.56	-8.50
	-8.52	
	-8.43	
	-8.43	

Dari hasil *docking*, *binding* energi dari senyawa gingerol, linalool, limonen, zingeron, anthocyanin dan melatonin lebih rendah dibandingkan dengan ligan alami asam mefenamat. Nilai RMSD dari senyawa gingerol, linalool, limonen, zingeron, zingiberol, anthocyanin dan melatonin yang dapat dilihat pada Tabel 5, semuanya memiliki RMSD (*Root Mean Square Deviation*) lebih rendah dibanding dengan ligan alami asam mefenamat yang merupakan ligan pembanding.

Tabel 5. Visualisasi Asam Amino

Senyawa	Ikatan				Gambar
Gingerol	ALA	SER	ARG	TYR	
	VAL	LEU	ILE	LEU	

Senyawa	Ikatan				Gambar
Linalool	PHE	VAL	ILE	LEU	
	SER	TYR	VAL	PHE	
Limonen	LEU	VAL	ALA	LEU	
	ILE	MET	VAL	LEU	
Zingeron	TYR	SER	TYR	PHE	
	GLY	MET	ALA	-	
Zingiberol	LEU	SER	VAL	ARG	
	VAL	LEU	ALA	LEU	
Antocyanin	ALA	LEU	ALA	VAL	
	MET	LEU	VAL	-	
Melatonin	ALA	VAL	ARG	TYR	
	TYR	LEU	-	-	

KESIMPULAN

Dari penelitian ini diperoleh kesimpulan bahwa toksisitas senyawa gingerol, linalool, limonen, zingiberol, zingeron, anthocyanin dan melatonin sangat aman, terbukti dengan hasil dari toksisitas, kesamaan dan organ target. Binding energy senyawa gingerol, linalool, limonen, zingiberol, zingeron, anthocyanin dan melatonin lebih kecil dibandingkan ligan alami Asam Mefenamat, begitu juga pada RMSD, semua senyawa memiliki nilai < 2 Angstrom. Sehingga ditarik kesimpulan bahwa senyawa senyawa tersebut dapat digunakan sebagai obat alternatif analgetik atau digunakan sebagai struktur model dalam pembuatan obat analgetik baru.

SARAN

Setelah mendapatkan hasil dari penelitian diatas, disarankan untuk dilakukan penelitian lebih lanjut kepada hewan uji dengan uji toksisitas untuk kandungan senyawa gingerol, linalool, limonen, zingeron, zingiberol, anthocyanin dan melatonin yang dapat digunakan sebagai obat antinyeri.

DAFTAR PUSTAKA

1. Deore AB, Dhumane JR, Wagh R, Sonawane R. The Stages of Drug Discovery and Development Process. *Asian J Pharm Res Dev.* 2019;7(6):62–7.
2. Adams CP, Brantner VV. Spending on new drug development. *Health Econ.* 2010;19(2):130–41.
3. Prasad V, Mailankody S. Research and development spending to bring a single cancer drug to market and revenues after approval. *JAMA Intern Med.* 2017;177(11):1569–75.
4. FDA. New Chemical Entity Exclusivity Determinations for Certain Fixed- Combination Drug Products Guidance for Industry New Chemical Entity Exclusivity Determinations for Certain Fixed- Combination Drug Products Guidance for Industry. US Dep Heal Hum Serv Food Drug Adm Cent Drug Eval Res. 2014;1–11.
5. Hughes JP, Rees SS, Kalindjian SB, Philpott KL. Principles of early drug discovery. *Br J Pharmacol.* 2011;162(6):1239–49.
6. Zhang Q, Khetan A, Er S. Comparison of computational chemistry methods for the discovery of quinone-based electroactive compounds for energy storage. *Sci Rep [Internet].* 2020;10(1):1–13. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-79153-w>
7. Krylov A, Windus TL, Barnes T, Marin-Rimoldi E, Nash JA, Pritchard B, et al. Perspective: Computational chemistry software and its advancement as illustrated through three grand challenge cases for molecular science. *J Chem Phys [Internet].* 2018;149(18). Available from: <http://dx.doi.org/10.1063/1.5052551>
8. Lin FR, Niparko JK, Ferrucci and L. The Economies of Synthesis. *Bone [Internet].* 2014;23(1):1–7. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3624763/pdf/nihms412728.pdf>
9. Giordano D, Biancaniello C, Argenio MA, Facchiano A. Drug Design by Pharmacophore and Virtual Screening Approach. *Pharmaceuticals.* 2022;15(5):646.
10. Valasani KR, Vangavaragu JR, Day VW, Yan SS. Structure based design, synthesis, pharmacophore modeling, virtual screening, and molecular docking studies for

- identification of novel cyclophilin D inhibitors. *J Chem Inf Model*. 2014;54(3):902–12.
11. Hashim M, Al-obaidi ZMJ, Abdul-rasheed OF, Mahdi MF, Raauf A. In Silico Design , Characterization of , New Zeeshan Spebrutinib Canola Yield Response to Levels and Application Methods of Nitrogen Canola Yield Response to Levels and Application. *Pharm Anal Acta*. 2019;10(August):1–8.
 12. Masonga Michel K, Kitenge Edouard L, Kazadi Oscar K, Kitambala Marsi M, Mutombo Emery K. In Silico Evaluation of Biopharmaceutical Properties of Chloramphenicol Derivatives and their Iron Complexes. *J Bioinforma Syst Biol*. 2022;05(01).
 13. Pranowo HD, Widiatmoko IT and A. Quantitative Relationship of Electronic Structure and Inhibition Activity. 2007;7(1):78–82.
 14. Sholikhah EN. Indonesian medicinal plants as sources of secondary metabolites for pharmaceutical industry. *J thee Med Sci (Berkala Ilmu Kedokteran)*. 2016;48(04):226–39.
 15. Salmerón-Manzano E, Garrido-Cardenas JA, Manzano-Agugliaro F. Worldwide research trends on medicinal plants. *Int J Environ Res Public Health*. 2020;17(10).
 16. Bareetseng S. The Worldwide Herbal Market: Trends and Opportunities. *J Biomed Res Environ Sci*. 2022;3(5):575–84.
 17. Bost J, Maroon A, Maroon J. Natural anti-inflammatory agents for pain relief. *Surg Neurol Int*. 2010;1(1):80.
 18. Janet L. Funka, Jennifer B. Fryea, Janice N. Oyarzoa, Jianling Chena, Huaping Zhangb BNT. Anti-Inflammatory Effects of the Essential Oils of Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) in Experimental Rheumatoid Arthritis. *Rev del Col Am Cardiol*. 2018;72(23):2964–79.
 19. National Library of Medicine. Pubchem [Internet]. National Center for Biotechnology Information. 2022. Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>
 20. Royal Society of Chemistry. ChemSpider Search and share chemistry [Internet]. Royal Society of Chemistry. 2022. Available from: <http://www.chemspider.com/>
 21. Banerjee P, Eckert AO, Schrey AK, Preissner R. ProTox-II: A webserver for the prediction of toxicity of chemicals. *Nucleic Acids Res*. 2018;46(W1):W257–63.
 22. Yang H, Sun L, Li W, Liu G, Tang Y. In Silico Prediction of Chemical Toxicity for Drug Design Using Machine Learning Methods and Structural Alerts. *Front Chem*. 2018;6(February):1–12.
 23. Tanguenyongwatana P, Jongkon N. Molecular docking study of tyrosinase inhibitors using ArgusLab 4.0.1: A comparative study. *Thai J Pharm Sci*. 2016;40(1):21–5.
 24. Rollando R. Pendekatan Struktur Aktivitas dan Penambatan Molekul Senyawa 2-iminoethyl 2-(2-(1-hydroxypentan-2-yl) phenyl)acetate Hasil Isolasi Fungi Endofit Genus *Fusarium* sp pada Enzim β -ketoasil-ACP KasA Sintase dan Enzim Asam Mikolat Siklopropana Sintase. *Pharm J Indones*. 2018;3(2):45–51.