

EVALUASI SENYAWA BIOAKTIF *Nasturtium montanum* Wall. SEBAGAI KANDIDAT AGEN ANTIPIRETIK TERHADAP RESEPTOR PROSTAGLANDIN SYNTASE 2 (PTGS2) SECARA IN SILICO

[EVALUATION OF BIOACTIVE COMPOUNDS of *Nasturtium montanum* Wall. AS ANTIPIRETIC AGENT CANDIDATE TOWARD PROSTAGLANDIN SYNTASE 2 (PTGS2) THROUGH IN SILICO]

Dilla Anisa Ikhtira, Fatchur Rohman^{*✉}, dan Sri Rahayu Lestari

Department of Biology Postgraduate State University of Malang

*Email: fatchur.rohman.fmipa@um.ac.id, anisaikhtira123@gmail.com

ABSTRACT

The inhibition of prostaglandin synthase 2 (PTGS2) route is necessary in order to prevent an fever. Antipyretic drugs such as the Non steroids (NSAIDs) are fever medication which acts as non-selective inhibitor of PTGS2. NSAID overdose cases have led to herbal ingredients utilization as alternative remedies, such as the *Nasturtium montanum* leaves. This research aimed to observe the interaction of selected bioactive compounds within *N. montanum* with the PTGS2 target protein through molecular docking. In addition, this research used *in silico* approach conducted with molecular docking method through several stages such as preparation of 3D ligand structure and protein, protein sterilization by *PyMOL*, docking compounds with *PyRx* and visualization of docking results via *LigPlot*[®]. Results obtained from this research shows the bond dissociation energy value of *1-O-sinapoyl-beta-D-glucose*, *kaempferol 3-O-sophoroside*, *patuletin 3-gentiobioside* and *quercetin 3-O-malonylglucoside* substances are smaller compared to *meclofenamic acid* causing the four ligand tests more stable in their binding to PTGS2 receptor. *Meclofenamic acid* and *1-O-sinapoyl-beta-D-glucose* both bind to PTGS2 receptor with the same amino acid residue as well as the same interaction. Whereas *meclofenamic acid*, *kaempferol 3-O-sophoroside*, *patuletin 3-gentiobioside* and *quercetin 3-O-malonylglucoside* bind to PTGS2 receptor with the same amino acid residue yet have different bond interaction.

Keywords: Fever, molecular docking, PTGS2, *Nasturtium montanum* Wall, antipyretic

ABSTRAK

Prostaglandin sintase 2 (PTGS2) diyakini sebagai jalur utama untuk sintesis prostaglandin dalam respon inflamasi, sehingga penghambatan PTGS2 perlu dihambat untuk mencegah terjadinya demam. Obat antipiretik, seperti golongan Non steroid (NSAID) merupakan obat demam dengan mekanisme kerja obat ini sebagai inhibitor non-selektif PTGS2. Kasus overdosis obat NSAID telah membuka jalan pemanfaatan produk dari bahan alam sebagai alternatif pengobatan, seperti daun *Nasturtium montanum*. Tujuan penelitian ini yaitu untuk menganalisis interaksi antara senyawa bioaktif *N. montanum* yang terpilih dengan protein target PTGS2 melalui penambatan molekul. Penelitian menggunakan pendekatan *In silico* melalui metode penambatan molekul dengan tahapan preparasi struktur 3D ligan dan protein dengan *PyMOL*, docking senyawa menggunakan *PyRx* dan visualisasi hasil docking dengan *LigPlot*[®]. Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai energi bebas ikatan senyawa *1-O-sinapoyl-beta-D-glucose*, *kaempferol 3-O-sophoroside*, *patuletin 3-gentiobioside* dan *quercetin 3-O-malonylglucoside* lebih kecil dibandingkan *meclofenamic acid*, sehingga keempat ligan uji tersebut lebih stabil berikatan dengan reseptor PTGS2. *Meclofenamic acid* dan *1-O-Sinapoyl-beta-D-glucose* berikatan dengan reseptor PTGS2 melalui residu asam amino yang sama dengan interaksi yang sama, sedangkan *meclofenamic acid* dan *kaempferol 3-O-sophoroside*, *patuletin 3-gentiobioside*, *quercetin 3-O-malonylglucoside* berikatan dengan reseptor PTGS2 melalui residu asam amino yang sama dengan jenis interaksi ikatan yang berbeda.

Kata Kunci: Demam, *molecular docking*, PTGS2, *Nasturtium montanum* Wall, antipiretik

PENDAHULUAN

Demam sebagai penyakit dasar yang perlu diwaspadai yang ditandai dengan peningkatan suhu tubuh $\geq 38^{\circ}\text{C}$ (Green *et al.*, 2013; Steele *et al.*, 2018). Badan Kesehatan Dunia (WHO) memperkirakan angka kejadian demam di seluruh Dunia mencapai 16–33 juta dengan 500–600 ribu kematian tiap tahunnya (Sudibyo *et al.*, 2020). Demam dapat ditangani tanpa intervensi medis, namun demam yang tidak diobati dengan tepat dapat menyebabkan kejang demam, kerusakan sistem saraf pusat dan otot hingga mengakibatkan kematian (Kristianingsih *et al.*, 2019).

Respon demam diatur melalui jalur transmisi humoral. Jalur ini menyatakan bahwa sinyal

demam dibawa oleh komponen mikroba patogen (PAMPs) yang ditandai oleh Lipolisakarida (LPS) gram negatif. LPS merangsang dan mengikat *Toll-like receptor 4* (TLR-4) yang terletak di kapiler organ sirkumventrikular di *Blood brain barrier* (BBB), sehingga memicu TLR-4 menginduksi pembentukan cyclooxygenase 2 (COX-2). Kemudian, pirogen eksogen merangsang fagosit mononuklear perifer untuk memproduksi sitokin pirogenik, terutama Interleukin 1 (IL-1), Interleukin 6 (IL-6) dan Tumor necrosis factor (TNF- α). IL-1 menginduksi COX-2 dan Prostaglandin E2 (PGE2) tergantung pada ekspresi *Mitogen-activated protein kinase kinase 7* (MAP3K7) atau TAK1 yang diaktifkan. IL-1

*Kontributor Utama

*Diterima: 11 April 2023 - Diperbaiki: 21 Agustus 2023 - Disetujui: 23 Oktober 2023

mengaktifkan penghambat faktor nuklir B ($\text{I}\kappa\text{B}$) kinase 2 (IKK2). IKK2 mengaktifkan jalur Nuclear factor kappa B (NF- κB) dan menyebabkan produksi COX-2 (Luo *et al.*, 2020). IL-6 berikatan dengan reseptor IL-6R pada sel endotel otak dan menginduksi ekspresi COX-2 melalui sinyal yang melibatkan aktivator jalur transkripsi 3 (STAT3), sedangkan TNF- α mengaktifkan Microsomal prostaglandin E synthase-1 (mPGES-1) dan menghasilkan PGE₂. Sebelum terbentuknya PGE₂, COX-2 mengkonversi asam arakidonat (AA) menjadi prostaglandin G₂ (PGG₂) yang selanjutnya menjadi prostaglandin H₂ (PGH₂). PGH₂ sebagai prekursor umum dari empat prostaglandin bioaktif utama, salah satunya PGE₂ sebagai mediator demam. PGE₂ mengalami pelepasan dari jalur AA dalam membran sitoplasma melalui aksi fosfolipase A₂ (PLA₂). Berikutnya PGE₂ mengikat reseptor spesifik EP₃ dan mengaktifkan neuron termal di anterior hipotalamus ke titik keseimbangan termal yang lebih tinggi, sehingga mengakibatkan demam (Ma *et al.*, 2021). COX-2 atau Prostaglandin-endoperoxide synthase 2 (PTGS2) diyakini sebagai jalur utama untuk sintesis prostaglandin dalam respon inflamasi, sehingga penghambatan PGE₂ dari jalur COX-2 perlu dihambat untuk mencegah terjadinya kenaikan suhu tubuh (Goulet *et al.*, 2022).

Salah satu penanganan demam dapat dilakukan dengan konsumsi obat antipiretik, seperti golongan obat antiinflamasi nonsteroid atau NSAID (Hendrawati dan Elvira, 2019; Vijapura *et al.*, 2020). Golongan obat NSAID memiliki khasiat efek antipiretik dibandingkan obat steroid (Ma *et al.*, 2021). Kemanjuran obat NSAID berasal dari kemampuannya dalam menghambat COX-2 yang mengkatalisis konversi asam arachidonat menjadi prostaglandin (PG), sedangkan obat steroid menghambat pembentukan PG melalui enzim fosfolipase. Mekanisme kerja utama obat NSAID yakni inhibitor non-selektif COX-2 atau PTGS2 yang mengkatalisis konversi AA menjadi PGE₂ sebagai mediator demam (Eccles, 2017; Nguyen *et al.*, 2020). Namun, konsumsi obat NSAID yang berlebihan tidak baik bagi tubuh seperti menimbulkan gejala gangguan gastrointestinal ringan termasuk mual, muntah, diare, sakit perut, ginjal dan meningkatkan risiko komplikasi supuratif pneumonia pada anak (Hunter *et al.*, 2011; Cardile *et al.*, 2016; Clavé *et al.*, 2019). Selain itu, obat NSAID banyak dijual secara bebas tanpa resep medis. Hal ini dapat menimbulkan masalah penggunaan obat-obatan, penggunaannya perlu dibatasi dalam pengaturan klinis (Subedi *et al.*, 2016; Chiappini *et al.*, 2017; de Martino *et al.*, 2017).

Adanya kasus overdosis obat NSAID telah membuka jalan untuk memanfaatkan produk dari bahan alam sebagai alternatif pengobatan, seperti *Nasturtium montanum* Daun *N. montanum* secara empiris dimanfaatkan oleh suku Tengger sebagai obat tradisional dalam menurunkan suhu tubuh akibat demam. Pemanfaatan tumbuhan tersebut berasal dari nenek moyang terdahulu. Namun, resep obat tradisional yang diturunkan secara turun-temurun tersebut hanya sebatas pengetahuan tradisional dan belum dibuktikan secara ilmiah, sehingga efektivitas dan toksisitas tumbuhan tersebut tidak diketahui secara pasti, meskipun obat-obatan dari bahan alam umumnya dianggap aman dan efektif (Rahardjanto *et al.*, 2020).

Produk dari bahan alam berkontribusi lebih dari setengah dari *Food and Drug Administration* (FDA) yang disetujui untuk penggunaan obat. Produk dari bahan alam sebagai pasokan potensial untuk senyawa bioaktif yang mengarah pada inovasi terapi baru (Anand *et al.*, 2019). Isolasi dan identifikasi senyawa bioaktif dan molekul dari bahan alam dapat menemukan terapi baru dan mendorong peningkatan sektor kesehatan dan farmasi (Vaou *et al.*, 2022). Penelitian mengenai produk dari bahan alami terus memberikan template baru untuk penemuan obat senyawa prediksi untuk industri farmasi. Produk dari bahan alami telah menjadi sumber utama agen terapeutik farmasi yang inovatif (Mathur dan Hoskins, 2017). Tujuan dari semua proses penemuan obat adalah untuk menetapkan senyawa timbal yang paling menjanjikan, yang dapat digunakan sebagai agen terapeutik (Santiago *et al.*, 2021). Dengan demikian, untuk menemukan dan mengembangkan penggunaan senyawa dari bahan alam, maka pendekatan bioinformatika perlu dilakukan. Pemanfaatan teknologi komputasi pada bidang farmakologi sangat sesuai dengan Rancangan Induk Riset Nasional (RIRN) tahun 2017–2045.

Kajian komputasi *N. montanum* (Sawi Tanah) belum pernah dilakukan terutama terkait dengan aktivitas antipiretik, sehingga peneliti tertarik untuk mengkaji dan membuktikan aktivitas senyawa potensial dari *N. montanum* dengan pendekatan *In silico* melalui teknik penambatan molekul. Senyawa pada *Nasturtium montanum* Wall. diprediksi memiliki mekanisme aktivitas yang sama dengan obat antipiretik golongan NSAID, sehingga dapat menjadi alternatif baru untuk agen antipiretik pada kandidat sebuah obat. Tujuan penelitian ini yaitu untuk melihat dan menganalisis interaksi antara senyawa bioaktif *N. montanum* yang terpilih dengan protein target PTGS2 melalui penambatan molekul.

BAHAN DAN CARA KERJA

Jenis penelitian menggunakan deskriptif melalui pendekatan kualitatif dan studi literatur yang relevan. Penelitian ini menggunakan pendekatan *In silico* yang dilakukan dengan metode *molecular docking*. Waktu penelitian dilaksanakan pada bulan Agustus 2021–November 2022. Prosedur penelitian pertama kali dilakukan identifikasi tumbuhan di Herbarium Bogoriense, Pusat Riset Biosistemika dan Evolusi, BRIN. Ekstrak daun *Nasturtium montanum*. menggunakan metode maserasi dengan merendam serbuk simplisia tumbuhan dalam etanol 70 %. Ekstrak daun *N. montanum* kemudian diidentifikasi senyawa bioaktifnya melalui uji LC-MS. Hasil uji LC-MS kemudian diidentifikasi untuk diprediksi berdasarkan potensi senyawa dengan aktivitas antipiretik dengan beberapa parameter yaitu prediksi potensi senyawa melalui PASS server online, uji Lipinski melalui web server <http://www.scfbio-iitd.res.in/software/drugdesign/lipinski.jsp>, uji Farmakokinetik menggunakan web server online pkCSM (<http://structure.bioc.cam.ac.uk/pkcsms>).

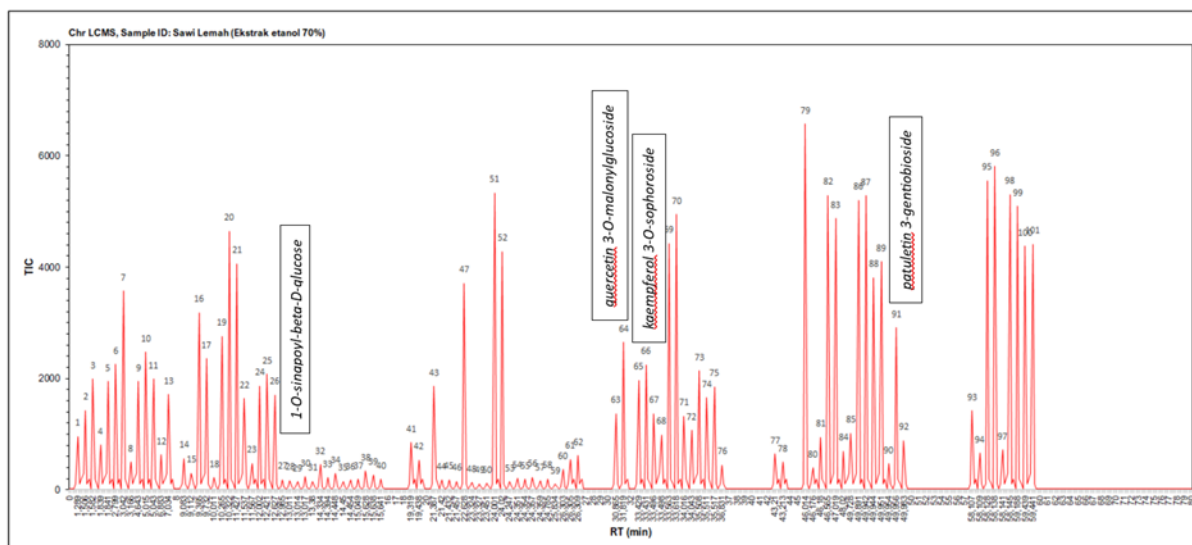
Protein target yang pilih yaitu Prostaglandin sintase 2 (PTGS2) dengan resolusi 2.34 Å (5KIR) yang didownload melalui database RSCB PDB (<https://www.rcsb.org/>). Ligan kontrol atau obat yang dipilih yaitu *Meclofenamic acid*. Penentuan protein dan ligan kontrol (obat) didasarkan pada prediksi jurnal dan beberapa webserver online seperti *Swiss Target Prediction* (<http://www.swisstargetprediction.ch/>). Sedangkan struktur 3D ligan senyawa diperoleh dari database PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>). Selanjutnya dilakukan preparasi Preparasi protein

menggunakan software *PyMOL* untuk menghilangkan kandungan molekul air. Docking senyawa dilakukan menggunakan Autodock Vina yang terintegrasi di Pyrix dengan parameter *exhausted* 50. Hasil docking diperoleh berupa binding affinity atau energi afinitas hasil interaksi antara protein target dan ligan senyawa uji maupun kontrol. Selanjutnya dilakukan klarifikasi menggunakan software *PyMol* untuk mengetahui posisi interaksi dan sisi aktif ikatan antara ligan dengan reseptor. Tahap terakhir pada proses ini yaitu visualisasi hasil docking menggunakan software *LigPlot+* untuk membandingkan ligan mengikat reseptor pada residu asam amino yang sama atau berbeda dan mengetahui jarak antar ikatan.

HASIL

Potensi Senyawa Bioaktif *Nasturtium montanum* Wall.

Berdasarkan hasil uji LC-MS menunjukkan bahwa sebanyak 101 senyawa bioaktif yang ada pada daun *N. montanum* yang ditunjukkan dengan hasil *Chromatogram* pada Gambar 1. Hasil *chromatogram* tersebut memperlihatkan bahwa golongan senyawa *quercetin* memiliki persentase terbesar pada daun *N. montanum*, namun pada penelitian ini dipilih 4 senyawa yang diprediksi mempunyai aktivitas antipiretik berdasarkan perbandingan nilai *Probability activity* (Pa) dan *Probability in activity* (Pi) yaitu *1-O-sinapoyl-beta-D-glucose*, *kaempferol 3-O-sophoroside*, *patuletin 3-gentiobioside* dan *quercetin 3-O-malonylglucoside* yang dilihat pada Tabel 1.



Gambar 1. Chromatogram LC-MS *N. montanum*. (LC-MS Chromatogram of *N. montanum*).

Tabel 1. Potensi Senyawa Bioaktif *N. montanum* sebagai Antipiretik. (*The Potential of Bioactive Compounds from N. montanum as Antipyretic*).

Senyawa (Compound)	Potensi (Potency)	Nilai Pa (Pa Value)	Nilai Pi (Pi Value)
<i>1-O-sinapoyl-beta-D-glucose</i>	Antipiretik	0,253	0,069
<i>kaempferol 3-O-sophoroside</i>	Antipiretik	0,192	0,122
<i>patuletin 3-gentiobioside</i>	Antipiretik	0,267	0,057
<i>quercetin 3-O-malonylglucoside</i>	Antipiretik	0,255	0,068

Analisis Uji Lipinski Senyawa Bioaktif *Nasturtium montanum* Wall.

Uji Lipinski digunakan untuk mengevaluasi kemiripan obat dan untuk menentukan apakah suatu senyawa kimia dengan aktivitas farmakologis atau

biologis tertentu memiliki sifat obat yang aktif secara oral pada manusia yang disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Uji Lipinski (*Lipinski Test Result*)

Senyawa (Compound)	Berat molekul (Molecular weight) (≤ 500 g/mol)	Donor ikatan hidrogen (Hydrogen bond donor count) (≤ 5)	Akseptor ikatan hidrogen (Hydrogen bond acceptor count) (≤ 10)	Refraksi molar (Molar Refractivity) (40–130)	Nilai LogP (XLogP) (≤ 5)
<i>1-O-Sinapoyl-beta-D-glucose</i>	386, 3 g/mol	5	10	90,103	-1.23
<i>kaempferol 3-O-sophoroside</i>	610, 5 g/mol	10	16	137,24	-2,61
<i>patuletin 3-gentiobioside</i>	656, 6 g/mol	11	18	137,22	-2,6
<i>quercetin 3-O-malonylglucoside</i>	550, 4 g/mol	8	15	122,39	0,1

Uji Farmakokinetik Senyawa Bioaktif *Nasturtium montanum* Wall.

Uji farmakokinetik digunakan untuk mengetahui penyerapan, distribusi, metabolisme, ekskresi dan toksisitas suatu senyawa, sehingga dapat diprediksi efek sampingnya. Parameter penentuan sifat farmakokinetik suatu senyawa terdiri dari: (1) absorpsi dikategorikan baik dengan nilai antara 70–100 %, kurang baik 20–70 % dan jelek 0–20 %, (2) distribusi yang terdiri dari volume distribusi dan *Blood Brain Barrier*, volume

distribusi rendah apabila nilai $\log VD_{ss} < -0,15$ dan tinggi bila $> 0,45$, senyawa dapat melewati sawar darah otak apabila mempunyai nilai $\log BB > 0,3$ dan tak dapat terdistribusi dengan baik bila $\log BB < -1$, (3) Metabolisme (substrat dan inhibitor CYP2D6), (4) Ekskresi dan (5) Toksisitas yang terdiri dari *ames toxicity* dan *Hepatotoxicity* (Ranjith D dan Ravikumar C, 2019). Sifat farmakokinetik senyawa prediksi *N. montanum* dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Sifat Farmakokinetik Senyawa. (*Pharmacokinetic Properties of Compounds*).

Parameter		Senyawa (Compounds)				
		<i>Meclofenamic acid</i>	<i>1-O-sinapoyl-beta-D-glucose</i>	<i>kaempferol 3-O-sophoroside</i>	<i>patuletin 3-gentiobioside</i>	<i>quercetin 3-O-malonylglucoside</i>
Absorpsi (Absorption)	Absorpsi Pencernaan Manusia (Human Digestive Absorption) (%)	93,843	47,505	4,738	25,398	24,325
Distribusi (Distribution)	Volume Distribusi Manusia (Human Distribution Volume) (log L/Kg)	-2,132	-0,005	1,083	1,169	1,717
	Permeabilitas Penghalang Darah Otak (Blood Brain Barrier Permeability) (log BB)	0,302	-1,308	-2,104	-2,419	-1,982
Metabolisme (Metabolism)	Substrat (Substrate) CYP2D6	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak
	Penghambat (Inhibitor) CYP2D6	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak
Eksresi (Excretion)	Total eliminasi (Clearance) (log ml/min/kg)	0,333	0,71	-0,126	-0,275	0,531
Toksistas (Toxicity)	Ames	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak
	Hepatotoksistas (Hepatotoxicity)	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak

Hasil Tabel 3 menunjukkan bahwa 4 senyawa prediksi tidak dapat menembus otak dan mencapai target, namun semua senyawa yang dipilih memiliki nilai negatif untuk tes Ames, artinya keempat senyawa memiliki efek mutagenik rendah yang berkaitan erat dengan karsinogenisitas. Karsinogenisitas sangat penting untuk pengujian toksisitas karena memiliki efek berbahaya pada kesehatan manusia. Pada Tabel 3 menunjukkan bahwa senyawa memiliki nilai negatif untuk karsinogenisitas, sehingga aman bagi manusia.

Hasil Docking Ligan

Senyawa biokimia hasil LC-MS diprediksi memiliki potensi yang sama dengan ligan kontrol atau obat yakni *Meclofenamic acid* sebagai agen antipiretik melalui *molecular docking* yang dilihat berdasarkan nilai energi bebas ikatan yang disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Nilai Energi Bebas Ikatan Ligan. (*Binding Energy Value of Test Ligand*).

Senyawa (Compound)	Nilai Energi Bebas Ikatan (Binding energi value)
<i>Meclofenamic acid</i>	-7,3
<i>1-O-sinapoyl-beta-D-glucose</i>	-8,5
<i>kaempferol 3-O-sophoroside</i>	-8,8
<i>patuletin 3-gentiobioside</i>	-7,9
<i>quercetin 3-O-malonylglucoside</i>	-9,3

Visualisasi Hasil Docking

Visualisasi hasil docking dilakukan untuk mengidentifikasi interaksi ligan uji dengan reseptor PTGS2 melalui software LigPlot⁺. Hasil visualisasi docking menunjukkan bahwa senyawa *1-O-sinapoyl-beta-D-glucose*, *kaempferol 3-O-sophoroside*, *patuletin 3-gentiobioside* dan

quercetin 3-O-malonylglucoside berada pada sisi aktif yang sama dengan residu asam amino yang berbeda. Data interaksi residu asam amino dan jarak ikatan antara ligan dengan reseptor ditunjukkan pada Tabel 4.

Tabel 4. Data Residu Asam Amino, Interaksi Ikatan dan Jarak Ikatan Ligan dengan Reseptor PTGS2. (*Data on Amino Acid Residues, Bond Interactions and Ligand Bond Distances to the PTGS2 Receptor*).

Ligan Kontrol (Ligand control)	Residu Asam Amino (Amino acid residues)	Interaksi Ligan dan Reseptor (Ligand and receptor interaction)	Ligan Uji (Ligand test or compound)	Residu Asam Amino (Amino acid residues)	Interaksi Ikatan dan Jarak Ligan dengan Reseptor (Ligand interactions and distances with receptors)			
Meclofenamic acid	ASN B:34	Hidrogen	1-O-Sinapoyl-beta-D-glucose	GLN A:327	Hidrogen (2,37 Å dan 2,71 Å)			
	GLN A:327	Hidrogen		MET B:48	Hidrofobik			
	TRP A:323	Hidrogen		GLY B:135	Hidrofobik			
	MET B:48	Hidrofobik		CYS B:47	Hidrofobik			
	SER B:49	Hidrofobik		TYR B:136	Hidrofobik			
	CYS B:47	Hidrofobik		GLY B:45	Hidrogen (2,35 Å)			
	TYR B:136	Hidrofobik		CYS B:41	Hidrogen (2,87 Å, 2,93 Å dan 2,71 Å)			
	GLY B:135	Hidrofobik		HIS B:39	Hidrogen (3,09 Å)			
	PRO B:154	Hidrofobik		CYS B:36	Hidrogen (3,06 Å)			
	PRO B:156	Hidrofobik		PRO B:154	Hidrofobik			
				PRO B:153	Hidrofobik			
				PRO B:155	Hidrofobik			
				ASN B:34	Hidrogen (3,06 Å)			
				LEU B:152	Hidrofobik			
				PRO B:40	Hidrofobik			
				CYS B:36	Hidrofobik			
				PRO B:153	Hidrofobik			
				GLN A:327	Hidrofobik			
				GLN B:135	Hidrofobik			
				TRP A:323	Hidrofobik			
			ALA B:132	Hidrogen (3,24 Å)				
			TYR B:134	Hidrofobik				
			ASP B:157	Hidrofobik				
			PRO B:156	Hidrofobik				
			GLN A:322	Hidrofobik				
			PRO B:154	Hidrofobik				
			SER B:49	Hidrofobik				
			ASP B:158	Hidrogen (2,91 Å dan 3,19 Å)				
			TYR B:136	Hidrogen (2,56 Å dan 3,14 Å)				
			GLN A:326	Hidrofobik				
			VAL B:55	Hidrofobik				
			ASP B:133	Hidrogen (3,10 Å)				
			ASN B:34	Hidrogen (3,01 Å)				
			GLN A:322	Hidrogen (2,70 Å)				
			GLY A:324	Hidrogen (3,00 Å)				
			GLN A:327	Hidrogen (3,26 Å dan 2,76 Å)				
			TYR B:136	Hidrofobik				
			TRP A:323	Hidrogen (3,16 Å)				
			SER B:49	Hidrogen (3,10 Å)				
			ASN B:34	Hidrogen (3,10 Å)				
		CYS B:47	Hidrofobik					
		VAL B:46	Hidrofobik					
		TYR B:130	Hidrogen (2,61 Å)					
		CYS B:135	Hidrofobik					
		CYS B:36	Hidrogen (3,00 Å)					
		PRO B:153	Hidrofobik					
		ALA B:32	Hidrofobik					
		HIS B:39	Hidrogen (3,16 Å dan 3,21 Å)					
		PRO B:154	Hidrofobik					
		LYS B:459	Hidrofobik					
		ARG B:157	Hidrofobik					
		PRO B:156	Hidrofobik					
		VAL B:155	Hidrofobik					
		GLU A:322	Hidrogen (3,03 Å)					
		PRO B:153	Hidrofobik					
		CYS B:36	Hidrofobik					
		CYS B:47	Hidrogen (2,71 Å, 2,96 Å dan 3,16 Å)					
		MET B:48	Hidrofobik					
		PRO B:156	Hidrofobik					
		VAL B:55	Hidrofobik					
		PRO B:154	Hidrofobik					
		ASP B:133	Hidrofobik					
		TYR B:134	Hidrofobik					
		GLY B:135	Hidrofobik					
		ASN B:34	Hidrofobik					
		ASP B:158	Hidrofobik					
		GLN A:327	Hidrofobik					
			Kaempferol 3-O-sophoroside					
				Patuletin 3-gentiobioside				
					Quercetin 3-O-malonylglucoside			

PEMBAHASAN

Hasil *Prediction of Activity Spectra for Substances* (PASS) menunjukkan prediksi simultan untuk banyak jenis aktivitas biologis berdasarkan struktur senyawa mirip obat. Spektrum aktivitas yang diprediksi di PASS ditunjukkan dengan probabilitas aktif (Pa) dan tidak aktif (Pi). Kriteria nilai Pa dan Pi menyatakan bahwa senyawa menunjukkan aktivitas apabila $Pa > Pi$. Jika nilai $Pa > 0,7$, maka senyawa secara eksperimental cukup tinggi dan memiliki aktivitas sebagai obat. Jika nilai $0,5 < Pa < 0,7$ maka senyawa secara eksperimental relatif rendah dan kemungkinan aktivitasnya sebagai obat kecil. Namun, jika $Pa < 0,5$ maka senyawa secara eksperimental sangat kecil dan tidak menunjukkan aktivitas sebagai obat (Lagunin et al., 2018) (Basha et al., 2018).

Berdasarkan potensi senyawa bioaktif *Nasturtium montanum* menunjukkan bahwa keempat senyawa tersebut memiliki nilai $Pa > Pi$ yang berarti *1-O-sinapoyl-beta-D-glucose*, *kaempferol 3-O-sophoroside*, *patuletin 3-gentiobioside* dan *quercetin 3-O-malonylglucoside* memiliki aktivitas sebagai antipiretik. Senyawa-senyawa tersebut dianggap berpotensi secara biologis bila nilai Pa-nya lebih tinggi daripada nilai Pi. Ketika Pa lebih besar dari Pi, senyawa bahan alam dianggap aktif secara eksperimental (Emon et al., 2021). Namun hasil nilai Pa keempat senyawa tersebut lebih kecil dari 0,5 ($Pa < 0,5$) yang berarti bahwa aktivitas senyawa *1-O-sinapoyl-beta-D-glucose*, *kaempferol 3-O-sophoroside*, *patuletin 3-gentiobioside* dan *quercetin 3-O-malonylglucoside* secara eksperimental sangat kecil dan tidak menunjukkan aktivitas sebagai obat dibandingkan dengan *Meclofenamic acid*, namun tetap menunjukkan aktivitasnya farmakologis sebagai antipiretik, meskipun menunjukkan aktivitas farmasi yang buruk. Nilai $Pa < 0,5$ mencerminkan efek farmakologis yang lebih sedikit secara eksperimental (Rakib et al., 2020).

Berdasarkan Tabel 1 menunjukkan bahwa senyawa *1-O-sinapoyl-beta-D-glucose* telah memenuhi kriteria lima aturan Lipinski yang berarti senyawa tersebut memiliki potensi untuk dikonsumsi secara oral. Sedangkan, senyawa *kaempferol 3-O-sophoroside*, *patuletin 3-gentiobioside*, *quercetin 3-O-malonylglucoside*, *rhamnazin 3-sophoroside* dan *rhamnetin 3-sophoroside* tidak memenuhi aturan lima Lipinski. Hal ini menunjukkan bahwa kelima senyawa tersebut tidak dapat dikonsumsi secara oral, namun dapat diberikan secara sublingual maupun injeksi. Suatu senyawa dikatakan memiliki absorpsi atau permeabilitas yang baik apabila telah memenuhi kelima aturan Lipinski.

Berdasarkan Tabel 2 menunjukkan bahwa persentase absorpsi pencernaan manusia senyawa *1-O-sinapoyl-beta-D-glucose*, *kaempferol 3-O-sophoroside*, *patuletin 3-gentiobioside*, *quercetin 3-O-malonylglucoside* secara berurutan yakni 47.505 %, 4.738 %, 25.398 % dan 24.325 % (Ranjith D dan Ravikumar C, 2019). Berdasarkan hal tersebut, maka keempat senyawa tersebut menunjukkan kemampuan absorpsi yang kurang baik dan jelek. Persentase absorpsi *Meclofenamic acid* lebih besar dibandingkan dengan *1-O-sinapoyl-beta-D-glucose*.

Volume distribusi menunjukkan jumlah total dosis obat yang disebarkan secara merata ke seluruh tubuh, sehingga memiliki konsentrasi yang sama dengan plasma darah. Semakin tinggi nilai volume distribusi, maka semakin besar jumlah obat yang di distribusikan ke dalam ke jaringan dibandingkan plasma (Murad et al., 2021). Secara umum, volume distribusi senyawa yang rendah apabila nilai $\log VD_{ss} < -0,15$ dengan tinggi apabila $> 0,45$. Hasil volume distribusi *Meclofenamic acid* yakni $-2,132 < 0,45$, menunjukkan bahwa *Meclofenamic acid* tidak dapat didistribusikan pada jaringan dibandingkan plasma. Nilai VD_{ss} *1-O-sinapoyl-beta-D-glucose* $-0,005 > -0,15$, nilai VD_{ss} *kaempferol 3-O-sophoroside* $1,083 > -0,15$, *patuletin 3-gentiobioside* $1,169 > -0,15$ dan *quercetin 3-O-malonylglucoside* $1,717 > -0,15$ menunjukkan bahwa keempat senyawa tersebut dapat didistribusikan pada jaringan dibandingkan plasma.

Blood Brain Barrier (BBB) berperan dalam melindungi otak dari zat-zat luar melalui darah. BBB juga berperan sebagai penghambat masuknya obat ke sistem saraf pusat. Senyawa dapat menembus sawar darah otak dengan baik apabila mempunyai nilai $\log BB > 0,3$ (Ibrahim et al., 2021). Sedangkan nilai $\log BB < -1$ menunjukkan bahwa suatu senyawa tidak terdistribusi dengan baik. Berdasarkan tabel 4.3 menunjukkan bahwa nilai $\log BB$ *Meclofenamic acid* yakni 0,302, *1-O-sinapoyl-beta-D-glucose* -1,308, *kaempferol 3-O-sophoroside* -2,104, *patuletin 3-gentiobioside* -2,419, *quercetin 3-O-malonylglucoside* -1,982. Hal ini berarti senyawa *Meclofenamic acid* mampu melewati dan menembus sawar darah otak dengan baik, sedangkan keempat senyawa lainnya tidak terdistribusi dengan baik karena tidak dapat melewati sawar darah otak dengan nilai $\log BB$ yang lebih kecil dari -1.

Metabolisme suatu obat diidentifikasi oleh dua isoform, salah satunya sitokrom P2D6 (CYP2D6). Berdasarkan hasil Tabel 4.3 memperlihatkan bahwa keempat senyawa tidak menunjukkan substrat CYP2D6 dan bertindak sebagai non inhibitor dari CYP2D6, sehingga senyawa *1-O-sinapoyl-beta-D-glucose* -1,308, *kaempferol 3-O-sophoroside*

-2,104, *patuletin 3-gentiobioside* -2,419, *quercetin 3-O-malonylglucoside* -1,982 tidak dapat menghambat biotransformasi obat yang dimetabolisme oleh sitokrom CYP450 di hati atau keempat senyawa ini tidak dimetabolisme oleh P450 yang bertindak sebagai inhibitor untuk mengubah farmakokinetik obat dan mempengaruhi metabolisme obat. Secara umum, suatu senyawa dapat menjadi substrak sitokrom P450 yang berfungsi dalam metabolisme obat (Ibrahim *et al.*, 2021). selain itu, sitokrom P450 bertindak sebagai enzim yang berfungsi sebagai detoksifikasi tubuh dan ditemukan di hati. Sitokrom ini diwakili oleh sitokrom P2D6 (CYP2D6) (Ranjith D dan Ravikumar C, 2019).

Total clearance dapat memprediksi kecepatan ekskresi suatu senyawa yang dimetabolisme oleh hati, empedu dan ginjal. Selain itu, *clearance* sebagai parameter uji farmakokinetik sebagai penentu yang berkaitan dengan bioavailabilitas oral dan dosis obat yang tepat. Semakin tinggi nilai *clearance*, maka semakin cepat laju eliminasi obat dalam tubuh, karena parameter *clearance* diukur berdasarkan laju eliminasi yang tergantung konsentrasi obat. nilai *clearance* obat tergantung pada kecepatan aliran darah yang melewati organ eliminasi. Berdasarkan hasil Tabel 4.3 menunjukkan bahwa nilai total *clearance* senyawa *Meclofenamic acid* sebesar 0,333, *1-O-sinapoyl-beta-D-glucose* 0,71, *kaempferol 3-O-sophoroside* -0,126, *patuletin 3-gentiobioside* -0,275 dan *quercetin 3-O-malonylglucoside* 0,531 yang berarti masing-masing senyawa tersebut dapat diprediksi kecepatan ekskresinya.

Uji *ames toxicity* menunjukkan apakah toksisitas suatu senyawa bersifat mutagenik atau tidak. Hasil toksisitas senyawa yang diketahui melalui *ames toxicity* menunjukkan bahwa *1-O-sinapoyl-beta-D-glucose*, *kaempferol 3-O-sophoroside*, *patuletin 3-gentiobioside* dan *quercetin 3-O-malonylglucoside* tidak bersifat mutagenik dan tidak berpotensi karsinogenik, sedangkan senyawa yang dapat menyebabkan gangguan fungsi hati menunjukkan bahwa senyawa *1-O-sinapoyl-beta-D-glucose*, *kaempferol 3-O-sophoroside*, *patuletin 3-gentiobioside* dan *quercetin 3-O-malonylglucoside* tidak berpotensi sebagai hepatotoksitas. Secara umum, senyawa dikategorikan bersifat hepatotoksitas apabila menyebabkan gangguan pada fungsi hati, namun keempat senyawa uji tidak menimbulkan gangguan pada hati (Hartati *et al.*, 2021).

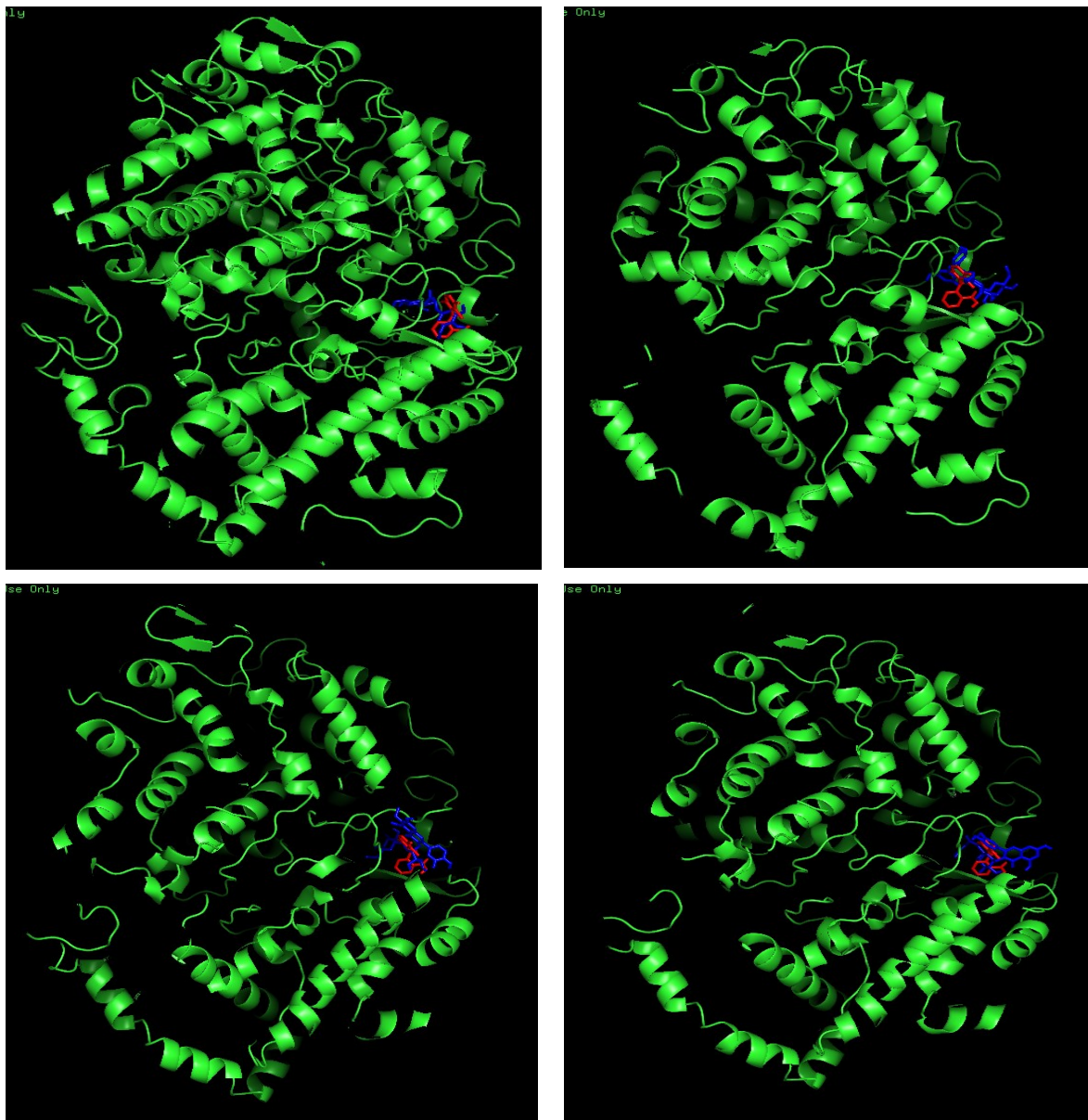
Hasil Docking Ligan

Berdasarkan hasil docking pada Tabel 3 menunjukkan bahwa senyawa *1-O-sinapoyl-beta-D-glucose*, *kaempferol 3-O-sophoroside*, *patuletin 3-gentiobioside* dan *quercetin 3-O-malonylglucoside*

mempunyai nilai energi bebas ikatan yang lebih kecil dibandingkan *Meclofenamic acid* sebagai ligan kontrol. Hasil tersebut menunjukkan bahwa keempat senyawa tersebut lebih stabil berikatan dengan reseptor PTGS2. Semakin kecil nilai energi bebas ikatan pada suatu senyawa, maka afinitas antara ligan uji dengan reseptor semakin baik. Energi bebas ikatan digunakan sebagai parameter kekuatan afinitas pengikatan antara ligan dengan reseptor yang ditunjukkan dengan rendahnya energi bebas ikatan. Semakin rendah nilai energi bebasnya, maka ikatan yang dihasilkan akan semakin stabil dan spontan (Abdel-Hamid dan McCluskey, 2014). Secara umum, senyawa bioaktif dengan energi bebas ikatan yang lebih rendah diperkirakan memiliki kemampuan untuk mengikat dan berinteraksi secara spontan dengan protein target (Damayanti *et al.*, 2017).

Klarifikasi hasil docking bertujuan untuk mengetahui posisi pengikatan ligan uji maupun kontrol pada reseptor PTGS2 dengan menggunakan software *PyMol* dapat dilihat pada Gambar 6. Hasil klarifikasi atau Posisi pengikatan ligan pada reseptor PTGS2 dilakukan dengan menggunakan software *PyMol* yang disajikan pada Gambar 6. Hasil visualiasi 3D kompleks masing-masing dari protein PTGS2 dengan ligan senyawa memperlihatkan bahwa senyawa *1-O-sinapoyl-beta-D-glucose*, *kaempferol 3-O-sophoroside*, *patuletin 3-gentiobioside* dan *quercetin 3-O-malonylglucoside* menunjukkan posisi pengikatan yang sama dengan ligan kontrol atau obat yaitu *Meclofenamic acid*. Reseptor PTGS2 ditunjukkan dengan bentuk permukaan berwarna hijau, sedangkan ligan uji ditunjukkan dengan warna merah dan ligan kontrol ditunjukkan dengan warna biru.

Berdasarkan visualisasi docking pada Gambar 3, Gambar 4, Gambar 5 dan Tabel 3 menunjukkan bahwa *Meclofenamic acid* dan *1-O-sinapoyl-beta-D-glucose* berikatan dengan reseptor PTGS2 pada residu asam amino yang sama melalui interaksi hidrogen yaitu ASN B:32 pada jarak ikatan 3,06 Å, GLN A:327 pada jarak ikatan 2,37 Å dan 2,71 Å, sedangkan residu asam amino MET B:48, GLY B:135, TYR B:136 dan PRO B:154 berikatan melalui interaksi hidrofobik. Hasil ini menunjukkan bahwa *Meclofenamic acid* dan *1-O-sinapoyl-beta-D-glucose* memiliki potensi dan aktivitas yang sama. Secara umum, interaksi ikatan hidrogen antara ligan uji dan ligan kontrol dengan residu asam amino yang sama menunjukkan kemiripan aktivitas, sedangkan interaksi ikatan hidrofobik antara ligan uji dan ligan kontrol memperlihatkan stabilitas antar ligan yang dapat mengurangi interaksi antara residu non polar dengan air yang menyebabkan hilangnya aktivitas dan kerusakan struktur dari reseptor (Odoemelan *et al.*, 2022).



Gambar 6. Hasil Klarifikasi Sisi Pengikatan Ligan Uji dengan Reseptor PTGS2 (*Clarification Results of the Test Ligand Binding Site with the PTGS2 Receptor*). (A) 1-O-Sinapoyl-beta-D-glucose, (B) Kaempferol 3-O-sophoroside, (C) Patuletin 3-gentiobioside, (D) Quercetin 3-O-malonylglucoside

Hasil pada senyawa *Meclofenamic acid* dan *kaempferol 3-O-sophoroside* berikatan dengan reseptor PTGS2 pada residu asam amino yang sama yakni PRO B:156, PRO B:154 dan SER B:45 melalui interaksi ikatan hidrofobik, namun *Meclofenamic acid* dan *kaempferol 3-O-sophoroside* juga mempunyai residu asam amino yang sama dengan jenis ikatan yang berbeda yakni GLN A:327 dan TRP A:323. *Meclofenamic acid* berikatan dengan reseptor PTGS2 melalui interaksi

hidrogen, sedangkan *kaempferol 3-O-sophoroside* berikatan melalui interaksi hidrofobik.

Hasil analisis senyawa *Meclofenamic acid* dan *patuletin 3-gentiobioside* berikatan dengan reseptor PTGS2 pada residu asam amino GLN A:327 pada jarak ikatan 3,26 Å dan 2,76 Å, TRP A:323 pada jarak 3,16 Å, ASN B:34 pada jarak 3,10 Å melalui interaksi hidrogen, sedangkan residu asam amino TYR B:136, CYS B:47, PRO B:154, dan PRO B:156 berikatan melalui interaksi hidrofobik. Namun,

Meclofenamic acid dan *patuletin 3-gentiobioside* memiliki residu asam amino yang sama dengan interaksi ikatan yang berbeda yakni SER B:49. *Meclofenamic acid* berikatan dengan reseptor PTGS2 melalui interaksi hidrofobik, sedangkan *patuletin 3-gentiobioside* melalui ikatan hidrogen pada jarak 3,10 Å. Ikatan hidrogen lebih kuat dibandingkan ikatan hidrofobik, maka senyawa *patuletin 3-gentiobioside* mengikat reseptor PTGS2 lebih kuat dibandingkan *Meclofenamic acid*. Interaksi ligan uji akan semakin baik dan stabil apabila memiliki residu asam amino dengan ikatan hidrogen (Mulyati dan Seulina Panjaitan, 2021).

Berdasarkan hasil analisa visualisasi docking senyawa *Meclofenamic acid* dan *quercetin 3-O-malonylglucoside* berikatan dengan reseptor PTGS2 pada residu asam amino yang sama dengan interaksi yang sama yakni MET B:48, PRO B:156, PRO B:154, GLY B:135 berikatan melalui interaksi hidrofobik. Namun, *Meclofenamic acid* dan *quercetin 3-O-malonylglucoside* juga memiliki residu asam amino yang sama dengan interaksi yang berbeda yakni CYS B:47 pada jarak 2,71 Å, 2,96 Å dan 3,16 Å, ASN B:34 dan GLN A:327. *Meclofenamic acid* berikatan pada interaksi hidrogen, sedangkan *quercetin 3-O-malonylglucoside* melalui ikatan hidrofobik.

KESIMPULAN

Hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa senyawa bioaktif yang ada pada daun *N. montanum* adalah 101 senyawa. Berdasarkan hasil penambatan molekul menggunakan protein PTGS2 menunjukkan bahwa senyawa *1-O-sinapoyl-beta-D-glucose*, *kaempferol 3-O-sophoroside*, *patuletin 3-gentiobioside* dan *quercetin 3-O-malonylglucoside* lebih stabil sebagai inhibitor PTGS2 dengan nilai energi bebas yang lebih kecil yaitu (-8.5, -8.8, -7.9, -9.3 Kkal/mol) dibandingkan *Meclofenamic acid* sebagai ligan control atau obat (-7.3 Kkal/mol). Sedangkan berdasarkan efek farmakokinetik tidak dapat menembus otak dan mencapai target, namun senyawa-senyawa tersebut memiliki nilai negatif untuk tes Ames dan hepatoksisitas, sehingga aman bagi manusia.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih di sampaikan kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan Republik Indonesia (DRTPM) pada Tahun 2022 dengan No. SK 092/E5/PG.02.00.PT/2022 yang telah memberikan dukungan materi untuk melakukan penelitian bioinformatika berbasis bahan alam sebagai agen antipiretik. Kemudian ucapan terima kasih kepada Rektor, Dekan, Kaprodi S2 biologi dan dosen pembimbing yang telah memberikan kesempatan, dukungan, motivasi dan bimbingan dalam

penyusunan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdel-Hamid, M.K and McCluskey, A., 2014. In Silico docking, molecular dynamics and binding energy insights into the bolinaquinone-clathrin terminal domain binding site. *Molecules Journal*, 19, 6609–6622. <https://doi.org/10.3390/molecules19056609>
- Anand, U., Jacobo-Herrera, N., Altemimi, A and Lakhssassi, N., 2019. A comprehensive review on medicinal plants as antimicrobial therapeutics: Potential avenues of biocompatible drug discovery. *Metabolites*, 9(258), 1–13. <https://doi.org/10.3390/metabo9110258>
- Basha, S.A.A., Yunoos, M and Ahmed, J., 2018. Pass: A computerized prediction of biological activity spectra for chemical substances. *Indo American Journal of Pharmaceutical Research*, 8(06), 1441–1445. <https://doi.org/10.1201/b10335-6>
- Cardile, S., Martinelli, M., Barabino, A., Gandullia, P., Oliva, S., Nardo, G. Di, Dall'Oglio, L., Rea, F., De'Angelis, G.L., Bizzarri, B., Guariso, G., Masci, E., Staiano, A., Miele, E and Romano, C., 2016. Italian survey on non-steroidal anti-inflammatory drugs and gastrointestinal bleeding in children. *World Journal of Gastroenterology*, 22(5), 1877–1883. <https://doi.org/10.3748/wjg.v22.i5.1877>
- Chiappini, E., Bortone, B., Galli, L and Martino, M. De., 2017. Guidelines for the symptomatic management of fever in children: Systematic review of the literature and quality appraisal with AGREE II. *BMJ Open*, 7, 1–10. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2016-015404>
- Clavé, S., Rousset-Rouvière, C., Daniel, L and Tsimaratos, M., 2019. The Invisible Threat of Non-steroidal Anti-inflammatory Drugs for Kidneys. *Frontiers in Pediatrics*, 7, 1–6. <https://doi.org/10.3389/fped.2019.00520>
- Damayanti, D.S., Utomo, D.H and Kusuma, C., 2017. Revealing the potency of *Annona muricata* leaves extract as FOXO1 inhibitor for diabetes mellitus treatment through computational study. *In Silico Pharmacology Journal*, 5(3), 1–7. <https://doi.org/10.1007/s40203-017-0023-3>
- de Martino, M., Chiarugi, A., Boner, A., Montini, G and de' Angelis, G.L., 2017. Working towards an appropriate use of ibuprofen in children: an evidence-based appraisal. *Drugs*, 77, 1295–1311. <https://doi.org/10.1007/s40265-017-0751-z>
- Eccles, R., 2017. Ibuprofen, as a Symptomatic over the Counter (OTC) treatment for acute upper respiratory tract infections. *Journal of*

- Pharmacology and Clinical Toxicology*, 5(7), 1–7.
- Emon, N.U., Alam, S., Rudra, S., Riya, S.R., Paul, A., Hossen, S.M.M., Kulsum, U and Ganguly, A., 2021. Antidepressant, anxiolytic, antipyretic and thrombolytic profiling of methanol extract of the aerial part of *Piper nigrum*: In vivo, in vitro, and in silico approaches. *Food Science and Nutrition*, 9(2), 833–846. <https://doi.org/10.1002/fsn3.2047>
- Goulet, J.L., Pace, A.J., Key, M.L., Byrum, R.S., Nguyen, M., Tilley, S.L., Morham, S.G., Langenbach, R., Stock, J.L., McNeish, J.D., Smithies, O., Coffman, T.M and Koller, B.H., 2022. E-Prostanoid-3 receptors mediate the proinflammatory actions of prostaglandin e 2 in acute cutaneous inflammation. *The Journal of Immunology*, 173(2), 1321–1326. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.173.2.1321>
- Green, R., Jeena, P., Kotze, S., Lewis, H., Webb, D and Wells, M., 2013. Management of acute fever in children: guideline for community healthcare providers and pharmacists. *South African Medical Journal*, 103(12), 948–954. <https://doi.org/10.7196/SAMJ.7207>
- Hartati, F.K., Djauhari, A.B and Viol Dhea, K., 2021. Evaluation of pharmacokinetic properties, toxicity and bioactive cytotoxic activity of black rice (*Oryza sativa* L.) as. *Biointerface Research in Applied Chemistry*, 11(4), 12301–12311. <https://doi.org/10.33263/BRIAC114.1230112311>
- Hendrawati and Elvira, M., 2019. Effect of Tepid Sponge on changes in body temperature in children under five who have fever in Dr. Achmad Mochtar Bukittinggi Hospital. *Enfermeria Clinica*, 29(51), 91–93. <https://doi.org/10.1016/j.enfcli.2018.11.029>
- Hunter, L.J., Wood, D.M and Dargan, P.I., 2011. The patterns of toxicity and management of acute nonsteroidal anti-inflammatory drug (NSAID) overdose. *Open Access Emergency Medicine*, 3, 39–48. <https://doi.org/10.2147/OAEM.S22795>
- Ibrahim, Z.Y., Uzairu, A., Shallangwa, G.A and Abechi, S.E., 2021. Pharmacokinetic predictions and docking studies of substituted aryl amine-based triazolopyrimidine designed inhibitors of Plasmodium falciparum dihydroorotate dehydrogenase (PfDHODH). *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, 7(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/s43094-021-00288-2>
- Kristianingsih, A., Sagita, Y.D dan Suryaningsih, I., 2019. Hubungan tingkat pengetahuan ibu tentang demam dengan penanganan demam pada bayi 0–12 bulan di Desa Datarajan Wilayah Kerja Puskesmas Ngarip Kabupaten Tanggamus Tahun 2018. *Midwifery Journal: Jurnal Kebidanan UM Mataram*, 4(1), 26–31. <https://doi.org/10.31764/mj.v4i1.510>
- Lagunin, A.A., Dubovskaja, V.I., Rudik, A.V., Pogodin, P.V., Druzhilovskiy, D.S., Glorizova, T.A., Filimonov, D.A., Sastry, N.G and Poroikov, V.V., 2018. CLC-Pred: A freely available web-service for in silico prediction of human cell line cytotoxicity for drug-like compounds. *PLoS ONE*, 13(1), 1–13. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0191838>
- Luo, C.H., Ma, L.Le, Liu, H.M., Liao, W., Xu, R.C., Ci, Z.M., Lin, J.Z., Han, L and Zhang, D.K., 2020. Research progress on main symptoms of novel coronavirus pneumonia improved by Traditional Chinese Medicine. *Frontiers in Pharmacology*, 11, 1–26. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.556885>
- Ma, L.Le, Liu, H.M., Luo, C.H., He, Y.N., Wang, F., Huang, H.Z., Han, L., Yang, M., Xu, R.C and Zhang, D.K., 2021. Fever and Antipyretic Supported by Traditional Chinese Medicine: A Multi-Pathway Regulation. *Frontiers in Pharmacology*, 12, 1–21. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.583279>
- Mathur, S and Hoskins, C., 2017. Drug development: Lessons from Nature (Review). In *Biomedical Reports*, 6. <https://doi.org/10.3892/br.2017.909>
- Mulyati, B and Seulina Panjaitan, R., 2021. Study of molecular docking of alkaloid derivative compounds from stem karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa*) against α -Glucosidase enzymes. *Indo. J. Chem. Res*, 9(2), 129–136. <https://doi.org/10.30598/ijcr.2020.9-bud>
- Murad, N., Pasikanti, K.K., Madej, B.D., Minnich, A., McComas, J.M., Crouch, S., Polli, J.W and Weber, A.D., 2021. Predicting volume of distribution in humans: performance of in silico methods for a large set of structurally diverse clinical compounds. *Drug Metabolism and Disposition*, 49(2), 169–178. <https://doi.org/10.1124/DMD.120.000202>
- Nguyen, T., Chen, X., Chai, J., Li, R., Han, X., Chen, X., Liu, S., Chen, M and Xu, X., 2020. Antipyretic, anti-inflammatory and analgesic activities of periplaneta americana extract and underlying mechanisms. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 123, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2019.109753>
- Odoemelam, C.S., Hunter, E., Simms, J., Ahmad, Z., Chang, M.W., Percival, B., Williams, I.H., Molinari, M., Kamerlin, S.C.L and Wilson, P.B., 2022. In silico ligand docking approaches to characterise the binding of known allosteric modulators to the glucagon-like peptide 1 receptor and

- prediction of ADME/Tox Properties. *Applied Biosciences*, 1(2), 143–162. <https://doi.org/10.3390/applbiosci1020010>
- Rahardjanto, A., Ikhtira, D.A., Nuryady, Moh. M and Pantiwati, Y., 2020. The medicinal plant potential parts and species diversity as antipyretic: ethnobotany study at Senduro Lumajang. *International Conference on Life Sciences and Technology (ICoList 2020)*, 1–8.
- Rakib, A., Ahmed, S., Islam, M.A., Haye, A., Uddin, S.M.N., Uddin, M.M.N., Hossain, M.K., Paul, A and Emran, T. Bin., 2020. Antipyretic and hepatoprotective potential of *Tinospora crispa* and investigation of possible lead compounds through in silico approaches. *Food Science and Nutrition*, 8(1), 547–556. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1339>
- Ranjith D and Ravikumar C., 2019. SwissADME predictions of pharmacokinetics and drug-likeness properties of small molecules present in *Ipomoea mauritiana* Jacq. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 8(5), 2063–2073.
- Santiago, L.Á.M., Neto, R.N.M., Santos Ataíde, A.C., Fonseca, D.C.S.C., Soares, E.F.A., de Sá Sousa, J.C., Mondego-Oliveira, R., Ribeiro, R.M., de Sousa Cartágenes, M. do S., Lima-Neto, L.G., Carvalho, R.C and de Sousa, E.M., 2021. Flavonoids, alkaloids and saponins: are these plant-derived compounds an alternative to the treatment of rheumatoid arthritis? A literature review. *Clinical Phytoscience*, 7(1). <https://doi.org/10.1186/s40816-021-00291-3>
- Steele, G.M., Franco-Paredes, C and CHastain, D.B., 2018. Noninfectious causes of fever in adults. *The Nurse Practitioner*, 43(4), 38–44. https://doi.org/10.1007/978-3-319-50404-9_9
- Subedi, N.K., Rahman, S.M.A and Akbar, M.A., 2016. Analgesic and antipyretic activities of methanol extract and its fraction from the root of *Schoenoplectus grossus*. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. <https://doi.org/10.1155/2016/3820704>
- Sudibyo, D.G., Anindra, R.P., Gihart, Y. El, Ni'azzah, R.A., Kharisma, N., Pratiwi, S.C., Chelsea, S.D., Sari, R.F., Arista, I., Damayanti, V.M., Azizah, E.W., Poerwantoro, E., Fatmaningrum, H dan Hermansyah, A., 2020. Pengetahuan ibu dan cara penanganan demam pada anak. *Jurnal Farmasi Komunitas*, 7(2), 69–76. <https://doi.org/10.20473/jfk.v7i2.21808>
- Vaou, N., Stavropoulou, E., Voidarou, C., Tsakris, Z., Rozos, G., Tsigalou, C and Bezirtzoglou, E., 2022. Interactions between medical plant-derived bioactive compounds: focus on antimicrobial combination effects. *Antibiotics*, 11(8), 1–23. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11081014>
- Vijapura, P., Cowart, J. B., Kashiwagi, D.T., Killebrew, S.R and Caroline Burton, M., 2020. Things we do for no reason™: treatment of infection-related fever in hospitalized patients. *Journal of Hospital Medicine*, 15(5), 269–271. <https://doi.org/10.12788/jhm.3433>