

STUDI IN SILICO PREDIKSI POTENSI SENYAWA BAHAN ALAM SEBAGAI ANTI-INFLAMASI DALAM MENGHAMBAT COX-2

Velieana Laurent Sanjaya, Munir Alinu Mulki
(Program Studi Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Singaperbangsa)
e-mail author: munir.alinu@fikes.unsika.ac.id

Abstract

Infection or tissue injury induces inflammation, which causes pain. Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs (NSAIDs) are commonly used anti-inflammatory agents but can cause adverse effects on the stomach, kidneys, and liver when used long-term. As a result, efforts have been made to discover new drugs from natural sources to minimize these risks. With advances in technology, the search for new drug candidates using computational modeling, such as molecular docking, has become increasingly common. The aim of this systematic literature review is to predict and evaluate the potential of natural compounds as anti-inflammatory agents through in silico analysis. A systematic literature review of 10 recent articles, selected from an initial 376 articles on the topic of natural plant compounds' anti-inflammatory potential in silico, published between 2020 and 2023, was conducted using the PubMed and Springer databases. The conclusion from the review of the structural analysis of secondary plant metabolites shows that all 45 compounds tested demonstrated the ability to interact with the COX-2 enzyme, which plays a key role in inflammation and pain. Among these compounds, catechin, a member of the flavonoid group, was identified as the best candidate based on in silico analysis.

Keywords: *in silico; inflammation; secondary metabolite*

Abstrak

Infeksi atau luka dalam jaringan menimbulkan inflamasi atau peradangan yang menyebabkan nyeri. Obat Anti-Inflamasi Non-Steroid merupakan obat anti-inflamasi yang banyak digunakan dan menimbulkan dampak buruk pada lambung, ginjal, dan hati apabila digunakan dalam waktu yang lama, sehingga dilakukan upaya pencarian obat baru dari bahan alam untuk memperkecil risiko yang ditimbulkan. Seiring perkembangan teknologi pencarian kandidat obat baru menggunakan pemodelan komputasi seperti molecular docking atau penambatan molekul sudah banyak dilakukan. Tujuan dari kajian literatur sistematis ini untuk memprediksi dan mengevaluasi potensi senyawa dari bahan alam sebagai agen anti-inflamasi melalui analisis in silico. Kajian literatur sistematis dengan 10 artikel terkini yang sudah dianalisis, dan memenuhi kelayakan dari 376 artikel dengan topik potensi senyawa bahan alam pada tumbuhan sebagai anti-inflamasi secara in silico pada database PubMed dan Springer dengan tahun publikasi 2020-2023. Kesimpulan dari hasil kajian penelusuran struktur senyawa metabolit sekunder tumbuhan menunjukkan bahwa dari 45 senyawa yang diujikan, seluruhnya memiliki kemampuan untuk berinteraksi dengan enzim COX-2, yang berperan penting dalam proses inflamasi dan nyeri. Di antara senyawa-senyawa tersebut, catechin, yang termasuk dalam golongan flavonoid, terbukti sebagai senyawa dengan potensi terbaik berdasarkan analisis in silico.

Kata Kunci: *in silico; inflamasi; metabolit sekunder*

PENDAHULUAN

Inflamasi merupakan respons pertahanan utama tubuh terhadap cedera dan infeksi, dipicu oleh tanda molekul mikroba dan cedera jaringan¹. Molekul-molekul ini merangsang

neuron sensorik yang disebut nosiseptor. Aktivasi nosiseptor memediasi peradangan melalui pelepasan neuropeptide antidromik ke dalam jaringan yang terinfeksi atau terluka, menghasilkan peradangan neurogenik ². Peradangan ini dapat membantu melawan infeksi, tetapi juga dapat menyebabkan gejala seperti kemerahan, bengkak, dan nyeri.

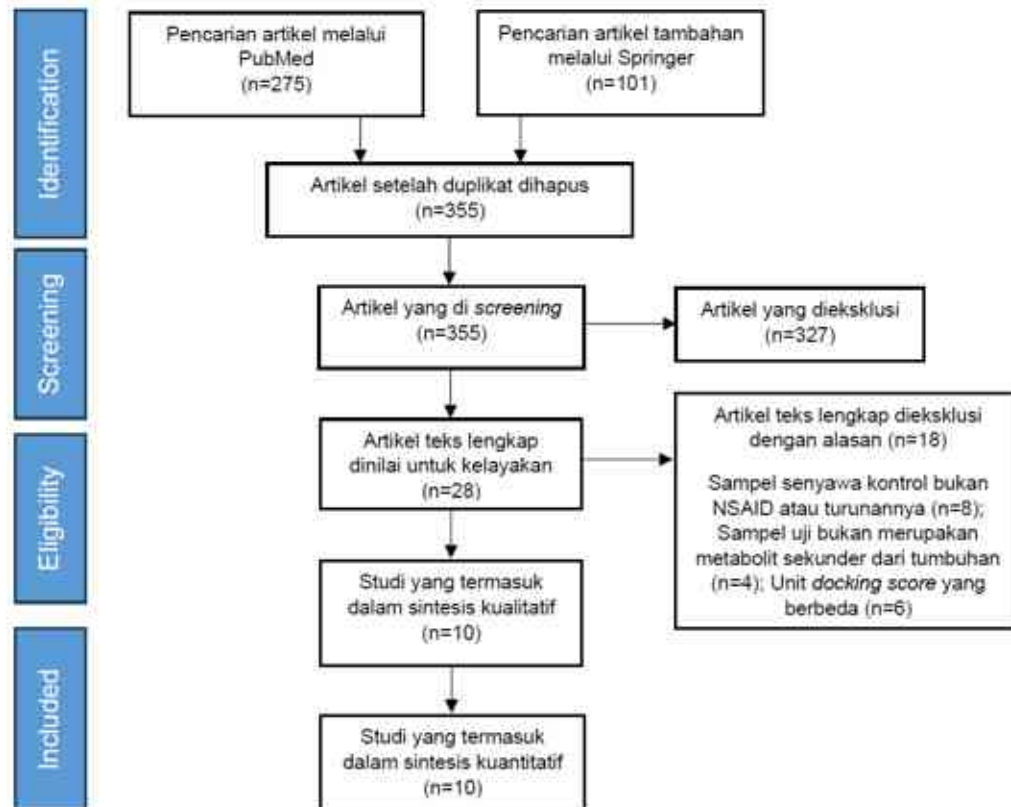
Obat Anti-Inflamasi Non-Steroid (OAINS) merupakan obat anti-inflamasi yang banyak digunakan saat ini. Dengan mekanisme kerja sebagai penghambat mediator inflamasi utama dengan menghambat aktivitas isoenzim *cyclooxygenase* (COX) ³. *Cyclooxygenase* (COX) merupakan enzim yang memiliki peran penting dalam sintesis prostaglandin, yang memiliki peran dalam respon inflamasi ⁴. Akan tetapi, OAINS secara selektif atau non-selektif menghambat COX-1 dan COX-2 dengan memberikan dampak buruk pada lambung, ginjal, dan hati ⁵. Oleh karena itu, diperlukan pencarian obat anti-inflamasi baru dengan mekanisme kerja molekuler yang berbeda juga memberikan efek samping yang terbatas. Metabolit sekunder yang dihasilkan oleh tanaman dapat digunakan sebagai senyawa potensi obat yang baru. Analisis *in silico* memungkinkan penyaringan terhadap berbagai senyawa alami untuk mengidentifikasi kandidat yang paling menjanjikan dalam waktu yang cepat. Biaya yang dibutuhkan juga lebih rendah dibandingkan dengan metode eksperimental tradisional. Dengan semakin meningkatnya penggunaan bahan alami dalam pengobatan, penelitian ini penting untuk membuka peluang baru dalam pengembangan obat yang ramah lingkungan, mudah didapatkan, dan memiliki efek samping yang lebih rendah.

Target anti-inflamasi harus sesuai dalam penggunaan untuk pencarian kandidat obat anti-inflamasi baru yang berpotensi. Dalam kajian literatur ini, digunakan COX-2 sebagai target anti-inflamasi dalam pencarian kandidat obat anti-inflamasi yang baru. Senyawa uji berpotensi sebagai inhibitor jika nilai energi ikatan lebih kecil dari senyawa standar ⁶. Ligan adalah molekul yang dapat berikatan dengan protein atau reseptor target melalui interaksi spesifik, seperti ikatan hidrogen. Semakin kecil energi ikatan maka semakin banyak jumlah ikatan hidrogen yang akan dihasilkan, sehingga ligan tersebut dapat dijadikan kandidat inhibitor pada COX-2 ⁷.

Analisis *in silico* adalah metode pendekatan yang menggunakan simulasi komputer dengan program tertentu untuk mengidentifikasi senyawa dengan potensi dan selektivitas yang lebih tinggi ⁸. Teknik komputasi yang disebut *molecular docking* atau penambatan molekul merupakan suatu metode yang digunakan untuk memprediksi interaksi antara molekul obat dan target biologis ⁹. Fokus utama penelitian ini adalah mengidentifikasi senyawa yang mampu menghambat COX-2, yang berperan penting dalam proses inflamasi. Melalui simulasi *molecular docking*, penelitian ini memprediksi interaksi senyawa dengan situs aktif COX-2 untuk menilai potensi penghambatan. Dengan demikian, tujuan dari kajian

literatur ini adalah untuk memprediksi dan mengevaluasi potensi senyawa dari bahan alam sebagai agen anti-inflamasi melalui analisis *in silico*.

METODE PENELITIAN



Gambar 1. Prisma study flow diagram

Metode yang digunakan adalah *systematic literature review* dengan menggunakan artikel-artikel penelitian yang telah dipublikasikan ke dalam *database* penyedia jurnal internasional PUBMED dan SPRINGER dengan tahun publikasi 2020-2023. Pencarian literatur dilakukan dengan menggunakan kata kunci (keyword) "*in silico* AND *anti-inflammatory* AND *COX-2*", ditemukan 275 artikel pada PUBMED dan 101 artikel pada SPRINGER. Setelah dilakukan penghapusan artikel duplikat, tersisa 355 artikel.

Semua artikel tersebut melalui proses *screening* berdasarkan judul dan abstrak untuk menilai relevansinya dengan kriteria penelitian yang ditetapkan. Sebanyak 327 artikel dikeluarkan karena tidak sesuai dengan topik penelitian, menyisakan 28 artikel untuk dinilai lebih lanjut. Pada tahap *eligibility* teks lengkap dari 28 artikel diperiksa untuk memastikan kesesuaiannya. Dari hasil penilaian, 18 artikel dikeluarkan dengan alasan: 8 artikel tidak menggunakan senyawa kontrol berupa NSAID atau turunannya, 4 artikel memiliki sampel uji bukan merupakan metabolit sekunder dari tumbuhan, dan 6 artikel lainnya memiliki *docking*

score yang berbeda. Sehingga 10 artikel tersisa dianggap memenuhi semua kriteria dan dimasukkan ke dalam sintesis kualitatif dan kuantitatif untuk dianalisis lebih lanjut dalam penelitian ini.

HASIL PENELITIAN

Penelusuran dilakukan pada tanggal 6 Maret 2021 dengan kata kunci "*in silico* AND *anti-inflammatory* AND *COX-2*" menghasilkan 275 artikel. dari 275 artikel tersebut dilakukan penyeleksian berupa judul, abstrak dan isi. Parameter seleksi untuk judul adalah kebenaran bahwa artikel membahas anti-inflamasi menggunakan metode *in silico* dengan target COX-2, sedangkan parameter seleksi untuk abstrak dan isi adalah bentuknya artikel (bukan skripsi, tesis, laporan penelitian, *review* artikel atau buku) dan kandidat obat merupakan metabolit sekunder dari tumbuhan. Diperoleh 10 artikel yang memenuhi kriteria, dan isi dari kesepuluh artikel tersebut dirangkum dalam tabel. Pada tabel 1 berisi rangkuman jenis tumbuhan dan golongan metabolit sekunder yang diekstrak dan didapatkan, sementara pada tabel 2 berisi rangkuman hasil *docking score* ligan uji dan ligan kontrol positif pada target COX-2.

Tabel 1. Daftar tumbuhan dan golongan metabolit sekunder yang diekstrak

No.	Jenis Tumbuhan	Golongan Metabolit Sekunder
1.	<i>Cleome arabica</i> L. ¹⁰	Flavonoid, polifenol, dan terpenoid
2.	<i>Morus alba</i> ¹¹	Flavonoid
3.	<i>Elatostema papillosum</i> ¹²	Terpenoid
4.	<i>Ficus populifolia</i> ¹³	Steroid, flavonoid, dan polifenol
5.	<i>Portulacaria afra</i> ¹⁴	Flavonoid, alkaloid
6.	<i>Blumea lanceolaria</i> ⁵	Minyak atsiri
7.	<i>Borreria verticillata</i> ¹⁵	Flavonoid dan polifenol
8.	<i>Eucalyptus maculata</i> ¹⁶	Polifenol
9.	<i>Artemisia judaica</i> ¹⁷	Terpenoid
10.	<i>Zingiber roseum</i> ¹⁸	Flavonoid dan polifenol

Tabel 2. Daftar *docking score* senyawa kandidat anti-inflamasi dan kontrol positif (OAINS/NSAID atau turunan) pada target yang sama (COX-2)

No.	Nama Senyawa	<i>Docking Score</i> (kcal/mol)	Selisih <i>Docking Score</i>
1.	Indomethacin*	-5.40	
2.	Quercetin	-6.50	+1.10 ¹⁰
3.	Catechin	-9.80	+4.40 ¹⁰
4.	Kaempferol	-9.40	+4.00 ¹⁰
5.	Rosmariniacid	-8.00	+2.60 ¹⁰
6.	Naringenin	-7.50	+2.10 ¹⁰
7.	Chemocoxib*	-3.26	
8.	Kuwanon A	-6.59	+3.33 ¹¹
9.	Kuwanon B	-4.66	+1.24 ¹¹
10.	Kuwanon C	4.21	-0.95 ¹¹
11.	Kuwanon E	-5.81	+2.55 ¹¹
12.	Kuwanon H	-6.25	+2.99 ¹¹
13.	Diclofenac-Na*	-7.26	

14.	Linoelaidic Acid	-2.96	-4.30 ¹²
15.	Phytol Acetate	-5.23	-2.03 ¹²
16.	(NAG)2-Acetamido 2-Deoxy- β -D-glucopyranose*	-7.60	
17.	3',4',6'-Triacetylated Pentonoic Acid Glucoside	-8.10	+0.50 ¹³
18.	Androstenol*	-9.10	
19.	Stigmastan-3,5-Diene	-7.30	-1.80 ¹⁴
20.	Phthalimide, N-Acetyl	-8.20	-0.90 ¹⁴
21.	Celecoxib*	-11.00	
22.	α -Pinene	-6.20	-4.80 ⁵
23.	o-Cymene	-6.30	-4.70 ⁵
24.	Thymol methyl ether	-6.70	-4.30 ⁵
25.	Carvacrol methyl ether	-6.90	-4.10 ⁵
26.	Thymol	-6.50	-4.50 ⁵
27.	α -Copaene	-7.70	-4.30 ⁵
28.	β -Caryophyllene	-8.10	-2.90 ⁵
29.	α -Humulene	-7.70	-3.30 ⁵
30.	Thymol isobutyrate	-7.70	-3.30 ⁵
31.	δ -Cadinene	-7.80	-3.20 ⁵
32.	<i>Tau</i> -Cadinol	-7.80	-3.20 ⁵
33.	1-Hezadecanol	-5.70	-5.30 ⁵
34.	Indomethacin*	-8.30	
35.	Ursolic acid	-9.86	+1.56 ¹⁵
36.	Ellagic acid	-7.54	-0.76 ¹⁵
37.	Gallic acid	-6.68	-1.62 ¹⁵
38.	Caffeic acid	-5.88	-2.42 ¹⁵
39.	[4-(5-(4-bromophenyl)-3-(trifluoromethyl)-1H-pyrazol-1-yl)benzenesulfonamide]*	-14.08	
40.	Sakuranetin [(2S)-5,4'-dihydroxy-7-methoxyflavanone)	-11.87	-2.21 ¹⁶
41.	(<i>E</i>)-cinnamic acid	-8.16	-5.92 ¹⁶
42.	7-O-methyl aromadendrin	-12.17	-1.91 ¹⁶
43.	1,6-dicinnamoyl-O- α -D-glucopyranoside	-14.85	+0.77 ¹⁶
44.	Naproxen*	-7.04	
45.	Vulgarin	-7.73	+0.69 ¹⁷
46.	Derivative 1 (was determined as C ₁₆ H ₁₈ O ₃)	-7.58	+0.54 ¹⁷
47.	Derivative 2 (was assigned the molecular formula C ₁₆ H ₂₀ O ₃)	-7.04	0 (sama) ¹⁷

48.	Celecoxib*	-8.70	
49.	Epicatechin	-7.00	-1.00 ¹⁸
50.	Myricetin	-7.70	-1.00 ¹⁸
51.	Trans cinnamic acid	-6.90	-1.80 ¹⁸
52.	Trans ferulic acid	-6.50	-2.20 ¹⁸
53.	Quercetin	-6.40	-2.30 ¹⁸
54.	Rosmarinic acid	-6.20	-2.50 ¹⁸
55.	Catechin hydrate	-5.80	-2.90 ¹⁸

* = kontrol

+ = *docking score* ligan uji lebih besar

- = *docking score* ligan uji lebih kecil

PEMBAHASAN

Penelusuran struktur senyawa metabolit sekunder dari tumbuhan menghasilkan 45 hasil penambatan senyawa pada target COX-2 dengan kontrol positif (OAINS) yang berbeda-beda. 45 senyawa yang diperoleh merupakan senyawa-senyawa dari golongan metabolit sekunder flavonoid, polifenol, terpenoid, steroid, alkaloid dan minyak atsiri. Dari 45 senyawa tersebut dilakukan perhitungan selisih *docking score* antara ligan uji dan ligan kontrol positif. Selisih ini diperoleh dengan melihat perbedaan potensi antara ligan uji dan ligan kontrol positif dimana (+) artinya potensi ligan uji lebih besar dan (-) artinya potensi ligan uji lebih kecil yang diikuti dengan kuantitas lebih besar atau lebih kecilnya secara penambatan molekular.

Aktivitas anti-inflamasi dari ekstrak buah *Cleome arabica* L. dengan lima senyawa ekstrak yang dijadikan ligan uji (catechin, quercetin, kaempferol, rosmarinic acid, dan naringenin) dan satu ligan kontrol positif (indometacin) menunjukkan *docking score* yang baik, berkisar antara -6.5 hingga -9.8 kcal/mol dibandingkan dengan ligan kontrol positif (-5.4 kcal/mol). *Docking score* terbaik terdapat pada *catechin* yang terikat pada asam amino His75, Ser339, Leu338, Val335, Gln178 dan Ser516 melalui ikatan hidrogen¹⁰.

Kuwanon merupakan metabolit sekunder flavonoid yang memiliki berbagai aktivitas biologis, seperti antikanker, antioksidan dan anti-inflamasi. Lima senyawa kuwanon (kuwanon A, kuwanon B, kuwanon C, kuwanon E, kuwanon H) diisolasi dari akar *Morus alba* L. dan dilihat aktivitas potensi sebagai anti-inflamasi pada COX-2 dengan ligan uji positif chemocoxib. *Docking score* semua ligan uji kuwanon dan ligan kontrol positif dihitung berdasarkan interaksi dengan asam amino Lys79, Lys83, Tyr122, Leu117, dan Val89. Interaksi asam amino antara Val89 dan ligan uji dipilih karena memiliki jarak terdekat. *Docking score* kuwanon A (-6.59 kcal/mol) menunjukkan hasil terbaik diantara kuwanon lainnya¹¹.

Elatostema papillosum merupakan bagian dari famili Urticaceae. Beberapa spesies *elastostema* berlokasi di negara Afrika, Asia, Australia dan Oceania. Tumbuhan ini dikenal memiliki aktivitas sebagai anti-depresan, dan berbagai aktivitas farmakologi lainnya. Dua

senyawa hasil isolasi dijadikan ligan uji (linoelaidic acid dan phytol acetate) pada reseptor COX-2 dengan ligan kontrol positif diclofenac-Na. Hasil *docking score* phytol acetate menunjukkan hasil terbaik (-5.236 kcal/mol) dibandingkan dengan linoelaidic acid (-2.960 kcal/mol) meskipun ligan kontrol positif yang memiliki hasil *docking score* terbaik secara keseluruhan ¹².

Ekstrak *Ficus populifolia* yang mengandung senyawa 3',4',6'-Triacetylated Pentonoic Acid Glucoside dijadikan sebagai satu-satunya ligan uji dengan ligan kontrol positif (NAG)2-Acetamido-2-Deoxy- β -D-glucopyranose, menunjukkan hasil *docking score* terbaik yaitu -8.1 kcal/mol dibandingkan dengan ligan kontrol positifnya (-7.6 kcal/mol). Ligan uji diketahui terikat pada asam amino Val349, Tyr355, Leu359, Val116, Ser530, Ala527, dan Gly526. *Ficus populifolia* merupakan bagian dari famili Moraceae, tumbuhan ini sudah terkenal sebagai tumbuhan obat yang memiliki aktivitas farmakologi seperti antibakteri, antikanker, anti-inflamasi, analgesik, antioksidan dan masih banyak lagi ¹³.

Portulacaria afra merupakan bagian dari famili Didiereaceae. Dua ligan uji (Stigmastan-3,5-diene dan Phthalimide, N-Acetyl) dengan ligan kontrol positif androstenol menunjukkan hasil *docking score* yang lebih rendah dibandingkan dengan ligan kontrol positifnya, namun ligan uji stigmastan-3,5-diene menunjukkan *docking score* terbaik dibandingkan Phthalimide, N-Acetyl yaitu -7.30 kcal/mol dan terikat pada asam amino Val89, Ala111, Ile112, Ile92, Leu93 ¹⁴.

Dalam pengobatan tradisional *Blumea lanceolaria* digunakan untuk mengobati kanker dan penyakit terkait inflamasi, seperti demam, batuk, asma, maag kronis, luka, dan disentri. Tumbuhan ini merupakan bagian dari famili Asteraceae. Terdapat dua belas senyawa hasil isolasi yang diuji aktivitas anti-inflamasinya dengan *molecular docking* pada reseptor COX-2, dari ke-dua belas senyawa tersebut didapatkan β -Caryophyllene sebagai senyawa *docking score* terbaik yaitu -8.10 kcal/mol dibandingkan dengan ligan uji lainnya, meskipun semua ligan uji menunjukkan hasil *docking score* lebih rendah dibandingkan dengan ligan kontrol positifnya yaitu celecoxib dengan *docking score* sebesar -11.00 kcal/mol ⁵.

Secara tradisional *Borreria verticillata* L. digunakan untuk berbagai tujuan terapeutik termasuk pengobatan nyeri dan kondisi inflamasi. Empat hasil isolasi dijadikan sebagai ligan uji (ursolic acid, ellagic acid, gallic acid, dan caffeic acid) dengan satu ligan kontrol positif (indometacin). Ligan uji ursolic acid menunjukkan hasil *docking score* terbaik sebesar -9.86 kcal/mol dibandingkan ligan kontrol positif (-8.30 kcal/mol) dan terikat pada asam amino Lys83, Tyr122, Ser471 ¹⁵. Lima senyawa diisolasi dari fraksi metilen klorida bioaktif *Eucalyptus maculata*, namun hanya empat senyawa yang dilanjutkan sampai *molecular docking*. Didapatkan ligan uji 1,6-dicinnamoyl-O- α -D-glucopyranoside sebagai ligan uji dengan *docking score* terbaik yaitu -14.85 kcal/mol dibandingkan dengan ligan uji lainnya,

dan dibandingkan dengan ligan kontrol positifnya (-14.08) dan terikat pada asam amino Arg513, His90, dan Tyr355¹⁶.

Senyawa vulgarin yang didapatkan merupakan hasil isolasi dari *Artemisia abyssinica* dan *Artemisia judaica*, senyawa turunannya diproduksi melalui mekanisme aromatisasi yang dikatalis oleh iodium (I₂). Senyawa vulgarin dan dua turunan senyawa vulgarin dijadikan sebagai ligan uji dengan ligan kontrol positif naproxen sebesar -7.04, hasil *molecular docking* menunjukkan hasil *docking score* yang baik, berkisar antara -7.04 hingga -7.73 kcal/mol dibandingkan ligan kontrol positif. *Docking score* terbaik terdapat pada ligan uji vulgarin yaitu -7.73 kcal/mmol yang terikat hanya pada asam amino Ala527¹⁷.

Zingiber roseum merupakan bagian dari famili zingiberaceae. Dalam pengobatan tradisional penyakit seperti asma, luka, reumatik, demam, batuk, masalah kulit, gangguan pencernaan dan infeksi liver semuanya diobati dengan rimpang secara tradisional. Tujuh ligan terpilih untuk *molecular docking* dan dievaluasi potensinya dalam inhibisi COX-2, celecoxib dipilih sebagai ligan kontrol positif. Semua ligan uji mendapatkan hasil *docking score* yang lebih rendah dibandingkan dengan ligan kontrol positifnya, namun ligan uji myricetin memiliki *docking score* terbaik dari semua ligan uji yaitu sebesar -7.70 kcal/mmol¹⁸. Berdasarkan perhitungan selisih *docking score* antara ligan uji dan ligan kontrol positif diperoleh catechin sebagai ligan uji yang memiliki potensi lebih besar yaitu +4.40 dari potensi ligan kontrol positif yaitu indomethacin. Catechin dikategorikan sebagai metabolit sekunder golongan flavonoid yang merupakan bagian dari polifenol¹⁹.

SIMPULAN DAN SARAN

Catechin adalah senyawa flavonoid yang paling berpotensi dalam aktivitas inhibisi COX-2 secara in silico. Dari 10 tumbuhan yang dikaji, 6 diantaranya (*Cleome arabica* L., *Morus alba*, *Ficus populifolia*, *Portulacaria afra*, *Borreria verticillata*, dan *Zingiber roseum*) mengandung flavonoid dan berpotensi sebagai kandidat anti-inflamasi. Uji pada model hewan atau uji klinis diperlukan untuk memvalidasi efek ekstrak flavonoid serta mengevaluasi efek samping dan toksisitasnya. Kesimpulan dari hasil kajian penelusuran struktur senyawa metabolit sekunder tumbuhan menunjukkan bahwa dari 45 senyawa yang diujikan, seluruhnya memiliki kemampuan untuk berinteraksi dengan enzim COX-2, yang berperan penting dalam proses inflamasi dan nyeri. Di antara senyawa-senyawa tersebut, catechin, yang termasuk dalam golongan flavonoid, terbukti sebagai senyawa dengan potensi terbaik berdasarkan analisis in silico. Penelitian lebih lanjut harus memahami mekanisme aksi metabolit sekunder dari tumbuhan dan efeknya pada berbagai kondisi inflamasi. Pengembangan produk farmasi berbasis flavonoid dari tumbuhan dapat menjadi alternatif dalam manajemen penyakit inflamasi.

DAFTAR PUSTAKA

1. Singh N, Baby D, Rajguru JP, Patil PB, Thakkannavar SS, Pujari VB. Inflammation and cancer. *Ann Afr Med*. 2019;18(3):121–6.
2. Yang H, Zeng Q, Silverman HA, Gunasekaran M, George SJ, Devarajan A, et al. HMGB1 released from nociceptors mediates inflammation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2021 Aug 17;118(33).
3. Ju Z, Li M, Xu J, Howell DC, Li Z, Chen FE. Recent development on COX-2 inhibitors as promising anti-inflammatory agents: The past 10 years. *Acta Pharm Sin B*. 2022 Jun;12(6):2790–807.
4. Fathul Qorib M, Khairul Rizki Purba A. Dinamika Ekspresi Cox1 dan Cox2 Sebagai Landasan Tatalaksana Nyeri dan Inflamasi. *Jurnal Kedokteran Unram*. 2022;2022(4):1233–9.
5. Do TTH, Nguyen TU, Nguyen TTH, Ho TY, Pham TLH, Le TS, et al. Essential Oils from the Leaves, Stem, and Roots of *Blumea lanceolaria* (Roxb.) Druce in Vietnam: Determination of Chemical Composition, and In Vitro, In Vivo, and In Silico Studies on Anti-Inflammatory Activity. *Molecules*. 2022 Nov 1;27(22).
6. Cuzzolin A, Sturlese M, Malvacio I, Ciancetta A, Moro S. DockBench: An Integrated Informatic Platform Bridging the Gap between the Robust Validation of Docking Protocols and Virtual Screening Simulations. *Molecules*. 2015 May 29;20(6):9977–93.
7. Allo VL, Rahmah S, Gunawan R. STUDI MOLECULAR DOCKING SENYAWA TURUNAN AURON SEBAGAI INHIBITOR GLIKOPROTEIN SPIKE SARS-COV-2. *Akta Kimia Indonesia*. 2023 Dec 28;8(2):126.
8. Gabriell Makisake R, Montolalu RI, Mewengkang HW, Sanger G, Harikedua SD, Makapedua DM, et al. Media Teknologi Hasil Perikanan Agustus 2022, 10(2): 122-126 Media Teknologi Hasil Perikanan Terakreditasi Nasional (Sinta 4)(2): 122-126 SK Ditjen Risbang Kemristekdikti STUDI IN SILICO SENYAWA AKTIF DAUN TAGALOLO (*Ficus septica* Burm F) SEBAGAI LIGAN UJI PADA ENZIM L-HISTIDIN DECARBOXILASE. 2022; Available from: <https://doi.org/10.35800/mthp.10.2.2022.40390>
9. Setiawan H, Irawan Mohammad Isa. Kajian Pendekatan Penempatan Ligan pada Protein Menggunakan Algoritma Genetika. *JURNAL SAINS DAN SENI ITS*. 2017;6(2):2337–3520.
10. Allagui I, Horchani M, Zammel N, Jalouli M, Elfeki A, Kallel C, et al. Phytochemical Characterization, Antioxidant and Anti-Inflammatory Effects of *Cleome arabica* L. Fruits Extract against Formalin Induced Chronic Inflammation in Female Wistar Rat: Biochemical, Histological, and In Silico Studies. *Molecules*. 2023 Jan 1;28(1).

11. Baek SH, Hwang S, Park T, Kwon YJ, Cho M, Park D. Evaluation of Selective COX-2 Inhibition and In Silico Study of Kuwanon Derivatives Isolated from *Morus alba*. *Int J Mol Sci*. 2021 Apr 1;22(7):3659.
12. Uddin Z, Paul A, Rakib A, Sami SA, Mahmud S, Rana S, et al. Chemical profiles and pharmacological properties with in silico studies on *elastostema papillosum* wedd. *Molecules*. 2021 Feb 2;26(4).
13. Mohammed HA, Abouzied AS, Mohammed SAA, Khan RA. In Vivo and In Silico Analgesic Activity of *Ficus populifolia* Extract Containing 2-O- β -D-(3',4',6'-Tri-acetyl)-glucopyranosyl-3-methyl Pentanoic Acid. *Int J Mol Sci*. 2023 Feb 1;24(3).
14. Tabassum S, Ahmad S, Khan KUR, Tabassum F, Khursheed A, Zaman QU, et al. Phytochemical Profiling, Antioxidant, Anti-Inflammatory, Thrombolytic, Hemolytic Activity In Vitro and In Silico Potential of *Portulacaria afra*. *Molecules*. 2022 Apr 1;27(8).
15. Silva RHM, Lima N de FM, Lopes AJO, Vasconcelos CC, de Mesquita JWC, de Mesquita LSS, et al. Antinociceptive activity of *Borreria verticillata*: In vivo and in silico studies. *Front Pharmacol*. 2017 May 22;8(MAY).
16. Ali DE, Gedaily RAE, Ezzat SM, Sawy MAE, Meselhy MR, Abdel-Sattar E. In silico and in vitro anti-inflammatory study of phenolic compounds isolated from *Eucalyptus maculata* resin. *Sci Rep*. 2023 Dec 1;13(1).
17. Sary HG, Khedr MA, Orabi KY. Novel Vulgarin Derivatives: Chemical Transformation, In Silico and In Vitro Studies. *Molecules*. 2023 Apr 1;28(8).
18. Naiemur Rahman M, Shahin Ahmed K, Ahmed S, Hossain H, Shahid Ud Daula AFM. Integrating in vivo and in silico approaches to investigate the potential of *Zingiber roseum* rhizome extract against pyrexia, inflammation and pain. *Saudi J Biol Sci*. 2023 Apr 1;30(4).
19. Meyer BR, White HM, McCormack JD, Niemeyer ED. Catechin Composition, Phenolic Content, and Antioxidant Properties of Commercially-Available Bagged, Gunpowder, and Matcha Green Teas. *Plant Foods Hum Nutr*. 2023 Dec;78(4):662–9.