

Potensi Senyawa *Tetraselmis chuii* sebagai Analgesik dan Antiinflamasi: Studi *In silico*

Ratih*, Yoni Rina Bintari**, Dini Sri Damayanti**

*Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

**Staf Pengajar Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

e-mail: ratih.Ir@gmail.com

ABSTRAK

Pendahuluan: *Tetraselmis chuii* berpotensi sebagai analgesik dan antiinflamasi namun mekanisme kerjanya masih belum diketahui secara pasti. Oleh sebab itu, perlu dilakukan penelitian mengenai mekanisme penghambatan senyawa aktif *Tetraselmis chuii* terhadap protein target COX-2, COX-1, fosfolipase A, dan TNF- α sebagai mediator inflamasi melalui studi *in silico*.

Metode: Penambatan senyawa aktif *Linoleic acid*, *Linolenic acid*, *Oleic acid*, *Palmitic acid*, *palmitoleic acid*, *stearic acid*, dan *tetradecanoic acid* terhadap protein target COX-2, COX-1, fosfolipase A, dan TNF- α di evaluasi secara *in silico* menggunakan *docking server* dengan dexametason dan indometasin sebagai kontrol.

Hasil: Semua senyawa memiliki energi bebas yang lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol terhadap semua protein target. *Palmitic acid* (217,09 μM) dan *tetradecanoic acid* (451,25 μM) memiliki nilai konstanta inhibisi yang lebih tinggi dibandingkan kontrol (5,73 μM) terhadap COX-2. *Linolenic acid* (900,93 μM) memiliki nilai konstanta inhibisi yang lebih tinggi dibandingkan kontrol terhadap COX-1 (5,41 μM). *Palmitic acid*, *palmitoleic acid*, *Oleic acid*, *stearic acid*, dan *Linolenic acid* memiliki nilai konstanta inhibisi yang lebih rendah dibandingkan kontrol (619,58 μM) terhadap fosfolipase A. *Oleic acid* (809,156 \AA) dan *stearic acid* (801,497 \AA) memiliki nilai interaksi permukaan yang lebih tinggi dibandingkan kontrol (787,911 \AA) terhadap COX-2. *Oleic acid* (662,525 \AA), *stearic acid* (630,724 \AA), dan *Linolenic acid* (596,174 \AA) memiliki interaksi permukaan yang lebih tinggi dibandingkan kontrol (542,202 \AA) terhadap COX-1. *Linolenic acid* (573,363 \AA), *stearic acid* (566,915 \AA), *palmitoleic acid* (555,712 \AA), *Oleic acid* (555,603 \AA), *Palmitic acid* (539,676 \AA), dan *tetradecanoic acid* (516,389 \AA) memiliki nilai interaksi permukaan yang lebih tinggi dibandingkan kontrol (505,473 \AA) terhadap TNF- α .

Kesimpulan: Senyawa *Tetraselmis chuii* tidak berpotensi sebagai analgesis dan antiinflamasi

Kata Kunci: analgesik, antiinflamasi, *in silico* *Tetraselmis chuii*

Analgesic and Antiinflammation Potential of *Tetraselmis chuii* Active Compound: In Silico Study

Ratih*, Yoni Rina Bintari**, Dini Sri Damayanti**

*Student of Faculty of Medicine, Islamic Malang University

**Lecture of Faculty of Medicine, Islamic Malang University

e-mail: ratih.Ir@gmail.com

ABSTRACT

Introduction: *Tetraselmis chuii* has potential as an analgesic and anti-inflammatory, however, the exact mechanism of action is not known. Therefore, it is necessary to research the inhibition activity of active compounds to target proteins COX-2, COX-1, phospholipase A, and TNF- α as inflammatory mediators through *in silico* studies.

Methods: The molecular docking of active compounds *linoleic acid*, *Linolenic acid*, *Oleic acid*, *Palmitic acid*, *palmitoleic acid*, *stearic acid*, and *tetradecanoic acid* to target proteins COX-2, COX-1, phospholipase A, and TNF- α were evaluated *in silico* using a docking server with dexamethasone and indomethacin as control drugs.

Results: All compounds had higher free energy than control against all protein targets. *Palmitic acid* (217.09 μM) and *tetradecanoic acid* (451.25 μM) had higher inhibition constant values compared to controls (5.73 μM) against COX-2. *Linoleic acid* (1,4 μM) had a higher inhibition constant value compared to the control drug of COX-1 (5,41 μM). *Palmitic acid*, *palmitoleic acid*, *Oleic acid*, *stearic acid*, and *Linolenic acid* had lower inhibition constant values than control (619.58 μM) against phospholipase A. *Oleic acid* (809,156 \AA) and *stearic acid* (801,497 \AA) had higher surface values compared control drug (787,911 \AA) to COX-2. *Oleic acid* (662,525 \AA), *stearic acid* (630,724 \AA), and *Linolenic acid* (596,174) had higher surface interactions than controls (542,202 \AA) on COX-1. *Linolenic acid* (573,363), *stearic acid* (566,915 \AA), *palmitoleic acid* (555,712 \AA), *Oleic acid* (555,603 \AA), *Palmitic acid* (539,676 \AA), and *tetradecanoic acid* (516,389 \AA) had a higher interaction value than the control drug (505,473 \AA) against TNF - α .

Conclusion: *Tetraselmis chuii* active compound didn't potential to be analgesic and anti-inflammatory.

Keywords: analgesic, anti-inflammatory, *in silico* *Tetraselmis chuii*

PENDAHULUAN

Mikroalga atau sering disebut fitoplankton adalah salah satu organisme yang dapat memproduksi metabolit sekunder untuk dibuat obat.¹ Di Indonesia, penggunaan obat herbal sebagai upaya kesehatan relatif meningkat. Penggunaan herbal diketahui dapat meminimalisir efek samping dari pengobatan.² Selain itu, herbal juga diketahui memiliki lebih dari satu efek farmakologi karena memiliki berbagai zat aktif.²

Tetraselmis chuii merupakan mikroalga dari golongan alga hijau kelas *Chlorophyceae*. Mikroalga ini mempunyai prospek sebagai salah satu alternatif penghasil senyawa bioaktif potensial dalam bidang pengobatan.³ *Tetraselmis chuii* diketahui memiliki efek antioksidan yang dapat berikatan dengan reseptor superoksida dismutase (SOD) sehingga dapat menetralkan oksigen singlet.⁴ Berdasarkan penelitian sebelumnya, ekstraksi soxhletasi dengan pelarut n-heksana mikroalga ini mengandung senyawa *linOleic acid*, *Linolenic acid*, *Oleic acid*, *Palmitic acid*, *palmitOleic acid*, *stearic acid*, dan *tetradecanoic acid*.³ Beberapa mikroalga juga diketahui memiliki efek anti inflamasi dan analgetik melalui penghambatan produksi sitokin pro-inflamasi (IL-6 dan TNF- α) dan eikosanoid pro-inflamasi (Prostaglandin E2).⁵ Mekanisme obat selama ini sebagai analgetik dan antiinflamasi adalah dengan menghambat cyclooxygenase (COX) -1, COX-2, dan phospholipase A. Selain itu, inhibisi pada *tumor necrosis factor* (TNF) - α juga dapat mengurangi proses inflamasi inflamasi.⁵

Mekanisme kerja senyawa herbal dapat dianalisa dari studi *in silico* menggunakan metode *molecular docking*. Metode ini digunakan untuk mengetahui afinitas dari ikatan antara ligan dan protein target.⁶ Penelitian secara *in silico* ekstrak heksana *Tetraselmis chuii* sebagai antiinflamasi dan analgetik belum pernah diteliti. Oleh sebab itu, peneliti ingin meneliti tentang studi *in silico* senyawa ekstrak heksana *Tetraselmis chuii* terhadap protein COX-1, COX-2, phospholipase A, dan TNF- α perlu dilakukan. Penelitian ini diharapkan dapat membuktikan potensi antiinflamsi dan analgetik senyawa ekstrak heksana *Tetraselmis chuii*.

METODE PENELITIAN

Desain Penelitian

Desain penelitian ini menggunakan metode *in silico* dengan melakukan penambatan senyawa ekstrak heksana *Tetraselmis chuii* terhadap protein target yaitu COX-1, COX-2, Phospholipase A, dan TNF- α .

Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Terpadu Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang dengan estimasi waktu Maret-Mei 2020.

Alat dan Bahan

Struktur 3 dimensi (3D) ekstrak heksana *Tetraselmis chuii* diunduh dari website Pubchem (www.pubchem.ncbi.nlm.nih.gov). Adapun senyawanya terdiri dari *LinOleic acid* (CID:

5280450), *Linolenic acid* (CID: 5280934), *Oleic acid* (CID: 445639), *Palmitic acid* (CID: 985), *PalmitOleic acid* (CID: 445638), *Stearic acid* (CID: 5281), dan *Tetradecanoic acid* (CID: 11005). Struktur 3D indometasin (CID: 3715) dan dexamethasone (CID: 5743) diunduh dari website Pubchem. Struktur molekul COX-1 (PDB: 6Y3C) protein dari spesies *Homo sapiens*. Struktur molekul COX-2 (PDB: 5F19) protein dari spesies *Homo sapiens*. Struktur molekul Phospholipase A (PDB: 1KVO) dari protein dari spesies *Homo sapiens*. Struktur molekul TNF- α (PDB: 4Y6O) protein dari spesies *Homo sapiens*. Perangkat keras: Komputer dengan spesifikasi RAM 4.00 GB, Intel® Core™ i5-8250U CPU @ 1.80 GHz, sistem operasi Microsoft Windows 10 Pro 64-bit yang terkoneksi dengan internet. Software Open Babel versi 2.4.1 dan website docking server (<http://www.dockingserver.com>).

Uji *in silico* ekstrak *Tetraselmis chuii* sebagai Analgesik dan Antiinflamasi

Senyawa ligan dapat diunduh di Pubchem kemudian dilakukan uji *molecular docking* menggunakan *docking server*. *Docking server* dapat diakses di www.dockingserver.com

Teknik Analisa Data

Hasil uji *In silico* yaitu energi bebas (ΔG), konstanta inhibisi (K_i) dan interaksi permukaan. Ketiga parameter tersebut kemudian dibandingkan dengan standar pembanding.

HASIL PENELITIAN

Hasil dan Analisa Data Uji *Molecular Docking* Senyawa *Tetraselmis chuii*

Hasil uji *molecular docking* dari senyawa *Tetraselmis chuii* dapat terdapat pada **tabel 1**. Energi bebas yang dihasilkan dari interaksi senyawa tersebut terhadap protein target COX-2 dari terkecil hingga terbesar adalah *Linolenic acid*, *linOleic acid*, *palmitOleic acid*, *Palmitic acid*, *Oleic acid*, *stearic acid*, dan *tetradecanoic acid*. Semua senyawa aktif memiliki energi bebas yang lebih tinggi dibandingkan kontrol. Senyawa dengan nilai konstanta inhibisi terhadap COX-2 dari tertinggi hingga terendah adalah *tetradecanoic acid*, *stearic acid*, *Oleic acid*, *palmitic acid*, *tetradecanoic acid*, *linOleic acid*, dan *Linolenic acid*. Semua senyawa tersebut memiliki nilai konstanta inhibisi yang lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol. Senyawa dengan interaksi permukaan dari yang tertinggi hingga terendah adalah *Oleic acid*, *stearic acid*, *Linolenic acid*, *palmitOleic acid*, *tetradecanoic acid*, dan *palmitOleic acid*. Senyawa *Oleic acid* dan *stearic acid* memiliki nilai konstanta inhibisi yang lebih tinggi dibandingkan kontrol.

Uji *molecular docking* pada penelitian ini juga dilakukan terhadap protein target COX-1. Berdasarkan tabel 1 menunjukkan bahwa semua senyawa memiliki energi bebas yang lebih besar dibandingkan kontrol.

Tabel 1. Hasil Molecular Docking Senyawa *Tetraselmis chuii*

Ligan	Target	Energi Bebas (kcal/mol)	Konstanta Inhibisi (μM)	Interaksi Permukaan (A°)
Dexamethasone	COX-2	-6.86	9.35	693.278
Indometasin		-7.15	5.73	787.911
<i>Linoleic acid</i>		-5.12	177.41	759.155
<i>Linolenic acid</i>		-5.38	114.62	763.052
Oleic Acid		-4.83	289.78	809.156
<i>Palmitic acid</i>		-5.00	217.09	623.658
<i>Palmitoleic acid</i>		-5.11	180.35	693.376
<i>Stearic acid</i>		-4.61	419.69	801.497
<i>Tetradecanoic acid</i>		-4.56	451.25	654.274
Dexamethasone		COX-1	-7.19	5.41
Indometasin	-5.85		51.26	594.190
<i>Linoleic acid</i>	-3.9		1.4	619.527
<i>Linolenic acid</i>	-4.15		900.93	596.174
Oleic Acid	-3.89		1.42	662.525
<i>Palmitic acid</i>	-3.96		1.25	585.355
<i>Palmitoleic acid</i>	-3.87		1.46	586.971
<i>Stearic acid</i>	-3.73		1.86	630.724
<i>Tetradecanoic acid</i>	-3.62		2.23	567.394
Dexamethasone	Phospolipase A		-8.47	619.58
Indometasin		-8.04	1.28	745.232
<i>Linoleic acid</i>		-7.17	5.51	756.447
<i>Linolenic acid</i>		-7.23	5.02	719.164
Oleic Acid		-6.57	15.24	740.056
<i>Palmitic acid</i>		-6.24	26.62	650.863
<i>Palmitoleic acid</i>		-6.29	24.48	633.746
<i>Stearic acid</i>		-6.67	12.93	723.996
<i>Tetradecanoic acid</i>		-5.83	53.28	599.686
Dexamethasone		TNF- α	-4.89	262.16
Indometasin	-4.48		515.77	494.924
<i>Linoleic acid</i>	-2.94		7.02	446.474
<i>Linolenic acid</i>	-3.26		4.07	573.363
Oleic Acid	-3.03		6.01	555.603
<i>Palmitic acid</i>	-2.96		6.81	539.676
<i>Palmitoleic acid</i>	-3.11		5.28	555.712
<i>Stearic acid</i>	-2.59		12.65	566.915
<i>Tetradecanoic acid</i>	-2.98		6.54	516.389

Adapun urutan energi bebas dari yang terkecil hingga terbesar adalah *Linolenic acid*, *Palmitic acid*, *linOleic acid*, *palmitOleic acid*, *Oleic acid*, *stearic acid*, dan *tetradecanoic acid*. Senyawa *Tetraselmis chuii* dengan nilai konstanta inhibisi terhadap COX-1 dari tertinggi hingga terendah adalah *Linolenic acid*, *tetradecanoic acid*, *stearic acid*, *palmitOleic acid*, *Oleic acid*, *linOleic acid*, dan *palmitOleic acid*. Hanya senyawa *Linolenic acid* yang memiliki konstanta inhibisi lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol. Nilai interaksi permukaan terhadap COX-1 dari yang tertinggi hingga terendah adalah *Oleic acid*, *stearic acid*, *linOleic acid*, *Linolenic acid*, *palmitOleic acid*, *Palmitic acid*, *tetradecanoic acid*. Nilai interaksi permukaan yang lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol adalah *Oleic acid*, *stearic acid*, dan *linOleic acid*.

Hasil uji *molecular docking* pada protein target fosfolipase A menunjukkan bahwa tidak terdapat ligan yang memiliki energi bebas yang lebih kecil serta konstanta inhibisi dan interaksi permukaan yang lebih besar dibandingkan kontrol. Energi bebas senyawa *Tetraselmis chuii* dari yang terkecil hingga terbesar adalah *linOleic acid*, *Linolenic acid*, *stearic acid*, *Oleic acid*, *palmitOleic acid*, *Palmitic acid*, dan *tetradecanoic acid*. Konstanta inhibisi senyawa alga ini dari yang terbesar adalah *tetradecanoic acid*, *Palmitic acid*, *palmitOleic acid*, *Oleic acid*, *stearic acid*, *linOleic acid*, dan *Linolenic acid*. Interaksi permukaan beberapa senyawa tersebut dari yang terbesar hingga terkecil adalah *Linolenic acid*, *linOleic acid*, *Oleic acid*, *stearic acid*, *Palmitic acid*, *palmitOleic acid*, dan *tetradecanoic acid*.

Selain ketiga target diatas, penelitian ini juga meneliti target protein TNF- α . Nilai energi bebas dari senyawa tersebut dari tertinggi hingga terendah adalah *Linolenic acid*, *PalmitOleic acid*, *Oleic acid*, *stearic acid*, *tetradecanoic acid*, *Palmitic acid*, dan *linOleic acid*. Semua senyawa tersebut tidak memiliki energi bebas yang lebih rendah dibandingkan dengan kontrol. Nilai konstanta inhibisi senyawa alga dari yang terbesar hingga terkecil adalah *stearic acid*, *linoleic*, *Palmitic acid*, *tetradecanoic acid*, *Oleic acid*, *palmitOleic acid*, dan *Linolenic acid*. Semua senyawa tidak ada yang memiliki nilai konstanta inhibisi lebih tinggi dibandingkan kontrol. Berdasarkan ilai interaksi permukaannya senyawa yang memiliki nilai lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol adalah *Linolenic acid*, *stearic acid*, *palmitOleic acid*, *Oleic acid*, *Palmitic acid*, *tetradecanoic acid*.

PEMBAHASAN

Uji *Molecular Docking* Senyawa *Tetraselmis chuii*

Molecular docking adalah metode *in silico* untuk memprediksi afinitas antara ligan dan protein target. Afinitas adalah kemampuan ligan berikatan dengan protein target. Afinitas ikatan ligan-protein target beberapa faktor antara lain energi ikatan bebas, interaksi permukaan, dan interaksi antarmolekul.⁷

Pada penelitian ini jenis uji *molecular docking* yang digunakan adalah *docking* dengan kontrol sehingga lebih akurat dibandingkan dengan *blind docking*.⁸

Berdasarkan tabel 1, uji *molecular docking* terhadap protein target COX-2, COX-1, fosfolipase A, dan TNF- α menunjukkan bahwa tidak ada senyawa aktif yang memiliki energi bebas lebih tinggi dibandingkan kontrol. Energi ikatan bebas adalah energi yang digunakan untuk melakukan kerja. Energi ikatan bebas memprediksikan stabilitas dan spontanitas ikatan ligan dan protein target. Semakin rendah energi bebas dari ikatan ligan dan protein target maka reaksi akan berlangsung semakin spontan. Rendahnya nilai energi ikatan bebas mampu menstimulasi ikatan ligan dan protein target sehingga menimbulkan potensi aktifitas biologis.^{9,10}

Afinitas ikatan antara ligan dan protein target juga dipengaruhi oleh interaksi permukaan. Interaksi permukaan adalah pengenalan ligan dan protein target. Interaksi permukaan dipengaruhi oleh ukuran molekul ligan. Pada penelitian ini menggunakan empat jenis protein target yaitu COX-2, COX-1, Fosfolipase A, dan TNF- α . Pada penelitian ini nilai interaksi permukaan yang lebih tinggi dibandingkan kontrol pada COX-1 adalah *Oleic acid* dan *stearic acid* sedangkan pada COX-2 adalah *Oleic acid*, *stearic acid*, dan *linOleic acid*. Interaksi permukaan yang lebih tinggi terhadap TNF-alpha dibandingkan dengan kontrol adalah *Linolenic acid*, *stearic acid*, *palmitOleic acid*, *Oleic acid*, *Palmitic acid*, dan *tetradecanoic acid* (tabel 1). Nilai interaksi permukaan yang tinggi memberikan peluang yang tinggi senyawa aktif untuk berinteraksi dengan protein target. Dengan adanya peluang yang tinggi dapat menggambarkan ikatan yang kuat sehingga aktifitas biologisnya kuat.¹¹

Konstanta inhibisi mempengaruhi kekuatan afinitas interaksi ligan dan protein. Semakin tinggi konstanta inhibisi maka semakin rendah afinitasnya.⁷ Pada protein target COX-2, konstanta inhibisi yang lebih rendah dibandingkan dengan kontrol adalah *Palmitic acid*, dan *tetradecanoic acid*. Pada protein target COX-1 dan TNF- α , tidak ada senyawa yang memiliki konstanta inhibisi yang lebih rendah dibandingkan dengan kontrol. Pada protein target fosfolipase A, konstanta inhibisi yang lebih rendah dibandingkan kontrol adalah *Linolenic acid*, *Oleic acid*, *Palmitic acid*, *palmitOleic acid*, *stearic acid*, dan *tetradecanoic acid* (tabel 1). Konstanta inhibisi yang rendah menandakan bahwa senyawa tersebut lebih mudah berikatan sehingga berpotensi sebagai kandidat obat baru.

Penelitian ini menggunakan dexamethason dan indometasin yang merupakan obat analgetik dan antiinflamasi yang sering digunakan.¹² Dexamethason adalah golongan steroid yang bekerja dengan menghambat enzim fosfolipase A sehingga tidak terbentuk asam arakidonat. Asam arakidonat ini adalah senyawa yang dapat dipecah menjadi beberapa mediator inflamasi melalui bantuan enzim COX.¹⁷

Indometasin adalah obat golongan non-steroid yang bekerja dengan menghambat enzim COX-1 dan COX-2 sehingga tidak terbentuk prostaglandin, prostasiklin, dan tromboksan.¹³

KESIMPULAN

Berdasarkan temuan diatas dapat disimpulkan bahwa

1. Senyawa *Tetraselmis chuii* tidak berpotensi sebagai antinflamsi dan analgetik melalui penghambatan COX-2.
2. Senyawa *Tetraselmis chuii* tidak berpotensi sebagai antinflamsi dan analgetik melalui penghambatan COX-1.
3. Senyawa *Tetraselmis chuii* tidak berpotensi sebagai antinflamsi dan analgetik melalui penghambatan phospolipase A.
4. Senyawa *Tetraselmis chuii* tidak berpotensi sebagai antinflamsi dan analgetik melalui penghambatan TNF- α .

Perlu penelitian lebih lanjut seperti *in vitro* dan *in vivo* untuk mengonfirmasi bahwa ekstrak *Tetraselmis chuii* mampu sebagai antiinflamasi dan analgetik melalui penghambatan COX-2, COX-1, phospolipase A, dan TNF- α .

UCAPAN TERIMAKASIH

Peneliti mengucapkan terimakasih kepada ikatan orangtua mahasiswa (IOM) yang telah mendanai penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Widowati, I. 2016. Antioxidant activity of three microalgae *Dunaliella salina*, *Tetraselmis chuii* and *Isochrysis galbana* clone Tahiti. *Journal of Physics: Conference Series*, 755(1):1-18.
2. Katno. 2008. Tingkat Manfaat Kegunaan dan Efektivitas Tanaman Obat dan Obat Tradisional. Karanganyar: B2P2TO- OT Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Depkes RI.
3. Agustini. 2017. Identifikasi Senyawa Aktif dan Toksisitas Hayati Ekstrak N-Heksana, Etil Asetat dan Etanol Mikroalga *Tetraselmis chuii* Secara Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) *Warta IHP*, 34(1),8-17.
4. Bintari, Y, R. 2018. Studi In Silico Potensi Ekstrak Lipida *Tetraselmis chuii*. *Jurnal Ketahanan Pangan*, 2(1): 76–81
5. Robertson, R. C. 2015. The anti-inflammatory effect of algae-derived lipid extracts on lipopolysaccharide (LPS)-stimulated human THP-1 macrophages. *Marine Drugs*, 13(8): 5402–5424.
6. Manna, A. 2017. Molecular Docking of Interaction between E-Cadherin Protein and Conformational Structure of Cyclic Peptide ADTC3. *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 20(1) : 30–36.
7. Davarcioglu B. The General Characteristic of Weak Intermolecular Interactions in Liquids and Crystals. *Int J Mod Eng Res*. 2011;1(2):443–54.
8. Hassan NM, Alhossary AA, Mu Y, Kwok C. Protein-Ligand Blind Docking Using QuickVina-W With Inter-Process Spatio-Temporal Integration. *Sci Repport*. 2017;1(15451):1–13.
9. Zarghi A, Arfaei S. Selective COX-2 Inhibitors: A Review of Their Structure-Activity Relationships. *Iran J Pharm Res*. 2011 Fall;10(4):655-83. PMID: 24250402; PMCID: PMC3813081
10. Malmstrom RD, Watowich SJ. Using Free Energy of Binding Calculations to Improve the Accuracy of Virtual Screening Predictions. *J Chem Inf Model*. 2012;51(7):1648–55.
11. Damayanti DS, Utomo DH, Kusuma C. Revealing the potency of *Annona muricata* leaves extract as FOXO1 inhibitor for diabetes mellitus treatment through computational study. *In Silico Pharmacol*. 2017;5(3):1-7
12. Latour RA. Perspectives on the simulation of protein–surface interactions using empirical force field methods. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2014;1(0):25–37.
13. Becker DE. Basic and clinical pharmacology of glucocorticosteroids. *Anesth Prog*. 2013 Spring;60(1):25-31; quiz 32. doi: 10.2344/0003-3006-60.1.25. PMID: 23506281; PMCID: PMC3601727.