

# **MOLECULAR DOCKING SENYAWA FITOKIMIA *Piper longum* (L.) TERHADAP RESEPTOR SIKLOOKSIGENASE-2 (COX-2) SEBAGAI ANTIINFLAMASI**

Dwi Koko Pratoko<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Bagian Kimia Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Jember*

## **ABSTRAK**

**Pratoko**, 2012. *Molecular docking* senyawa fitokimia *Piper longum* (L.) terhadap reseptor siklooksigenase-2 (COX-2) sebagai antiinflamasi

*Piper longum* (L.) memiliki aktivitas antiinflamasi dengan mekanisme penghambatan enzim siklooksigenase-2 (COX-2). Penelitian ini melakukan penambatan (*docking*) molekul senyawa fitokimia yang terkandung dalam *Piper longum* (L.) terhadap reseptor siklooksigenase-2 (COX-2) untuk menguji energi *docking* yang seringkali dihubungkan dengan afinitas ikatan antara ligan dengan reseptor. Dari penelitian ini, didapatkan 2 senyawa yang memiliki energi paling rendah diantara senyawa fitokimia yang lain, seperti pipericide dan sylvetin. Kelima senyawa ini memiliki afinitas ikatan antara ligan dan reseptor yang kuat dan stabil. Berdasarkan energi dan interaksi yang terjadi antara senyawa dan reseptor dapat disimpulkan bahwa senyawa-senyawa ini diprediksi memberikan pengaruh yang signifikan terhadap aktivitas.

**Kata kunci** : *docking*, *Piper longum* (L.), reseptor siklooksigenase-2, COX-2, antiinflamasi

## **ABSTRACT**

**Pratoko**, 2012. *Molecular docking* of phytochemical compound from *Piper longum* (L.) on siklooksigenase-2 (COX-2) receptor as anti inflammation

*Piper longum* (L.) has anti-inflammatory activity with a mechanism of inhibition of the enzyme cyclooxygenase-2 (COX-2). This study did docking phytochemical compounds that contained in *Piper longum* (L.) to the receptor of cyclooxygenase-2 (COX-2). These docking studies to determine the docking energy associated with the binding affinity between the ligand and receptor. From this study, obtained 2 compounds that have the lowest energy among other phytochemical compounds, such as pipericide and sylvetin. These compounds have a binding affinity between ligand and receptor are strong and stable. Based on the energy and the interactions between compounds and receptors can be concluded that these compounds are predicted have a significant influence on the activity.

**Keywords** : *docking*, *Piper longum* (L.), cyclooxygenase-2 receptor, COX-2, anti-inflammatory

## **PENDAHULUAN**

*Piper longum* (L.) atau yang lebih dikenal dengan *Indian long pepper* atau di Indonesia dikenal dengan cabe jawa termasuk dalam suku Piperaceae. *Piper longum* (L.) terdistribusi secara luas di dunia pada daerah tropis dan subtropis, meliputi India dan Asia Selatan, Asia Tenggara, daerah Timur Tengah dan Amerika. Tumbuhan ini populer sebagai tanaman obat pekarangan dan seringkali dibuat sebagai sediaan jamu. Bagian dari tumbuhan ini yang sering digunakan adalah akar, buah maupun batang (Zaveri dkk., 2010).

*Piper longum* (L.) memiliki banyak aktivitas farmakologi antara lain efek kardiovaskuler, antiamuba (*Entamoeba histolytica*), antimikroba (beberapa bakteri patogen seperti *S. Tiphy*, *E. Coli*, *P. Aeroginosa*), antijamur, antiulser, antidiabetes, analgesik, antiinflamasi, antioksidan,

imunomodulator, antikanker, efek terhadap saluran pernapasan, antiasma serta preventif terhadap hati (Mun'im & Hanani, 2011; Zaveri dkk., 2010). Aktivitas antiinflamasi ditunjukkan pada tikus yang diinduksi dengan karagenan yang diterapi dengan rebusan buah *Piper longum* (L.). Mekanisme antiinflamasinya sama seperti mekanisme aspirin yaitu melalui penghambatan kerja enzim siklooksigenase (COX) baik COX-1 maupun COX-2 (Kumar dkk, 2009; Mun'im & Hanani, 2011). Aspirin menghambat COX-2 dengan menghambat aktivitas enzim dari COX-2, *prostaglandin-endoperoxide synthase 2* (PTGS-2) sehingga menurunkan prostaglandin yang berfungsi sebagai antiinflamasi. Saat ini COX-2 sedang dikaji kaitannya sebagai antikanker (Sakoda dkk, 2006).

Ditinjau secara fitokimia, *Piper longum* (L.) mengandung banyak golongan senyawa kimia, antara lain alkaloida, lignan, terpena, steroid, dan beberapa senyawa golongan lain. Lebih dari 33 senyawa ditemukan pada spesies *Piper longum* (L.) (Parmar dkk, 1997; Zaveri dkk., 2010). Beberapa kandungan kimia yang diketahui antara lain *piperine*, *longamide*, *piperidine*, *sylvatin* dan lain sebagainya.

Biologi komputasi dan bioinformatika berpotensi tinggi dalam ilmu kimia medisinal, tidak hanya mempercepat proses penemuan obat tetapi juga mengubah cara penemuan dan perancangan obat. Salah satu contoh metode yang digunakan adalah penambatan molekul obat dengan reseptor yang disebut juga *molecular docking*. Penambatan (*Docking*) merupakan proses dimana dua molekul dicocokkan melalui penambatan dalam ruang 3D. Saat ini, pendekatan *docking* molekul telah banyak digunakan dalam rancangan obat modern untuk membantu memahami interaksi obat dan reseptor. Reseptor disini merupakan sisi aktif dari kerja obat yang berperan terhadap efek farmakologi. Telah banyak dilaporkan bahwa teknik komputasi dapat mendukung dan membantu desain senyawa untuk mendapatkan inhibitor yang lebih ampuh melalui mekanisme obat reseptor (Thomsen & Christensen, 2006).

Berdasarkan uraian di atas, maka dapat dilakukan pendekatan *docking* untuk dapat memperkirakan senyawa fitokimia dalam suatu ekstrak *Piper longum* (L.) yang stabil pengikatan dengan reseptor terutama PTGS-2 (COX-2). Melalui *docking* ini juga dapat diprediksi orientasi dan afinitas ikatan dari senyawa fitokimia dari *Piper longum* (L.). Penelitian ini dilakukan *docking* menggunakan *Molegro Virtual Docker (MVD)* utamanya untuk memahami bentuk – bentuk interaksi dari senyawa fitokimia *Piper longum* (L.) dan memprediksi senyawa manakah yang memiliki kestabilan tertinggi dalam ikatannya dengan reseptor yang kaitannya dengan sumbangan terhadap aktivitas antiinflamasi.

## BAHAN DAN METODE

### Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan yaitu Struktur 3D dari reseptor siklooksigenase-2 (COX-2) yaitu enzim *prostaglandin-endoperoxide synthase 2* (PTGS-2) yang digunakan pada penelitian ini didapat dari bank data protein (PDB).

Dalam penelitian ini dilakukan *molecular docking* 33 senyawa fitokimia *Piper longum* (L.) ke reseptor siklooksigenase-2 (COX-2) menggunakan *software Molegro Virtual Docker (MVD) 5.0.0* ([www.molegro.com](http://www.molegro.com)) (Thomsen & Christensen, 2006)

### Analisis Struktur Kristal Siklooksigenase-2 (COX-2)

Struktur 3D dari reseptor siklooksigenase-2 (COX-2) yaitu enzim *prostaglandin-endoperoxide synthase 2* (PTGS-2) yang digunakan pada penelitian ini didapat dari bank data protein (PDB) ([www.pdb.org](http://www.pdb.org)). PDB merupakan satu-satunya arsip tunggal dunia data struktur dari makromolekul biologis yang berisi informasi struktur pada makromolekul yang ditentukan dengan X-Ray Kristalografi, metode NMR dan lain lain.

Reseptor siklooksigenase-2 (COX-2) yang digunakan pada penelitian ini sebanyak 19, yaitu reseptor COX-2 dengan PDB ID : 1PXX, 3HS5, 3HS6, 3HS7, 3KPK, 3LN0, 3LN1, 3MDL, 3MQE, 3NTI, 3NTB, 3NTG, 3OLT, 3OLU, 3QH0, 3RR3, 3TZI dan 4E1G . Dari 19 reseptor tadi, diseleksi dengan protokol validasi docking hingga didapat 1 reseptor dengan dengan RMSD (root mean squared deviation) terendah yang memenuhi persyaratan < 2,00 Å.

### Senyawa Fitokimia *Piper longum* (L.)

Berdasarkan review dari Pamar dkk, senyawa fitokimia dari *Piper longum* (L.) didapatkan 33 senyawa yang terkandung di dalamnya yang akan dilakukan docking terhadap reseptor siklooksigenase-2 (COX-2). Struktur 33 senyawa tersebut digambar dan diminimalkan energinya (MM2) menggunakan *ChemBioDraw Ultra 2010 (trial version)*.

### Molecular Docking

Dalam penelitian ini dilakukan *molecular docking* 33 senyawa fitokimia *Piper longum* (L.) ke reseptor siklooksigenase-2 (COX-2) menggunakan *software Molegro Virtual Docker (MVD) 5.0.0* ([www.molegro.com](http://www.molegro.com)) (Thomsen & Christensen, 2006). MVD merupakan program yang terintegrasi untuk memprediksi interaksi (pengikatan) antara ligan dengan reseptor (protein). MVD dapat menangani semua aspek dalam proses *docking* dari preparasi molekul guna penentuan sisi aktif pengikatan yang potensial dari protein target serta prediksi model pengikatan dari ligan. Molekul ligan berikatan dengan reseptor, menghambat fungsi dari reseptor, sehingga ligan tersebut bertindak sebagai obat.

Algoritma MVD memanfaatkan rongga (*cavity*) untuk mendeteksi tempat ikatan protein yang berpotensi sebagai sisi aktif untuk berikatan dengan ligan (obat). Penyaringan bentuk ligan yang paling stabil dikombinasikan dengan MM2 dalam pencarian konformasi untuk menghasilkan pose ligan yang stabil dengan sisi aktif dari protein (reseptor siklooksigenase-2 (COX-2)) diantara desain molekul yang telah dipersiapkan.

Parameter yang digunakan pada proses *docking* antara lain

- Score : MolDock Score [GRID]
- Grid resolution : 0,30 Å
- Algorithm : MolDock SE
- Number of run algorithm : 10
- Max iterations : 1500
- Max population size : 50
- Energy treshold pose generation : 100

Senyawa turunan kalkon dilakukan *docking* dengan reseptor siklooksigenase-2 (COX-2) yang terpilih menggunakan parameter – parameter di atas.

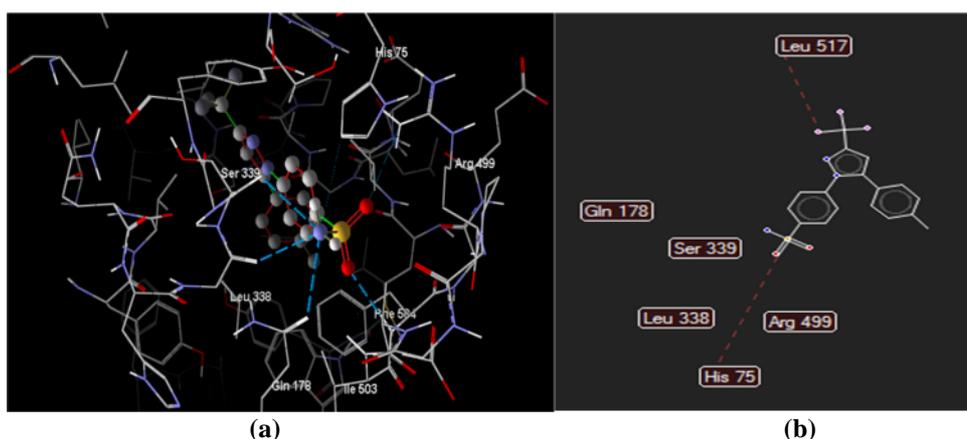
## HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini, pertama dilakukan pemilihan reseptor siklooksigenase-2 (COX-2) yaitu dengan melakukan *docking* pada ligan asli untuk menentukan nilai Root Mean Squared Deviation (RMSD), dimana RMSD digunakan untuk melihat validasi protokol *docking*. Dari 19 reseptor COX-2, ligan asli reseptor diekstraksi dan dimasukkan ke

tempat sisi aktif yang sesuai dalam pengikatan untuk menentukan kemampuan ligan dalam mereproduksi orientasi dan posisi inhibitor yang diamati pada struktur kristal di dalam *cavity*. Ligan yang energinya telah diminimalkan dengan MM2, dimasukkan lagi dalam *cavity* dengan volume 84,48 kemudian dilakukan *docking* dengan reseptor. Adapun hasil yang didapat meliputi parameter *MolDockScore* dan RMSD. *MolDockScore* menunjukkan energi yang digunakan selama proses *docking* serta RMSD yang merupakan deviasi antara molekul ligan dan ligan referensi. Dari 19 reseptor, didapatkan hasil yang terbaik adalah **3LN1** (Tabel 2). Hal ini dilihat dari nilai RMSD yang valid dan memiliki nilai yang paling kecil diantara reseptor yang lain yaitu 0,644. Suatu protokol dikatakan valid bila RMSD dari proses *docking* dengan ligan asli menghasilkan nilai < 2,00 Å (Purnomo, 2011). Dikarenakan sudah valid dan memenuhi syarat maka protokol *docking* dengan menggunakan reseptor ini dapat diaplikasikan untuk *men-docking* senyawa fitokimia *Piper longum* (L.).

**Tabel 1.** Validasi protokol docking terhadap 19 reseptor COX-2

PDB ID	MolDockScore	RMSD (Å)	PDB ID	MolDockScore	RMSD (Å)
1PXX	-113,442	1,50	3NTB	-102,233	1,04
3HS5	-133,579	7,39	3NTG	-101,628	0,98
3HS6	-147,499	6,34	3OLT	-132,708	1,29
3HS7	-145,313	3,33	3OLU	-157,618	1,65
3KRK	-140,810	6,52	3Q7D	-105,008	1,59
3LN0	-103,921	0,78	3QH0	-107,52	4,65
3LN1	-162,970	0,64	3RR3	-105,097	1,98
3MDL	-148,625	6,20	3TZI	-132,724	6,03
3MQE	-99,994	1,60	4E1G	-145,201	9,72
3NTI	-104,990	0,85			



**Gambar 1.** Sisi Aktif dari COX-2 yang terkompleks dengan *celecoxib* interaksi ikatan hidrogen dan (b) interaksi sterik

Reseptor 3LN1 terkompleks dengan *celecoxib* yang merupakan senyawa penghambat COX-2 yang poten. Setelah dianalisis sisi aktif residu dari COX-2 melalui visualisasi molekul, maka didapatkan *celecoxib* ditopang interaksi berupa tujuh ikatan

hidrogen dengan Ser 339 (panjang ikatan 3,17 Å, Energi *HBond* -2,154), Leu 338 (3,26 Å, -1,704), Ile 503 (3,58 Å, -0,051), Gln 178 (3,08 Å, 3,076), His 75 (3,55 Å, -0,242), Arg 499 (3,50 Å, -0,510), serta Phe 504 (3,17 Å, -2,075) ditunjukkan dengan garis putus

warna biru (Gambar 1a). Selain itu, didapatkan pula bahwa pada *celecoxib* juga terjadi interaksi sterik dengan Leu 517, Leu 338, Gln 178, Ser 339, Arg 499 dan His 75 (Gambar 1b).

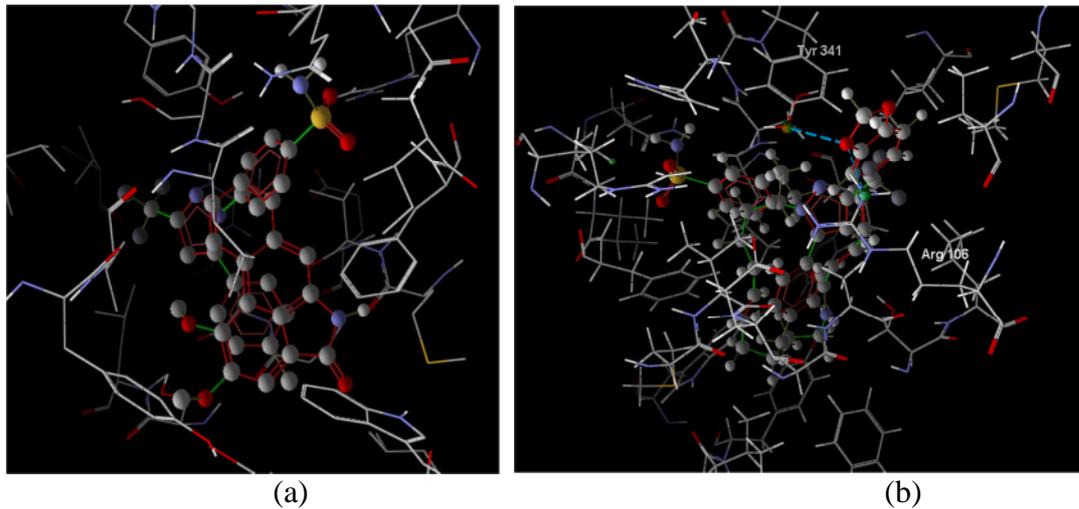
*Cavity* dengan volume 84,48 dalam penelitian ini digunakan sebagai tempat senyawa fitokimia *Piper longum* (L.) di-*docking*kan pada reseptor. Senyawa fitokimia yang telah digambar dan diminimalkan energinya menggunakan MM2 serta disimpan dalam bentuk file Sybil2 (mol2) setelah itu dilakukan prosedur *docking* sama seperti melakukan *docking* pada ligan asli, hanya pada *docking* senyawa fitokimia *Piper longum* (L.) tidak dilakukan penilaian RMSD.

Berdasarkan data analisis hasil *docking* terhadap senyawa fitokimia *Piper longum* (L.) dengan reseptor COX-2 3LN1 (tabel 2), didapatkan 5 nilai terendah *MolDockScore* yaitu pada senyawa *Pipericide*,

*Sylvetin*, *Fargesin*, (+)(-)-*Asarinine*, dan *Pluviatilol*. Energi yang paling rendah pada *Pipericide*, mengakibatkan kestabilan dan keselarasan dalam pengikatan dengan reseptor COX-2 dibandingkan dengan senyawa fitokimia lainnya yang ada. Energi pada proses *docking* ini seringkali dikaitkan dengan daya afinitas ikatan ligan terhadap reseptor. Bila dibandingkan dengan *Celecoxib* yang merupakan ligan reseptor COX-2 (3LN1) yang telah diketahui aktivitas inflamasinya, maka dapat disimpulkan bahwa *Pipericide* & *Sylvetin* memiliki energi yang lebih rendah, sehingga dimungkinkan memiliki efek inflamasi yang lebih tinggi daripada *Celecoxib*. Kestabilan *Pipericide* & *Sylvetin* dibandingkan *Celecoxib* bisa diakibatkan diakibatkan karena afinitas ligan terhadap reseptor lebih tinggi meskipun energi ikatan hidrogen dengan reseptor lebih tinggi.

**Tabel 3.** Data hasil *Docking* senyawa fitokimia *Piper longum* (L.) dengan sisi aktif reseptor siklooksigenase-2 (3LN1)

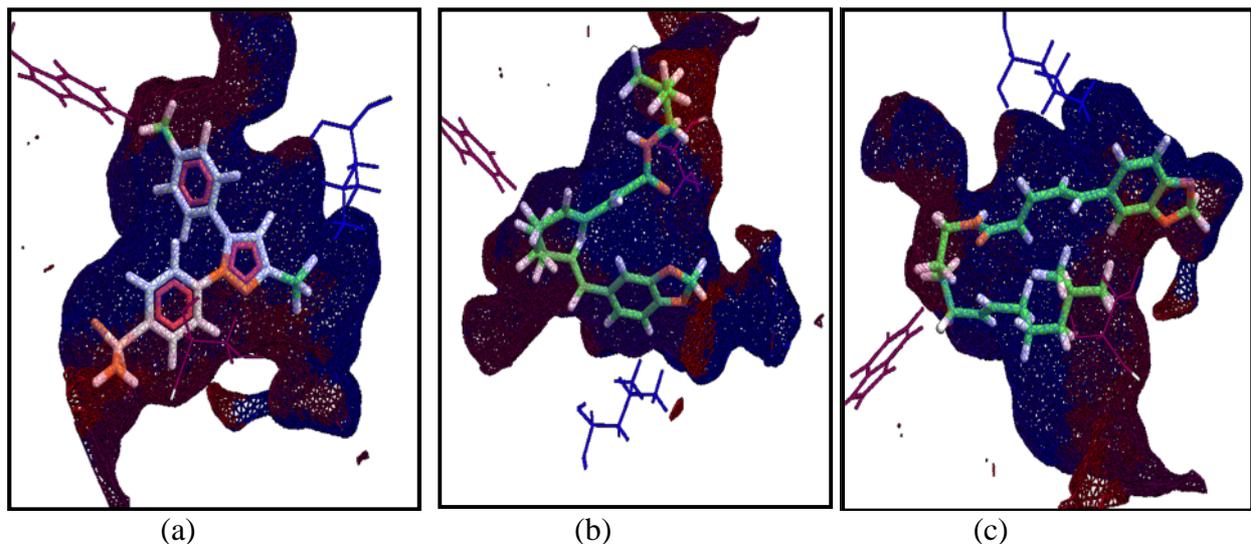
Nama Senyawa Fitokimia	Parameter <i>Docking</i>	
	<i>MolDockScore</i>	<i>HBond</i>
Aristolactam AII	-116,094	-5,145
Cepharadione A	-110,095	-0,443
Cepharadione B	-105,873	-92,302
Cepharanone / Aristolactam BII	-113,536	-4,384
Dehydropiperonaline	-155,402	0
4,5-dihydropiperlonguminine	-134,253	-2,251
Guineensine	-155,568	-2,3627
2-hydroxy-1-methoxy-4H-dibenzo[de,g]quinoline-4,5(6H)-dione	-103,781	-0,604
(2E,4E)-N-Isobutyleicosadienamide	-141,812	0
(2E,4E)-N-Isobutyldecadienamide	-115,586	0
(2E,4E,8Z)-N-Isobutyleicosatrienamide	-146,516	-1,077
(2E,4E)-N-Isobutyloctadecadienamide	-131,394	-0,353
6,7-dibromo-4-hydroxy-3,4-dihydro-2H-pyrrolo[1,2-a]pyrazin-1-one	-87,740	-2,450
(2E,8E)-N-9-(3,4-Methylenedioxyphenyl)nonadienoylpiperidine	-155,659	0
1,2-dimethoxy-4h-dibenzo[de,g]quinoline-4,5(6h)-dion	-110,264	0
Piperadione	-101,090	-0,744
Pipericide	-168,623	0
Piperine	-123,481	0
Piperlonguminine	-142,163	-2,463
piperolactam A	-109,136	0
piperolactam B	-108,277	-3,125
piperolactam C	-117,006	-1,996
Piperlongumine	-128,082	-0,004
retrofractamide A	-155,605	-0,280
Sylvetin	-166,694	-1,355
(+)(-)-Asarinine	-161,145	-1,691
Fargesin	-161,345	-4,95
Pluviatilol	-157,942	-4,492
Sesamin	-142,154	-5,761
p-cymene	-70,472	0
(+)dihydrocarveol	-77,122	0
Sitosterol	-134,744	0
Stigmasterol	-138,275	0
CELECOXIB	-162,970	-4,297



**Gambar 2.** Interaksi ikatan hidrogen reseptor dengan senyawa fitokimia Piper longum (L.) (a) pipericide dan (b) sylvetin

Pada Gambar 4, *Pipericide* tidak berikatan hidrogen dengan *residue*, sedangkan *Sylvetin* berikatan dengan dua residue yaitu dengan Tyr 341 (Energi HBond - 1,449, panjang ikatan 2,47 Å) dan Arg 106 (-2,5, 2,77), tetapi bila dibandingkan dengan *Celecoxib*,

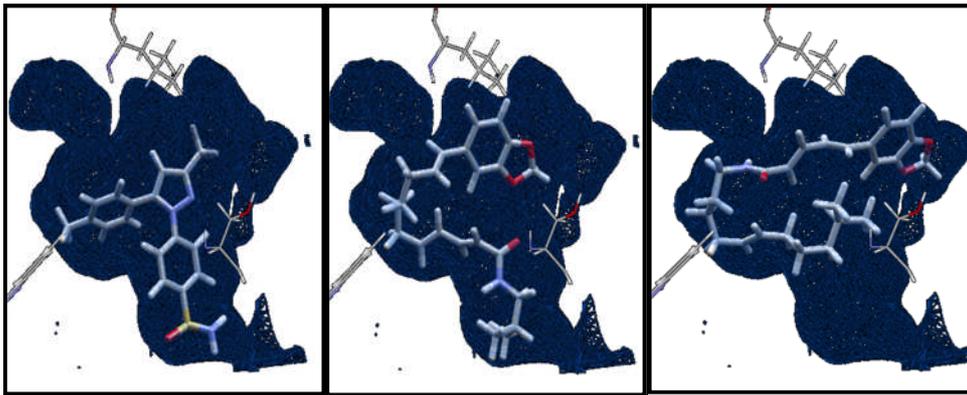
ikatan hidrogen yang terjadi lebih banyak, sehingga stabilnya ikatan reseptor dengan *Celecoxib* banyak diakibatkan oleh ikatan hidrogen dengan sisi aktif protein dari reseptor daripada *Pipericide* & *Sylvetin*.



**Gambar 3.** Tampilan permukaan (*surfaces*) *residue* dengan ligan berdasarkan hidrofobitas (a) *Celecoxib* (b) *Pipericide* (c) *Sylvetin*

Gambar 3 menunjukkan permukaan hidrofobitas dari protein (*residue*), dimana warna biru pada permukaan menunjukkan *residue* bersifat hidrofob sedangkan warna merah menunjukkan *residue* bersifat hidrofil. Ligan yang terikat di dalamnya harus memiliki sifat sama dengan *residue*. Pada ligan yang terikat, warna hijau menunjukkan sifat hidrofob, sedangkan warna jingga menunjukkan sifat hidrofil. Pada senyawa *celecoxib*, ada beberapa permukaan dari ligan yang bersifat

hidrofob namun bersesuaian dengan permukaan yang hidrofil dari *residue*. Berbeda dengan *Pipericide*, rantai hidrofob dari ligan, memenuhi permukaan *residue* yang bersifat hidrofob, sedangkan pada *sylvetin* ada sedikit permukaan yang tidak bersesuaian hidrofobitasnya. Sehingga dapat disimpulkan kesesuaian sifat hidrofobitas antara ligan dan reseptor menyumbangkan kestabilan ikatan antara ligan dan reseptor terutama untuk *pipericide* dan *sylvetin*.



**Gambar 3.** Tampilan permukaan (*surfaces*) *residue* dengan ligan berdasarkan interaksi elektrostatik (a) *Celecoxib* (b) *Pipericide* (c) *Sylvetin*

Gambar 3 menunjukkan permukaan elektrostatik yaitu berhubungan dengan muatan parsial dari protein (*residue*), dimana warna biru menunjukkan *residue* bermuatan parsial positif sehingga dengan adanya ligan yang bermuatan negatif parsial akan menyebabkan kestabilan ikatan ligan dan reseptor. Pada *residue* tidak didapatkan permukaan yang positif parsial (warna merah pada permukaan). Pada *celecoxib*, hanya memiliki 1 atom O yang bermuatan positif parsial, sedangkan pada *pipericide* dan *sylvetin* terdapat 3 atom O yang menyumbang muatan negatif parsial yang berinteraksi dengan muatan positif parsial dari residu. Lebih banyaknya atom O yang bermuatan negatif parsial akan menyumbangkan kestabilan antara ligan dan reseptor. Berdasarkan hasil docking, ikatan hidrogen, sifat hidrofobisitas dan elektrostatik diatas dapat diambil kesimpulan bahwa senyawa *pipericide* dan *sylvetin* memiliki kestabilan afinitas ikatan lebih baik daripada senyawa fitokimia *Piper longum* (L.) lainnya, bahkan bila dibandingkan dengan ligan asli dari 3LN1. Hal ini membuktikan bahwa *pipericide* dan *sylvetin* memiliki sumbangan aktivitas antiinflamasi terbesar dibanding senyawa fitokimia lain. Dikarenakan kedua senyawa ini memiliki kestabilan ikatan dengan reseptor lebih baik daripada *celecoxib*, maka kedua senyawa ini dapat dilakukan analisis lebih lanjut.

## KESIMPULAN

Tujuan utama dalam studi *molecular docking* dengan metode “*Molegro Virtual Docker*” senyawa fitokimia *Piper longum* (L.) terhadap reseptor siklooksigenase-2 (COX-2) adalah untuk memilih senyawa fitokimia yang memiliki sumbangan terbesar dalam aktivitas antiinflamasi. Dari hasil docking, menunjukkan senyawa *pipericide* dan *sylvetin* memiliki energi yang paling rendah dibandingkan

senyawa fitokimia lainnya, bahkan dengan ligan asli (*celecoxib*). Hal ini menunjukkan afinitas yang bagus terhadap ikatan dengan reseptor. Berdasarkan ikatan hidrogen, *celecoxib* memiliki ikatan hidrogen paling baik, sedangkan *pipericide* dan *sylvetin* sifat hidrofobisitas serta elektrostatik lebih baik dan memiliki kesesuaian yang menyebabkan kestabilan ikatan dengan reseptor yang lebih baik. Sehingga kedua senyawa dapat dilakukan penelitian lebih lanjut terutama uji *in vitro* untuk membuktikan aktivitas antiinflamasi dari senyawa ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- Zaveri, M., Khandhar, A., Patel, S. & Patel, A. 2010. Chemistry and Pharmacology of Piper longum L. *Inter J. Pharmaceutical Sci Rev Res.* 5 : 67-76
- Mun'im, A. & Hanani, E. 2011. *Fitoterapi Dasar*. Jakarta : Dian Rakyat.
- Kumar A, Panghal S, Mallapur SS, Kumar M, Ram V. & Singh BK. 2009. Antiinflammatory activity of *Piper longum* fruit oil. *Indian J Pharm Sci.*71:454-6
- Sakoda, L.C., Gao, Y.T., Chen, B.E., Chen, J., Rosenberg, P.S., Rashid, A., Deng, J., Shen, M.C., Wang, B.S., Han, T.Q., Zhang, B.H., Cohen-Webb, H., Yeager, M., Welch, R., Chanock, S., Fraumeni, J.F. & Hsing, A.W. Prostaglandin-endoperoxide synthase 2 (PTGS2) gene polymorphisms and risk of biliary tract cancer and gallstones: a population-based study in Shanghai, China. *Carcinogenesis.*27:1251-6
- Parmar, V. S., Jain, S. C., Bisht, K. S., Jain, R., Taneja, P., Jha, A., Tyagi, O. D., Prasad, A. K., Wengel, J., Olsen, C. E. & Boll, P. M. 1997. Phytochemistry of the Genus Piper. *Phytochemistry*, 46 : 597-673
- Thomsen R. & Christensen M. H. 2006. MolDock: A New Technique for High-Accuracy Molecular Docking. *J. Med. Chem.* 49 : 3315 – 3321
- Purnomo, Hari. 2012. *Kimia Komputasi*. Yogyakarta : Pustaka Pelajar