



Studi Aktivitas Antimalaria Senyawa Metabolit Sekunder *Artemisia Annua* Menggunakan Metode Autodock4 dan ADFR

Jafar La Kilo^{1*}, La Ode Aman², Putriani Bua³, Akram La Kilo⁴

^{1,3,4} Program Studi Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Gorontalo, Gorontalo, Indonesia.

² Program Studi Farmasi, Fakultas Fakultas Olahraga dan Kesehatan, Universitas Negeri Gorontalo, Gorontalo, Indonesia.

*E-mail: jafar.chem@ung.ac.id

Article Info:

Received: 28 Januari 2024
in revised form: 21 Februari
2024

Accepted: 18 Juni 2024

Available Online: 30 Juni 2024

Keywords:

Antimalaria;
Plasmodium falciparum;
Artemisia annua;
Autodock4;
ADFR

Corresponding Author:

Jafar La Kilo
Jurusan Kimia
Fakultas Matematika dan Ilmu
Pengetahuan Alam
Universitas Negeri Gorontalo
Gorontalo
Indonesia
E-mail:
jafar.chem@ung.ac.id

ABSTRACT

Malaria is a disease caused by protozoa with the genus Plasmodium. The type of Plasmodium falciparum is a parasite that causes the onset of serious infections with high mortality. This study aims to identify secondary metabolite compounds Artemisia Annua that have the ability to inhibit the growth of Plasmodium falciparum. The protein Plasmodium Falciparum Lactate Dehydrogenase (PfLDH) with the natural ligand 2,6-naphthalenedicarboxylic acid has been considered as a potential molecular target for antimalarials due to the parasite's dependence on glycolysis for energy production. The methods used are Autodock4 and ADFR. Validation of the PfLDH protein docking method with NDD natural ligands resulted in an RMSD value of 1.06 Å. The best molecular docking results of Autodock4 and ADFR were obtained from Artemnuic Acid test ligands under the name IUPAC (2-[(1R,4R,4aS,8aR)-4,7-dimethyl-1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydronaphthalen-1-yl]prop-2-enoic acid) and Quing Hau Sau under the name IUPAC((4S,5R,8S,9R,12S,13R)-1,5,9-trimethyl-1,14,15,16-tetraoxatetracyclo [10.3.1.04,13.08,13]hexadecan-10-one) has energy affinity values of - 6.87 kcal/mol and -7.06 kcal/mol and -7.03 kcal/mol and -6.94 kcal/mol, respectively. The affinity value produced from autodocking 4 had a difference with the ADFR docking result, the Arteannuic Acid test ligand obtained the smallest energy affinity value in the ADFR docking result while the Quing Hau Sau test ligand obtained the largest energy affinity value in the ADFR docking result.



This open access article is distributed under a Creative Commons Attribution (CC-BY-NC-SA) 4.0 International license.

How to cite (APA 6th Style):

Kilo,J.F.,Aman,L.A.,Bua,P., Kilo,A.L. (2024). *Studi Aktivitas Antimalaria Senyawa Metabolit Sekunder Artemisia Annu Menggunakan Metode Autodock4 dan ADFR*. Indonesian Journal of Pharmaceutical (e-Journal), 4(2), 346-356.

ABSTRAK

Malaria adalah penyakit yang disebabkan oleh protozoa dengan genus *Plasmodium*. Jenis *Plasmodium Falciparum* adalah parasit yang menyebabkan timbulnya infeksi serius dengan mortalitas yang tinggi. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder *Artemisia Annu* yang memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan *Plasmodium Falciparum*. Protein *Plasmodium Falciparum Lactate Dehydrogenase (PfLDH)* dengan ligan alami 2,6-naphthalenedicarboxylic Acid telah dianggap sebagai target molekuler potensial untuk antimalaria karena parasit ini ketergantungan pada glikolisis untuk produksi energi. Metode yang digunakan adalah Autodock4 dan ADFR. Validasi metode doking protein PfLDH dengan ligan alami NDD menghasilkan nilai RMSD sebesar 1,06 Å. Hasil doking molekular Autodock4 dan ADFR terbaik, diperoleh dari ligan uji *Artemnuic Acid* dengan nama IUPAC (2-[(1R,4R,4aS,8aR)-4,7-dimethyl-1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydronaphthalen-1-yl] prop-2-enoic acid) dan *Quing Hau Sau* dengan nama IUPAC ((4S,5R,8S,9R,12S,13R)-1,5,9-trimethyl-11,14,15,16-tetraoxatetracyclo [10.3.1.04,13.08,13] hexadecan-10-one) masing-masing memiliki nilai afinitas energi sebesar -6,87 kcal/mol dan -7,06 kcal/mol serta -7,03 kcal/mol dan -6,94 kcal/mol. Nilai afinitas yang dihasilkan dari docking autodock4 memiliki perbedaan dengan hasil docking ADFR, ligan uji *Artemnuic Acid* memperoleh nilai afinitas energi terkecil pada hasil docking ADFR sedangkan ligan uji *Quing Hau Sau* memperoleh nilai afinitas energi terbesar pada hasil docking ADFR.

Kata Kunci: Antimalaria; plasmodium falciparum; artemisia annua; Autodock4; ADFR

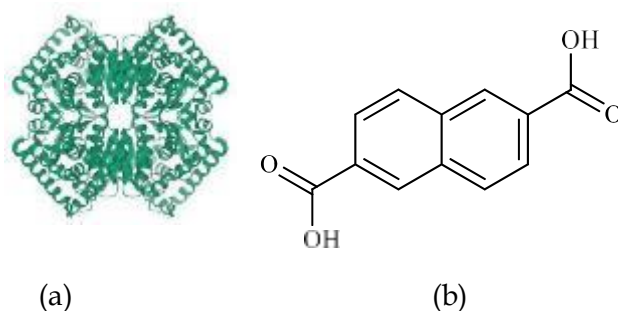
1. Pendahuluan

Malaria adalah penyakit yang disebabkan oleh protozoa dengan genus *Plasmodium*. Penyakit ini memiliki gejala seperti demam, mual, muntah, sakit kepala, dan menggigil. Organisasi Kesehatan Dunia telah mencatat 228 juta kasus malaria terjadi di seluruh dunia [1]. Di Indonesia penyakit malaria disebabkan oleh beberapa jenis *Plasmodium* yaitu *Plasmodium Falciparum*, *Plasmodium Vivax*, *Plasmodium Ovale*, *Plasmodium Malariae* dan *Plasmodium Knowlesi* yang ditemukan pada tahun 2012 khususnya di wilayah Kalimantan Selatan [16]. Di antara lima jenis *Plasmodium* yang menginfeksi manusia, sebagian besar kasus disebabkan oleh *Plasmodium Falciparum* [24]. *Plasmodium falciparum* adalah parasit yang menyebabkan timbulnya infeksi serius dengan mortalitas yang tinggi sehingga muncul penyakit malaria jenis serebral. Infeksi ini ditularkan melalui gigitan nyamuk *Anopheles* [3].

Plasmodium malaria memiliki siklus hidup yang kurang lebih sama untuk beberapa jenis penyakit *Plasmodium* lainnya, yang ditandai dengan fase seksual ketika di *Anopheles* vektor nyamuk dan fase aseksual ketika pada manusia. Siklus aseksual dari *Plasmodium* dimulai ketika *Plasmodium Sprozoites* ditularkan oleh nyamuk *Anopheles* melalui air liur, yang kemudian akan memasuki pembuluh darah manusia dan melakukan perjalanan ke hati untuk bereplikasi membentuk skizogoni sporozoit atau dikenal sebagai merozoit. Kemudian terjadi pembentukan merozoit yang dilepaskan ke dalam aliran darah dalam vesikel hepatosit. Merozoit yang dilepaskan dikenal sebagai merosom. Fase tersebut membutuhkan waktu 6 hari untuk *Plasmodium Falciparum*.

Merozoit dalam sel darah merah akan berkembang biak membentuk trophozites “cincin stage” dan menjadi trofozoit dewasa. Fase akhir dari trofozoit akan membentuk skizon dengan durasi pembentukan antara 36-48 jam pada *Plasmodium Falciparum*. Pada setiap skizon terdiri dari banyaknya jumlah merozoit yang berbeda-beda tergantung pada jenis *Plasmodium*. Eritrosit akan dilisiskan oleh skizon sehingga terjadinya gejala demam dan pelepasan hemozoin yang menyebabkan peradangan. Fase ini merupakan hasil pemecahan heme oleh *Plasmodium* [3].

Enzim *Plasmodium falciparum lactate dehydrogenase* (PfLDH) complexed with 2,6-naphthalenedicarboxylic acid telah dianggap sebagai target molekuler potensial untuk antimalaria karena parasit ini ketergantungan pada glikolisis untuk produksi energi. Karena enzim LDH yang ditemukan di *P. vivax*, *P. malariae* dan *P. ovale* (pLDH) semuanya menunjukkan identitas 90% pada PfLDH, potensi ini diinginkan untuk memperoleh obat anti-pLDH baru, terutama yang efektif melawan *Plasmodium Falciparum*, spesies malaria manusia yang paling mematikan [5].



Gambar 1. (a) Struktur Protein 1U4O, (b) Ligan Alami NDD

Salah satu upaya yang dapat dilakukan adalah dengan memanfaatkan tanaman obat yang berkhasiat, ekonomis dan memiliki efek samping yang rendah. Tanaman obat ini bisa dijadikan sebagai terapi alternatif pendamping pasien malaria. Berdasarkan data dari Badan Pusat Statistik, pada tahun 2019-2021 telah tercatat 34 Provinsi di Indonesia yang melakukan produksi tanaman obat (Jahe, kencur, kunyit dan lain sebagainya) salah satunya adalah Provinsi Gorontalo [4]. Provinsi Gorontalo menjadi salah satu daerah penghasil tanaman obat yang melimpah, Ada banyak tanaman obat yang dapat dimanfaatkan untuk mencegah berbagai macam penyakit, salah satunya adalah tumbuhan lokal dinilalota dengan nama ilmiah *Artemisia Annuua*.

Artemisia Annuua adalah ramuan antimalaria yang terkenal dan dianggap sebagai sumber utama artemisinin [1]. Artemisinin diduga (seperti obat lain, termasuk klorokuin) mengganggu detoksifikasi heme, persyaratan penting untuk kelangsungan hidup parasit dalam eritrosit. Parasit *Plasmodium* mencerna hemoglobin, menghasilkan heme sebagai produk sampingan. Molekul heme bebas bersifat toksik, sehingga parasit menyerapnya dalam bentuk polimer hemozoin dalam vakuola pencernaan. Artemisinin adalah seskiterpen lakton dengan jembatan endoperoksida penting [7]. Artemisinin dan turunan derivatifnya mengerahkan efek dengan mengganggu jalur katabolik hemoglobin plasmodial dan penghambatan polimerisasi heme. *In vitro* percobaan menunjukkan penghambatan vakuola pencernaan aktivitas proteolitik parasit malaria dengan artemisinin. Eksperimen *ex vivo* juga menunjukkan akumulasi hemoglobin dalam parasite diobati dengan artemisinin, menunjukkan penghambatan degradasi hemoglobin. Artemisinin telah ditemukan untuk menjadi penghambat kuat polimerisasi heme aktivitas yang dimediasi oleh *Plasmodium Falciparum* yang kaya histidine protein

II [6]. Sebanyak 136 metabolit sekunder tumbuhan *artemisia annua* diunduh secara menyeluruh berdasarkan *database* yang tersimpan di website KNApSAcK-3D. Semua senyawa aktif yang terdapat pada tumbuhan *artemisia annua* dievaluasi untuk menentukan kandidat antimalaria terhadap *plasmodium falciparum*. Hal ini telah diakui pada tahun 60-an, bahwa telah ada satu metode berbasis komputer yang terbukti dapat memudahkan dalam melakukan perhitungan untuk proses sintesis kimia dan penyaringan jumlah senyawa bahan alam [12]. Metode *molecular docking* digunakan dalam penelitian ini, karena dapat memberikan kinerja yang baik untuk menemukan ligan yang cocok secara geometris maupun energi ke dalam sisi aktif protein untuk melakukan proses penghambatan [19].

2. Metode

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini, terbagi atas 2 jenis, yaitu perangkat keras dan perangkat lunak. Perangkat keras yang digunakan adalah Laptop-BT5O9P3J yang didukung oleh prosessor Intel ® Celeron ® N4020 CPU @ 1.10 GHz, laptop ini dijalankan dengan *64-bit operating system, x64-based processor*. Adapun perangkat lunak yang digunakan yaitu, *Chem3D Professional* versi 15.0, *Open Babel* (O'Boyle et al., 2011), *Discovery studio 2021 Client* [13], *AutoDock Tools* (ADT) [17], *AutoDock Flexible Receptor* (ADFR) [9], *Notepad++* [22]. Beberapa *web-server* juga digunakan untuk menunjang penelitian ini yaitu web KNApSAcK-3D (<http://knapsack3d.sakura.ne.jp/>), dan *Data Bank Protein* di situs (<https://www.rcsb.org>).

Bahan

Bahan yang digunakan adalah 136 senyawa *Artemisia Annua* (disajikan pada lampiran 1) sebagai ligan uji yang diunduh melalui situs KNApSAcK-3D (<http://knapsack3d.sakura.ne.jp/>). Kemudian, file protein yang dipilih sebagai reseptor adalah protein *Plasmodium Falciparum Lactate Dehydrogenase* (PfLDH, kode: 1U4O) jenis *complexed with 2,6-naphthalenedicarboxylic acid* bersama ligan alaminya yaitu 2,6-Dicarboxynaphthalene yang dapat diunduh dari Basis Data Bank Protein di situs (<https://www.rcsb.org>)

Prosedur Kerja

Pengunduhan Ligan dan Protein Target

Ligan uji diunduh pada laman (<http://knapsack3d.sakura.ne.jp/>) KNApSAcK-3D dengan memasukkan nama latin dari tanaman *Artemisia Annua* yang akan digunakan. Senyawa- senyawa yang akan digunakan, diunduh dalam format .mol. Sedangkan untuk Protein target dapat diperoleh melalui situs web (<https://www.rcsb.org>).

Validasi Metode Docking

Prosedur docking diawali dengan melakukan validasi terhadap ligan alami untuk menilai tingkat keberhasilannya. Ligan alami dan protein dipreparasi menggunakan Autodock Tools versi 1.5.7. Tahap preparasi meliputi penghilangan molekul air, penambahan atom hidrogen, penambahan muatan, pembuatan parameter grid dan parameter docking.

Docking Ligan Uji

Sebelum memasuki proses molecular docking, terlebih dahulu dilakukan tahapan preparasi terhadap ligan uji. Tahap preparasi dilakukan untuk mendapatkan struktur ligan uji yang stabil dan nilai energi afinitas lebih rendah. Preparasi terhadap ligan uji dilakukan dengan tahapan optimasi geometri dan minimisasi energi menggunakan perangkat lunak Chem 3D Professional dengan metode medan gaya mekanika molekuler (MM2). Format file ligan uji .mol diubah menjadi .pdbqt dengan bantuan perangkat lunak Open Babel GUI.

Setelah preparasi, dilakukan tahapan docking terhadap 136 ligan uji menggunakan program Autodock4 dengan bantuan program *command prompt*. Setelah diperoleh nilai binding energy, dua ligan uji terpilih dengan binding energy terendah selanjutnya divalidasi atau dilakukan docking kembali menggunakan program *Autodock Flexible Receptor* (ADFR) yang telah disesuaikan dengan hasil validasi docking sebelumnya agar ligan uji berikatan dengan sisi aktif protein

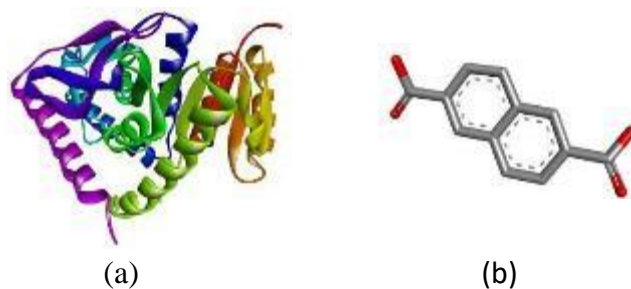
3. Hasil dan Pembahasan

Pengunduhan Ligan dan Protein Target

Ligan uji atau senyawa metabolit sekunder tanaman *Artemisia Annuua*, diperoleh dari website KNApSACk-3D. Protein yang digunakan *Plasmodium Falciparum lactate dehydrogenase* (PflDH) complexed with 2,6-naphthalenedicarboxylic acid yang diunduh melalui situs *protein data bank* (PDB) dengan ID 1U4O.

Validasi Metode Docking

Sebelum melakukan validasi metode docking, dilakukan preparasi protein dan ligan untuk memperoleh hasil docking yang optimal. Proses preparasi diawali dengan menghilangkan molekul air. penghilangan molekul air agar tidak mengganggu proses dan perhitungan hasil *docking* [11]. Selain itu, perlu dilakukan penambahan atom hidrogen. penambahan kembali atom hidrogen mempunyai tujuan untuk memunculkan kembali atom hidrogen pada protein sehingga ikatan hidrogen yang terbentuk dapat diamati [15]. Setelah penambahan atom hidrogen, dilanjutkan dengan penambahan muatan parsial pada ligan dan protein, masing-masing dengan muatan Gasteiger dan Kollman. Penambahan muatan parsial dilakukan agar dapat memberikan muatan pada residu asam amino berupa energi potensial elektrostatik yang didasarkan atas perhitungan mekanika kuantum [14].



Gambar 2. (a) Protein 1U4O dan (b) Ligan Alami NDD

Proses validasi docking dilakukan dengan menggunakan perangkat Autodock Tools. Tahap pertama dalam proses validasi adalah menentukan ukuran grid box.

Pengaturan *grid box* yang dilakukan berupa pengaturan koordinat *grid center* dan *grid size*. Protein 1U4O memiliki ukuran *grid center* x = 29.930, center y = 18.480, dan center z = 5.207 dengan ukuran xyz masing-masing 24-24-24.

Tabel 1. Hasil Docking Ligan Alami

Protein	Ligan	Run	Binding Energy		Cluster	RMSD (Å)
			(Kcal/mol)			
PfLDH	NDD	49	-6.33		1	1.06

Hasil docking protein dan ligan alami disajikan pada tabel 1. Nilai RMSD yang dihasilkan ligan alami sebesar 1,06 Å, menunjukkan bahwa metode docking telah valid dan dapat digunakan karena memperoleh nilai RMSD kurang dari 2 Å [25]. Hasil visualisasi yang dapat diperoleh adalah *overlay* visualisasi jenis ligan alami berdasarkan gambar sebelum dan sesudah proses *docking*. Hasil *overlay* ligan alami ditunjukkan dengan warna merah (sebelum docking) dan warna biru (sesudah docking), tumpang tindih yang terjadi antara ligan alami sebelum dan sesudah proses *docking* dipengaruhi oleh besarnya nilai RMSD yang dihasilkan.

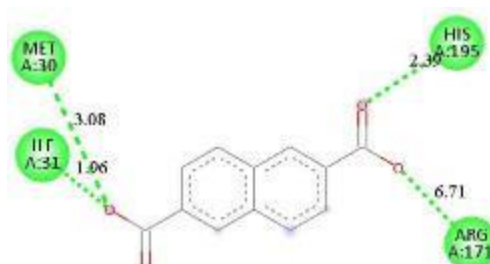


Gambar 3. Overlay Ligan Alami NDD sebelum (merah) dan sesudah (biru) *docking*

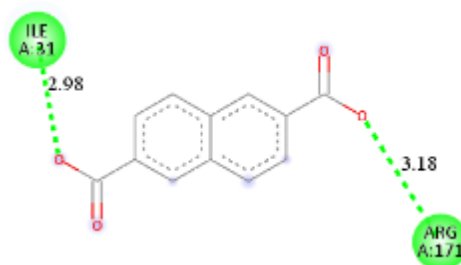
Interaksi residu asam amino dengan ligan alami terdiri dari 6 interaksi yang dihasilkan dari program *docking Autodock4*. Interaksi 6 ikatan hidrogen yang terbentuk yaitu Met30, Ile31, Arg171, Arg171, His195, dan Ser245,

Tabel 2. Interaksi Ligan NDD pada Protein PfLDH Hasil Docking

Kategori	Interaksi	Jarak Ikatan (Å)		Tipe Ikatan
		Hasil ADT	Hasil ADFR	
Ikatan Hidrogen	Met30	3,03999		Ikatan Hidrogen
	Ile31	1,92486	2,9834	Ikatan Hidrogen
	Arg171	2,16326	3,17536	Ikatan Hidrogen
	Arg171	3,02412		Ikatan Hidrogen
	His195	2,377		Ikatan Hidrogen
	Ser245	3,06949		Ikatan Hidrogen



Gambar 4. Interaksi residu asam amino dengan ligan alami ndd hasil *docking autodock4*



Gambar 5. Interaksi residu asam amino dengan ligan alami ndd hasil ADFR

Docking Ligan Uji

Ligan uji yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari 136 senyawa metabolit sekunder tumbuhan *Artemisia Annu* yang merupakan salah satu tumbuhan di Provinsi Gorontalo dengan nama lokal Dinilalota. Sebanyak 136 senyawa metabolit uji menjalani proses docking dengan protein PFLDH.

Ligan uji tersebut, di docking dengan menggunakan program ADFR. Ligan alami yang sebelumnya di docking menggunakan program Autodock Tools dilakukan redocking kembali menggunakan program ADFR. Hasil docking ligan alami menggunakan ADFR untuk menentukan nilai energi afinitas sebagai indikator dalam membandingkan kemampuan energi protein dan ligan sebagai agen inhibitor antimalaria, yang disajikan pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil Redocking Ligan Alami Menggunakan ADFR

Nama Protein	Kode Ligan Alami	Mode	Energy Affinity (kcal/mol)	Cluster RMSD
PFLDH	NDD	1	-6,28	0.000

Pada proses docking ligan uji, grid box yang digunakan disesuaikan dengan grid box yang telah divalidasi dengan metode docking. Molecular docking dapat memprediksi interaksi, konformasi, dan energi ikat protein dan ligan. Hasil docking ligan uji terbaik dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil Docking Ligan Uji Terbaik pada Protein PflLDH dengan *Autodock4*

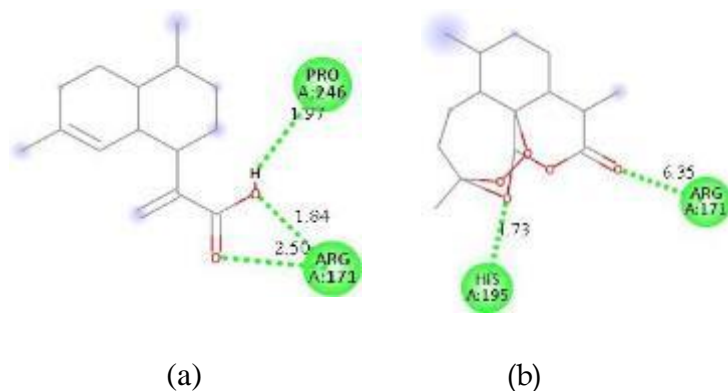
Nama Senyawa	Nilai <i>Binding Energy</i> (kcal/mol)	Jenis Metabolit Sekunder
Quing hau sau	-7,06	Sesquiterpenoid
Arteannuic acid	-6,89	Sesquiterpenoid
Dihydroartemisinic acid	-6,81	Sesquiterpenoid
Occidentalol acetate	-6,68	Terpenoid
Cedr-8(15)-en-9-alpha-ol acetate	-6,65	Terpenoid
6,7-Dehydroartemisinic acid	-6,58	Sesquiterpenoid
Cedryl acetate.pdbqt	-6,48	Terpenoid
Deoxyarteannuin B	-6,31	Sesquiterpenoid
Arteannuin B	-6,28	Sesquiterpenoid
Artemisinic alcohol	-6,27	Sesquiterpenoid
Artemisinin C	-6,18	Sesquiterpenoid
Dihydrodeoxyarteannuin B	-6,12	Sesquiterpenoid
Artemisinic acid methyl ester	-6,11	Terpenoid
Artemisinic aldehyde	-6,08	Terpenoid
Dihydroarteannuin B	-6,07	Sesquiterpenoid

Berdasarkan hasil docking ligan uji menggunakan program Autodock, dua ligan uji dengan nilai binding energy terendah dipilih untuk dilakukan docking kembali menggunakan program ADFR. Hasil docking dua ligan uji terbaik disajikan pada tabel 5.

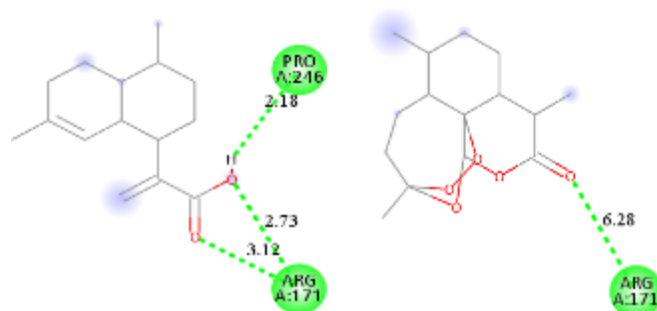
Tabel 5. Hasil Docking Ligan Uji Terbaik pada Protein PflLDH dengan ADFR

Kode Protein	Nama Ligan Uji	<i>Energy Affinity</i> (kcal/mol)	Tumbuhan
PflLDH	<i>Arteannuic Acid</i>	-7,03	<i>Artemisia Annua</i>
	<i>Quing Hau Sau</i>	-6,94	(Tumbuhan Dinilalota)

Berdasarkan energi afinitas yang dihasilkan pada docking ligan uji tumbuhan *Artemisia Annua* (Dinilalota), senyawa *Artemnuic Acid* dan *Quing Hau Sau* memiliki potensi sebagai penghambat protein PflDH dengan nilai energi afinitas sebesar -7,03 kcal/mol dan -6,94 kcal/mol.



Gambar 5. Interaksi kompleks protein (a) Artemnuic Acid- PflDH, (b) Quing Hau Sau-PflDH dengan program Autodock4



Gambar 6. Interaksi kompleks protein (a) Artemnuic Acid-PflDH, (b) Quing Hau Sau-PflDH dengan program ADFR

Berdasarkan interaksi yang terbentuk, semakin banyak jumlah ikatan hidrogen yang terjadi, semakin banyak pengikatan protein ligan stabil, karena stabilitas struktur protein dipengaruhi oleh ikatan hidrogen [26].

4. Kesimpulan

Hasil simulasi *molecular docking* 136 senyawa metabolit sekunder tumbuhan *Artemisia Annua* sebagai ligan uji terhadap protein jenis *Plasmodium Falciparum Lactate Dehydrogenase* (PflDH) dengan metode *docking* Autodock4 dan ADFR menghasilkan ligan uji *Artemnuic Acid* dan *Quing Hau Sau* sebagai ligan uji terbaik, dengan nilai afinitas energi masing-masing sebesar -6,87 kcal/mol dan -7,06 kcal/mol serta -7,03 kcal/mol dan -6,94 kcal/mol. Nilai afinitas yang dihasilkan dari docking autodock4 memiliki perbedaan dengan hasil docking ADFR, ligan uji *Artemnuic Acid* memperoleh nilai afinitas energi terkecil pada hasil docking ADFR sedangkan ligan uji *Quing Hau Sau* memperoleh nilai afinitas energi terbesar pada hasil docking ADFR. Hasil doking

molekular menunjukkan bahwa senyawa metabolit sekunder tumbuhan dinilalota dengan nama latin *Artemisia Annu*a sebagai ligan uji memiliki kemampuan sebagai inhibitor antimalaria.

Referensi

- [1] Alhadrami, H. A., Sayed, A. M., El-Gendy, A. O., Shamikh, Y. I., Gaber, Y., Bakeer, W., Sheirf,
- [2] N. H., Attia, E. Z., Shaban, G. M., & Khalifa, B. A. (2021). A metabolomic approach to target antimalarial metabolites in the *Artemisia annua* fungal endophytes. *Scientific Reports*, 11(1), 1-11.
- [3] Aprilen, N., & Indratama, I. M. B. (2021). Handling cerebral malaria patient with limited resources: a case report. *Jurnal Penyakit Dalam Udayana*, 5(2), 26-31.
- [4] Badan Pusat Statistik. (2022). Retrieved July 17, 2022, from <https://www.bps.go.id/indicator/55/63/1/produksi-tanaman-biofarmaka-obat.html>
- [5] Connors, R., Schambach, F., Read, J., Cameron, A., Sessions, R. B., Vivas, L., Easton, A., Croft, S. L., & Brady, R. L. (2005). Mapping the binding site for gossypol-like inhibitors of *Plasmodium falciparum* lactate dehydrogenase. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 142(2), 137-148.
- [6] Das, S. (2012). *Artemisia annua* (Qinghao): a pharmacological review. *Int J Pharm Sci Res*, 3(12), 4573-4577.
- [7] Elfawal, M. A., Towler, M. J., Reich, N. G., Golenbock, D., Weathers, P. J., & Rich, S. M. (2012).
- [8] Dried whole plant *Artemisia annua* as an antimalarial therapy. *PloS One*, 7(12), e52746.
- [9] Friesner, R. A., Banks, J. L., Murphy, R. B., Halgren, T. A., Klicic, J. J., Mainz, D. T., Repasky,
- [10] M. P., Knoll, E. H., Shelley, M., & Perry, J. K. (2004). Glide: a new approach for rapid, accurate docking and scoring. 1. Method and assessment of docking accuracy. *Journal of Medicinal Chemistry*, 47(7), 1739-1749.
- [11] Hasan, R., Yanah, F. C., & Bahi, R. R. R. (2022). DOCKING MOLEKULER SENYAWA POTENSIAL DAUN KELOR (*Moringa oleifera*) TERHADAP RESEPTOR FOLAT. *Journal of Innovation Research and Knowledge*, 2(2), 519-526.
- [12] Jain, A. (2017). Computer aided drug design. *Journal of Physics: Conference Series*, 884(1), 12072.
- [13] Jejurikar, B. L., & Rohane, S. H. (2021). *Drug designing in discovery studio*.
- [14] Kolina, J., Sumiwi, S. A., & Levita, J. (2018). Mode Ikatan Metabolit Sekunder di Tanaman Akar Kuning (*Arcangelisia flava* L.) dengan Nitrat Oksida Sintase. *Fitofarmaka: Jurnal Ilmiah Farmasi*, 8(1), 45-52.
- [15] Madhavi Sastry, G., Adzhigirey, M., Day, T., Annabhimoju, R., & Sherman, W. (2013). Protein and ligand preparation: parameters, protocols, and influence on virtual screening enrichments. *Journal of Computer-Aided Molecular Design*, 27(3), 221-234.
- [16] Mau, S. S., & Mulatsih, M. (2017). Perubahan jumlah limfosit pada penderita malaria *Falciparum* dan *Vivax*. *Indonesian Bulletin of Health Research*, 45(2), 97-102.
- [17] Morris, G. M., Huey, R., Lindstrom, W., Sanner, M. F., Belew, R. K., Goodsell, D. S., & Olson,
- [18] A. J. (2009). AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. *Journal of Computational Chemistry*, 30(16), 2785-2791.

- [19] Mukesh, B., & Rakesh, K. (2011). Molecular docking: a review. *Int J Res Ayurveda Pharm*, 2(6), 1746–1751.
- [20] O'Boyle, N. M., Banck, M., James, C. A., Morley, C., Vandermeersch, T., & Hutchison, G. R. (2011). Open Babel: An open chemical toolbox. *Journal of Cheminformatics*, 3(1), 1–14.
- [21] Organization, W. H. (2016). *World malaria report 2015*. World Health Organization.
- [22] Orin, A., Johnston, R., Clear, J., & Skwarecki, B. (2015). Behind The App: The Story Of Notepad++. *Lifehacker Australia*, 18.
- [23] Perveen, S., & Al-Taweel, A. (2018). *Terpenes and terpenoids*. BoD-Books on Demand.
- [24] Ramanto, K. N., & Nurdiansyah, R. (2021). Structural and immunogenicity analysis of reconstructed ancestral and consensus P48/45 for cross-species anti malaria transmission- blocking vaccine. *Computational Biology and Chemistry*, 92, 107495.
- [25] Suherlan, S., Rohayah, R., & Fakhri, T. M. (2021). Uji Aktivitas Antikanker Payudara Senyawa Andrografolida Dari Tumbuhan Sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm F) Ness.) Terhadap Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 (HER-2) Secara In Silico. *Jurnal Ilmiah Farmasi Farmasyifa*, 4(2).
- [26] Suryani, Y., Taupiqurrohman, O., Rikani, A., & Paujiah, E. (2018). Insilico docking studies of daidzeion compounds as selective estrogen receptor modulator (SERMS) breast cancer. *MATEC Web of Conferences*, 197, 3009.