

STUDI INTERAKSI KURKUMIN-ARTEMISIN DAN TURUNANNYA TERHADAP RESEPTOR *SARCOENDOPLASMA RETICULUM* Ca^{+2} SECARA *IN SILICO*

Study Interactions between Sarcoendoplasmic Reticulum Ca^{+2} with Curcumin-Artemicyn Combination and Several Analogue Compounds in Silico

Frengki¹, Erda Rama Saura², dan Rinidar³

¹Laboratorium Klinik Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

²Program Studi Pendidikan Dokter Hewan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

³Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

E-mail : farhanayash@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan memodelkan interaksi molekuler enzim Sarcoendoplasmic Reticulum Ca^{+} (SERCA) oleh kurkumin-artemisin dan turunannya secara *in silico*. Penelitian ini menggunakan 10 senyawa obat yaitu kurkumin, analog 1, analog 2, analog 3, analog 4, artemisin, dihidroartemisin, artemeter, artesunat dan ATP. Senyawa penambatan yang digunakan adalah 2EAS yang didapat dari situs *Protein Data Bank* (PDB). Senyawa ujinya yaitu kurkumin, analog 1, analog 2, analog 3, analog 4, artemisin, dan turunannya. Semua ditambatkan menggunakan aplikasi *ArgusLab 4.0.1*. Proses penambatan dilakukan dengan metode *ArgusDock*. Hasil analisa menunjukkan semua senyawa uji mampu berikatan dengan reseptor SERCA. Berdasarkan penelitian ini disimpulkan bahwa kurkumin dan analognya mampu menghambat ikatan ATP-reseptor secara kompetitif yang ditandai dengan energi Gibbs (ΔG) yang lebih besar. Hal ini menunjukkan ikatan kurkumin dan analognya lebih stabil daripada ikatan ATP terhadap reseptornya, sedangkan artemisin dan turunannya mampu berikatan dengan SERCA pada *site binding domain* ion Fe^{+2} .

Kata kunci: kurkumin, artemisin, SERCA, *in silico*

ABSTRACT

This study aimed to model molecular interactions between Sarcoendoplasmic Reticulum Ca^{+} (SERCA) with curcumin-artemicycyn combination and several analogue compounds in silico. This study used 10 drug compounds that were curcumin, analogue 1, analogue 2, analogue 3, analogue 4, artemicyn, dihydroartemicycyn, artemeter, artesunate, and ATP. The SERCA receptor used was 2EAS obtained from the website of PDB (Protein Data Bank). The test compounds were curcumin, analogue 1, analogue 2, analogue 3, analogue 4, artemicyn and its derivatives. All compounds were docked using ArgusLab 4.0.1 applications. The docking process performed by the methode of ArgusDock. The analysis showed that all the compounds could bind with SERCA receptor. Based on the experiment concluded that curcumin and the analogues could inhibit the binding of receptor ATP (Gibs free energy (ΔG) of curcumin and its analogue bigger than ATP). It showed that curcumin and the analogues were stabler than the binding of receptor ATP and the reseptor. While artemicyn and its derivates could bind with SERCA on Fe^{+2} ion domain site binding.

Key words: curcumin, artemicyn, SERCA, *in silico*

PENDAHULUAN

Kurkumin merupakan senyawa aktif yang terdapat pada beberapa rimpang tanaman obat seperti kunyit dan temulawak. Penelitian tentang kurkumin sudah mencapai uji klinik dan telah dipatenkan seperti curcuma plus® sebagai perangsang nafsu makan. Neera dan Krishna (2009) melaporkan kurkumin memiliki *site binding* pada enzim *Sarco/endoplasmic reticulum Ca^{2+} ATPase* (SERCA) *Plasmodium falcifarum*, obat malaria seperti artemisin juga memiliki *site binding* pada enzim ini. Lebih lanjut laporan tersebut menyebutkan bahwa kurkumin meningkatkan efek antimalaria dari artemisin. Oleh Karena itu diperlukan kajian pengaruh keberadaan kurkumin pada artemisin terhadap enzim *Sarco/endoplasmic reticulum Ca^{2+} ATPase*.

Sarco/endoplasmic reticulum Ca^{2+} ATPase (SERCA) adalah protein saluran pompa ion Ca^{+} yang terikat dengan ATP yang bekerja pada saat metabolisme sel. Enzim tersebut juga terdapat pada plasmodia. Hasil uji pendahuluan dilakukan penelusuran sekuens enzim SERCA *Plasmodium falcifarum* dan ditemukan kode sekuens *Plasmodium*

falcifarum dari situs GeneDB yaitu PFA0310c. Dengan bantuan situs www.uniprot.org diketahui protein ini memiliki sekuens sebanyak 1228 pasang basa, namun belum memiliki struktur 3D. Oleh karena itulah peneliti akan membuat struktur 3D model sekuens ini terlebih dahulu, kemudian baru dilakukan *docking* kurkumin dan analognya. *Docking* dilakukan menggunakan aplikasi Arguslab 4.01.

Artemisin merupakan senyawa seskuiterpen laktone yang diekstrak dari *Artemisia annua* yang merupakan obat baru yang berasal dari Cina (*Qinghaosu*), memberikan efektivitas yang tinggi terhadap strain yang multiresisten. Senyawa ini menunjukkan sifat skizontosida darah yang cepat, dengan waktu paruh ± 2 jam baik secara *in vitro* maupun *in vivo*, sehingga bisa digunakan untuk malaria yang berat. Selain itu, artemisin mampu menurunkan transmisi malaria di daerah endemis karena artemisin bersifat gametositidal (Sukarban dan Bustomi, 1995).

Mekanisme kerja artemisin awalnya pada jembatan peroksida. Obat artemisinin diketahui bekerja secara spesifik selama tahap eritrositik. Struktur jembatan peroksida artemisinin diputus oleh ion Fe^{2+} menjadi

radikal bebas yang reaktif. Radikal artemisin ini kemudian menghambat dan memodifikasi berbagai macam molekul dalam parasit yang mengakibatkan parasit tersebut mati. Sumber ion Fe^{2+} intrasel berasal dari heme (komponen penting dalam hemoglobin (Paul *et al.*, 2010).

Artemisinin dalam sitosol *Plasmodium* juga berikatan dan menghambat *sarcoplasmic/endoplasmic reticulum* Ca^{2+} -ATPase (SERCA) sehingga mengganggu keseimbangan konsentrasi ion kalsium. Hal ini yang mengakibatkan terhambatnya endositosis sitosol eritrosit oleh parasit tersebut. Selain itu, ikatan tersebut kemudian bergabung dengan hem (termasuk hem yang terdapat dalam enzim rantai respirasi di mitokondria parasit) sehingga menyebabkan timbulnya radikal bebas karbon yang akan merusak membran mitokondria, endoplasmik retikulum, serta membran parasit (Golenser *et al.*, 2006).

Ikatan yang terbentuk antara SERCA plasmodium dengan artemisin menyebabkan perubahan struktur geometri SERCA, implikasinya adalah afinitas Adenin Triphosfat (ATP) pada *site binding* SERCA juga akan berubah mengalami penurunan bahkan sama sekali tak dapat lagi berikatan satu sama lain. Otomatis proses regulasi ion Ca^{2+} dan ion lainnya mengalami kegagalan, pada akhirnya proses metabolisme sel menjadi terganggu.

Selain artemisin senyawa lain yang diduga memiliki reseptor yang sama pada SERCA adalah kurkuminoid. Neraa dan Krisna (2009) melaporkan bahwa kurkumin mampu menghambat aktivitas SERCA *Plasmodium falcifarum* (PfATP6), lebih lanjut. Kemampuan kurkumin dapat meningkatkan aktivitas antiplasmodium dari artemisin. Informasi yang senada juga dilaporkan Jung *et al.*, (2005) yang berhasil mengidentifikasi kemungkinan posisi *site binding* artemisin dan kurkumin pada reseptor SERCA tersebut.

Pada penelitian ini diamati pola interaksi antara artemisin dan kurkumin pada reseptor SERCA melalui pendekatan *in silico*. Pendekatan ini dipilih karena memiliki keuntungan tersendiri dibandingkan pendekatan *in vivo* maupun *in vitro*. Keuntungan tersebut antara lain adalah waktu penelitian yang lebih sedikit dan biaya yang jauh lebih murah. *Screening* senyawa obat secara *in vitro* dan *in vivo* merupakan proses yang membutuhkan biaya besar dan waktu yang lama, sedangkan *screening database* molekul dari senyawa model dapat dijadikan alternatif dalam pemilihan senyawa uji dalam rangka penemuan obat (Ekins *et al.*, 2007).

MATERI DAN METODE

Pada penelitian ini menggunakan perangkat keras berupa laptop dengan spesifikasi *random access memory* sebesar 3 GB. Komputer terhubung dengan internet. Perangkat lunak yang digunakan berupa *Pymol*, *ChemDraw 2006*, *UCSF Chimera*, *Arguslab*, dan *VegaZZ*. Bahan berupa data struktur 2D kurkumin, artemisin dan masing-masing analognya. Kurkumin, analog kurkumin, artemisin, dihidroartemisin, artemeter dan artesunat yang direkonstruksi struktur

dua dimensinya menggunakan program *ChemDraw 2006*. Bahan protein yang digunakan dalam penelitian ini adalah struktur 3 dimensi makromolekul *sarcoendoplasmic reticulum* Ca^{2+} yang diunduh dari PDB. Digunakan *sarcoendoplasmic reticulum* Ca^{2+} mamalia dengan kode PDB 2EAS.

Prosedur Penelitian

Pembuatan struktur 3 dimensi ligan (kurkumin dan analognya; artemisin dan turunannya serta adenosine triphosphat)

Struktur 3 dimensi semua senyawa yang digunakan dibuat menggunakan program Chem 3D Ultra. Bentuk ini berdasarkan data 2 dimensinya. Setelah dibentuk secara manual, struktur tersebut disimpan sebagai suatu *template*. Kemudian struktur tersebut dioptimasi melalui aplikasi *VegaZZ*. Proses optimasi tersebut meliputi penambahan hidrogen, diperbaiki muatannya dengan menambahkan muatan parsial *Gasteiger Charges* dan diberi *forcefield Am1bccs*, minimisasi serta pencarian konformasi.

Pengunduhan makromolekul target penambatan (reseptor)

Makromolekul diunduh dari situs penyedia PDB makromolekul <http://www.pdb.org>. Kemudian di masukkan identitas struktur tiga dimensi yang diinginkan untuk diunduh. Data makromolekul disimpan sebagai bentuk pdb. Dalam penelitian ini, data makromolekul yang diunduh adalah 2EAS, merupakan makromolekul SERCA pada mamalia yang memenuhi syarat sebagai model SERCA *Plasmodium falcifarum* 3D7 dengan tingkat kemiripan $\pm 45\%$ ($>30\%$). Lebih lanjut makromolekul ini juga memiliki kemiripan yang hampir sama pada domain alfa heliks *Plasmodium falcifarum* 3D7, domain tersebut diduga sebagai *site binding* obat antimalaria yang diaktivasi logam (ion Fe^{2+}).

Validasi Metode Docking

Program *ArgusLab* divalidasi untuk mendapat metode yang dapat dipercaya. Reseptor yang digunakan adalah 2EAS yang didapat PDB. Ligan pembanding di-copy, di-paste dan ligan yang dihasilkan disebut ligan copy. Ligan copy ditambatkan pada *ligand binding site reseptor* dengan metode *ArgusDoc*. Kemudian dilakukan perbandingan nilai ikatan antara ligan pembanding-*ligand binding site* reseptor dengan ikatan *ligan copy-ligand binding site reseptor*. Analisis data perbandingan nilai dinyatakan dengan *rate mean square deviation* (RMSD). Metode penambatan dikatakan baik jika nilai RMSD-nya lebih kecil atau sama dengan $2,5 \text{ \AA} (\leq 2,5 \text{ \AA})$. Jika nilai RMSD yang diperoleh lebih besar dari $2,5 \text{ \AA}$, metode yang digunakan tidak dapat dipercaya.

Pemisahan rantai makromolekul untuk target penambatan

Struktur tiga dimensi dari *sarcoendoplasmic reticulum* Ca^{2+} memiliki rantai-rantai. Rantai pada makromolekul tersebut dipisahkan menggunakan

aplikasi *UCSF Chimera*. Hasil pemisahan tersebut akan digunakan dalam pengujian superposisi. Makromolekul yang memiliki banyak rantai umumnya tidak dapat disuperposisi secara langsung sehingga dipisahkan terlebih dahulu. Makromolekul juga dipisahkan dari pelarut (air) dan ligand atau residu nonstandar menggunakan perangkat lunak yang sama.

Superposisi Rantai

Superposisi rantai dilakukan menggunakan *PyMol* seperti yang dilakukan oleh DeLano dan Bromberg (2009), Rantai makromolekul yang telah dipisahkan sebelumnya digunakan sebagai bahan superposisi, superposisi dilakukan dengan keluaran (*output*) file disimpan dengan menggunakan format *pdb*. Rantai dalam satu makromolekul disuperposisi dengan rantai lain dalam makromolekul tersebut. Apabila superposisi antar rantai tersebut menghasilkan struktur yang mirip satu sama lain maka dipilih salah satunya saja sebagai target penambatan.

Optimasi molekul untuk persiapan Penambatan

Makromolekul yang sudah disuperposisi kemudian disiapkan untuk penambatan. Makromolekul dioptimasi dengan menggunakan aplikasi *VegaZZ*. Struktur tiga dimensi dari makromolekul tersebut ditambahkan kembali atom hidrogen. Makromolekul kemudian diperbaiki muatannya dengan menambahkan muatan parsial *Gasteiger Charges* dan diberi *forcefield Autodock*.

Penambatan molekul

Penambatan molekul dilakukan menggunakan program *Arguslab 4.01*. Struktur makromolekul dan ligand yang ditambatkan dan telah dioptimasi secara terpisah disimpan dalam satu *folder* yang sama. *Binding site* reseptor diketahui pada residu asam amino Arg (*arginine*) 560 yang merupakan *binding site* ATP eksperimental, kurkumin dan analognya. Hasil penambatan disimpan dalam format *pdb*. dengan makromolekul, sedangkan *binding site* artemisin dan turunannya diperoleh dari temuan Jung *et al.* (2005) yang melaporkan pada asam amino Phe273.

Tahap awal penambatan dimulai oleh artemisin dan turunannya pada asam amino Phe273. Tahap kedua penambatan dilakukan pada ATP (adenosine triphospat) sebagai substrat SERCA 2EAS (agonis), kurkumin dan 4 analognya sebagai bahan uji antagonis pada asam amino Arg 560.

Evaluasi penilaian (*scoring*) visualisasi hasil penambatan

Hasil penambatan divisualisasi dalam bentuk gambar menggunakan *PyMOL*. Energi ikatan *reseptor-ligand* yang diperoleh melalui program *Arguslab* ditabulasikan dalam tabel.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan laporan Junk *et al.* (2005) SERCA dengan kode PDB 1IWO adalah acuan reseptor target

penambatan/*docking* obat antiplasmodium. Namun setelah dilakukan uji validasi aplikasi *docking Arguslab 4.01* terhadap reseptor 1IWO tak memenuhi syarat karena deviasi hasil penambatan ulang substrat hasil eksperimen melebihi batas yang disyaratkan ($>2,5 \text{ \AA}$). Maka dilakukan proses penyesuaian sekuens 1IWO dengan beberapa enzim SERCA sebagai alternatif pengganti 1IWO menggunakan aplikasi *VegaZZ Clustal IX*. Hasil penelusuran penyesuaian terhadap kesamaan sekuens, menunjukkan bahwa enzim SERCA dengan kode PDB 2EAS merupakan enzim SERCA yang paling layak digunakan sebagai model SERCA, karena selain mirip terutama pada domain α -heliks juga memenuhi nilai validasi yang dipersyaratkan dalam *docking*.

Tabel 1 Validasi Ligand 1005 CZA (Substrat SERCA eksperimental)

	Parameter Validasi		RSMD
	Calculate Size	Grid Box	
X	226.684		2,378 Å
Y	156.066	0,4	
Z	180.609		

Parameter validasi dalam *docking ligand-receptor* adalah nilai RSMD (*Road Mean Square Deviation*) yaitu suatu nilai yang menunjukkan tingkat penyimpangan apabila suatu ligan/mikromolekul didocking terhadap ligan yang sama hasil eksperimen. Hasil validasi dari Tabel 1 di atas menunjukkan nilai RSMD 2,378 Å ($\leq 2,5 \text{ \AA}$), dengan demikian reseptor dan aplikasi *Arguslab 4.01* memenuhi syarat untuk dilakukan *pendocking*.

Reseptor SERCA memiliki 3 domain utama yaitu struktur α -heliks, domain ion Ca^{+2} dan ATP. Namun informasi tentang domain ion Ca^{+2} dan ATP masih sangat terbatas (Jung *et al.*, 2005). Struktur α -heliks diduga sebagai kunci aktivitas antimalaria terhadap golongan obat-obat yang memiliki jembatan peroksida seperti artemisin. Pada struktur α -heliks terdapat ion Fe^{+2} yang secara teoritis memutus jembatan peroksida dari artemisin dan turunannya. Dugaan ini diperkuat oleh adanya *Thapsigargin* (TGP) hasil uji eksperimen (yang merupakan senyawa turunan laktone sebagaimana artemisin) diketahui memiliki *site binding* pada struktur α -heliks, TGP selain berikatan dengan asam amino reseptor SERCA 1IWO juga memiliki ikatan ionik dengan ion Fe^{+2} .

Thapsigargin memiliki *site binding* pada asam amino ILEU1041 pada enzim SERCA model 1IWO (jumlah residu asam amino 1228), namun karena jumlah model 2EAS yang digunakan memiliki kurang dari 1000 residu asam amino maka penambatan dilakukan pada asam amino lain yang secara teoritis berhasil diperoleh oleh Jung *et al.* (2005) sebagai *site binding* artemisin hasil komputasi model SERCA *Plasmodium falcifarum 3D7*. *Site binding* tersebut adalah LEU263, ILE272, and PHE273.

Hasil *docking* tersebut menunjukkan bukti artemisin dan turunannya berikatan dengan reseptor SERCA parasit. Nilai negatif energi bebas *Gibs* secara

termokimia diterjemahkan sebagai energi yang dilepaskan disebabkan ikatan ligan-reseptor menuju kestabilan. Hasil *docking* tersebut sejalan dengan hasil *docking* yang dilakukan Jung *et al.* (2005) yang melaporkan artemisin memiliki site binding pada SERCA *Plasmodium* yang ditandai dengan terjadinya pelepasan energi akibat ikatan yang terbentuk.

Mekanisme kerja artemisin sejauh ini dipusatkan pada peran ion Fe^{+2} yang mampu memutus jembatan endoperoksida artemisin sehingga menjadi radikal dan merusak jaringan sekitarnya. Logam ini sangat vital bagi parasit dalam menetralkan hasil degradasi hemoglobin sel host menjadi hematin yang bersifat toksik menjadi hemozoin yang tidak toksik pada parasit. Parasit melakukan degradasi oleh enzim proteasenya terhadap hemoglobin *host* untuk mendapatkan suplai peptida dan asam amino demi pertumbuhan dan perkembangan parasit. Untuk menghindari sifat toksik ini, secara alamiah hematin parasit akan menarik ion Fe^{+2} dan mencegah terbentuknya ion Fe^{+2} teroksidasi membentuk ion Fe^{+3} . Satu elektron yang dilepaskan inilah pemicu sifat keradikalan artemisin. Dengan adanya interaksi antara artemisin dan Fe^{+2} ini menyebabkan suplai ion besi yang dibutuhkan parasit membentuk kompleks hemozoin yang tidak toksik menjadi berkurang. Peran artemisin adalah menangkap ion Fe^{+2} sehingga produk hematin semakin banyak (toksik bagi parasit sendiri), di sisi lain jembatan peroksida Artemisin jika bertemu dengan ion Fe^{+} akan teraktivasi sifat radikal artemisin sehingga menambah efektivitas antiplasmodiumnya (Jung *et al.* 2005). Selain itu artemisin juga mampu merubah konformasi geometri reseptor SERCA yang menyebabkan afinitas ligand lain menjadi terganggu bahkan terhalang sama sekali diantaranya adalah afinitas (ATP).

Kurkumin diketahui juga memiliki *site binding* pada SERCA (Neera dan Krishna. 2009). Walaupun belum ada informasi posisi *site binding* kurkumin dengan reseptor SERCA namun suatu laporan menyebutkan bahwa kurkumin mampu mengambat aktivitas ATP reseptor SERCA (Majeed *et al.* 1995) yang menjelaskan peran kurkumin dalam mempengaruhi regulasi transport ion Ca^{+2} dengan menghambat ikatan ATP pada asam amino *site binding*nya. Sebagaimana hasil penelusuran yang dilakukan terhadap ATP-SERCA eksperimental menunjukkan bahwa banyak sekali ikatan antara asam amino SERCA dengan ATP. Setelah dilakukan skrining satu persatu diperoleh *site binding* yang menunjukkan ikatan yang paling kuat antara ATP dengan SERCA adalah pada asam amino ARG560. Hasil *docking* ATP dengan asam amino ARG560 SERCA diperoleh energi bebas Gibbs sebesar -8,443 kkal/mol. Demikian juga kurkumin *didocking* pada lokasi yang sama diperoleh energi bebas Gibbs sebesar -10,242 kkal/mol. Hasil ini menunjukkan bahwa kurkumin lebih stabil dan terbukti memiliki afinitas yang lebih baik ketimbang ATP pada reseptor SERCA, sehingga kurkumin dapat menghambat ikatan ATP dengan reseptornya secara kompetitif, sehingga regulasi ion Ca^{+2} sebagai salah satu proses yang paling

penting dalam metabolisme sel menjadi terganggu. Hal yang sama juga ditunjukkan oleh beberapa analog kurkumin.

Kombinasi peran artemisin-kurkumin dan turunannya masing-masing memungkinkan peningkatan daya anti parasit terhadap *Plasmodium falcifarum*. Mekanisme kerjanya pada reseptor SERCA memang berbeda namun keduanya secara teoritis bekerja menurunkan proses yang paling vital terhadap keberlangsungan hidup parasit. Kurkumin menghambat ikatan ATP, otomatis suplai energi parasit dan metabolismenya terganggu. Selain itu, ion Fe^{+2} parasit seharusnya digunakan untuk menetralkan senyawa toksik (hematin) hasil penguraian hemoglobin sel *host* malah diambil alih oleh artemisin sehingga produk antara yang toksik tersebut menumpuk dalam sel parasit sendiri. Lebih jauh terbentuknya kompleks artemisin dengan ion Fe^{+2} , parasit malah semakin menjadikan artemisin semakin radikal. Karena ion Fe^{+2} parasit akan memutus jembatan peroksida dan mengaktifkan ketoksikan artemisin. Informasi ini diperkuat oleh penelitian *in vitro* yang dilakukan oleh (Neera dan Krishna, 2009), yang menyebutkan kurkumin dan turunannya mampu meningkatkan daya hambat artemisin terhadap pertumbuhan parasit *Plasmodium falcifarum*.

KESIMPULAN

Artemisin dan turunannya terbukti memiliki *site binding* pada reseptor SERCA pada domain *alpha*-heliks asam amino Phe273. Demikian juga kurkumin dan analognya pada asam amino Arg560. Artemisin bersifat radikal merusak organel vakuola dan jaringan sel parasit lainnya sedangkan kurkumin dan beberapa analognya meningkatkan daya antimalaria dari artemisin melalui mekanisme inhibisi *binding* ATP terhadap reseptor SERCA dalam proses metabolisme plasmodium.

DAFTAR PUSTAKA

- DeLano, W.L. and S. Bromberg. 2009 PyMOL User's Guide. <http://pymol.sourceforge.net/newman/userman.pdf/>. 20 April 2013
- Ekins, S., J. Mestres, and B. Testa. 2007. *In silico* pharmacology for drug discovery. Application to targets and beyond. *British Journal of Pharmacology Review*. 152:21-37.
- Golenser J, J.H. Wankine, M. Krugliak, and N.H. Hunt. 2006. Grau GE. Current perspectives on the mechanism of action of artemisinins. *Int J Parasitol*. 36(14):1427-41.
- Jung, M., H. Kim, K.Y. Nam, and T.K. No. 2005. Three-Dimensional Structure of Plasmodium falciparum Ca^{+2} -ATPase (PfATP6) and Docking of Artemisinin Derivatives to PfATP6. *Bioorg. Med. Chem. Lett*. 15: 29-94.
- Majeed, M., V. Badmaev, U. Shivakumar and R. Rajendran. 1995. Mechanism of action of artemisinin-the debate continues. *Review Molecules* 15:1705-1721.
- Neera, S. and M. Krishna. 2009. Computational screening of molecular targets in Plasmodium for novel non resistant anti-malarial drugs. *Nature* 415(7):680-685.
- Paul M.O, Victoria E.B. and Stephen A. W. 2010. The molecular mechanism of action of artemisinin-the debate continues. *Review Molecules* 15:1705-1721.
- Sukarban, S. dan Bustami, Z.S.1995. **Farmakologi dan Terapi** Edisi ke 4. Gaya Baru, Jakarta