

**MOLEKULER DOCKING TERHADAP RESEPTOR
PEROXISOME PROLIFERATOR-ACTIVED RECEPTOR-GAMMA
(PPAR- γ) SEBAGAI ANTIDIABETES**

**MOLECULAR DOCKING ON PEROXISOME PROLIFERATOR-
ACTIVED RECEPTOR-GAMMA (PPAR- γ) RECEPTORS AS
ANTIDIABETIC**

**Okta Nursanti^{1*}, Dayu Liandra², Ginayanti Hadisoebroto²,
Dytha Andri Deswati²**

¹Fakultas Farmasi Militer, Universitas Pertahanan Republik Indonesia

²Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Program Studi Farmasi
Universitas Al- Ghifari

*Email Corresponding: okta.nursanti@yahoo.com

Submitted: 23 September 2022 Revised: 29 November 2022 Accepted: 29 December 2022

ABSTRAK

Diabetes mellitus (DM) merupakan penyakit kronik yang muncul baik ketika pancreas tidak mampu memproduksi cukup insulin ataupun ketika tubuh tidak dapat menggunakan insulin yang diproduksi secara efektif tanaman atau tumbuhan telah banyak digunakan oleh masyarakat sebagai pencegah serta pengobatan penyakit diabetes dan juga sebagai suplemen kesehatan. Di dalam nya terkandung senyawa-senyawa yang dapat berperan sebagai obat antidiabetes. Salah satu reseptor yang berperan dalam pengobatan diabetes adalah *Peroxisome Proliferator-Activated Receptor-Gamma (PPAR- γ)* yang bertanggung jawab terhadap sensitisasi insulin dalam jaringan adiposa. Dalam penelitian ini, interaksi antara senyawa-senyawa dalam tanaman paitan (*Tithonia diversifolia*), klabet (*Trigonella foenum-graecum Linn*), daun salam (*Syzygium polyanthum*), mengkudu (*Morinda citrifolia, L*), dan lidah buaya (*Aloe vera*) sebagai ligan, dengan *PPAR- γ* diamati menggunakan perangkat lunak Arguslab, merupakan suatu program yang dapat menambatkan molekul ligan pada makromolekul reseptor. Perangkat lunak penambatan molekul yang digunakan adalah Arguslab versi 4.0.1 Dari hasil penambatan molekul (*Molecular Docking*) menunjukkan bahwa senyawa-senyawa digunakan aman dan lolos dari uji ADMET, *Binding Energy* delapan ligan tersebut lebih besar dibandingkan ligan alami pioglitazone pada RMSD < 2 Angstrom, tetapi ada satu ligan yang *binding energy* nya mendekati pioglitazone yaitu *lycine* dengan nilai *binding energy* -7.34728 Kcal/mol.

Kata kunci : Diabetes, *PPAR- γ* , Penambatan molekul, Arguslab, Daun paitan

ABSTRACT

Diabetes mellitus (DM) is a chronic disease that arises either when the pancreas is unable to produce enough insulin or when the body cannot effectively use insulin produced by plants or plants has been widely used by the com Diabetes mellitus (DM) is a chronic disease that arises either when the pancreas is unable to produce enough insulin or when the body cannot effectively use the insulin produced by plants or plants have been widely used by the community as prevention and treatment of diabetes and also as a health supplement. It contains compounds that can act as antidiabetic drugs. One receptor that plays a role in the treatment of diabetes is the Peroxisome Proliferator-Activated Receptor-Gamma (PPAR- γ) which is responsible for insulin sensitization in adipose tissue. In this study, interactions

between compounds in (*Tithonia diversifolia*), (*Trigonella foenum-graecum* Linn), (*Syzygium polyanthum*), (*Morinda citrifolia*, L), and (*Aloe vera*) as ligands, with PPAR γ observed using Arguslab software, were a program that can tether ligand molecules. at macromolecular receptors.

Keywords: Diabetes, PPAR- γ , Molecular tethering, Arguslab, *Tithonia diversifolia*

PENDAHULUAN

Indonesia sangat kaya dengan sumber daya alam hayati berupa tanaman obat. Banyak diantara tanaman tersebut digunakan sebagai obat tradisional oleh masyarakat secara turun temurun, baik untuk menjaga kesehatan, mencegah, dan atau mengobati penyakit. Namun, penggunaan obat ini dalam pengobatan belum didasarkan pada bukti-bukti yang dapat di pertanggungjawabkan secara ilmiah. Agar obat tradisional dapat dimasukkan kedalam pelayanan kesehatan formal, maka perlu dilakukan uji praklinis untuk membuktikan kerja farmakolgi. Kelebihan penggunaan obat tradisional adalah efek samping yang ditimbulkan relatif sedikit dibanding dengan pengobatan secara kimiawi (Lanywati, 2001).

Salah satu obat tradisional yang digunakan adalah daun paitan (*Tithonia diversifolia*, H). Tanaman ini kurang dikenal oleh masyarakat Indonesia, tanaman ini ternyata memiliki manfaat sangat besar bagi pengobatan. Salah satunya untuk menanggulangi penyakit Diabetes Melitus (Rahmawati, 2013). Diabetes melitus merupakan penyakit menahun yang disebabkan oleh gangguan metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein dalam tubuh. Merupakan suatu kelompok penyakit metabolik dengan karakteristik hiperglikemik yang terjadi karena kelainan sekresi insulin, kerja insulin, atau kedua-duanya. Penyebab Diabetes Melitus adalah kurangnya hormon insulin, hormon ini diperlukan untuk mengubah gula menjadi tenaga (Amanatie & Sulistyowati, 2015).

Jumlah penderita diabetes di Indonesia menduduki posisi keempat terbesar setelah negara India, China dan Amerika (WHO). Pada tahun 1995, prevalensi penderita Diabetes Melitus pada orang dewasa diperkirakan 4% dari jumlah penduduk di dunia pada tahun 2020 diperkirakan akan mengalami peningkatan hingga 5,4%. terdapat 178 juta penduduk dewasa artinya akan ada 8 juta penderita Diabetes Melitus.

Reseptor inti dari kelompok *Peroxisome Proliferator-Activated Receptors* (PPARs) merupakan salah satu yang berperan dalam pengaturan *diferensi adiposity*, pada lipid dan homeostatis glukosa. PPAR- γ berperan dalam proses sensitisasi insulin, dan digunakan sebagai target terapi Diabetes Melitus tipe 2. Obat antidiabetes golongan tiazolidindion bekerja dengan terikat pada PPAR- γ , sehingga meningkatkan perangsangan insulin oleh reseptor *glukocose transporter 4* (GLUT4) dan sintesis glikogen yang menyebabkan peningkatan sinyal insulin dan sensitifitas insulin (Coman dan Socacin, 2012).

Tithonia diversifolia, H (Paitan) merupakan spesies tanaman berbunga dari keluarga *Asteraceae*. Tanaman paitan bersifat semusim atau menahun dengan ketinggian 2-3 m, berupa semak yang tumbuh secara liar. Nama lain dari daun paitan adalah *the tree marigold*, *Mexican tounesol*, *Mexican sunflower*, *japanese sunflower* dan *Nitobechrysanthenum*. Tanaman ini diduga berasal dari Meksiko yang memiliki ciri daun menjari, batang kayu, dan memiliki bunga berwarna kuning cerah mirip dengan bunga matahari (Syamsuhidayat dan Hutapea, 1991).



Gambar 1. Tanaman Paitan (*Tithonia diversifolia*)

Kimia komputasi adalah cabang ilmu kimia yang memanfaatkan program komputer untuk menghitung parameter-parameter yang dimiliki oleh atom. Parameter yang selalu dilibatkan dalam perhitungan ini adalah elektron-elektron yang dimiliki oleh atom. Dengan perhitungan ini, atom atau senyawa dapat dipelajari secara lengkap tanpa melalui studi empiris di laboratorium. Studi ini dapat memenuhi kebutuhan informasi tentang materi kimia yang sulit diperoleh dari studi laboratorium karena objek yang susah dideteksi, kondisi reaksi yang berbahaya, dan faktor-faktor yang lain. Salah satu ruang lingkup kimia komputasi yang banyak digunakan adalah Hubungan Kuantitatif Struktur Aktivitas (HKSA). HKSA dapat digunakan untuk mempelajari hubungan antara struktur molekul dengan aktivitas biologisnya yang dinyatakan secara kuantitatif. Salah satu metode yang sering digunakan adalah metode semi empirik. Metode ini banyak dipilih karena parameter yang dihitung hanya elektron valensi atom-atomnya sehingga waktu analisisnya relatif singkat. Teknik ini menggunakan data algoritma secara statistika yang secara kuantitatif menentukan perbedaan antara aktivitas senyawa dengan perubahan deskriptor tiap molekulnya. Deskriptor tersebut dapat dinyatakan sebagai angka yang merupakan transformasi dari struktur molekuler (Elkawni, 2015).

Metode ini sangat cocok untuk memprediksikan senyawa obat untuk penyakit-penyakit yang mematikan. Salah satu penyakit tersebut adalah penyakit gula atau Diabetes Melitus. Diabetes Melitus dibagi menjadi dua tipe, yaitu Diabetes Melitus tipe 1 terjadi karena kegagalan produksi insulin. Sedangkan Diabetes Melitus tipe 2 terjadi karena kegagalan sel dalam menggunakan insulin. Secara global, sekitar 90% dari 285 juta orang penderita diabetes adalah penderita Diabetes Melitus tipe 2 pada tahun 2010. Jumlah ini diperkirakan akan meningkat menjadi hampir dua kali lipat pada tahun 2030.

Tujuan dilakukan penelitian ini adalah :

1. Melihat interaksi yang terjadi antara senyawa dalam tanaman daun paitan setelah dilakukan penambatan molekul dengan target reseptor PPAR γ dengan antidiabetes dengan *native ligand* (pembanding) Pioglitazone.
2. Dapat mengetahui hasil penambatan molekul dari dalam tanaman daun paitan di sisi aktif, protein target reseptor PPAR γ sebagai antidiabetes menggunakan *software* arguslab.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan meliputi : Perangkat Keras (*Hardware*) yang akan digunakan pada penelitian ini adalah sebuah laptop merek ASUS dengan spesifikasi : Intel® Celeron® N 3060 dengan RAM 2GB, VGA Intel inside, dan Perangkat Lunak (*Software*) yang meliputi :

1. *Protein Data Bank* digunakan untuk mencari reseptor yang berpasangan dengan ligan uji, *Protein Data Bank* dapat di akses secara gratis di (<http://www.rcsb.org>).

2. *Pro Tox Prediction* di gunakan untuk memprediksi *ADMET* senyawa uji, dapat diakses secara gratis di (<http://tox.charite>).
3. *Lipinski Rule of Five* digunakan ununtuk memprediksi suatu molekul agar dapat dilanjutkan simulasi *docking*, dapat diakses secara gratis di (<http://www.scfbio-iitd.res.in>).
4. *Chebi* diakses untuk menggambar struktur kimia senyawa uji. *Chebi* dapat di akses secara gratis di (<https://www.ebi.ac.uk>).
5. *Swiss target* diakses untuk memprediksi metabolisme enzim dapat diakses di (<http://www.swisstargetprediction.ch/>).

Bahan yang digunakan meliputi : Reseptor 3D *Peroxisome, Proliferator-Activated Receptor Gamma (PPAR γ)*.

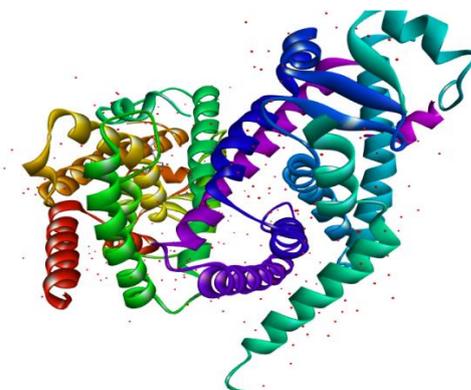
Struktur dari reseptor *Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma* dengan kode *protein data bank 5Y2O* yang diunggah dari PDB dengan experimental data snapshot.

Method : X – RAY DIFFRACTION

Resolution : 1.80 Å

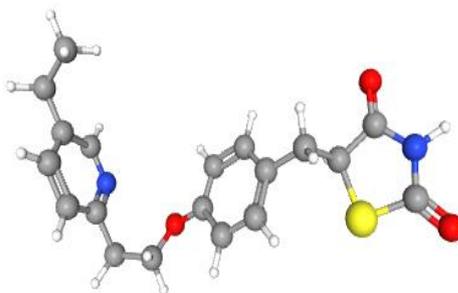
R-Value Free : 0.232

R-Value Work : 0.202



Gambar 2. Reseptor *Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma*

Ligan pembanding dalam penelitian ini menggunakan pioglitazone yang struktur kimianya diunduh dari ChEBI dalam format *mole file*.



Gambar 3. Struktur ligan pembanding Pioglitazone

Prosedur Penelitian

1. Pencarian ligan

Pencarian senyawa ligan dari tanaman daun paitan (*Tithonia diversifolia*) bisa diunduh dari *Chemical Entitas of Biological Interes datase (ChEBI)* (<https://www.ebiac.uk/chebi/>) merupakan kamus Entitas molekul yang tersedia bebas yang berfokus kepada senyawa kimia yang mengacu pada molekul, atom, ion, pasangan ion, ion radikal, conformer, yang dalam keadaan isotopik dan dapat diidentifikasi sebagai entitas yang dapat dibedakan secara terpisah.

Berikut adalah tahapan dalam pencarian ligan menggunakan *ChEBI* :

- a. Masuk ke data base *ChEBI* yang diakses secara gratis di (<https://www.ebi.ac.uk/chebi/>).
- b. Pada kolom '*search*' masukan nama senyawa yang akan kita teliti, setelah muncul senyawa yang dimaksud, double klik pada senyawa tersebut.
- c. Kemudian akan muncul tampilan senyawa beserta struktur molekulnya dalam bentuk 2D, kemudian diunduh dengan menggunakan format molfile pada format senyawa tersebut.
- d. Apabila nama senyawa yang kita cari tidak dapat ditemukan kita dapat menggambar struktur senyawa tersebut pada lembar kerja yang telah disediakan di *ChEBI*.
- e. Semua struktur senyawa dalam bentuk 2D diunduh dalam format molfile di *ChEBI* kemudian disimpan dengan nama masing-masing senyawa.

2. Uji Toksisitas

Senyawa dari tanaman daun paitan diuji menggunakan *Protox Web Server* yang dapat diakses secara gratis di (<http://tox.charite.de>). *Protox Web Server* adalah *software* yang dapat memprediksi toksisitas dari suatu senyawa yang sangat kecil disertai dengan prediksi keakuratan LD 50 %. Berikut langkah-langkah dalam mengakses *Protox Web Server* :

- a. Masuk ke *data base Protox Web Server* yang dapat diakses secara gratis di (<http://tox.charite.de>).
- b. Setelah memasuki *web Protox Web Server* klik '*TOX PREDICTION*' pada menu bar, kemudian akan masuk ke halaman berikutnya untuk uji toksisitas.
- c. Lalu pada kolom '*search*' pada *Pubchem Name* masukan nama senyawa yang akan kita teliti, kemudian akan diarahkan ke lembar kerja berikutnya dengan tampilan struktur senyawa yang dimaksud dengan tampilan 2D.
- d. Pada *icon addition models centang semua model toksik prediksi* kemudian tekan tombol *start tox-prediction* kemudian akan muncul hasil prediksi toksisitas senyawa yang akan di teliti.
- e. Setelah muncul halaman kerja prediksi toksisitas yang mencakup informasi seperti prediksi LD 50, *Average Similary*, *Prediction Accuracy* dan Model Toksisitas.
- f. *Lethal Dose 50 of reseptor (LD 50)* adalah dosis yang diberikan dalam bentuk miligran per berat badan hewan uji yang dapat menyebabkan 50% respon kematian pada hewan uji dalam jangka waktu tertentu.
- g. *Average Similary, Prediction Accuracy*. Prediksi toksistas pada suatu senyawa terbagi menjadi beberapa kelas seperti berikut :
 - 1) Kelas I: fatal jika tertelan ($LD50 \leq 5$)
 - 2) Kelas II: fatal jika tertelan ($5 < LD50 \leq 50$)
 - 3) Kelas III: beracun jika tertelan ($50 < LD50 \leq 300$)
 - 4) Kelas IV: berbahaya jika tertelan ($300 < LD50 \leq 2000$)
 - 5) Kelas V: mungkin berbahaya jika tertelan ($2000 < LD50 \leq 5000$)
 - 6) Kelas VI: tidak beracun ($LD50 > 5000$)
- h. Model toksisitas dalam *Protox Web Server* ditampilkan dalam bentuk tabel yang menggambarkan prediksi toksisitas terhadap tubuh yang meliputi hepatotoksik, sitotoksik, karsinogenik, mutagenik dan, imunotoksik, jika senyawa aktif berpotensi toksik dalam tabel akan tertulis '*active*' dengan latar berwarna merah dan jika senyawa tidak aktif dan tidak berpotensi toksik dalam tabel akan tertulis '*inactive*' dengan latar berwarna hijau.

3. Mencari struktur reseptor

- Struktur reseptor *PPAR γ* diunduh dari *Protein Data Bank* (PDB), dengan kode PDB ID: 5Y2O.
- Reseptor *PPAR γ* dipreparasi dengan menggunakan *software* Autodock Vina, dalam preparasi molekul ini yang dilakukan adalah penghilangan gugus H₂O (jika ada).
- Setelah dipreparasi, reseptor *PPAR γ* dan ligan alami pioglitazone yang telah dipisahkan disimpan dalam satu folder dengan format *pdb* dan format *sdf*.

Analisa Data

- Nilai *binding energy* yang didapat dari *molecular docking* antara tanaman daun paitan dengan reseptor *PPAR γ* dibandingkan dengan hasil/skor *binding energy molecular docking* antara ligan alami pioglitazone dengan reseptor *PPAR γ* .
- Jika hasil/skor *binding energy* yang didapat dari tanaman daun paitan lebih kecil/rendah dari *binding energy* ligan alami pioglitazone, maka dapat disimpulkan bahwa beberapa senyawa tersebut dapat bersaing untuk berikatan dengan reseptor *PPAR γ* .
- Hasil/skor *binding energy* yang terbaik yang didapatkan dari hasil *molecular docking* ditampilkan dalam bentuk tabel dan kemudian di visualisasikan tempat berikatan dan jenis ikatan molekulnya secara 3 dimensi (3D).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Protoc Web Server

Protoc adalah *server web* untuk toksisitas prediktif molekul kecil. Ini dirancang untuk berbagai format input untuk bahan kimia baik dengan nama generik, struktur, atau formula kimia dan mengklasifikasikan bahan kimia berdasarkan database referensi program. Model khusus ini menilai toksisitas "oral" prediktif dan akan menghasilkan beberapa hasil potensial seperti *Average Similarity*, *Prediction Accuracy*, *Prediction Accurasi*, LD 50, Klas Toksisitas dan Model Toksisitas.

Tabel I. Hasil Prediksi Toksisitas

No	Senyawa	LD ₅₀ mg/kg	Prediksi kelas toksisitas
1	<i>Linaool</i>	2200	5
2	<i>Champene</i>	5000	5
3	<i>Cineole</i>	2480	5
4	<i>Catechin</i>	10000	6
5	<i>Choline</i>	1391	4
6	<i>Lycine</i>	650	4
7	<i>Trigonellin</i>	5000	5
8	<i>Histidine</i>	15000	6

Prediksi toksistas pada suatu senyawa terbagi menjadi 6 kelas dengan ketentuan sebagai berikut:

- Kelas 1 fatal jika tertelan ($LD_{50} \leq 5$)
- Kelas 2: fatal jika tertelan ($5 < LD_{50} \leq 50$)
- Kelas 3: beracun jika tertelan ($50 < LD_{50} \leq 300$)
- Kelas 4: berbahaya jika tertelan ($300 < LD_{50} \leq 2000$)
- Kelas 5: mungkin berbahaya jika tertelan ($2000 < LD_{50} \leq 5000$)
- Kelas 6: tidak beracun ($LD_{50} > 5000$)

Dosis LD 50 adalah dosis yang diberikan dalam satuan mg per berat badan (mg/bb) terhadap hewan uji yang dapat mengakibatkan kematian pada 50% hewan uji dalam jangka waktu tertentu, semakin kecil *class* yang ditunjukkan maka semakin besar prediksi toksisitasnya dan sebaliknya semakin besar *class* yang ditunjukkan maka semakin aman juga suatu senyawa tersebut.

Toksisitas Target Organ

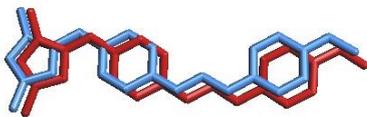
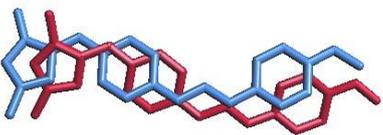
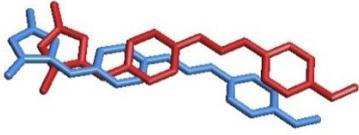
Tabel II. Hasil Prediksi Toksisitas Organ

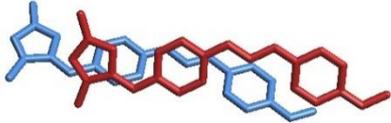
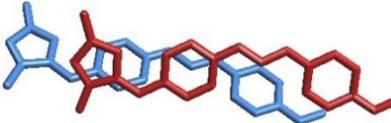
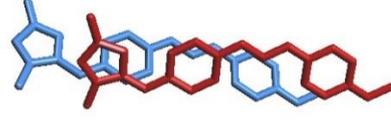
No	Senyawa	Hepatotoxicity	Carcinogenicity	Immunotoxicity	Mutagenicity	Cytotoxicity
1	Linaool	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak
2	Champene	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak
3	Cineole	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak
4	Catechin	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak
5	Choline	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak
6	Lycine	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak
7	Trigonellin	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak
8	Histidine	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak

Validasi Metode Docking dengan RMSD

Analisa hasil penambatan molekul pada penelitian ini meliputi nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD), serta interaksi ligan dengan residu protein. RMSD merupakan nilai yang digunakan untuk menentukan apakah prediksi modus ikatan tersebut berhasil dan penting untuk validasi program *docking*. Nilai RMSD dikatakan baik jika $\leq 2 \text{ \AA}$. Dengan penyimpangan bernilai besar, semakin besar kesalahan pada prediksi interaksi ligan dengan protein (Brooijmans, 2009). RMSD merupakan nilai penyimpangan antara satu konformasi ligan dengan pembandingnya.

Tabel III. Hasil Validasi

No	Perlakuan Docking	RMSD (Angstrom)	Gambar
	<i>Argusdock-Dock-Rigid</i>	0.4708	
1	<i>Argusdock-Dock-Flexible</i>	1.1154	
	<i>Argusdock-Dock-Selectid Tersion Only</i>	1.2216	

	<i>GADock-Rigid</i>	2.3113	
2	<i>GADock-Dock-Flexible</i>	2.3176	
	<i>GADock-Dock-Selectid Tersion Only</i>	2.3397	

Tabel IV. Hasil Penambatan molekul

No	Senyawa	Energi Bebas Kcal/mol
1	<i>Linalool</i>	-10.0607
2	<i>Champene</i>	-14.868
3	<i>Cineole</i>	-12.261
4	<i>Catechin</i>	-8.47889
5	<i>Choline</i>	-4.05296
6	<i>Lycine</i>	-7.34728
7	<i>Trigonellin</i>	-7.19393
8	<i>Pioglitazone</i>	-7.48157

Dari hasil docking, Nilai energi bebas dari senyawa *linalool*, *champene*, *cineole*, *catechin*, *choline*, *lycine*, *trigonellin*, *histidine*. Senyawa-senyawa di atas memiliki nilai energi bebas lebih rendah dan lebih tinggi dibanding dengan ligan alami pioglitazone sebagai ligan pembanding. Semakin kecil nilai energi bebas menunjukkan ikatan kompleks semakin kuat.

KESIMPULAN

Hasil penambatan senyawa-senyawa pada *Peroxisome Proliferator-Activated Receptor-Gamma (PPAR-γ)* dengan konformasi terbaiknya. Dari penelitian ini diperoleh kesimpulan bahwa :

1. Toksisitas Senyawa *linalool*, *champene*, *cineole*, *catechin*, *choline*, *lycine*, *trigonellin*, *histidine* sangat terbukti aman dengan hasil dari toksisitas kesamaan dan target organ tetapi ada satu senyawa yang toksik terhadap imun yaitu eugenol.
2. *Binding energy* dari senyawa *choline*, *lycine*, *trigonellin*, *histidine* lebih rendah dibandingkan dengan ligan pembanding pioglitazone, begitu juga dengan hasil RMSD semua senyawa memiliki nilai < 2 Angstrom. Tetapi ada empat ligan yang mendekati ligan pembanding pioglitazone yaitu *choline*, *lycine*, *trigonellin*, *histidine* dengan nilai energi -7.48157.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahren B. 2005 . Curr Enzyme Inhibit 1 : 65 – 73. *American Diabetes Association. Classification and diagnosis of diabetes. Sec. 2. In Standards of Medical Care in Diabetes 2015. Diabetes Care 2015;38(Suppl. 1):S8–S16*
- Amanatie, P. P. (2015). *Structure elucidation of the leaf of Tithonia diversifolia (Hemsl) gray. Jurnal Sains dan Matematika*
- Arisman, (2011). Diabetes Mellitus. *Dalam: Arisman, ed. Buku Ajar Ilmu Gizi Obesitas, Diabetes Mellitus dan Dislipidemia. Jakarta: EGC, 44-54.*
- Dalimartha, S. (2005). *Tanaman Obat di Lingkungan Sekitar. Jakarta: Penerbit Puspa Swara.*
- Handayani, L., 2004. Kejadian Diabetes Mellitus (DM), Perilaku Berisiko dan Kondisi Fisiologis Penderita DM di Indonesia. *Majalah Kesehatan Perkotaan Volume 14.*
- Hamzah, Baharudin. 2009. *Fitokimia 1. STIFA PM. Palu.*
- Harborne, J.B., (1987), *Metode Fitokimia*, Edisi ke dua, ITB, Bandung.
- Hinnen, Deborah dkk. 2006. *Incretin Mimetics and DPP-IV Inhibitor: New Paradigms for the Treatment Of Type 2 Diabetes 612-620.*
- Katzung, B.G., 2002, *Farmakologi Dasar dan Klinik*, diterjemahkan oleh Sjabana, D., Isbandiati, E., Basori, A., Soejdak, M., Uno, Indriyani., Ramadhani, R.B., Zakaria, S., Buku II, sixth edition, 352, 359, 360 dan 365, Penerbit Salemba Medika.
- Katzung, Betram G. 2010. *Farmakologi Dasar & Klinik Edisi 10. EGC:Yogyakarta.*
- Lanywati, E., 2001. *Diabetes Mellitus Penyakit Kencing Manis. Penerbit Kanisius, Yogyakarta.*
- Murray, R. K., Granner, D. K., & Rodwell, V. W. *Biokimia harper (27 ed.). Jakarta: Buku Kedokteran EGC; 2009.*
- Mycek MJ, Harvey RA, Champe PC. *Farmakologi Ulasan Bergambar. Jakarta: Widya Medika;200:407-415.*
- PERKENI., 2002. *Konsensus Pengelolaan Diabetes Mellitus Tipe 2 di Indonesia. Naskah Lengkap Pendidikan Kedokteran Berkelanjutan XVIII Ilmu Penyakit Dalam.*
- Syamsuhidayat, S.S dan Hutapea, J.R, 1991, *Inventaris Tanaman Obat Indonesia*, edisi kedua, Jakarta, Departemen Kesehatan RI.
- Siswandono dan Soekardjo, B., (2000). *Kimia Medisinal*. Edisi 2. Surabaya: Airlangga University Press. hal. 291.303
- S.A. Sulistijowati, D. Gunawan, *Efek Ekstrak Daun Kembang Bulang (Tithonia diversifolia A. Gray.) Terhadap Candida albicans serta Profil Kromatografinya*, in: *Media Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, 2001.*
- Tan, H. T., dan Kirana, R. (1978). *Obat-obat penting*. Jakarta: Elex Media Komputindo Kelompok Gramedia. Hal. 619-623.
- Verawati, Mimi, Novicaresa, *AKtifitas Anti Inflamasi Ekstrak Etanol Daun Kembang Bulan (Tithonia diversifolia. A. Gray) terhadap Mencit Putih Betina, 2015.*
- Wahyudi, E. (2015). *Studi Hubungan Kuantitatif Struktur Aktivitas Dari Amidasi Senyawa Etil-P-Metoksisinamat Sebagai Antiinflamasi Dengan Pendekatan Hansch dan Komputasi.*
- WHO., 2009. Integrated Chronic Disease Prevention And Control.*

