

STUDI IN SILICO POTENSI ANTIDIABETES SENYAWA AKTIF PRODUK FERMENTASI BIJI KACANG MERAH (*Phaseolus vulgaris* L.) DALAM MENGHAMBAT ENZIM ALPHA AMYLASE DAN MALTASE-GLUCOAMYLASE

Alifa Ishmahdina, Yoyon Arif Martino, Dini Sri Damayanti*
Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

ABSTRAK

Pendahuluan: Biji kacang merah dalam bentuk produk fermentasi mengandung senyawa aktif yang diketahui dapat menurunkan kadar glukosa darah diduga bekerja pada enzim α -amylase dan maltase-glucoamylase (MGAM). Tujuan penelitian ini memprediksi afinitas yang terbentuk antara senyawa aktif produk fermentasi biji kacang merah dengan enzim target dan memprediksi fisikokimia, farmakokinetik, toksisitas senyawa produk fermentasi biji kacang merah.

Metode: Penelitian secara in silico dilakukan pada 10 senyawa aktif yang dominan pada produk fermentasi biji kacang merah. Proses docking menggunakan metode *molecular docking* di web <http://www.dockingserver.com>. Menggunakan kontrol acarbose dan enzim α -amylase dan MGAM. Struktur 3D senyawa dan kontrol diambil dari Pubchem. Konversi format pdb menggunakan <http://swissmodel.expasy.org>. Analisa afinitas senyawa ligan terhadap enzim membandingkan energi bebas, konstanta inhibisi, interaksi permukaan, dan residu asam amino dengan acarbose. Analisa fisikokimia, farmakokinetik, dan toksisitas menggunakan pKCSM pada senyawa aktif produk fermentasi biji kacang merah dan acarbose.

Hasil: Berdasarkan afinitasnya, senyawa hesperetin-glucuronide-hexoside dan kaempferol 3-O-glucoside diprediksi memiliki afinitas terhadap enzim α -amylase dan MGAM. Analisa pKCSM menunjukkan senyawa hesperetin-glucuronide-hexoside dan kaempferol-3-O-glucoside berpotensi bekerja optimal pada lumen usus dan tidak toksik.

Kesimpulan: Senyawa produk fermentasi biji kacang merah hesperetin-glucuronide-hexoside dan kaempferol 3-O-glucoside diprediksi menghambat enzim α -amylase dan MGAM. Pada pKCSM, hesperetin-glucuronide-hexoside dan kaempferol-3-O-glucoside diprediksi bekerja optimal di lumen intestinal.

Kata Kunci : antidiabetes; fermentasi biji *Phaseolus vulgaris* L.; in silico; pKCSM

*Korespondensi:

Dini Sri Damayanti

Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

Jl MT Haryono 193 Malang, Jawa Timur, Indonesia, 65145

dinisridamayanti@unisma.ac.id

ABSTRACT

Introduction: Red bean seeds in the form of fermented products contain active compounds that are known to lower blood glucose levels, which are thought to act on the α -amylase and maltase-glucoamylase enzyme. The purpose of this study to predict the affinity formed between the active compound of the red bean seed fermented product and the target enzyme and to predict the physicochemical, pharmacokinetic, and toxicity of the compound of the red bean seed fermented product.

Methods: In silico research was conducted on 10 active compounds that are dominant in the fermented red bean seed product. The docking process uses the molecular docking method using the web <http://www.dockingserver.com>. Using acarbose control and the enzymes α -amylase and MGAM. The compound and control 3D structures were taken from Pubchem. Convert pdb format using <http://swissmodel.expasy.org>. Analysis of the affinity of the ligand to the enzyme compared the free energy, inhibition constant, surface interaction, and amino acid residues with acarbose. Physicochemical, pharmacokinetic, and toxicity analysis using pKCSM on the active compounds of red bean seed fermentation products and acarbose.

Results: Based on its affinity, hesperetin-glucuronide-hexoside and kaempferol 3-O-glucoside compounds are predicted to have an affinity for the enzymes α -amylase and MGAM. pKCSM analysis showed hesperetin-glucuronide-hexoside and kaempferol-3-O-glucoside compounds could potentially work optimally on the intestinal lumen and not toxic.

Conclusion: The fermented product compounds of hesperetin-glucuronide-hexoside red bean seeds and kaempferol 3-O-glucoside diprediccy inhibit the enzyme α -amylase and MGAM. In pKCSM, hesperetin-glucuronide-hexoside and kaempferol-3-O-glucoside are predicted to work optimally in the intestinal lumen.

Keyword: antidiabetic; fermentation of *Phaseolus vulgaris* L seeds; in silico; pKCSM

*Correspondence:

Dini Sri Damayanti

Faculty of Medicine, University of Islam Malang

Jl MT Haryono 193 Malang City, East Java Indonesia, 65145

dinisridamayanti@unisma.ac.id

PENDAHULUAN

Diabetes Mellitus Tipe 2 dikenal dengan *non-insulin dependent DM* yang dikarakteristikan dengan kondisi hiperglikemia, resistensi insulin, dan defisiensi insulin¹. Hiperglikemia merupakan kondisi jumlah glukosa yang berlebihan bersirkulasi dalam plasma darah². Hiperglikemia kronis akan meningkatkan resiko terjadinya DM tipe 2. Salah satu penyebab terjadinya hiperglikemia adalah kebiasaan diet tinggi lemak dan karbohidrat. Diet tinggi lemak dan karbohidrat menyebabkan perubahan komposisi bakteri normal flora di intestinal yang menyebabkan penurunan fermentasi oligosakarida untuk menghasilkan *Short Chain Fatty Acid* (SCFA) dimana hal ini menyebabkan peningkatan pH di intestinal. pH yang tinggi akan meningkatkan aktivitas enzim *alpha amylase* dan *maltase-glucosidase* dalam mendegradasi bentuk polisakarida menjadi bentuk monosakarida sehingga menyebabkan peningkatan kadar glukosa darah^{3,4,5,6,7}.

Pencernaan karbohidrat diperankan oleh enzim yang disekresikan kelenjar saliva dan pankreas yaitu enzim *α-amylase* untuk memotong ikatan α -(1,4)⁸. Dilanjutkan dengan peran enzim hidrolitik yang berasal dari enterosit di vili usus halus yaitu enzim *Maltase-glucoamylase* untuk memotong ikatan α -(1,4) dan α -(1,6) yang kemudian mengubah bentuk polisakarida menjadi bentuk monosakarida⁸. Obat yang digunakan pada kondisi hiperglikemia salah satunya adalah acarbose yang memiliki mekanisme kerja menghambat enzim *α-glukosidase* untuk menghidrolisis oligosakarida pada dinding usus halus, serta menghambat enzim *α-amylase* untuk hidrolisis polisakarida serta efektif mengurangi peningkatan kadar glukosa postprandial^{9,10}.

Salah satu produk makanan yang telah dibuktikan secara *in vivo* pada tikus mempunyai kemampuan menurunkan kadar glukosa darah adalah tempe¹¹. Tempe merupakan produk makanan tradisional Indonesia yang dibuat dari proses fermentasi menggunakan jamur *Rhizopus oligosporus*¹². Proses fermentasi akan menyebabkan proses hidrolisis yang menghasilkan enzim beta glikosida yang berperan dalam perubahan bentuk isoflavon glikosida menjadi bentuk isoflavon aglikon bebas¹³.

Penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa senyawa isoflavone pada tempe kacang kedelai yang dibuktikan secara *in vitro* mempunyai daya hambat terhadap enzim *α-glucosidase* sebesar 11.89% dengan nilai IC₅₀ sebesar 1,4 mg¹⁴. Selain biji kacang kedelai, biji kacang merah (*Phaseolus vulgaris L.*) juga dapat digunakan sebagai bahan baku pembuatan tempe. Hasil penelitian *in vitro*, ekstrak kacang merah dapat menghambat *α-amylase* yang ditunjukkan dengan tidak terbentuk gula pereduksi pada konsentrasi 2,5mg/ml dan 5mg/ml¹⁵. Penelitian ini menggunakan biji kacang merah sebagai bahan dasar produk fermentasi.

Insilico merupakan metode komputasi yang banyak digunakan untuk memprediksi mekanisme kerja suatu senyawa aktif menimbulkan efek biologis¹⁶. Metode yang digunakan adalah *molecular docking* dengan prinsip *ligan-receptor structure relationship* dan metode analisis pkCSM memprediksi sifat fisikokimia, ADME, dan toksisitas untuk mengetahui potensi senyawa aktif apabila diberikan peroral untuk mencapai target intestinal^{16,17,18}. Berdasarkan uraian diatas, penelitian ini untuk mengetahui senyawa aktif produk fermentasi biji kacang merah apa yang dapat menghambat enzim *alpha amylase* dan *maltase-glucamylase*. dengan mengukur afinitas senyawa aktif produk fermentasi kacang merah (*Phaseolus vulgaris L.*) terhadap enzim *α-amylase* dan *maltase-glucoamylase* secara *in silico* dengan menggunakan kontrol acarbose. Serta memprediksi potensi penggunaan senyawa aktif diberikan secara peroral melalui prediksi sifat fisikokimia, ADME, dan toksisitas senyawa aktif produk fermentasi biji kacang merah.

METODE PENELITIAN

Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode komputasi (*In Silico*) *molecular docking* dengan penambatan senyawa aktif produk fermentasi biji kacang merah (*Phaseolus vulgaris L.*) terdiri dari *daidzein*, *genistein*, *glisitein*, *catechin*, *feruloyl hexoside acid*, *hesperetin glucuronide-hexoside*, *p-hydroxybenzoic acid*, *hydroxycinnamic*, *quercetin-O-acylhexoside*, *kaempferol-3-O-glucoside* terhadap protein target *α-amylase* dan *maltase-glucoamylase* yang merupakan senyawa dominan dengan kadar total *daidzein*, *genistein*, *glisitein* 152,76 mg/100g, *feruloyl hexoside acid* 42,42±3,68 µg/g, *hesperetin glucuronide-hexoside* 6,61±1,37 µg/g, *p-hydroxybenzoic acid* 20,65±1,45 µg/g, *hydroxycinnamic* 188,32±4,33 µg/g, *quercetin-O-acylhexoside* 1,18±0,02 µg/g, *kaempferol-3-O-glucoside* 1,57±0,01 µg/g sebagai antidiabetes dengan acarbose sebagai kontrol^{19,20}. Serta menggunakan *pkCSM online tool* dengan memprediksi nilai fisikokimia, ADME dan toksisitas senyawa aktif tempe kacang merah.

Alat dan Bahan

Penelitian ini menggunakan alat berupa komputer dengan spesifikasi RAM 4.00 GB, Intel® core™ i5, CPU @ 2.50GHz 2.71 GHz, Sistem operasi Microsoft Windows 10 Pro 64-bit, koneksi internet, software berbasis web pada *docking server* (<http://www.dockingserver.com>), dan software pkCSM (<http://biosig.unimelb.edu.au/pkcsml>).

Bahan yang diperlukan dalam melakukan penambatan molekul dan analisa pkSCM yaitu struktur 3D molekul senyawa aktif herbal tempe kacang merah (*Phaseolus vulgaris L.*), struktur tiga dimensi protein target *α-amylase* dan *maltase-glucoamylase*. Struktur tersebut diunduh dari website *protein databank* (<http://rcsb.org>) dan *pubchem* (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>).

Teknik Analisis Data

Hasil uji *in silico* diamati dengan parameter energi ikatan bebas, konstanta inhibisi, interaksi permukaan dan residu asam amino antara ligan dan protein target dan hasil uji pkCSM diamati dengan parameter absorpsi, distribusi, metabolisme, ekskresi, toksisitas, dan *lipinski rule*^{18,21}.

HASIL PENELITIAN

Hasil dan Analisa data Uji *Molecular Docking* Senyawa Aktif Produk Fermentasi Biji Kacang Merah dan Acarbose dengan Enzim Alpha Amylase

Berdasarkan keempat kriteria yang digunakan untuk mengetahui afinitas suatu senyawa aktif terhadap

enzim, maka dapat diketahui senyawa aktif yang mempunyai afinitas kuat dalam menghambat enzim *alpha amylase* adalah hesperetin-glucuronide-hexoside dengan nilai energi ikatan bebas rendah -7,30 kcal/mol, konstanta inhibisi rendah senilai 4,48 μ M lebih besar dari kontrol acarbose, interaksi permukaan tinggi senilai 599,418 Å lebih kecil dari kontrol acarbose dan tidak terbentuk residu yang sama dengan kontrol acarbose. Serta terdapat senyawa kaempferol 3-O-glucoside dengan nilai energi ikatan bebas -6,866 kcal/mol, konstanta inhibisi 9,34 μ M, interaksi permukaan senilai 576,56 Å dan tidak terbentuk residu asam amino yang sama dengan kontrol.

Tabel 1. Afinitas Produk Fermentasi Biji Kacang Merah (*Phaseolus vulgaris L.*) dan Acarbose terhadap Alpha Amylase

Ligan	Energi ikatan bebas (kcal/mol)	Konstanta Inhibisi (uM)	Interaksi Permukaan (Å)	Residu Asam Amino	Jumlah residu asam amino dibanding Acarbose	Jumlah persamaan residu asam amino
Acarbose*	-11,77	2,36	921,2	Ikatan hidrogen: GLY321 Polar : ASP315 Kation-Pi : HIS320, TYR77 Hydrophobic : LEU177, HIS216, LEU180 Lain-lain : TRP74	8	100%
Hesperetin glucuronide-hexoside	-7,30	4,48	599,418	Polar : HIS346 Kation-Pi : PHE421 Hidrofobik : PRO420, PRO347 Lain-lain : ASN294, GLU297	0	0%
Kaempferol-3-O-glucoside	-6,86	9,34	576,56	Polar : ASP153, ASN152, ARG139 Hidrofobik : ALA184 Lain-lain : TRP149, LYS155	0	0%
Glisitein	-6,77	10,91	720,268	Polar : GLN78, ASP315 Kation-Pi : TRP74, TRP73 Hidrofobik : TYR77, VAL122 Lain-lainnya : ILE66, PRO69	3	37,5%
Quercetin-O-acylhexoside	-6,63	13,82	571,082	Polar : GLN16, ASN265 Hidrofobik : LEU226 Lain-lain : LYS242, LYS223, PRO243, ILE245	0	0%
Feruloyl hexoside acid	-6,28	24,85	684,461	Polar : TRP74, ASP315, ASP212, GLU248 Hidrofobik : HIS320, TRP73 Lain-lain : LEU180, GLN78, SER178, HIS314, ARG210	4	50%
Genistein	-5,72	63,93	555,127	Polar : GLN78, HIS320, HIS314, ASP315, ARG210, ASP212 Kation-Pi : TYR77 Hidrofobik : TRP74, TRP73	4	50%
(+)-Catechin	-5,66	70,95	591,392	Polar : GLN78, ASP212 Kation-Pi : TYR77, TRP73, HIS320 Hidrofobik : TRP74, LEU180 Lain lain : ASP315	5	62,5%
Hydroxycinnamic	-5,36	117,81	398,164	Ikatan hidrogen : GLN16, SER18, SER241 Polar : LYS242, ASN20 Hidrofobik : PRO238	0	0%
Daidzein	-5,32	126,21	549,25	Polar : GLN78, HIS314, ASP315, ARG210, ASP212 Kation-Pi : TYR77 Hidrofobik : TRP74, TRP73	3	37,5%
p-Hydroxybenzoic acid	-5,06	195,35	348,364	Ikatan hidrogen : GLN16, SER241 Polar : LYS242, SER18 Lain-lain : ASN20, PRO238	0	0%

Keterangan: Penambatan senyawa aktif produk fermentasi biji kacang merah dengan protein target *maltase-glucoamylase* menggunakan *molecular docking server*, dengan grid box 100. Residu asam amino yang terikat oleh acarbose dianggap sebagai ikatan acarbose terhadap site active dari enzim *maltase-glucoamylase* dan ulangan 10 kali⁴. *Kontrol positif *alpha amylase inhibitor* dan *maltase-glucoamylase inhibitor*

Hasil dan Analisa data Uji *Molecular Docking* Senyawa Aktif Produk Fermentasi Biji Kacang Merah dan Acarbose dengan Enzim *Maltase-glucoamylase*

Hasil molecular docking senyawa aktif produk fermentasi biji kacang merah berdasarkan keempat kriteria didapatkan senyawa hesperetin glucuronide-hexoside diprediksi mampu berikatan dengan enzim *maltase-glucoamylase* dengan nilai

energi ikatan bebas -7,26 kcal/mol lebih kecil dari senyawa lain, konstanta inhibisi rendah dengan nilai 4,79 nM, nilai interaksi permukaan 559,117 Å, dan tidak terbentuk residu asam amino yang sama dengan kontrol acarbose. Dan kaempferol-3-O-glucoside dengan nilai energi ikatan bebas -7,25 kcal/mol, konstanta inhibisi rendah dengan nilai 4,82 nM, nilai interaksi permukaan 654,28 Å, dan tidak terbentuk residu asam amino yang sama dengan kontrol acarbose.

Tabel 2. Hasil Analisis Energi Ikatan Bebas (ΔG), Konstanta Inhibisi (K_i), Nilai Interaksi Permukaan, dan Residu Asam Amino Produk Fermentasi Biji Kacang Merah (*Phaseolus vulgaris L.*) dan Acarbose terhadap *Maltase-glucoamylase*

Ligan	Energi ikatan bebas (kcal/mol)	Konstanta Inhibisi (uM)	Interaksi Permukaan (Å)	Residu Asam Amino	Jumlah residu asam amino dibanding Acarbose	Jumlah persamaan residu asam amino
Acarbose*	-11,24	5,81	691,675	Hidrogen: ASP289 Polar : ARG612, THR291, GLN689, ASP628 Hidrofobik : TRP492, PHE536, MET530 Lain-lain : SER534	9	100%
Hesperetin glucuronide-hexoside	-7,26	4,79	559,117	Polar : ASN551, THR555 Kation-Pi : TYR562 Hidrofobik : PHE554 Lain-lain : ASP104	0	0%
Kaempferol-3-O-glucoside	-7,25	4,82	654,28	Polar : THR555, TYR562, ARG557 Hidrofobik : PHE554	0	0%
Glisitein	-6,91	8,59	678,98	Polar : THR555, ASP104, GLN105, ARG115 Kation-Pi : PHE164	0	0%
Feruloyl hexoside acid	-6,82	10,03	626,295	Hidrogen : THR555 Polar : ARG557, ASN551 Kation-Pi : TYR562 Hidrofobik : PHE554	0	0%
Quercetin-O-acylhexoside	-6,02	38,82	511,899	Polar : TRP129, ASN100 Hidrofobik : VAL125, PRO107 Lain-lain : PRO128	0	0%
Genistein	-5,85	51,79	543,714	Hidrogen : THR555 Polar : ARG557 Hidrofobik : PHE554 Lain-lain : ASN551, PRO552	0	0%
(+)-Catechin	-5,50	93,54	561,283	Polar : THR555, ARG557 Kation-Pi : TYR562	0	0%
Hydroxycinnamic	-5,40	109,32	482,574	Hidrogen : SER374 Polar : LYS862, ARG606 Hidrofobik : PHE608, ILE609, PRO373, MET653, ALA623 Lain-lain : ALA598	0	0%
Daidzein	-5,29	132,15	536,325	Hidrogen : THR555, ARG557 Hidrofobik : PHE554	0	0%
p-Hydroxybenzoic acid	-4,67	375,17	385,292	Hidrofobik : PRO373, PHE608, MET653, ALA371 Lain-lain : PRO370, PRO652, ALA377	0	0%

Keterangan: Penambatan senyawa aktif produk fermentasi biji kacang merah dengan protein target *maltase-glucoamylase* menggunakan *molecular docking server*, dengan grid box 100. Residu asam amino yang terikat oleh acarbose dianggap sebagai ikatan acarbose terhadap site active dari enzim *maltase-glucoamylase* dan ulangan 10 kali⁴. *Kontrol positif *alpha amylase inhibitor* dan *maltase-glucoamylase inhibitor*

Fisikokimia, Farmakokinetik, dan Toksisitas Senyawa Aktif Produk Fermentasi Biji Kacang Merah

Senyawa aktif produk fermentasi biji kacang merah terdiri dari *Daidzein*, *Genistein*, *Glisitein*, *Catechin*, *Feruloyl hexoside acid*, *Hesperetin glucuronide-hexoside*, *p-Hydroxybenzoic acid*, *Hydroxycinnamic*, *Quercetin-O-acylhexoside*, *Kaempferol-3-O-glucoside*^{19,20}. Senyawa tersebut telah dilakukan penelitian untuk mengetahui sifat fisikokimia, farmakokinetik dan toksisitas dari masing-masing senyawa dengan hasil yang telah tertera pada **Tabel 5.3** dan **Tabel 5.4** melalui *online tool* pkCSM.

Sifat fisikokimia menunjukkan prediksi suatu senyawa aktif mudah diserap epitel intestinal dan memiliki permeabilitas yang tinggi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa glisitein terdapat 2 penyimpangan aturan lipinski, hesperetin glucuronide-hexoside dan kaempferol-3-O-glucoside terdapat 3 penyimpangan aturan lipinski, feruloyl hexoside acid terdapat 1 penyimpangan aturan lipinski, sedangkan senyawa quercetin-O-acylhexoside, catechin, genistein, daidzein, hydroxycinnamic, dan p-hydroxybenzoic acid tidak terjadi penyimpangan aturan lipinski.

Indikator kemampuan senyawa aktif dapat diabsorpsi menggunakan nilai kemampuan absorpsi oleh intestinal. Hasil penelitian menunjukkan urutan senyawa aktif produk fermentasi biji kacang merah dari yang sulit diabsorpsi adalah hesperetin glucuronide-hexoside, feruloyl hexoside acid, kaempferol 3-O-glucoside, glisitein, catechin, p-hydroxybenzoic acid, quercetin-O-acylhexoside, genistein, hydroxycinnamic, daidzein.

Indikator distribusi diukur dari kemampuan suatu senyawa aktif menembus BBB dan kadar senyawa aktif dalam darah yang berbentuk unbound. Hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa yang tidak memiliki kemampuan menembus BBB adalah senyawa glisitein, catechin, feruloyl hexoside acid, hesperetin glucuronide hexoside, kaempferol 3-O-glucoside, quercetin-O-acylhexoside. Senyawa aktif produk fermentasi biji kacang merah yang mempunyai kemampuan menembus BBB adalah senyawa daidzein, genistein, p-hydroxybenzoic acid, hydroxycinnamic. Serta mempunyai bentuk unbound berdasarkan urutan dari yang terbesar adalah senyawa p-hydroxybenzoic acid, hydroxycinnamic, feruloyl hexoside acid,

hesperetin glucuronide-hexoside, catechin, kaempferol-3-O-glucoside, glisitein, daidzein, genistein, quercetin-O-acylhexoside.

Indikator senyawa aktif di metabolisme dan mempengaruhi aktivitas enzim di hepar diukur berdasarkan kemampuannya mengaktifkan atau menghambat enzim–enzim yang berperan dalam metabolisme obat di hepar seperti CYP3A4, CYP1A2, CYP2C19 dan CYP2C9. Senyawa yang diprediksi tidak mempengaruhi kerja enzim hepar adalah senyawa glisitein, catechin, feruloyl hexoside acid, hesperetin glucuronide-hexoside, p-hydroxybenzoic acid, kaempferol-3-O-glucoside, dan hydroxycinnamic. Senyawa yang diprediksi mengalami metabolisme di hepar antara lain daidzein sebagai CYP3A4 substrate, CYP1A2 inhibitor, CYP2C19 inhibitor, CYP2C9 inhibitor, genistein sebagai CYP3A4 substrate, CYP1A2 inhibitor, CYP2C19 inhibitor, CYP2C9 inhibitor, dan quercetin-O-acylhexoside menghambat enzim CYP1A2.

Indikator ekskresi suatu senyawa aktif diukur dari nilai clearance suatu obat. Hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa aktif yang mempunyai nilai clearance dari urutan terbesar adalah senyawa hesperetin glucuronide hexoside, hydroxycinnamic, p-hydroxybenzoic acid, kaempferol-3-O-glucoside, glisitein, quercetin-O-acylhexoside, catechin, feruloyl hexoside acid, genistein, daidzein. –Senyawa yang berpotensi toksik adalah senyawa catechin yang dilaporkan dapat berperan sebagai agen karsinogenik.

Berdasarkan hasil tersebut, senyawa yang memiliki sifat fisikokimia dan farmakokinetik mendekati kontrol acarbose dan dapat diberikan melalui rute oral untuk mencapai target intestinal adalah senyawa hesperetin glucuronide-hexoside dan kaempferol-3-O-glucoside. Senyawa tersebut diprediksi tidak bersifat hepatotoksik maupun karsinogenik.

Pada penelitian fisikokimia, farmakokinetik dan toksisitas kontrol obat acarbose didapatkan hasil tidak memenuhi aturan lipinski, tingkat absorpsi obat sebesar 0%, distribusi BBB sebesar -2,436 BB, distribusi unbound sebesar 0,475 Fu, metabolisme pada hepar tidak terdeteksi, ekskresi senilai 0,455, tidak didapatkan toksisitas pada obat.

Tabel 3. Hasil Sifat Fisikokimia dan Penerapan Lipinski Rule Senyawa Aktif Produk Fermentasi Biji Kacang Merah

Senyawa	Parameter Fisikokimia						Penyimpangan Hukum Lipinski
	BM	LogP	HBA	HBD	PSA	Torsion	
Acarbose*	645,608	-8,5645	19	14	250,228	9	4
Glisitein	488,445	+0,9237	11	4	198,208	6	2
Hesperetin glucuronide-hexoside	478,406	+0,0839	11	6	191,669	5	3
Kaempferol-3-O-glucoside	448,38	-0,2445	11	7	179,107	4	3
Feruloyl hexoside acid	356,327	-1,2429	9	5	142,859	5	1
Quercetin-O-acylhexoside	302,238	+1,988	7	5	122,108	1	0
Catechin	290,271	+1,5461	6	5	119,662	1	0
Genistein	270,24	+2,5768	5	3	112,519	1	0
Daidzein	254,241	+2,8712	4	2	107,725	1	0
Hydroxycinnamic	164,16	+1,49	2	2	69,587	2	0
p-hydroxybenzoic acid	138,122	+1,0904	2	2	57,546	1	0

Keterangan: prediksi sifat fisikokimia menggunakan pkCSM *online tool*. *Kontrol positif *alpha amylase inhibitor* dan *maltase-glucoamylase inhibitor*

Tabel 4. Hasil ADME dan Toksisitas Senyawa Aktif Produk Fermentasi Biji Kacang Merah

Nama senyawa	Absorpsi intestinal (%)	Distribusi		Metabolisme				Ekskresi Total Clearance (ml/min/kg)	Toksisitas	
		BBB	Unbound	CYP1A2 inhibitor	CYP3A4 substrate	CYP2C19 inhibitor	CYP2C9 inhibitor		Hepatotoksik	Karsinogenik
Acarbose*	0	-2,436	0,475	-	-	-	-	0,455	-	-
Hesperetin glucuronide-hexoside	13,419	-1,816	0,306	-	-	-	-	1,117	-	-
Feruloyl hexoside acid	33,875	-1,279	0,4	-	-	-	-	0,221	-	-
Kaempferol 3-O-glucoside	46,043	-1,344	0,143	-	-	-	-	0,571	-	-
Glisitein	66,682	-1,524	0,12	-	-	-	-	0,496	-	-
(+)-Catechin	72,967	-1,183	0,183	-	-	-	-	0,252	-	Ya
p-Hydroxybenzoic acid	74,377	-0,331	0,479	-	-	-	-	0,666	-	-
Quercetin-O-acylhexoside	76,081	-1,363	0,051	Ya	-	-	-	0,467	-	-
Genistein	89,957	-0,752	0,079	Ya	Ya	Ya	Ya	0,176	-	-
Hydroxycinnamic	91,115	-0,257	0,429	-	-	-	-	0,746	-	-
Daidzein	91,165	-0,153	0,097	Ya	Ya	Ya	Ya	0,171	-	-

Keterangan: prediksi ADME dan toksisitas menggunakan pkCSM online tool. *Kontrol positif *alpha amylase inhibitor* dan *maltase-glucoamylase inhibitor*

PEMBAHASAN

Potensi Senyawa Aktif Produk Fermentasi Biji Kacang Merah terhadap Enzim *Alpha Amylase* dan *Maltase-glucoamylase*

Berdasarkan indikator nilai energi ikatan bebas, konstanta inhibisi, interaksi permukaan, dan jumlah residu asam amino, senyawa produk fermentasi biji kacang merah diprediksi memiliki afinitas paling kuat dalam berikatan dengan enzim *alpha amylase* adalah hesperetin glucuronide-hexoside dan kaempferol-3-O-glucoside. Kedua senyawa ini memiliki perbedaan tempat penempelan pada enzim *alpha amylase* jika dibandingkan dengan acarbose. Senyawa hesperetin glucuronide-hexoside dan kaempferol-3-O-glucoside melekat pada domain A dan B yang merupakan *active side* enzim bertindak sebagai katalisator. Sehingga hesperetin glucuronide-hexoside dan kaempferol-3-O-glucoside diprediksi dapat bekerja menghambat kerja enzim *alpha amylase* melalui sisi aktif yang berbeda dengan kontrol acarbose²². Enzim *alpha amylase* terdiri dari 3 domain dimana domain A terdapat residu 1-99 dan residu 169-404, dan domain B terdapat residu 100-168. Domain A dan B berperan dalam aktivitas katalitik pada enzim. Sedangkan domain C terdapat residu 405-496 dengan fungsi yang belum diketahui²².

Acarbose memiliki afinitas tinggi terhadap enzim *alpha amylase* dengan nilai energi ikatan bebas

-11,77 kkal/mol, konstanta inhibisi sebesar 2,36 nM, interaksi permukaan sebesar 921,2 Å, residu asam amino enzim *alpha amylase* yang terikat oleh acarbose GLY321, ASP315, HIS320, TYR77, LEU177, HIS216, LEU180, TRP74, yang diprediksi berikatan pada domain A yang merupakan sisi aktif dari *alpha amylase* dan berfungsi sebagai katalitik.

Berdasarkan 4 indikator tersebut senyawa produk fermentasi biji kacang merah senyawa hesperetin glucuronide-hexoside dan kaempferol-3-O-glucoside merupakan senyawa yang memiliki ikatan paling kuat dengan enzim *maltase-glucoamylase* walaupun residu asam amino yang terbentuk tidak sama dengan kontrol. Hal ini diprediksi kedua senyawa tersebut dapat menghambat kerja enzim *maltase-glucoamylase* melalui perlekatan sisi aktif yang berbeda dengan kontrol acarbose. Senyawa hesperetin glucuronide-hexoside dan kaempferol-3-O-glucoside diprediksi bekerja menghambat kerja enzim MGAM melalui pengikatan pada domain barrel katalitik dan proximal C-terminal domain yang berfungsi sebagai katalisator enzim²². Enzim *maltase-glucoamylase* memiliki 2 subunit yang berperan sebagai katalisator yaitu N-terminal MGAM (NtMGAM) dengan subdomain trefoil tipe-P (residu 1-51), N-terminal-sandwich domain (residu 52-269), barrel catalytic domain (residu 270-651), proximal C-terminal domain (residu 652-730), distal C-terminal domain (residu 731-868) dan C-terminal MGAM (CtMGAM) dengan

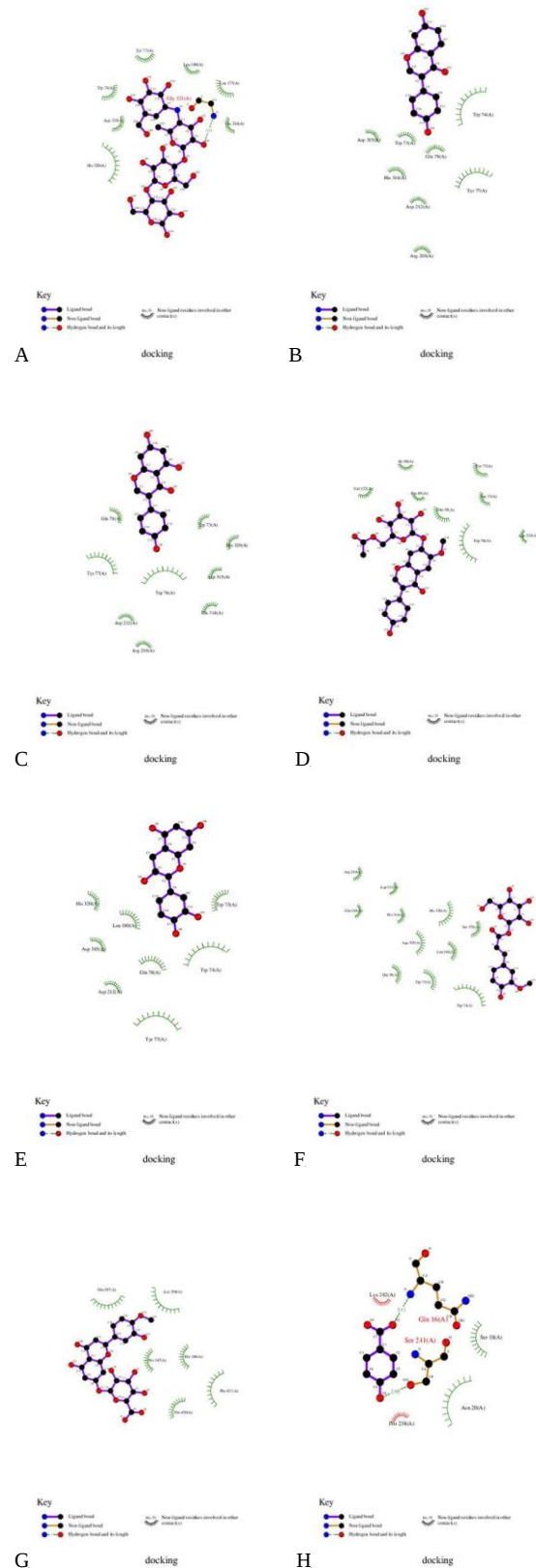
subdomain trefoil tipe-P (residu 955-1002), N-terminal-sandwich domain (residu 1003-1221), barrel catalytic domain (residu 1222-1633), proximal C-terminal domain (residu 1634-1712), distal C-terminal domain (1713-1867)²².

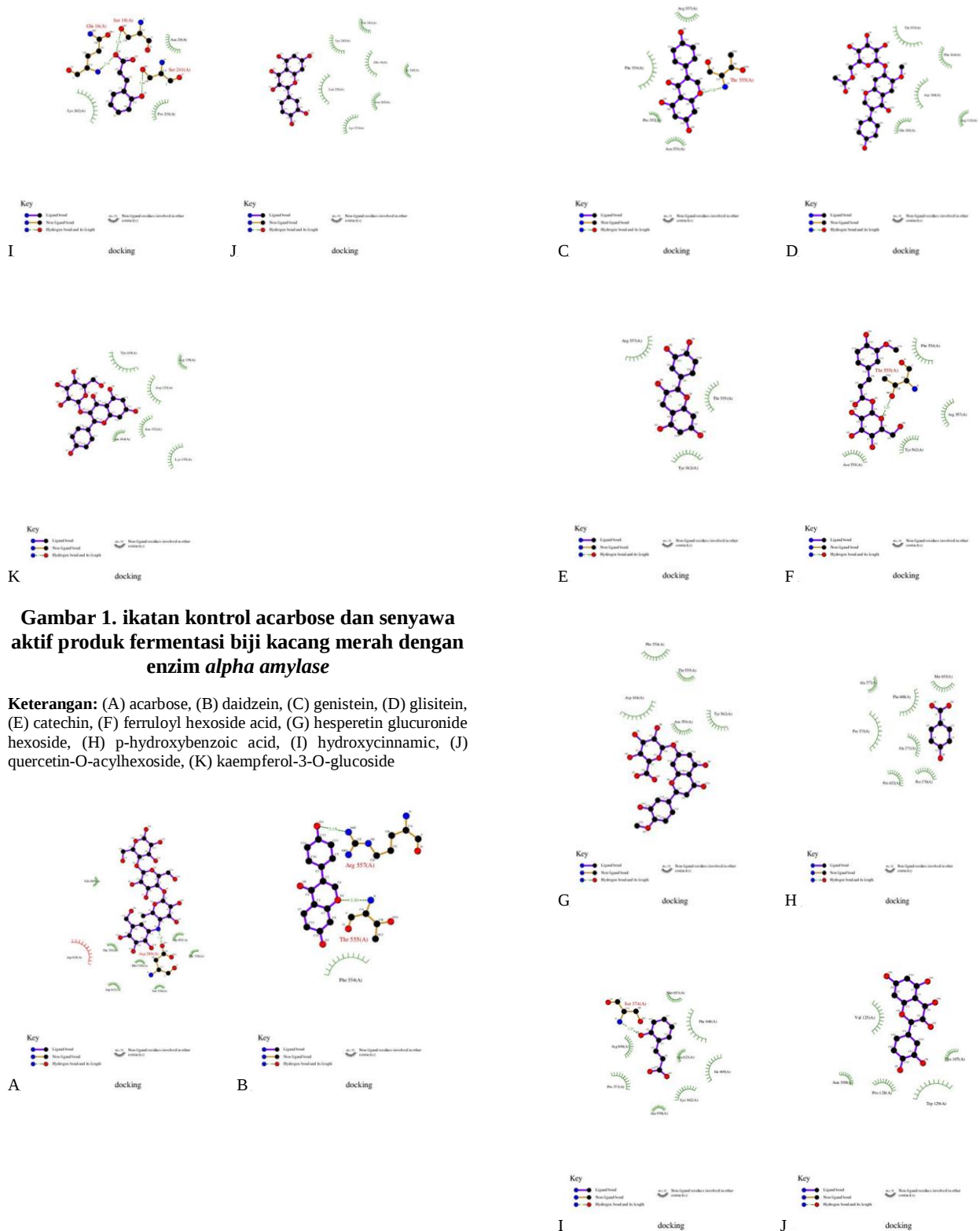
Acarbose juga memiliki afinitas tinggi terhadap enzim *maltase-glucoamylase* berdasarkan indikator energi ikatan bebas senilai -11,24 kkal/mol, konstanta inhibisi senilai 5,81 nM, interaksi permukaan senilai 691,675 Å, residu asam amino yang terbentuk adalah ASP289, ARG612, THR291, GLN689, ASP628, TRP492, PHE536, MET530, SER534 yang diduga merupakan sisi aktif dari *maltase-glucoamylase* terutama berikatan pada domain barrel catalytic sehingga aktifitas enzim MGAM diprediksi dapat terhambat.

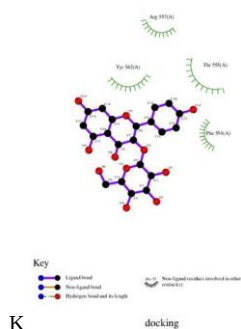
Suatu ligan akan berikatan atau terjadi interaksi dengan reseptor spesifik untuk menimbulkan efek biologis. Kemampuan berikatan ligan reseptor disebut afinitas yang ditentukan oleh nilai energi ikatan bebas, konstanta inhibisi, interaksi permukaan dan jumlah residu asam amino yang terikat. Afinitas suatu senyawa terhadap enzim diprediksi tinggi apabila nilai energi ikatan bebas kurang atau sama dengan -7 kkal/mol. Hal ini bermakna besarnya energi menggambarkan spontanitas dan stabilitas dalam berikatan²³. Konstanta inhibisi yang rendah menunjukkan hambatan antara ligan dan protein yang kecil sehingga mudah terjadi ikatan terhadap reseptornya^{21,24}. Interaksi permukaan yang tinggi menggambarkan peluang yang tinggi bagi senyawa aktif untuk berinteraksi dengan enzim. Residu asam amino menentukan sisi aktif dari enzim berdasarkan interaksi intermolekuler antara obat dengan enzim²².

Penelitian ini menggunakan acarbose sebagai kontrol. Acarbose merupakan obat antihiperqlikemia yang banyak digunakan dan efektif mengurangi peningkatan kadar glukosa postprandial melalui penghambatan aktivitas enzim *alpha amylase* dan *alpha glucosidase*^{25,10}. Mekanisme ini dibuktikan pada penelitian yang dilakukan secara in vitro dimana enzim *alpha amylase* dapat dihambat oleh acarbose dengan nilai IC₅₀ sebesar 73 g/mL²⁶. Acarbose secara in vitro menghambat enzim *alpha glucosidase* dengan nilai IC₅₀ sebesar 0,28 ± 0,019 mg/ml, dan secara *in silico* acarbose menghambat enzim *maltase-glucoamylase* dengan nilai energi ikatan bebas -7 kkal^{27,28}.

Penelitian ini menggunakan acarbose sebagai kontrol. Acarbose merupakan obat antihiperqlikemia yang banyak digunakan dan efektif mengurangi peningkatan kadar glukosa postprandial melalui penghambatan aktivitas enzim *alpha amylase* dan *alpha glucosidase*^{25,10}. Mekanisme ini dibuktikan pada penelitian yang dilakukan secara in vitro dimana enzim *alpha amylase* dapat dihambat oleh acarbose dengan nilai IC₅₀ sebesar 73 g/mL²⁶. Acarbose secara in vitro menghambat enzim *alpha glucosidase* dengan nilai IC₅₀ sebesar 0,28 ± 0,019 mg/ml, dan secara *in silico* acarbose menghambat enzim *maltase-glucoamylase* dengan nilai energi ikatan bebas -7 kkal/mol^{25,10}.







Gambar 2. ikatan kontrol acarbose dan senyawa aktif produk fermentasi biji kacang merah dengan enzim maltase-glucoamylase

Keterangan: (A) acarbose, (B) daidzein, (C) genistein, (D) glisitein, (E) catechin, (F) feruloyl hexoside acid, (G) hesperetin glucuronide hexoside, (H) p-hydroxybenzoic acid, (I) hydroxycinnamic, (J) quercetin-O-acylhexoside, (K) kaempferol-3-O-glucoside

Fisikokimia, Farmakokinetik, dan Toksisitas Senyawa Aktif Produk Fermentasi Biji Kacang Merah

Hasil analisa docking menunjukkan senyawa hesperetin-glucuronide-hexoside dan kaempferol-3-O-glucoside diprediksi memiliki afinitas yang kuat dengan enzim α amylase dan maltase-glucoamylase. Hal ini diperkuat dengan hasil fisikokimia senyawa hesperetin-glucuronide-hexoside dan kaempferol-3-O-glucoside terdapat 3 penyimpangan aturan lipinski dan hal tersebut diprediksi kedua senyawa tersebut memiliki permeabilitas yang baik sehingga mempermudah proses absorpsi, distribusi, metabolisme, ekskresi dan tidak bersifat toksik. Suatu senyawa disebut memiliki permeabilitas tinggi apabila memenuhi 2 kriteria atau lebih dari aturan lipinski.

Sebagai kandidat suatu obat, afinitas ligan-reseptor berkaitan dengan sifat fisikokimia untuk memprediksi proses absorpsi, distribusi, metabolisme, ekskresi (ADME). Kriteria hukum lima lipinski adalah berat molekul <500 Da memprediksi suatu senyawa mudah berdifusi menembus membrane dan semakin mudah berikatan dengan reseptor. Berat molekul yang terlalu besar menyebabkan difusi menembus membrane akan semakin sulit untuk mencapai sirkulasi sistemik sehingga berpengaruh pada proses absorpsi, distribusi, metabolisme dan ekskresi^{4,29, 30}.

$\text{LogP} <5$ memprediksi suatu senyawa cenderung bersifat hidrofilik dan semakin mudah larut dan memiliki permeabilitas yang baik. Semakin tinggi nilai LogP maka senyawa tersebut semakin bersifat lipofilik dan dapat bertahan lebih lama pada membran *lipid bilayer* sehingga membutuhkan pengikatan protein untuk dapat larut dalam air di sirkulasi sistemik agar dapat terdistribusi di sirkulasi sistemik²⁹.

Donor ikatan hidrogen (jumlah atom OH dan NH) <5 dan acceptor ikatan hidrogen (jumlah atom O dan N) <10 memprediksi permeabilitas suatu senyawa

semakin baik dan membutuhkan energi yang lebih sedikit untuk proses absorpsi dapat terjadi. Donor hidrogen berpengaruh pada afinitas ligan-reseptor. Semakin banyak jumlah ikatan hidrogen maka semakin kuat afinitas obat terhadap reseptor^{4,31}.

$\text{Polar Surface Area} < 140\text{\AA}$ memprediksi suatu senyawa mempunyai area permukaan yang lebih sedikit untuk terjadinya ikatan hidrogen sehingga kemampuan suatu senyawa untuk menembus membran sel semakin optimal. Semakin besar area permukaan polar yang dimiliki oleh suatu senyawa maka ikatan hidrogen yang terbentuk akan semakin tinggi sehingga energi yang dibutuhkan untuk melakukan suatu afinitas ligan-reseptor semakin kecil dan ikatan yang terbentuk akan lebih stabil^{32,31}.

Torsi <10 memprediksi suatu senyawa memiliki fleksibilitas dan ruang rotasi ligan terhadap reseptor yang lebih sedikit²⁹. Semakin tinggi nilai torsi suatu senyawa diprediksi memiliki fleksibilitas ligan terhadap posisi reseptor untuk mencari tempat paling stabil di reseptor sehingga afinitas yang terjadi akan semakin kuat³². Apabila suatu senyawa tidak memenuhi kriteria lipinski maka senyawa tersebut diprediksi memiliki kelarutan dan permeabilitas yang rendah berdampak pada kemampuan absorpsinya yang menyebabkan bioavailabilitas sistemik yang dimiliki oleh senyawa tersebut rendah²⁹.

Nilai distribusi BBB <-1 menunjukkan suatu senyawa tidak dapat menembus BBB serta resiko efek samping neurotoksik semakin rendah. Distribusi unbound yang memprediksi suatu senyawa memiliki fraksi tidak terikat yang lebih banyak dibandingkan dengan yang terikat sehingga efektifitas obat semakin baik¹⁸. Metabolisme perubahan struktur kimia obat mayoritas terjadi pada hepar yang diperankan oleh CYP450. Suatu senyawa diprediksi dapat menjadi penghambat CYP450 atau menjadi substrat CYP450¹⁸. Interaksi inhibitor sitokrom P450 dengan substratnya dapat menyebabkan peningkatan bioavailabilitas atau kadar plasma yang memungkinkan aktivitas substrat meningkat hingga terjadi efek toksik yang tidak diinginkan³³.

Nilai *total clearance* memprediksi kliren senyawa dalam plasma dikeluarkan melalui hepar, bilier dan ginjal¹⁸. Semakin tinggi nilai ekskresi yang dihasilkan maka akan semakin cepat proses ekskresi dari senyawa tersebut oleh hepar, bilier, dan ginjal. Parameter ini dapat digunakan untuk memprediksi atau menghitung dosis obat¹⁸. Sifat fisikokimia juga berpengaruh pada proses ekskresi. Semakin tinggi permeabilitas suatu senyawa, maka akan lebih mudah untuk diekskresikan¹⁸.

Uji toksisitas menunjukkan suatu senyawa dapat bersifat hepatotoksik dan karsinogenik atau tidak bersifat toksik. Nilai toksisitas digunakan untuk mendeteksi tingkat ketoksikan suatu zat atau senyawa yang akan digunakan sebagai obat dan merupakan salah satu aspek keamanan yang paling diperhatikan¹⁸. Senyawa catechin merupakan satu-satunya senyawa yang mendapatkan hasil AMES positif yang memiliki

makna senyawa tersebut mempunyai efek toksik. Efek toksik tersebut adalah catechin dapat berpotensi sebagai agen karsinogenik¹⁸.

Acarbose tidak memenuhi kriteria lipinski rules dan tidak diabsorpsi oleh sel epitel intestinal dengan nilai absorpsi nol. Hal ini menunjukkan acarbose memiliki bioavailabilitas sistemik yang rendah sehingga dapat bekerja optimal pada lumen usus¹⁸. Acarbose tidak menembus *blood brain barrier* yang ditunjukkan dengan nilai distribusi BBB sebesar -2,436. Distribusi fraksi tidak terikat sebesar 0,475 lebih tinggi dibandingkan dengan senyawa lainnya sehingga efektifitas obat semakin baik. Metabolisme acarbose tidak terjadi di hepar karena sebagian besar di metabolisme dalam saluran pencernaan oleh bakteri usus dan dalam jumlah yang sedikit dari metabolit diserap ke sirkulasi kemudian diekskresikan melalui ginjal³⁴. Acarbose tidak bersifat hepatotoksik dan karsinogenik serta memiliki nilai *rotatable bond* 9 yang menunjukkan fleksibilitas acarbose semakin tinggi³⁵. Dapat disimpulkan bahwa acarbose bekerja secara optimal disaluran cerna dan tidak bersifat toksik.

Berdasarkan hasil diatas sesuai dengan penelitian Kusnandar (2020). Penelitian tersebut menyebutkan senyawa hesperetin glucuronide-hexoside dan kaempferol-3-O-glucoside merupakan senyawa golongan flavonoid yang terdapat pada produk fermentasi biji kacang merah berbentuk aglikon. Bentuk isoflavon aglikon memiliki aktivitas daya serap yang lebih tinggi di dalam tubuh dan memiliki kadar yang lebih tinggi daripada bentuk biji kacang merah²⁰.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil studi *in silico* melalui *molecular docking* didapatkan senyawa hesperetin-glucuronide-hexoside dan kaempferol 3-O-glucoside memiliki afinitas kuat untuk menghambat kerja enzim *alpha amylase* dan enzim *maltase glucoamylase* melalui sisi aktif yang berbeda dengan kontrol. Sedangkan hasil penelitian melalui pkCSM *online tool* didapatkan hasil senyawa hesperetin-glucuronide-hexoside dan kaempferol 3-O-glucoside dapat bekerja pada lumen usus melalui rute oral dan tidak bersifat toksik.

SARAN

Peneliti menyarankan hal – hal berikut untuk menunjang penelitian selanjutnya guna pengembangan dan kemajuan ilmu pengetahuan.

1. Perlu dilakukan penelitian lanjutan secara *in vitro* maupun *in vivo* senyawa aktif produk fermentasi biji kacang merah dalam menghambat enzim *alpha amylase* dan *maltase-glucoamylase*.
2. Perlu dilakukan penelitian mengenai mekanisme lain dari senyawa aktif produk fermentasi biji kacang merah sebagai antihiperglikemia.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terima kasih disampaikan kepada IOM (Ikatan Orang Tua Mahasiswa) dan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang, serta tim penelitian yang telah membantu penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Olokoba AB, Obateru OA, Olokoba LB. Type 2 diabetes mellitus: A review of current trends. Oman Med J. 2012;27(4):269–73.
2. Tang Y, Long J, Liu J. Hyperglycemia-Associated Oxidative Stress Induces Autophagy: Involvement of the ROS-ERK/JNK-p53 Pathway [Internet]. Vol. 1, Autophagy: Cancer, Other Pathologies, Inflammation, Immunity, Infection, and Aging. Elsevier Inc.; 2014. 105–115 p.
3. Anhê FF, Varin T V., Le Barz M, Desjardins Y, Levy E, Roy D, et al. Gut Microbiota Dysbiosis in Obesity-Linked Metabolic Diseases and Prebiotic Potential of Polyphenol-Rich Extracts. Curr Obes Rep. 2015;4(4):389–400.
4. Damayanti DS, Nurdiana, Chandra Kusuma HMS, Soeatmadji DW. The potency of soursop leaf water extract on activating GLP-1R, inhibiting DPP4 and FOXO1 protein based on *in silico* analysis. Int J Appl Pharm. 2019;11(6):72–9.
5. Puddu A, Sanguineti R, Montecucco F, Viviani GL. Evidence for the gut microbiota short-chain fatty acids as key pathophysiological molecules improving diabetes. Mediat Inflamm J. 2014;2014:1–9.
6. Wangko WS. Aspek Fisiologi Short Chain Fatty Acid (SCFA). Med Scope J. 2020;2(1):26–35.
7. Tatah VS, Otitoju O. Characterization of immobilized post-carbohydrate meal salivary - amylase. African J Biotechnol. 2015;14(31):2472–7.
8. Sinha, D., Satapathy, T., Dewangan, M. K., Kumar, A., Roy A. Recent Status on Carbohydrate Metabolizing Enzyme Inhibitors in Regulation. J Appl Pharm Research. 2015;3(2348):1–7.
9. Sari RK. Uji Efektivitas Protein Biji Melinjo (Gnetum gnemon L.) sebagai Inhibitor Aktivitas alfa amilase dan alfa glucosidase. 2015
10. Obboh G, Ogunsuyi OB, Ogunbadejo MD, Adefegha SA. Influence of gallic acid on α -amylase and α -glucosidase inhibitory properties of acarbose. J Food Drug Anal. 2016;24(3):627–34.
11. Astawan M, Mardhiyyah YS, Wijaya CH. Potential of Bioactive Components in Tempe for the Treatment of Obesity. J Gizi dan Pangan. 2018;13(2):79–86.
12. Alvina A, Hamdani D. Proses Pembuatan

- Tempe Tradisional. J Pangan Halal. 2019;1(1):1/4.
13. Maryam S. Komponen Isoflavon Tempe Kacang Merah (*Phaseolus Vulgaris* L) pada Berbagai Lama Fermentasi. Pros Semin Nas MIPA. 2016;363–8.
 14. Suarsana IN. Karakterisasi senyawa bioaktif isoflavon dan uji antioksidan ekstrak etanol tempe. Vol. 8, Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia. 2010. p. 74–9.
 15. Wardani NAK. Enzim α -Amilase Inhibitor Pada Ekstrak Air Kacang Merah (*Phaseolus vulgaris* L.) Untuk Penanggulangan Diabetes Melitus. J Ilmu Pangan dan Has Pertan. 2018;1(2):50.
 16. Wadood A, Ahmed N, Shah L, Ahmad A, Hassan H, Shams S. In-silico drug design : An approach which revolutionarised the drug discovery process. Drug Des Deliv. 2013;1(1):1–4.
 17. Sasi A, Kani M, Panneerselvam A, Jegadeesh G, Muthu K, Kumar MR. Optimizing the conditions of α -amylase by an Esturian strain of *Aspergillus* spp. 2010;4(8):581–6.
 18. Pires DEV, Blundell TL, Ascher DB. pkCSM: Predicting small-molecule pharmacokinetic and toxicity properties using graph-based signatures. J Med Chem. 2015;58(9):4066–72.
 19. Limón RI, Peñas E, Torino MI, Martínez-Villaluenga C, Dueñas M, Frias J. Fermentation enhances the content of bioactive compounds in kidney bean extracts. Food Chem [Internet]. 2015;172:343–52.
 20. Kusnandar F, Karisma VW, Firlieyanti AS, Purnomo EH. PERUBAHAN KOMPOSISI KIMIA TEMPE KACANG MERAH (*Phaseolus vulgaris* L.) SELAMA PENGOLAHAN. J Teknol Pangan. 2020;14(1).
 21. Arrasyid MAA, Damayanti DS, Lestari RD. Studi In Silico Senyawa Aktif Ekstrak Rimpang Jahe Emprit (*Zingiber officinale* Rosc .) terhadap Penghambatan Asetilkolinesterase , β -Tubulin dan Aktivasi Kanal Kalsium sebagai Antelmintik In Silico Study on Compound Activities of Emprit Ginger Rhizomes. 2020;147–58.
 22. Jiang, Jennifer; Ghosh S. Alpha glucosidase [Internet]. RCSB PDB. 2019. Available from: <https://pdb101.rcsb.org/global-health/diabetes-mellitus/drugs/alpha-glucosidase-inhibitors/alpha-glucosidase>
 23. Purnomo Y, Soeatmadji DW, Sumitro SB, Widodo MA. Anti-diabetic potential of *Urena lobata* leaf extract through inhibition of dipeptidyl peptidase IV activity. Asian Pac J Trop Biomed [Internet]. 2015;1–5.
 24. Muttaqin FZ, Pratama MF, Kurniawan F, Tinggi S, Bandunng F, Farmasi S. Molecular Docking and Molecular Dynamic Studies Of Stilbene Derivative Compounds as Sirtuin-3 Histone Deacetylase Inhibitor on Melanoma Skin Cancer and Their Toxicities. 2019;2(2):112–21.
 25. Hidayati NR, Oktaviani P, Setyaningsih I. Gambaran Interaksi Obat Diabetes Melitus Tipe 2 Dengan Obat Penyakit Penyerta Pada Pasien Rawat Inap Di Rsud Gunung Jati Kota Cirebon Tahun 2016. Med Sains J Ilm Kefarmasian. 2018;2(2):58–64.
 26. Pandithurai M, Thennarasan S, Thennarasan S. In vitro α -amylase and α -glucosidase inhibition activity of methanolic extract of marine brown alga *Spatoglossum asperum* .2015;2–6.
 27. Poovitha S, Parani M. In vitro and in vivo α -amylase and α - glucosidase inhibiting activities of the protein extracts from two varieties of bitter gourd (*Momordica charantia* L .). BMC Complement Altern Med [Internet]. 2016;16:1–8.
 28. Auwal M, Bester MJ, Neitz AW, Gaspar ARM. Biomedicine & Pharmacotherapy Rational in silico design of novel α -glucosidase inhibitory peptides and in vitro evaluation of promising candidates. Biomed Pharmacother [Internet]. 2018;107:234–42.
 29. Chagas CM, Moss S, Alisaraie L. Drug metabolites and their effects on the development of adverse reactions: Revisiting Lipinski's Rule of Five. Int J Pharm. 2018;549(1–2):133–49.
 30. Gherzi D, Sanchez R. Improving accuracy and efficiency of blind protein-ligand docking by focusing on predicted binding sites. Proteins Struct Funct Bioinforma. 2009;74(2):417–24.
 31. Kilo, Akram La Kilo., Aman, La Ode., Sabihi, Ismail., Kilo JL. SEBAGAI AGEN ANTIAMUBA MELALUI UJI IN SILICO Study of Potential of 1-N-Substituted Pyrazoline Analogues of Thiosemicarbazones as Antiamoebic Agent using In Silico Screening. 2019;7(1):9–24.
 32. Veber DF, Johnson SR, Cheng H, Smith BR, Ward KW, Kopple KD. Molecular Properties That Influence the Oral Bioavailability of Drug Candidates. 2002;2615–23.
 33. Gitawati R. Interaksi Obat dan Beberapa Implikasinya. Media Litbang Kesehat [Internet]. 2008;18(4):175–84.
 34. McIver, Lindsey A.; Trip J. Acarbose [Internet]. StatPearls Publishing LLC. 2021. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK493214/>
 35. Syahputra G, Ambarsari L, T S. Simulasi docking kurkumin enol, bisdemetoksikurkumin dan analognya sebagai inhibitor enzim12-lipoksigenase. Biofisika. 2014;10(1):55–67.

