

POTENSI SENYAWA AKTIF BIJI KACANG TUNGGAK (*Vigna unguiculata*) SEBAGAI ANTI-DISLIPIDEMIA: STUDI IN SILICO

Gistha Putri Pinasthika, Raden Muhammad Hardadi Airlangga, Dini Sri Damayanti*
Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

ABSTRAK

Pendahuluan: Biji *Vigna unguiculata* berpotensi untuk mempengaruhi profil lipid, namun belum banyak penelitian studi *in silico* untuk mencegah dislipidemia. Melalui inhibisi HMGCR Reduktase (3-Hydroxy-3-Methylglutaryl Coenzyme A Reductase) dapat menurunkan sintesis kolesterol yang mempengaruhi perunan sintesis VLDL di hepar dan meningkatkan LDLR (Low Density Lipoprotein Receptor) yang berpengaruh pada peningkatan ambilan LDL sirkulasi. Penurunan VLDL dapat meningkatkan HDL dan menurunkan LDL yang mencegah dislipidemia.

Metode: *In silico* menggunakan Molecular Docking Server. Senyawa aktif biji *Vigna unguiculata* ditambatkan HMGCR (ID: 1DQA) dan LDLR (ID: 1AJJ) dengan simvastatin sebagai kontrol. Evaluasi berdasarkan ΔG , Ki, interaksi permukaan, dan residu asam amino. Uji fisikokimia memenuhi kriteria Lipinski, uji farmakokinetik absorpsi, distribusi, metabolisme, ekskresi (ADME), dan toksisitas.

Hasil: Senyawa dengan afinitas terbaik dengan HMGCR berdasarkan ($-\Delta G$ dan residu asam amino) yaitu cycloartenol (-9,7kcal/mol, 87%), stigmasterol (-8,75kcal/mol, 50%), genistin (-7kcal/mol, 25%) dan LDLR cycloartenol (-7,30kcal/mol, 83%), stigmasterol (-7,10kcal/mol, 100%), genistin (-6,75kcal/mol, 50%), dan daidzin (-6,58 kcal/mol, 66,66%). Sifat fisikokimia seluruh senyawa yang diuji memenuhi kriteria aturan Lipinski. Sifat farmakokinetik cycloartenol dan stigmasterol untuk absorpsi baik, tidak mengaktifkan CYP2D6/CYP3A4 inhibitor sehingga penggunaan dosis tinggi tidak berpotensi toksik.

Kesimpulan: Senyawa cycloartenol dan stigmasterol memiliki hasil penambatan terbaik terhadap HMGCR dan LDLR, mudah larut, tidak toksik, dan aman dikonsumsi berdasarkan LD50.

Kata kunci: *Vigna unguiculata*; Anti-Dislipidemia; Simvastatin; *In silico*

*Korespondensi:

Dini Sri Damayanti,

Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

Alamat: Jl. MT. Haryono 193 Malang, Jawa Timur, Indonesia, 65144

Email: dinisridamayanti@unisma.ac.id

POTENTIAL OF ACTIVE COMPOUNDS OF COWPEA (*Vigna unguiculata*) AS ANTI-DISLIPIDEMIA: IN SILICO STUDY

Gistha Putri Pinasthika, Raden Muhammad Hardadi Airlangga, Dini Sri Damayanti *
Faculty of Medicine University of Islam Malang

ABSTRACT

Introduction: The seeds of *Vigna unguiculata* have the potential to affect lipid profiles, but there have not been many research studies *in silico* to prevent dyslipidemia. Through the inhibition of HMGCR Reductase (3-Hydroxy-3-Methylglutaryl Coenzyme A Reductase) can lower cholesterol synthesis which affects of VLDL synthesis in liver and increase LDLR (Low Density Lipoprotein Receptor) which has an effect on increasing the intake of circulating LDL. A decrease VLDL can increase HDL and lower LDL which prevents dyslipidemia.

Method: *In silico* using Molecular Docking Server. The active compounds of the seeds of *Vigna unguiculata* were docking HMGCR (ID: 1DQA) and LDLR (ID: 1AJJ) with simvastatin as a control. Evaluation based on ΔG , Ki, surface interaction, and amino acid residues. The physicochemical test meets Lipinski's criteria, the pharmacokinetic test of absorption, distribution, metabolism, excretion (ADME), and toxicity.

Results: The compounds with the best affinity with HMGCR based on ($-\Delta G$ and amino acid residues) were cycloartenol (-9.7kcal/mol, 87%), stigmasterol (-8.75kcal/mol, 50%), genistin (-7kcal/mol, 25%) and LDLR cycloartenol (-7.30kcal/mol, 83%), stigmasterol (-7.10kcal/mol, 100%), genistin (-6.75kcal/mol, 50%), and daidzin (-6.58 kcal/mol, 66.66%). The physicochemical properties of all compounds tested meet the criteria of the Lipinski rule. Pharmacokinetic properties of cycloartenol and stigmasterol for good absorption, do not activate CYP2D6/CYP3A4 inhibitors so that the use of high doses is not potentially toxic.

Conclusion: Cycloartenol and stigmasterol compounds have the best tethering results against HMGCR and LDLR, are easily soluble, non-toxic, and safe to consume based on LD50.

Keywords: *Vigna unguiculata*; Anti-Dyslipidemia; Simvastatin; *In silico*

*Correspondence:

Dini Sri Damayanti

Faculty of Medicine, University of Islam Malang

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

Email: dinisridamayanti@unisma.ac.id

PENDAHULUAN

Dislipidemia termasuk faktor resiko terjadinya aterosklerosis penyebab penyakit kardiovaskular.¹ Di Indonesia tiap tahun jumlah insidensi dislipidemia terus meningkat.² Patofisiologi dislipidemia disebabkan diet tinggi lemak, diet tinggi karbohidrat, gaya hidup seperti merokok dan kurangnya aktivitas fisik yang menimbulkan hipertrofi adiposa menginduksi resisten insulin dan meningkatkan lipolisis jaringan adiposa.³ Lipolisis dapat meningkatkan FFA plasma, FFA masuk ke hepar membentuk VLDL yang dikeluarkan ke sirkulasi. Peningkatan VLDL plasma meningkatkan CETP sehingga terjadi peningkatan pertukaran TG-VLDL terhadap CE-HDL dan LDL, sehingga menurunkan HDL dan meningkatkan LDL.⁴

Penatalaksanaan dislipidemia melalui pemberian beberapa obat yaitu statin, fibrat, niasin, ezetimibe, dan bile acid sequestrans.⁵ Namun pemberian obat ini diketahui menimbulkan efek samping, ditemukan 8% pasien di rumah sakit Amerika Serikat disebabkan efek samping obat yang tiap tahun ribuan orang meninggal karena obat bebas.⁶ Sehingga masyarakat memilih herbal yang dianggap efek samping rendah, murah, mudah ditemukan.⁷

Dalam studi epidemiologi observasional konsumsi kacang mampu menurunkan kolesterol total dan LDL dalam uji klinis, tetapi sebagian besar hanya meneliti kacang kedelai dibandingkan jenis kacang lainnya.⁸ Penelitian lain membuktikan biji *Vigna unguiculata* memberikan efek perlindungan pada penyakit kardiovaskular, hiperkolesterolemia dan obesitas.⁹ Penelitian pada tikus diet tinggi kolesterol dan biji *Vigna unguiculata* dapat menurunkan total kolesterol, TG, LDL dan meningkatkan HDL.¹⁰ Melalui *Prediction of Activity Spectra of Substances* (PASS) menunjukkan beberapa senyawa aktif biji *Vigna unguiculata* memiliki efek farmakologi sebagai *Cholesterol antagonist* dan *Antihypercholesterolemic* dengan nilai $Pa > 0,7$ yang berarti memiliki aktivitas farmakologi eksperimental tinggi. Belum banyak penelitian mengenai biji *Vigna unguiculata* untuk mencegah dislipidemia melalui studi *in silico*.

Studi *in silico* adalah metode komputasi yang membantu penelitian lebih cepat, hemat biaya, dan tidak memerlukan banyak alat dan bahan.¹¹ *In silico* dapat memprediksi mekanisme senyawa aktif biji *Vigna unguiculata* sebagai inhibitor HMGCR dan meningkatkan LDLR. Simvastatin memiliki aktivitas sama dengan protein target sebagai inhibitor HMGCR yang menyebabkan penurunan sintesis kolesterol, dan meningkatkan LDLR yang mengikat LDL plasma ke hepar. Penurunan kolesterol dapat menurunkan VLDL dan meningkatkan HDL. Potensi senyawa aktif biji *Vigna unguiculata* sebagai obat oral yang aman dapat diketahui melalui uji fisikokimia *Lipinski's rule of five*, sifat farmakokinetik, dan toksisitas.¹²

METODE PENELITIAN

Desain penelitian

Penelitian menggunakan metode komputasi *in silico* dengan penambatan senyawa aktif biji *Vigna unguiculata* terhadap HMGCR (ID: 1DQA) dan LDLR (ID: 1AJJ).

Waktu penelitian

Bulan Februari sampai April 2022 di Laboratorium Terpadu Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang.

Alat

Menggunakan koneksi internet, komputer dengan sistem operasi Windows 10, spesifikasi RAM 4.00 GB, Intel core i5, CPU 2.50 GHz, koneksi internet, web Docking Server dan pkCSM *online tool*.

Bahan

Senyawa aktif biji *Vigna unguiculata* diantaranya p-coumaric acid, ferulic acid, palmitic acid, daidzein, stigmaterol, cycloartenol, daidzin, genistein, glycitin, glycitein, genistin, phantotenic acid, gallic acid, vanillic acid, protocathechuic acid, myristic acid, caffeic acid, niasin, syrigic acid, linoleic acid, oleic acid, p-hydroxybenzoic acid dan simvastatin dari Pubchem dengan format 3D PDB. Struktur 3D protein target HMGCR (ID: 1DQA) dan LDLR (ID: 1AJJ) dari RCSB Protein Data Bank.

Penambatan Senyawa Aktif Biji *Vigna unguiculata* Terhadap LDLR dan HMGCR

Penambatan molekul melalui Docking Server dengan pengulangan 30x. Analisa hasil penambatan berdasarkan parameter energi ikatan bebas (ΔG), konstanta inhibisi (Ki), interaksi permukaan, dan residu asam amino. Menentukan grid box agar protein target memiliki interaksi yang spesifik dengan ligan melalui kotak simulasi sesuai dengan ukuran protein target **Tabel 1**.

Tabel 1 Grid Box.

	HMGCR	LDLR
Size x	80	25
Size y	80	20
Size z	80	25
Center x	-9.25	10.37
Center y	20.17	6.66
Center z	30.89	2.94

Keterangan: Interaksi ligand dengan HMGCR dan LDLR dihitung pada daerah yang ditentukan didalam grid box.

Validasi

Hasil uji validasi berdasarkan nilai RMSD simvastatin terhadap HMGCR 0.08Å dan simvastatin terhadap LDLR 0.85Å. Hasil validasi dari penambatan simvastatin terhadap protein target menurut *Root Mean Square Deviation* (RMSD) <2 Å, yang diperoleh dari rata-rata pengulangan 30x. RMSD menunjukkan penilaian penyimpangan jarak

ikat ligan dan protein target sebagai validasi kontrol.¹³ Uji validasi bertujuan mengetahui bahwa metode yang digunakan valid untuk menjadi pembandingan penambatan senyawa uji lainnya.

Prediksi Uji Fisikokimia, Farmakokinetik, dan Toksisitas Senyawa Aktif Biji *Vigna unguiculata*

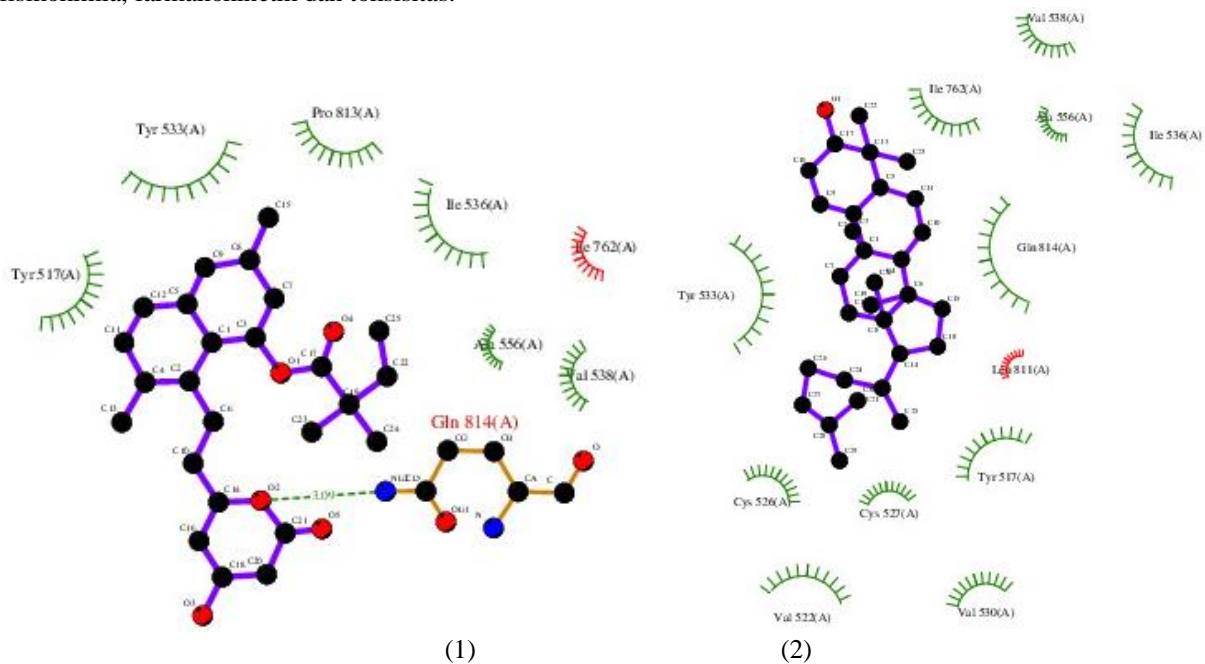
Pada pkCSM *online tool*, tempatkan struktur senyawa yang diperoleh dari Online SMILES *Translator* di kolom yang sudah disediakan. Pilih ADME/T untuk mendapatkan hasil uji fisikokimia, farmakokinetik, dan toksisitas. Uji fisikokimia dengan memenuhi aturan Lipinski yaitu berat molekul ≤ 500 g/mol, *Hydrogen Bond Acceptor* (HBA) ≤ 10 , *Hydrogen Bond Donor* (HBD) ≤ 5 dan koefisien partisi (log P) ≤ 5 . Minimal 2 kriteria terpenuhi maka penelitian dapat dikembangkan lebih lanjut.¹⁴ Uji sifat farmakokinetik berdasarkan parameter absorpsi (*intestinal absorption*, *Caco-2 permeability*), distribusi (*Volume Distribution Steady State* atau *VDss*, *Blood-Brain Barrier* atau *BBB permeability*, metabolisme (Cytochrome P450 isoform utama yaitu *CYP2D6/CYP3A4*), ekskresi (*Total Clearance*), dan toksisitas (Rat LD50).¹⁵ Penting dalam pengembangan obat baru untuk menentukan jumlah dosis, interval, dan batas keamanan agar terbentuk keseimbangan dari sifat fisikokimia, farmakokinetik dan toksisitas.¹⁴

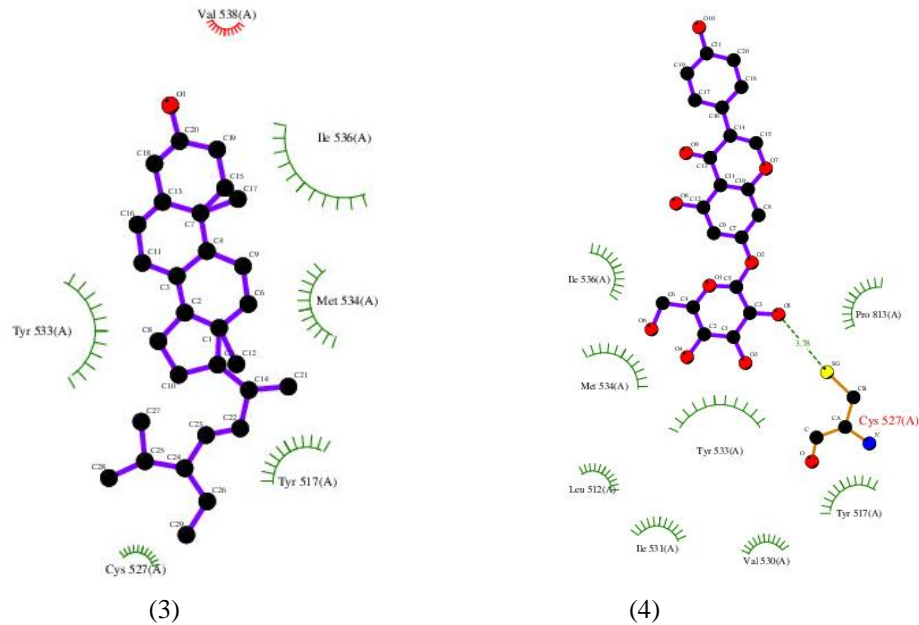
HASIL PENELITIAN

Hasil Data Penambatan Senyawa Aktif Biji *Vigna unguiculata* dengan HMGCR dan LDLR

Hasil penambatan senyawa aktif biji *Vigna unguiculata* berdasarkan ΔG , K_i , interaksi permukaan, dan residu asam amino yang dibandingkan dengan simvastatin. Setelah dibandingkan terdapat 3 senyawa aktif terbaik dari penambatan HMGCR dan 4 senyawa terbaik dari penambatan LDLR.

Pada penambatan senyawa aktif biji *Vigna unguiculata* dengan HMGCR secara berurutan dari yang terbaik yaitu cycloartenol, stigmasterol, dan genistin pada **Tabel 2**. Hasil penambatan simvastatin terhadap HMGCR ΔG -8.00 kcal/mol; K_i 1.38 μM ; interaksi permukaan 812.522 \AA ; residu asam amino GLN814, TYR533, ILE536, TYR517, PRO813, VAL538, ALA556, ILE762. Cycloartenol ΔG -9.70 kcal/mol; K_i 0.077 μM ; interaksi permukaan 853.031 \AA ; residu asam amino 87,5%. Stigmasterol ΔG -8.57 kcal/mol; K_i 52 μM ; interaksi permukaan 895.44 \AA ; residu asam amino 50%. Genistin ΔG -7.00 kcal/mol; K_i 4.42 μM ; interaksi permukaan 834.921, residu asam amino 37,5%.





Gambar 1: Ikatan Senyawa Aktif Biji *Vigna unguiculata* dengan HMGCR

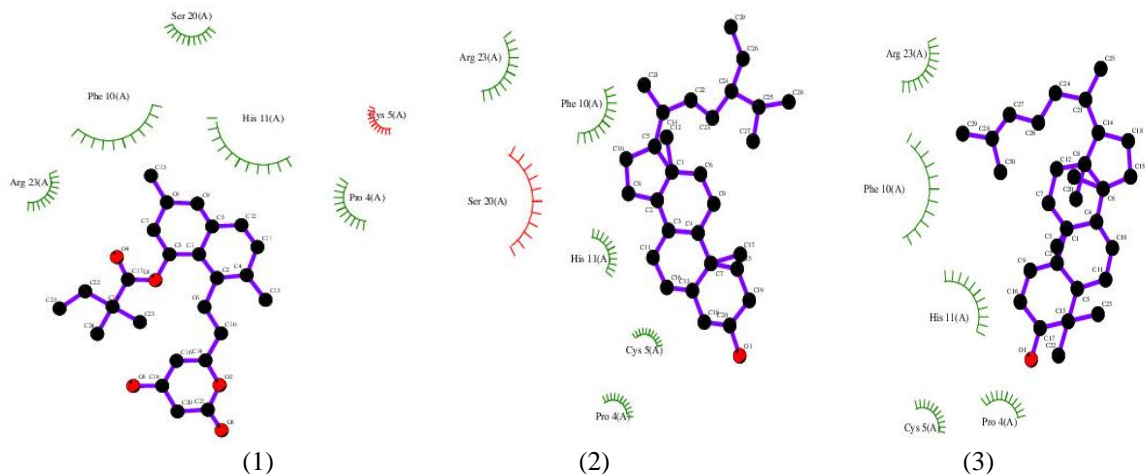
Keterangan: (1) Simvastatin, (2) Cycloartenol, (3) Stigmasterol, (4) Genistin

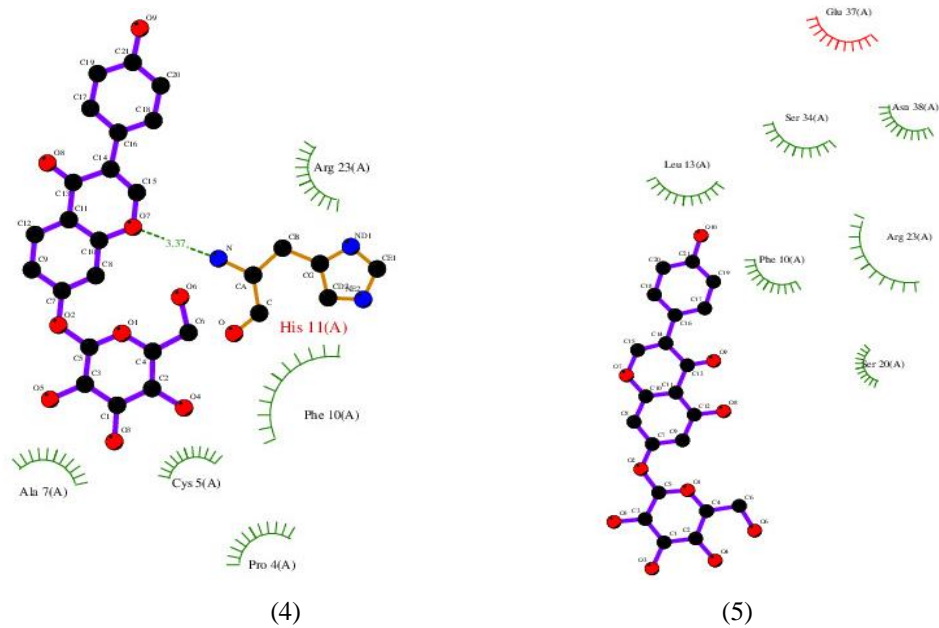
Tabel 2. Hasil ΔG , Ki, Interaksi Permukaan, dan Residu Asam Amino Senyawa Aktif Biji *Vigna unguiculata* dan Simvastatin Terhadap HMGCR

	Energi Ikatan Bebas kcal/mol	Konstanta Inhibisi uM	Interaksi Permukaan Å	Residu Asam Amino	Persamaan Residu As. Amino Dibanding Simvastati %
Simvastatin	-8.00	1.38	812.522	Hidrogen: GLN814 Hidrofobik: TYR533, ILE536, TYR517, PRO813, VAL538, ALA556, ILE762	-
Cycloartenol	-9.70	0.077	853.031	Hidrofobik: TYR533, ILE536, VAL522, TYR517, ILE762, VAL530, VAL538, CYS526, CYS527, ALA556, LEU811 Lain-lain: GLN814	87,5
Stigmasterol	-8.57	0.52	895.44	Hidrofobik: ILE536, TYR533, MET534, CYS527, VAL538 Lain-lain: TYR517	50
Daidzin	-7.30	4.42	759.294	Hidrogen: VAL538, CYS527 Polar: TYR517 Cation-pi: TYR533 Hidrofobik: PRO535, MET534	0
Genistin	-7.00	7.35	834.921	Hidrogen: CYS527 Polar: TYR517 Hidrofobik: TYR533, MET534, PRO813 Lain-lain: ILE536, ILE531, VAL530, LEU512	37,5
Glycitin	-6.72	11.92	810.231	Polar: GLN814 Hidrofobik: TYR533, PRO535, LEU811 Lain-lain: ILE762	37,5
Glycitein	-6.13	32.05	640.674	Hidrofobik: TYR533, ILE536, PRO535, TYR517 Lain-lain: VAL538, ALA556, VAL530	62,5
Pantothenic acid	-5.75	61.01	490.826	Polar: GLN814 Hidrofobik: PRO813, VAL538, CYS817 Lain-lain: ALA556	50
Ferulic acid	-5.58	81.14	536.41	Polar: ASN658, GLN766 Hidrofobik: MET655, ALA654 Lain-lain: THR809, ASP767, MET659	0
Genistein	-5.49	95.06	611.232	Hidrofobik: TYR533, ILE536, TYR517 Lain-lain: ILE762, VAL538, VAL530	62,5

Caffeic acid	-5.45	101.50	468.02	Polar: HIS752, GLU559, ARG568, SER865, ASN755, SER565, SER852 Hidrofobik: LEU853, HIS866, CYS561, LEU862 Lain-lain: LEU562, ALA856	0
Protocatechuic acid	-5.43	104.16	434.224	Polar: GLN766 Hidrofobik: MET655 Lain-lain: THR809	0
Daidzein	-5.39	112.32	604.004	Hidrofobik: TYR533, ILE536, TYR517 Lain-lain: VAL538, ALA556, VAL530	62,5
Gallic acid	-5.34	121.18	448.457	Hidrogen: GLY808 Polar: GLN766 Hidrofobik: MET655 Lain-lain: THR809, ALA654	0
Vanillic acid	-5.27	136.13	472.481	Polar: GLN766 Hidrofobik: MET655 Lain-lain: ASP767, THR809, ALA654	0
Myristic acid	-4.94	240.28	606.35	Polar: ASN658 Hidrofobik: MET655, ALA654 Lain-lain: ASP767, GLN766, THR809	0
p-coumaric acid	-4.92	247.67	488.73	Polar: ASN658, GLN766 Hidrofobik: MET655 Lain-lain: THR809, MET659	0
Syringic acid	-4.71	355.53	523.78	Hidrofobik: MET655 Lain-lain: ASP767, THR809, ALA654, GLN766	0
Palmitic acid	-4.57	448.68	692.033	Hidrofobik: MET659, MET655, ALA654 Lain-lain: ASN658, GLN766, THR809	0
Linoleic acid	4.52	485.53	784.63	Hidrofobik: MET655, CYS526, CYS527, LEU811 Lain-lain: ASP767, ALA654	0
Oleic acid	-4.48	517.45	642.043	Polar: TYR517 Hidrofobik: TYR533, ILE536, PRO813, ALA556, ILE762 Lain-lain: GLN814	75
p-hydroxybenzoic acid	-4.40	596.01	422.332	Polar: GLN766 Hidrofobik: MET655 Lain-lain: THR809, ALA654	0
Niasin	-4.21	822.76	383.818	Hidrogen: VAL805 Polar: ASN658 Hidrofobik: MET655 Lain-lain: MET657	0

Keterangan: Penambatan 22 senyawa aktif biji *Vigna unguiculata* dan simvastatin terhadap HMGR beserta nilai ΔG , K_i , interaksi permukaan, dan residu asam amino (**teks bold**) mirip milik simvastatin.





Gambar 2: Ikatan Senyawa Aktif Biji *Vigna unguiculata* dengan LDLR

Keterangan: (1) Simvastatin (2) Stigmasterol, (3) Cycloartenol, (4) Daidzin, (5) Genistin

Hasil penambatan senyawa aktif biji *Vigna unguiculata* terhadap LDLR yaitu cycloartenol, stigmasterol, genistin, dan daidzin pada **Tabel 3**. Penambatan simvastatin terhadap LDLR menunjukkan ΔG -6.29 kcal/mol; K_i 24.71; interaksi permukaan 598.164; residu asam amino ARG23, HIS11, PHE10, PRO4, CYS5, SER20. Hasil penambatan senyawa aktif biji *Vigna unguiculata*

terhadap LDLR diurut dari yang terbaik yaitu cycloartenol, stigmasterol, genistin, dan daidzin dengan rincian ΔG (-7.30 kcal/mol; -7.10 kcal/mol; -6.75 kcal/mol; -6.58 kcal/mol), K_i (4.48 μM ; 6.22 μM ; 11.25 μM ; 14.93 μM), interaksi permukaan (600.646 \AA ; 615.023 \AA ; 648.19 \AA ; 635.954 \AA), residu asam amino (83%; 100%; 50%; 66,6%).

Tabel 3. Hasil ΔG , Interaksi Permukaan, dan Residu Asam Amino Senyawa Aktif Biji *Vigna unguiculata* dan Simvastatin Terhadap LDLR

	Energi Ikatan Bebas kcal/mol	Interaksi Permukaan \AA	Residu Asam Amino	Jumlah Residu As. Amino Dibanding Simvastatin %
Simvastatin	-6.29	598.164	Polar: ARG23 Hidrofobik: HIS11, PHE10, PRO4, CYS5 Lain-lain: SER20	-
Cycloartenol	-7.30	600.646	Hidrofobik: PHE10, HIS11, CYS5 Lain-lain: ARG23, PRO4	83
Stigmasterol	-7.10	615.023	Polar: ARG23 Hidrofobik: PHE10, HIS11, PRO4, CYS5 Lain-lain: SER20	100
Genistin	-6.75	648.19	Polar: ARG23, ASN38, GLU37 Hidrofobik: LEU13, PHE10 Lain-lain: SER34, SER20	50
Daidzin	-6.58	635.954	Hidrogen: HIS11 Polar: ARG23 Hidrofobik: PHE10, CYS5 Lain-lain: ALA7, PRO4	66,6
Glycitin	-6.25	593.787	Hidrogen: HIS11 Polar: ARG23 Cation-pi: PHE10 Hidrofobik: PRO4 Lain-lain: SER20	50
Pantothenic acid	-6.00	339.712	Hidrogen: GLU9 Hidrofobik: HIS11, CYS5 Lain-lain: PRO4	50

Glycitein	-5.15	474.663	Polar: ARG23 Hidrofobik: PHE10, HIS11, CYS5 Lain-lain: PRO4	83,3
Genistein	-4.92	452.905	Hidrogen: PHE8 Polar: ARG23 Hidrofobik: PHE10, CYS5, HIS11 Lain-lain: PRO4	66,6
Gallic acid	-4.65	315.943	Polar: HIS11 Hidrofobik: PRO4, CYS5	33,3
Caffeic acid	-4.63	333.694	Hidrofobik: PRO4, CYS5 Lain-lain: HIS11	50
Daidzein	-4.59	446.351	Polar: ARG23 Hidrofobik: CYS5, PHE10, HIS11 Lain-lain: PRO4	83,3
Protocatechuic acid	-4.36	303.895	Hidrofobik: CYS5, PRO4, Lain-lain: HIS11	50
Ferulic acid	-4.09	392.999	Hidrofobik: HIS11, PHE10, PRO4, CYS5	66,6
Vanillic acid	-3.78	336.14	Hidrofobik: PRO4, CYS5, HIS11	50
Syringic acid	-3.58	355.225	Hidrogen: HIS11 Hidrofobik: PRO4, CYS5	33,3
Linoleic acid	-3.54	550.286	Hidrofobik: PHE10, PRO4, HIS11, LEU13, CYS5	66,6
p-coumeric acid	-3.40	356.739	Hidrogen: HIS11 Hidrofobik: PHE10, PRO4, CYS5	50
Oleic acid	-3.02	526.007	Hidrogen: HIS11 Hidrofobik: LEU13, CYS5 Lain-lain: PRO4	33,3
Myristic acid	-3.00	471.757	Hidrofobik: HIS11, PHE10, CYS5 Lain-lain: ARG23, SER20	66,6
p-hydroxybenzoic acid	-3.00	299.574	Cation-pi: HIS11 Hidrofobik: PRO4, CYS5	33,3
Niasin	-2.95	254.113	Hidrofobik: CYS5 Lain-lain: PRO4	33,3
Palmitic acid	-2.90	462.743	Hidrofobik: PRO4, HIS11, PHE10 Lain-lain: CYS5	66,6

Keterangan: Penambatan 22 senyawa aktif biji *Vigna unguiculata* dan simvastatin terhadap LDLR beserta nilai ΔG , interaksi permukaan, dan residu asam amino (**teks bold**) mirip milik simvastatin.

Hasil Uji Fisikokimia Senyawa Aktif Biji *Vigna unguiculata*

Hasil uji fisikokimia melalui parameter *Lipinski's Rule Of Five* diantaranya berat molekul, HBA, HBD, dan koefisien partisi (Log P) pada **Tabel 4**. Seluruh senyawa aktif yang diuji

memenuhi aturan Lipinski, tetapi cycloartenol, stigmasterol, genistin, dan daidzin memiliki nilai berat molekul yang cukup besar yaitu mendekati 500g/mol. Sehingga besarnya angka berat molekul ini dapat berpengaruh pada proses absorpsi senyawa.

Tabel 4. Hasil Uji Fisikokimia Senyawa Aktif Biji *Vigna unguiculata*

Senyawa	CID	Rumus Kimia	Parameter Lipinski's Rule Of Five				Memenuhi Lipinski's Rule of Five
			Berat Molekul (≤ 500)	HBD ≤ 5	HBA ≤ 10	Log P ≤ 5	
Simvastatin	54454	C ₂₅ H ₃₈ O ₅	418.574	1	5	4.58	4/4
Daidzein	5281708	C ₁₅ H ₁₀ O ₄	254.241	2	4	2.87	4/4
Glycitein	5317750	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	284.267	2	5	2.87	4/4
Genistein	5280961	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	270.24	3	5	2.57	4/4
Myristic acid	11005	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	228.376	1	1	4.77	4/4
Ferulic acid	445858	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	194.186	2	3	1.49	4/4
p-coumaric acid	637542	C ₉ H ₈ O ₃	146.16	2	2	1.49	4/4
Caffeic acid	689043	C ₉ H ₈ O ₄	180.159	3	3	1.19	4/4
Syringic acid	10742	C ₉ H ₁₀ O ₅	198.174	2	4	1.1	4/4
Vanillic acid	8468	C ₈ H ₈ O ₄	168.148	2	3	1.09	4/4
p-hydroxybenzoic acid	135	C ₇ H ₆ O ₃	138.122	2	2	1.09	4/4
Protocatechuic acid	72	C ₇ H ₆ O ₄	154.121	3	3	0.79	4/4
Niasin	938	C ₆ H ₅ NO ₂	123.111	1	2	0.77	4/4
Gallic acid	370	C ₇ H ₆ O ₅	170.12	4	4	0.5	4/4
Daidzin	107971	C ₂₁ H ₂₀ O ₉	416.382	5	9	0.34	4/4
Glycitin	187808	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₀	446.408	5	10	0.35	4/4
Pantothenic Acid	6613	C ₉ H ₁₇ NO ₅	219.237	4	4	-1.04	4/4
Palmitic acid	985	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256.43	1	1	5.55	3/4
Linoleic acid	5280450	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	280.452	1	1	5.884	3/4
Oleic acid	445639	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	282.468	1	1	6.10	3/4
Stigmasterol	5280794	C ₂₉ H ₄₈ O	412.702	1	1	7.80	3/4
Cycloartenol	92110	C ₃₀ H ₅₀ O	426.729	1	1	8.16	3/4
Genistin	5281377	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	432.381	6	10	0.04	3/4

Keterangan: Hasil uji fisikokimia senyawa aktif biji *Vigna unguiculata* berdasarkan Lipinski's rule of five

Hasil Uji Farmakokinetik dan Toksisitas Senyawa Aktif Biji *Vigna unguiculata*

Hasil prediksi farmakokinetik dan toksisitas senyawa aktif biji *Vigna unguiculata* berdasarkan parameter absorpsi, distribusi, metabolisme, ekskresi, dan toksisitas (ADME/T) dapat dilihat pada **Tabel 5**.

Senyawa aktif cycloartenol dan stigmasterol memiliki absorpsi yang tinggi >90%, distribusi rendah, dapat menembus BBB, tetapi dapat mengaktifkan CYP3A4 inhibitor, CLTOT berkisar 0.15-1.93, dan tidak berpotensi mematikan jika diberikan pada lima puluh persen hewan coba.

Tabel 5. Hasil Uji Farmakokinetik dan Toksisitas Senyawa Aktif Biji *Vigna unguiculata*

Senyawa	Absorpsi		Distribusi		Metabolisme		Ekskresi	Toksisitas	Memenuhi ADMET
	AI %	Caco2 cm/s	VDss Log L/Kg	BBB log BB	CYP2D6 inhibitor	CYP3A4 inhibitor	CLTOT log ml/min/kg	LD50 g/kg	
Simvastatin	95.31	0.97	0.19	-0.37	Tidak	Ya	0.82	10.431	6/8
Niasin	86.38	1.23	-0.75	-0.31	Tidak	Tidak	0.72	13.719	7/8
Myristic acid	92.64	1.55	-0.60	-0.03	Tidak	Tidak	1.69	19.950	7/8
Palmitic acid	91.95	1.55	-0.56	-0.11	Tidak	Tidak	1.76	22.831	7/8
Linoleic acid	92.28	1.56	-0.59	-0.15	Tidak	Tidak	1.93	25.280	7/8
Oleic acid	91.77	1.56	-0.56	-0.17	Tidak	Tidak	1.88	25.312	7/8
Ferulic acid	94.76	0.24	-1.17	-0.28	Tidak	Tidak	0.61	27.076	6/8
p-coumaric acid	91.67	1.14	-0.6	-0.23	Tidak	Tidak	0.69	19.029	6/8
Daidzein	91.11	0.77	-0.44	-0.12	Tidak	Tidak	0.15	22.210	6/8
Vanillic acid	76.16	0.06	-1.57	-0.39	Tidak	Tidak	0.66	18.267	6/8
p-hydroxybenzoic acid	74.37	1.13	-0.58	-0.33	Tidak	Tidak	0.66	14.386	6/8
Glycitein	94.43	0.92	0.01	-0.22	Tidak	Tidak	0.28	42.024	6/8
Genistein	89.95	0.85	-0.38	-0.75	Tidak	Tidak	0.17	28.904	6/8
Daidzin	52.96	0.46	-0.72	-1.23	Tidak	Tidak	0.23	55.031	5/8
Genistin	42.86	0.39	-0.32	-1.47	Tidak	Tidak	0.25	59.083	5/8
Glycitin	54.78	-0.34	-0.41	-1.58	Tidak	Tidak	0.17	68.245	5/8
Protocatechuic acid	72.85	0.13	-0.51	-0.8	Tidak	Tidak	0.63	17.434	5/8
Gallic acid	40.12	-0.04	-0.47	-1.14	Tidak	Tidak	0.59	20.387	5/8
Pantothenic Acid	32.58	-0.45	-1.53	-0.99	Tidak	Tidak	0.59	17.064	5/8
Syringic acid	78	0.43	-1.44	-0.21	Tidak	Tidak	0.64	23.304	5/8
Caffeic acid	65	0.12	-0.55	-0.82	Tidak	Tidak	0.54	23.002	5/8
Cycloartenol	96.74	1.23	-0.22	0.80	Tidak	Tidak	0.26	72.641	5/8
Stigmasterol	96.39	1.28	0.10	0.81	Tidak	Tidak	0.61	65.404	5/8

Keterangan: hasil uji sifat farmakokinetik senyawa aktif biji *Vigna unguiculata* berdasarkan Absorpsi, Distribusi, Metabolisme, Ekskresi, dan Toksisitas.

PEMBAHASAN

Penambatan Senyawa Aktif Biji *Vigna unguiculata* Terhadap HMGCR

Hasil penambatan simvastatin terhadap HMGCR, didapatkan ΔG -8.00 kcal/mol, K_i 1.38 μM , interaksi permukaan 812.522 Å, dan residu asam amino GLN814, TYR533, ILE536, TYR517, PRO813, VAL538, ALA556, ILE762. Residu yang berpengaruh dalam katalitik HMGCR yaitu aspartate, glutamate, histidine, dan lysine.¹⁷ Berdasarkan hasil tersebut didapatkan bahwa simvastatin tidak berikatan pada residu katalitik HMGCR. Hal ini dapat dipengaruhi dari code protein target, ukuran grid box, dan jumlah pengulangan.

Berdasarkan ΔG , K_i , interaksi permukaan, dan residu asam amino hasil penambatan simvastatin dibandingkan dengan penambatan 22 senyawa aktif biji *Vigna unguiculata*. Didapatkan 3 senyawa aktif yang memiliki afinitas terbaik yaitu cycloartenol, stigmasterol, dan genistin yang dapat dilihat pada **Tabel 2**. Stigmasterol dan cycloartenol merupakan golongan fitosterol, sedangkan genistin termasuk golongan isoflavon. Hal ini sesuai dengan penelitian Triliana yang membuktikan senyawa aktif golongan fitosterol dapat menurunkan kolesterol total dan LDL plasma.¹⁸ Senyawa aktif golongan isoflavon dari penelitian yang dilakukan Carolyn menunjukkan isoflavon dapat menghambat sintesis kolesterol dan meningkatkan LDLR di hepar.¹⁹ Penelitian ini menggunakan simvastatin sebagai kontrol. Statin menghambat enzim HMGCR sebagai pembatas laju sintesis kolesterol di hepar, dengan mengikat sisi aktif enzim dan menginduksi perubahan konformasi sehingga mempengaruhi aktivitasnya.²⁰ Pembatasan sintesis kolesterol dapat menurunkan sintesis VLDL dan meningkatkan HDL.²¹ Sehingga simvastatin dapat digunakan sebagai kontrol untuk analisa mekanisme kerja senyawa aktif biji *Vigna unguiculata* mencegah dislipidemia.

Penilaian afinitas protein target terhadap ligan menggunakan parameter ΔG , K_i , interaksi permukaan, residu asam amino. Senyawa aktif memiliki afinitas yang baik jika memiliki *binding affinity* yang sama atau lebih rendah dari pembanding.²² ΔG menunjukkan besar energi yang dilepaskan senyawa untuk berikatan dengan reseptor, ΔG rendah menunjukkan ligan dapat mengikat protein target dengan energi yang rendah dan berinteraksi secara spontan.²³ K_i merupakan parameter yang menunjukkan konsentrasi senyawa menghambat interaksi protein target dengan ligan.²⁴ Interaksi permukaan merupakan luas dari area penambatan protein dan ligan, semakin tinggi nilainya semakin besar potensi senyawa untuk berikatan dengan protein target.²⁵ Residu asam amino adalah asam amino pada protein target yang mengikat ligan. Kemiripan residu asam amino milik protein target dan ligan terhadap kontrol menandakan potensi sisi aktif yang sama dengan kontrol, sehingga juga memiliki potensi aktivitas sama dengan kontrol.²² Ikatan hidrogen ligan dan protein target yang sama

dengan kontrol dapat menstabilkan ikatan.²⁶ Senyawa aktif dengan ΔG sama atau lebih rendah dari kontrol dengan salah satu residu asam amino sama dengan kontrol diprediksi dapat mengikat protein target dan berikatan secara spontan.²⁷

Hasil penambatan senyawa aktif biji *Vigna unguiculata* terhadap HMGCR menunjukkan energi ikatan bebas yang paling negatif dari pada kontrol yaitu cycloartenol, stigmasterol, dan genistin (-9,7kcal/mol, -8,57kcal/mol, -7kcal/mol), sehingga senyawa memerlukan energy lebih kecil untuk terhubung dengan HMGCR. Dibanding simvastatin, cycloartenol dan stigmasterol memiliki ΔG lebih negatif. Maka cycloartenol dan stigmasterol memiliki ikatan yang lebih kuat dibanding simvastatin. Sedangkan genistin memiliki ΔG kurang dari atau sama dengan -7kcal/mol sehingga potensi untuk berikatan dengan HMGCR lebih rendah.²⁸

Konstanta inhibisi penambatan senyawa aktif biji *Vigna unguiculata* terhadap HMGCR dari yang terbaik yaitu cycloartenol, stigmasterol, genistin (0.07 μM , 0.52 μM , 7.35 μM). K_i cycloartenol dan stigmasterol lebih rendah dibanding kontrol, maka konsentrasi dan energi yang dibutuhkan untuk menghambat HMGCR lebih kecil. Sedangkan K_i genistin lebih besar dibanding kontrol menyebabkan genistin memerlukan konsentrasi dan energi yang lebih besar dari simvastatin. K_i berbanding lurus dengan ΔG , semakin ΔG negatif maka K_i semakin kecil sehingga energi yang dibutuhkan untuk menghambat protein target semakin kecil.²⁹

Hasil penambatan untuk parameter interaksi permukaan setelah dibandingkan dengan simvastatin. Interaksi permukaan diurutkan dari yang terbaik yaitu stigmasterol, cycloartenol, dan genistin dengan rincian (895.44Å, 853.031Å, 834.921Å), hasil menunjukkan lebih tinggi dari simvastatin. Semakin tinggi interaksi permukaan menunjukkan semakin besar peluang senyawa untuk berikatan dengan HMGCR.

Residu asam amino pada penambatan senyawa aktif biji *Vigna unguiculata* terhadap HMGCR setelah dibandingkan dengan simvastatin yaitu cycloartenol 87,5%, stigmasterol 50%, genistin 25%. Kesamaan ikatan asam amino dibanding simvastatin menunjukkan ada potensi sisi aktif dan potensi untuk menghambat HMGCR yang sama dengan simvastatin.²² Hasil residu asam amino cycloartenol, stigmasterol, dan genistin tidak terdapat ikatan hidrogen, sehingga ikatan yang terjadi memiliki potensi tidak stabil.

Penambatan Senyawa Aktif Biji *Vigna unguiculata* Terhadap LDLR

Penambatan LDLR terhadap simvastatin sebagai kontrol ΔG -6.29 kcal/mol; interaksi permukaan 598.164 Å; residu asam amino ARG23, HIS11, PHE10, PRO4, CYS5, SER20. Cysteine dapat meningkatkan mRNA LDLR dan meningkatkan aktivitas promotor gen LDLR.³⁰ Statin

dapat meningkatkan *Sterol Regulatory Element-Binding Proteins* (SREBP) sehingga mengaktifkan transkripsi ekspresi LDLR, yang membantu menarik masuk LDL plasma ke hepar.²⁰

Hasil penambatan senyawa aktif biji *Vigna unguiculata* terhadap LDLR dibanding simvastatin diurutkan dari yang terbaik yaitu cycloartenol, stigmasterol, genistin, dan daidzin. Daidzin termasuk golongan isoflavon dapat menghambat pembentukan kolesterol dan aktivasi LDLR di hepar.¹⁹ Cycloartenol, stigmasterol, genistin, dan daidzin memiliki potensi yang tinggi untuk meningkatkan ekspresi LDLR yang berdampak pada penurunan LDL plasma.

Hasil penambatan ΔG lebih kecil dibanding simvastatin, diurutkan dari yang terbaik cycloartenol, stigmasterol, genistin, dan daidzin (-7.30kcal/mol, -7.10kcal/mol, -6.75kcal/mol, -6.58kcal/mol). Hasil untuk interaksi permukaan yang terbaik senyawa aktif biji *Vigna unguiculata* diantaranya genistin, daidzin, stigmasterol, dan cycloartenol (648.19Å, 635.954 Å, 615.023Å, 600.646Å). Residu asam amino stigmasterol, cycloartenol, daidzin, dan genistin memiliki kesamaan dengan simvastatin yaitu stigmasterol 100%, cycloartenol 83%, daidzin 66,6%, genistin 50%. Adanya kesamaan ikatan asam amino simvastatin dan senyawa aktif terhadap LDLR menunjukkan kemiripan sisi aktif dan aktivitas simvastatin untuk menurunkan LDL plasma dengan mengaktifkan transkripsi ekspresi LDLR di hepar.³¹

Prediksi Fisikokimia Senyawa Aktif Biji *Vigna unguiculata*

Pada uji fisikokimia harus memenuhi aturan Lipinski yaitu berat molekul ≤ 500 g/mol, HBA ≤ 10 , HBD ≤ 5 , dan Log P ≤ 5 , minimal 2 kriteria terpenuhi maka penelitian dapat dilanjutkan.¹⁴ Berdasarkan 4 kriteria Lipinski Senyawa cycloartenol memenuhi 3 kriteria, stigmasterol 3 kriteria, genistin 3 kriteria, dan daidzin 4 kriteria aturan Lipinski, dengan minimal memenuhi 2 kriteria maka seluruh senyawa dianggap memenuhi. Cycloartenol, stigmasterol, genistin, dan daidzin memiliki berat molekul mendekati 500, jika semakin besar berat molekul maka semakin sulit suatu senyawa diabsorpsi.¹⁴ Jumlah donor ikatan hidrogen genistin ≥ 5 , maka kapasitas hidrogen genistin tinggi yang meningkatkan energi yang diperlukan untuk absorpsi. Log P ≥ 5 untuk cycloartenol dan stigmasterol, sehingga bersifat hidrofobik dibanding daidzin dan genistin. Dibanding cycloartenol, stigmasterol, dan genistin senyawa daidzin dan simvastatin memiliki kelarutan yang baik karena memenuhi aturan Lipinski.

Prediksi Farmakokinetik dan Toksisitas Senyawa Aktif Biji *Vigna unguiculata*

Hasil uji farmakokinetik dan toksisitas dari stigmasterol, cycloartenol, genistin, dan daidzin menunjukkan senyawa cycloartenol dan stigmasterol memiliki absorpsi yang paling tinggi, sehingga lebih mudah untuk masuk ke sirkulasi. Tidak bersifat toksik pada penggunaan dosis tinggi, karena tidak

mengaktivasi CYP2D6/CYP3A4 inhibitor. Sehingga senyawa tidak dinonaktifkan yang memicu respon toksisitas. Senyawa yang masuk ke tubuh akan berikatan dengan isoform CYP450 (CYP2D6 dan CYP3A4) untuk dimetabolisme, sehingga jika dihambat menyebabkan konsentrasi senyawa semakin tinggi yang resiko menimbulkan toksisitas.³² Hasil uji sifat farmakokinetik dan toksisitas menurut profil ADME/T.

Absorpsi intestinal cycloartenol (96.74%) dan stigmasterol (96.39%) memiliki hasil $>80\%$, semakin tinggi absorpsi intestinal menunjukkan semakin mudah senyawa diabsorpsi, dibanding simvastatin. Caco2 cycloartenol (1.23cm/s) dan stigmasterol (1.28cm/s) menunjukkan permeabilitas yang baik >0.9 cm/s. Sehingga cycloartenol dan stigmasterol dapat mencapai sirkulasi dengan cepat dan konsentrasi yang tinggi. Dibanding simvastatin, cycloartenol dan stigmasterol memiliki absorpsi intestinal dan Caco2 tebih baik.

Distribusi cycloartenol, stigmasterol, genistin, dan daidzin kurang baik, sehingga konsentrasi di plasma rendah dan kurang terdistribusi dengan baik.³³ Berdasarkan *Volume Distribution Steady State* (VD_{ss}) cycloartenol (-0.22), daidzin (-0.72), dan genistin (-0.32) rendah dengan nilai $< -0,15$ LogL/kg dan stigmasterol (0.1) tetapi tidak termasuk tinggi >0.45 Log L/kg. Cycloartenol (0.8) dan stigmasterol (0.81) dapat menembus BBB >0.3 logBB, maka dapat muncul efek samping di sistem saraf pusat.²⁸ Sebaliknya genistin (-1.47) dan daidzin (-1.23) tidak menembus BBB dengan hasil < -1 logBB. Dibanding simvastatin senyawa cycloartenol, stigmasterol, daidzin, dan genistin mempunyai VD_{ss} lebih rendah, dan simvastatin tidak dapat menembus BBB.

Metabolisme, berdasarkan CYP2D6 dan CYP3A4 inhibitor senyawa cycloartenol, stigmasterol, daidzin, dan genistin tidak mengaktifkan. Simvastatin sebagai pembanding dapat mengaktifkan CYP3A4 inhibitor sehingga memiliki kemungkinan lebih toksik dibanding senyawa cycloartenol, stigmasterol, daidzin, dan genistin. Perlu berhati-hati pada penggunaan dosis besar untuk simvastatin.

Ekskresi berdasarkan parameter *Clearance Total* (CLTOT) yang berperan penting untuk ekskresi obat oleh hepar, bilier, dan ginjal.³⁴ Semakin tinggi CLTOT menunjukkan kecepatan ekskresi senyawa yang didistribusikan.³⁵ Simvastatin (0.80) memiliki CLTOT paling tinggi dibanding cycloartenol (0,26), stigmasterol (0,61), daidzin (0,23), dan genistin (0,25). Sehingga simvastatin dapat diekskresi paling cepat dibanding cycloartenol, stigmasterol, daidzin, dan genistin.

Simvastatin, cycloartenol, stigmasterol, genistin, dan daidzin tidak bersifat toksik berdasarkan parameter LD₅₀ >5000 mg/kg berdasarkan *Globally Harmonized System* (GHS).²² LD₅₀ merupakan jumlah senyawa yang diberikan mengakibatkan kematian lima puluh persen hewan uji.¹⁵

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, dapat disimpulkan:

1. Senyawa aktif biji *Vigna unguiculata* mempunyai mekanisme mencegah dislipidemia melalui efek hipokolesterolemia dengan penghambatan HMGCR. Afinitas senyawa aktif biji *Vigna unguiculata* terhadap HMGCR memiliki hasil baik setelah dibandingkan simvastatin yaitu senyawa cycloartenol dan stigmasterol memiliki kekuatan untuk berikatan dan menghambat lebih baik dari simvastatin, sedangkan genistin terhadap HMGCR cukup baik tetapi lebih rendah dari simvastatin.
2. Senyawa aktif biji *Vigna unguiculata* mempunyai mekanisme mencegah dislipidemia melalui efek hipokolesterolemia dengan meningkatkan ekspresi LDLR. Afinitas senyawa aktif biji *Vigna unguiculata* terhadap LDLR memiliki hasil baik setelah dibandingkan simvastatin yaitu cycloartenol, stigmasterol, genistin, dan daidzin memiliki kekuatan untuk berikatan lebih tinggi dibanding simvastatin.
3. Uji sifat fisikokimia cycloartenol, stigmasterol, daidzin, dan genistin memiliki kelarutan yang baik karena memenuhi minimal 2 aturan Lipinski sehingga senyawa dapat diabsorpsi oleh intestinal. Senyawa daidzin dan simvastatin sebagai pembanding memenuhi 4 dari 4 aturan Lipinski.
4. Uji sifat farmakokinetik berdasarkan ADME/T cycloartenol dan stigmasterol memiliki absorpsi yang baik, tidak mengaktifkan CYP2D6 dan CYP3A4 inhibitor sehingga simvastatin lebih toksik karena mengaktifkan CYP3A4 inhibitor. Berdasarkan LD50 seluruh senyawa uji aman dikonsumsi.

SARAN

Hasil dari penelitian ini senyawa aktif biji *Vigna unguiculata* dapat dikembangkan lagi melalui penelitian lanjutan sebagai anti-dislipidemia. Penelitian lanjutan studi in vivo untuk mengetahui potensi senyawa aktif biji *Vigna unguiculata* menghambat HMGCR dan meningkatkan ekspresi LDLR di hepar.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih disampaikan kepada dosen pembimbing dan penguji seminar hasil penelitian, dan IOM Fakultas Kedokteran UNISMA yang mendanai penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Miura, Y. & Suzuki, H. Dyslipidemia and atherosclerotic carotid artery stenosis. *Vessel Plus* 3, 1–15 (2019).
2. Rahmawati, N. D. & Dewi Sartika, R. A. Analisis Faktor-Faktor Risiko Kejadian Dislipidemia pada Karyawan Pria Head Office PT.X, Cakung, Jakarta Timur. *Nutr. Diaita* 12, 1–9 (2020).
3. Ipsen, D. H., Tveden-Nyborg, P. & Lykkesfeldt, J. Dyslipidemia: Obese or Not Obese—That Is Not the Question. *Curr. Obes. Rep.* 5, 405–412 (2016).
4. González-Lleó, A. M., Sánchez-Hernández, R. M., Boronat, M. & Wägner, A. M. Diabetes and Familial Hypercholesterolemia: Interplay between Lipid and Glucose Metabolism. *Nutrients* 14, 1–23 (2022).
5. Mach, F. *et al.* 2019 ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: Lipid modification to reduce cardiovascular risk. *Eur. Heart J.* 41, 111–188 (2020).
6. Karimi, A., Majlesi, M. & Rafieian-Kopaei, M. Herbal versus synthetic drugs; beliefs and facts. *J. nephropharmacology* 4, 27–30 (2015).
7. Jennifer, H. & Saptutyingsih, E. Preferensi Individu Terhadap Pengobatan. *J. Ekon. dan Stud. Pembang.* 16, 26–41 (2015).
8. Frota, K., Santos, R. D. dos, And, V. Q. R. & José Alfredo Gomes Arêas 1. Cowpea protein reduces LDL-cholesterol and apolipoprotein B concentrations, but does not improve biomarkers of inflammation or endothelial dysfunction in adults with moderate hypercholesterolemia. *Nutr. Hosp.* 31, 1611–1619 (2015).
9. Carneiro da Silva, A. *et al.* Health Benefits and Industrial Applications of Functional Cowpea Seed Proteins. *Grain Seed Proteins Funct.* (2021) doi:10.5772/intechopen.96257.
10. Allah, N. S. K., Eltayeb, I. M. & Hamad, A. E. H. Phytochemical screening and hypolipidemic activity of extracts from seeds and leaves of *Vigna unguiculata* growing in Sudan. *J. Pharmacogn. Phytochem.* 6, 488–491 (2017).
11. Dona, R. *et al.* Studi In Silico, Sintesis, dan Uji Sitotoksik Senyawa P-Metoksi Kalkon terhadap Sel Kanker Payudara MCF-7. *J. Sains Farm. Klin.* 6, 243 (2019).
12. Maftucha, N., Manalu, R., Amelia, R., Cordia, P. & Bupu, R. Potensi Senyawa Turunan Xanton dari Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.) Sebagai Inhibitor Protein Mycobacterium tuberculosis : Studi In Silico. 7, 123–128 (2022).

13. Sofyan, R. I., Arumsari, A. & Fakih, T. M. Uji In-Silico Aktivitas Antikanker Prostat Senyawa Turunan Flavonoid Biji Buah Anggur Merah (*Vitis vinifera*) terhadap Histon Lisin Demetilase (KDM4C). *Pros. Farm.* 839–847 (2012).
14. Almi, I., Belaidi, S., Melkemi, N. & Bouzidi, D. Chemical reactivity, drug-likeness and structure activity/property relationship studies of 2,1,3-benzoxadiazole derivatives as anti-cancer activity. *J. Bionanoscience* 12, 49–57 (2018).
15. Pires, D. E., Blundell, T. L. & Ascher, D. B. pkCSM: predicting small-molecule pharmacokinetic properties using graph-based signatures (Theory- How to Enterpret pkCSM Result). *pKCSM* 5 (2015).
16. Rahmawaty, A. *et al.* Uji In Silico Kandungan Senyawa Tanaman Anggur (*Vitis vinifera* L.) Untuk Kandidat Obat Anti Hiperlipidemia. *Maj. Farm. dan Farmakol.* 26, 57–61 (2022).
17. Lateef, T., Naeem, S. & Qureshi, S. A. In-silico studies of HMG-Co A reductase inhibitors present in fruits of *Withania coagulans* Dunal (Solanaceae). *Trop. J. Pharm. Res.* 19, 305–312 (2020).
18. Triliana, R., Soeatmadji, D. W. & Kalim, H. Pengaruh Terapi Suplementasi Fitosterol pada Profil Lemak Plasma, Kadar Apolipoprotein (Apo) B-48, dan Penghitungan Sel Busa Aorta Tikus Pascadiet Atherogenik. *J. Exp. Life Sci.* 2, 70–81 (2012).
19. Carolyn, A., Farishal, A. & Berawi, K. Potensi Pemberian Isoflavon Kedelai Terhadap Kadar Kolesterol Total dan LDL pada Penderita Obesitas. *Medula* 9, 1–5 (2019).
20. Bansal, A. B. & Cassagnol, M. HMG-CoA Reductase Inhibitors. in (2022).
21. Silva Afonso, M. *et al.* Molecular pathways underlying cholesterol homeostasis. *Nutrients* 10, 1–18 (2018).
22. Naufa, F., Mutiah, R. & Indrawijaya, Y. Y. A. Studi in silico potensi senyawa katekin teh hijau (*Camellia sinensis*) sebagai antivirus SARS CoV-2 terhadap spike glycoprotein (6LZG) dan main protease (5R7Y). *J. Food Pharm. Sci.* 10, 584–596 (2022).
23. Damayanti, D. S., Utomo, D. H. & Kusuma, C. Revealing the potency of *Annona muricata* leaves extract as FOXO1 inhibitor for diabetes mellitus treatment through computational study. *Silico Pharmacol.* 5, 1–7 (2017).
24. Prasetiawati, R., Suherman, M. & Permana, B. Molecular Docking Study of Anthocyanidin Compounds Against Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) as Anti-Lung Cancer. 8, (2021).
25. Purnomo, R. Y., Hakim, R. & Damayanti, D. S. Potensi Antimalaria Senyawa Azadiractin, Gedunin, dan Nimbolide dalam Mengikat PfATP6 dan Menghambat Lactate Dehydrogenase: Studi In Silico. *Fak. Kedokt. Univ. Islam Malang* 199–204 (2015).
26. Nursamsiar, N., M. Mangande, M., Awaluddin, A., Nur, S. & Asnawi, A. In Silico Study of Aglycon Curculigoside A and Its Derivatives as α -Amilase Inhibitors. *Indones. J. Pharm. Sci. Technol.* 7, 29 (2020).
27. Damayanti, D. Potency Of *Vigna Angularis* Against Era Through In Silico Studies. *J. Kesehat. Islam Islam. Heal. J.* 9, 49 (2020).
28. Shofi, M. Uji In Silico Aktivitas Sitotoksik dan Toksisitas Senyawa Bioaktif Biji Trembesi (*Samanea saman* (jacq.) Merr) Sebagai Kandidat Obat Diabetes Mellitus. *J. Pharma Bhakta* 1, 1–14 (2021).
29. Kurnyawaty, N., Suwito, H. & Kusumattaqin, F. Studi In Silico Potensi Akyivitas Farmakologi Senyawa Golongan Dihidrotetrazolopirimidin. *J. Kim. (JOURNAL Chem.* 15, (2021).
30. Tanaka, Y., Shimada, M. & Nagaoka, S. l-Cysteine-induced up-regulation of the low-density lipoprotein receptor is mediated via a transforming growth factor- α signalling pathway. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 444, 401–405 (2014).
31. Chan, M. L., Shiu, S. W., Cheung, C., Leung, A. Y. & Tan, K. C. Effects of statins on the inducible degrader of low-density lipoprotein receptor in familial hypercholesterolemia. *Endocr. Connect.* (2022).
32. Bucuo, X. E. N. & Solidum, J. N. In Silico Evaluation of Antidiabetic Activity and ADMET Prediction of Compounds from *Musa acuminata* Colla Peel. *Philipp. J. Sci.* 151, 171–192 (2022).
33. Currie, G. M. Pharmacology, part 2: Introduction to pharmacokinetics. *J. Nucl. Med. Technol.* 46, 221–230 (2018).
34. Durán-Iturbide, N. A., Díaz-Eufracio, B. I.

- & Medina-Franco, J. L. In Silico ADME/Tox Profiling of Natural Products: A **Focus on BIOFACQUIM. ACS Omega 5**, 16076–16084 (2020).
35. Hidayatullah, J. A., Widiyana, A. P. & Damayanti, D. S. Studi In Silico : Analisis Potensi Kacang Merah (Phaseolus vulgaris) Sebagai Anti-Alzheimer Dengan Aktivasi Alfa Sekretase dan Penghambatan Beta Sekretase. **Fak. Kedokt. Univ. Islam Malang 9**, (2022).