

ANALISIS POTENSI BIJI KACANG TUNGGAK (*Vigna unguiculata*) SEBAGAI ANTI-DISLIPIDEMIA DENGAN AKTIVASI ABCA1 DAN PENGHAMBATAN PCSK9 DENGAN METODE *IN SILICO*

Rona Maulidia Bakhita, Hardadi Airlangga, Dini Sri Damayanti*
Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

ABSTRAK

Pendahuluan: Kacang tunggak (*Vigna unguiculata*) mengandung banyak senyawa aktif yang memiliki potensi Anti-dislipidemia. Tingginya kasus dislipidemia dan efek samping pengobatan, menyebabkan peneliti tertarik untuk melakukan inovasi baru berupa terapi obat herbal kacang tunggak. Tujuan utama penelitian untuk mengetahui potensi senyawa aktif kacang tunggak sebagai anti-dislipidemia dengan mekanisme aktivasi ABCA1 dan inhibisi PCSK9 secara *in silico*.

Metode: Kekuatan ikatan senyawa aktif biji kacang tunggak terhadap protein PCSK9 dan ABCA1 diukur menggunakan Autodocvina versi 1.5.6 yang dibandingkan dengan alirocumab dan probucol sebagai kontrol obat. Sedangkan prediksi sifat fisikokimia dan farmakokinetik berbasis website pada pkCSM. Penelitian menggunakan pendekatan analisis diskriptif dengan validasi *docking* berbasis *Root Mean Square Deviation*.

Hasil: Kekuatan ikatan senyawa aktif terhadap PCSK9 paling baik antara lain Genistin (ΔG -9,1 kkal/mol), Daidzin (ΔG -8,8 kkal/mol), Quercetin (ΔG -8,2 kkal/mol) dengan persentase kesamaan asam amino Genistin 85%, Daidzin 28%, Quercetin 57%. Kekuatan ikatan senyawa aktif terhadap ABCA1 paling baik antara lain Genistein (ΔG -7,4 kkal/mol), Genistin (ΔG -7,2 kkal/mol), Daidzin (ΔG -7,2 kkal/mol) dengan persentase kesamaan asam amino Genistein 0%, Genistin 86%, Daidzin 84%. Hasil potensi sifat fisikokimia didapatkan hasil semua senyawa aktif masuk kriteria lipinski. Adapun prediksi sifat farmakokinetik mendapatkan hasil absorpsi intestinal rata-rata diatas 73%, permeabilitas Caco2 rata-rata dibawah 0,9, VDss rata-rata dibawah 0,45, BBB rata-rata dibawah -0,9, CLTOT rata-rata 0,25 dan tidak berpotensi hepatotoksik.

Kesimpulan: Senyawa aktif biji kacang tunggak mempunyai potensi sebagai Anti-dislipidemia dengan mengaktifkan ABCA1 dan menghambat PCSK9 yaitu Genistein dan Daidzein. Keduanya mempunyai kelarutan yang tinggi dan farmakokinetik yang bagus, serta tidak toksik.

Kata Kunci : *Anti-dislipidemia; Vigna unguiculata; in silico.*

ANALYSIS POTENTIAL SEED COW BEAN (*Vigna unguiculata*) AS ANTI-DYSLIPIDEMIA WITH ACTIVATION OF ABCA1 AND INHIBITION OF PCSK9 USING *IN SILICO* METHOD

Rona Maulidia Bakhita, Hardadi Airlangga, Dini Sri Damayanti*
Faculty of Medicine University of Islam Malang

ABSTRACT

Introduction: Cow bean (*Vigna unguiculata*) contains various of active compounds, that have the potential as Anti-dyslipidemia. The high cases of dyslipidemia and the side effects of treatment have caused researchers to be interested in carrying out new innovations in the form of cowpea herbal medicinal therapy . The purpose of this research to predict the potential of cow bean active compounds as anti-dyslipidemia with mechanism activation ABCA1 and inhibit PCSK9, and also to predict the effectiveness, solubility, and safety using in silico method.

Method: This research is molecular docking. The affinity of the cow bean's active compound seeds for protein PCSK9 and ABCA1 was measured using autodoc Vina and will be compared to alirocumab and probucol as drug controls. Pharmacokinetic's prediction test, physicochemical and toxicity profiles using pkCSM. The model for analysis is using analytical descriptive and validation of molecular docking is based on Root Mean Square Deviation.

Results: The active compounds have high affinity for PCSK9 is Genistin (ΔG -9,1 kcal/mol), Daidzin (ΔG -8,8 kcal/mol), Quercetin (ΔG -8,2 kcal/mol) with the percentage of amino acid equation Genistin 38%, Daidzin 0%, Quercetin 30%. The active compounds have high affinity for ABCA1 is Genistein (ΔG -7,4 kcal/mol), Genistin (ΔG -7,2 kcal/mol), Daidzin (ΔG -7,2 kcal/mol) with the percentage of amino acid equation Genistein 0%, Genistin 86%, Daidzin 84%. The results of the physicochemical profiles all compounds complied with lipinski's rule. Prediction of pharmacokinetic properties obtained an average intestinal absorption value 73%, Caco2 permeability on average under 0,9, VDss average under 0,45, BBB average above -0,9, CLTOT average 0,25 and all the active compound is not potentially hepatotoxic.

Conclusion: The active compounds of cow bean seeds has a potential to be an anti-dyslipidemia by activating ABCA1 and inhibiting PCSK9 which is Genistein, Genistin, Daidzin, Quercetin. These four compounds are soluble in water, have good pharmacokinetics and are not potentially hepatotoxic.

Keywords: *Anti-dyslipidemia; Vigna unguiculata; in silico.*

*Correspondence:

Dini Sri Damayanti

University of Islam Malang, Faculty of Medicine

PENDAHULUAN

Perubahan faktor lingkungan dan metabolisme lipid menyebabkan dislipidemia, yaitu gangguan metabolisme yang ditandai dengan peningkatan kadar kolesterol, trigliserida, LDL (Low Density Lipoprotein) dan penurunan HDL (High Density Lipoprotein) dalam darah.¹ Menurut Organisasi Kesehatan Dunia (WHO), dislipidemia terjadi pada 2,6 juta orang di seluruh dunia pada tahun 2015, terhitung 4,5% dari semua kasus. Selain itu, 29,7% pasien dislipidemia mengalami Disability Adjusted Life Years. Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) 2018 menemukan bahwa 28,8 persen orang Indonesia mengalami dislipidemia, atau kadar kolesterol total lebih dari 200 mg/dL, dalam tubuhnya. Dislipidemia dapat disebabkan oleh beberapa faktor risiko, seperti menjadi lebih tua, kelebihan berat badan atau obesitas, menderita diabetes, mengonsumsi obat immunosupresif seperti prednison, dan menderita diabetes².

Metabolisme lipid tubuh berhubungan dengan patofisiologi dislipidemia. Hati biasanya tempat lemak darah dimetabolisme. Mengonsumsi lemak dalam jumlah berlebihan mengganggu metabolisme kolesterol, yang mengakibatkan penumpukan kolesterol di hati. Lipoprotein tidak dapat sepenuhnya mengangkut kolesterol dari aliran darah ke hati karena hal ini. Ini terjadi berkali-kali dan berlangsung cukup lama. Hati terus memproduksi lebih banyak kolesterol, dan ketika kepadatan reseptor LDL menurun, kolesterol menumpuk di dinding pembuluh darah dan menyebabkan plak³.

Salah satu faktor dari peningkatan LDL adalah hiperaktivasi dari protein PCSK9. Protein tersebut berfungsi meregulasi LDL-reseptor dengan mengekspresikan gen spesifik untuk menurunkan produksi LDL-reseptor di hepar. Peningkatan aktivitas dari PCSK9 berakibat LDL-reseptor yang di ekspresikan ke permukaan sel hepar akan mengalami penurunan. Dengan demikian LDL yang berada pada sirkulasi darah akan naik dan sedikit yang dimetabolisme oleh hepar⁴.

Protein lain yang berperan meningkatkan kadar kolesterol adalah menurunnya dari aktivasi protein *ATP-binding cassette transporter A1* (ABCA1). ABCA1 merupakan protein membran sel integral yang melindungi dari penyakit dislipidemia melalui mekanisme mengekspor kelebihan kolesterol dari sel

dengan cara pengikatan kolesterol keluar dari sel. ABCA1 mengekspor kolesterol dan fosfolipid dari sel melalui beberapa langkah yang melibatkan pembentukan domain lipid permukaan sel, pengikatan apolipoprotein ke ABCA1, mengaktifkan jalur pensinyalan, dan melarutkan lipid ini oleh apolipoprotein⁵.

Pada klinik pengobatan dislipidemia salah satunya dengan menggunakan probucol dan alirocumab. Pada beberapa literatur menyebutkan alirocumab memiliki mekanisme sebagai PCSK9 inhibitor dan disetujui oleh FDA pada tahun 2015⁶. Sedangkan probucol memiliki mekanisme sebagai agonis ABCA1⁷. Obat-obat tersebut efektif dalam mengobati dislipidemia, namun penggunaan obat-obatan tersebut memiliki beberapa efek samping seperti gangguan gastrointestinal seperti mual muntah, sakit kepala, lemas, myalgia, serta kontraindikasi seperti penggunaan pada ibu hamil atau orang dengan gangguan hepar⁸. sehingga perlu dikembangkan pengobatan dengan rendah efek samping dan efektivitas yang maksimal, salah satunya menggunakan tanaman herbal seperti kacang tunggak (*Vigna unguiculata*).

Kuantitas kacang tunggak yang diproduksi di Indonesia berkisar antara 1,5 hingga 2 ton per hektar, tergantung varietas, lokasi, musim tanam, dan cara budidaya yang digunakan. Isoflavon seperti daidzin, glicitin, genistin, daidzein, glisitein, dan genistein, serta flavonoid seperti quercetin, kaempferol, dan isorhamnetin, dapat ditemukan pada kacang tunggak (*Vigna unguiculata*). Selain itu, kacang tunggak memiliki kandungan protein 22,9%, kandungan karbohidrat 61,6%, kandungan lemak rendah 1,4%, dan kandungan air 11%⁹. Kacang tunggak telah dimakan secara tradisional dan digunakan sebagai sayuran. Sejumlah penelitian telah dilakukan mengenai manfaat kacang tunggak bagi kesehatan, termasuk penelitian *in vivo* menggunakan tikus percobaan yang diberi diet lemak yang mengandung bubuk kacang tunggak, yang menghasilkan efek hipokolesterolemia¹⁰. Akibatnya, penelitian tambahan diperlukan untuk menemukan obat baru yang meningkatkan kinerja ABCA1 sekaligus menurunkan kinerja PCSK9.

Berdasarkan fakta tersebut diatas, maka penelitian paling baik digunakan adalah menggunakan metode *in silico*, untuk melihat senyawa aktif kacang tunggak mencegah dislipidemia melalui aktifitas protein ABCA1

dan inhibisi target PCSK9. Proses *in silico* dilakukan dengan cara Penambatan molekul senyawa aktif terhadap protein target menggunakan aplikasi autodok vina ¹¹. Sedangkan untuk memprediksi sifat fisikokimia, farmakokinetik dan toksisitasnya menggunakan software pkCSM *online tools* ¹².

METODE

Desain Penelitian

Toksisitas, fisikokimia, farmakokinetik, dan interaksi senyawa aktif dalam kacang tunggak (*Vigna unguiculata*) dengan protein target ABCA1 dan PCSK9 diprediksi menggunakan metode *in silico*.

Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan April sampai Mei 2022. di Laboratorium Terpadu Universitas Islam Malang

Alat

Alat berupa laptop dengan spesifikasi prosesor Intel(R) Core (TM) i5-7200U, Windows 10 Pro 64-bit, aplikasi Autodok Vina 1.5.6 pada (<http://mgltools.scripps.edu/>) dan Visualisasi hasil penambatan molekul menggunakan aplikasi Biovia Studio.

Bahan

Struktur 3D senyawa aktif kacang tunggak yang terdiri dari Daidzein, Daidzin, Genistein, Genistin, Glycitein, Glycitin, Isorhamnetin, Kaempferol, Quercetin, 5-({[3-chloro-5-(trifluoromethyl)-2pyridyl]methyl}thio)-4-pentyl-4H1,2,4-triazol-3-olAcid, Betaine, Choline, L-Glutamic Acid, Trigonelline didapatkan dari PubChem. Penentuan senyawa aktif berdasarkan hasil identifikasi senyawa aktif yang telah dilakukan sebelumnya dalam penelitian pendahuluan dan dari studi literatur ¹³. Struktur protein target ABCA1 (kode: 5XJY) dan PCSK9 (kode: 2PPMW) yang digunakan didapatkan dari protein data bank.

Uji Penambatan Molekul Senyawa Aktif Kacang Tunggak terhadap ABCA1 dan PCSK9

Proses awal penambatan molekul adalah pengunduhan ligan senyawa aktif dan obat kontrol pada Pubchem, pengunduhan protein target ABCA1 dan PCSK9 pada Protein Data

Bank. Proses selanjutnya dilakukan preparasi protein menggunakan Biovia untuk menghilangkan molekul air, ligan dan menyamakan kepolarannya.

Ligan dan Protein yang diunduh kemudian dilakukan pengukuran gridbox pada autodok vina pada **tabel 1**. kemudian melakukan proses penambatan dengan dibantu *command prompt* pada *windows*. Hasil yang ditunjukkan berupa format *Text document* dengan 8 kali ulangan.

Tabel 1. Ukuran Grid Box

	PCSK9	ABCA1
Nx	126	126
ny	126	126
nz	126	126
cx	9.548	9.548
cy	-6.967	-6.967
cz	9.025	9.025

Keterangan: pada saat penambatan molekul memperhatikan ukuran grid box pada masing masing protein target.

Prediksi Sifat Fisikokimia, Farmakokinetik dan Toksisitas Senyawa Aktif Kacang Tunggak terhadap ABCA1 dan PCSK9

Uji toksisitas, fisikokimia dan farmakokinetik berbasis *software* dengan pkCSM *online tool*. Langkah awal adalah menyalin Kode Smile yang ada pada Pubchem kemudian ditempelkan pada kolom kode yang tertera pada web kemudian menekan ADMET. Hasil yang disajikan dilakukan analisis sesuai dengan parameter masing masing.

Teknik Analisis Data

Analisa hasil uji validitas pada penelitian ini menggunakan obat kontrol sebagai pembanding, dengan melihat nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD) kurang dari 2 angstrom tanpa diikuti dengan perbandingan ikatan pada normalnya. dikarenakan obat kontrol bukan termasuk dalam *native ligand*. Sedangkan hasil penambatan molekul diamati dibandingkan dengan obat kontrol ¹⁴.

Hasil prediksi sifat fisikokimia diamati dengan aturan lima lipinski yang berisi parameter berat molekul, kestabilan ikatan

hidrogen donor, kestabilan ikatan hidrogen aseptor dan lipofilisitas ¹⁵.

Hasil Prediksi Sifat Farmakokinetik diamati berdasarkan profil Absorpsi dengan parameter absorpsi intestinal, permeabilitas Caco2. Profil Distribusi dengan parameter *Volume Distribusi Steady State* (VDss), permeabilitas *Blood Brain Barrier* (BBB). Profil Metabolisme dengan parameter CYP2D6 dan CYP3A4 inhibitor. Profil Ekskresi dengan parameter *Clearance Total* (CLTOT). Sifat Toksisitas dievaluasi berdasarkan parameter resiko hepatotoksik ¹⁵.

HASIL PENELITIAN

Hasil Data Uji Validitas dan Penambatan Molekul

Hasil validitas penambatan molekul dengan pengulangan 8 kali didapatkan nilai rata-rata pada PCSK9 dengan alirocumab sebesar 1,3 Å, sedangkan ABCA1 dengan probucol didapatkan nilai 1,1 Å. Hasil tersebut didapatkan berdasarkan *Root Mean Square Deviation* (RMSD) kurang dari 2 angstrom tanpa diikuti dengan perbandingan ikatan pada normalnya. dikarenakan obat kontrol bukan termasuk dalam *native ligand*

Tabel 2. Hasil Pengulangan 8 Kali Validasi

	Rmsd I	Rmsd II	Rmsd III	Rmsd IV	Rmsd V	Rmsd VI	Rmsd VII	Rmsd VIII	Rata-rata
alirocumab	0	0,4	0,4	1,2	1,9	2	2,2	2,5	1,3
Probucol	0	0,2	0,2	0,9	1,8	1,9	2	2,1	1,1

Keterangan: Data validitas dikatakan valid jika nilai RMSD rata-rata pengulangan kurang dari 2 Å

Hasil penambatan senyawa aktif kacang tunggak (*Vigna unguiculata*) terhadap protein PCSK9 dapat dilihat dari **Tabel 4**. Sedangkan

penambatan molekul senyawa aktif kacang tunggak terhadap ABCA1 dapat dilihat dari **Tabel 5**.

Tabel 4. Hasil afinitas ikatan dan Residu Asam Amino Senyawa Aktif Kacang tunggak dan Alirocumab terhadap PCSK9

Ligan	Energi ikatan bebas (kkal/mol)	Residu Asam Amino	Persamaan residu asam amino (%)
Alirocumab	-5,1	Hydrogen: GLU498, ARG495, SER488 Vdn: PRO639, TRP566, SER564, GLY497, GLY646, SER487, ALA637, ALA647, SER636, VAL644	100
Genistin	-9,1	Hydrogen: HIS591, THR641, VAL644 , GLU569 Vdn: ALA637 , PRO639 , LEU571, TRP566 , GLY516, GLY493, HIS643 Alkyl: ARG495 , ALA514	38%
Daidzin	-8,8	Hydrogen: VAL241, LYS243 Vdn: PRO163, TYR166, ARG167, SER447, PRO446, HIS449, THR162, ILE161, LEU158, GLU403, ALA242 Alkyl: LEU444, PRO445, ALA402	0%
Quercetin	-8,6	Hydrogen: ARG495 Vdn: HIS643, SER642, THR641, VAL644 , GLY493, GLU69 Alkyl: TRP566 , LEU571, LYS494	30%
Kaempferol	-8,4	Hydrogen: ILE474, ARG458, CYS358, ALA328 Vdn: ALA475, SER462, PRO331, ARG357, ALA330, SER329, GLU332, THR335, VAL333, ASP360, ARG412 Alkyl: VAL460, ARG476	0%

Isorhamnetin	-8,5	Hydrogen: ARG357, GLU332 Vdn: LEU440, ILE416, ASP360, ARG458, PRO331, VAL333, SER329 Alkyl: VAL460, PRO438, CYS358	0%
Daidzein	-7,6	Hydrogen: ARG495, GLU498 Vdn: THR641, SER642, VAL644, SER564, SER488, SER487, SER636, PRO639 , HIS591 Alkyl: TRP566, ALA637	76%
Genistein	-7,3	Hydrogen: SER488 , ARG657 Vdn: VAL656, PHE489, LEU645, ARG495 , SER490, VAL644 Covalen: ALA647 , LEU645	40%
Glycitin	-7,1	Hydrogen: PRO639 , GLU569 Vdn: TRP566, ARG495 , ALA514, GLY516, GLY493, HIS643, VAL644 , SER642, THR641 Alkyl: LYS494	33%
Glycitein	-7	Hydrogen: ARG167 Vdn: THR162, PRO163, TYR166, SER447, PRO446, ALA402, HIS449 Alkyl: PRO445	0%
5-([3-chloro-5-(trifluoromethyl)-2pyridyl]methyl)thio)-4-pentyl-4H1,2,4-triazol-3-olAcid	-4,2	Hydrogen: TRP566 , GLU569 Vdn: SER642, LEU571, ARG495 , ASP570 Covalen: ARG659, HIS643	25%
Betaine	-3,2	Hydrogen: HIS139, VAL140, LEU137 Vdn: ALA62, LEU135, THR61, PRO138	0%
Choline	-3,4	Hydrogen: GLY493 Vdn: SER642, TRP566, ARG495, VAL644	60%
L-Glutamic acid	-3,7	Hydrogen: GLU332 Vdn: ARG412, ALA478, ARG458, ASP360	0%
Trigonelline	-5,1	Hydrogen: ASP432, ARG434 Vdn: ARG491, GLU431, GLU426	0%

Keterangan: Data hasil penambatan molekul senyawa aktif terhadap PCSK9. Penelitian ini menggunakan kontrol obat pembanding, dengan senyawa aktif (teks bold) dianggap sebagai sisi aktif dari protein target sama seperti residu asam amino obat.

Dari tabel 4 dapat dilihat bahwa beberapa senyawa aktif seperti Genistin, daidzin, Quersetin, kaemferol, dan isohamnestin mempunyai energi ikatan berbas yang lebih rendah dibandingkan kontrol namun hanya

mengikat antara 0-38% sisi aktif dari protein PKC1. Adapun Daidzein dan Genestein mempunyai energi ikatan bebas lebih rendah dibandingkan kontrol dan mengikat sisi aktif protein PCSK9 sebesar 78 dan 40%.

Tabel 5. Hasil afinitas ikatan dan Residu Asam Amino Senyawa Aktif Kacang tunggak dan probucol terhadap ABCA1

Ligan	Energi ikatan bebas (kkal/mol)	Residu Asam Amino	Persamaan residu asam amino (%)
Probucol	-6,4	Vdn: LEU378, ASN247, SER448, ASN249, SER261, TRP267, ALA262, GLU260, ALA399 Akyl: TRP453, LEU248, TRP380, ALA266, LEU263	100
Genistein	-7,4	Hydrogen: ASN277, GLN276 Vdn: ALA324, GLY325, GLY323, PHE321, TYR322, TRP306, VAL275, HIS274, PHE311	0%
Genistin	-7,2	Vdn: ALA399, ALA262, GLU260 , ILE452, VAL246, SER448, ASN247, LEU248, ASN249, ALA266, TRP267 Akyl: LEU263, TRP380	84%
Daidzin	-7,2	Hydrogen: ASN451, ASN247, TRP453, SER261 Vdn: ILE452, SER448, ASN249, LEU248, ALA262, ALA399, GLU260, TRP267 Akyl: LEU263, ALA266, TRP380	86%
Isorhamnetin	-7,1	Hydrogen: ASN249, SER261, GLU260 Vdn: TRP453, LEU248, LEU263, ALA262, SER448 Akyl: TRP267, TRP380	100%
Quercetin	-6,9	Hydrogen: SER261, LEU248, ASN247 Vdn: GLU260, ALA262, ALA399, TRP267, TRP453, ASN249 Akyl: LEU263, TRP380, ALA266	100%
Glycitin	-6,8	Vdn : ALA324, THR356, ASN358, VAL361, TYR326, LEU355, LEU360, ALA312, LEU315, GLY313, PHE321 Alkyl: PHE319, ARG316, ILE314	0%
Kaempferol	-6,8	Hydrogen: SER261, ASN249 Vdn: ALA262, TRP267, GLU260, LEU2263, LEU248 Akyl: ALA399, ALA266, TRP380	100%
Glycitein	-6,7	Hydrogen: VAL331, SER339, GLU299 Vdn: VAL298, SER333, ILE332, ASN303, TYR337	0%
Daidzein	-6,6	Vdn: TRP453, ASN247, TRP267, LEU248, ASN249, ALA262, SER261 Hydrogen: GLU260 Akyl: TRP380, ALA399, LEU263, ALA266	100%
5-([3-chloro-5-(trifluoromethyl)-2pyridyl]methyl)thio)-4-pentyl-4H1,2,4-triazol-3-olAcid	-4,5	Hydrogen: LYS362, ASP359, GLY265 Vdn: PRO268, ASN247, ASN249, LEU360 Akyl: PRO264, LEU248	20%
Betaine	-3,2	Hydrogen: SER333 Vdn: ASN303, VAL331, ILE332, VAL298	0%
Choline	-3,1	Hydrogen: ASN398 Vdn: GLY258, THR387, GLU260, SER261, THR387	33%
L-Glutamic acid	-3,6	Hydrogen: MET478, ASP482 Vdn: VAL479, PRO369, PRO367, THR481	0%
Trigonelline	-4,3	Hydrogen: GL323, HIS307	0%

Keterangan: Data hasil penambatan molekul senyawa aktif terhadap ABCA1. Penelitian ini menggunakan kontrol obat pembanding, dengan senyawa aktif (teks bold) dianggap sebagai sisi aktif dari protein target sama seperti residu asam amino obat.

Dari tabel 5 dapat dilihat bahwa senyawa aktif isorhamnetin, kaemferol, quersetin, daidzein mempunyai energi ikatan bebas lebih kecil dibandingkan kontrol dan mengikat 100% sisi aktif dari protein target ABC1. Adapun genistin dan daidzin walaupun mempunyai energi ikatan bebas lebih rendah dibandingkan

kontrol, namun hanya mengikat sisi aktif protein sebesar 84 % dan 86%.

Hasil Uji Sifat Fisikokimia Senyawa Aktif Kacang tunggak.

Hasil prediksi sifat fisikokimia dari senyawa aktif kacang tunggak dilihat pada tabel 6

Tabel 6. Hasil Prediksi Sifat Fisikokimia Senyawa Aktif Kacang Tunggak

Nama Senyawa	CID	Rumus Kimia	Parameter Lipinski Rule Of Five				Interprestasi
			BM	LogP	HBA	HBD	
Genistein	5280961	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	270,24	2,57	5	3	Ya
Genistin	5281377	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	432,38	0,04	10	6	Ya
Daidzin	107971	C ₂₁ H ₂₀ O ₉	416,38	0,34	9	5	Ya
Isorhamnetin	5281654	C ₁₆ H ₁₂ O ₇	316,26	2,29	7	4	Ya
Quercetin	5280343	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	302,23	1,98	7	5	Ya
Glycitin	187808	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₀	446,40	0,35	10	5	Ya
Kaempferol	5280863	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	286,23	2,28	6	4	Ya
Glycitein	5317750	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	284,26	2,87	5	2	Ya
Daidzein	5281708	C ₁₅ H ₁₀ O ₄	254,24	2,87	4	2	Ya
5-({[3-chloro-5-(trifluoromethyl)-2pyridyl]methyl}thio)-4-pentyl-4H1,2,4-triazol-3-olAcid	717531	C ₁₁ H ₁₂ O ₄	208,213	1,80	3	1	Ya
Betaine	247	C ₅ H ₁₁ NO ₂	117,148	-1,55	2	0	Ya
Choline	305	C ₅ H ₁₄ NO ⁺	104,173	-0,31	1	1	Ya
L-Iditol	5460044	C ₅ H ₉ NO ₄	147,130	-0,73	3	3	Ya
Trigonelline	5570	C ₇ H ₇ NO ₂	137,138	-1,12	2	0	Ya

Keterangan: Data yang diperlihatkan merupakan hasil uji prediksi sifat fisikokimia kacang tunggak dengan parameter menurut aturan lipinski meliputi Berat Molekul (BM), Lipofilisitas (LogP), Hydrogen bond acceptor (HBA), Hydrogen bond donor (HBD).

Berdasarkan hasil prediksi fisikokimia didapatkan bahwa senyawa aktif kacang tunggak memenuhi 5 kriteria Lipinski. Namun demikian dari ke 14 senyawa aktif tersebut genistein, kaemferol, glycitein, daidzein, 5-({[3-chloro-5-(trifluoromethyl)2pyridyl]methyl}thio)-4-pentyl-4H1,2,4-triazol-3-olAcid,

betain, choline, L-identol dan trigoneline mempunyai berat molekul yang lebih rendah dibandingkan senyawa lainnya, sehingga diprediksi memiliki kemampuan yang lebih besar untuk berikatan dengan reseptor.

Hasil Uji Sifat Farmakokinetik dan Toksisitas Senyawa Aktif Kacang tunggak

Hasil prediksi farmakokinetik (ADME) dan Toksisitas dari senyawa aktif kacang

tunggak (*Vigna unguiculata*) meliputi profil Absorpsi, Distribusi, Metabolisme, Ekskresi dan Toksisitas didapatkan senyawa aktif sesuai profil parameter dilihat pada tabel 7.

Tabel 7. Hasil Prediksi Sifat Farmakokinetik dan Toksisitas Senyawa Aktif Kacang tunggak (*Vigna unguiculata*.)

Nama senyawa	Absorpsi		Distribusi		Metabolisme		Eksresi	Toksisitas
	AI (%)	Per. Caco2 (10 ⁻⁶ cm/s)	Vdss (Log L/Kg)	BBB (log BB)	CYP2D6 inhibitor	CYP3A4 inhibitor	CLTOT (log ml/min/kg)	Hepatotoksik
Genistein	93,38	0,9	0,09	-0,71	Tidak	Tidak	0,15	Tidak
Genistin	37,51	0,6	0,27	-1,40	Tidak	Tidak	0,09	Tidak
Daidzin	59,31	0,24	-0,16	-1,23	Tidak	Tidak	0,10	Tidak
Isorhamnetin	76,01	-0,03	1,12	-1,13	Tidak	Tidak	0,50	Tidak
Quercetin	77,20	-0,22	1,55	-1,09	Tidak	Tidak	0,47	Tidak
Glycitin	51,09	0,3	-0,10	-1,46	Tidak	Tidak	0,14	Tidak
Kaempferol	74,29	0,03	1,27	-0,93	Tidak	Tidak	0,47	Tidak
Glycitein	96,11	1,25	-0,18	-0,15	Tidak	Tidak	0,25	Tidak
Daidzein	94,83	0,93	0,17	-0,06	Tidak	Tidak	0,16	Tidak
5-([3-chloro-5-(trifluoromethyl)2pyridyl]methylthio)-4-pentyl-4H1,2,4-triazol-3-olAcid	94,76	1,22	0,50	-1,20	Tidak	Tidak	0,71	Tidak
Betaine	100	1,44	-0,30	-0,21	Tidak	Tidak	0,32	Tidak
Choline	100	1,47	0,22	0,08	Tidak	Tidak	0,93	Tidak
L-Iditol	28,97	-0,47	-0,29	-0,69	Tidak	Tidak	0,20	Tidak
Trigonelline	96,44	1,12	-0,75	-0,23	Tidak	Tidak	0,37	Tidak

Keterangan: Data yang diperlihatkan merupakan hasil uji prediksi sifat farmakokinetik dan toksisitas senyawa aktif kacang tunggak menggunakan parameter absorpsi intestinal (AI), permeabilitas Caco2 (Per. Caco2), *Volume distribution steady state* (Vdss), *Blood Brain Barrier* (BBB), sitokrom P450 (CYP2D6, CYP3A4) inhibitor, *Clearance Total* (CLTOT), Hepatotoksik.

Berdasarkan prediksi farmakokinetik didapatkan senyawa aktif yang mempunyai farmakokinetik baik adalah genestein, 5-([3-chloro-5-(trifluoromethyl) 2pyridyl]methylthio)-4-pentyl-4H-1,2,4-triazol-3-ol Acid, glycitein, daidzein, betaine, choline, dan trigoneline.

PEMBAHASAN

Uji Validasi Dan Reabilitas

Uji validasi PCSK9 dengan alirocumab didapatkan nilai 0,4 Å, dan ABCA1 dengan probucol didapatkan nilai 0,2 Å sehingga dapat dikatakan valid dikarenakan nilai RMSD dibawah 2 Å. RMSD merupakan jarak antara protein dengan ligan pada saat berikatan ¹⁴. Uji validasi diperlukan untuk menguji kualitas dan ketepatan dalam proses penambatan molekul, serta menentukan pembanding atau kontrol layak digunakan untuk penelitian ¹⁴.

Penambatan Molekul Senyawa Aktif Kacang tunggak terhadap PCSK9

Energi ikatan bebas adalah besarnya energi yang dilepaskan oleh suatu senyawa untuk berikatan dengan protein target. Semakin rendah nilai yang ditunjukkan, maka semakin besar energi yang dilepaskan untuk berikatan, sehingga ikatan antara senyawa aktif dan protein target semakin kuat dan stabil. Residu asam amino adalah asam amino dalam suatu protein yang digunakan untuk mengikat ligan atau senyawa, dengan sisi aktif protein berbeda tiap asam amino yang diikat. Adanya kesamaan residu asam amino yang terikat antara senyawa dengan kontrol menunjukkan potensi kesamaan dalam memberikan efek pada protein ^{16,17}. Namun hal tersebut masih belum diketahui secara pasti dikarenakan asam amino pada protein memiliki ciri khas tersendiri dan memiliki berbagai macam fungsi. Penilaian dilakukan melalui persamaan asam amino dikarenakan asam amino yang diikat oleh obat kontrol diprediksi memiliki fungsi yang sesuai dengan mekanisme fungsi obat tersebut ^{16,17}.

Ikatan yang diikat berbeda beda, menurut tingkatan kekuatan secara urut adalah hydrogen, Vanderwalls (Vdw) dan Alkyl. Jenis ikatan berfungsi untuk menilai kuat tidaknya ikatan asam amino antara ligan dan protein. semakin kuat ikatannya maka tidak mudah lepas dan fungsi yang diharapkan akan lebih baik ^{16,17}.

Hasil penambatan molekul yang dilakukan, didapatkan nilai energi ikatan bebas dari

alirocumab dengan protein PCSK9 didapatkan nilai ΔG -5,1 kkal/mol, kesamaan residu asam amino yang dibandingkan kontrol obat ada 13 ikatan. Pada Penelitian ini menggunakan alirocumab sebagai kontrol protein PCSK9 dikarenakan Alirocumab adalah antibodi monoklonal manusia yang memiliki spesifisitas tinggi dan afinitas ke PCSK9. PCSK9 berikatan dengan LDL-R pada permukaan hepatosit untuk meningkatkan degradasi LDL-R dalam hati. ⁶.

Gen proprotein convertase PCSK9 adalah lokus ketiga yang terlibat dalam hiperkolesterolemia familial. Hilangnya mutasi fungsi dan gangguan gen PCSK9 menghasilkan *clearence* yang lebih tinggi dari kolesterol lipoprotein densitas rendah plasma, hal ini diduga karena penurunan degradasi reseptor lipoprotein densitas rendah (LDL-R) ¹⁸. Maka penghambatan dari enzim ini sangat membantu dalam mencegah dislipidemia ¹⁸.

Biji kacang tunggak dari hasil penelitian sebelumnya diduga memiliki potensi sebagai anti-dislipidemia. Penelitian sebelumnya secara *in vivo* dengan hewan coba tikus yang di beri diet lemak yang mengandung bubuk kacang tunggak, di dapatkan hasil berupa efek hipokolesterolemia ¹⁰. Hasil penambatan senyawa aktif biji kacang tunggak terhadap protein PCSK9 didapatkan 2 senyawa terbaik diantaranya daidzin, genistin. Dengan demikian diduga ketiga senyawa tersebut mampu menghambat terjadinya dislipidemia karena penurunan degradasi reseptor LDL

Penambatan Molekul Senyawa Aktif Kacang tunggak terhadap ABCA1

Hasil penambatan molekul yang dilakukan, didapatkan nilai energi bebas dari probucol dengan protein target ABCA1 didapatkan nilai ΔG -6,4 kkal/mol dan jumlah residu asam amino yang terbentuk ada 14 ikatan. Obat hipolipidemik probucol, diketahui meningkatkan HDL plasma dengan mengaktivasi biogenesis HDL yang dimediasi ABCA1. ABCA1, ABCA7, dan ABCA4 adalah anggota subfamili ABCA dari transporter pengikat ATP yang bertanggung jawab

menjaga homeostasis dari jumlah *high density lipoprotein* (HDL) dalam darah ⁷.

Hasil Penambatan molekul didapatkan senyawa aktif biji kacang tunggak yang diidentifikasi memiliki afinitas yang tinggi terhadap ABCA1, adalah isorhamnetin, kaempferol, quersetin, daidzein, genistin dan daidzin. Dengan demikian kelima senyawa aktif tersebut mampu menghambat terjadinya dislipidemia melalui aktivasi pembentukan HDL.

Senyawa aktif Flavonoid pada penelitian ini antara lain Genistin, Daidzin, Genestein, Daidzein, Isorhamnetin termasuk senyawa aktif golongan Isoflavon. Adapun kaempferol dan quercetin senyawa aktif golongan flavonol. Beberapa penelitian sebelumnya membuktikan efek senyawa aktif golongan flavonoid dalam memperbaiki profil lipid. Penelitian yang dilakukan oleh Marquez dengan pemberian yoghurt kacang tunggak pada semua kelompok perlakuan terbukti mampu menurunkan kadar konsentrasi LDL pada kelompok perlakuan ¹⁹. Pada penelitian berbeda juga disebutkan efektifitas kandungan senyawa aktif kacang tunggak pada tikus dengan induksi dislipidemia. Pada penelitian tersebut menyebutkan kandungan flavonoid kacang tunggak memiliki fungsi menurunkan kadar lipid ²⁰. Hasil penelitian tersebut diatas mendukung hasil penelitian ini sekaligus memberikan pandangan mengenai mekanisme senyawa aktif kacang tunggak dalam menghambat dislipidemia dengan aktivasi ABCA1 dan Penghambatan PCSK9 ^{19,20}.

Prediksi Sifat Fisikokimia Senyawa Aktif Kacang tunggak

Sifat fisikokimia senyawa adalah sifat berdasarkan massa molekul, kelarutan dan kestabilan suatu senyawa. Sifat fisikokimia dapat dinilai menggunakan aturan lipinski. ²¹.

Massa molekul yang kecil memudahkan senyawa untuk diabsorpsi. Nilai Log P menentukan kepolaran dari suatu senyawa, dimana Log P yang lebih besar dari 5 memiliki sifat non polar atau hidrofobik. Di dalam sirkulasi darah senyawa ini akan terikat protein dan akan tertahan lebih lama sehingga dapat bersifat toksik. Nilai P yang kurang dari 5 memiliki sifat polar dan larut dalam air, sehingga pada sirkulasi darah senyawa akan larut. Jumlah donor dan akseptor ikatan hidrogen mendeskripsikan semakin tinggi

kapasitas ikatan hidrogen, maka semakin tinggi energi yang dibutuhkan agar proses absorpsi dapat terjadi. Secara keseluruhan aturan lipinski adalah untuk mengetahui sifat kelarutan dan tingkat absorpsi senyawa aktif ²¹. Genistein, kaempferol, glycitein, daidzein, 5-({[3-chloro-5-(trifluoromethyl)-2pyridyl]methyl}thio)-4-pentyl-4H1,2,4-triazol-3-olAcid, betain, choline, L-iditol dan trigoneline merupakan senyawa aktif dari kacang tunggak yang mempunyai berat molekul kurang dari 300D dan memenuhi 5 kriteria Lipinski yang lain. Disimpulkan bahwa semua senyawa aktif tersebut mudah diabsorpsi di intestinal dan larut dalam sirkulasi darah dalam bentuk bebas. Tingginya kadar senyawa aktif di dalam darah dapat meningkatkan ikatan antara senyawa aktif dan protein target sehingga lebih efektif dalam mencegah dislipidemia ²².

Prediksi Sifat Farmakokinetik dan Toksisitas Senyawa Aktif Kacang tunggak

Sifat farmakokinetik senyawa adalah sifat perjalanan suatu senyawa dari awal diabsorpsi sampai di ekskresi. Berdasarkan hasil prediksi sifat farmakokinetik dari senyawa aktif biji kacang tunggak, didapatkan bahwa senyawa aktif genestein, 5-({[3-chloro-5-(trifluoromethyl)-2pyridyl]methyl}thio)-4-pentyl-4H1,2,4-triazol-3-olAcid, glycitein, daidzein, betaine, choline, dan trigoneline mempunyai farmakokinetik yang baik.

Berdasarkan kriteria Absorpsi, keenam senyawa aktif tersebut mempunyai nilai absorpsi di intestinal lebih dari 70% dan Caco2 lebih dari 0.9. Untuk bisa dikatakan suatu senyawa diserap baik oleh intestinal, nilai parameter absorpsi intestinal harus diatas 30% dan Caco2 harus diatas 0.9. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa aktif kacang tunggak memiliki daya absorpsi di intestinal yang tinggi serta kurang dapat melewati seleksi dari Caco2 sel monolayer ^{15,23}.

Berdasarkan kriteria Distribusi, hasil menunjukkan bahwa keenam senyawa aktif tersebut diatas memiliki log VDss < 0,45 dan log BB < dari 0.3. Profil distribusi dilihat dari parameter *volume distribution steady state* (VDss) yaitu konsentrasi senyawa aktif pada sirkulasi darah yang dipertahankan dalam rentang waktu tertentu. VDss dikatakan tinggi jika nilai Log Vdss > 0,45. Adapun parameter *Blood Brain Barrier* (BBB) yaitu konsentrasi

yang diperkirakan dapat menembus sawar otak. Dikatakan dapat menembus sawar otak jika $\log BB > 0,3$. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa keenam senyawa aktif tersebut kurang stabil di dalam sirkulasi dan berpotensi rendah untuk memberikan efek pada otak^{15,23}.

Berdasarkan kriteria metabolisme, keenam senyawa aktif kacang tunggak tidak menghambat enzim CYP2D6 dan CYP3A4. Parameter metabolisme dilihat dari parameter CYP2D6 dan CYP3A4 inhibitor. Jika ditemukan inhibitor enzim P450 maka proses oksidasi pada hepar tidak terjadi, senyawa aktif tidak akan di inaktivasi dan akan terus aktif, sehingga akan berakibat toksik. Dengan demikian dapat disebutkan bahwa keenam senyawa aktif tersebut dapat dimetabolisme dan diinaktifkan di hepar dan tidak berpotensi hepatotoksik^{15,23}.

Berdasarkan kriteria Ekskresi, keenam senyawa aktif kacang tunggak memiliki rata-rata CLTOT sebesar 0,25 dengan nilai tertinggi choline dengan nilai 0,9. Proses ekskresi menggunakan parameter *Total Clearance* (CLTOT). Semakin besar nilai CLTOT maka semakin cepat proses *clearance* dari semua senyawa yang diekskresikan. CLTOT dari senyawa aktif memiliki rentang nilai antara 0,10 sampai 0,87. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa keenam senyawa aktif kacang tunggak dapat diekresikan dengan normal, sehingga tidak mengakibatkan akumulasi dan bersifat toksik²³.

Berdasarkan *molecular docking*, fisikokimia dan farmakokinetik didapat 2 senyawa terbaik yang mempunyaia efek mencegah terjadinya dislipidemia yaitu daidzein dan genestein. Kedua senyawa aktif tersebut mempunyai bioavailabilitas yang tinggi bila diberikan secara peroral, tidak bersifat toksik, namun kurang stabil. Penelitian *In silico* merupakan penelitian awal dalam rangka *drug discovery*. Dengan demikian perlu adanya penelitian lanjutan secara *in vivo* untuk memperkuat hasil penelitian ini.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil dan analisa data yang didapatkan dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa:

1. Senyawa aktif biji kacang tunggak yaitu daidzein, genestein dan genistin mempunyai

afinitas terhadap PCSK9 yang lebih rendah dibanding kontrol.

2. Senyawa aktif kacang tunggak yaitu isorhamnetin, kaempferol, quercetin, dan daidzein mempunyai afinitas yang sama dengan kontrol terhadap ABCA1
3. Genistein, kaempferol, glycitein, daidzein, 5-([3-chloro-5-(trifluoromethyl)-2pyridyl]methyl)thio)-4-pentyl-4H1,2,4-triazol-3-olAcid, betain, choline, L-identol dan trigoneline mempunyai sifat larut dalam air, mudah diserap di intestinal dan memiliki bioavailabilitas yang baik jika dikonsumsi secara oral.
4. genestein, 5-([3-chloro-5-(trifluoromethyl)2pyridyl]methyl)thio)-4-pentyl-4H1,2,4-triazol-3-olAcid, glycitein, daidzein, betaine, choline, dan trigoneline memiliki nilai ADME dan toksisitas baik namun memiliki kestabilan konsentrasi dalam darah yang kurang baik. Namun secara keseluruhan senyawa aktif kacang tunggak memiliki sifat farmakokinetik dan toksisitas yang baik dan aman jika dikonsumsi secara oral.
5. Dua senyawa aktif yang diprediksi dapat dikembangkan sebagai anti dislipidemia adalah Daidzein dan Genestein

SARAN

penelitian *in vivo* sangat perlu dilakukan untuk melihat potensi senyawa aktif kacang tunggak, sebagai anti-dislipidemia dengan mekanisme penghambatan PCSK9 dan aktivasi ABCA1 dengan melihat biomarker dislipidemia pada hewan coba yang diinduksi diet tinggi lemak yang dibandingkan dengan senyawa aktif tunggal daidzein dan genestein.

TERIMAKASIH

Terima kasih disampaikan kepada dosen pembimbing, penguji dan semua teman saya atas masukan dan dukungannya.

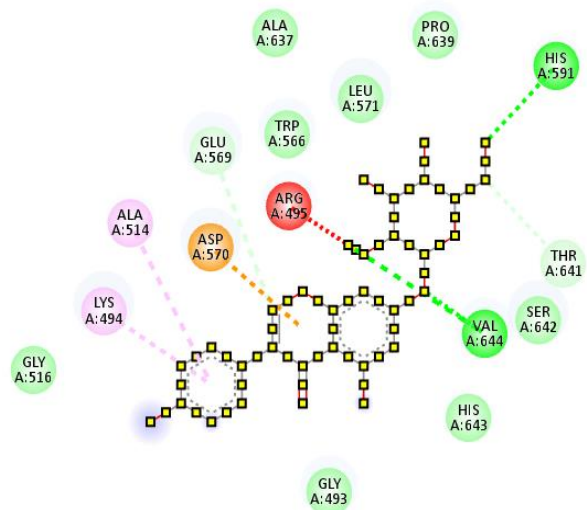
DAFTAR PUSTAKA

1. Yuniarti CA, Sri R, Rahayu R, Yuniastuti A. Hypocholesterolemic Effect of Beet Root Extract (*beta vulgaris*) in Rats. Public Heal Perspect J. 2019;4(3):214–23.

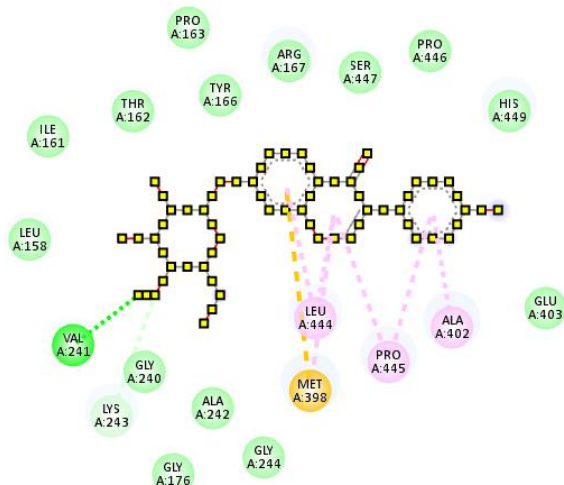
2. Lin CF, Chang YH, Chien SC, Lin YH, Yeh HY. Epidemiology of Dyslipidemia in the Asia Pacific Region. *Int J Gerontol*. 2018;12(1):2–6.
3. Kolovou GD, Anagnostopoulou KK, Cokkinos D V. Pathophysiology of dyslipidaemia in the metabolic syndrome. *Postgrad Med J*. 2005;81(956):358–66.
4. Chaudhary R, Garg J, Shah N, Sumner A. PCSK9 inhibitors: A new era of lipid lowering therapy. *World J Cardiol*. 2017;9(2):76.
5. Liu Y, Tang C. Regulation of ABCA1 functions by signaling pathways. *Biochim Biophys Acta - Mol Cell Biol Lipids*. 2012;1821(3):522–9.
6. Tomlinson B, Hu M, Zhang Y, Chan P, Liu Z-M. Alirocumab for the treatment of hypercholesterolemia. *Expert Opin Biol Ther*. 2017 May;17(5):633–43.
7. Quazi F, Molday RS. Differential phospholipid substrates and directional transport by ATP-binding cassette proteins ABCA1, ABCA7, and ABCA4 and disease-causing mutants. *J Biol Chem*. 2013 Nov;288(48):34414–26.
8. Pradipta S, Wibowo H, Harbuwono DS, Rahajeng E, Larasati RA, Kartika R. Distribution patterns and risk factors of dyslipidemia in patients with type 2 diabetes mellitus: A cross-sectional study in Bogor, Indonesia. *Int J Appl Pharm*. 2020;12(Special Issue 1):5–8.
9. Lattanzio V, Arpaia S, Cardinali A, Di Venere D, Linsalata V. Role of endogenous flavonoids in resistance mechanism of *Vigna* to aphids. *J Agric Food Chem*. 2000 Nov;48(11):5316–20.
10. Weththasinghe P, Liyanage R, Vidanarachchi J, Perera O, Jayawardana B. Hypocholesterolemic and Hypoglycemic Effect of Cowpea (*Vigna Unguiculata* L. Walp) Incorporated Experimental Diets in Wistar Rats (*Rattus Norvegicus*). *Agric Agric Sci Procedia*. 2014;2:401–5.
11. Gabriella. Validasi Dan Optimasi Penambatan Senyawa Ko-Kristal Pada Matrix Metalloproteinase-9 (4h3x.Pdb) Menggunakan Software Autodock Vina. 2018;9:33.
12. Ekowati J, Diyah NW, Nofianti KA, Hamid IS, Siswandono. Molecular docking of ferulic acid derivatives on P2Y12 receptor and their ADMET prediction. *J Math Fundam Sci*. 2018;50(2):203–19.
13. Damayanti DS. Hasil Ekstrak Kacang Tunggak (*Vigna Unguiculata*) LSIH Universitas Brawijaya. 2021;0–5.
14. Ramírez D, Caballero J. Is It Reliable to Take the Molecular Docking Top Scoring Position as the Best Solution without Considering Available Structural Data? *Molecules*. 2018;23(5):1–17.
15. Octavia N. Determination of Physicochemical Properties and Cytotoxic Activity of Gendarusin A-E Compounds Against Estrogen Alpha Receptors (2JF9) on Breast Cancer In Silico. *Skripsi*. 2019;
16. 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. *East Java*. 2018;147–58.
17. 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(Special Issue 6):72–9.
18. Poirier S, Mayer G, Benjannet S, Bergeron E, Marcinkiewicz J, Nassoury N, et al. The proprotein convertase PCSK9 induces the degradation of low density lipoprotein receptor (LDLR) and its closest family members VLDLR and ApoER2. *J Biol Chem*. 2008 Jan;283(4):2363–72.

19. Hidayatullah MR. Prevention of Increasing Total Cholesterol Level Using Cowpea Yoghurt. *Media Keperawatan Indones.* 2020;3(1):38.
20. Susana N. Pengaruh Pemberian Yoghurt Kacang Tunggak (*Vigna Unguiculata*) Terhadap Peningkatan Kadar Kolesterol Hdl Pada Tikus Wistar (*Rattus Norvegicus*) Yang Diberi Diet Tinggi Lemak. Universitas Brawijaya; 2015. p. 85.
21. B. Fernandes T, C. F. Segretti M, C. Polli M, Parise-Filho R. Analysis of the Applicability and Use of Lipinski's Rule for Central Nervous System Drugs. *Lett Drug Des Discov.* 2016;13(10):999–1006.
22. B. Fernandes T, C. F. Segretti M, C. Polli M, Parise-Filho R. Analysis of the Applicability and Use of Lipinski's Rule for Central Nervous System Drugs. *Lett Drug Des Discov.* 2016 Nov 14;13(10):999–1006.
23. Sun S, Wang Y, Wu A, Ding Z, Liu X. Influence Factors of the Pharmacokinetics of Herbal Resourced Compounds in Clinical Practice. *Evidence-based Complement Altern Med.* 2019;2019.

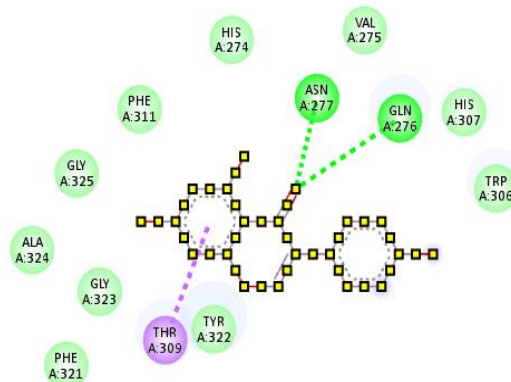
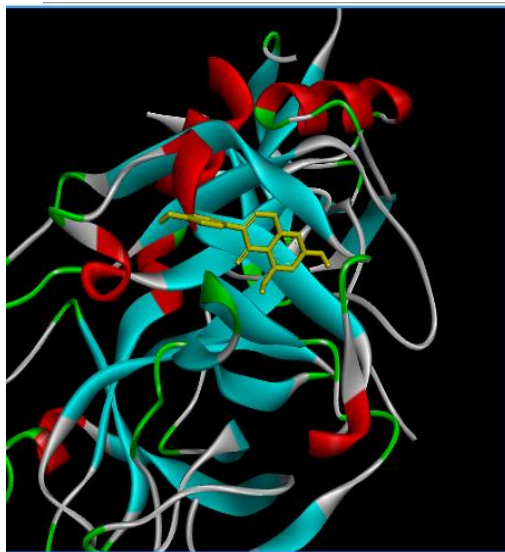
Suplemen



Gambar 1. Interaksi Genistin dengan PCSK9



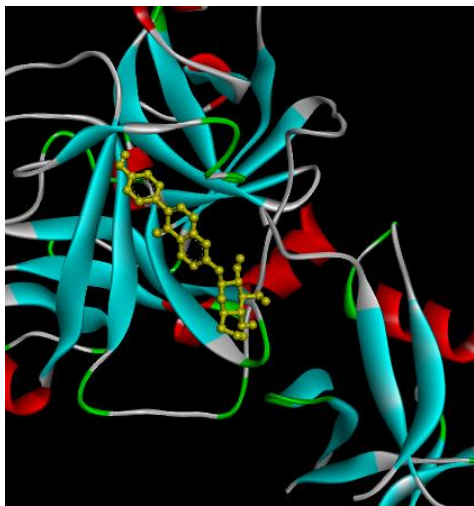
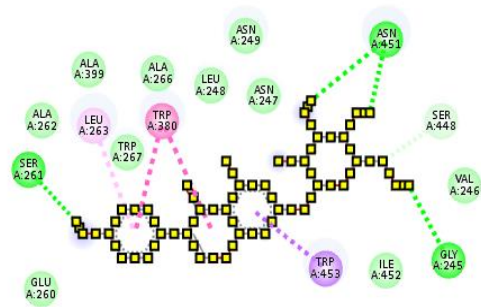
Gambar 2. Interaksi Daidzin dengan PCSK9



Gambar 4. Interaksi Genistein dengan ABCA1



Gambar 5. Interaksi Genistin dengan ABCA1



Gambar 6. Interaksi Cyanidin dengan ABCA1

