

PREDIKSI MEKANISME ANTIHIPERTENSI SENYAWA FITOKIMIA DAUN PEPAYA (*Carica papaya*) MELALUI INHIBISI ENDOTHELIN CONVERTING ENZYME-1 DAN CALCIUM CHANNEL SECARA *IN SILICO*

Annisa Iktiarani, Dini Sri Damayanti^{1*}, Dian Novita Wulandari²

Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

ABSTRAK

Pendahuluan: Daun pepaya memiliki potensi sebagai antihipertensi yang telah dibuktikan melalui penelitian *in vivo* pada tikus melalui penghambatan enzim ACE. Namun, penelitian daun pepaya sebagai antihipertensi melalui inhibisi *endothelin converting enzyme-1* dan *calcium channel* belum diketahui. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui afinitas senyawa aktif daun pepaya sebagai antihipertensi dengan mekanisme inhibisi *endothelin converting enzyme-1* dan *calcium channel*.

Metode: Penelitian *In Silico* dengan penambatan molekul dilakukan untuk melihat nilai energi ikatan bebas (ΔG) dan presentase persamaan residu asam amino *endothelin converting enzyme-1* (kode: 3DWB) dan *calcium channel* (kode: 7WLJ) terhadap kontrol Phosphoramidon dan Mibefradil serta senyawa aktif daun pepaya.

Hasil: Berdasarkan indikator energi bebas (ΔG), dan persentase residu asam amino didapatkan senyawa aktif daun pepaya yang memiliki afinitas terhadap ECE-1 yaitu *rutin* (energi ikatan bebas (ΔG -9.5 kkal/mol, persentase persamaan residu asam amino 40%), *carpaine* (-8.8 kkal/mol, 40%), dan *naringenin* (-8.2, 10%) dibandingkan kontrol Phosphoramidon (-9.5 kkal/mol, 100%), sedangkan senyawa yang memiliki afinitas terhadap *calcium channel* yaitu *rutin* (ΔG -9.8 kkal/mol, 14,2%) dibandingkan kontrol Mibefradil (-8.7 kkal/mol, 100%). Secara fisikokimia dan farmakokinetik didapatkan *naringenin*, *kaempferol*, *luteolin*, *myricetin*, *quercetin*, *genistein*, dan *epicatechin* memenuhi kriteria *Lipinski*, diabsorpsi di intestinal dengan baik, tidak menembus sawar darah otak, dimetabolisme dan dieksresikan dengan baik.

Kesimpulan: Senyawa aktif daun pepaya berpotensi memiliki afinitas tinggi terhadap penghambatan *Endothelin converting enzyme-1* dan protein *calcium channel*.

Kata Kunci: Antihipertensi; *Carica papaya*; *in silico*; *Endothelin receptor*; *Calcium channel*

*Penulis Korespondensi: dinisridamayanti@unisma.ac.id, Telp (+62) 341578920, Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang.

PREDICTION OF ANTIHYPERTENSIVE PHYTOCHEMICAL COMPOUNDS MECHANISM OF PAPAYA LEAF THROUGH INHIBITION OF ENDOTHELIN CONVERTING ENZYME-1 AND CALCIUM CHANNEL *IN SILICO*

Annisa Iktiarani, Dini Sri Damayanti^{1*}, Dian Novita Wulandari²

Student of Medical Faculty, UNISMA, Indonesia, Physiology Laboratory of Medical Faculty, Universitas Islam Malang, Indonesia*

ABSTRACT

Introduction: The potential of papaya leaf as an antihypertensive has been proven through *in vitro* research in rats through inhibition of the angiotensin converting enzyme. However, studies on papaya leaves as an antihypertensive through inhibition of *endothelin converting enzyme-1* and *calcium channel* are limited. Therefore, this study was conducted to determine the affinity of active compounds of papaya leaves as antihypertensives with the inhibition of *endothelin converting enzyme-1* and *calcium channel*.

Method: *In Silico research* with molecular tethering was conducted to see the value of free bond energy (ΔG) and the percentage of amino acid residue equation *endothelin converting enzyme-1* (code: 3DWB) and *calcium channel* (code: 7WLJ) against the control of Phosphoramidon and Mibefradil and active compounds of papaya leaves.

Result: Based on indicators of free energy (ΔG), and the percentage of amino acid residue, it was found that the active compound in papaya leaves has an affinity for ECE-1, namely *routine* (free binding energy (ΔG -9.5 kkal/mol, percentage of amino acid residue equation 40%), *carpaine* (-8.8 kkal/mol, 40%), and *naringenin* (-8.2, 10%) compared to Phosphoramidon control (-9.5 kkal/mol, 100%), while the compound that has an affinity for calcium channels is *routine* (ΔG -9.8 kkal /mol, 14.2%) compared to control Mibefradil (-8.7 kkal/mol, 100%). Physicochemically and pharmacokinetics are obtained *naringenin*, *kaempferol*, *luteolin*, *myricetin*, *quercetin*, *genistein*, and *epicatechin* fulfilling the *lipinski* rule of five, which are well absorbed in the intestine, do not penetrate blood brain barrier, are completely metabolized and excreted, and are not hepatotoxic.

Conclusion: The active compound of papaya leaves is predicted to have a high affinity for the inhibition of *endothelin converting enzyme-1* and *calcium channel protein*.

Keywords: Antihipertensi; *Carica papaya*; *in silico*; *Endothelin converting enzyme-1*; *Calcium channel*

* Author Correspondence: dinisridamayanti@unisma.ac.id, Phone (+62) 341578920, Faculty of Medicine, University of Islam Malang.

PENDAHULUAN

Hipertensi adalah kondisi tekanan sistolik melebihi atau sama dengan 140 mmHg dan tekanan diastolik melebihi atau sama dengan 90 mmHg saat tekanan darah diukur dua kali⁽¹⁾. Prevalensi hipertensi di Indonesia meningkat dari 25,8 % pada tahun 2013 dan 34,1 % pada tahun 2018. Peningkatan angka hipertensi di Indonesia disebabkan karena dua faktor yaitu faktor modifikasi dan tidak dimodifikasi. Faktor modifikasi seperti gaya hidup yang tidak banyak bergerak, berat badan berlebih, dan konsumsi garam berlebih, sedangkan faktor non modifikasi yaitu riwayat keluarga terkena hipertensi⁽²⁾.

Hipertensi dapat terjadi melalui jalur endothelium sebagai pengatur utama tonus pembuluh darah. Ketika terjadi disfungsi endotel yang diakibatkan oleh induksi shear stress maka akan mengakibatkan peningkatan endothelin-1. Endothelin I akan berikatan dengan reseptor endothelin A (ET-A). Ikatan antara endothelin dengan reseptor endothelin mengakibatkan kanal kalsium terbuka sehingga kalsium banyak yang dilepaskan. Kalsium berikatan dengan calmodulin dan ikatan tersebut mengaktifasi *Myosin Light Chain Kinase* (MCLK) yang menyebabkan terbentuknya ikatan antara myosin dan aktin. Ikatan ini menyebabkan otot polos pembuluh darah berkontraksi sehingga terjadi vasokonstriksi pembuluh darah yang menyebabkan tahanan perifer meningkat sehingga terjadilah hipertensi⁽³⁾. Oleh karena itu, dilakukan pengobatan menggunakan farmakoterapi seperti golongan diuretik, ACE inhibitor, renin inhibitor, calcium Channel Blocker (CCB), beta blocker dan endothelin inhibitor⁽⁴⁾. Farmakoterapi yang digunakan dalam pengobatan hipertensi yaitu pengobatan hipertensi secara farmakoterapi ini sudah banyak dilakukan. Namun, prevalensi angka hipertensi terus meningkat di Indonesia sepenuhnya⁽⁵⁾. Hal itu dikarenakan adanya efek samping penggunaan obat jangka panjang seperti batuk kering, hipotensi, gagal ginjal akut, edema perifer, infeksi saluran pernapasan atas, nasofaringitis dan bronkitis mengakibatkan pasien berhenti atau tidak teratur mengkonsumsi obat antihipertensi⁽⁵⁾. Maka diperlukan pengobatan menggunakan herbal.

Salah satu tanaman yang mudah tumbuh atau yang dikenal oleh Masyarakat Indonesia adalah *Carica papaya*⁽⁶⁾. Daun pepaya memiliki beberapa golongan senyawa aktif yang termasuk metabolit primer dan sekunder. Senyawa aktif yang termasuk metabolit primer yaitu vitamin dan lemak, sedangkan senyawa aktif metabolit sekunder yaitu alkaloid, flavonoid, terpenoid, dan glikosida. Selain itu, senyawa aktif daun pepaya berpotensi sebagai antihipertensi seperti *benzyl isothiocyanate*, *carpain*, *myristic acid*, *myosmine*, *saponin*, *lauric acid*, *beta sitosterol*, *caffeic acid*, *carpaine*, *ascorbic acid* dan *nicotine*⁽⁷⁾. Daun pepaya memiliki potensi sebagai antihipertensi yang telah dibuktikan melalui penelitian *in vivo* pada tikus. Penelitian ini dilakukan pada tikus model hipertensi yang diberikan ekstrak metanol kemudian diuji melalui penghambatan terhadap enzim ACE yang dinilai dengan ELISA⁽⁷⁾. Namun, penelitian daun pepaya sebagai

antihipertensi melalui inhibisi *endothelin receptor* dan *calcium channel* belum banyak dilakukan.

In Silico merupakan metode komputasi untuk menyimpan, mengelola dan menganalisis sebagian besar data molekul dalam penemuan obat. Metode *in silico* memiliki kelebihan efisiensi waktu, biaya dan tahapan awal dalam penelitian untuk memprediksi mekanisme molekular senyawa aktif atau ligan untuk menimbulkan suatu efek farmakologis. Penelitian ini menggunakan metode *in silico* untuk memprediksi mekanisme antihipertensi pada senyawa aktif daun pepaya melalui penghambatan pada *endothelin converting enzyme-1* dan *calcium channel*. Afinitas senyawa aktif daun pepaya terhadap *endothelin converting enzyme-1* dan *calcium channel* ditentukan menggunakan indikator energi ikatan bebas (ΔG) dan persentase persamaan residu asam amino. Prediksi nilai afinitas, sifat fisikokimia, dan farmakokinetik ADMET (absorpsi, distribusi, metabolisme, ekskresi dan toksisitas) senyawa aktif yang berpotensi dengan website *pkCSM* dan *swissADME*. Obat kontrol atau native ligan yaitu Phosphoramidon yang merupakan *native ligan* dari protein *endothelin converting enzyme-1* dan Mibefradil sebagai *native ligan* dari *calcium channel*.

METODE PENELITIAN

Desain dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan metode *In Silico* (komputasi) *molecular docking* menambatkan senyawa aktif yang ditemukan pada daun pepaya (*Carica papaya*) terhadap *Endothelin receptor* (kode: 3DWB), dan *Calcium channel* (kode: 7WLJ).

Alat dan Bahan Uji *In Silico*

Penelitian ini menggunakan alat berupa laptop Lenovo idepad dengan spesifikasi processor AMD Ryzen 5 4500U with Radeon Graphics 2.38 GHz, RAM 20 GB. Sistem operasi Microsoft Windows 11 Home Single Language 22H2 64-bit dan menggunakan aplikasi AutodockVina (<https://vina.scripps.edu>).

Senyawa aktif daun pepaya (*Carica papaya*) dipilih dan digunakan sebagai bahan untuk melakukan penambatan molekul, struktur protein *Endothelin receptor*, *Calcium channel*. Protein tersebut diunduh dari website (<http://rcsb.org>). Senyawa zat aktif dari herbal daun pepaya (*Carica papaya*) dapat diunduh melalui website pubchem <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>.

Preparasi Protein dan Ligan

Protein *Endothelin converting enzyme-1* dan *Calcium Channel* diunduh melalui Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org>) dalam bentuk tiga dimensi dan format pdb. File tersebut divisualisasikan menggunakan aplikasi pymol. Molekul yang tidak digunakan dalam penelitian ini dihilangkan menggunakan aplikasi pymol sehingga tidak mengganggu proses docking dan disimpan dalam format pdb. Molekul tersebut ditambahkan atom hydrogen polar ke dalam protein menggunakan aplikasi pymol dalam format pdbqt. Studi literatur digunakan dalam penentuan ligan pada

penelitian ini dan diunduh melalui website Pubchem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>) dengan format sdf, kemudian diubah menjadi format pdbqt dengan menggunakan aplikasi pyrx (autodockvina).

Validasi Molecular docking

Proses validasi pada penelitian ini menggunakan *redocking native ligan* protein target *endothelin receptor* dan *calcium channel* dengan *native ligan* protein target *endothelin receptor* dan *calcium channel* yang telah dipreparasi dilakukan dengan menggunakan *ligRMSD online tool*. Proses validasi bergantung dari nilai RMSD. Jika hasil RMSD yang diperoleh tidak lebih dari 2 Å setelah dibandingkan dengan RMSD yang terdapat pada *native ligan* sebelum preparasi maka hasil tersebut valid.

Pemilihan Senyawa Fitokimia Daun Pepaya

Pemilihan senyawa aktif yang akan dijadikan ligan dalam *docking* melalui skrining *Dr. Duke's Phytochemical and Ethnobotanical Databases* dan PAAS online (<https://www.way2drug.com/>). Skrining senyawa aktif melalui website *Dr. Duke's Phytochemical and Ethnobotanical Databases* didapatkan 40 senyawa aktif. Kemudian dilakukan skrining lanjutan melalui PAAS online (<https://www.way2drug.com/>) didapatkan 23 senyawa aktif. Kriteria pemilihan senyawa aktif melalui skrining PAAS online dilihat dari Pa (probability of activity) dan potensi dari senyawa aktif. Pa (probability of activity) yang digunakan pada penelitian ini yaitu $Pa > 0.5$ dan mempunyai potensi vasoprotektor dan vasodilator

Penambatan Molekul Senyawa Aktif Daun Carica papaya terhadap reseptor Endothelin dan Calcium channel

Pengaturan grid box dengan menyesuaikan size x (nx), size y (ny), dan size z (nz) serta ukuran center x (Angstrom), center y (Angstrom), dan center z (Angstrom). Ukuran grid box protein *Endothelin Receptor* (kode:3DWB) didapatkan size x 84, size y 24, size z 44, x center 25 Å, y center 25 Å, dan z center 25 Å, sedangkan ukuran grid box protein *calcium channel* (kode:7WLJ) didapatkan size x 135, size y 131, size z 141, x center 25 Å, y center 25 Å, dan z center 25 Å.

Teknik Analisis Data

Analisis hasil *docking* dengan menggunakan dua parameter yaitu energi ikatan bebas (ΔG) dan persentase

persamaan residu asam amino. Apabila semakin negatif nilai ΔG , maka semakin tinggi kecenderungan ligan dan reseptor untuk berikatan⁽⁸⁾. Ikatan kuat antara protein target dengan senyawa aktif dilihat dari kesamaan residu asam amino kontrol obat atau *native ligan*⁽⁹⁾. Fisikokimia senyawa aktif yang berpotensi di analisis menggunakan kriteria Lipinski antara lain HBA (*hydrogen bond acceptor*), log P (logaritma koefisien partisi oktanol/air), HBD (*hydrogen bond donor*), dan berat molekul, sedangkan Analisa farmakokinetik ADMET dari senyawa aktif yang berpotensi yaitu absorpsi intestinal, VDSS (*Volume Distribusi at Steady State*), permeabilitas Caco2, BBB (*Blood Brain Barrier*), substrat CYP2D6, substrat CYP3A4, inhibitor CYP2D6, inhibitor CYP3A4, CLTOT (*Total Clearance Total Clearance*), dan hepatotoksik⁽¹⁰⁾.

Prediksi ADMET dan Sifat Fisikokimia

Prediksi fisikokimia dan ADMET menggunakan website swisADME (<http://www.swissadme.ch/>) dan PKCSM (<https://biosig.lab.uq.edu.au/pkcsml/>). Proses prediksi fisikokimia diawali dengan pencarian canonical SMILES dari senyawa aktif daun pepaya. sCanonical SMILES yang terdapat pada website pubchem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) dicopy paste dan dilakukan pencarian ADMET. Setelah dilakukan pencarian pada website swiss ADME dan PKCSM, kemudian membuat hasil analisa yang didapatkan dari kriteria lipinski, dan prediksi farmakokinetik.

HASIL DAN ANALISA DATA

Penentuan Senyawa aktif Melalui PAAS Online

Pada penelitian ini menggunakan $Pa > 0.5$. Pemilihan potensi senyawa aktif menggunakan indikator vasoprotektor dan vasodilator. Hal ini dikarenakan Vasoprotektor mempunyai efek seperti antioksidan pada hipertensi yang memiliki kemampuan untuk menurunkan kekakuan arteri, dan meningkatkan fungsi endotel⁽¹¹⁾. Potensi sebagai vasodilator berperan melebarkan atau mencegah vasokonstriksi pembuluh darah, yang merangsang pelepasan kalsium⁽¹²⁾. Hasil penentuan senyawa aktif menggunakan skrining PAAS online dapat dilihat pada **tabel 1**

Tabel 1 Hasil PAAS Online Senyawa Fitokimia Daun Pepaya (*Carica papaya*) Sebagai Antihipertensi

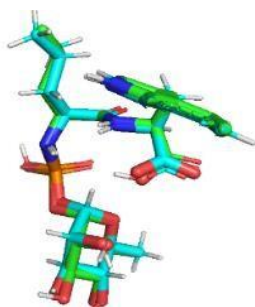
No	Nama	Klasifikasi	Smille	PA	Potensi
1.	Genistein	Flavonoid	<chem>C1=CC(=CC=C1C2=COC3=CC(=CC(=C3C2=O)O)O)O</chem>	0,822	Vasoprotector
2.	Alpha ionone	Terpenoid	<chem>CC1=CCCC(C1C=CC(=O)C)(C)C</chem>	0,5 0,507	Vasoprotector Vasodilator
3.	Naringenin	Flavonoid	<chem>C1C(OC2=CC(=CC(=C2C1=O)O)O)OC3=CC=C(C(C=C3)O)</chem>	0,70	Vasoprotector
4.	Epicatechin	Flavonoid	<chem>C1C(C(OC2=CC(=CC(=C21)O)O)C3=CC(=C(C=C3)O)O)O</chem>	0,652	Vasoprotector

5.	Chymopapain	Enzym	<chem>C1=C(C=C(C(=C1O)O)S(=O)(=O)O)S(=O)(=O)O</chem>	0,914	Vasoprotector
6.	Ascorbic-acid	Fatty acid	<chem>C(C(C1C(=C(C(=O)O1)O)O)O)O</chem>	0,948	Vasoprotector
7.	Caffeic-acid	Fatty acid	<chem>C1=CC(=C(C=C1C=CC(=O)O)O)O</chem>	0,639	Vasodilator, peripheral
8.	Carpaine	Fatty acid	<chem>CC1C2CCC(N1)CCCCCCCC(=O)O C3CCC(CCCCCCCC(=O)O2)NC3C</chem>	0,431	Vasoprotector
9.	Ferulic acid	Fatty acid	<chem>COC1=C(C=CC(=C1)C=CC(=O)O) O</chem>	0,753 0,666	Vasoprotector Vasodilator, peripheral
10.	Gallic acid	Fatty acid	<chem>C1=C(C=C(C(=C1O)O)O)C(=O)O</chem>	0,565	Vasoprotector
11.	Kaempferol	Flavonoid	<chem>C1=CC(=CC=C1C2=C(C(=O)C3=C (C=C(C=C3O2)O)O)O)O</chem>	0,807 0,502	Vasoprotector Vasodilator
12.	Lauric-acid	Fatty acid	<chem>CCCCCCCCC CCC(=O)O</chem>	0,834 0,642	Vasoprotector Vasodilator
13.	Linoleic-acid	Fatty acid	<chem>CCCCC=CCC=CCCCCCCCC(=O) O</chem>	0,852 0,509	Vasoprotector Vasodilator
14.	Luteolin	Flavonoid	<chem>C1=CC(=C(C=C1C2=CC(=O)C3=C (C=C(C=C3O2)O)O)O)O</chem>	0,901	Vasoprotector
15.	Myricetin	Flavonoid	<chem>C1=C(C=C(C(=C1O)O)O)C2=C(C(=O)C3=C(C=C(C=C3O2)</chem>	0,800 0,562	Vasoprotector Vasodilator
16.	Myristic-acid	Fatty acid	<chem>CCCCCCCCCCCCC(=O)O</chem>	0,834 0,642	Vasoprotector Vasodilator, peripheral
17.	Niacin	Vitamin	<chem>C1=CC(=CN=C1)C(=O)O</chem>	0,647	Vasodilator, peripheral
18.	Nicotine	Alkaloid	<chem>CN1CCCC1C2=CN=CC=C2</chem>	0,588 0,573	Vasodilator, peripheral Vasoprotector
19.	Oleic-acid	Fatty acid	<chem>CCCCCCCCC=CCCCCCCCC(=O) O</chem>	0,872 0,711	Vasoprotector Vasodilator, peripheral
20.	Palmitic-acid	Fatty acid	<chem>CCCCCCCCCCCCCCCCC(=O)O</chem>	0,834 0,642	Vasoprotector Vasodilator, peripheral
21.	P-coumaric acid	Fatty acid	<chem>C1=CC(=CC=C1C=CC(=OO)O</chem>	0,735 0,606	Vasoprotector Vasodilator, peripheral
22.	Quercetin	Flavonoid	<chem>C1=CC(=C(C=C1C2=C(C(=O)C3= C(C=C(C=C3O2)O)O)O)O)O</chem>	0,824	Vasoprotector
23.	Rutin	Flavonoid	<chem>CC1C(C(C(C(O1)OCC2C(C(C(C(O 2)OC3=C(OC4=CC(=CC(=C4C3=O O)O)C5=CC(=C(C=C5)O)O)O)O) O)O)O)O</chem>	0,980 0,740	Vasoprotector Vasodilator

Keterangan: Hasil PAAS online menggunakan Pa > 0.5 dan memiliki potensi sebagai vasoprotector dan vasodilator yang berperan untuk melindungi pembuluh darah agar tidak terjadi vasokonstriksi pembuluh darah.

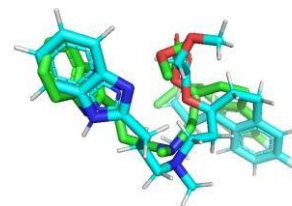
Validitas Metode Molecular Docking

Hasil validasi *molecular docking* menggunakan *redocking native ligan* dengan protein *endothelin receptor* dan *native ligan* yang telah dipreparasi didapatkan RMSD sebesar 0,23Å. *Redocking* native ligan dengan protein *calcium channel* dan *native ligan* yang telah dipreparasi didapatkan RMSD 1,31 Å. Hasil RMSD yang telah didapatkan tidak lebih dari 2Å. Jarak penyimpangan dari posisi ikatan *native ligan* dengan protein setelah *diredocking* terhadap posisi ikatan *native ligan* yang sebenarnya ditentukan melalui nilai RMSD⁽¹³⁾. Nilai RMSD paling baik yaitu kurang dari 2 Å, RMSD yang dapat diterima (*acceptable*) antara 2 Å dan 3 Å, dan nilai RMSD yang buruk ≥ 3 Å⁽¹⁴⁾. Suatu metode docking dikatakan valid jika $\text{RMSD} < 2$ Å⁽¹⁵⁾. Berdasarkan hasil validasi pada **gambar 1.1** dan **gambar 1.2** yaitu 0.23 Å dan 1.33 Å. Hasil validasi tersebut menunjukkan bahwa nilai RMSD bernilai paling baik sehingga dapat disimpulkan bahwa *docking* yang dilakukan valid. Visualisasi interaksi *redocking native ligan* dengan protein dan *native ligan* yang telah dipreparasi dapat dilihat pada **gambar 1.1** dan **gambar 1.2**.



Gambar 1: Validasi native ligand Phosphoramidon

Keterangan: Visualisasi validasi *Redocking native ligan* dengan protein *endothelin converting enzyme-1* dan *native ligan* yang telah dipreparasi.



Gambar 2: Validasi native ligand Mibefradil

Keterangan: Visualisasi validasi *Redocking native ligan* dengan protein *calcium channel* dan *native ligan* yang telah dipreparasi.

Tabel 2 Hasil Validasi Metode

Native ligand	Jumlah Pengulangan	Nilai RMSD
Phosphoramidon	8 kali running docking	0,23Å
Mibefradil	8 kali running docking	1,31 Å

Keterangan : Hasil validasi native ligand sebelum docking dengan setelah docking menggunakan aplikasi pymol.

Hasil Penambatan Molekul Senyawa Aktif Daun Pepaya (*Carica papaya*) terhadap *Endothelin converting enzyme-1*

Nilai hasil penambatan antara kontrol Phosphoramidon dengan *endothelin converting enzyme-1* pada **tabel 3** didapatkan nilai ΔG -9.5 kkal/mol dan total residu asam amino yang didapatkan adalah 10 yaitu ikatan hydrogen GLU608, ARG738, VAL565, ASN566, HIS732, HIS607, dan ikatan hidrofobik PHE149, VAL604 dan PRO731. Selanjutnya dilakukan perbandingan hasil docking antara ligand yaitu senyawa aktif dari daun pepaya (*Carica papaya*) dengan *endothelin converting enzyme-1*. Berdasarkan indikator energi bebas (ΔG), dan persentase residu asam amino didapatkan senyawa aktif daun pepaya yang memiliki afinitas terhadap ECE-1 yaitu rutin, carpaine, dan naringenin. Nilai hasil penambatan molekul senyawa aktif daun pepaya (*Carica papaya*) terhadap reseptor *endothelin converting enzyme-1* dapat dilihat pada **tabel 3**.

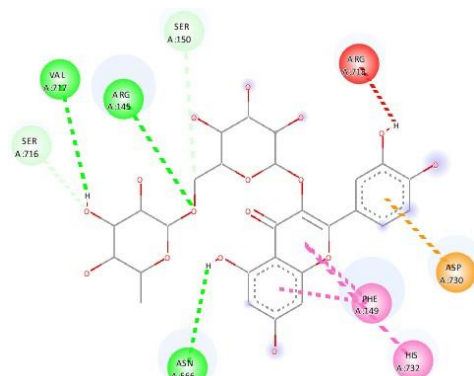
Tabel 3. Penambatan Senyawa Fitokimia Terhadap Protein Endothelin Converting Enzyme-1

Senyawa aktif (Ligan)	Nilai energi ikatan bebas (kkal/mol)	Residu asam amino	Persentase persamaan residu asam amino (%)
Phosphoramidon	-9.5	Hydrogen bond: GLU608, ARG738, VAL565, ASN566, HIS732, HIS607 Hydrophobic: PHE149, VAL604, PRO731	100%
Rutin	-9.5	Hydrogen bond: ARG145, ASN566, SER150, SER716, VAL717 Hydrophobic: HIS732, PHE149 Electrostatic: ASP730	40%
Carpaine	-8.8	Hydrogen bond: ARG738 Hydrophobic: VAL565, HIS732, TRP153, PHE149	40%
Naringenin	-8.2	Hydrogen bond: SER716 Hydrophobic: ARG145, PHE149 Electrostatic: ARG718	10%
Kaempferol	-8.2	Hydrogen bond: SER735, SER716 Hydrophobic: PH3149, TRP714, ARG145 Electrostatic: HIS732, ARG718	20%

Senyawa aktif (Ligan)	Nilai energi ikatan bebas (kcal/mol)	Residu asam amino	Persentase persamaan residu asam amino (%)
Luteolin	-8.2	Hydrogen bond: SER716, HIS732 , VAL717 Hydrophobic: ARG145, PHE149 Electrostatic: ARG718	20%
Myricetin	-8.2	Hydrogen bond: ASN566 , ARG738 , SER735 Hydrophobic: ARG145, PHE149 , TRP714 Electrostatic: ARG718, HIS232	30%
Quercetin	-8.2	Hydrogen bond: ASN566 , SER735 Hydrophobic: ARG145, PHE149 Electrostatic: ARG718, ARG738 , HIS732	40%
Genistein	-7.9	Hydrogen bond: ARG738 , ASN566 Hydrophobic: PHE149 Electrostatic : ARG718, HIS732	40%
Epicatechin	-7.7	Hydrogen bond: ARG145, ARG718, HIS732 Hydrophobic: PHE149	20%
Chymopapain	-7.0	Hydrogen bond: VAL717, SER150, SER735 Hydrophobic:ARG145 Electrostatic: ARG718	0%
Caffeic-acid	-6.7	Hydrogen bond: ASN566 , GLU608 , ALA567, ASP671, TRP714 Hydrophobic: HIS607 , VAL604	40%
Linoleic-acid	-6.7	Hydrogen bond: PHE149 , SER150 Hydrophobic: ALA567, HIS607 , VAL604 , TRP714	30%
Ferulic acid	-6.6	Hydrogen bond:VAL713, CYS715, PHE149 ,SER735 Hydrophobic: TRP714, ARG145	10%
Oleic-acid	-6.6	Hydrogen bond: PHE149 , SER150 Hydrophobic: HIS607 , HIS732 , TRP714, VAL603, VAL604	40%
Alpha ionone	-6.5	Hydrogen bond:- Hydrophobic: ALA567, HIS732 , HIS607 , PHE149 , TRP714, VAL604	40%
P-coumaric acid	-6.4	Hydrogen bond: GLU608 , HIS732 , TRP714 Hydrophobic: HIS607 VAL604 ,	40%
Gallic acid	-6.3	Hydrogen bond: ARG145, ARG718, SER716, SER735, PHE149 Hydrophobic:-	10%
Palmitic-acid	-6.1	Hydrogen bond: ARG145, PHE149 , SER150 Hydrophobic: HIS607 , TRP714	20%
Ascorbic-acid	-6.0	Hydrogen bond: ARG145,ARG718, HIS732 Hydrophobic: PHE149	20%
Myristic-acid	-5.7	Hydrogen bond: SER150 Hydrophobic: PHE149 , TRP714, VAL604	20%
Niacin	-5.5	Hydrogen bond: ASN566 , GLU608 , VAL604 Hydrophobic: PHE149 , TRP714	40%
Nicotine	-5.5	Hydrogen bond:- Hydrophobic:ARG145, ARG718	0%
Lauric-acid	-5.4	Hydrogen bond: HIS607 , TRP714 Hydrophobic: PHE149 , HIS732 , VAL604	40%

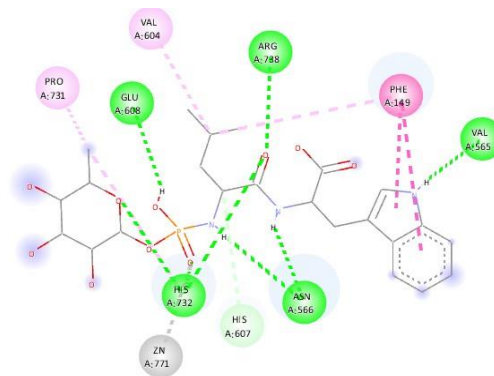
Keterangan : Tabel hasil penambatan molekul senyawa aktif daun pepaya (*Carica papaya*) terhadap *Endothelin receptor*. Penelitian menggunakan pendekatan native ligan sebagai obat pembanding dengan melihat dua indikator yaitu dari energi ikatan bebas (ΔG) dan residu asam amino yang mendekati native ligan.

Visualisasi Interaksi Intermolekuler Antara Senyawa Aktif Daun pepaya (*Carica papaya*) terhadap *Endothelin Converting Enzyme-1* Dapat Dilihat Pada Gambar dibawah Ini



Gambar 3: Visualisasi 2D Phosphoramidon

Keterangan: Visualisasi interaksi *native ligand* Phosphoramidon terhadap ECE-1 kode 3DWB. Phosphoramidon berikatan pada *binding site* Glu608, Arg738, Val565, Asn566, His732, His607, Phe149, Val604, Pro731.



Gambar 4: Visualisasi 2D Rutin

Visualisasi interaksi rutin terhadap ECE-1 kode 3DWB. Rutin berikatan pada *binding site* Asn566, His732, dan Phe149.

Hasil Penambatan Molekul Senyawa Aktif Daun Pepaya (*Carica papaya*) terhadap *Calcium Channel*

Nilai hasil penambatan antara kontrol Mibefradil dengan *calcium channel* pada **tabel 4** didapatkan nilai ΔG -8.7 kkal/mol mol dan memiliki residu asam amino berjumlah tujuh asam amino yaitu ikatan hidrofobik PHE548, PHE823, ILE1119,

VAL552, VAL1122, ikatan halogen LEU1118, dan ikatan hydrogen ASN544. Senyawa aktif daun pepaya yang digunakan dalam penambatan berjumlah 23 senyawa aktif. Berdasarkan nilai energi ikatan bebas dan residu asam amino didapatkan senyawa aktif yang memiliki afinitas terhadap *calcium channel* yaitu rutin.

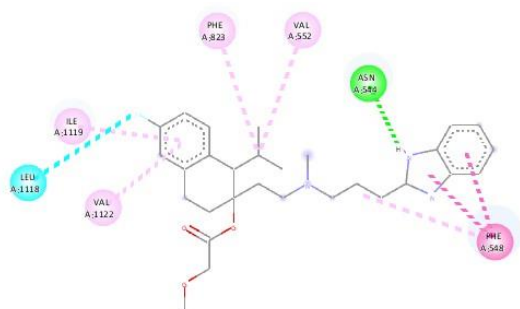
Tabel 4. Penambatan Senyawa Fitokimia Terhadap Protein *Calcium Channel*

Senyawa aktif (Ligan)	Nilai energi ikatan bebas (kkal/mol)	Residu Asam Amino	Persentase ikatan asam amino (%)
Mibefradil	-8.7	Hydrogen bond: ASN544 Hydrophobic: PHE548, PHE823, ILE1119, VAL552, VAL1122 Halogen: LEU1118	100%
Rutin	-9.8	Hydrogen bond: ASN298, ASN544, ASN549, GLY1074, LEU263, THR262 Hydrophobic: -	14,2%
Kaempferol	-8.8	Hydrogen bond: GLN514, SER1072, THR513 Hydrophobic: THR1073, LEU263 Van der Waals: GLY1074	0%
Myricetin	-8.8	Hydrogen bond: GLY514, GLY1074, GLN1115, LYS776, SER293 Hydrophobic: LEU263	0%
Quercetin	-7.9	Hydrogen bond: GLU264, GLN514, THR513, SER1072 Hydrophobic: LEU263	0%
Epicatechin	-7.7	Hydrogen bond: ASN298, GLN514, GLN264, LEU263, THR1073, SER293 Hydrophobic: -	0%
Luteolin	-7.7	Hydrogen bond: GLN514, GLN1115 Hydrophobic: LEU261	0%
Naringenin	-7.6	Hydrogen bond: SER775 Hydrophobic: LEU263	0%
Genistein	-7.3	Hydrogen bond: LYS776, SER293 Van der waals: GLY1074 Hydrophobic: LEU263, THR1073	0%

Senyawa aktif (Ligan)	Nilai energi ikatan bebas (kcal/mol)	Residu Asam Amino	Persentase ikatan asam amino (%)
Alpha ionone	-6.2	Hydrogen bond: - Hydrophobic: PHE548 , PHE509, LEU812, LEU813, LYS776	10%
Chymopapain	-6.1	Hydrogen bond: GLN1115 Hydrophobic: LEU263	0%
Carpaine	-5.9	Hydrogen bond: ASN549, ILE297 Hydrophobic: ILE1119 , LEU301, LEU820, PHE821, VAL552	14,2%
Linoleic-acid	-5.9	Hydrogen bond: ASN298 Hydrophobic: ILE1119 , LEU820, LEU301, PHE823	28,5%
Oleic-acid	-5.9	Hydrogen bond: ASN549, ILE297 Hydrophobic: ILE1119 , LEU301, LEU870, PHE823 , VAL552	42,8%
Caffeic-acid	-5.8	Hydrogen bond: SER293, LEU283, GLY1074, GLN514 Hydrophobic: -	0%
Lauric-acid	-5.7	Hydrogen bond: VAL1016 Hydrophobic: ILE290, LEU1118 , PHE1069, PHE294	14,2%
P-coumaric acid	-5.7	Hydrogen bond: - Hydrophobic: LEU463, LEU813, PHE548	14,2%
Ferulic acid	-5.6	Hydrogen bond: - Hydrophobic: ILE1119 , VAL1122 , PHE823	42,8%
Nicotine	-5.6	Hydrogen bond: ser1072, GLN1115 Hydrophobic: LEU263, LEU1118 , PHE294	14,2%
Palmitic-acid	-5.6	Hydrogen bond: ASN549 Hydrophobic: ILE1119 , LEU820, LEU301, PHE823 , VAL1122	42,8%
Gallic acid	-5.4	Hydrogen bond: ASN298, GLN514, ILE297 Hydrophobic: -	0%
Myristic-acid	-5.4	Hydrogen bond: ASN549 Hydrophobic: ILE820, ILE1119 , VAL1122 , VAL819, VAL552	28,5%
Niacin	-5.0	Hydrogen bond: SER293, SER1072 Hydrophobic: LEU1118 , PHE294	14,2%
Ascorbic-acid	-4.8	Hydrogen bond: - Hydrophobic: GLN514, SER775, THR513	0%

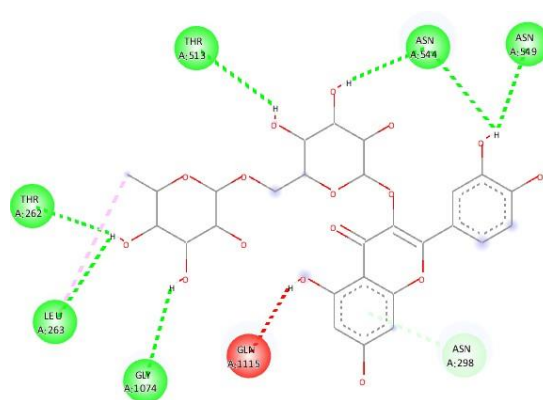
Keterangan : Tabel hasil penambatan molekul senyawa aktif daun pepaya (*Carica papaya*) terhadap *Calcium channel*. Penelitian menggunakan pendekatan native ligan sebagai obat pembanding dengan melihat dua indikator yaitu dari energi ikatan bebas (ΔG) dan residu asam amino yang mendekati native ligan.

Visualisasi Interaksi Intermolekuler Antara Senyawa Aktif Daun pepaya (*Carica papaya*) terhadap *Calcium Channel* Dapat Dilihat Pada Gambar dibawah Ini



Gambar 5: Visualisasi 2D Mibefradil

Keterangan: Visualisasi interaksi Mibefradil dengan *Calcium channel*. Mibefradil berikatan pada *binding site* Asn544, Phe548, Phe823, Ile1119, Val552, Val1122 dan Leu1118.



Gambar 6: Visualisasi 2D rutin

Keterangan: Visualisasi interaksi rutin dengan *Calcium channel*. Rutin berikatan pada *binding site* Asn544.

Hasil Prediksi Sifat Fisikokimia Senyawa Aktif Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya*) dengan swissADME Online Tool

Prediksi sifat fisikokimia senyawa aktif dilakukan pada 23 senyawa aktif. Hasil prediksi sifat fisikokimia sembilan senyawa aktif dapat dilihat pada **tabel 5**.

Tabel 5. Uji Sifat Fisikokimia Senyawa Fitokimia Daun Pepaya (*Carica papaya*)

Nama Senyawa Aktif	CID	Rumus Kimia	Berat Molekul (g/mol)	Log P	HBA	HBD	Lipinski Rules
Ascorbic acid	54670067	C ₆ H ₈ O ₆	176.12	-2.60	6	4	Terpenuhi
Caffeic acid	689043	C ₉ H ₈ O ₄	180.16	0.70	4	3	Terpenuhi
Carpaine	442630	C ₂₈ H ₅₀ N ₂ O ₄	478.71	3.75	6	2	Terpenuhi
Chymopapain	9002	C ₆ H ₆ O ₈ S ₂	270.24	-0.72	8	4	Terpenuhi
Epicatechin	72276	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	290.27	0.24	6	5	Terpenuhi
Ferulic acid	445858	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	194.18	1.00	4	2	Terpenuhi
Gallic acid	370	C ₇ H ₆ O ₅	170.12	-0.16	5	4	Terpenuhi
Genistein	5280961	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	270.24	0.52	5	3	Terpenuhi
Kaempferol	5280863	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	286.24	-0.03	6	4	Terpenuhi
Lauric acid	3893	C ₁₂ H ₂₄ O ₂	200.32	3.15	2	1	Terpenuhi
Linolenic acid	5280450	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	278.43	4.38	2	1	Terpenuhi
Luteolin	5280445	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	286.24	-0.03	6	4	Terpenuhi
Myricetin	5281672	C ₁₅ H ₁₀ O ₈	318.24	-1.08	8	6	Tidak Terpenuhi
Myristic acid	11005	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	228.37	3.69	2	1	Terpenuhi
Naringenin	439246	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	272.25	0.71	5	3	Terpenuhi
Niacin	938	C ₅ H ₄ NCOOH	123.11	-1.13	3	1	Terpenuhi
Nicotine	89594	C ₁₀ H ₁₄ N ₂	162.23	1.17	2	0	Terpenuhi
Oleic acid	445639	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	282.46	4.57	2	1	Terpenuhi
Palmitic-acid	985	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256.42	4.19	2	1	Terpenuhi
P-coumaric acid	637542	C ₉ H ₈ O ₃	164.16	1.28	3	2	Terpenuhi
Quercetin	5280343	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	302.24	-0.56	7	5	Terpenuhi
Rutin	5280805	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	610.52	-3.89	16	10	Tidak terpenuhi

Keterangan: Data hasil prediksi sifat fisikokimia 23 senyawa aktif daun pepaya (*Carica papaya*) dengan kontrol Phosphoramidon dan Mibefradil.

Berdasarkan hasil prediksi fisikokimia 23 senyawa aktif daun pepaya (*Carica papaya*) pada **tabel 5** didapatkan senyawa aktif yang memenuhi kriteria *Lipinski rule of five* yaitu golongan flavonoid *naringenin*, *kaempferol*, *luteolin*, *myricetin*, *quercetin*, *genistein*, dan *epicatechin*. Senyawa aktif yang tidak memenuhi kriteria

Lipinski terdapat dua senyawa aktif. Senyawa aktif tersebut ialah golongan alkaloid *carpaine*, dan golongan flavonoid *rutin*.

Hasil Prediksi Farmakokinetik ADMET Senyawa Aktif Daun Pepaya (*Carica papaya*) dengan *pKCSM Online Tool*

Prediksi sifat farmakokinetik dilakukan untuk memprediksi parameter ADMET yaitu

absorpsi, distribusi, metabolisme, ekskresi dan toksisitas dengan menggunakan ***pKCSM Online Tool***. Hasil prediksi farmakokinetik ADMET sembilan senyawa aktif terbaik dapat dilihat pada **tabel 6**.

Tabel 6. Prediksi ADMET Senyawa Fitokimia Daun Pepaya (*Carica papaya*)

Nama Senyawa	Absorbtio n	Distribusi		Metabolisme				Eksresi	Toksistas	
	Absorpsi pada usus (%)	Vdss (Log L/Kg)	BBB (log BB)	CYP 2D6 substrat	CYP 3A4 substrat	CYP 2D6 inhibitor	CYP 3A4 inhibitor	Total Clearance (log ml/min/kg)	Hepatotoksik	AMES
Ascorbic acid	39.154	0.218	- 0.985	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	0.631	Tidak	Tidak
Caffeic acid	69.407	- 1.098	- 0.647	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	0.508	Tidak	Tidak
Carpaine	92.276	0.812	- 0.355	Tidak	Iya	Tidak	Tidak	0.897	Tidak	Tidak
Chymopapain	6.085	- 1.035	- 1.409	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	0.558	Iya	Tidak
Epicatechin	68.829	1.027	- 1.054	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	0.183	Tidak	Tidak
Ferulic acid	93.685	- 1.367	- 0.239	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	0.623	Tidak	Tidak
Gallic acid	43.374	- 1.855	- 1.102	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	0.518	Tidak	Tidak
Genistein	93.387	0.094	- 0.71	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	0.151	Tidak	Tidak
Kaempferol	74.29	1.274	- 0.939	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	0.477	Tidak	Tidak
Lauric acid	93.379	- 0.631	0.057	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	1.623	Tidak	Tidak
Luteolin	81.13	1.153	- 0.907	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	0.495	Tidak	Tidak
Myricetin	65.93	1.317	- 1.493	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	0.422	Tidak	Tidak
Myristic acid	92.691	- 0.578	- 0.027	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	1.693	Tidak	Tidak
Naringenin	91.31	- 0.015	- 0.578	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	0.06	Tidak	Tidak
Niacin	94.099	- 1.015	- 0.323	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	0.652	Tidak	Tidak
Nicotine	95.867	0.595	0.208	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	0.86	Iya	Tidak
Oleic acid	91.823	- 0.558	- 0.168	Tidak	Iya	Tidak	Tidak	1.884	Tidak	Tidak
Palmitic-acid	92.004	- 0.543	- 0.111	Tidak	Iya	Tidak	Tidak	1.763	Tidak	Tidak

P-coumaric acid	93.494	- 1.15 1	- 0.22 5	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	0.662	Tidak	Tidak
Quercetin	77.207	1.55 9	- 1.09 8	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	0.407	Tidak	Tidak
Rutin	23.446	1.66 3	- 1.89 9	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	-0.369	Tidak	Tidak

Keterangan: Tabel hasil prediksi ADMET dari 23 senyawa aktif daun pepaya (*Carica papaya*) dengan kontrol Phosphoramidon dan Mibefradil. Parameter yang digunakan yaitu absorpsi intestinal, Permeabilitas Caco-2, Vdss, BBB, substrat CYP2D6, substrat CYP3A4, inhibitor CYP2D6, inhibitor CYP3A4, Total Clearance, dan hepatotoksik.

Berdasarkan hasil prediksi ADMET pada **tabel 6** didapatkan golongan alkaloid *carpaine* dan golongan flavonoid *naringenin*, *luteolin*, dan *genistein* diabsorpsi di intestinal dengan baik karena mempunyai nilai absorpsi lebih dari 80%. Sembilan senyawa aktif tersebut memperoleh nilai logBB <-1 sehingga tidak menembus blood brain barrier (BBB). *Kaempferol*, *myricetin*, *naringenin*, *luteolin*, *quercetin*, dan *genistein* berperan sebagai inhibisi dari CYP450, sedangkan *rutin* tidak mengaktifkan dan menghambat enzim CYP450. Sembilan senyawa aktif ini tidak bersifat toksik atau karsinogenik.

PEMBAHASAN

Afinitas senyawa aktif terhadap protein target ditentukan oleh dua indikator yaitu energi bebas (ΔG), dan persentase persamaan residu asam amino. Parameter yang mengukur stabilitas konformasi antara ligan dan reseptor adalah energi ikatan bebas, yang disingkat sebagai ΔG . Pada proses ini, ligan dan reseptor berinteraksi dan mencapai energi terendah sehingga menyebabkan molekul dalam keadaan yang stabil. Semakin rendah ΔG , semakin stabil konformasi yang dihasilkan oleh ikatan antara ligan dan reseptor. Semakin kecil ΔG maka semakin tinggi afinitasnya. Semakin besar persentase persamaan ikatan senyawa aktif dengan residu asam amino terhadap protein target dibandingkan kontrol maka semakin stabil ikatannya⁽¹⁶⁾. Ligan uji yang mempunyai residu asam amino mendekati native ligan (kontrol) menunjukkan bahwa ligan tersebut mempunyai kemiripan aktivitas dengan kontrol⁽¹⁷⁾.

Penambatan Senyawa Fitokimia *Carica papaya* terhadap *Endothelin Converting Enzyme-1*

Berdasarkan hasil *docking* didapatkan senyawa aktif daun pepaya (*Carica papaya*) yang memiliki afinitas pada protein endothelin converting enzyme-1 yaitu golongan flavonoid antara lain *rutin*, *carpaine*, dan *naringenin*. Penelitian yang dilakukan Santana *et al*, menyatakan bahwa senyawa aktif pepaya golongan flavonoid kemampuan dalam peningkatan produksi NO pada sel endotel dan menyebabkan vasodilatasi sehingga tekanan darah menurun. Selain itu, flavonoid berperan untuk mengontrol produksi NO agar tidak berlebihan. Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa senyawa aktif daun pepaya (*Carica papaya*)

diprediksi bekerja mirip dengan Phosphoramidon dalam menghambat endothelin converting enzyme-1 dengan potensi lebih rendah⁽¹⁷⁾.

Phosphoramidon merupakan obat golongan endothelin inhibitor yang digunakan pada terapi hipertensi. Endothelin inhibitor berperan dalam pengaturan tonus pembuluh darah melalui vasodilatasi pembuluh darah⁽¹⁸⁾. Pembentukan endothelin dapat dihambat dengan menghambat *endothelin converting enzyme-1* melalui phosphoramidon. Antagonis reseptor endothelin atau inhibitor *endothelin converting enzyme-1* diberikan melalui sistemik akan menyebabkan vasodilatasi dan penurunan tekanan darah pada manusia⁽¹⁹⁾. Namun, obat golongan endothelin inhibitor ini memiliki efek samping yaitu edema perifer, infeksi saluran pernapasan dan bronkitis⁽¹⁸⁾. Selain itu, obat ini juga memiliki efek teratogenik sehingga dikontraindikasikan pada kehamilan⁽¹⁹⁾.

Rutin merupakan senyawa aktif golongan flavonoid yang memiliki berbagai sifat farmakologis terhadap hipertensi⁽²⁰⁾. *Rutin* disebut juga rutoside, memiliki aktivitas antioksidan dan antihipertensi. *Rutin* memiliki kemampuan dalam peningkatan produksi NO pada sel endotel dan menyebabkan vasodilatasi sehingga tekanan darah menurun⁽²¹⁾. Efek antihipertensi dari *rutin* terlihat melalui peningkatan bioavailabilitas oksida nitrat serum⁽²⁰⁾. Namun, *rutin* memiliki bioavailabilitas oral yang lebih sedikit walaupun aktif secara farmakologis⁽²²⁾. *Rutin* memiliki pengaruh terhadap tekanan darah dan sistem pertahanan antioksidan⁽²³⁾. *Rutin* diprediksi menghambat ECE-1 berdasarkan hasil penelitian dengan *binding site* ECE-1.

Carpaine ialah senyawa golongan alkaloid daun pepaya. *Carpaine* memiliki efek antivirus, demam berdarah, antiplasmodium, antitumor, antihelmintik dan antiinflamasi. *Carpaine* juga berkontribusi terhadap rasa pahit yang terdapat pada daun pepaya⁽²⁴⁾. *Carpaine* termasuk dalam kelas analog makrolida, yang merupakan salah satu alkaloid utama yang telah dipelajari efek kardiovaskular. Senyawa aktif ini juga memperlambat *heart rate* pada manusia dan mengurangi tekanan darah⁽²⁵⁾. *Carpaine* diprediksi menghambat ECE-1 berdasarkan hasil penelitian dengan *binding site* ECE-1.

Naringenin ialah salah satu senyawa aktif golongan flavonoid. Efek biologis dan farmakologis

yang berasal dari senyawa ini adalah sifat hepatoprotektif, antiinflamasi, antimutagenik, dan antimikroba⁽²⁶⁾. *Naringenin* memperbaiki hipertensi terkait obesitas dengan mengurangi tekanan darah dan berat badan. Pada penelitian sebelumnya, pengobatan dengan memberikan *naringenin* 50 dan 100 mg/kg pada tikus dapat mengurangi tekanan darah⁽²⁷⁾. *Naringenin* juga mempunyai efek menurunkan tekanan darah, modulasi nitrit oksida dan menjaga terjadinya disfungsi endothelial. *Naringenin* menghasilkan vasodilatasi pembuluh darah dikarenakan terjadinya peningkatan kadar NO dalam plasma. Selain itu juga mekanisme terjadinya vasodilatasi ini disebabkan oleh adanya reduksi ion kalsium intraseluler dengan memblokir saluran kalsium⁽²⁸⁾. *Naringenin* diprediksi menghambat ECE-1 berdasarkan hasil penelitian dengan *binding site* ECE-1.

Penambatan Senyawa Fitokimia *Carica papaya* terhadap Calcium channel

Berdasarkan hasil penelitian senyawa aktif daun pepaya (*Carica papaya*) memiliki afinitas pada protein *calcium channel* yaitu golongan flavonoid *rutin*⁽¹⁶⁾. Penelitian sebelumnya telah menunjukkan bahwa flavonoid memiliki efek vasodilator dan mempengaruhi *calcium channel*. Flavonoid telah diteliti memiliki kemampuan dalam vasodilatasi pembuluh darah dengan mengubah aliran kalsium ke dalam sel otot polos pembuluh darah sehingga dapat membantu mengurangi tekanan darah⁽²⁹⁾. Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa senyawa aktif daun pepaya (*Carica papaya*) diprediksi bekerja mirip dengan Mibefradil dalam menghambat *calcium channel* dengan potensi lebih rendah.

Mibefradil merupakan obat golongan calcium channel blocker yang termasuk jenis non-dihydropyridine. Mibefradil ialah turunan tetralol yang dikembangkan sebagai antagonis calcium channel dengan tegangan tipe T untuk mengobati hipertensi bila digunakan pada dosis nanomolar⁽³⁰⁾. Namun, obat ini tidak boleh digunakan bersamaan dengan terfenadine, cisapride untuk meminimalkan risiko distritmia jantung⁽³¹⁾.

Prediksi Sifat Fisikokimia Senyawa Fitokimia Daun Pepaya

Senyawa aktif daun pepaya (*Carica papaya*) yang memenuhi kriteria *lipinski* yaitu *naringenin*, *kaempferol*, *luteolin*, *myricetin*, *quercetin*, *genistein*, *epicatechin*. Oleh karena senyawa tersebut memenuhi kriteria *lipinski* yang berarti senyawa tersebut memiliki sifat yang larut dalam air dan dapat dengan mudah diserap melalui intestinal. Namun, beberapa senyawa seperti *rutin* dan *carpaine* tidak memenuhi kriteria *lipinski* sehingga tidak menembus membran sel dan tidak mudah diabsorpsi di intestinal.

Suatu ligan ketika melewati membran sel dalam tubuh maka harus memenuhi *lipinski rule* yaitu memiliki berat molekul tidak lebih dari 500Da, nilai logP tidak lebih dari 5, ikatan hidrogen donor

tidak lebih dari 5, ikatan hidrogen akseptor tidak lebih dari 10⁽³²⁾. Kriteria diatas dikenal sebagai hukum lima *lipinski* dikarenakan semua nilainya ialah kelipatan angka lima. Hukum *lipinski* digunakan untuk mengetahui sifat fisikokimia ligan. Sifat fisikokimia ini untuk menentukan suatu ligan bersifat hidrofobik atau hidrofilik melalui membran sel oleh difusi pasif.

Suatu ligan yang mempunyai berat molekul lebih dari 500Da akan lebih mudah menembus membran sel dibandingkan dengan ligan yang mempunyai berat molekul lebih dari 500Da⁽³²⁾. Pelarut non polar, minyak dan polaritas ligan dalam pelarut lemak berkaitan dengan nilai logP. Jika nilai logP melebihi angka lima, maka proses interaksi menjadi lebih memungkinkan untuk menembus lapisan *lipid bilayer* sehingga terjadi distribusi yang merata di dalam tubuh. Hal ini dapat mengakibatkan berkurangnya sensitifitas ikatan ligan terhadap molekul target dan peningkatan potensi toksisitas. Jika didapatkan nilai logP yang semakin kecil maka ligan tersebut akan memiliki kecenderungan larut dalam air dan bersifat hidrofilik⁽³²⁾. Ligan yang mempunyai logP bernilai negatif juga tidak baik karena ligan tersebut tidak dapat melewati membran lipid bilayer⁽³³⁾⁽³⁴⁾. Jumlah ikatan hidrogen akseptor dan donor pada interaksi protein dan ligan menandakan semakin banyak ikatan hidrogen maka semakin tinggi energi yang dibutuhkan untuk proses absorpsi⁽³³⁾.

Prediksi ADMET Senyawa Fitokimia Daun Pepaya

Prediksi farmakokinetik ADMET dilakukan untuk memperkirakan keamanan, bioavailabilitas, dan efek toksik atau karsinogenik pada senyawa aktif. Prediksi farmakokinetik pada **tabel 5** senyawa aktif daun pepaya (*Carica papaya*) yaitu *carpaine*, *naringenin*, *kaempferol*, *luteolin*, *genistein* di intestinal diabsorpsi dengan baik, tidak menembus sawar darah pada otak, dimetabolisme di hepar, diekskresi di ginjal dan tidak bersifat hepatotoksik. Senyawa *rutin*, *quercetin* dan *epicatechin* di intestinal tidak diabsorpsi dengan baik, tidak menembus sawar darah pada otak, tidak dimetabolisme di hepar, diekskresi di ginjal dan tidak bersifat hepatotoksik. *Myricetin* di intestinal tidak diabsorpsi dengan baik, tidak menembus sawar darah pada otak, dimetabolisme di hepar, diekskresi di ginjal dan tidak bersifat hepatotoksik.

Senyawa aktif memiliki nilai absorpsi di intestinal baik jika memiliki nilai absorpsi lebih dari 80%, serta dikatakan kurang baik jika kurang dari 80%. Nilai absorpsi *carpaine*, *naringenin*, *kaempferol*, *luteolin*, *genistein* lebih dari 80% menunjukkan bahwa senyawa tersebut memiliki absorpsi yang baik⁽¹⁰⁾. Suatu senyawa memiliki *Caco2* yang tinggi jika nilai $P_{app} > 8 \times 10^{-6}$ cm/s, atau $P_{app} > 0,90$ pada website *pkCSM*. Nilai permeabilitas dari *Caco2* digunakan untuk

memprediksi penyerapan obat melalui oral secara *in vitro*⁽³⁵⁾.

Volume distribusi yang menunjukkan kebutuhan dosis total obat yang harus didistribusikan secara merata agar mencapai konsentrasi yang setara dengan yang ada dalam plasma darah disebut *Volume Distribusi at Steady State* (VDSS). Jika nilai volume distribusi semakin tinggi, maka semakin banyak obat yang didistribusikan di jaringan daripada plasma. Suatu senyawa memiliki distribusi yang rendah jika nilai $\log V_D < -0.15$ dan tinggi jika $\log V_D > 0.45$. Hasil prediksi *native ligan Mibefradil* pada **tabel 5**, senyawa aktif seperti *rutin*, *carpaine*, *kaempferol*, *luteolin*, *myricetin*, *quercetin*, dan *epicatechin* memiliki nilai VDSS > 0.45 sehingga diprediksi senyawa tersebut dapat didistribusikan secara merata untuk memberikan konsentrasi yang sama seperti pada jaringan. Namun, senyawa aktif *Naringenin*, *genistein*, dan *epicatechin* memiliki nilai VDSS < -0.15 sehingga diprediksi bahwa senyawa tersebut dapat didistribusikan secara merata untuk memberikan konsentrasi yang sama seperti pada plasma darah⁽¹⁰⁾.

Indikator yang penting dipertimbangkan untuk mengurangi toksisitas dan efek samping, serta meningkatkan khasiat obat dimana aktivitasnya terdapat di dalam otak yaitu kemampuan obat untuk menembus *Blood brain barrier* (BBB). Jika suatu senyawa memiliki nilai $\log BB > 0.3$ maka senyawa tersebut mampu menembus BBB dengan baik. Namun jika nilai $\log BB < -1$ maka senyawa tersebut tidak dapat terdistribusi dengan baik ke otak⁽³⁶⁾. Berdasarkan hasil prediksi farmakokinetik senyawa aktif pada **tabel 5**, senyawa *rutin*, *myricetin*, *quercetin* dan *epicatechin* memiliki nilai $\log BB < -1$ sehingga dapat diprediksikan senyawa tersebut tidak dapat terdistribusi dengan baik ke otak.

Sitokrom merupakan protein yang termasuk superfamili yang mengandung heme sebagai kofaktor. Oleh karenanya, sitokrom disebut hemoprotein dan digunakan sebagai substrat dalam reaksi enzimatik⁽³⁷⁾. Sitokrom P450 (CYPs) ialah enzim yang mampu mengkatalisis oksidatif sebagian besar obat dan xenobiotik lipofilik sehingga relevan untuk farmakologis klinis⁽³⁷⁾.

Jumlah obat yang dimetabolisme oleh CYP2D6 sangat besar dibandingkan dengan diekspresi yang relatif kecil di hati dan CYP2D6 mencakup 15-25% dari beberapa obat terapeutik seperti antiaritmia (misalnya propafenone dan mexiletine), β -blocker (misalnya metoprolol). CYP2D6 juga rentan terhadap penghambatan oleh banyak senyawa yang tidak memerlukan substrat tetapi berikatan dengan enzim dengan afinitas tinggi. Hubungan struktur aktivitas untuk substrat dan inhibitor CYP2D6 berguna untuk mengembangkan model farmakofor⁽³⁷⁾.

CYP3A4 ialah sitokrom terbanyak dalam tubuh manusia dikarenakan ekspresi yang besar di

hati. Enzim ini memiliki celah situs aktif dekat dengan ion Fe pada heme. Inhibitor CYP3A4 dapat mengganggu atau mengurangi kemampuan CYP3A4 dalam metabolisme suatu substrat⁽³⁸⁾. Inhibisi CYP3A4 memberikan pengaruh positif dan negatif. Pengaruh positif yaitu jika diperoleh inhibisi CYP3A4 yang diinginkan untuk mengurangi laju metabolisme obat maka dapat meningkatkan efektivitas suatu obat sehingga mengurangi terjadinya resistensi, sedangkan pengaruh negatif terjadi jika CYP3A4 menyebabkan toksisitas atau interaksi obat yang dimetabolisme CYP3A4 seperti penggunaan inhibitor poten CYP2A4 ergotamin yang dapat menimbulkan iskemik perifer dan serebral⁽³⁹⁾.

Jumlah obat yang dikeluarkan dari plasma di kompartemen vaskular per satuan waktu disebut dengan *drug clearance*. *Total clearance* menunjukkan pengeluaran obat dari kompartemen inti tanpa memperhatikan mekanismenya⁽⁴⁰⁾. *Total clearance* ialah kombinasi dari ekskresi melalui ginjal dan metabolisme di hepar. *Total clearance* berhubungan dengan bioavailabilitas untuk menentukan dosis agar mendapat konsentrasi *steady state*⁽⁴¹⁾.

Toksikitas ialah sifat obat yang cukup sulit untuk dilakukan skrining dikarenakan sifatnya yang spesifik ke organ. Toksikitas obat merupakan suatu hal yang sangat penting. Obat yang diinginkan mempunyai indeks terapeutik yang tinggi untuk menimbulkan efek toksik. Toksikitas pada manusia terjadi secara terus menerus dalam uji klinis terhadap kandidat obat selama uji praklinis. Hepatotoksikitas ialah manifestasi utama dari toksikitas obat dan dapat dipengaruhi oleh metabolisme obat. Oleh karena itu skrining toksikitas menggunakan hepatosit merupakan pendekatan penemuan dan pengembangan obat⁽⁴²⁾.

Penanganan penyakit degeneratif akan lebih efektif jika menggunakan obat yang memiliki efek farmakologi lebih dari satu. Terapi menggunakan herbal melibatkan senyawa-senyawa aktif yang bekerja pada beberapa target, yang disebut *multicomponent target*. Interaksi kombinasi bahan aktif dapat terjadi *multicomponent*. Kombinasi ini dapat menunjukkan efek antagonis atau efek sinergis. Interaksi tersebut menyebabkan peningkatan atau penurunan bioavailabilitas obat herbal pada target protein serta meminimalkan dari efek samping yang ditimbulkan⁽⁴³⁾.

Senyawa aktif daun pepaya (*Carica papaya*) seperti *carpaine*, *naringenin*, *luteolin*, dan *genistein* diprediksi memiliki bioavailabilitas baik jika diberikan melalui rute oral. Namun, diperlukan penelitian secara *in vivo* untuk menilai adanya toksikitas dan kemampuan bioaktivitasnya. Menurut Brazil, dkk 2014 membuktikan bahwa senyawa aktif daun pepaya memiliki efek antihipertensi terhadap tikus. Senyawa aktif pepaya seperti golongan flavonoid terbukti memiliki kemampuan untuk

meningkatkan produksi NO pada sel endotel. Dimana peningkatan produksi NO akan menyebabkan vasodilatasi pembuluh darah sehingga hipertensi tidak terjadi.

KESIMPULAN

Berdasarkan analisa data dan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa senyawa aktif daun pepaya (*Carica papaya*) rutin, carpaine dan naringenin telah terbukti memiliki mekanisme antihipertensi melalui penghambatan *Endothelin converting enzyme-1*, sedangkan rutin juga telah terbukti memiliki mekanisme antihipertensi melalui penghambatan *Endothelin converting enzyme-1*.

Saran peneliti mekanisme senyawa aktif sebagai antihipertensi melalui penghambatan *Endothelin converting enzyme-1* dan Calcium Channel dapat dilanjutkan menggunakan penelitian laboratorium secara *in vivo* dikarenakan penelitian *in silico* terbatas pada skrining dan prediksi suatu senyawa aktif tanpa dibuktikan pada hewan coba.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada dosen pembimbing yang telah membimbing dari awal hingga akhir. Fakultas Kedokteran UNISMA dan Ikatan Orang tua Mahasiswa (IOM) yang mendanai penelitian, serta teman tim penelitian yang turut membantu terlaksananya penelitian ini.

REFERENSI

- Yulanda G, Lisiswanti R. Penatalaksanaan Hipertensi Primer. *Majority*. 2017;6(1):25–33.
- Oparil S, Acelajado MC, Bakris GL, Berlowitz DR, Cífková R, Dominiczak AF, et al. Hypertension. *Nat Rev Dis Primers*. 2018 Mar 22;4.
- Enevoldsen FC, Sahana J, Wehland M, Grimm D, Infanger M, Krüger M. Endothelin receptor antagonists: Status quo and future perspectives for targeted therapy. *J Clin Med*. 2020 Mar 1;9(3).
- Akbari P, Khorasani-Zadeh A. Thiazide Diuretics. *StatPearls Publishing*; 2023.
- Astuti A. Tiga Faktor Penggunaan Obat Herbal Hipertensi Di Kota Jambi. *Jurnal Endurance*. 2016 Jun 27;1(2).
- Priyadarshi A, Ram B. A Review On Pharmacognosy, Phytochemistry And Pharmacological Activity Of *Carica Papaya* (Linn.) Leaf. *Int J Pharm Sci Res [Internet]*. 2018;9(10):4071. Available from: <http://dx.doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.9>
- Brasil GA lexandre, Ronchi SN ascimento, do Nascimento AM arques, de Lima EM iranda, Romão W, da Costa HB arcellos, et al. Antihypertensive effect of *Carica papaya* via a reduction in ACE activity and improved baroreflex. *Planta Med*. 2014 Nov 1;80(17):1580–7.
- Pannindriya P, Safithri M, Tarman K. Analisis In Silico Senyawa Aktif Spirulina Platensis Sebagai Inhibitor Tirosinase [Internet]. Vol. 24, *JPHPI*. 2021. 2021. Available from: <http://lmmd>.
- Shafhan Arfi A, Dian Lestari R, Sri Damayanti D. Studi In Silico Senyawa Aktif Rimpang Kunyit (*Curcuma domestica*) Terhadap Penghambatan Acetylcholinesterase, Microtubulin (Beta tubulin), Dan Aktivasi Calcium Channel Sebagai Terapi Antelmintik. 2020 Jul 24 [cited 2023 Aug 16]; Available from: <http://repository.unisma.ac.id/handle/123456789/342>
- Krihariyani D, Sasongkowati R, Haryanto E. Studi In Silico Sifat Farmakokinetik, Toksisitas, Dan Aktivitas Imunomodulator Brazilein Kayu Secang Terhadap Enzim 3-Chymotrypsin-Like Cysteine Protease Coronavirus. *Journal of Indonesian Medical Laboratory and Science*. 2020;1(1):76–90.
- Baranowska-Kuczko M, Kozłowska H, Kloza M, Kusaczuk M, Harasim-Symbor E, Biernacki M, et al. Vasoprotective endothelial effects of chronic cannabidiol treatment and its influence on the endocannabinoid system in rats with primary and secondary hypertension. *Pharmaceuticals*. 2021 Nov 1;14(11):1–29.
- Hariri L, Patel JB. Vasodilators. *StatPearls Publishing*; 2023.
- Tilaqza A, Herbani M. Studi In silico Potensi Anti Hipertensi dan Prediksi Profil Farmakokinetika Daun Jati Belanda (*Guazuma ulmifolia*. Lamk). *Jurnal Kesehatan Islam [Internet]*. 2021;10(2):45–52. Available from: <http://dx.doi.org/10.33474/jki.v10i2.13821>
- 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).

15. Naufa F, Mutiah R, Yen Y, Indrawijaya A. Studi in Silico Potensi Senyawa Katekin Teh Hijau (*Camellia sinensis*) sebagai Antivirus SARS CoV-2 terhadap Spike Glycoprotein (6LZG) dan Main Protease (5R7Y). *Jurnal Of Food and Pharmaceutical Sciences* [Internet]. 2022;10(1):584–96. Available from: www.journal.ugm.ac.id/v3/JFPA
16. Ambarsari L, Sumaryada TI. Simulasi Docking Senyawa Kurkumin dan Analognya Sebagai Inhibitor Reseptor Androgen pada Kanker Prostat. *Current Biochemistry*. 2014;1(1):11–9.
17. Pratama MRF. Comparisons of Affinity between Curcumin-enol and Curcumin-keto towards COX-2. 2016;1–5. Available from: <https://www.researchgate.net/publication/308895801>
18. Setiabudy R. *Farmakologi Dan Terapi*. Edisi 6. Jakarta: Balai Penerbit FKUI; 2019.
19. Katzung BG, Masters SB, Trevor AJ. *Farmakologi Dasar & Klinik*. 12th ed. Vol. 2. Jakarta: EGC; 2014.
20. Oyagbemi AA, Bolaji-Alabi FB, Ajibade TO, Adejumo OA, Ajani OS, Jarikre TA, et al. Novel antihypertensive action of rutin is mediated via inhibition of angiotensin converting enzyme/mineralocorticoid receptor/angiotensin 2 type 1 receptor (ATR1) signaling pathways in uninephrectomized hypertensive rats. *J Food Biochem*. 2020 Dec 1;44(12).
21. Santana LF, Inada AC, Santo BLS do E, Filiú WFO, Pott A, Alves FM, et al. Nutraceutical potential of carica papaya in metabolic syndrome. *Nutrients*. 2019 Jul 1;11(7):1–19.
22. Raju GM, Prasad Goud P, Reddy Nvl S. Antihypertensive Effect Of Rutin: Pharmacological And Computational Approach. *Asian Journal Of Pharmaceutical And Clinical Reserach* [Internet]. 2019;12(8):87–92. Available from: <http://dx.doi.org/10.22159/ajpcr.2019.v12i8.34118>
23. Olaleye MT, Crown OO, Akinmoladun AC, Akindahunsi AA. Rutin and quercetin show greater efficacy than nifedipin in ameliorating hemodynamic, redox, and metabolite imbalances in sodium chloride-induced hypertensive rats. *Hum Exp Toxicol*. 2014;33(6):602–8.
24. Damayanti DS, Iktiarani A. Chorogenic Acid, Dehydrocarpaine I and D1 Alpha Tocopherol from Papaya Leaves (*Papaya Carica*) as an Anti-Inflammatory Candidate That Inhibits TNF Alpha Receptors. 7th ed. Turkey: International Students Science Congress; 2023. 333–341 p.
25. Tambe VS, Waichal DD, Chanshetty RR. Bioactivity Enhanced Isolated Carpaine from *Carica papaya* Leaves for Platelet Stimulating Activity. *Indian J Pharm Sci* [Internet]. 2021;83(4):723–31. Available from: www.ijpsonline.com
26. Oyagbemi AA, Omobowale TO, Adejumo OA, Owolabi AM, Ogunpolu BS, Falayi OO, et al. Antihypertensive power of Naringenin is mediated via attenuation of mineralocorticoid receptor (MCR)/ angiotensin converting enzyme (ACE)/ kidney injury molecule (Kim-1) signaling pathway. *Eur J Pharmacol*. 2020 Aug 5;880:1–13.
27. Liu H, Zhao H, Che J, Yao W. Naringenin Protects against Hypertension by Regulating Lipid Disorder and Oxidative Stress in a Rat Model. *Kidney Blood Press Res*. 2022 Jun 30;47(6):423–32.
28. Ciomărnean L, Milaciu MV, Runcan O, Vesa SC, Răchisan AL, Negrean V, et al. The effects of flavonoids in cardiovascular diseases. *Molecules*. 2020 Sep 1;25(4320):1–18.
29. McCullough ML, Peterson JJ, Patel R, Jacques PF, Shah R, Dwyer JT. Flavonoid intake and cardiovascular disease mortality in a prospective cohort of US adults. *American Journal of Clinical Nutrition*. 2012 Feb 1;95(2):454–64.
30. Souza Bomfim GH, Mitaishvili E, Aguiar TF, Lacruz RS. Mibefradil alters intracellular calcium concentration by activation of phospholipase C and IP3 receptor function. *Molecular Biomedicine*. 2021 Dec 1;2(1):1–13.
31. Brogden RN, Markham A. Mibefradil A Review of its Pharmacodynamic and Pharmacokinetic Properties, and Therapeutic Efficacy in the Management of Hypertension and Angina Pectoris. *Adis Drug Evaluation*. 1997;54(5):774–93.
32. Adriani. Prediksisenyawa Bioaktif Dari Tanaman Sanrego (*Lunasia Amara Blanco*) Sebagai Inhibitor Enzim Siklooksigenase-2 (Cox-2) Melalui Pendekatan Molecular Docking. *Jurnal Ilmiah Pena*. 2018;1(1):6–11.
33. Kilo A La, Aman LO, Sabihi I, Kilo J La. Studi Potensi Pirazolin Tersubstitusi 1-N Dari Tiosemikarbazon Sebagai Agen Antiamuba

- Melalui Uji In Silico. *J Chem Res*. 2019;7(1):9–24.
34. Lipinski CA, Lombardo F, Dominy BW, Feeney PJ. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Adv Drug Deliv Rev* [Internet]. 2001;46:3–26. Available from: www.elsevier.com/locate/drugdeliv
 35. Abdullah SS, Putra PP, Antasionasti I, Rundengan G, Suoth EJ, Abdullah RPI, et al. Analisis Sifat Fisikokimia, Farmakokinetik Dan Toksikologi Pada Pericarpium Pala (*Myristica fragrans*) Secara Artificial Intelligence. *Chemistry Progress*. 2021 Nov 30;14(2):81–92.
 36. Pires DEV, Blundell TL, Ascher DB. pkCSM: Predicting small-molecule pharmacokinetic and toxicity properties using graph-based signatures. *J Med Chem*. 2015 May 14;58(9):4066–72.
 37. Zanger UM, Schwab M. Cytochrome P450 enzymes in drug metabolism: Regulation of gene expression, enzyme activities, and impact of genetic variation. *Pharmacol Ther*. 2013 Apr;138(1):103–41.
 38. Palacio JP del, Díaz C, Vergara N, Algieri F, Rodríguez-Nogales A, de Pedro N, et al. Exploring the role of CYP3A4 mediated drug metabolism in the pharmacological modulation of nitric oxide production. *Front Pharmacol*. 2017 Apr 12;8(202):1–14.
 39. Zhao M, Ma J, Li M, Zhang Y, Jiang B, Zhao X, et al. Cytochrome p450 enzymes and drug metabolism in humans. *Int J Mol Sci*. 2021 Dec 1;22(23):1–16.
 40. Yeni Y, Rachmania RA. The Prediction of Pharmacokinetic Properties of Compounds in *Hemigraphis alternata* (Burm.F.) T. Ander Leaves Using pkCSM. *Indonesian Journal of Chemistry*. 2022;22(4):1081–9.
 41. Hariz MF. Uji Sitotoksik, Toksisitas Dan Prediksi Sifat Fisikokimia Senyawa Isoliquiritigenin Dan Oxyresveratrol Terhadap Reseptor B-Cell Lymphoma 2 (4AQ3) Dan Vascular Endothelial Growth Factor Receptor-2 (2RL5) Sebagai Terapi Kanker Serviks Secara In Silico. 2019.
 42. De La Nuez A, Rodríguez R. Current methodology for the assessment of ADME-Tox properties on drug candidate molecules. *Biotechnología Aplicada* [Internet]. 2008;25(2):97–110. Available from: <https://www.researchgate.net/publication/255643022>
 43. Syahrir NHA, Afendi FM, Susetyo B. Efek Sinergis Bahan Aktif Tanaman Obat Berbasis Jejaring Dengan Protein Target. *Jurnal Jamu Indonesia*. 2016;1(1):35–46.