

BIJI KACANG TUNGGAK (*vigna unguiculata*) DAPAT MENCEGAH DISLIPIDEMIA MELALUI AKTIVASI *SCAVENGER RECEPTOR β 1* (SR- β 1) dan LIPOPROTEIN RECEPTOR-RELATED PROTEINS (LRP1): STUDI IN SILICO

Fairuz Nazihah, Dicky Kurniawan Tontowiputro, Dini Sri Damayanti*

Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

ABSTRAK

Pendahuluan: Biji kacang tunggak (*Vigna unguiculata*) mengandung sejumlah senyawa aktif yang dapat berpotensi sebagai agen anti dislipidemia. Namun, mekanisme aksi khususnya pada protein *scavenger receptor β 1* (SR- β 1) dan *lipoprotein receptor-related proteins1* (LRP1) masih belum sepenuhnya dipahami. Oleh karena itu, diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengungkap mekanisme interaksi pada tingkat protein SR- β 1 dan LRP1 agar dapat lebih memahami peran biji kacang tunggak sebagai agen potensial dalam mengatasi dislipidemia.

Metode: Penelitian ini menggunakan pendekatan komputasi dengan menerapkan *metode molecular docking (in silico)* antara protein target dan senyawa aktif serta kontrol, dengan memanfaatkan alat bantu *Autodock Vina*. Evaluasi afinitas senyawa aktif terhadap protein target dilakukan melalui perbandingan energi ikatan bebas dan kemiripan ikatan residu asam amino dengan kontrol, dan hasilnya divisualisasikan menggunakan *Biovia Drug Discovery Studio*. Selain itu, prediksi nilai fisikokimia, farmakokinetika, dan toksisitas dilakukan dengan memanfaatkan *Predicting Small-Molecule Pharmacokinetic and Toxicity (PKCSM)*.

Hasil: Senyawa aktif biji kacang tunggak yang memiliki afinitas tinggi pada SR- β 1 antara lain: *daidzin* dengan residu asam amino 60% (ΔG -7 kkal/mol), *myricetin* dengan 70% (ΔG -6.9 kkal/mol), dan *genistein* dengan 70% (ΔG -6.7 kkal/mol). Senyawa aktif biji kacang tunggak yang memiliki afinitas tinggi pada LRP1 adalah: *anthosianin* dengan residu asam amino 18% (ΔG -8 kkal/mol), dan *linoleic acid* dengan 18% (ΔG -7 kkal/mol). Hasil *pkcsm* menunjukkan bahwa seluruh senyawa aktif tidak bersifat hepatotoksik kecuali *linoleic acid*. Hal ini menunjukkan bahwa biji kacang tunggak dapat menjadi anti dislipidemia.

Kesimpulan: Senyawa aktif biji kacang tunggak diprediksi mempunyai potensi yang lebih baik sebagai anti dislipidemia melalui mekanisme aktivasi SR- β 1 dibandingkan dengan aktivasi LRP1.

Kata Kunci : anti dislipidemia; *Vigna unguiculata*; *in silico*.

*Korespondens:

Dini Sri Damayanti (dinisridamayanti@unisma.ac.id)

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

COWPEA SEED (*vigna unguiculata*) TO PREVENT DYSLIPIDEMIA THROUGH ACTIVATION OF SCAVENGER RECEPTOR β 1 (SR- β 1) and LIPOPROTEIN RECEPTOR-RELATED PROTEINS (LRP1): STUDY IN SILICO

Fairuz Nazihah, Dicky Kurniawan Tontowiputro, Dini Sri Damayanti*

Faculty of Medicine University of Islam Malang

ABSTRACT

Introduction: Cowpea seeds (*Vigna unguiculata*) contain various active compounds that have the potential to act as anti-dyslipidemia agents. However, the specific mechanisms, particularly involving the scavenger receptor β 1 (SR- β 1) and lipoprotein receptor-related proteins1 (LRP1) proteins, are not yet fully understood. Therefore, further research is needed to uncover the interaction mechanisms at the level of SR- β 1 and LRP1 proteins, aiming to better comprehend the role of cowpea seeds as potential agents in addressing dyslipidemia.

Method: This study adopts a computational approach by employing the molecular docking method (*in silico*) between the target protein and active compounds, as well as controls, utilizing the Autodock Vina tool. The assessment of the active compound's affinity for the target protein is conducted through comparing free binding energy and amino acid residue binding similarity with the control, visualized using Biovia Drug Discovery Studio. Furthermore, predictions of physicochemical properties, pharmacokinetics, and toxicity are made using the Predicting Small-Molecule Pharmacokinetic and Toxicity (PKCSM) tool.

Results: Active compounds in cowpea seeds that have high affinity for SR- β 1 include: *daidzin* with 60% amino acid residue (ΔG -7 kkal/mol), *myricetin* with 70% (ΔG -6.9 kkal/mol), and *genistein* with 70% (ΔG -6.7 kkal/mol). The active compounds in cowpea seeds that have high affinity for LRP1 are: *anthocyanin* with 18% amino acid residue (ΔG -8 kkal/mol), and *linoleic acid* with 18% (ΔG -7 kkal/mol). The PKCSM results showed that all active compounds were not hepatotoxic except *linoleic acid*. This shows that cowpea seeds can be antidyplipidemic.

Conclusion: The active compounds of cowpea seeds are predicted to have better potency as an anti dyslipidemia through mechanism of SR- β 1 activation than LRP1 activation.

Keywords: *anti dyslipidemia*; *Vigna unguiculata*; *in silico*.

*Correspondence:

Dini Sri Damayanti (dinisridamayanti@unisma.ac.id)

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

PENDAHULUAN

Dislipidemia merupakan kelainan dalam metabolisme lipid yang ditandai oleh peningkatan kadar kolesterol, trigliserida, *low density lipoprotein* (LDL), dan penurunan kadar *high density lipoprotein* (HDL) dalam peredaran darah. Situasi ini umumnya terjadi di negara-negara yang sudah maju maupun yang sedang berkembang, dan di Indonesia, tingkat insiden dislipidemia masih relatif tinggi. Berdasarkan temuan dari Riset Kesehatan Dasar Nasional (RISKESDAS) tahun 2018, sekitar 28.8% dari populasi Indonesia yang berusia 15 tahun ke atas mengalami dislipidemia. Selain itu, dislipidemia juga diakui sebagai salah satu faktor utama pemicu penyakit jantung koroner.

Masyarakat Pulau Jawa meyakini bahwa mengonsumsi kacang tunggak atau yang dikenal sebagai kacang tolo dapat mengurangi risiko terkena penyakit jantung dan gangguan pada pembuluh darah. Kacang tunggak (*Vigna unguiculata*) mengandung beberapa senyawa aktif, diantaranya *isoflavin* yaitu *daidzin*, *glycitin*, *genistin*, *daidzein*, *glycitein*, *genistein*, serta *flavonoid* berupa *quercetin*, *kaempferol* dan *isorhamnetin*. Dalam setiap 100 gram kacang tunggak, terdapat kandungan nutrisi seperti protein sebanyak 24,4g, karbohidrat sebanyak 56,6g, lemak sebanyak 1,9g, kalsium sebanyak 481mg, fosfor sebanyak 399mg, kalsium sebanyak 481mg, dan asam fitat sebanyak 2,68g.⁸ Telah banyak penelitian tentang manfaat kacang tunggak, seperti penelitian secara *in vivo* dengan hewan coba tikus yang diberi diet lemak yang mengandung bubuk kacang tunggak, di dapatkan hasil berupa efek hipokolesterolemia. Pengujian efek antioksidan yang sukses dapat dicapai melalui berbagai model seperti peroksidasi asam linoleat, uji *FRAP*, *ORAC*, dan *TRAP*, serta kegiatan penangkapan radikal DPPH, hidroksil, nitrat oksida, dan superoksida. Kacang tunggak termasuk dalam varietas kacang yang memiliki kandungan protein tinggi, dan selain itu, harganya juga terjangkau.¹⁰

Dengan merujuk kepada data yang telah dipresentasikan, tujuan utama dari penelitian ini adalah untuk menginvestigasi mekanisme senyawa aktif yang terdapat dalam biji kacang tunggak dalam pencegahan dislipidemia. Pendekatan yang digunakan adalah melalui aktivasi *scavenger receptor β 1* (*SR- β 1*) dan *lipoprotein receptor-related proteins 1* (*LRP1*) secara *in silico* menggunakan teknik *molecular docking*. Selain itu, Pendekatan *in silico* yang diterapkan dalam penelitian ini juga memiliki kemampuan untuk memprediksi kelarutan, farmakokinetika, dan toksisitas senyawa aktif yang terdapat dalam biji kacang tunggak, menggunakan alat *Predicting Small-Molecule Pharmacokinetic and Toxicity* (PKCSM). Informasi ini dapat menjadi dasar referensi untuk penelitian lanjutan, baik melalui pendekatan *in vitro* maupun *in vivo*.

METODE PENELITIAN

Desain dan Waktu Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode komputasi (*in silico*) *molecular docking* dengan penambatan senyawa aktif herbal kacang tunggak (*Vigna unguiculata*) terhadap *scavenger receptor β 1* (*SR- β 1*) dan *lipoprotein receptor-related proteins1* (*LRP1*) sebagai anti dislipidemia, dengan *alfa tokoferol* dan *sp 16 peptide* sebagai obat kontrol. Dalam penelitian ini, PKCSM digunakan untuk meramalkan parameter fisikokimia, farmakokinetika, dan toksisitas dari senyawa aktif yang terdapat dalam kacang tunggak. Studi dilakukan di Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang selama periode 2 minggu pada bulan Agustus tahun 2022.

Alat

Penelitian ini melibatkan penggunaan perangkat komputer dengan konfigurasi RAM 4.00 GB, prosesor Intel ® Core™ i5, CPU @ 2.50GHz 2.71 GHz, dan sistem operasi Microsoft Windows 10 Pro 64-bit, serta memastikan ketersediaan koneksi internet yang stabil. Pemanfaatan perangkat lunak dilakukan secara daring melalui docking server yang dapat diakses di <http://www.dockingserver.com> dan menggunakan aplikasi pkCSM yang tersedia di <http://www.biosig.unimelb.edu.au/pkcsml>.

Bahan

Struktur 3D senyawa aktif biji kacang tunggak yang terdiri dari *daidzein*, *daidzin*, *genistein*, *genistin*, *glycitein*, *glycitin*, *isorhamnetin*, *kaempferol*, *quercetin*, *anthosianin*, *cafeic acid*, *cinamic acid*, *cycloartenol*, *ferulic acid*, *linoleic acid*, *myricetin*, *protocatechuic acid*, *sigmasterol*, dan *caumaric acid* didapatkan dari PubChem. Penentuan senyawa aktif berdasarkan hasil identifikasi senyawa aktif yang telah dilakukan sebelumnya dalam penelitian pendahuluan dan dari studi literatur. Struktur protein target *SR- β 1* (kode: 2W4F) dan *LRP1* (kode: 4A0P) yang digunakan didapatkan dari *protein data bank*.

Uji Penambatan Molekul Senyawa Aktif Biji Kacang Tunggak Terhadap *SR- β 1* dan *LRP1*

Untuk melakukan uji penambatan molekul senyawa aktif biji kacang tunggak terhadap *SR- β 1* dan *LRP1*, pertama-tama preparasi protein target dan ligan senyawa dengan cara menghilangkan molekul air dan ligan sekaligus mengubah muatan menjadi polar. Setelah itu validasi menggunakan *root mean square deviation* (RMSD), dikatakan valid atau tidak ada penyimpangan jika nilai *RMSD* $\leq 2\text{\AA}$ pada **tabel 1**. Selanjutnya tentukan *gridbox* pada **tabel 2** antara protein dan ligan yang akan ditambatkan. Protein dan ligan disimpan dengan format *pdqt*. Penambatan menggunakan *command prompt* dan visualisasikan dengan *Biovia Studio* dalam bentuk 3D. Terakhir, Penelitian ini melibatkan penggunaan *Predicting Small-Molecule Pharmacokinetic and Toxicity* (PKCSM) untuk meramalkan nilai fisikokimia, farmakokinetika, dan toksisitas dari senyawa aktif yang terdapat dalam kacang tunggak.

Pemilihan senyawa terbaik diurutkan berdasarkan nilai persentase kesamaan residu asam amino kemudian energi bebas (ΔG).¹⁵ Dikatakan memiliki hasil yang baik pada *scavenger receptor $\beta 1$* (*SR- $\beta 1$*) dan *lipoprotein receptor-related proteins* (*LRP1*) jika jumlah kesamaan posisi ikatan terhadap residu asam amino yang sama dengan kontrol dan nilai ΔG kecil akan menunjukkan afinitas yang tinggi.

Tabel 1 Root Mean Square Deviation (RMSD) Pada Obat Kontrol *alfa tokoferol* dan *sp 16 peptide*

Nilai RMSD kontrol obat	Alfa Tokoferol	SP16 Peptide
	0	0
	0	0
	0.2	0.7
	0.2	0.7
	0.4	0.7
	0.4	0.7
	1.6	1
	1.6	1
	1.6	1.8
	1.6	1.8
Rata – rata	0.76	0.84

Keterangan: Dari data hasil RMSD yang didapatkan, menunjukan bahwa nilai obat kontrol *alfa tokoferol* dan *sp 16 peptide* kurang dari 2Å sehingga dapat digunakan (*valid*) sebagai obat kontrol terhadap senyawa aktif yang akan didocking pada protein target.

Tabel 2 Grid Box Protein Target *SR- $\beta 1$* (Kode: 2W4F) dan *LRP1* (Kode: 4A0P)

2W4F					
Size x (nx)	Size y (ny)	Size z (nz)	Center x (cx)	Center y (cy)	Center z (cz)
126	126	126	-6.974	5.788	-4.839

4A0P					
Size x (nx)	Size y (ny)	Size z (nz)	Center x (cx)	Center y (cy)	Center z (cz)
126	126	126	30.152	31.571	17.043

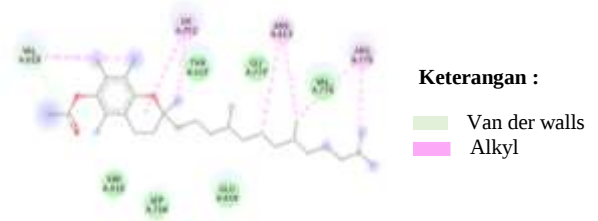
Keterangan: Pengaturan *grid box* digunakan untuk menentukan penempatan posisi *active side ligand* secara spesifik. Ukuran *grid box* menyesuaikan dengan *size x (nx)*, *size y (ny)*, *size z (nz)*, *center z (cz)*, *center y (cy)*, dan *center z (cz)*.

HASIL PENELITIAN

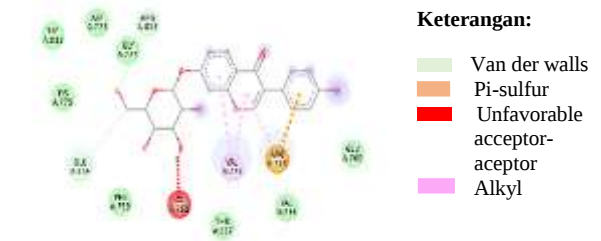
Hasil Visualisasi 2D Afinitas Senyawa Aktif Biji Kacang Tunggak Dengan Protein *SR- $\beta 1$*

Visualisasi 2D senyawa aktif biji kacang tunggak terhadap protein *SR- $\beta 1$* didapatkan 3 senyawa terbaik berdasarkan **tabel 3**, sebagai berikut:

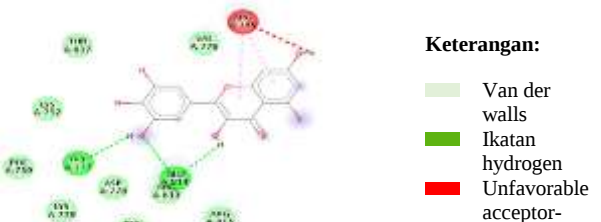
A.



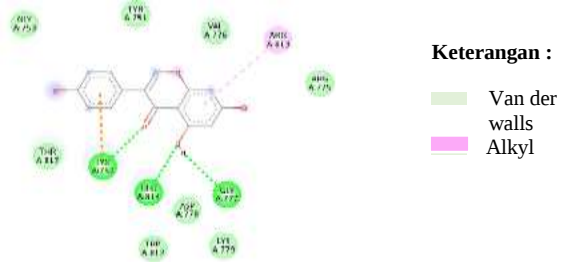
B.



C.



D.



Gambar 1. Hasil Visualisasi Senyawa Terbaik terhadap Protein *SR- $\beta 1$*

Keterangan: gambar interaksi *alfa tokoferol* (A), *daidzin* (B), *myricetin* (C), dan *genistein* (D) dengan *SR- $\beta 1$* .

Afinitas Senyawa Aktif Biji Kacang Tunggak Terhadap Protein *SR- $\beta 1$*

Hasil penambatan antara senyawa aktif biji kacang tunggak terhadap protein *SR- $\beta 1$* dapat dilihat dalam **tabel 3** di bawah ini. Obat kontrol yang digunakan adalah *alfa tokoferol*.

Hasil penambatan obat kontrol *alfa tokoferol* dengan protein target *SR- $\beta 1$* pada senyawa aktif biji kacang tunggak (*Vigna unguiculata*) didapatkan nilai energi ikatan bebas ΔG -5 kkal/mol, dan residu asam amino yang terbentuk berjumlah 10 yaitu: ASP754, GLU814, GLY777, THR817, VAL776, LYS752, ARG813, ARG775.

Dari **tabel 3** dapat dilihat bahwa senyawa aktif terbaik adalah *daidzin*, *myricetin*, dan *genistein*. Dengan nilai ΔG sebesar (-7 kkal/mol vs -5 kkal/mol), (-6.9 kkal/mol vs -5 kkal/mol), dan (-6.7 kkal/mol vs -5 kkal/mol) serta kesamaan ikatan residu sebesar

masing masing 60%, 70%, dan 70% dibandingkan dengan kontrol.

Tabel 3 Hasil Penambatan Antara Senyawa Aktif Biji Kacang Tunggak Terhadap Protein *SR-B1*

Ligan	Energi ikatan bebas (kkal/mol)	Residu Asam Amino	Kesamaan Residu Asam Amino (%)	keterangan
Alfa Tokoferol	-5	Vdn: VAL819, SER818, ASP754, GLU814 Hydrogen: GLY777, THR817, VAL776 Alkyl: LYS752, ARG813, ARG775	100	Obat kontrol
Daidzin	-7	Vdn: TRP812, ASP778, GLY777, LYS779, PHE759, THR817, VAL763, GLU765 Akyl: Val776 Hydrogen: GLU814, ARG775 Pi cation: LYS752	60	Berikatan dan melekat pada active side, memiliki kesamaan residu asam amino yang kuat terhadap obat kontrol
Genistin	-7	Vdn: ALA637, PRO639, LEU571, TRP566, GLY516, GLY493, HIS643, SER642 Hydrogen: HIS591, THR641, VAL644, GLU569 Alkyl: ARG495, ALA514, LYS494	0	Berikatan dan melekat pada active side, tidak memiliki kesamaan terhadap obat kontrol
Glycitin	-7	Vdn: TRP566, ARG495, ALA514, GLY516, GLY493, HIS643, VAL644, SER642, THR641 Hydrogen: PRO639, GLU569, SER492 Alkyl: LYS494	0	Berikatan dan melekat pada active side, tidak memiliki kesamaan terhadap obat kontrol
Isorhamnetin	-6.9	Vdn: LEU440, ILE416, ASP360, ARG458, PRO331, VAL333, SER329 Hydrogen: ARG357, GLU332 Alkyl: VAL460, PRO438, CYS358	0	Berikatan dan melekat pada active side, tidak memiliki kesamaan terhadap obat kontrol
Kaempferol	-6.9	Vdn: ALA475, SER462, PRO331, ARG357, ALA330, SER329, GLU332, THR335, VAL333, ASP360, ARG412 Hydrogen: ILE474, ARG458, CYS358, ALA328 Alkyl: VAL460, ARG476	0	Berikatan dan melekat pada active side, tidak memiliki kesamaan terhadap obat kontrol
Isorhamnetin	-6.9	Vdn: LEU440, ILE416, ASP360, ARG458, PRO331, VAL333, SER329 Hydrogen: ARG357, GLU332 Alkyl: VAL460, PRO438, CYS358	0	Berikatan dan melekat pada active side, tidak memiliki kesamaan terhadap obat kontrol
Kaempferol	-6.9	Vdn: ALA475, SER462, PRO331, ARG357, ALA330, SER329, GLU332, THR335, VAL333, ASP360, ARG412 Hydrogen: ILE474, ARG458, CYS358, ALA328 Alkyl: VAL460, ARG476	0	Berikatan dan melekat pada active side, tidak memiliki kesamaan terhadap obat kontrol
Myricetin	-6.9	Vdn: THR817, VAL776, LYS752, ARG813, ASP778, PHE759, LYS779, ARG815 Hidrogen: GLY777, GLU814 Alkyl: ARG775	70	Berikatan dan melekat pada active side, memiliki kesamaan residu asam amino yang kuat terhadap obat kontrol
Genistein	-6.7	Vdn: GLY753, TYR751, VAL776, ARG775, THR817 Hydrogen: LYS752, GLU814, GLY777 Akyl: ARG813	70	Berikatan dan melekat pada active side, memiliki kesamaan residu asam amino yang kuat terhadap obat kontrol
Quercetin	-6.7	Vdn: ARG434, ASN439, LEU440, ILE416, THR459, VAL460, ARG458, ARG357, CYS338, ASP360, LEU436 Hydrogen: ASP651, TRP461, VAL435 Alkyl: THR437, VAL650, PRO438	0	Berikatan dan melekat pada active side, tidak memiliki kesamaan terhadap obat kontrol
Stigmasterol	-6.3	Vdn: GLU726, THR817, ASP775 Hidrogen: ASP754 Alkyl: LEU781, LYS779, TRP812	20	Berikatan dan melekat pada active side, memiliki kesamaan residu asam amino yang lemah terhadap obat kontrol
Daidzein	-6.3	Vdn: TYR751, GLY777, ARG813, THR817 Hydrogen: GLU814 Pi cation: LYS752	50	Berikatan dan melekat pada active side, memiliki kesamaan residu asam amino yang lemah terhadap obat kontrol
Glycitein	-6	Vdn: THR162, PRO163, TYR166, SER447, PRO446, ALA402, HIS449 Hydrogen: ARG167 Alkyl: PRO445	0	Berikatan dan melekat pada active side, tidak memiliki kesamaan terhadap obat kontrol
Anthosianin	-4.9	Vdn: THR817, GLY777, ARG775, ARG813 Hydrogen: VAL776, GLU814, ASP778	60	Berikatan dan melekat pada active side, memiliki kesamaan residu asam amino yang lemah terhadap obat kontrol
Caumaric acid	-4.7	Vdn: GLY777, ARG813, ASP778 Hidrogen: GLU814, VAL776 Alkyl: ARG775	40	Berikatan dan melekat pada active side, memiliki kesamaan residu asam amino yang lemah terhadap obat kontrol
Ferulic acid	-4.7	Vdn: ARG775, GLY777, THR817, ARG813 Hydrogen: GLY775	40	Berikatan dan melekat pada active side, memiliki kesamaan residu asam amino yang lemah terhadap obat kontrol

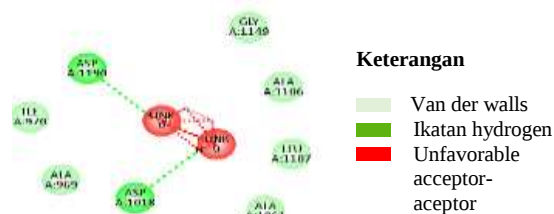
Protocatechuic acid	-4.4	Vdn: ARG773, ARG762, LEU738 Hidrogen: SER741 Alkyl: LEU800, VAL797	0	Berikatan dan melekat pada active side, tidak memiliki kesamaan terhadap obat kontrol
Cafeic acid	-4.3	Vdn: ALA770 , ARG771 Hydrogen: ARG775 , GLU765	20	Berikatan dan melekat pada active side, memiliki kesamaan residu asam amino yang lemah terhadap obat kontrol
Linoleic acid	-4	Vdn: ARG775 , ALA770 , GLU765 Hidrogen: VAL774 Alkyl: VAL776 , VAL763	30	Berikatan dan melekat pada active side, memiliki kesamaan residu asam amino yang lemah terhadap obat kontrol
Cinamic acid	-3.8	Vdn: ARG775 , ARG771 Hydrogen: ALA770 , GLY773, GLU765	20	Berikatan dan melekat pada active side, memiliki kesamaan residu asam amino yang lemah terhadap obat kontrol
Cycloartenol	-3.4	Vdn: ARG775 Hydrogen: ALA770 , VAL763	20	Berikatan dan melekat pada active side, memiliki kesamaan residu asam amino yang lemah terhadap obat kontrol

Keterangan: Hasil docking molekuler senyawa aktif dari biji kacang tunggak terhadap *SR-β1* menunjukkan bahwa residu asam amino senyawa aktif (ditunjukkan dalam teks tebal) dianggap sebagai situs aktif pada protein target, sebagaimana halnya dengan residu asam amino pada kontrol obat.

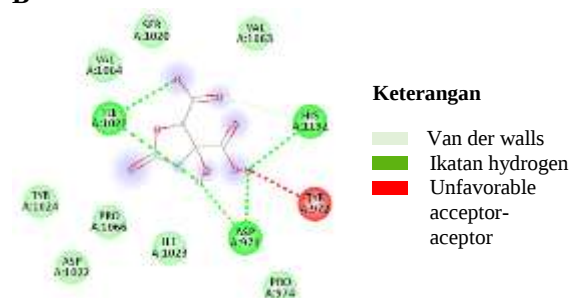
Hasil Visualisasi 2D Afinitas Senyawa Aktif Biji Kacang Tunggak Dengan Protein *LRP1*

Visualisasi 2D senyawa aktif biji kacang tunggak terhadap protein *LRP1* didapatkan 2 senyawa terbaik berdasarkan **tabel 4**, sebagai berikut:

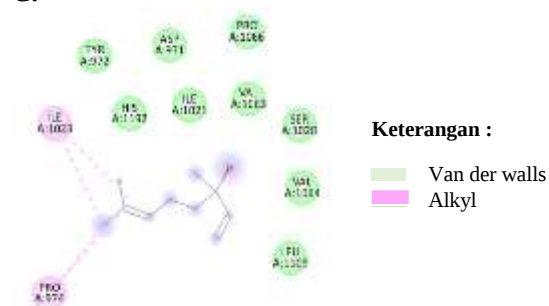
A.



B



C.



Gambar 2. Hasil Visualisasi Senyawa Terbaik Terhadap Protein *LRP1*

Keterangan: gambar interaksi *sp 16 peptide* (A), *anthosianin* (B), dan *linoleic acid* (C) dengan *LRP1*.

Afinitas Senyawa Aktif Biji Kacang Tunggak Terhadap Protein *LRP1*

Hasil penambatan antara senyawa aktif biji kacang tunggak terhadap protein *LRP1* dapat dilihat dalam **tabel 4** di bawah ini. Obat kontrol yang digunakan adalah *sp 16 peptide*.

Hasil penambatan obat kontrol *SP 16 peptide* dengan protein target *LRP1* pada senyawa aktif biji kacang tunggak (*Vigna unguiculata*) didapatkan nilai energi ikatan bebas ΔG -3,2 kkal/mol, dan residu asam amino yang terbentuk berjumlah 11, yaitu: GLY1149, ALA1106, LEU1107, ALA1061, VAL1063, VAL1062, VAL1064, ILE970, ALA969, ASP1190, ASP1018.

Dari **tabel 4** dapat dilihat bahwa senyawa aktif terbaik adalah *anthosianin* dan *linoleic acid*. Dengan nilai energi ikatan bebas (ΔG -6.1 kkal/mol vs ΔG 3.2 kkal/mol) dan (ΔG -4.7 kkal/mol vs ΔG 3.2 kkal/mol) serta mempunyai kesamaan ikatan residu asam amino sebesar 18% dibandingkan dengan kontrol

Tabel 4 Hasil Penambatan Antara Senyawa Aktif Biji Kacang Tunggak Terhadap Protein *LRP1*

Ligan	Energi ikatan bebas (kkal/mol)	Residu Asam Amino	Kesamaan Residu Asam Amino (%)	Keterangan
SP 16 peptide	-3.2	Vdn: GLY1149, ALA1106, LEU1107, ALA1061, VAL1063 , VAL1062, VAL1064 , ILE970, ALA969 Hidrogen: ASP1190, ASP1018	100	Obat kontrol
Isorhamnetin	-9.7	Vdn: GLY325, PHE311, HIS274, TYR322, TRP306, VAL275, HIS307, GLN276 Akyl: GLY323, ASN277	0	Berikatan dan melekat pada active side, tidak memiliki kesamaan terhadap obat kontrol
Myricetin	-9.5	Vdn: LEU113, LEU1109, VAL1063 , ILE1023, PRO974, TYR1024, ASP1110 Hidrogen: SER1111, ILE1021, VAL1064, SER1020, TYR972, ASP971, LYS1195 Alkyl: ARG1112, GLU1067	9	Berikatan dan melekat pada active side, memiliki kesamaan residu asam amino yang lemah terhadap obat kontrol
Glycitin	-9.1	Vdn : ALA324, THR356, ASN358, VAL361, TYR326, LEU355, LEU360, ALA312, LEU315, GLY313, PHE321 Alkyl: PHE319, ARG316, ILE314	0	Berikatan dan melekat pada active side, tidak memiliki kesamaan terhadap obat kontrol
Genistin	-8.8	Vdn: ALA399, ALA262, GLU260, ILE452, VAL246, SER448, ASN247, LEU248, ASN249, ALA266, TRP267 Akyl: LEU263, TRP380,	0	Berikatan dan melekat pada active side, tidak memiliki kesamaan terhadap obat kontrol
Daidzein	-8.6	Vdn: PRO375, ILE405, GLU406, GLY370, ASN476 Hydrogen: THR407, MET372, MET371 Akyl: LEU373, LEU404,	0	Berikatan dan melekat pada active side, tidak memiliki kesamaan terhadap obat kontrol
Quercetin	-8	Vdn: MET372, MET371, MET478, ILE456, THR407, ILE420, ILE405, GLU406 Hydrogen: MET424, CYS426 Akyl: LEU404, ILE425, LEU373	0	Berikatan dan melekat pada active side, tidak memiliki kesamaan terhadap obat kontrol
Genistein	-7.6	Vdn: ALA324, GLY325, GLY323, PHE321, TYR322, TRP306, VAL275, HIS274, PHE311 Hydrogen: ASN277, GLN276	0	Berikatan dan melekat pada active side, tidak memiliki kesamaan terhadap obat kontrol
Daidzin	-7.2	Vdn: ILE452, SER448, ASN249, LEU248, ALA262, ALA399, GLU260, TRP267 Hydrogen: ASN451, ASN247, TRP453, SER261 Akyl: LEU263, ALA266, TRP380	0	Berikatan dan melekat pada active side, tidak memiliki kesamaan terhadap obat kontrol
Kaempferol	-7.1	Vdn: ALA324, GLY323, GLY325, PHE311, TYR322, ASN277, HIS274, GLN276, VAL275, HIS307, TRP306 Akyl: THR309	0	Berikatan dan melekat pada active side, tidak memiliki kesamaan terhadap obat kontrol
Sigmasterol	-6.9	Vdn: ASN1211, ASP1044, TYR980, SER1215, ARG1046, ARG1042 Hidrogen: ASP976, LYS991 Alkyl: LEU1043, ARG1026	0	Berikatan dan melekat pada active side, tidak memiliki kesamaan terhadap obat kontrol
Glycitein	-6.7	Vdn: VAL298, SER333, ILE332, ASN303, TYR337 Hydrogen: VAL331, SER339, GLU299	0	Berikatan dan melekat pada active side, tidak memiliki kesamaan terhadap obat kontrol
Protocatechuic acid	-6.7	Vdn: ALA754, TRP714, THR797, LEU880 Hidrogen: LEU775, TYR800, ASP668 Alkyl: VAL712, ARG886	0	Berikatan dan melekat pada active side, tidak memiliki kesamaan terhadap obat kontrol
Ferulic acid	-6.3	Vdn: ALA711, GLY709, ARG751, ASN794, PHE836	0	Berikatan dan melekat pada active side, tidak memiliki kesamaan terhadap obat kontrol
Anthosianin	-6.1	Vdn: VAL1064 , SER1020, VAL1063 , ILE1023, ASP1022, TYR1024 Hidrogen: ILE1021, ASP971, HIS1192	18	Berikatan dan melekat pada active side, memiliki kesamaan residu asam amino yang kuat terhadap obat kontrol
Cafeic Acid	-6	Vdn: VAL1152, ASP1110, LEU1109, HIS1192, ARG1112, PRO974, ILE1023, VAL1064 Akyl: SER1111, ILE1021, ASP971, TYR972	9	Berikatan dan melekat pada active side, memiliki kesamaan residu asam amino yang lemah terhadap obat kontrol
Caumaric Acid	-5.9	Vdn: ASN1211, ASP1044, TYR980, SER1215, ARG1046, ARG1042 Hidrogen: ASP976, LYS991 Alkyl: LEU1043, ARG1026	0	Berikatan dan melekat pada active side, tidak memiliki kesamaan terhadap obat kontrol
Cinamic acid	-5.7	Vdn: ASN1065, VAL1063 , HIS1192, SER1111, GLU1067, ASP1022 Hidrogen: SER1020 Akyl: SLEU1109, ILE1023, PRO1066, TYR1024, 1066	9	Berikatan dan melekat pada active side, memiliki kesamaan residu asam amino yang lemah terhadap obat kontrol
Linoleic acid	-4.7	Vdn: TYR872, HIS1192, ILE1021, VAL1063 , VAL1064 , LEU1109 Alkyl: PRO974, ILE1023	18	Berikatan dan melekat pada active side, memiliki kesamaan residu asam amino yang kuat terhadap obat kontrol
Cycloartenol	-4.3	Vdn: VAL1194, ILE1023, PRO974 Hidrogen: HIS1192 Alkyl: PRO974, ILE1023, VAL1194	0	Berikatan dan melekat pada active side, tidak memiliki kesamaan terhadap obat kontrol
Histidin	TIDAK BERIKATAN	TIDAK BERIKATAN	0	Berikatan dan melekat pada active side, tidak memiliki kesamaan terhadap obat kontrol

Keterangan: Hasil docking molekuler senyawa aktif dari biji kacang tunggak terhadap LRP1 menunjukkan bahwa residu asam amino senyawa aktif (ditebalkan) dianggap sebagai situs aktif pada protein target, mirip dengan residu asam amino pada obat kontrol.

Tabel 5 Hasil Prediksi Fisikokimia Senyawa Biji Kacang Tunggak (*Vigna unguiculata*) 5 Rules of Lipinski

Senyawa	CID	Rumus Kimia	Parameter Lipinski's Rule Of Five				Kesimpulan
			Berat Molekul (≤500)	Log P ≤5	HBA ≤10	HBD ≤5	
Genistein	5280961	<chem>C1=CC(=CC=C1C2=COC3=CC(=CC(=C3C2=O)O)O)O</chem>	270.24	2.5768	5	3	Kelarutan bersifat baik
Daidzein	5281708	<chem>C1=CC(=CC=C1C2=COC3=C(C2=O)C=CC(=C3)O)O</chem>	254.241	2.8712	4	2	Kelarutan bersifat baik
Anthosianin	145858	<chem>C1=CC=C(C=C1)C2=[O+]C3=CC=CC=C3C=C2</chem>	207.252	4.3809	0	0	Kelarutan bersifat baik
Caumaric acid	637542	<chem>C1=CC(=CC=C1/C=C/C(=O)O)O</chem>	164.16	1.49	2	2	Kelarutan bersifat baik
Ferulic acid	445858	<chem>COC1=C(C=CC(=C1)/C=C/C(=O)O)O</chem>	194.186	1.4986	3	2	Kelarutan bersifat baik
Cinamic acid	5372020	<chem>C1=CC=C(C=C1)/C=C/C(=O)O)/SSCCN</chem>	255.364	2.4522	4	2	Kelarutan bersifat baik
Cafeic acid	689043	<chem>C1=CC(=C(C=C1/C=C/C(=O)O)O)O</chem>	180.159	1.1956	3	3	Kelarutan bersifat baik
Daidzin	107971	<chem>C1=CC(=CC=C1C2=COC3=C(C2=O)C=CC(=C3)O[C@H]4[C@@H]([C@H]([C@@H]([C@H]([C@H](O4)CO)O)O)O)O</chem>	416.382	0.3443	9	5	Kelarutan bersifat sedang
Myricetin	5281672	<chem>C1=C(C=C(C(=C1O)O)O)C2=C(C(=O)C3=C(C=C(C=C3O2)O)O)O</chem>	318.237	1.6936	8	6	Kelarutan bersifat sedang
Linoleic acid	5280450	<chem>CCCCC/C=C/C/C=CCCCCCCC(=O)O</chem>	280.452	5.8845	1	1	Kelarutan bersifat sedang
Stigmasterol	5280794	<chem>CC[C@H](C=C/[C@@H](C)[C@H]1CC[C@@H]2[C@@]1(CC[C@H]3[C@H]2CC=C4[C@@]3(CC[C@@H](C4)O)C)C(C)C</chem>	412.702	7.8008	1	1	Kelarutan bersifat lemah
Cycloartenol	92110	<chem>C[C@H](CCC=C(C)C)[C@H]1CC[C@@]2([C@]1(CC[C@]34[C@H]2CC[C@@H]5[C@@]3(C4)CC[C@@H](C5(C)O)O)C</chem>	426.729	8.1689	1	1	Kelarutan bersifat lemah

Keterangan: Dengan menerapkan parameter fisikokimia hukum lima Lipinski, termasuk massa molekul kurang dari 500 Dalton, lipofilisitas tinggi (LogP kurang dari 5), jumlah donor ikatan hydrogen kurang dari atau sama dengan 5, dan jumlah asepor ikatan hydrogen kurang dari atau sama dengan 10, senyawa aktif akan menunjukkan tingkat kelarutan yang tinggi ketika memenuhi kriteria Lipinski rules.

Prediksi Fisikokimia Senyawa Biji Kacang Tunggak (*Vigna unguiculata*) 5 Rules of Lipinski

Hasil prediksi fisikokimia dapat dilihat pada **tabel 5**, didapatkan 5 senyawa yang memiliki kelarutan baik, 3 senyawa dengan kelarutan sedang, dan 2 senyawa dengan kelarutan lemah.

Prediksi Farmakokinetika dan Toksisitas Senyawa Biji Kacang Tunggak (*Vigna unguiculata*)

Hasil dari prediksi farmakokinetika dan toksisitas dapat dilihat pada **tabel 6** didapatkan 4 senyawa dengan ADME baik dan tidak bersifat hepatotoksik, 4 senyawa dengan ADM baik, ekskresi kurang dan tidak hepatotoksik, 2 senyawa Absorbsi kurang, DME baik dan tidak hepatotoksik, dan 1 senyawa Absorbsi kurang, DM baik, ekskresi kurang dan tidak bersifat hepatotoksik.

Tabel 6 Hasil Prediksi Farmakokinetika dan Toksisitas Senyawa Biji Kacang Tunggak (*Vigna unguiculata*)

Senyawa	Absorbsi	Distribusi	Metabolisme		Ekskresi	Toksisitas	Kesimpulan
	AI %	BBB log BB	CYP2D6 inhibitor	CYP3A4 inhibitor	Total Clearance log ml/min/ kg	Hepatotoksik	
Caumaric acid	93.484	-0.225	Tidak	Tidak	0.662	Tidak	ADME baik dan tidak hepatotoksik
Ferulic acid	93.685	-0.239	Tidak	Tidak	0.623	Tidak	ADME baik dan tidak hepatotoksik
Daidzein	94.839	-0.064	Tidak	Tidak	0.164	Tidak	ADM baik, ekskresi kurang dan tidak hepatotoksik
Cafeic acid	69.407	-0.647	Tidak	Tidak	0.508	Tidak	Absorbsi kurang, DME baik dan tidak hepatotoksik
Genistein	93.387	-0.71	Tidak	Tidak	0.151	Tidak	ADM baik, ekskresi kurang dan tidak hepatotoksik
Cinamic acid	91.873	0.05	Tidak	Tidak	0.171	Tidak	ADM baik, ekskresi kurang dan tidak hepatotoksik
Cycloartenol	95.248	0.794	Tidak	Tidak	0.262	Tidak	ADM baik, ekskresi kurang dan tidak hepatotoksik
Daidzin	59.319	-1.232	Tidak	Tidak	0.104	Tidak	Absorbsi kurang, DM baik, ekskresi kurang dan tidak hepatotoksik
Linoleic acid	92.329	-0.142	Tidak	Tidak	1.936	Ya	ADME baik dan hepatotoksik
Myricetin	65.93	-1.493	Tidak	Tidak	0.422	Tidak	Absorbsi kurang, DM, ekskresi kurang dan tidak hepatotoksik
Stigmasterol	94.97	0.771	Tidak	Tidak	0.618	Tidak	ADME baik dan tidak hepatotoksik
Anthosianin	96.182	0.454	Tidak	Tidak	0.716	Tidak	ADME baik dan tidak hepatotoksik

Keterangan: Parameter prediksi farmakokinetika dan toksisitas, yaitu: nilai absorpsi yang tinggi >90%, distribusi tidak menembus *blood brain barrier* (BBB), tidak mempengaruhi inhibitor CYP2D6 dan CYP3A4, kecepatan ekskresi senyawa, dan tidak bersifat hepatotoksik. Prediksi farmakokinetika dan toksisitas senyawa biji kacang tunggak menggunakan PKCSM.

PEMBAHASAN

Afinitas Senyawa Aktif Biji Kacang Tunggak (*Vigna unguiculata*) Terhadap Protein SR- β 1

Dalam studi ini, alfa tokoferol dipilih sebagai kontrol karena penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Zaidi et al pada tahun 2004 menyatakan bahwa vitamin E (Tokoferol) adalah antioksidan eksogen yang paling efektif. Vitamin E menunjukkan dampak optimal dibandingkan dengan vitamin A dan vitamin C dalam mengurangi peroksidasi lemak.²

SR- β 1 adalah reseptor hepar yang berperan dalam metabolisme HDL. Cara kerja SR- β 1 adalah dengan mengambil sebagian kolesterol ester yang dibawa oleh HDL ketika menuju hepar untuk disintesis. Penelitian yang saat ini sedang berlangsung mengungkapkan potensi SR- β 1 pada aterosklerosis. Para peneliti ini telah mempelajari keterkaitan SR- β 1 dan kolesterol. Sejumlah penelitian menunjukkan bahwa SR- β 1 memiliki korelasi terbalik dengan aterosklerosis.⁵ Kadar kolesterol bebas plasma telah meningkat tujuh kali lipat pada tikus yang kekurangan SR- β 1.³ Studi lain menunjukkan bahwa tikus yang kekurangan SR- β 1 mengalami percepatan sklerosis aorta.¹

Temuan dari penelitian menunjukkan bahwa daidzin, myricetin, dan genistein memiliki nilai ΔG yang rendah, dengan persentase kemiripan ikatan pada residu asam amino sekitar 60% dan 70% jika dibandingkan dengan kontrol yang memiliki persentase 100%. Hal ini menunjukkan 3 senyawa tersebut mempunyai potensi yang lebih baik dibandingkan kontrol. Pemilihan senyawa terbaik berdasarkan dua hal, yang pertama adalah berdasarkan nilai persentase kesamaan asam amino yang menunjukkan senyawa aktif dapat menghambat protein target yang sama seperti obat kontrol. Pemilihan selanjutnya adalah berdasarkan nilai energi ikatan bebas terkecil yang digunakan untuk berinteraksi dengan protein target. Daidzin dan genistein merupakan senyawa isoflavan, dimana senyawa ini mempunyai potensi sebagai anti oksidan primer. Penelitian yang dilakukan oleh Sussi pada tahun 2008 membuktikan potensi kedua senyawa tersebut sebagai anti dislipidemia melalui mekanisme akseptor radikal bebas sehingga mampu menghambat reaksi radikal bebas pada oksidasi lipid.¹¹ Myricetin merupakan senyawa aktif golongan flavonoid. Senyawa ini memiliki fungsi untuk memperbaiki resistensi insulin, anti inflamasi, anti stres oksidatif, dan anti hiperlipidemia.⁶

Afinitas Senyawa Aktif Biji Kacang Tunggak (*Vigna unguiculata*) Terhadap Protein LRP1

Penelitian ini menggunakan *sp 16 peptide* sebagai obat kontrol dikarenakan *sp 16* adalah urutan asam amino pendek yang dirancang untuk meniru bagian pengikat LRP1 dari SERPIN endogen seperti

alpha-1 antitrypsin (AAT).¹³ Penelitian yang dilakukan oleh Wohlford pada tahun 2021 membuktikan bahwa pemberian *sp 16 peptide* yang disimulasikan setelah infark miokard terbukti mengurangi respon inflamasi yang terjadi, akan tetapi memiliki keterbatasan tertentu, yaitu ukuran sampel yang kecil dan durasi.¹³

Data yang diperoleh menunjukkan bahwa anthosianin dan asam linoleat memiliki nilai ΔG yang lebih rendah dan persentase kesamaan ikatan pada residu amino yang lebih rendah jika dibandingkan dengan kontrol. Hal ini menunjukkan bahwa kedua senyawa tersebut memiliki afinitas yang lebih rendah terhadap protein LRP1 dibandingkan dengan kontrol. Anthosianin termasuk dalam kelompok senyawa flavonoid dan dikenal memiliki efek antiinflamasi.⁷ Wang et al pada tahun 2010 menyajikan temuan bahwa anthosianin dapat menghambat aktivitas TNF- α , molekul adhesi sel vaskular 1 (VCAM-1), molekul adhesi antar sel 1 (ICAM-1), dan faktor nuklir- κ B (NF- κ B), sehingga dapat mengurangi faktor inflamasi.¹² Linoleic acid adalah jenis asam lemak tak jenuh ganda (PUFA) yang memiliki potensi untuk mengurangi kadar kolesterol dengan cara melibatkan molekul lemak dan mencegah penyerapan molekul lemak tersebut oleh mukosa usus.⁹

Berdasarkan kedua hasil *molecular docking* tersebut, dapat disimpulkan dengan prediksi senyawa aktif kacang tunggak seperti daidzin, myricetin, dan genistein lebih berpotensi menurunkan hiperlipid melalui mekanisme aktivasi SR- β 1 dibandingkan aktivasi LRP1.

Prediksi Fisikokimia Senyawa Biji Kacang Tunggak (*Vigna unguiculata*) 5 Rules of Lipinski

Parameter yang digunakan untuk meramalkan sifat fisikokimia berdasarkan hukum lima Lipinski mencakup massa molekul di bawah 500 Dalton, lipofilisitas tinggi (dinyatakan sebagai LogP di bawah 5), serta jumlah donor ikatan hydrogen kurang dari atau sama dengan 5, dan ikatan hydrogen aseptor harus kurang dari sama dengan 10. Senyawa genistein, daidzein, anthosianin, caumaric acid, ferulic acid, cinamic acid, dan cafeic acid memenuhi kriteria, sehingga dapat dikatakan mempunyai sifat larut dalam air, dan bioavailabilitas baik secara oral.

Prediksi Farmakokinetika dan Toksisitas Senyawa Biji Kacang Tunggak (*Vigna unguiculata*)

Prediksi farmakokinetika dan toksisitas berdasarkan absorpsi, distribusi, metabolisme, ekskresi, dan toksisitas (ADMET). Parameter yang digunakan, yaitu: nilai absorpsi yang tinggi >90%, distribusi tidak menembus *blood brain barrier* (BBB), tidak mempengaruhi inhibitor CYP2D6 dan CYP3A4, kecepatan ekskresi senyawa, dan tidak bersifat hepatotoksik. Senyawa caumaric acid dan ferulic acid

memenuhi kriteria karena memiliki nilai ADME baik, dan tidak bersifat hepatotoksik. Penelitian *in silico* ini masih merupakan penelitian awal yang harus dilanjutkan dengan penelitian dan secara *in vivo*. Penelitian berikutnya diharapkan dapat membuktikan proses kerja senyawa tersebut sebagai anti dislipidemia sekaligus membandingkan ekstrak kasar biji kacang tunggak pada hewan coba yang diberikan diet tinggi kolesterol.

Kelebihan dan Kelemahan Dalam Penelitian

Metode *in silico* memiliki sejumlah kelebihan dan kekurangan. Keunggulan metode *in silico* mencakup kemampuannya untuk mengurangi penggunaan bahan, peralatan, dan hewan percobaan yang berlebihan, serta potensi penghematan dalam biaya eksperimen. Sementara itu, kelemahan metode *in silico* melibatkan fleksibilitas protein dan konformasi molekuler yang dapat mempengaruhi akurasi prediksi. Dalam memilih biji kacang tunggak, beberapa keunggulan melibatkan kemudahan budidaya, adaptasi yang baik terhadap lingkungan tumbuh, ketahanan terhadap kondisi kekeringan, perkebangbiakan yang cepat, serta ketangguhan terhadap hama dan penyakit kacang-kacangan. Meskipun demikian, keterbatasan dalam penelitian ini mencakup ketersediaan obat kontrol yang terbatas untuk protein target *LRP1*.

KESIMPULAN

Dengan merujuk pada hasil dan analisis data yang diperoleh dari penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa:

1. Senyawa aktif biji kacang tunggak (*Vigna unguiculata*) dapat menghambat *SR-β1*, sehingga berpotensi untuk dikembangkan menjadi zat *anti dislipidemia*. Beberapa senyawa tersebut adalah yaitu *daidzin*, *myricetin*, dan *genistein* yang memiliki nilai afinitas tinggi terhadap protein target *SR-β1* dibandingkan kontrol.
2. Senyawa aktif biji kacang tunggak (*Vigna unguiculata*) dapat menghambat *LRP1*, sehingga berpotensi untuk dikembangkan menjadi zat *anti dislipidemia*. Beberapa senyawa tersebut adalah *anthosianin* dan *linoleic acid* yang memiliki nilai afinitas lebih rendah terhadap protein target *LRP1* dibandingkan kontrol.
3. Senyawa aktif kacang tunggak diprediksi lebih berpotensi menghambat *SR-β1* dibandingkan *LRP1* untuk penghambatan dislipidemia.
4. Senyawa *genistein*, *daidzein*, *anthosianin*, *caumaric acid*, *ferulic acid*, *cinamic acid*, dan *cafeic acid* mempunyai sifat larut dalam air, dan bioavailabilitas baik secara oral.

5. Senyawa *caumaric acid* dan *ferulic acid* memiliki nilai ADME baik, dan tidak bersifat hepatotoksik.

SARAN

Berdasarkan hasil yang didapatkan dari penelitian ini, maka peneliti menyarankan hal-hal berikut ini:

1. Melakukan penelitian lanjutan secara *in vivo* pada tikus mencit diet tinggi kolesterol yang membandingkan potensi ekstrak biji kacang tunggak (*Vigna unguiculata*) dengan *single compound daidzin*, *myricetin*, dan *genistein* dalam mengaktivasi protein *SR-β1* dan *LRP1*.
2. Melakukan penelitian toksisitas lanjutan secara *in vivo* pada minimal 3 spesies.

TERIMAKASIH

Saya sampaikan rasa terima kasih kepada Ikatan Orangtua Mahasiswa (IOM) FK Unisma atas dukungan pendanaan dalam pelaksanaan penelitian ini, serta mengucapkan terima kasih kepada dr. Rahma Triliana, M.Kes, PhD sebagai pemberi masukan *peer review*.

DAFTAR PUSTAKA

1. Galle-Treger, L. *et al.* (2020) '**Targeted invalidation of SR-B1 in macrophages reduces macrophage apoptosis and accelerates atherosclerosis.**', *Cardiovascular research*, 116(3), pp. 554–565. Available at: <https://doi.org/10.1093/cvr/cvz138>.
2. Gaziano, J.M. (2004) '**Vitamin E and cardiovascular disease: observational studies.**', *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1031, pp. 280–291. Available at: <https://doi.org/10.1196/annals.1331.028>.
3. Guo, X. *et al.* (2018) '**Reversal of adipose tissue loss by probucol in mice with deficiency of both scavenger receptor class B type 1 and LDL receptor on high fat diet.**', *Biochemical and biophysical research communications*, 497(3), pp. 930–936. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2017.05.017>.
4. Hariadini, A.L. *et al.* (2020) '**Hubungan Tingkat Pengetahuan Dan Ketepatan Penggunaan Obat Simvastatin Pada Pasien Hiperkolesterolemia Di Apotek Kota Malang**', *Pharmaceutical Journal of Indonesia*, 005(02), pp. 91–96. Available at: <https://doi.org/10.21776/ub.pji.2020.005.02.4>.
5. Kozarsky, K.F. *et al.* (2000) '**Gene transfer and hepatic overexpression of the HDL receptor SR-BI reduces atherosclerosis in the cholesterol-fed LDL receptor-deficient mouse.**', *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 20(3), pp. 721–727. Available at: <https://doi.org/10.1161/01.atv.20.3.721>.
6. Li, Y. and Ding, Y. (2012) '**Minireview: Therapeutic potential of myricetin in diabetes mellitus**', *Food Science and Human Wellness*,

- 1(1), pp. 19–25. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2012.08.002>.
7. Reis, J.F. *et al.* (2016) **‘Action mechanism and cardiovascular effect of anthocyanins: a systematic review of animal and human studies.’**, *Journal of translational medicine*, 14(1), p. 315. Available at: <https://doi.org/10.1186/s12967-016-1076-5>.
8. Safitri, F.M. *et al.* (2016) **‘Pengembangan getuk kacang tolo sebagai makanan selingan alternatif kaya serat’**, *Jurnal Gizi dan Dietetik Indonesia (Indonesian Journal of Nutrition and Dietetics)*, 4(2), p. 71. Available at: [https://doi.org/10.21927/ijnd.2016.4\(2\).71-80](https://doi.org/10.21927/ijnd.2016.4(2).71-80).
9. Singer, P. *et al.* (1990) **‘Effects of dietary oleic, linoleic and alpha-linolenic acids on blood pressure, serum lipids, lipoproteins and the formation of eicosanoid precursors in patients with mild essential hypertension.’**, *Journal of human hypertension*, 4(3), pp. 227–233.
10. Susilo, J. and Satya, S. (1998) **‘Teknologi Pengolahan dan Produk-Produk Kacang Tunggak’**, *Jurnal Peneliti Tanaman Kacang-kacangan dan Umbi-umbian*, (3), pp. 120–138. Available at: http://balitkabi.litbang.pertanian.go.id/wp-content/uploads/2016/02/kt_7_edt-1.pdf.
11. Sussi Astuti (2008) **‘Isoflavon kedelai dan potensinya sebagai penangkap radikal bebas’**, 13(2), pp. 126–136.
12. Wang, D. *et al.* (2010) **‘Protocatechuic acid, a metabolite of anthocyanins, inhibits monocyte adhesion and reduces atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice.’**, *Journal of agricultural and food chemistry*, 58(24), pp. 12722–12728. Available at: <https://doi.org/10.1021/jf103427j>.
13. Wohlford, G.F. *et al.* (2021) **‘A phase 1 clinical trial of SP16, a first-in-class anti-inflammatory LRP1 agonist, in healthy volunteers’**, *PLoS ONE*, 16(5 May), pp. 1–11. Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0247357>.
14. Zaidi, S.M.K.R. and Banu, N. (2004) **‘Antioxidant potential of vitamins A, E and C in modulating oxidative stress in rat brain.’**, *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*, 340(1–2), pp. 229–233. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cccn.2003.11.003>.
15. Zia-Ul-Haq, M. *et al.* (2013) **‘Antioxidant activity of the extracts of some cowpea (*Vigna unguiculata* (L) Walp.) cultivars commonly consumed in Pakistan’**, *Molecules*, 18(2), pp. 2005–2017. Available at: <https://doi.org/10.3390/molecules18022005>.