

STUDI *IN SILICO* PREDIKSI MEKANISME ANTIHIPERTENSI SENYAWA AKTIF DAUN PEPAYA (*Carica papaya*) MELALUI PENGHAMBATAN RESEPTOR β 1 ADRENERGIK DAN ENZIM PHENYLALANINE HIDROXYLASE (PAH)

Maulidya Ayufa Chandradewi, Anita Puspa Widiyana, Dini Sri Damayanti*
Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Malang

ABSTRAK

Pendahuluan: Protein β 1 adrenergik dan enzim PAH berperan pada mekanisme terjadinya hipertensi. Secara empiris daun pada pepaya (*Carica papaya*) mengandung senyawa aktif yang mampu berperan sebagai antihipertensi, namun mekanismenya terhadap β 1 adrenergik dan enzim phenylalanine hidroksylase belum banyak diketahui dan diteliti. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi senyawa aktif yang terkandung dalam daun pepaya dalam mencegah penyakit hipertensi melalui penghambatan β 1 adrenergik dan enzim phenylalanine hidroksylase menggunakan metode penelitian *in silico*.

Metode: Penelitian secara *In Silico* molecular docking menggunakan metode penambatan molekuler atau *molecular docking* antara senyawa aktif yang ditemukan pada daun pepaya (*Carica papaya*) terhadap protein reseptor β 1 adrenergik (kode: 7BVQ) dan protein enzim phenylalanine hidroksylase (kode: 6PAH).

Hasil: Senyawa aktif pada daun pepaya dengan afinitas terbaik terhadap β 1 adrenergik yaitu rutin (-11.6 kkal/mol, 55%), luteolin (-9.9 kkal/mol, 44%), genistein (-9.8 kkal/mol, 55%), dan naringenin (-9.8 kkal/mol, 33%) dibandingkan kontrol Carazolol (-9.7, 100%). Sementara itu, senyawa aktif yang memiliki afinitas terhadap enzim PAH yaitu naringenin (-9.9, 0%), kaempferol (-9.9, 0%) dan quercetin (-9.7, 0%). Namun, senyawa tersebut tidak dapat berikatan dengan *binding site* pada protein target, sehingga diperkirakan tidak memiliki potensi aktivitas yang sama dengan *native ligand*. Hasil prediksi farmakokinetik dan fisikokimia menunjukkan bahwa senyawa aktif yang memiliki nilai yang baik yaitu luteolin, kaempferol dan quercetin dan diprediksi memiliki bioavailabilitas yang baik jika diberikan melalui rute oral.

Kesimpulan: Senyawa aktif daun pepaya (*Carica papaya*) terutama luteolin berpotensi menghambat β 1 adrenergik dengan potensi lebih rendah dibanding kontrol. Senyawa memiliki afinitas terhadap enzim PAH tetapi tidak dapat berikatan dengan *binding site* protein target sehingga diprediksi tidak berpotensi dibanding kontrol.

Kata kunci: Antihipertensi; *Carica papaya*; *in silico*; β 1 adrenergik; enzim PAH

*Koresponden: Dini Sri Damayanti

Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

Jl. MT Haryono 193 Malang, Jawa Timur Indonesia 65144 telp. +62-341-57892

Email: ininisridamayanti@unisma.ac.id

IN SILICO: PREDICTION OF THE ANTIHYPERTENSIVE MECHANISM OF PAPAYA LEAF EXTRACT VIA β 1 ADRENERGIC RECEPTOR AND PHENYLALANINE HYDROLASE INHIBITION

Maulidya Ayufa Chandradewi, Anita Puspa Widiyana, Dini Sri Damayanti*,
Faculty of Medicine, University of Islam Malang

ABSTRACT

Introduction: The β 1-adrenergic receptor and phenylalanine hydroxylase (PAH) enzyme are critical components in the pathophysiology of hypertension. Preliminary empirical evidence suggests that papaya leaf (*Carica papaya*) contains active compounds with potential antihypertensive effects. However, the specific mechanisms through which these compounds exert their effects on the β 1-adrenergic receptor and PAH enzyme remain inadequately investigated. This study aims to assess the potential of papaya leaf-derived active compounds to prevent hypertension by inhibiting the β 1-adrenergic receptor and PAH enzyme, employing *in silico* methodologies for this evaluation.

Methods: In this study, *in silico* molecular docking was employed to investigate the interactions between active compounds from papaya leaf (*Carica papaya*) and two target proteins: the β 1-adrenergic receptor (PDB code: 7BVQ) and the phenylalanine hydroxylase enzyme (PDB code: 6PAH).

Result: The active compounds in papaya leaf have been assessed for their affinity towards the β 1-adrenergic receptor. Among these compounds, rutin demonstrates the highest affinity (-11.6 kkal/mol, 55%), followed by luteolin (-9.9 kkal/mol, 44%), genistein (-9.8 kkal/mol, 55%), and naringenin (-9.8 kkal/mol, 33%). These affinities were compared with the control compound Carazolol, which has an affinity of -9.7 kkal/mol and a binding efficiency of 100%. In contrast, for the PAH enzyme, naringenin (-9.9 kkal/mol, 0%), kaempferol (-9.9 kkal/mol, 0%), and quercetin (-9.7 kkal/mol, 0%) were found to have no binding affinity, suggesting that these compounds do not interact with the target protein's binding site and are therefore unlikely to exhibit similar activity to the native ligand. Pharmacokinetic and physicochemical predictions indicate that luteolin, kaempferol, and quercetin possess favorable properties, with high predicted bioavailability when administered via the oral route.

Conclusion: Active compounds derived from papaya leaf (*Carica papaya*), with luteolin being a notable example, demonstrate potential for β 1-adrenergic receptor inhibition, albeit at lower potency compared to the control. These compounds also exhibit affinity for the PAH enzyme; however, they do not interact between the target protein's binding site. Consequently, it is anticipated that their effectiveness may be limited in comparison to the control.

Keywords: Antihypertensive; *Carica papaya*; *in silico*; β 1-adrenergic; PAH enzyme

*Correspondence: Dini Sri Damayanti

Faculty of Medicine, University of Islam Malang

Jl. MT Haryono 193 Malang, East Java Indonesia 65144 telp. +62-341-57892

PENDAHULUAN

Hipertensi adalah kondisi di mana tekanan darah sistolik mencapai ≥ 140 mmHg dan tekanan darah diastolik mencapai ≥ 90 mmHg, setelah pengukuran dilakukan dua kali dengan hasil yang konsisten.¹ Penyakit hipertensi dapat terjadi karena adanya gangguan melalui jalur *Angiotensin Converting Enzyme* (ACE), Angiotensin II, reseptor endotelin, $\beta 1$ adrenergik dan enzim fenilalanine hidroksilase (PAH). Dari berbagai protein yang terlibat diatas, dipilih dua protein target yang akan dipelajari pada penelitian ini yaitu $\beta 1$ adrenergik dan enzim PAH. Berdasarkan patofisiologi hipertensi penghambatan dua protein tersebut diyakini dapat menghambat proses terjadinya hipertensi. Penghambatan reseptor $\beta 1$ adrenergik dapat mencegah aktivitas sistem saraf simpatis dan katekolamin, sehingga akan memicu kinerja kontraksi otot jantung dan curah jantung². *Phenylalanine hydroxylase* (PAH) dapat meningkatkan kadar norepinefrin (NE). NE merupakan vasokonstriktor yang beredar dalam sirkulasi darah, bekerja di pembuluh darah otot untuk menghasilkan efek vasokonstriksi pada pembuluh darah³. Dengan demikian, penghambatan pada kedua protein tersebut dapat digunakan sebagai target pengembangan obat anti-hipertensi.

Pengobatan hipertensi dapat dilakukan dengan terapi non farmakoterapi seperti modifikasi gaya hidup sebagai lini pertama dan farmakoterapi sebagai lini kedua⁴. Namun, obat hipertensi golongan *Beta blocker* memiliki efek samping berupa bronkodilatasi dan merupakan kontraindikasi pada pasien yang mengidap asma⁵. Dengan demikian, adanya efek samping obat pada terapi farmakologis maka perlu diadakan pengembangan obat dari senyawa aktif sebagai pencegahan maupun pengobatan alternatif dan suportif terhadap hipertensi.

Indonesia dikenal memiliki banyak tanaman obat yang berkhasiat dan dapat dimanfaatkan sebagai herbal. Tanaman obat umumnya adalah tanaman liar yang sejak zaman nenek moyang telah ditanam di pekarangan dan digunakan secara turun-temurun sebagai obat. Salah satu contohnya adalah daun dari tanaman pepaya, yang memiliki nama latin *Carica papaya*. Penggunaan tanaman tersebut dilakukan tanpa mengetahui senyawa aktif didalamnya tetapi dapat diketahui khasiatnya, oleh sebab itu perlu

dilakukan penelitian untuk mengetahui potensi senyawa aktif yang ada pada daun pepaya (*Carica papaya*)⁶.

Beberapa jurnal dan artikel menunjukkan bahwa daun pepaya memiliki potensi sebagai antihipertensi karena mengandung berbagai senyawa aktif, baik metabolit primer maupun sekunder. Senyawa aktif yang termasuk metabolit primer meliputi vitamin dan lemak, sementara senyawa aktif metabolit sekunder meliputi alkaloid, flavonoid, terpenoid, dan glikosida. Di antara senyawa aktif daun pepaya yang berpotensi sebagai antihipertensi adalah *benzyl isothiocyanate*, *carpain*, *myristic acid*, *myosmine*, dan *nicotine*.⁷ Berdasarkan penelitian terdahulu, penelitian dilakukan pada tikus model hipertensi yang diberikan ekstrak daun pepaya yang memberikan efek senyawa flavonoid dalam mengontrol produksi NO tidak berlebih dari sel endotel⁸. Namun, penelitian daun pepaya sebagai antihipertensi melalui penghambatan reseptor $\beta 1$ adrenergik dan enzim fenilalanin hidroksilase (PAH) belum banyak dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi senyawa aktif yang terkandung dalam daun pepaya dalam mencegah penyakit hipertensi menggunakan metode penelitian secara *in silico* melalui penghambatan reseptor $\beta 1$ adrenergik dan enzim fenilalanin hidroksilase (PAH). Pemilihan metode *in silico* dikarenakan tidak menghabiskan banyak biaya, efektif, dan efisien untuk melihat ikatan secara molekuler⁹.

METODE PENELITIAN

Desain dan Waktu Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode *molecular docking* atau penambatan molekular secara *in silico* untuk menambatkan dan menganalisis interaksi senyawa aktif menambatkan senyawa aktif yang ditemukan pada daun pepaya (*Carica papaya*) terhadap protein reseptor $\beta 1$ adrenergik (kode: 7BVQ) dan protein enzim fenilalanin hidroksilase (PAH) (kode: 6PAH).

Alat dan Bahan Uji *In Silico*

Penelitian ini dilakukan menggunakan laptop dengan spesifikasi processor 11th Gen Intel(R) Core(TM) i5-1135G7 @ 2.40GHz 2.42 GHz, RAM 16 GB dan sistem operasi Microsoft Windows 11 Home version 22H2 64-bit. Penelitian juga memerlukan sambungan internet yang memadai dan menggunakan

aplikasi yaitu PyRx versi 0.8 untuk Windows yang dapat diunduh secara gratis dari situs (<http://pyrx.sourceforge.net>)¹⁰. Senyawa aktif yang terdapat pada daun pepaya (*Carica papaya*) dipilih untuk digunakan dalam proses penambatan molekul pada struktur protein reseptor $\beta 1$ adrenergic dan enzim fenilalanin hidroksilase (PAH). Protein-protein tersebut diperoleh dari website (<http://rcsb.org>). Sedangkan, untuk senyawa-senyawa aktif dari daun pepaya (*Carica papaya*) dapat diperoleh melalui situs PubChem (<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>)¹¹.

Preparasi Protein dan Ligan

Protein $\beta 1$ adrenergic dan enzim fenilalanin hidroksilase (PAH) *download* dalam bentuk 3D dan format pdb diperoleh dari situs Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org>)¹². File tersebut dianalisis dan divisualisasikan dengan menggunakan aplikasi Biovia (www.3ds.com/products-services/biovia/)¹³. Molekul yang tidak relevan dengan penelitian ini dihapus untuk menghindari gangguan dalam proses docking dan disimpan dalam format pdb. Kemudian molekul tersebut ditambahkan atom hidrogen polar ke dalam protein dengan aplikasi PyMOL 2.5.5 dan disimpan dalam format pdbqt¹⁴.

Validasi Molecular Docking

Proses validasi menggunakan obat yang sudah memiliki native ligan dari protein reseptor yang sesuai, selanjutnya protein tersebut dilakukan proses preparasi protein. Preparasi protein dilakukan dengan cara melepaskan protein dengan obat kemudian didocking ulang (*Re-docking*). *Re-docking* adalah proses melepas molekul ligand dari model reseptor dan kemudian menambatkan kembali. Jika hasil RMSD yang diperoleh tidak melebihi dari 2Å setelah dibandingkan dengan RMSD yang tertera di PubChem, maka hasil tersebut dianggap valid¹⁵. Dalam proses validasi kompleks protein-ligan dilakukan juga pengaturan grid box yang menjadi ruang native ligand membentuk konformasi ketika didocking dengan protein target. Grid box adalah tempat ligan akan berintegrasi dengan residu asam amino pada protein target. Penentuan grid box dilakukan untuk mengetahui titik koordinat binding site pada protein. Pengaturan grid box tersebut adalah pengaturan grid size¹⁶.

Pemilihan Senyawa Aktif Daun Pepaya

Pemilihan senyawa aktif yang akan digunakan sebagai ligan dalam docking melalui skrining menggunakan Dr. Duke's Phytochemical and Ethnobotanical Databases dan PASS Online (<https://www.way2drug.com/>)¹⁷. Pada proses skrining senyawa aktif menghasilkan 23 senyawa dengan kriteria pemilihan berdasarkan skrining PASS Online, yang mencakup *Pa* (*probability of activity*) dan potensi dari senyawa tersebut. Dalam penelitian ini, *Pa* yang dipertimbangkan adalah $Pa > 0.5$, serta senyawa-senyawa tersebut harus menunjukkan potensi sebagai vasoprotektor dan vasodilator¹⁸.

Penambatan Molekul Senyawa Aktif Daun

Proses penambatan molekul senyawa aktif dari daun pepaya dilakukan dengan mengatur *grid box* sesuai dengan ukuran *x* (nx), ukuran *y* (ny), dan ukuran *z* (nz) serta ukuran *center x* (Angstrom), *center y* (Angstrom), dan *center z* (Angstrom). Pada ukuran *grid box* protein $\beta 1$ adrenergic (kode: 7BVQ) dan PAH (kode: 6PAH) dapat dilihat pada **tabel 1**.

Teknik Analisis Data

Analisa data penelitian ini adalah untuk melihat perbandingan antara nilai interaksi permukaan, residu asam amino dan energi bebas ikatan yang didapatkan dari hasil penambatan protein $\beta 1$ adrenergic (kode:7BVQ) dan PAH (kode:6PAH) pada hipertensi dengan senyawa aktif daun pepaya (*Carica papaya*) dibandingkan dengan obat antihipertensi. Hasil penambatan divisualisasikan dengan aplikasi *Biovia Discovery Studio Visualizer 2016*¹³. *discovery* kemudian disimpan dengan format pdb. Analisa penambatan molekul digunakan untuk melihat afinitas ikatan antara ligan dengan reseptor.

Tabel 1. Grid Box

$\beta 1$ adrenergic					
Size x (nx)	Size y (ny)	Size z (nz)	Center x (cx)	Center y (cy)	Center z (cz)
102	126	96	23	19	77

Enzim PAH					
Size x (nx)	Size y (ny)	Size z (nz)	Center x (cx)	Center y (cy)	Center z (cz)
104	82	124	8	25	5

Parameter penambatan molekul menggunakan luas interaksi permukaan ($\text{\AA}$), energi bebas ikatan (ΔG), serta persentase residu asam amino. Semakin negatif nilai ΔG , maka semakin tinggi kecenderungan ligan dan reseptor untuk berikatan¹⁹.

Penambatan dengan parameter asam amino menunjukkan aktifitas penghambatan antara ligan terhadap protein target. Senyawa aktif yang membentuk ikatan hidrogen dengan residu asam amino protein yang sama seperti pada kontrol dianggap sebagai senyawa aktif yang memiliki ikatan kuat dengan protein target²⁰.

Prediksi Sifat Fisikokimia

Tahap selanjutnya dilakukan yaitu proses prediksi parameter fisikokimia 23 senyawa aktif pada daun pepaya (*Carica papaya*) yang dilakukan sebelum docking, digambar dan disimpan sebagai struktur molekul 3-D dengan format *.pdb. Selanjutnya, struktur 23 senyawa aktif diterjemahkan ke dalam format SMILES dengan menggunakan Online SMILES (cactus.nci.nih.gov/translate). Format SMILES tersebut kemudian diproses menggunakan pkCSM online tool (biosig.unimelb.edu.au/pkcsml/prediction) untuk memperoleh parameter fisikokimia dari senyawa aktif yang diteliti²¹. Selanjutnya, mengamati hasilnya menggunakan indikator *Lipinski Rule of Five* dimana suatu obat atau senyawa aktif mirip obat (*drug-likeness*) apabila memenuhi minimal 4 kriteria²².

Prediksi Sifat Farmakokinetik ADMET

Tahapan selanjutnya yaitu proses prediksi ADMET pada senyawa aktif daun pepaya (*Carica papaya*) untuk memprediksi

fisikokimia dan toksisitas senyawa. Digambar dan disimpan sebagai struktur molekul 3-D dengan format *.pdb. Selanjutnya, SMILES dari 23 senyawa aktif dicari melalui *database Pubchem* (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>). Format SMILES yang diperoleh kemudian diproses menggunakan pkCSM Online Tool (<http://biosig.unimelb.edu.au/pkcsml/prediction>)²¹.

Prediksi tersebut menggunakan indikator ADMET (Absorpsi, Distribusi, Metabolisme, Ekskresi dan Toksisitas) yang dapat dievaluasi berdasarkan profil absorpsi intestinal, permeabilitas Caco2, *Volume of Distribution at Steady State* (VDss), *Blood Brain Barrier* (BBB), jika CYP2D6 substrat dan CYP3A4 substrat ditemukan maka metabolisme baik, nilai *Total Clearance* (CLTOT), dan menilai derajat ketoksikan dengan indikator *AMES Toxicity* dan LD50²¹.

HASIL DAN ANALISA DATA

Penentuan Senyawa Aktif Melalui PAAS Online

Hasil prediksi yang diperoleh dari PAAS Online pada penelitian ini ditunjukkan dengan indikator Pa (*Potential Activity*). Nilai Pa memberikan informasi bioaktivitas masing-masing senyawa. Jika nilai uji berada di antara 0.5 dan 0.7 ($0.5 < Pa < 0.7$), maka senyawa tersebut menunjukkan aktivitas biologis yang cukup tinggi, sehingga berpotensi menjadi senyawa bioaktif dalam uji eksperimen *in vitro* dan *in vivo*. Selain itu, senyawa ini juga memiliki potensi untuk pengembangan senyawa obat baru dengan bioaktivitas yang terkait²³. Hasil penentuan senyawa aktif melalui skrining PASS Online pada **tabel 2**.

Tabel 2. Hasil Skrining Senyawa Aktif Menggunakan PAAS Online

No	Nama	Smille	Pa (<i>Potential Activity</i>)	Potensi
1.	Alpha-ionone	CC1=CCCC(C1C=CC(=O)C)(C)C	0,5 0,507	Vasoprotector Vasodilator
2.	Ascorbic-acid	C(C(C1C(=C(C(=O)O1)O)O)O)O	0,948	Vasoprotector
3.	Caffeic-acid	C1=CC(=C(C=C1C=CC(=O)O)O)O	0,639	Vasodilator, peripheral
4.	Carpaine	CC1C2CCC(N1)CCCCCCC C(=O)OC3CCC(CCCCCC C(=O)O2)NC3C	0,431	Vasoprotector
5.	Chymopapain	C1=C(C=C(C(=C1O)O)S(=O)(=O)O)S(=O)(=O)O	0,914	Vasoprotector

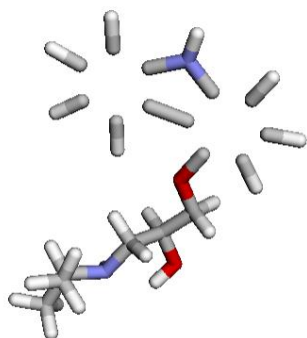
6.	Epicatechin	<chem>C1C(C(OC2=CC(=CC(=C21)O)O)C3=CC(=C(C=C3)O)O)O</chem>	0,652	Vasoprotector
7.	Ferulic acid	<chem>COC1=C(C=CC(=C1)C=CC(=O)O)O</chem>	0,753 0,666	Vasoprotector Vasodilator peripheral
8.	Gallic acid	<chem>C1=C(C=C(C(=C1O)O)O)C(=O)O</chem>	0,565	Vasoprotector
9.	Genistein	<chem>C1=CC(=CC=C1C2=COC3=CC(=CC(=C3C2=O)O)O)O</chem>	0,822	Vasoprotector
10.	Kaempferol	<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
11.	Lauric-acid	<chem>CCCCCCCCC CCC(=O)O</chem>	0,834 0,642	Vasoprotector Vasodilator
12.	Linoleic-acid	<chem>CCCCC=CCC=CCCCCCC CC(=O)O</chem>	0,852 0,509	Vasoprotector Vasodilator
13.	Luteolin	<chem>C1=CC(=C(C=C1C2=CC(=O)C3=C(C=C(C=C3O2)O)O)O)O</chem>	0,901	Vasoprotector
14.	Myricetin	<chem>C1=C(C=C(C(=C1O)O)O)C2=C(C(=O)C3=C(C=C(C=C3O2)O)O)O</chem>	0,800 0,562	Vasoprotector Vasodilator
15.	Myristic-acid	<chem>CCCCCCCCCCCCCCC(=O)O</chem>	0,834 0,642	Vasoprotector Vasodilator, peripheral
16.	Naringenin	<chem>C1C(OC2=CC(=CC(=C2C1=O)O)O)C3=CC=C(C=C3)O</chem>	0,70	Vasoprotector
17.	Niacin	<chem>C1=CC(=CN=C1)C(=O)O</chem>	0,647	Vasodilator, peripheral
18.	Nicotine	<chem>CN1CCCC1C2=CN=CC=C2</chem>	0,588 0,573	Vasodilator, peripheral Vasoprotector
19.	Oleic-acid	<chem>CCCCCCCCC=CCCCCCC CC(=O)O</chem>	0,872 0,711	Vasoprotector Vasodilator, peripheral
20.	Palmitic-acid	<chem>CCCCCCCCCCCCCCCCC(=O)O</chem>	0,834 0,642	Vasoprotector Vasodilator, peripheral
21.	P-coumaric acid	<chem>C1=CC(=CC=C1C=CC(=O)O)O</chem>	0,735 0,606	Vasoprotector Vasodilator, peripheral
22.	Quercetin	<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	<chem>CC1C(C(C(C(O1)OCC2C(C(C(C(O2)OC3=C(OC4=CC(=CC(=C4C3=O)O)O)O)C5=C(C=C(C=C5)O)O)O)O)O)O)O</chem>	0,980 0,740	Vasoprotector Vasodilator

Keterangan: Hasil melalui skrining PASS online menunjukkan bahwa senyawa senyawa dengan $Pa > 0.5$ memiliki potensi sebagai vasoprotector dan vasodilator. Senyawa-senyawa ini berperan untuk melindungi pembuluh darah dari vasokonstriksi pembuluh darah.

Hasil Uji Validitas Penambatan Molekular

Proses validasi menggunakan obat yang sudah memiliki native ligan dari protein reseptor yang sesuai, selanjutnya protein tersebut dilakukan proses preparasi protein. Uji validitas berdasar pada *Root Mean Square Deviation (RMSD)* yang ditampilkan penambatan molekul antara native ligan yang telah dipreparasi dengan protein $\beta 1$ adrenergik dan protein enzim PAH.

Pada penelitian ini, berdasarkan hasil validasi pada **gambar 1 dan 2 serta tabel 3** yaitu didapatkan hasil penambatan pada obat kontrol Carazolol dengan protein $\beta 1$ adrenergik sebesar 0.11 Å, dan penambatan pada obat kontrol L-DOPA dengan protein enzim PAH sebesar 1.4 Å. Hasil dinyatakan valid jika nilainya kurang dari 2 Å.



Gambar 1: Validasi native ligan Carazolol

Tabel 3. Hasil Validasi Penambatan Molekular

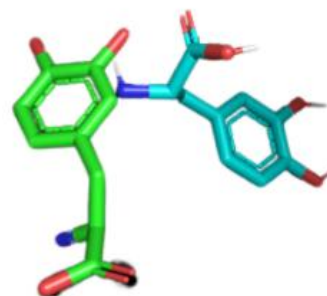
Native ligan	Jumlah Pengulangan	Rata-rata $\pm$ SD Nilai RMSD
Carazolol	8 kali <i>running docking</i>	0.11 $\pm$ 0.02
L-DOPA	8 kali <i>running docking</i>	1.48 $\pm$ 0.031

Tabel 4. Hasil Uji Penambatan Molekul Senyawa Aktif Daun Pepaya (*Carica papaya*) terhadap $\beta 1$ Adrenergik

No.	Senyawa Aktif (Ligan)	Nilai Energi Ikatan Bebas (kkal/mol)	Residu Asam Amino	Persentase Ikatan Asam Amino (%)
	Human Beta 1 Adrenergic Receptor Bound To Carazolol (Native Ligan) PDB Code: 7BVQ	-9.7	Hidrogen: SER1228, ASN1363, ASP1138, TYR1367 Hidrofobik: PHE1341, PHE1218, VAL1139, VAL1142, TRP1134	9/9 (100%)

Hasil Uji Penambatan Molekul Senyawa Aktif Pada Daun Pepaya (*Carica papaya*) terhadap $\beta 1$ Adrenergik

Hasil evaluasi penambatan senyawa aktif pada daun pepaya (*Carica papaya*) terhadap protein $\beta 1$ adrenergik dibandingkan Carazolol yang dapat dilihat pada **tabel 4**. Hasil uji penambatan antara kontrol Carazolol dan $\beta 1$ adrenergik didapatkan nilai energi ikatan bebas (ΔG) yaitu -9.7 kkal/mol dengan total persentase residu asam amino yang didapat ialah 9 buah yaitu ikatan hidrogen SER1228, ASN1363, ASP1138, TYR1367 dan ikatan hidrofobik PHE1341, PHE1218, VAL1139, VAL1142, TRP1134.



Gambar 2: Validasi native ligan L-DOPA

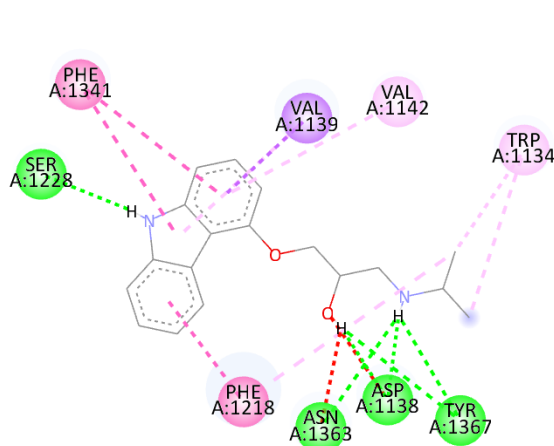
Setelah itu, hasil *docking* antara ligan *docking* antara ligan, yaitu senyawa aktif pada daun pepaya (*Carica papaya*) dengan $\beta 1$ Adrenergik dibandingkan. Berdasarkan parameter ikatan energi bebas (ΔG) dan persentase residu asam amino, diperoleh hasil bahwa senyawa aktif daun pepaya yang memiliki afinitas terhadap $\beta 1$ adrenergik adalah rutin, luteolin, genistein, quercetin dan myricetin.

1.	Rutin (CID: 5280805)	-11.6	Hidrogen: ASP1138 , LYS1347, THR1135, ASN1344, PHE1218 , ARG1351, TRP1364, GLY1115 Hidrofobik: VAL1139 , PHE1341 , VAL1142 , VAL1360, ILE1118	5/9 (55.5%)
2.	Luteolin (CID: 5280445)	-9.9	Hidrogen: ASN1344, VAL1139 , THR1143 Hidrofobik: VAL1142 , PHE1341 , PHE1340, PHE1218	4/9 (44.4%)
3.	Genistein (CID: 5280961)	-9.8	Hidrogen: THR1143, VAL1139 , SER1228 , PHE1218 Hidrofobik: PHE1341 , VAL1142 , PHE1340	5/9 (55.5%)
4.	Naringenin (CID: 439246)	-9.8	Hidrogen: ASN1344, VAL1139 , THR1143 Hidrofobik: PHE1218 , PHE1340, PHE1341 , VAL 1142 Lain-lainnya: ALA156, VAL153, MET180	3/9 (33.3%)
5.	Myricetin (CID: 5281672)	-9.3	Hidrogen : VAL1139 , SER1232, SER1228 , ASN1363, ASP1138 , ASN1344 Hidrofobik: PHE1340, PHE1341 , PHE1218 Lain-lainnya: SER1229	6/9 (66.6%)
6.	Quercetin (CID: 5280343)	-9.2	Hidrogen: VAL1139 , SER1228 , SER1229, ASN1344, ASP1138 Hidrofobik: PHE1340, PHE1341 , PHE1218	5/9 (55.5%)
7.	Kaempferol (CID: 5280863)	-9.2	Hidrogen: ASP1138 Hidrofobik: VAL1139 Lain-lainnya: ASN1363	3/9 (33.3%)
8.	Epicatechin (CID: 72276)	-9.1	Hidrogen: SER1228 , THR1143 Hidrofobik: VAL1139 , VAL1142 , PHE1341 , PHE1218 , PHE1340	5/9 (55.5%)
9.	Ferulic acid (CID: 445858)	-7.6	Hidrogen: SER1228 , SER1229, TYR1367 , ASN1363 Hidrofobik: VAL1139 , VAL1142 , PHE1218 , PHE1340	6/9 (66.6%)
10.	Caffeic-acid (CID: 689043)	-7.5	Hidrogen : SER1232, THR1143, ASP1138 Hidrofobik: VAL1139	2/9 (22.2%)
11.	P-coumaric acid (CID: 637542)	-7.4	Hidrogen: ASN1344, SER1228 , ASN1363 Hidrofobik: VAL1142 , VAL1139 Lain-lainnya: ASP1138	4/9 (44.4%)
12.	Alpha ionone (CID: 528108)	-7.1	Hidrofobik: PHE1341 , PHE1218 , PHE1139, PHE1340, VAL1142 , TRP1337	3/9 (33.3%)
13.	Chymopapain (CID: 9002)	-7.0	Hidrogen: SER1229, SER1228 , ASN1344, ASP1138 Hidrofobik: PHE1340, VAL1139 Lain-lainnya: PHE1218	4/9 (44.4%)

14.	Linoleic-acid (CID: 5280450)	-6.8	Hidrogen: SER1228 , ASN1344 Hidrofobik: PHE1359, PHE1218 , PHE1341 , PHE1340, VAL1139 , VAL1142 , TRP1134	6/9 (66.6%)
15.	Oleic-acid (CID: 445639)	-6.5	Hidrogen: ASN1344 Hidrofobik: VAL1139 , PHE1341 , PHE1142, PHE1340, PHE1218 , PHE1359	3/9 (33.3%)
16.	Myristic-acid (CID: 11005)	-6.4	Hidrogen: ASN1344, SER1228 Hidrofobik: VAL1142 , PHE1340, TRP1337, VAL1139 , PHE1341 , PHE1218	5/9 (55.5%)
17.	Nicotine (CID: 89594)	-6.4	Hidrogen: ASP1138 , ASN1363 Hidrofobik: PHE1218 , PHE1340, VAL1139 , VAL1142 , PHE1342	5/9 (55.5%)
18.	Gallic acid (CID: 370)	-6.4	Hidrogen: ASP1138 , SER1229 Hidrofobik: PHE1341 , VAL1139	3/9 (33.3%)
19.	Palmitic-acid (CID: 985)	-6.3	Hidrogen: CYS1216 Hidrofobik: VAL1142 , VAL1139 , PHE1340, PHE1341 , PHE1218	4/9 (44.4%)
20.	Lauric-acid (CID: 3893)	-6.1	Hidrogen: TYR1224, SER1228 Hidrofobik: VAL1142 , VAL1139 , PHE1341 , PHE1340, PHE1218	5/9 (55.5%)
21.	Ascorbic-acid (CID: 54670067)	-6.0	Hidrogen : SER1232, ALA1225, SER1229, VAL1139 , THR1143 Lain-lainnya: ASN1344	1/9 (11.1%)
22.	Niacin (CID: 938)	-5.6	Hidrogen: SER1228 , VAL1139 , THR1143 Hidrofobik: PHE1341	3/9 (33.3%)
23.	Carpaine (CID: 442630)	-3.9	-	0/9 (0%)

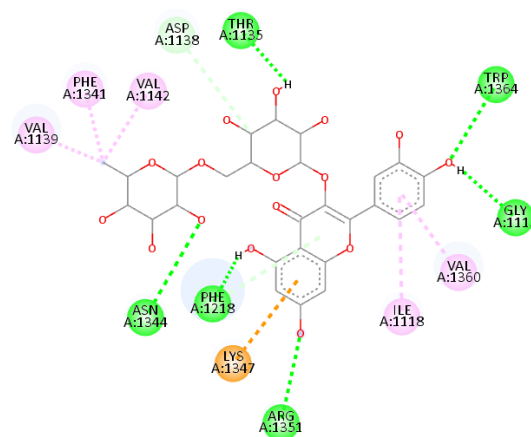
Keterangan: ΔG yaitu Ikatan Energi Bebas. Dari tabel hasil diatas, didapatkan hasil yaitu 5 senyawa mempunyai afinitas terbaik berurutan yaitu Rutin, Luetolin, Genistein, Naringenin, Myricetin.

Interaksi Intermolekuler Antara Senyawa Aktif Daun Pepaya (*Carica papaya*) terhadap $\beta 1$ Adrenergik Divisualisasikan Pada Gambar Di Bawah Ini



Gambar 3: Visualisasi 2D Carazolol

Visualisasi interaksi native ligan Carazolol terhadap $\beta 1$ adrenergik kode 7BVQ. Carazolol berikatan pada *binding site* Ser1228, Asn1363, Asp1138, Tyr1367, Phe1341, Phe1218, Val1139, Val1142, Trp1134.



Gambar 4: Visualisasi 2D Rutin

Visualisasi interaksi rutin terhadap $\beta 1$ adrenergik kode 7BVQ. Rutin berikatan pada *binding site* Asp1138, Phe1218, Val1139, Phe1341, Val1142.

Hasil Uji Penambatan Molekul Senyawa Aktif Daun Pepaya (*Carica papaya*) Terhadap Enzim PAH

Hasil evaluasi penambatan senyawa aktif daun pepaya (*Carica papaya*) terhadap protein enzim PAH dibandingkan Carazolol yang dapat dilihat pada **tabel 5**. Hasil penambatan antara kontrol L-DOPA dan enzim PAH didapatkan nilai energi ikatan bebas (ΔG) yaitu -6.5 kkal/mol dan persentase total residu asam amino yang didapat ialah 5 buah antara

lain ikatan hidrogen HIS290, ikatan hidrofobik PHE254, PRO281, dan ikatan lainnya TYR325, GLU330. Setelah itu, hasil *docking* antara ligan *docking* antara ligan, yaitu senyawa aktif pada daun pepaya (*Carica papaya*) dengan enzim PAH dibandingkan. Berdasarkan parameter ikatan energi bebas (ΔG) dan persentase residu asam amino, diperoleh hasil bahwa senyawa aktif daun pepaya yang memiliki afinitas terhadap enzim PAH adalah *naringenin*, *kaempferol*, *quercetin*.

Tabel 5. Hasil Uji Penambatan Molekul Senyawa Aktif Daun Pepaya (*Carica papaya*) terhadap Enzim PAH

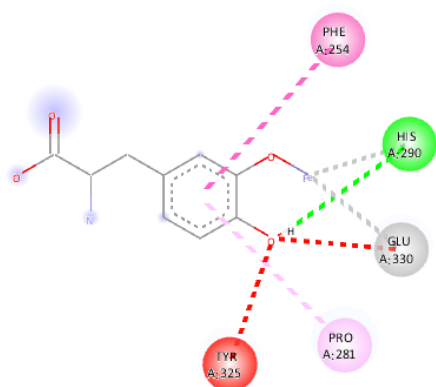
No.	Senyawa Aktif (Ligan)	Nilai Energi Ikatan Bebas (kkal/mol)	Residu Asam Amino	Persentase Ikatan Asam Amino (%)
	Human Phenylalanine Hydroxylase Catalytic Domain Dimer With Bound L-Dopa (3,4-Dihydroxyphenylalanine) Inhibitor (Native Ligan) PDB Code: 6PAH	-6.5	Hidrogen: HIS290 Hidrofobik: PHE254, PRO281 Lain-lainnya: TYR325, GLU330	5/5 (100%)
1.	Naringenin (CID: 439246)	-9.9	Hidrogen: GLU182 Van der Waals: ARG157 Lain-lainnya: ALA156, VAL153, MET180	0/5 (0%)
2.	Kaempferol (CID: 5280863)	-9.9	Hidrogen: ARG157 Lain-lainnya: MET180, VAL153, ALA156	0/5 (0%)
3.	Quercetin (CID: 5280343)	-9.7	Hidrogen: ARG157 Lain-lainnya: MET180, VAL153, ALA156, PRO152	0/5 (0%)
4.	Luteolin (CID: 5280445)	-9.6	Hidrogen: ARG157, PRO152 Lain-lainnya: GLU182, MET180, VAL153, ALA156	0/5 (0%)
5.	Genistein (CID: 5280961)	-9.2	Hidrofobik: ARG157 Lain-lainnya: ALA156, VAL153, MET180, GLU180	0/5 (0%)
6.	Epicatechin (CID: 72276)	-9.2	Hidrofobik: ARG157 Lain-lainnya: ALA156, VAL153, MET180, GLU180	0/5 (0%)
7.	Myricetin	-9.2	Hidrogen: ARG157	0/5 (0%)

	(CID: 5281672)		Lain-lainnya: GLU182, VAL153, PRO152, ALA156, MET180	
8.	Rutin (CID: 5280805)	-9.2	Hidrogen: ASP151 Hidrofobik: ALA156 Lain-lainnya: MET180, VAL153, ARG157, TYR154	0/5 (0%)
9.	Carpaine (CID: 442630)	-8.5	Lain-lainnya: GLU182, MET180, ARG157, VAL153, ALA156, PRO152	0/5 (0%)
10.	Alpha ionone (CID: 5282108)	-7.4	Hidrofobik: ARG157 Lain-lainnya: MET180, VAL153	0/5 (0%)
11.	Chymopapain (CID: 9002)	-7.0	Hidrofobik: ARG157 Lain-lainnya: VAL153, MET180, ALA156	0/5 (0%)
12.	Caffeic-acid (CID: 689043)	-7.0	Hidrogen: GLU182 Lain-lainnya: ALA156, VAL153, MET180	0/5 (0%)
13.	Ferulic acid (CID: 445858)	-6.9	Hidrogen: GLU182 Hidrofobik: ARG157, ALA156 Lain-lainnya: VAL153, MET180	0/5 (0%)
14.	Oleic-acid (CID: 445639)	-6.7	Lain-lainnya: ALA156, ARG157, MET180, GLU182, PTO152, VAL153	0/5 (0%)
15.	Linoleic-acid (CID: 5280450)	-6.6	Hidrofobik: ARG157 Lain-lainnya: ALA156, VAL153, MET180	0/5 (0%)
16.	P-coumaric acid (CID: 637542)	-6.5	Hidrogen: GLU182 Lain-lainnya: ALA156, VAL153, MET180	0/5 (0%)
17.	Myristic-acid (CID: 11005)	-6.2	Hidrofobik: MET180 Lain-lainnya: GLU181, GLU192, VAL153, ALA156	0/5 (0%)
18.	Palmitic-acid (CID: 985)	-6.2	Lain-lainnya: GLU181, GLU182, MET180, VAL153, ALA156	0/5 (0%)
19.	Gallic acid (CID: 370)	-6.1	Lain-lainnya: VAL153, MET180	0/5 (0%)
20.	Niacin (CID: 938)	-6.1	Hidrofobik: MET180 Lain-lainnya: VAL153	0/5 (0%)
21.	Nicotine (CID: 89594)	-6.0	Hidrofobik: MET180, ALA156, ARG157	0/5 (0%)

			Lain-lainnya: VAL153	
22.	Lauric-acid (CID: 3893)	-5.7	Hidrofobik: MET180	0/5 (0%)
			Lain-lainnya: GLU182, ALA156, VAL153	
23.	Ascorbic-acid (CID: 54670067)	-5.5	Lain-lainnya: VAL153, MET180	0/5 (0%)

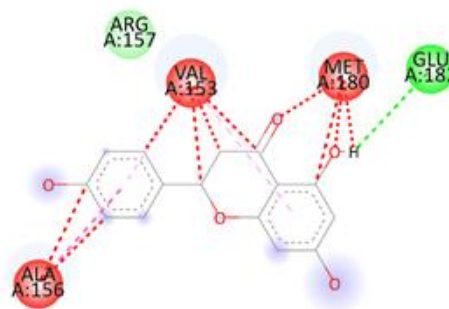
Keterangan: ΔG yaitu Ikatan Energi Bebas. Dari tabel hasil diatas, didapatkan hasil yaitu 5 senyawa mempunyai afinitas terbaik berurutan yaitu Naringenin, Kaempferol, Quercetin, Luteolin, Genistein.

Interaksi Intermolekuler Antara Senyawa Aktif Daun Pepaya (*Carica papaya*) terhadap Enzim PAH Divisualisasikan Pada Gambar Di Bawah Ini



Gambar 5: Visualisasi 2D L-DOPA

Visualisasi interaksi native ligan L-DOPA terhadap Enzim PAH kode 6PAH. L-DOPA berikatan pada *binding site* His290, Phe254, Pro281, Tyr325, Glu330.



Gambar 5: Visualisasi 2D Naringenin

Visualisasi interaksi *naringenin* terhadap Enzim PAH kode 6PAH. Rutin berikatan pada *binding site* Glu182, Arg157, Ala156, Val153, Met180

Hasil Uji Prediksi Sifat Fisikokimia Pada Senyawa Aktif Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya*) Menggunakan pKCSM Online Tool

Hasil prediksi pada sifat fisikokimia dari 23 senyawa aktif pada daun pepaya (*Carica papaya*) menggunakan pKCSM Online Tool dapat dilihat pada **tabel 6** berikut. Berdasarkan hasil evaluasi prediksi sifat fisikokimia pada 23

senyawa aktif daun pepaya (*Carica papaya*) pada **tabel 6**, sebanyak 5 senyawa aktif terbaik yang memenuhi kriteria *Lipinski Rule of Five* yaitu *naringenin*, *kaempferol*, *luteolin*, *myricetin*, *quercetin*, *genistein*, dan *epicatechin* yang termasuk golongan flavonoid. Adapun sebanyak 2 senyawa aktif tidak memenuhi kriteria *Lipinski Rule of Five* yakni *carpaine* yang merupakan golongan alkaloid dan *rutin* yang termasuk golongan flavonoid.

Tabel 6. Hasil Uji Prediksi Sifat Fisikokimia Dari Senyawa Aktif Pada Daun Pepaya (*Carica Papaya*)

No.	Nama Senyawa Aktif	CID	Rumus Kimia	Parameter <i>Lipinski Rule OF Five</i>				Memenuhi Aturan Lipinski Rule of Five
				BM (g/mol)	Log P	HBA	HBD	
1.	Alpha ionone	528108	C ₁₃ H ₂₀ O	192.30	2.94	1	0	Ya
2.	Ascorbic acid	54670067	C ₆ H ₈ O ₆	176.12	-2.60	6	4	Ya
3.	Caffeic acid	689043	C ₉ H ₈ O ₄	180.16	0.70	4	3	Ya
4.	Carpaine	442630	C ₂₈ H ₅₀ N ₂ O ₄	478.71	3.75	6	2	Ya
5.	Chymopapain	9002	C ₆ H ₆ O ₈ S ₂	270.24	-0.72	8	4	Ya
6.	Epicatechin	72276	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	290.27	0.24	6	5	Ya

7.	Ferulic acid	445858	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	194.18	1.00	4	2	Ya
8.	Gallic acid	370	C ₇ H ₆ O ₅	170.12	-0.16	5	4	Ya
9.	Genistein	5280961	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	270.24	0.52	5	3	Ya
10.	Kaempferol	5280863	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	286.24	-0.03	6	4	Ya
11.	Lauric acid	3893	C ₁₂ H ₂₄ O ₂	200.32	3.15	2	1	Ya
12.	Linolenic acid	5280450	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	278.43	4.38	2	1	Ya
13.	Luteolin	5280445	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	286.24	-0.03	6	4	Ya
14.	Myricetin	5281672	C ₁₅ H ₁₀ O ₈	318.24	-1.08	8	6	Tidak
15.	Myristic acid	11005	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	228.37	3.69	2	1	Ya
16.	Naringenin	439246	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	272.25	0.71	5	3	Ya
17.	Niacin	938	C ₅ H ₄ NCOOH	123.11	-1.13	3	1	Ya
18.	Nicotine	89594	C ₁₀ H ₁₄ N ₂	162.23	1.17	2	0	Ya
19.	Oleic acid	445639	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	282.46	4.57	2	1	Ya
20.	Palmitic-acid	985	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256.42	4.19	2	1	Ya
21.	P-coumaric acid	637542	C ₉ H ₈ O ₃	164.16	1.28	3	2	Ya
22.	Quercetin	5280343	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	302.24	-0.56	7	5	Ya
23.	Rutin	5280805	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	610.52	-3.89	16	10	Tidak

Keterangan: BM = Berat Molekul, LogP = Lipofilisitas, HBA = *Hydrogen Bond Acceptor*, HBD = *Hydrogen Bond Donor*. Data hasil uji prediksi pada sifat fisikokimia 23 senyawa aktif pada daun pepaya (*Carica papaya*) dengan kontrol Carazolol dan L-DOPA

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

Hasil prediksi parameter farmakokinetik ADMET untuk 23 senyawa aktif pada daun pepaya (*Carica papaya*) menggunakan pKCSM Online Tool dapat dilihat pada **tabel 7** berikut ini. Berdasarkan hasil prediksi ADMET pada **tabel 7** didapatkan senyawa aktif terbaik yaitu, *luteolin*. Senyawa *luteolin* dapat diabsorbsi dengan baik di intestinal karena memiliki nilai absorpsi lebih dari 30% dan nilai permeabilitas Caco2 >0.90.

Beberapa senyawa aktif tersebut memiliki nilai VDss >0,15 dan nilai log BBB >0,3 sehingga diprediksi mampu terdistribusi dan menembus *Blood Brain Barrier* (BBB). *Quercetin*, *luteolin*, *kaemperol*, *genistein*, dan *myricetin* berungsi sebagai inhibisi dari CYP450, sedangkan *rutin* tidak memiliki efek aktivasi maupun inhibisi terhadap enzim CYP450. Senyawa aktif tersebut memiliki nilai CLTOT >0.2 sehingga diprediksi dapat dieksresikan secara normal. Senyawa aktif tersebut tidak bersifat toksik maupun karsinogenik.

Tabel 7. Hasil Uji Prediksi Farmakokinetik ADMET dari Senyawa Aktif Pada Daun Pepaya (*Carica papaya*)

No	Nama Senyawa	Absorpsi		Distribusi		Metabolism		Excretion	Toxicity	
		IA (%)	Per. Caco2 (10 ⁻⁶ cm/s)	VDss (Log L/Kg)	BBB (log BB)	CYP 2D6	CYP 3A4	CLTOT (log ml/min/kg)	AMES	LD50 (mg/Kg)
1.	Alpha ionone	95.769	1.513	0.314	0.601	Tidak	Tidak	0.213	Tidak	1.651
2.	Ascorbic acid	39.154	-0.255	0.218	-0.985	Tidak	Tidak	0.631	Tidak	1.063
3.	Caffeic acid	69.407	0.634	-1.098	-0.647	Tidak	Tidak	0.508	Tidak	2.383
4.	Carpaine	91.891	-4.724	0.812	-0.351	Tidak	Ya	0.856	Tidak	2.968

5.	Chymopapain	6.085	-1.056	-1.035	-1.409	Tidak	Tidak	0.558	Tidak	2.462
6.	Epicatechin	68.829	-0.283	1.027	-1.054	Tidak	Tidak	0.183	Tidak	2.428
7.	Ferulic acid	93.685	0.176	-1.367	-0.239	Tidak	Tidak	0.623	Tidak	2.282
8.	Gallic acid	43.374	-0.081	-1.855	-1.102	Tidak	Tidak	0.518	Tidak	2.218
9.	Genistein	93.387	0.9	0.094	-0.71	Tidak	Tidak	0.151	Tidak	2.268
10.	Kaempferol	74.29	0.032	1.274	-0.939	Tidak	Tidak	0.477	Tidak	2.449
11.	Lauric acid	93.379	1.562	-0.631	0.057	Tidak	Tidak	1.623	Tidak	1.511
12.	Linoleic acid	92.329	1.57	-0.587	-0.142	Tidak	Ya	1.936	Tidak	1.429
13.	Luteolin	81.13	0.096	1.153	-0.907	Tidak	Tidak	0.495	Tidak	2.455
14.	Myricetin	65.93	0.095	1.317	-1.493	Tidak	Tidak	0.422	Tidak	2.497
15.	Myristic acid	92.691	1.56	-0.578	-0.027	Tidak	Tidak	1.693	Tidak	1.477
16.	Naringenin	91.31	1.029	-0.015	-0.578	Tidak	Tidak	0.06	Tidak	1.791
17.	Niacin	94.099	1.17	-1.015	-0.323	Tidak	Tidak	0.652	Tidak	2.24
18.	Nicotine	95.867	1.671	0.595	0.208	Tidak	Tidak	0.86	Tidak	2.432
19.	Oleic acid	91.823	1.563	-0.588	-0.168	Tidak	Ya	1.884	Tidak	1.417
20.	Palmitic-acid	92.004	1.558	-0.543	-0.111	Tidak	Ya	1.763	Tidak	1.44
21.	P-coumaric acid	93.494	1.21	-1.151	-0.225	Tidak	Tidak	0.662	Tidak	2.155
22.	Quercetin	77.207	-0.229	1.559	-1.098	Tidak	Tidak	0.407	Tidak	2.471
23.	Rutin	23.446	-0.949	1.663	-1.899	Tidak	Tidak	-0.369	Tidak	2.491

Keterangan: AI = Absorpsi Intestinal, Per. Caco2 = Permeabilitas Caco2, Vdss = *Volume Distribution Steady State*, BBB = *Blood Brain Barrier*, CYP2D6 dan CYP3A4 inhibitor = Sitokrom P450, CLTOT = *Clearance Total*, AMES = *Ames Toxicity*, LD50 = *Oral Rat Acute Toxicity*. Tabel hasil prediksi ADMET dari 23 senyawa aktif daun pepaya (*Carica papaya*) dengan kontrol Carazolol dan L-DOPA.

PEMBAHASAN

Validitas Penambatan Senyawa Aktif Daun Pepaya (*Carica papaya*)

Nilai RMSD ditentukan oleh adanya jarak penyimpangan yang dihasilkan oleh protein hasil *redocking* terhadap posisi native ligan. Dalam hal ini, parameter yang digunakan untuk menilai hal tersebut adalah RMSD (*Root Mean Square Deviation*), dimana metode penambatan dapat dikatakan valid apabila nilai RMSD antara konformasi ligan asli dengan konformasi ligan hasil *redocking* memiliki nilai maksimal 2 Å. Pada penelitian ini, didapatkan hasil penambatan pada obat kontrol Carazolol dengan protein $\beta 1$ adrenergik sebesar 0.11 Å, dan penambatan pada obat kontrol L-DOPA dengan protein enzim PAH sebesar 1.4 Å. Sehingga keduanya dapat digunakan sebagai kontrol.

Penambatan Senyawa Aktif Daun Pepaya (*Carica papaya*) Terhadap $\beta 1$ Adrenergik dan Enzim PAH

Energi ikatan bebas (ΔG) atau *binding affinity* merupakan besarnya ukuran energi yang diperukan oleh suatu ligan untuk berinteraksi atau berikatan pada *binding site* dengan protein target. Jika nilai energi ikatan bebas (ΔG) semakin negatif, maka afinitasnya akan cenderung menjadi lebih besar, lebih kuat, dan lebih stabil²⁴. Proses interaksi yang terjadi antara ligan dengan residu asam amino makromolekul sebagai ikatan hidrogen, hidrofobik, dan ikatan lainnya²⁵.

Hasil penambatan molekul pada penelitian terhadap 23 senyawa aktif daun pepaya pada protein $\beta 1$ adrenergik menunjukkan bahwa terdapat senyawa-senyawa memiliki nilai afinitas lebih baik dibandingkan dengan Carazolol yaitu golongan flavonoid antara lain *naringenin*, *genistein*, *luteolin*, dan *rutin*. Berdasarkan dari

nilai ΔG yang didapatkan, keempat senyawa tersebut memiliki nilai yang lebih rendah jika dibandingkan dengan Carazolol sebagai *native ligand* yang menunjukkan bahwa senyawa-senyawa ini dapat berikatan lebih efektif dibanding obat kontrol. Nilai ΔG yang semakin rendah menandakan ikatan kompleks sebuah ligan-reseptor yang lebih kuat dan stabil²⁴. Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan sebelumnya, terdapat kemungkinan bahwa flavonoid dapat menekan sistem katekolamin hiperaktif yang dipicu oleh stres berkepanjangan atau rangsangan emosional, yang merangsang sekresi berlebihan katekolamin dari medula adrenal²⁶. Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa senyawa aktif daun pepaya (*Carica papaya*) diperkirakan dapat bekerja serupa dengan Carazolol dalam menghambat $\beta 1$ Adrenergik dengan potensi lebih rendah.

Carazolol adalah agonis dengan afinitas tinggi yang juga dikenal sebagai obat golongan beta blocker dari reseptor β -adrenergik²⁷. Penghambatan reseptor $\beta 1$ adrenergik dapat mencegah saat tubuh membutuhkan suplai darah, jantung memenuhi suplai tersebut dengan cara mengaktifkan sistem saraf simpatis dan katekolamin akan menstimulasi untuk meningkatkan kinerja kontraksi otot jantung dan curah jantung². Namun, obat golongan beta-blocker ini memiliki efek samping dikarenakan reseptor beta ditemukan di seluruh tubuh dan dapat memicu berbagai efek samping seperti bradikardi, hipotensi, kelelahan, pusing²⁸.

Naringenin merupakan salah satu senyawa yang termasuk pada golongan flavonoid. Naringenin menunjukkan berbagai efek sistem kardiovaskular, antara lain efek anti-hipertensi, penurunan lipid, serta sifat antioksidan dan anti-inflamasi²⁹. Efek hipotensi dari naringenin dimediasi oleh penurunan jalur sinyal reseptor mineralocorticoid receptor (MCR)/angiotensin-converting enzyme (ACE)/renal injury molecule (Kim-1)³⁰.

Genistein adalah satu metabolit sekunde dan merupakan senyawa golongan flavonoid. Berbagai efek biologis genistein telah dilaporkan dalam studi pra-klinis, termasuk aktivitas antioksidan, anti-inflamasi, antibakteri, dan antivirus, serta aktivitas farmakologisnya terhadap diabetes dan metabolisme lipid³¹. Pada penelitian terdahulu, didapatkan bahwa genistein memiliki efek hipotensi yang dilakukan pada uji *in vivo*. Efek hipotensi tersebut didasarkan pada vasodilatasi

dengan adanya penghambatan terhadap vasokonstriksi dan gangguan sistem renin-angiotensin-aldosteron (RAA). Efek ini memengaruhi baik pada otot polos vaskular maupun endotelium akibat pengaruhnya terhadap berbagai jalur seperti peningkatan aktivasi cAMP dan peningkatan konsentrasi eNOS³².

Luteolin adalah senyawa aktif golongan flavonoid. Pada penelitian sebelumnya, luteolin mampu secara langsung dalam menurunkan tekanan darah pada arteri dan penebalan pada dinding aorta secara *in vivo*³³.

Rutin merupakan senyawa aktif dari golongan flavonoid. Penelitian terdahulu menunjukkan bahwa rutin menghambat *Angiotensin Converting Enzyme* (ACE), *Angiotensin 2 Type 1 Receptor* (ATR1), dan *Mineralocorticoid Receptor* (MCR) yang setara dengan obat ACE inhibitor yaitu Lisinopril³⁴.

Hasil penambatan molekul pada penelitian terhadap 23 senyawa aktif daun pepaya terhadap protein enzim PAH menunjukkan bahwa 15 dari 23 senyawa memiliki nilai afinitas yang lebih baik dibandingkan dengan obat kontrolnya yaitu L-DOPA. Dari 15 senyawa tersebut didapatkan 5 senyawa yang memiliki nilai afinitas tertinggi terhadap enzim PAH dibandingkan dengan obat kontrol dengan berurutan yaitu *naringenin*, *kaempferol*, *quercetin*, *luteolin*, dan *genistein*. Namun, jika dilihat dari nilai presentase kemiripan residu asam amino semua senyawa yang diujikan sebesar 0% yang menunjukkan bahwa tidak didapatkan potensi kesamaan aktivitas antara senyawa uji dan *native ligand*³⁵.

Prediksi Sifat Fisikokimia Senyawa Fitokimia Daun Pepaya (*Carica papaya*)

Uji sifat fisikokimia pada senyawa dibutuhkan untuk mengetahui kemiripan senyawa aktif yang diujikan dengan kontrol obat (*drug-likeness*) dimana pengujian tersebut berdasar pada kaidah *Lipinski Rule of Five*. Kaidah ini merupakan evaluasi prediksi kemiripan aspek fisikokimia dari suatu obat atau senyawa aktif mirip obat (*drug-likeness*) yang dirancang untuk pemberian secara oral.

Menurut kaidah *Lipinski Rule of Five*, dapat disimpulkan bahwa senyawa akan memiliki absorpsi yang baik jika terdapat lima kriteria yaitu massa molekul kurang dari 500 g/mol, lipofilisitas tinggi yang dinyatakan dengan LogP tidak lebih dari 5, jumlah ikatan hidrogen donor (Hydrogen Bond Donor/HBD)

tidak lebih dari 5, jumlah ikatan hidrogen akseptor (Hydrogen Bond Acceptor/HBA) tidak lebih dari 10, dan area permukaan kutub (*Polar Surface Area/PSA*) $\leq 140 \text{ \AA}^2$ ³⁶.

Senyawa aktif pada daun pepaya yang memenuhi kriteria *Lipinski Rule of Five* yaitu *luteolin*, *genistein*, *naringenin*, dan lainnya yang dapat dilihat pada **tabel 6** sehingga dapat larut dengan baik dan memiliki kemampuan absorpsi yang baik. Namun, ada beberapa senyawa seperti *myricetin* dan *rutin* yang tidak memenuhi kriteria *Lipinski Rule of Five*. Rutin memiliki berat molekul melebihi dari 500 dalton yaitu 610.52 g/mol, HBA 16 dan HBD 10 sehingga tidak memenuhi *Lipinski Rule of Five*.

Berat molekul berhubungan langsung dengan proses distribusi senyawa. Senyawa dengan berat molekul yang lebih dari 500 g/mol cenderung sulit menembus membran biologis dan memerlukan waktu yang lebih lama untuk diserap. Selain itu, nilai ikatan hidrogen donor dan akseptor berhubungan dengan aktivitas biologis senyawa. Jumlah ikatan hidrogen donor dan akseptor yang tinggi dapat meningkatkan energi yang diperlukan untuk proses absorpsi, sehingga memperlambat senyawa mencapai targetnya³⁷.

Prediksi Farmakokinetik ADMET Senyawa Fitokimia Daun Pepaya

Prediksi farmakokinetik yang melibatkan parameter ADMET (Absorpsi, Distribusi, Metabolisme, Eksresi dan Toksisitas) bertujuan untuk mengevaluasi keamanan, bioavailabilitas, dan efek toksik atau karsinogenik dari suatu senyawa aktif. Evaluasi ini mencakup indikator indikator ADMET seperti profil absorpsi intestinal, permeabilitas Caco2, *Volume of Distribution at Steady State* (VDss), *Blood Brain Barrier* (BBB). Jika senyawa terdeteksi sebagai substrat CYP2D6 dan CYP3A4, ini menunjukkan metabolisme yang baik. Selain itu, nilai *Total Clearance* (CLTOT), dan penilaian derajat ketoksikan melalui indikator *AMES Toxicity* dan LD50 juga digunakan untuk menentukan derajat ketoksikan.

Suatu senyawa akan dikatakan dapat diserap dengan baik di intestinal jika nilai parameternya menunjukkan angka diatas 30%²¹. Nilai absorpsi pada penelitian ini didapatkan hampir semua senyawa menunjukkan nilai diatas 30% kecuali senyawa *chymopapain* dan *rutin*. Permeabilitas pada sel Caco2 (*Human Colon Adenocarcinoma*) adalah parameter yang digunakan untuk memprediksi

penyerapan obat yang diberikan secara oral. Berdasarkan prediksi dengan pkCSM, suatu senyawa dikategorikan memiliki permeabilitas tinggi dan mudah menembus barrier sel Caco2 jika nilainya lebih besar dari 0.90 log Papp in 10^{-6} cm/s ²¹. Dari hasil pengukuran nilai parameter permeabilitas Caco2 didapatkan 11 senyawa yang memiliki nilai permeabilitas Caco2 diatas 0.90 log Papp in 10^{-6} cm/s yaitu *alpha ionone*, *genistein*, *lauric acid*, *linoleic acid*, *myristic acid*, *naringenin*, *niacin*, *nicotine*, *oleic acid*, *palmitic acid*, *p-coumaric acid*. Maka dari itu, senyawa-senyawa tersebut dapat dikatakan memiliki kemampuan permeabilitas terhadap sel Caco2 yang baik.

Profil distribusi dari suatu senyawa dapat diamati menggunakan indikator *Volume of Distribution at Steady State* (VDss) dan *Blood Brain Barrier* (BBB). Indikator VDss menggambarkan konsentrasi senyawa atau obat dalam aliran darah yang dipertahankan selama periode tertentu. Nilai VDss yang tinggi menunjukkan bahwa obat atau senyawa lebih banyak tersebar di jaringan daripada di plasma. Volume distribusi dinilai memiliki nilai rendah jika Log VD $< -0,15$ dan nilai tinggi jika $> 0,45$ ²¹. Hasil prediksi menunjukkan bahwa beberapa senyawa aktif seperti *carpaine*, *epicathecin*, *kaempferol*, *luteolin*, *myricetin*, *nicotine*, *quercetin*, dan *rutin* memiliki nilai VDss > 0.45 sehingga memiliki kemampuan mempertahankan dan mendistribusikan konsentrasi dalam rentang waktu tertentu. Nilai *Blood Brain Barrier* (BBB) digunakan untuk menilai mudah tidaknya suatu senyawa atau obat menembus sawar darah otak atau BBB. Senyawa dianggap dapat menembus BBB dengan baik jika memiliki nilai log BB $> 0,3$, sedangkan senyawa dianggap tidak dapat terdistribusi dengan baik jika log BB < -1 ²¹. Dari tabel hasil penelitian dapat dilihat bahwa hampir semua nilai logBB senyawa kecuali *chymopapain*, *gallic acid*, *myricetin*, dan *rutin* yang berkisar diantara -1 sampai 0.3. Sehingga keempat senyawa tersebut dapat diprediksi tidak mampu terdistribusi dan menembus sawar darah otak secara baik.

Metabolisme bertujuan untuk mengubah tingkat polaritas obat agar lebih mudah dikeluarkan dari tubuh melalui proses reaksi seperti oksidasi, reduksi, hidrolisis dan lain-lain. Sitokrom P450, enzim detoksifikasi penting dalam tubuh, yang terutama ditemukan di hati berperan penting dalam detoksifikasi dengan cara mengoksidasi senyawa organik asing, termasuk obat, dan membantu ekskresi

senyawa tersebut³⁸. Oleh karena itu, penting untuk menilai apakah senyawa dapat menghambat aktivitas sitokrom P450 khususnya P2D6 dan P3A4. Dari hasil penelitian yang ada pada **tabel 7** dapat dilihat bahwa hampir semua senyawa tidak memengaruhi maupun menghambat CYP2D6 dan CYP3A4, sehingga bisa diprediksi senyawa tersebut dapat dimetabolisme dengan baik di hati.

Prediksi proses ekskresi senyawa dapat dilakukan dengan mengevaluasi nilai *Total Clearance* (CLTOT) dan substrat *Renal Organic Cation Transporter 2* (OCT2). CLTOT mencakup kombinasi dari *hepatic clearance*, yaitu metabolisme di hati dan empedu serta *renal clearance*, yaitu ekskresi melalui ginjal. Nilai CLTOT yang baik dari suatu senyawa aktif harus diatas 0.2 log ml/min/kg²¹. Dari hasil penelitian yang dilakukan, dapat dilihat bahwa hampir semua nilai CLTOT senyawa memiliki nilai diatas 0.2 log ml/min/kg seperti *linoleic acid* dan *carpaine* sehingga dapat diekskresikan dengan normal agar tidak mengakibatkan akumulasi. Namun, untuk beberapa senyawa seperti *genistein* dan *naringenin* dengan nilai CLTOT dibawah 0.2 dapat diprediksikan memiliki potensi untuk menimbulkan akumulasi.

Uji AMES Toxicity adalah metode yang umum digunakan untuk menilai potensi mutagenik suatu senyawa menggunakan bahan uji bakteri³⁹. Senyawa dikatakan tidak berpotensi mengalami toksisitas apabila nilai LD₅₀ >5000 mg/Kg²¹. Pada penelitian ini didapatkan hasil bahwa seluruh senyawa tidak berpotensi menimbulkan efek toksisitas LD₅₀ maupun AMES Toxicity.

Dari uraian diatas dapat ditarik kesimpulan bahwa senyawa aktif yang memiliki afinitas, fisikokimia dan farmakokinetik yang baik terhadap $\beta 1$ adrenergik yaitu *luteolin*. Senyawa tersebut diprediksi memiliki bioavibilitas yang baik jika diberikan melalui rute oral. Namun, diperlukan penelitian lebih lanjut secara *in vitro* untuk mengevaluasi toksisitas dan kemampuan bioaktivitasnya, karena penelitian *in silico* hanya terbatas pada skrining dan prediksi senyawa aktif tanpa verifikasi pada hewan coba.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil dan analisis data yang telah dilakukan dan didapatkan dari

penelitian ini, dapat ditarik beberapa kesimpulan bahwa:

1. Didapatkan 4 senyawa aktif pada daun pepaya (*Carica papaya*) yaitu *rutin*, *luteolin*, *genistein*, dan *naringenin* yang diprediksi berpotensi paling tinggi sebagai anti-hipertensi karena dapat berikatan dengan protein target $\beta 1$ adrenergik dan memiliki afinitas yang lebih rendah dibandingkan kontrolnya.
2. Didapatkan 15 senyawa aktif pada daun pepaya (*Carica papaya*) yang memiliki afinitas yang lebih rendah dibandingkan kontrolnya diantaranya yaitu *naringenin*, *kaempferol* dan *quercetin*, tetapi semua senyawa aktif tidak dapat berikatan dengan sisi aktif protein target enzim PAH sehingga dapat diprediksi bahwa tidak didapatkan potensi kesamaan aktivitas antara senyawa uji dan *native ligand*.
3. Dari hasil penelitian penambatan molekular atau *molecular docking*, farmakokinetik dan fisikokimia didapatkan bahwa senyawa aktif yang memiliki nilai yang baik yaitu *luteolin*, *kaempferol* dan *quercetin*. Tiga senyawa tersebut diprediksi memiliki bioavibilitas yang baik jika diberikan melalui rute oral.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lanjutan secara *in vitro* untuk mengonfirmasi bahwa senyawa aktif pada daun pepaya (*Carica papaya*) mampu sebagai anti-hipertensi melalui jalur tersebut.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terima kasih disampaikan kepada IOM dan FK Unisma untuk pendanaan penelitian ini dan Dr. Apt. H. Yudi Purnomo, M.Kes sebagai *peer reviewer* atas dukungan dan arahnya.

DAFTAR PUSTAKA

1. Iqbal AMI, Jamal SF. Essential hypertension. . Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. 2023.
2. Najafi A, Sequeira V, Kuster DWD, van der Velden J. β -adrenergic receptor signalling and its functional consequences in the diseased heart. Vol. 46, European Journal of Clinical Investigation. Blackwell Publishing Ltd; 2016. p. 362–74.

3. John E. Hall., Michael E. Hall. Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology e-Book. 14th ed. Elsevier Health Sciences; 2020.
4. Ferdinand KC, Nasser SA. Management of Essential Hypertension. *Cardiol Clin.* 2017 May;35(2):231–46.
5. Bruning R, Dykes H, Jones TW, Wayne NB, Sikora Newsome A. Beta-Adrenergic Blockade in Critical Illness. Vol. 12, *Frontiers in Pharmacology.* Frontiers Media S.A.; 2021.
6. A'yun Q, Laily AN. Analisis Fitokimia Daun Pepaya (*Carica papaya* L.) The Phytochemical Analysis of Papaya Leaf (*Carica papaya* L.) at The Research Center of Various Bean and Tuber Crops Kendalpayak, Malang. 2015.
7. Brasil GA alexandre, 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.
8. Dedeo YA, Istiqomah AN, Sulaeman A. REVIEW OF ANTIHYPERTENSIVE ACTIVITY OF *Carica papaya* PLANTS REVIEW AKTIVITAS ANTIHIPERTENSI TANAMAN *Carica papaya*. 2022.
9. Dallakyan S, Olson AJ. Small-molecule library screening by docking with PyRx. *Methods in Molecular Biology.* 2015;1263:243–50.
10. Kondapuram SK, Sarvagalla S, Coumar MS. Docking-Based Virtual Screening Using PyRx Tool: Autophagy Target Vps34 as a Case Study. In: *Molecular Docking for Computer-Aided Drug Design.* Elsevier; 2021. p. 463–77.
11. Kim S, Thiessen PA, Bolton EE, Chen J, Fu G, Gindulyte A, et al. PubChem substance and compound databases. *Nucleic Acids Res.* 2016;44(D1):D1202–13.
12. Zardecki C, Dutta S, Goodsell DS, Voigt M, Burley SK. RCSB Protein Data Bank: A Resource for Chemical, Biochemical, and Structural Explorations of Large and Small Biomolecules. *J Chem Educ.* 2016 Mar 8;93(3):569–75.
13. Baroroh, S.Si., M.Biotek. U, Muscifa ZS, Destiarani W, Rohmatullah FG, Yusuf M. Molecular interaction analysis and visualization of protein-ligand docking using Biovia Discovery Studio Visualizer. *Indonesian Journal of Computational Biology (IJCB).* 2023 Jul 21;2(1):22.
14. Yuan S, Chan HCS, Hu Z. Using PyMOL as a platform for computational drug design. Vol. 7, *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science.* Blackwell Publishing Inc.; 2017.
15. Widiyana AP, Widiandani T, Siswodihardjo S. 5-O-Acetylpinostrobin derivatives inhibit estrogen alpha and progesterone receptors through a molecular docking approach. *Pharmacy Education.* 2024 May 1;24(3):244–50.
16. Sargsyan K, Grauffel C, Lim C. How Molecular Size Impacts RMSD Applications in Molecular Dynamics Simulations. *J Chem Theory Comput.* 2017 Apr 11;13(4):1518–24.
17. Lohidakshan K, Rajan M, Ganesh A, Paul M, Jerin J. Pass and Swiss ADME collaborated in silico docking approach to the synthesis of certain pyrazoline spacer compounds for dihydrofolate reductase inhibition and antimalarial activity. *Bangladesh J Pharmacol.* 2018 Jan 25;13(1):23.
18. Ferrari IV. Open access in silico tools to predict the ADMET profiling and PASS (Prediction of Activity Spectra for Substances of Bioactive compounds of Garlic (*Allium sativum* L.). 2021; Available from:

<https://doi.org/10.1101/2021.07.18.452815>

CURRENT BIOCHEMISTRY e-ISSN. 2014.

19. Pannindriya P, Safithri M, Tarman K. Analisis In Silico Senyawa Aktif *Spirulina platensis* sebagai Inhibitor Tirosinase. *J Pengolah Has Perikan Indones*. 2021 Apr 27;24(1):70–7.
20. Alkhadavi Hidayatullah J, Puspa Widiyana A, Sri Damayanti D. STUDI IN SILICO: ANALISIS POTENSI KACANG MERAH (*Phaseolus vulgaris*) SEBAGAI ANTI-ALZHEIMER DENGAN AKTIVASI ALFA SEKRETASE DAN PENGHAMBATAN BETA SEKRETASE. *Jurnal Bio Komplementer Medicine* [Internet]. 2022; Available from: <http://www.dockingserver.com>
21. 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.
22. Puspa Widiyana A, Widiandani T, Siswodihardjo S. Potential Anticancer Drug Candidate of Quinazoline Derivatives as EGFR Inhibitors: Docking and ADMET Studies. 2023.
23. Malikhana A, Yuniastuti A, Susanti R, Nugrahaningsih WH. STUDI IN SILICO POTENSI SENYAWA BIOAKTIF GEMBILI (*Dioscorea esculenta*) SEBAGAI LIGAN PADA RESEPTOR G6PD DAN PTPN1. *Prosiding Semnas Biologi ke-9*. 2021;244–9.
24. Damayanti DS, Utomo DH, Kusuma C. Revealing the potency of *Annona muricata* leaves extract as FOXO1 inhibitor for diabetes mellitus treatment through computational study. *In Silico Pharmacol*. 2017 Jun 26;5(1):3.
25. Ambarsari L, Sumaryada TI. Simulasi Docking Senyawa Kurkumin dan Analognya Sebagai Inhibitor Reseptor Androgen pada Kanker Prostat.
26. Yanagihara N, Zhang H, Toyohira Y, Takahashi K, Ueno S, Tsutsui M, et al. New Insights Into the Pharmacological Potential of Plant Flavonoids in the Catecholamine System. *J Pharmacol Sci*. 2014;124(2):123–8.
27. Katzung BG, Masters SB, Trevor AJ, Pendit BU. *Farmakologi Dasar & Klinik*. 12th ed. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC; 2014.
28. Farzam K, Jan A. Beta Blockers. In: *StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024.
29. Heidary Moghaddam R, Samimi Z, Moradi SZ, Little PJ, Xu S, Farzaei MH. Naringenin and naringin in cardiovascular disease prevention: A preclinical review. *Eur J Pharmacol*. 2020 Nov;887:173535.
30. Oyagbemi AA, Omobowale TO, Adejumobi 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;880:173142.
31. Sharifi-Rad J, Quispe C, Imran M, Rauf A, Nadeem M, Gondal TA, et al. Genistein: An Integrative Overview of Its Mode of Action, Pharmacological Properties, and Health Benefits. Vol. 2021, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. Hindawi Limited; 2021.
32. Sigowska P, Zimoch M, Baska A, Kazik J, Leis K, Grześk G. Genistein in the Treatment of Hypertension: A Review. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*. 2022 Dec;22(14):1367–77.
33. Su J, Xu HT, Yu JJ, Gao JL, Lei J, Yin QS, et al. Luteolin Ameliorates

- Hypertensive Vascular Remodeling through Inhibiting the Proliferation and Migration of Vascular Smooth Muscle Cells. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2015;2015:1–14.
34. 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;44(12).
 35. Alfian Akrama Arrasyid M, Sri Damayanti D, Dian Lestari R. Studi In Silico Senyawa Aktif Ekstrak Rimpang Jahe Emprit (*Zingiber officinale* Rosc.) terhadap Penghambatan Asetilkolinesterase, β -Tubulin dan Aktivasi Kanal Kalsium sebagai Antelmintik [Internet]. 2020. Available from: <http://www.uniprot.org/>
 36. Chen X, Li H, Tian L, Li Q, Luo J, Zhang Y. Analysis of the Physicochemical Properties of Acaricides Based on Lipinski's Rule of Five. *Journal of Computational Biology.* 2020 Sep 1;27(9):1397–406.
 37. 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) [Internet]. Vol. 2022, *J.Food Pharm.Sci.* 2022. Available from: www.journal.ugm.ac.id/v3/JFPA
 38. Wulan Dari D. Uji Potensi Senyawa Metabolit Sekunder Tanaman Putri Malu (*Mimosa pudica* L.) Sebagai Inhibitor Xanthine Oxidase Secara In Silico. *Jurnal Ilmu Kefarmasian* [Internet]. 2022;3(2). Available from: <https://www.rcsb.org/>
 39. Dwi DK, 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 (JoIMedLabS).* 2020 Oct 1;1(1):76–85.