

MEKANISME TEMPE KACANG MERAH (*Phaseolus vulgaris L.*) SEBAGAI ANTI KOLESTEROL MELALUI PENGHAMBATAN LIPASE PANKREAS DAN *Fatty Acids Synthase* (FAS) SECARA KOMPUTASI

Ghina Rofifah Zhani, Yoyon Arif Martino, Dini Sri Damayanti *

*Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

ABSTRAK

Pendahuluan: Tempe merupakan makanan produk fermentasi yang memiliki kandungan probiotik. Kacang merah memiliki efek antihiperkolesterol dikarenakan dalam kacang merah mengandung proantosianidin dan isoflavon yaitu *genestein*, *daidzein*, *biochanin A*, *glycitein*, dan formononetin. Tujuan penelitian untuk memprediksi afinitas yang terbentuk antara senyawa aktif tempe kacang merah dengan enzim target serta memprediksi fisikokimia, ADME, toksisitas senyawa aktif tempe kacang merah.

Metode: Penelitian secara *in silico* dilakukan pada 10 senyawa aktif tempe kacang merah dengan metode *molecular docking* pada <http://www.dockingserver.com>. Struktur 3D senyawa aktif tempe kacang merah dan orlistat diambil dari Pubchem, enzim Lipase pankreas dan *Fatty Acid Synthase* (FAS) diambil dari RCSB dan Uniprot. Konversi format pdb menggunakan <http://swissmodel.expasy.org>. Analisa afinitas senyawa ligan terhadap enzim dengan membandingkan energi bebas, konstanta inhibisi, interaksi permukaan, dan residu asam amino dengan orlistat. Analisa fisikokimia, ADME, dan toksisitas senyawa aktif tempe kacang merah menggunakan pKCSM

Hasil: Hasil *pKSCM online tool* didapatkan seluruh senyawa aktif tempe kacang merah memiliki efektifitas yang baik untuk bekerja di intestinal dan tidak mempunyai efek hepatotoksik serta efek toksisitas lainnya, sementara *catechin* diprediksi bersifat karsinogenik. Hasil *molecular docking* didapatkan *Kaempferol-O*, *Quercetin-O-acylhexoside* dan *Glisitein* memiliki afinitas tinggi dalam menghambat enzim FAS. *Genistein* mempunyai afinitas rendah dalam menghambat lipase pankreas, namun diprediksi memiliki potensi yang sama dengan kontrol.

Kesimpulan: Seluruh senyawa aktif tempe kacang merah kecuali catechin, efektif bekerja di interstinal dan tidak bersifat toksik. Senyawa aktif tempe kacang merah yang memiliki afinitas terhadap FAS adalah *Kaempferol-O*, *Quercetin-O-acylhexoside* dan *Glisitein*. Adapun yang memiliki afinitas terhadap lipase pankreas adalah *Genistein*.

Kata Kunci: antikolesterol, tempe, senyawa aktif tempe kacang merah, *in silico*, pKCSM.

Korespondensi:

Dr. dr.Dini Sri Damayanti, M.Kes.

Jl. MT Haryono 193 Malang, Jawa Timur, Indonesia, 65145

Telp : 0341-578920

e-mail: dinirisdamayanti@unisma.ac.id

MECHANISM OF RED BEAN TEMPE (*Phaseolus vulgaris L.*) AS ANTI-CHOLESTEROL THROUGH COMPUTATIONAL INHIBITION OF PANCREAS LIPASE AND *Fatty Acids Synthase* (FAS)

Ghina Rofifah Zhani, Yoyon Arif Martino, Dini Sri Damayanti *

*Faculty of Medicine, Islamic University of Malang

ABSTRACT

Introduction: Tempe is a fermented food product that contains probiotics. Kidney beans have an antihypercholesterol effect because red beans contain proanthocyanidins and isoflavones, namely *genestein*, *daidzein*, *biochanin A*, *glycitein*, and formononetin. The research objectives were to predict the affinity formed between the active compound of red bean tempeh and the target enzyme and to predict the physicochemical, ADME, and toxicity of the active compound of red bean tempeh.

Methods: An *in silico* study was conducted on 10 active compounds of red bean tempeh using the molecular docking method at <http://www.dockingserver.com>. The 3D structure of the active compounds of red bean tempeh and orlistat were taken from Pubchem, pancreatic Lipase and *Fatty Acid Synthase* (FAS) enzymes were taken from RCSB and Uniprot. Convert pdb format using <http://swissmodel.expasy.org>. Analysis of the affinity of the ligand compound to the enzyme by comparing the free energy, inhibition constant, surface interaction, and amino acid residue with orlistat. Physicochemical analysis, ADME, and toxicity of red bean tempeh active compounds using pKCSM

Result: The results of the pKSCM online tool show that all the active compounds of red bean tempeh have good effectiveness for working in the intestines and do not have hepatotoxic effects and other toxic effects, while *catechins* are predicted to be carcinogenic. The molecular docking results showed that *Kaempferol-O*, *Quercetin-O-acylhexoside* and *Glisitein* had high affinity for inhibiting the FAS enzyme. *Genistein* had a low affinity for inhibiting pancreatic lipase, but was predicted to have the same potency as controls.

Conclusion: All the active compounds of red bean tempeh, except *catechins*, work effectively in the interstitium and are non-toxic. The active compounds of red bean tempeh that have affinity for FAS are *Kaempferol-O*, *Quercetin-O-acylhexoside* and *Glycitein*. The one that has an affinity for pancreatic lipase is *Genistein*.

Keywords: *anticholesterol, tempeh, red bean tempeh active compound, in silico, pkCSM.*

Correspondence:

Dr. dr.Dini Sri Damayanti, M.Kes.

Jl. MT Haryono 193 Malang, East Java, Indonesia, 65145

Tel: 0341-578920

e-mail: dinisridamayanti@unisma.ac.id

PENDAHULUAN

Hiperlipidemia merupakan kondisi abnormalitas lipid, termasuk kolesterol ester, *Very Low Density Lipoprotein* (VLDL), *Low Density Lipoprotein* (LDL), dan penurunan *High Density Lipoprotein* (HDL). Berdasarkan data laporan Riskesdas 2014, Indonesia memiliki prevalensi hiperlipidemia sekitar 39,8%. Salah satu faktor terjadinya hiperlipidemia adalah diet tinggi lemak¹. Peningkatan *uptake* makanan yang mengandung lemak akan mengakibatkan sintesis trigliserida oleh lipase pankreas dan protein kolesterol ester transferase meningkat, sehingga terjadi peningkatan VLDL1 dan *small dense LDL*. VLDL1 yang meningkat menyebabkan peningkatan katabolisme HDL sehingga HDL menjadi rendah². Selain itu, peningkatan *uptake* makanan dapat meningkatkan aktifitas lipase hepatic dalam memproduksi insulin³. Insulin akan mengekskresikan *fatty acid synthase* (FAS) untuk kemudian merubah kalori diet menjadi cadangan energi. Proses inhibisi yang dilakukan FAS akan menyebabkan penurunan lemak tubuh yang secara langsung akan berpengaruh pada profil lipid

Terapi yang digunakan untuk mengatasi hiperlipidemia adalah dengan memperlambat metabolisme asam lemak melalui penghambatan aktivitas enzim lipase pankreas⁴. Mekanisme lain yang dapat digunakan untuk mengatasi hiperlipidemia yaitu dengan menghambat aktifitas enzim *fatty acid synthase*. Orlistat merupakan obat sintetik yang dapat menghambat kedua aktifitas enzim tersebut. Mekanisme kerja obat ini dengan menghambat secara langsung enzim lipase pankreas. Penemuan terbaru mengatakan selain menghambat secara langsung lipase pankreas, orlistat mampu menghambat FAS dengan menginduksi apoptosis spesifik sel tumor dan menghambat tioesterase FAS⁵. Namun, penggunaan orlistat jangka panjang dapat menimbulkan efek samping berupa berbagai masalah pada saluran pencernaan, adanya kemungkinan terbentuk batu ginjal, dan terjadi defisiensi vitamin D⁶. Akibat efek samping tersebut, terapi alternatif dapat menjadi pilihan untuk meminimalisir efek samping yang ditimbulkan. WHO telah merekomendasikan pengobatan herbal sebagai pemelihara kesehatan, pencegahan, dan pengobatan penyakit, terutama penyakit degeneratif, seperti hiperlipidemia⁷.

Tempe merupakan makanan tradisional Indonesia yang diproses melalui fermentasi. Makanan berfermentasi memiliki kandungan probiotik yang dapat menjaga keseimbangan *microflora intestinal*. Beberapa probiotik dapat memproduksi asam laktat dan asam

asetat yang menurunkan pH didalam usus untuk mencegah pertumbuhan bakteri patogen⁸. Tempe yang paling banyak dikonsumsi adalah tempe berbahan dasar kedelai. Beberapa penelitian terdahulu menyatakan bahwa kandungan utama yang terdapat pada tempe kedelai adalah isoflavone. kandungan isoflavone utama dalam tempe kedelai yaitu genistein, daidzein, dan glicitein⁹. Komponen aktif biologis isoflavone yang secara *in vivo* diketahui mempunyai potensi menurunkan kadar kolesterol darah pada hewan coba dengan diet tinggi kolesterol¹⁰. Selain kacang kedelai, kacang merah juga dapat digunakan sebagai bahan baku pembuatan tempe. Penggunaan kacang merah sebagai produk tempe dan penelitian berkaitan dengan mekanisme produk tempe kacang merah sebagai anti hiperkolesterol belum dilakukan. Dibandingkan kacang – kacang lainnya, kacang merah memiliki kadar karbohidrat tinggi, kadar protein yang setara dengan kacang hijau, kadar lemak yang jauh lebih rendah dibandingkan kacang kedelai serta memiliki serat yang sama dengan kacang hijau¹¹.

Kacang merah merupakan salah satu bahan pangan yang memiliki efek anti hiperkolesterol. Ini dikarenakan dalam kacang merah mengandung flavonoid (proantosianidin dan isoflavon)¹². Hasil penelitian yang dilakukan oleh Damayanti, 2020 disebutkan bahwa kacang merah mengandung senyawa aktif fitoestrogen yaitu genestein, daidzein, biochanin A, glycitein, dan formononetin. Fitoestrogen memiliki struktur yang mirip dengan esterogen, namun memiliki potensi yang lebih rendah sehingga efek samping yang dihasilkan lebih rendah. Disamping itu kacang merah juga mengandung flavonoid, senyawa fenol, tanin dan alkaloid¹³. Flavonoid dalam kacang merah salah satunya adalah proantosianidin berperan menurunkan kadar kolesterol dengan menghambat pembentukan malonaldehid dan aktivitas lipase¹⁴. Isoflavone dalam kacang merah yaitu daidzein dan genistein merupakan senyawa utama yang bekerja menurunkan kadar kolesterol dengan cara menghambat sekresi hepatosit apo – β ¹⁵.

Berlandaskan fakta diatas maka penelitian ini bertujuan untuk memprediksi mekanisme senyawa aktif dari kacang merah menurunkan kadar kolesterol. Penelitian terdiri dari 2 tahapan. Tahap pertama bertujuan untuk memprediksi sifat fisikokimia, farmakokinetik dan potensi toksisitas dari senyawa aktif kacang merah secara komputasi menggunakan software PkcSM. Tahap kedua bertujuan untuk memprediksi afinitas senyawa aktif tempe kacang merah terhadap protein target *Fatty Acid Synthase* (FAS)

dan lipase pankreas, dengan menggunakan metode *in silico*. Metode *in silico* banyak digunakan untuk mengetahui mekanisme kerja suatu senyawa aktif dari suatu herbal dalam rangka penemuan obat baru¹⁶. Metode studi *in silico* yang digunakan adalah *molecular docking* dengan pendekatan *blind docking* yaitu penambatan antara ligan senyawa aktif tempe kacang merah (*Phaseolus Vulgaris L.*) tanpa mengetahui letak sisi aktif dari protein target FAS dan lipase pankreas dan dibandingkan dengan kontrol orlistat¹⁷. Hasil interaksi intermolekuler antara molekul orlistat dengan residu asam amino protein target diasumsikan sebagai sisi aktif dari protein target¹⁸.

METODE PENELITIAN

Desain Penelitian

Jenis penelitian ini adalah kuasi eksperimental dengan desain komputasi (*in silico*) melalui simulasi *blind docking* yaitu dilakukan tanpa mengetahui letak sisi aktif dari reseptor¹⁹. Penambatan senyawa aktif tempe kacang merah (*Phaseolus vulgaris L.*) yaitu *daidzein*, *genistein*, *glisitein*, *catechin*, *feruloyl hexoside acid*, *hesperetin glucuronide-hexoside*, *p-hydroxybenzoic acid*, *hydroxycinnamic*, *quercetin-O-acylhexoside*, dan *kaempferol-3-O-glucoside* dengan protein target *Fatty Acid Synthase* (FAS) dengan kode 3TJM dan Lipase pankreas dengan kode P54317 menggunakan *Molecular Docking*. Visualisasi menggunakan *software drug discovery*. Penelitian dilanjutkan dengan prediksi sifat fisikokimia, farmakokinetik, dan toksisitas menggunakan *pkCSM Online tool*.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini berupa laptop dengan spesifikasi processor Intel core i5™ I7, CPU @2.60 GHz, Sistem operasi *Microsoft Windows 10 Pro 64-bit*, Software berbasis web autodock 4.0 pada *docking server* (<http://www.dockingserver.com>), koneksi internet, dan software *pkCSM* (<http://biosig.unimelb.edu.au/pkcsm>).

Bahan yang diperlukan dalam melakukan penambatan molekul dan analisa *pkCSM* yaitu struktur 3D molekul senyawa aktif herbal tempe kacang merah (*Phaseolus vulgaris L.*), struktur 3D protein target *fatty acid synthase* dan lipase pankreas. struktur dapat diunduh dari website protein databank (<http://rcsb.org>) dan pubchem (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). Preparasi reseptor diawali dengan memisahkan dari molekul lain yang tidak diperlukan dalam proses docking. Pemisahan dan pengoptimasian menggunakan *Autodock Tools 1.5.6rc3*. Validasi metode docking dilakukan dengan metode redocking menggunakan ligan alami (orlistat) yang terdapat pada reseptor dengan kode PDB 3034010. Preparasi ligan senyawa aktif tempe kacang merah (*Phaseolus vulgaris L.*) didapatkan dari studi literatur yang sudah dikonversi dalam file PDB. Persiapan *grid box parameter* dilakukan menggunakan *Autodock Tools 1.5.6rc3*²⁰.

Teknik Analisis Data

Analisa hasil proses *in silico* dilakukan dengan melihat nilai energi ikatan bebas, nilai konstanta inhibisi, dan luas area interaksi, banyaknya kesamaan ikatan terhadap residu asam amino antara ligan dan protein. Hasil uji *pkCSM* dilakukan dengan melihat perbandingan nilai kelarutan, absorpsi, distribusi, metabolisme, ekskresi, *Lipinski rule*, dan toksisitas. Kemudian data yang didapatkan akan dianalisa secara deskriptif²¹.

HASIL DAN ANALISA DATA

Uji Hasil dan Analisa data *Molecular Docking* Senyawa Aktif Tempe Kacang Merah (*Phaseolus vulgaris L.*) dan Orlistat dengan Enzim *Fatty Acid Synthase* (FAS)

Hasil dari penambatan bahan aktif tempe kacang merah dinilai berdasarkan interaksi energi ikatan bebas, konstanta inhibisi, nilai interaksi permukaan, dan jumlah ikatan residu asam amino yang dibandingkan dengan orlistat sebagai kontrol. Dalam penelitian ini didapatkan nilai afinitas orlistat terhadap protein target yaitu energi ikatan bebas sebesar -4.16 kcal/mol, konstanta inhibisi sebesar 890.51 μM , interaksi permukaan 1086.309 Å, dan ikatan residu asam amino yang terbentuk adalah TYR234, GLU225, PHE237, ILE225, TYR235, HIS248, VAL234, LEU242, GLN237, dan SER230 dengan total 10 residu asam amino.

Berdasarkan 4 kriteria afinitas ikatan antara ligan reseptor, maka didapatkan hasil bahwa *Kaempferol-3-O-glucoside*, *Glisitein*, dan *Quercetin-O-acylhexoside* merupakan senyawa terbaik yang mempunyai afinitas terhadap FAS, namun lebih rendah dibandingkan orlistat.

Tabel 1. Hasil Uji Analisis Energi Ikatan Bebas (ΔG), Konstanta Inhibisi (Ki), Nilai Interaksi Permukaan, dan Residu Asam Amino Senyawa Aktif Tempe Kacang Merah (*Phaseolus vulgaris L.*) dan Orlistat terhadap *Fatty Acid Synthase* (FAS)

Ligan	Energi ikatan bebas (kcal/mol)	Konstanta Inhibisi (uM)	Interaksi Permukaan (Å)	Residu Asam Amino	Jumlah residu asam amino dibandingkan orlistat	Jumlah persamaan residu asam amino
Orlistat	-4.16	890.51	1086.309	Polar : TYR234, GLU225 Hydrophobic : PHE237, ILE225, TYR235, HIS248, VAL234, LEU242 Lainnya : GLN237, SER230	10	100%
Feruloyl hexoside acid	-9.17	191.35 x 10 ³	804.216	Polar : GLU243 Hydrophobic : TYR230, LEU242, VAL234 Kation-pi : TYR230, TYR234 Hydrogen bonds : SER230 Lainnya : THR234, ILE225, GLU236, ARG242, ALA236	5	50%
Kaempferol-3-O-glucoside	-8.03	1.30	1000.136	Polar : HIS248 Ikatan hydrogen : TYR230 Kation-pi : PHE237 Hidrofobik : ILE225, PHE242, TYR234, LEU222 Lain-lain : GLU225, LEU242, ALA248	6	60%
Glisitein	-7.83	1.83	1026.924	Polar : TYR235, HIS248, GLN237, SER230 Hidrofobik : PHE237, LEU242, TYR234 Lainnya : ILE225, THR234, GLU236	8	80 %
Quercetin-O-acylhexoside	-7.55	2.93	703.299	Polar : TYR235 Hidrofobik : LEU242 Lain-lain : PHE237, VAL234, THR234, GLU236, ALA236 Kation-pi : TYR234, TYR230 Ikatan Hidrogen : SER230	6	60%
Daidzein	-7.24	4.95	629.877	Kation-pi : PHE237 Hydrophobic : TYR235, LEU242, PHE242, ALA236 Lainnya : GLU236, THR234, LEU235.	3	30 %
Hesperetin glucuronide-hexoside	-7.10	6.29	602.637	Polar : TYR242, GLU239 Hidrofobik : LEU227, PHE241 Lain-lain : ASP228, ARG242, SER242	0	0

<i>(+)-Catechin</i>	-7.02	7.14	709.225	Polar : TYR234, TYR235 Kation-Pi : PHE237, TYR230 Hidrofobik : LEU242, PHE242 Lain lain : THR234, ILE225, VAL234, ALA236 Hydrogen bonds : SER230	7	70 %
<i>Genistein</i>	-6.71	12.12	685.97	Polar : TYR234, HIS248 Kation-pi : TYR235 Hydrophobic : PHE237, PHE242 Lainnya : LEU242, VAL234, GLU236	6	60 %
<i>Hydroxycinnamic</i>	-5.28	134.33	474.89	Polar : ARG235, ARG242 Kation-pi : TYR235, PHE237 Lainnya : THR234, GLU236, ALA236, LEU235	2	20%
<i>p-Hydroxybenzoic acid</i>	-4.69	365.73	376.206	Hydrogen bonds : LYS242 Hidrofobik : PHE237, PHE242, LEU222 Lain-lain : GLU225, GLN237, ALA241	3	30%

Keterangan : Data tabel diatas merupakan hasil dari penambatan 10 senyawa aktif produk fermentasi tempe kacang merah (*Phaseolus vulgaris L.*) hanya terdapat 7 senyawa aktif yang memiliki nilai energi ikatan bebas diatas -6 kcal/mol dibandingkan dengan kontrol orlistat.

Hasil Uji dan Analisa data *Molecular Docking* Senyawa Aktif Tempe Kacang Merah (*Phaseolus vulgaris L.*) dan Orlistat dengan Enzim Lipase pankreas

Berdasarkan hasil docking, didapatkan bahwa orlistat memiliki nilai energi ikatan bebas -4,14 kcal/mol, nilai konstanta inhibisi 921,77 μM , nilai interaksi permukaan 729,535 \AA , dan memiliki 7 ikatan residu asam amino yaitu ASN259, PRO254, TYR307, GLU252, LYS258, GLN311, dan ASN248. Beberapa senyawa aktif tempe kacang merah seperti *Hesperetin glucuronide-hexoside*, *Kaempferol-3-O-glucoside*, *Feruloyl hexoside acid*, *Glisitein*, *Quercetin-O-acylhexoside*, dan *catechin* mempunyai nilai energi ikatan bebas yang lebih baik dibandingkan kontrol, meskipun tidak memiliki kesamaan ikatan residu asam amino. Peneliti menduga beberapa senyawa tersebut memiliki kemampuan yang lebih baik dibandingkan kontrol dalam penghambatan lipase pankreas, namun pada sisi yang berbeda dan menghasilkan efek yang berbeda.

Adapun *Genistein* memiliki nilai energi ikatan bebas sebesar -5,84 kcal/mol, nilai konstanta inhibisi $52,50 \times 10^3 \mu\text{M}$, nilai interaksi permukaan 556,59 \AA , dan jumlah ikatan residu asam amino sebesar 71,4 %. Dari hasil yang didapatkan tersebut peneliti menduga *Genistein* memiliki potensi dalam penghambatan aktifitas enzim lipase pankreas namun masih dibawah kontrol.

Tabel 2. Hasil Uji Analisis Energi Ikatan Bebas (ΔG), Konstanta Inhibisi (Ki), Nilai Interaksi Permukaan, dan Residu Asam Amino Senyawa Aktif Tempe Kacang Merah (*Phaseolus vulgaris L.*) dan Orlistat terhadap Lipase pankreas

Ligan	Energi ikatan bebas (kcal/mol)	Konstanta Inhibisi (uM)	Interaksi Permukaan (\AA)	Residu Asam Amino	Jumlah residu asam amino dibandingkan orlistat	Jumlah persamaan residu asam amino
Orlistat	-4.14	921.77	729.535	Polar : ASN259 Hydrophobic : PRO254, TYR307 Lainnya : GLU252, LYS258, GLN311, ASN248	7	100%
Hesperetin glucuronide-hexoside	-7.10	6.29×10^3	602.637	Polar : TYR242, GLU239 Hidrofobik : LEU227, PHE241 Lain-lain : ASP228, ARG242, SER242	0	0
Kaempferol-3-O-glucoside	-6.96	7.93×10^3	590.799	Ikatan hydrogen : CYS404 Hidrofobik : PHE392 Lain-lain : LYS393, THR403	0	0
Feruloyl hexoside acid	-6.92	8.48×10^3	681.045	Polar : THR73, GLU50 Hydrophobic : PHE149, LEU25, PRO49 Kation-pi : PHE56 Hydrogen bonds : GLY72 Lainnya : GLU146, GLN24, THR71	0	0
Glisitein	-6.83	9.79×10^3	716.708	Polar : THR343, GLU341, LYS239 Kation-pi : PHE333 Hidrofobik : PRO303, PHE344, PRO319 Lainnya : GLN342, ALA305, GLU321.	0	0
Quercetin-O-acylhexoside	-6.18	29.42×10^3	599.193	Polar : GLU146, THR73, GLU50 Kation-pi : PHE149 Hidrofobik : LEU25, PRO49, PHE56	0	0
(+)-Catechin	-6.13	31.86×10^3	632.581	Polar : ARG55, GLU146, THR73, ASP53 Kation-Pi : PHE149	0	0

				Hidrofobik : PRO49, LEU25		
				Lain lain : GLU50		
				Hydrogen bonds : GLN24		
<i>Daidzein</i>	-5.89	48.47 x 10 ³	560.28	Polar : GLU50		
				Kation-pi : PHE149, PHE56		
				Hydrophobic : LEU25	0	0
				Lainnya : GLU146, PRO49, THR73, LEU150		
<i>Genistein</i>	-5.84	52.50 x 10 ³	556.59	Polar : TYR307 , GLU350		
				Hydrophobic : PRO254	5	71,4%
				Lainnya : ASN259 , ASN248, GLU252		
<i>p-Hydroxybenzoic acid</i>	-3.91	1.36 x 10 ³	310.42	Polar : ASN451, LYS414	0	0
				Hidrofobik : TYR450, PRO468		
<i>Hydroxycinnamic</i>	-3.99	1.20 x 10 ³	443.109	Polar : GLN146, GLN24		
				Hidrofobik : LEU25, PHE149, PHE56	0	0
				Lainnya : THR73		

Keterangan : Data tabel diatas merupakan hasil dari penambatan 10 senyawa aktif produk fermentasi tempe kacang merah (*Phaseolus vulgaris* L.) hanya terdapat 1 senyawa aktif yang memiliki nilai energi ikatan bebas diatas -6 kcal/mol dibandingkan dengan kontrol orlistat.

Fisikokimia, Farmakokinetik, dan Toksisitas Senyawa Aktif Tempe Kacang Merah (*Phaseolus vulgaris* L.)

Hasil prediksi sifat fisikokimia ditentukan berdasarkan parameter uji, yaitu Log P, Berat Molekul, Jumlah ikatan antar atom yang dapat berotasi (Torsion), *Hydrogen Bond Acceptors* (HBA), *Hydrogen Bond Donors* (HBD), dan *Polar Surface Activity* (PSA).

Berdasarkan prediksi sifat fisikokimia didapatkan bahwa Senyawa aktif *Hesperetin glucuronide-hexoside* dan *Kaempferol 3-O-glucoside* memenuhi kriteria Lipinski namun memiliki 2 penyimpangan Lipinski. Sedangkan *Glisitein*, *Feruloyl hexoside acid*, *Quercetin-O-acylhexoside*, *Daidzein*, *Cathechin*, *Genistein*, *Daidzein*, *Hydroxycinnamic*, *p-Hydroxybenzoic acid* memenuhi kriteria Lipinski.

Berdasarkan prediksi sifat farmakokinetik dan toksisitas didapatkan bahwa *Hesperetin glucuronide-hexoside* memiliki nilai absorpsi di intestinal sebesar 13.419 %, sehingga dapat diprediksi senyawa memiliki absorpsi yang kurang baik dibandingkan dengan senyawa *Feruloyl hexoside acid*, *Kaempferol 3-O-*

glucoside, *Glisitein*, *Catechin*, *p-Hydroxybenzoic acid*, *Quercetin-O-acylhexoside*, *Genistein*, *Hydroxycinnamic*, dan *Daidzein* mempunyai nilai absorpsi lebih dari 30%. Semua senyawa aktif pada tempe kacang merah diprediksi tidak menembus BBB, didistribusikan dalam kondisi bebas dalam darah dengan urutan terbesar sampai terkecil yaitu senyawa *p-hydroxybenzoic acid*, *hydroxycinnamic*, *feruloyl hexoside acid*, *hesperetin glucuronide-hexoside*, *catechin*, *kaempferol-3O-glucoside*, *glisitein*, *daidzein*, *genistein*, dan *quercetin-O-acylhexoside*.

Pada tabel 4 didapatkan bahwa senyawa *Quercetin-O-acylhexoside*, *Genistein*, dan *Daidzein* merupakan substrat enzim CYP3A4, inhibitor CYP2C19, dan inhibitor CYP2C9. Semua senyawa aktif tersebut dapat di eksresikan di ginjal, hepar, dan empedu, serta tidak bersifat toksik kecuali cathechin yang bersifat karsinogenik.

Tabel 3. Hasil Uji Sifat Fisikokimia dan Penerapan Hukum Lipinski Senyawa Aktif Tempe Kacang Merah (*Phaseolus vulgaris* L.)

No.	Senyawa	Parameter Fisikokimia						Penyimpangan Hukum Lipinski
		BM	Log P	HBD	HBA	Torsion	PSA	
1.	Orlistat	495.745	6.8819	1	5	23	214.213	2
2.	<i>Hesperetin glucuronide-hexoside</i>	478.406	0.0839	6	11	5	191.669	2
3.	<i>Glisitein</i>	460.391	0.4452	5	10	5	185.159	0
4.	<i>Kaempferol 3-O-glucoside</i>	448.38	-0.2445	7	11	4	179.107	2
5.	<i>Feruloyl hexoside acid</i>	356.327	-1.2429	5	9	5	142.859	0
6.	<i>Quercetin-O-acylhexoside</i>	302.238	1.988	5	7	1	122.108	0
7.	<i>(+)-Catechin</i>	290.271	1.5461	5	6	1	119.662	0
8.	<i>Genistein</i>	270.24	2.5768	3	5	1	112.519	0
9.	<i>Daidzein</i>	254.241	2.8712	2	4	1	107.725	0
10.	<i>Hydroxycinnamic</i>	164.16	1.49	2	2	2	69.587	0
11.	<i>p-Hydroxybenzoic acid</i>	138.122	1.0904	2	2	1	57.546	0

Keterangan: prediksi fisikokimia dan aturan lipinski menggunakan pkCSM *online tool*. Berat Molekul (BM), Koefisiensi Partisi (LogP), Ikatan H yang berotasi (Torsion), Donor Hidrogen (HBD), Donor Acceptor (HBA), Area Permukaan (PSA).

Tabel 4. Hasil Prediksi ADME dan Toksisitas Senyawa Aktif Tempe Kacang Merah (*Phaseolus vulgaris* L.)

Nama Senyawa	Absorpsi (%)	Distribusi BBB dan Unbound	Metabolisme	Eksresi	Toksisitas
<i>Orlistat</i>	90,315	-1,013 dan 0,029	CYP3A4 substrate	1,679	-
<i>Hesperetin glucuronidehexoside</i>	13,419	-1,816 dan 0,306	-	0,117	-
<i>Feruloyl hexoside acid</i>	33,875	-1,279 dan 0,4	-	0,221	-
<i>Kaempferol 3-O-glucoside</i>	46,043	-1,344 dan 0,143	-	0,502	-
<i>Glisitein</i>	66,682	-1,524 dan 0,12	-	0,496	-
<i>(+)-Catechin</i>	72,967	-1,183 dan 0,183	-	0,252	Karsinogenik
<i>p-Hydroxybenzoic acid</i>	74,377	-0,331 dan 0,479	-	0,666	-
<i>Quercetin-O-acylhexoside</i>	76,081	-1,363 dan 0,051	CYP1A2 inhibitor	0,457	-
<i>Genistein</i>	89,957	-0,752 dan 0,079	CYP3A4 substrate, CYP1A2 inhibitor, CYP2C19inhibitor, CYP2C9 inhibitor	0,176	-
<i>Hydroxycinnamic</i>	91,115	-0,257 dan 0,429	-	0,746	-
<i>Daidzein</i>	91,165	-0,153 dan 0,097	CYP3A4 substrate, CYP1A2 inhibitor, CYPC19 inhibitor, CYP2C9 inhibitor,	0,171	-

Keterangan: prediksi ADME dan toksisitas menggunakan pkCSM *online tools*

PEMBAHASAN

Afinitas Senyawa Aktif Tempe Kacang Merah dalam penghambatan Enzim Fatty Acid synthase (FAS)

Berdasarkan hasil penambatan menunjukkan bahwa dari 10 senyawa aktif tempe kacang merah (*Phaseolus vulgaris L.*) yang diidentifikasi terdapat 3 senyawa aktif yang memiliki nilai energi ikatan bebas lebih besar dibandingkan dengan orlistat. Ketiga senyawa aktif terbaik ditetapkan berdasarkan empat parameter uji, yaitu bahwa *Kaempferol 3-O-glucoside*, *Glisitein*, dan *Quercetin-O-acylhexoside*. Ketiga senyawa tersebut termasuk dalam golongan senyawa flavonoid. Mekanisme flavonoid menurunkan kadar kolesterol darah melalui mekanisme penghambatan pembentukan malonaldehid dan aktivitas lipase serta menghambat sekresi hepatosit apo – β^{21} . Hasil penelitian ini juga sesuai dengan penelitian yang dilakukan Li and Tian (2004) yaitu melalui pengujian aktivitas FAS yang ditentukan dengan spektrofotometri Amersham Pharmacia Ultrospec 4300 pro UV-Vis pada suhu 37°C, kemudian dilanjutkan dengan studi penghambatan flavonoid terhadap FAS mengacu pada konsentrasi IC₅₀. Didapatkan hasil bahwa flavonoid merupakan penghambatan FAS paling poten melalui pengikatan asetil²².

Afinitas suatu senyawa aktif terhadap protein target ditentukan oleh nilai energi ikatan bebas, konstanta inhibisi, nilai interaksi permukaan, dan kesamaan posisi ikatan residu asam amino protein target. Nilai energi bebas menunjukkan jumlah energi yang dilepaskan atau dibutuhkan untuk membentuk suatu senyawa yang lebih stabil. Nilai energi ikatan bebas dibawah -7 kcal/mol atau dibawah kontrol menunjukkan bahwa senyawa tersebut memiliki afinitas yang baik dan mudah berikatan dengan enzim target²³. Nilai Konstanta inhibisi (Ki) menunjukkan dosis yang dibutuhkan untuk menghambat terjadinya ikatan antara ligan dan reseptor. Semakin tinggi nilai Ki maka ikatan antara ligan dan reseptor cenderung lebih lemah dan tidak stabil²⁴. Nilai interaksi permukaan menunjukkan peluang suatu ligan berinteraksi dengan protein target²³. Semakin tinggi nilai interaksi permukaan, semakin banyak asam amino yang terikat sehingga afinitas semakin tinggi. *Binding site protein* adalah bagian permukaan reseptor (protein) berfungsi sebagai tempat melekatnya suatu obat. Binding site protein-ligan umumnya berada pada suatu pocket pada permukaan protein²⁵. Residu asam amino diprediksi berperan penting pada area *binding site* pada reseptor. Semakin banyak persamaan posisi ikatan terhadap residu asam amino protein target yang dibandingkan kontrol, menunjukkan kesamaan potensi senyawa aktif dengan kontrol²⁶.

Orlistat dipilih sebagai kontrol karena secara klinis memiliki mekanisme kerja penghambatan langsung terhadap aktifitas lipase pankreas yang berperan penting dalam proses penyerapan lemak dengan menghidrolisis trigliserida menjadi asam lemak bebas dan monogliserida²⁷. Selain memiliki mekanisme kerja terhadap penghambatan aktifitas lipase pankreas, orlistat mampu membatasi penyerapan kolesterol dengan menghambat protein transport kolesterol *Niemann-Pick*

C1-like 1 (NPC1L1). Orlistat juga dapat menghambat sintase asam lemak (FAS) yang secara khusus diatur dibanyak sel tumor. Penghambatan FAS oleh orlistat dapat menyebabkan stress reticulum endoplasmic dan menghambat pertumbuhan tumor²⁷

Berdasarkan 4 kriteria afinitas ligan dan reseptor yang digunakan, didapatkan bahwa *Kaempferol 3-O-glucoside*, *Glisitein* dan *Quercetin-O-acylhexoside* mempunyai energi ikat bebas lebih baik, nilai Ki lebih kecil, interaksi permukaan lebih kecil, dan memiliki kesamaan lebih banyak dengan orlistat. Dengan demikian disimpulkan ketiga senyawa aktif diprediksi memiliki kesamaan dengan orlistat dalam penghambatan FAS namun dengan kemampuan yang masih dibawah kontrol.

Afinitas Senyawa Aktif Tempe Kacang Merah dalam penghambatan Enzim Lipase pankreas.

Berdasarkan indicator nilai energi ikatan bebas, konstanta inhibisi, interaksi permukaan, dan jumlah residu asam amino, senyawa aktif tempe kacang merah yang diprediksi memiliki afinitas paling kuat dalam berikatan dengan lipase pankreas adalah *genistein*. *Genistein* mempunyai nilai energi ikatan bebas -5,84 kcal/mol, nilai Ki 52.50 μ M, nilai interaksi permukaan 556,59Å dan mempunyai kemiripan sebanyak 0,71 % dengan orlistat.

Genistein diketahui memiliki potensi sebagai antiobesitas melalui mekanisme kerjanya dalam menghambat aktivasi AMP - activated kinase (AMPK) dalam penghambatan diferensiasi lipid²⁸. Selain itu secara signifikan *genistein* mampu menghambat 90% diferensiasi jaringan adiposa dari sel 3T3-L1 dan menginduksi apoptosis pada jaringan adiposa dewasa. Pengujian secara in vivo dilakukan guna mendukung pernyataan diatas, penelitian dilakukan menggunakan tikus C57BL/6L yang diberikan pakan tinggi lemak. Tikus tersebut kemudian diberikan perlakuan dengan pemberian *genistein* 0,2% yang ditambahkan dengan L-karnitin 0,5% selama 12 minggu. Hasilnya didapatkan penurunan berat badan sebesar 254% pada tikus. Peneliti kemudian menyimpulkan bahwa *genistein* dalam uji coba ini juga dapat bekerja dalam mekanisme penghambatan PPAR- α ²⁸.

Senyawa *Genistein* sebagai golongan senyawa isoflavone terbukti mampu menghambat aktivitas dari enzim lipase pankreas dan mampu menginduksi apoptosis sel adiposity²⁹. Senyawa isoflavone merupakan salah satu senyawa metabolic sekunder. Berdasarkan struktur kimia isoflavone mirip dengan struktur kimia 17 β estradiol³⁰ dan mampu berikatan reseptor estrogen sehingga memiliki aktifitas estrogenik di dalam tubuh³¹. Menurut Gruber (2002) isoflavone dapat menurunkan kadar kolesterol darah, sebagai sebayawa estrogenik, isoflavone mampu menurunkan kadar kolesterol dengan mekanisme peningkatan kadar HDL, diikuti dengan penurunan kadar LDL dan trigliserida dalam darah³².

Berdasarkan pernyataan diatas peneliti memprediksi *Genistein* mempunyai mekanisme yang

sama dengan orlistat dalam menghambat lipase pankreas, namun dengan potensi yang lebih rendah.

Fisikokimia, Farmakokinetik, dan Toksisitas Senyawa Aktif Tempe Kacang Merah

Untuk calon obat, tidak hanya afinitas energi dan Dalam kaitannya dengan kandidat obat sifat fisikokimia perlu diperhatikan untuk menilai dan memperkirakan proses ADME (Absorpsi, Distribusi, Metabolisme, dan Eksresi) dari suatu obat³³. Hasil sifat fisikokimia penting digunakan untuk memperkirakan penyerapan senyawa obat dalam tubuh³⁴. Senyawa dikatakan memiliki permeabilitas yang tinggi apabila memenuhi 2 atau lebih kriteria dari hukum Lipinski, yaitu berat molekul tidak lebih dari 500 dalton, nilai Log P kurang dari 5, donor ikatan hydrogen tidak lebih dari 5, dan akseptor hydrogen tidak lebih dari 10³⁵

Berdasarkan prediksi sifat fisikokimia dilihat berdasarkan parameter hukum Lipinski, senyawa *Glisitein*, *Feruloyl hexoside acid*, *Quercetin-O-acylhexoside*, *Catechin*, *Genistein*, *Daidzein*, *Hydroxycinnamic*, dan *p-Hydroxybenzoic acid* diprediksi mudah untuk diabsorpsi dan memiliki permeabilitas yang baik. Senyawa *Hesperetin glucuronide-hexoside* dan *Kaempferol-3-O-glucoside* diketahui memiliki 2 penyimpangan, yaitu memiliki nilai *Hydrogen Bond Donors* (HBD) > 5 dan *Hydrogen Bond Acceptors* (HBA) > 10. Semakin tinggi nilai akseptor dan donor hydrogen maka permeabilitas suatu ligan buruk, sehingga mempengaruhi proses absorpsi dan distribusi obat tersebut. Banyaknya jumlah ikatan hydrogen juga akan berpengaruh terhadap afinitas suatu senyawa obat terhadap protein target³⁶.

Langkah selanjutnya adalah prediksi sifat farmakokinetik dan toksisitas berdasarkan nilai absorpsi, distribusi, metabolisme, dan ekskresi prediksi suatu kandidat obat. Absorpsi dari senyawa – senyawa aktif tempe kacang merah memiliki nilai % absorpsi antara 33,875 hingga 91,165, dari hasil tersebut dapat diprediksi memiliki absorpsi yang baik. Senyawa *Hesperetin glucuronide-hexoside* merupakan senyawa yang memiliki nilai absorpsi paling rendah yaitu 13,419 %. Suatu senyawa dikatakan memiliki nilai absorpsi > 80% dan absorpsinya kurang baik jika didapatkan nilai < 30%.

Prediksi distribusi *Blood Brain Barrier* (BBB) dan distribusi *unbound*. Parameter BBB digunakan untuk melihat kemampuan obat untuk menembus sawar otak. Parameter uji ini dapat digunakan untuk mempertimbangkan melihat tingkat efek samping dan toksisitas atau untuk meningkatkan efikasi obat yang aktivitas farmakologisnya berada dalam otak. Senyawa dikatakan mampu menembus sawar otak apabila memiliki nilai $\log BB > 0,3$ dan tidak terdistribusi dengan baik bila memiliki nilai < -1 ³³. Pada hasil yang didapatkan senyawa aktif tempe kacang merah tidak memiliki kemampuan dalam menembus sawar otak karena memiliki nilai $\log BB$ tidak > 0,3. Sementara untuk nilai distribusi *unbound* digunakan untuk memprediksi senyawa obat memiliki fraksi tidak terikat

yang lebih banyak dibandingkan fraksi terikat sehingga efektifitas obat akan semakin baik³³.

Proses metabolisme merupakan proses kimiawi yang terjadi di hepar. Sitokrom P450 merupakan suatu enzim yang berperan dalam metabolisme hepar. Substrat CYP3A4 merupakan sitokrom P450 dan merupakan enzim yang penting setelah obat beredar. CYP2C19 penting untuk memetabolisme obat, termasuk inhibitor pompa proton (PPI), sehingga merupakan inhibitor dari enzim CYP2C19. Enzim CYP2C9 terlibat dalam 10 % metabolisme obat, enzim CYP2C19 terlibat dalam 20% metabolisme obat (Hariz, 2019). Pada hasil prediksi senyawa aktif tempe kacang merah, diketahui senyawa *Quercetin-O-acylhexoside* merupakan CYP1A2 inhibitor. Sedangkan senyawa *Genistein* dan *Daidzein* akan dimetabolisme pada CYP1A2 inhibitor, CYP3A4 substrat, dan CYP2C19 inhibitor.

Prediksi selanjutnya yaitu proses ekskresi senyawa dengan mengukur tetapan *Total Clearance* (CLTOT). CLTOT merupakan kombinasi dari *hepatic clearance* (Metabolisme di hati dan empedu) dan *renal clearance* (ekskresi melalui ginjal). Semakin tinggi nilai ekskresi yang dihasilkan maka akan semakin cepat proses ekskresi senyawa aktif tempe kacang merah oleh hepar, bilier, dan ginjal. Parameter ini berkaitan dengan bioavailabilitas, dan penting dalam menentukan tingkat dosis obat untuk mencapai konsentrasi *steady-state*³³.

Tahap terakhir dalam uji prediksi farmakokinetik adalah uji toksisitas. Parameter ini digunakan untuk melihat apakah senyawa aktif pada tempe kacang merah dapat bersifat hepatotoksik atau karsinogenik. Nilai toksisitas sangat diperlukan untuk menentukan tingkat ketoksikan suatu senyawa sebagai kandidat obat baru³³. Berdasarkan hasil yang didapatkan terdapat satu senyawa yang diprediksi dapat berpotensi sebagai toksik (karsinogenik) yaitu *catechin*.

Hasil penelitian lain yang telah dilakukan oleh kelompok penelitian tempe, menunjukkan bahwa kandungan lemak kacang merah paling rendah dibandingkan tempe kacang tanah dan kedelai, jenis lemak sebagian besar merupakan lemak tidak jenuh *Short Chain Fatty Acid* (SCFA)³⁷. Dengan demikian tempe kacang merah sebagai salah satu produk makanan yang mampu menurunkan kadar kolesterol serta mempunyai peluang yang baik untuk dikembangkan di masa depan

KESIMPULAN

1. Hasil uji fisikokimia, farmakokinetik, dan toksisitas *pkCSM online tool* didapatkan hasil senyawa *Kaempferol 3-O-glucoside*, *Glisitein*, *Quercetin-O-acylhexoside*, dan *Genistein* memiliki permeabilitas yang tinggi, dapat bekerja efektif dalam intestinal, dan tidak bersifat hepatotoksik maupun karsinogenik. Namun pemberian *Genistein* dalam jangka panjang perlu dipertimbangkan untuk mencegah efek samping.
2. Tempe kacang merah (*Phaseolus vulgaris L.*) mempunyai senyawa aktif *Kaempferol 3-O-glucoside*, *Glisitein*, dan *Quercetin-O-acylhexoside* memiliki afinitas terhadap FAS, namun lebih rendah dibanding orlistat.

3. Tempe kacang merah (*Phaseolus vulgaris L.*) *Genistein* memiliki afinitas terhadap enzim lipase pankreas, tetapi dengan potensi yang lebih rendah dibandingkan orlistat.

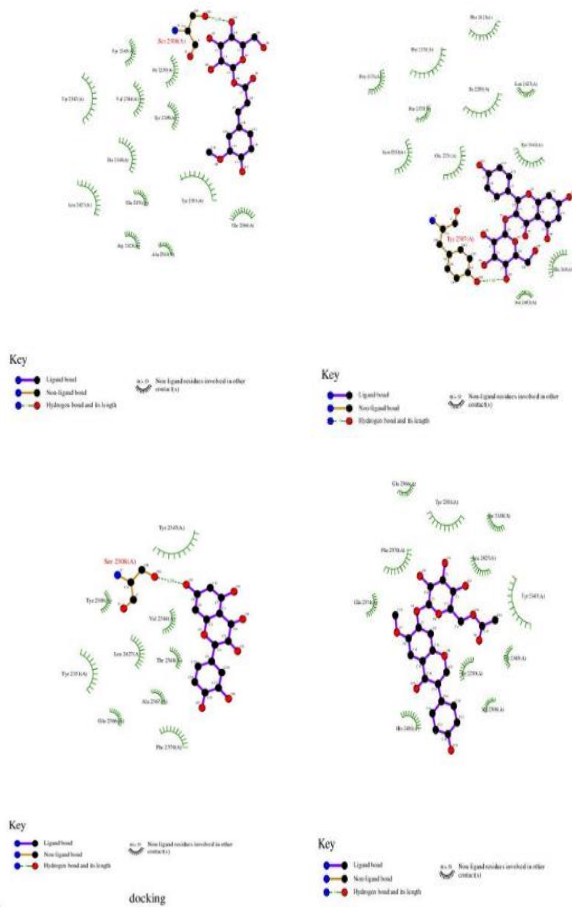
SARAN

1. Perlu dilakukan prediksi awal untuk menentukan apakah kontrol yang digunakan sesuai dan memiliki mekanisme kerja terhadap enzim *fatty acid synthase*(FAS) dan Lipase pankreas.

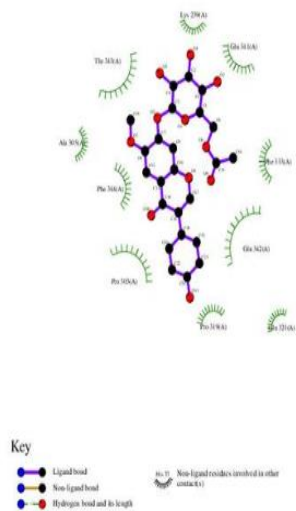
DAFTAR PUSTAKA

1. Oktomalioputri, B., Darwin, E. dan Decroli, E. (2016) "Pengaruh Lama Pemberian Diet Tinggi Kolesterol terhadap Kadar LDL dan TGF-B Serum Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) strain Wistar," *Jurnal Kesehatan Andalas*, 5(1), hal. 267–273. doi: 10.25077/jka.v5i1.481.
2. Wierzbicki, A. S. (2006) "Diabetic dyslipidaemia: The triad," *European Heart Journal, Supplement*, 8(F), hal. 238–246. doi: 10.1093/eurheartj/sul038.
3. Zelly Dia Rofinda, Eti Yerizel, A. M. (2015) "Gambaran Profil Lipid Pada Penderita Diabetes Melitus Tipe 2 Yang Tidak Terkendali di RSUP Dr. M. Djamil Padang." Padang. Tersedia pada: [http://repo.unand.ac.id/3263/1/Laporan 1.pdf](http://repo.unand.ac.id/3263/1/Laporan%201.pdf).
4. Berglund, L. *et al.* (2012) "Evaluation and Treatment of Hypertriglyceridemia: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline Evaluation and Treatment of Hypertriglyceridemia: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline," (March 2014). doi: 10.1210/jc.2011-3213.
5. Pemble, C. W. *et al.* (2007) "Crystal structure of the thioesterase domain of human fatty acid synthase inhibited by Orlistat," *Nature Structural and Molecular Biology*, 14(8), hal. 704–709. doi: 10.1038/nsmb1265.
6. Nalinda B. Wasala, Shi-jie Chen, D. D. (2016) "Orlistat, a New Lipase Inhibitor for the Management of Obesity," *Physiology & behavior*, 176(1), hal. 100–106.
7. Eddouks, M. *et al.* (2012) "Medicinal Plants in the Prevention and Treatment of Chronic Diseases," 2012. doi: 10.1155/2012/458274.
8. Widiyanongsih, E. N. (2011) "Peran Probiotik Untuk Kesehatan," *Jurnal Kesehatan*, 4(1), hal. 14–20.
2. Perlunya dilakukan penelitian lanjutan menggunakan *specific docking*, dilanjutkan dengan dengan penelitian in vitro maupun in vivo menggunakan hewan coba untuk memperkuat hasil prediksi yang didapatkan dari penelitian ini.
9. Handayani, D. S. (2008) "Kandungan Senyawa Isoflavon Dalam Tempe dan Manfaat Kesehatan," hal. 1–8.
10. Prabowo, S. A. A. E. (2018) *Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Tempe Kedelai Sebagai Antikolesterol pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar Beserta Skrining Fitokimia*.
11. Ahidin, D., Firmansyah, D. dan Khairunisah, G. (2019) "Uji Efektivitas Ekstrak Etanol Kacang Merah(*Phaseolus vulgaris L.*) Terhadap Penurunan Kadar Kolesterol Total Pada Mencit Putih (*Mus musculus*) Jantan," *Medical Sains: Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, 3(2), hal. 67–74. doi: 10.37874/ms.v3i2.72.
12. Mcpherson, L. (1991) "Effects of the Consumption of Fully Cooked Red Kidney Beans (*Phaseolus vulgaris*) on the Growth Rate of Rats and the Morphology of the Gut Wall."
13. Damayanti, D. (2020) "Potency Of *Vigna Angularis* Against α Through In Silico Studies," *Jurnal Kesehatan Islam : Islamic Health Journal*, 9(2), hal. 49. doi: 10.33474/jki.v9i2.8871.
14. Maruyama, C. *et al.* (2008) "Azuki bean juice lowers serum triglyceride concentrations in healthy young women," *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, 43(1), hal. 19–25. doi: 10.3164/jcfn.2008039.
15. Borradaile, N. M. *et al.* (2002) "B secretion from HepG2 cells through multiple mechanisms," 539, hal. 531–539.
16. Wadood, A. (2013) "In-silico drug design: An approach which revolutionarised the drug discovery process."
17. G. Syahputra, L.Ambarsari, T. S. (2014) "Simulasi docking kurkumin enol, bisdemetoksikurkumin dan analognya sebagai inhibitor enzim12-lipoksigenase," *Biofisika*, 10(1), hal. 55–67.

18. Damayanti, D. S., Utomo, D. H. dan Kusuma, C. (2017) "Revealing the potency of *Annona muricata* leaves extract as FOXO1 inhibitor for diabetes mellitus treatment through computational study," *In Silico Pharmacology*. Springer Berlin Heidelberg, 5(1), hal. 1–7. doi: 10.1007/s40203-017-0023-3.
19. Syahputra G, Ambarsari L, T S. Simulasi docking kurkumin enol, bisdemetoksikurkumin dan analognya sebagai inhibitor enzim 12-lipoksigenase. *Biofisika*. 2014;10(1):55–67
20. Damayanti DS, Utomo DH, Kusuma C. Revealing the potency of *Annona muricata* leaves extract as FOXO1 inhibitor for diabetes mellitus treatment through computational study. *Silico Pharmacol*. 2017;5(1):1–7.
21. Indah Wulan Sari, Junaidin DP. Studi Molecular Docking Senyawa Flavonoid Herba Kumis Kucing (*Orthosiphon stamineus* B.) pada Reseptor Alfa- GLUKOSIDASE Sebagai Antidiabetes Tipe 2. 2020;VII(2):54–60.
22. Li, B. H. dan Tian, W. X. (2004) "Inhibitory Effects of Flavonoids on Animal Fatty Acid Synthase," *Journal of Biochemistry*, 135(1), hal. 85–91. doi: 10.1093/jb/mvh010.
23. Abdi Firdaus Masdianto, Reza Hakim DSD. Studi In Silico Potensi Senyawa Aktif Ekstrak Daun *Annona muricata* Linn Agen Hipoglikemia Melalui Aktivasi Peroxisome Proliferator Activator Receptor γ (PPAR γ) dan Glikogen Sintase. 2020;1–15.
24. Mcconkey BJ, Sobolev V, Edelman M. The performance of current methods in ligand – protein docking. 2002;(October).
25. Mahdiyah U-. Pencarian Rongga Berpotensi Binding Site Pada Protein Dengan Menggunakan Support Vector Machine (Svm). *Limits J Math Its Appl*. 2017;14(2):1.
26. Chakrabarti R, Klibanov AM, Friesner RA. Computational prediction of native protein ligand-binding and enzyme active site sequences. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005;102(29):10153–8.
27. Qi, X. (2018) "Review of the Clinical Effect of Orlistat Review of the Clinical Effect of Orlistat." doi: 10.1088/1757-899X/301/1/012063.
28. Astawan, M., Mardhiyyah, Y. S. dan Wijaya, C. H. (2018) "Potential of Bioactive Components in Tempe for the Treatment of Obesity," 13(12), hal. 79–86. doi: 10.25182/jgp.2018.13.2.79-86.
29. Hidayat, M., Soeng Sylvia, Roro Wahyudianingsih, Jeanny Ervie Ladi, Y. A. K. dan Elviora, V. (2015) "Ekstrak kedelai detam 1, daun jati belanda serta kombinasinya terhadap berat badan dan histopatologis hepar tikus wistar," 6(4), hal. 167–178.
30. Ko, K. (2014) "Isoflavones : Chemistry , Analysis , Functions and Effects on Health and Cancer," 15, hal. 7001–7010.
31. Dweck, A. C. (2006) "Isoflavones , Phytohormones and Phytosterols," 32(March).
32. Febri Endra Budi Setyawan (2017) "Kajian Tentang Efek Pemberian Nutrisi Kedelai (*Glycine max*) Terhadap Penurunan Kadar Kolesterol Total Pada Menopause," 1, hal. 33–42.
33. Price DA, Blagg J, Jones L, Greene N, Wager T. Physicochemical drug properties associated with in vivo toxicological outcomes : a review. 2009;921–31
34. Daina A, Michielin O, Zoete V. SwissADME : a free web tool to evaluate pharmacokinetics , drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Nat Publ Gr [Internet]*. 2017;(January):1–13. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/srep42717>
35. Benet LZ, Hosey CM, Ursu O, Oprea TI. BDDCS, the Rule of 5 and drugability. *Adv Drug Deliv Rev [Internet]*. 2016; Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.addr.2016.05.007>.
36. Lipinski CA, Lombardo F, Dominy BW, Feeney PJ. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. 2001;46:3–26.
37. Mita Erna, Yoyon Arif Martino DSD. Perbandingan Kadar Lemak, Jenis Asam Lemak dan Kolesterol Tempe Kacang Merah (*Phaseolus vulgaris* L), Tempe Kacang Tanah (*Arachis hypogaea* L.) dan Tempe Kedelai (*Glycine max*). Malang; 2021.



Keterangan : Interaksi intermolekuler Senyawa Aktif Tempe Kacang Merah dan Orlistat dengan *Fatty Acid Synthase* (FAS) *Feruloyl hexoside acid*, *Kaempferol-O*, *Quercetin-O-acylhexoside*, dan *Glisitein*



Keterangan : interaksi Senyawa Aktif (Genistein) Tempe Kacang Merah dan Orlistat dengan enzim lipase pankreas.

