

POTENSI KOMBUCHA DAUN SIRSAK (*Annona muricata* Linn.) DALAM MENGHAMBAT DPP4 DAN SDF-1 SEBAGAI ANTIDIABETES DENGAN STUDI *IN SILICO*

Susiani Dian Novianty, Rosaria Dian Lestari, Dini Sri Damayanti*
Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

ABSTRAK

Pendahuluan: Diabetes mellitus adalah gangguan metabolisme yang diakibatkan disregulasi glukosa darah. Disregulasi glukosa darah diakibatkan oleh salah satunya peningkatan DPP4 dan SDF-1 akibat gaya hidup yang buruk. DPP4 dan SDF-1 dapat dihambat dengan kandungan *flavonoid* pada daun sirsak, sehingga mampu mencegah DM tipe 2. Flavonoid daun sirsak dapat ditingkatkan kadarnya dengan melalui proses fermentasi. Kombucha merupakan salah satu bentuk fermentasi, pada kombucha terdapat banyak kandungan asam organik dan tinggi flavonoid. Tujuan penelitian ini untuk memprediksi afinitas yang terbentuk antara senyawa aktif kombucha daun sirsak dengan enzim DPP4 dan SDF-1 serta memprediksi sifat fisikokimia, Absorpsi, Distribusi, Metabolisme, dan Ekskresi (ADME), dan toksisitas senyawa kombucha daun sirsak.

Metode: Penelitian ini dilakukan secara *in silico* dengan menambatkan 11 senyawa aktif kombucha daun sirsak dan kontrol sitagliptin, dengan menggunakan *docking server*. Protein SDF-1, DPP4 diunduh melalui *Protein Data Bank* (PDB). Struktur 3D senyawa aktif kombucha daun sirsak dan kontrol sitagliptin diambil dari Pubchem. Analisa afinitas senyawa ligan terhadap enzim berdasarkan pada nilai energi bebas, konstanta inhibisi, interaksi permukaan, dan ikatan terhadap residu asam amino protein target. Analisa fisikokimia, ADME, dan toksisitas menggunakan *pKCSM online tool*

Hasil: Beberapa senyawa aktif daun sirsak mempunyai afinitas terhadap DPP4, namun diprediksi mempunyai efek yang berbeda dengan kontrol, kecuali *homoorientin* dan *coumaric acid*. Senyawa aktif kombucha daun sirsak yaitu *quercetin* dan *homoorientin* juga memiliki afinitas terhadap SDF-1, namun diprediksi memiliki efek yang berbeda dengan sitagliptin. *pKCSM online tool* menunjukkan *coumaric acid* merupakan senyawa aktif yang berpotensi bekerja optimal dalam ADME dan tidak menimbulkan toksisitas.

Kesimpulan: *Homoorientin* dan *coumaric acid* merupakan senyawa aktif yang mampu menghambat DPP4 dengan potensi yang lebih rendah. *Quercetin* dan *homoorientin* memiliki afinitas terhadap SDF-1 namun tidak menghambat sisi aktif SDF-1. *Coumaric acid* dapat dikembangkan menjadi obat diabetes.

Kata Kunci kombucha daun sirsak; *molecular docking*; *in silico*; *pKCSM*; *antidiabetes*

*Korespondensi:

Dr. dr. Dini Sri Damayanti M.Kes
Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang
Jl MT Haryono 193 Malang, Jawa Timur, Indonesia, 65145
dinisridamayanti@unisma.ac.id

ABSTRACT

Introduction: Diabetes mellitus is a metabolic disorder caused by dysregulation of blood glucose. Dysregulation is caused by one of the causes of increased DPP4 and SDF-1 due to poor lifestyle. DPP4 and SDF-1 can be inhibited by flavonoid on soursop leaves, so has to prevent type 2 DM. Flavonoids can be increased by fermentation like kombucha. Kombucha contains a lot of organic acids and high in flavonoids. Therefore this research was conducted predict affinity between the compound of soursop leaves kombucha and enzyme DPP4 and SDF-1, and to predict their physicochemical properties, Absorption, Distribution, Metabolism, and Excretion (ADME), toxicity of soursop leaves kombucha's compounds.

Method: This research used the *insilico* method by attaching 11 active compounds of soursop leaves kombucha and sitagliptin as the control drug. 3D structure of soursop leaves kombucha's active compounds and sitagliptin was taken from Pubchem. The affinity of the ligand of soursop leaves kombucha's active compounds was analyzed by comparing the free energy, the inhibition constant, the surface interaction, and the amino acid residues. While to analyze the physicochemical reaction, the ADME and the toxicity of soursop leaves kombucha's active compounds and sitagliptin, we were using the *pKCSM online tool*.

Results: Some active compounds of soursop leaves have high affinities with DPP4 like *homoorientin* and *coumaric acid*. Active compounds of soursop leaves kombucha, which are *quercetin* and *homoorientin*, also have high affinities for SDF-1, *pKCSM online tool* showed that *coumaric acid* is the active compound that has the potential to work optimally in ADME and didn't cause toxicity.

Conclusion: *Homoorientin* and *coumaric acid* are the active compounds that have affinity for DPP4. *Quercetin* and *homoorientin* that have affinity for SDF-1. *Coumaric acid* can be developed into antidiabetes drug.

Keywords : *soursop leaf kombucha*; *molecular docking*.; *in silico*; *pKCSM*; *antidiabetic*

*Correspondence:

Dr. dr.Dini Sri Damayanti, M.Kes
Faculty of Medicine, University of Islam Malang
Jl MT Haryono 193 Malang City, East Java Indonesia, 65145
dinisridamayanti@unisma.ac.id

PENDAHULUAN

Enzim *Dipeptidyl Peptidase-4* (DPP4) merupakan salah satu enzim yang berperan dalam pengendalian kadar glukosa darah. DPP4 berfungsi sebagai salah satu enzim yang memotong alanin dan prolin dari peptida *Glucagon Like Peptide-1* (GLP-1). Pada keadaan diet tinggi glukosa DPP4 akan meningkat, peningkatan DPP4 akan mengaktivasi dari GLP-1 sehingga sekresi insulin akan menurun (Röhrborn, Wronkowitz, and Eckel 2015). Selain itu, peningkatan DPP4 akan meningkatkan enzim SDF-1 α sehingga proliferasi pada sel α pankreas akan meningkat dan menyebabkan sekresi glukagon akan meningkat, glukagon akan bekerja di hepar dan terjadilah gluconeogenesis sehingga menyebabkan diabetes mellitus tipe 2 (Shin et al. 2018).

Pengobatan Diabetes Mellitus tipe 2 salah satunya dengan DPP4 *inhibitor*. DPP4 *inhibitor* akan menghambat DPP4 sehingga GLP-1 akan meningkat dan meningkatkan sensitivitas insulin di sel β pankreas. Namun golongan DPP4 inhibitor mempunyai efek samping yaitu dapat menyebabkan reaksi *anaphylaxis*, dan *angioedema* (Abu Khalaf et al. 2015). Salah satu golongan DPP4 inhibitor adalah sitagliptin (Sihotang, Ramadhani, and Tahapary 2018). Pengobatan Diabetes Mellitus tipe 2 salah satunya dengan DPP4 *inhibitor*. DPP4 *inhibitor* akan menghambat DPP4 sehingga GLP-1 akan meningkat dan meningkatkan sensitivitas insulin di sel β pankreas. Namun golongan DPP4 inhibitor mempunyai efek samping yaitu dapat menyebabkan reaksi *anaphylaxis*, dan *angioedema*⁵. Salah satu golongan DPP4 inhibitor adalah sitagliptin⁶.

Saat ini penggunaan herbal banyak digunakan oleh masyarakat untuk menurunkan kadar glukosa darah karena dianggap lebih murah, mudah didapat dan lebih aman. Salah satu herbal yang digunakan adalah daun sirsak, Daun sirsak mempunyai senyawa aktif *alkaloid*, *flavonoid* dan *fenol*. Hasil penelitian secara *in vivo* pada tikus model hiperglikemi dan hiperkolesterol membuktikan bahwa daun sirsak yang diekstrak diberi dosis 100 mg/kgBB mampu meningkatkan sekresi insulin, meningkatkan GLP-1, menurunkan DPP4, menurunkan jumlah TNF- α dan tidak menyebabkan proliferasi sel β pankreas secara berlebihan (Damayanti, et. al., 2019). Daun sirsak dikonsumsi masyarakat dalam bentuk rebusan daun sirsak. Salah satu kelemahan rebusan daun sirsak adalah bau yang menyengat dan rasa getir yang kurang disukai (Suhardini and Zubaidah 2016).

Salah satu produk minuman yang sedang digemari yaitu kombucha. Kombucha merupakan minuman hasil dari fermentasi daun teh. Fermentasi yang terjadi merupakan aktivitas dari mikroorganisme yang terdapat dalam *starter* kultur kombucha yang merubah gula dan senyawa fenol menjadi asam organik, etanol, dan senyawa fenol aglikon (Wistiana and Zubaidah 2015). Pada

penelitian sebelumnya membuktikan bahwa kombucha teh mengandung antioksidan yang tinggi, mampu menurunkan hiperglikemi, menurunkan hiperkolesterol dan memperbaiki system imun tubuh (Watawana et al. 2015). Hasil penelitian menunjukkan bahwa fermentasi yang dilakukan pada pembuatan kombucha mengandung banyak kandungan metabolit sekunder seperti, *flavonoid*, *fenol*, asam organik dan etanol (Jayabalan et al. 2014). Namun masih belum banyak penelitian tentang kombucha dengan bahan dasar daun sirsak sebagai antihiperglikemi. Maka dari itu, pada penelitian ini ingin membuktikan eefektivitas kombucha daun sirsak sebagai antihiperglikemi dengan menghambat DPP-4 dan SDF-1.

Dalam memprediksi mekanisme kerja kombucha daun sirsak (*Annona muricata* Linn.) dalam memperbaiki resistensi insulin dengan menghambat DPP4 dan SDF-1 α , maka perlu dilakukan penelitian awal dengan studi *insilico molecular docking* dan pKCSM *online tool* yang digunakan untuk memprediksi interaksi antara ligan dan protein untuk membentuk suatu interaksi (Damayanti et al. 2019). Serta memprediksi fisikokimia, ADME dan toksisitas dari senyawa aktif kombucha daun sirsak (*Annona muricata* Linn).

METODE PENELITIAN

Desain Penelitian

Desain penelitian secara *insilico* menggunakan metode *molecular docking* untuk mengetahui afinitas senyawa aktif kombucha daun sirsak (*Annona muricata* Linn.) terhadap protein target DPP4 dan SDF-1 serta pKCSM *online tool* untuk memprediksi sifat fisikokimia, farmakokinetik dan toksisitas senyawa aktif kombucha daun sirsak. Penambatan senyawa aktif kombucha daun sirsak dengan protein DPP4 dengan kode pada PDB 2OGZ dan SDF-1 dengan kode pada PDB 2KED dan dibandingkan dengan kontrol obat sitagliptin. Senyawa aktif kombucha daun sirsak yang didapatkan dari literatur terdiri dari *acetic acid*, *gluconic acid*, *mallic acid*, *coumaric acid*, *daidzein*, *emodin*, *epicatechin gallate*, *homoorientin*, *luteolin*, *quercetin* dan *tangeretin*¹². Prediksi Absorpsi, Distribusi, Metabolisme, Ekskresi dan Toksisitas serta *Lipinski' rule* dari senyawa aktif kombucha daun sirsak diuji dengan menggunakan pKCSM *online tool*.

Afinitas dari senyawa aktif kombucha daun sirsak dengan protein target DPP4 dan SDF-1 dilakukan dengan menggunakan studi *insilico molecular docking*. Afinitas senyawa aktif tersebut dilihat berdasarkan parameter interaksi energi ikatan bebas, konstanta inhibisi, nilai interaksi permukaan, dan residu asam amino yang dibandingkan dengan kontrol sitagliptin

Alat dan Bahan

Senyawa aktif kombucha daun sirsak dipilih dari senyawa *fenol* daun sirsak yang didapat dari literatur¹². Protein target yang digunakan yaitu DPP4 dengan kode PDB 2OGZ dan SDF-1 dengan kode PDB 2KED, sitagliptin sebagai kontrol pada penelitian ini didapat dari pubchem dengan CID: 4369359. Struktur 3D senyawa kombucha daun sirsak diambil dari pubchem setelah itu dikonfontasi menjadi file sdf. dengan menggunakan webserver SMILES. Struktur 3D protein target DPP4 dan SDF-1 yang didapat melalui rcsb dikonfontasi menjadi file sdf. Penelitian *insilico* menggunakan alat berupa komputer dengan dengan spesifikasi 4096MB RAM Intel(R) Celeron(R) CPU N3060 @ 1.60GHz (2 CPUs), ~1.6GHz, Sistem operasi *Windows 10 Home Single Language 64-bit (10.0, Build 18363) (18362.19h1_release.190318-1202)* koneksi internet, software berbasis web pada docking server (<http://www.dockingserver.com>) dan webserver pKCSM *online tool* (<http://biosig.unimelb.edu.au/pkcsmprediction>).

Proses *docking* diawali dengan memasukkan file protein sdf dari protein target DPP4, file sdf protein SDF-1 di *docking server* dan masukkan sitagliptin dan senyawa aktif kombucha daun sirsak pada file ligan di *docking server*. Protein DPP4 yang didapatkan memiliki dimensi x, y, z masing-masing 40 dan pusat x: 18,388,y: 18,045, dan pusat z: 34,070. Proses docking dilakukan dengan ulangan sebanyak 10x. SDF-1 memiliki dimesi dengan nilai x 12,788, y: 10,344, z: 30,569 dengan proses pengulangan 10x. Validasi afinitas ditentukan berdasarkan nilai energi bebas, nilai konstanta inhibisi, luas area interaksi, dan kesamaan posisi ikatan dengan residu asam amino protein target dibanding dengan kontrol. Visualisasi docking dengan menggunakan *dockingserver*. Analisa pKCSM *online tool* dari struktur 3D molekul senyawa aktif dari kombucha daun sirsak (*Annona muricata* Linn.), dan kontrol sitagliptin dilihat berdasarkan parameter absorpsi, distribusi, metabolisme, ekskresi, toksistas dan *Lipinski rule*.

Teknik Analisis Data

Pada penelitian ini, hasil uji *insilico* dilihat dengan parameter energi ikatan bebas, konstanta inhibisi, residu asam amino dan interaksi permukaan antara senyawa aktif kombucha daun

sirsak dengan protein target DPP4 dan SDF-1. Uji pKCSM dilihat berdasarkan parameter absorpsi, distribusi, metabolisme, dan ekskresi dan toksisitas serta dilihat berdasarkan nilai *Lipinski's rule*.

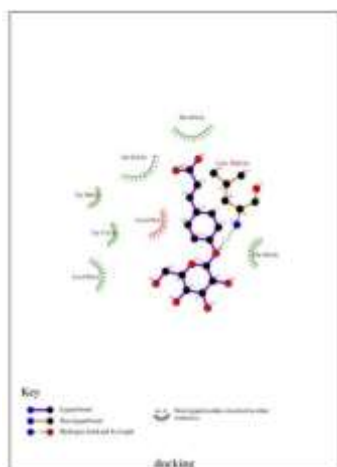
HASIL PENELITIAN

Hasil dan Analisa data Uji *Molecular Docking* Senyawa Aktif Kombucha Daun Sirsak dan Sitagliptin dengan DPP4

Hasil penambatan antara senyawa aktif kombucha daun sirsak terhadap protein target DPP4 dinilai berdasarkan energi ikatan bebas (ΔG), konstanta inhibisi (K_i), interaksi permukaan, serta residu asam amino yang dibandingkan dengan sitagliptin sebagai kontrol pembanding dapat dilihat pada **Tabel 5.1**

Sitagliptin memiliki afinitas terhadap DPP-4, hal ini dilihat berdasarkan nilai energi ikatan bebas pada sitagliptin yaitu -9,03 kcal/mol, semakin rendah nilai energi ikatan bebas maka semakin mudah ligan dalam mengikat protein target. Konstanta inhibisi sebesar 242,33 μM (micromolar). Nilai konstanta inhibisi ini menunjukkan hambatan ligan sitagliptin dengan protein target DPP-4, semakin rendah nilai K_i maka dosis yang didockingkan untuk menghambat DPP4 semakin rendah. Nilai interaksi permukaan sebesar 680,230 Å (amphere), menunjukkan interaksi antar atom hidrogen yang tinggi dari ligan sitagliptin dengan hidrogen DPP-4. Sitagliptin mengikat residu asam amino DPP-4 GLU408, GLU464, LYS463, PHE461, LEU410, THR116, PHE364, LEU366, THR365, ALA465, diantara residu tersebut sitagliptin mengikat sisi aktif dari asam amino DPP-4, maka sitagliptin mengikat 100% sisi aktif enzim DPP4. Validasi penelitian menggunakan kontrol sitagliptin. Proses docking senyawa aktif kombucha daun sirsak dilakukan sebanyak 10x ulangan.

Senyawa aktif kombucha daun sirsak yang memiliki afinitas untuk menghambat DPP4 berdasarkan kriteria afinitas senyawa aktif terhadap protein target adalah *epicatechin gallate*, *homoorientin* dan *coumaric acid*. Namun senyawa tersebut hanya memiliki kesamaan ikatan terhadap residu asam amino masing- masing sebesar 0%, 40% dan 30% dibandingkan dengan kontrol sitagliptin.



Keterangan: Gambar **a** dan **b** merupakan ikatan residu asam amino antara coumaric acid dengan DPP4

Tabel 1. Afinitas Kombucha Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn.) dan Kontrol Sitagliptin Terhadap Protein Target DPP4

Ligan	Energi ikatan bebas (kcal/mol)	Konstanta Inhibisi (uM)	Interaksi Permukaan (Å)	Residu Asam Amino	Jumlah Kesamaan residu asam amino
Sitagliptin	-9.03	242.33	680.203	Ikatan hidrogen: GLU408, GLU464, LYS463, PHE461 halogen: LEU410, THR411, PHE364 hidrofobik: LEU366 Lain-lainnya: THR365, ALA465,	100%
Homoorintin	-6.89	8.87	691.676	Polar: GLU464, HIS363 Kation-pi: PHE461 Hidrofobik: ALA409, LEU366, ALA465	40%
Quercetin	-6.03	37.71	614.304	Polar: GLU464 Hidrofobik: LEU410, LEU366 Lain-lainnya: SER412 THR365	40%
Coumaric acid	-6.57	15.38	706.666	Ikatan hidrogen: LEU366 Polar: SER412, GLU464 , TYR372, TYR386 Hidrofobik: LEU436 Lain-lainnya: THR365, LEU410	30%
Epichatecin gallate	-7.23	5.00	801.54	Ikatan hidrogen: THR350 Polar: GLU437 Hidrofobik: MET348, ILE375, CYS394 Lain-lainnya: VAL354	0%
Asetic acid	-5.78	0,057,50	104,681	Ikatan hidrogen: ARG429 Polar: TYR456 Hidrofobik: PHE357, ILE405, LE374, TYR585 Lain-lainnya: ARG356, ARG358, GLU361, SER360, GLU408	10%
Luteolin	-6.72	11.96	518.998	Polar: THR304, TRP215 Kation-pi: TRP305, PHE364 Hidrofobik: PRO218	10%
Gluconic acid	-6.15	3052	316,004	Polar: ASN595, ARG597	0%
Daidzein	-5.29	132.04	554.901	Polar: GLU421 Kation-pi: TYR439 Hidrofobik: VAL442 Lain-lainnya: LYS399, THR398	0%
Tangeretin	-4,99	220,99	820,574	Polar: GLU378, SER376, ASP588 Hidrofobik: ILE375 Lainlainnya: THR351, GLU347, SER349	0%
Emodin	-4.90	254.92	550.301	Hidrofobik: VAL442 Lain-lainnya: LYS399, THR440, TRP402, THR398, GLU421	0%
Mallic acid	-2,46	0,015,78	379,472	Polar: ARG581, LYS589 Ikatan hidrogen: THR522 Hidrofobik: LEU436 Lain-lainnya: THR365, LEU410	10%

Keterangan: Data yang ditampilkan merupakan hasil dari penambatan dari 11 senyawa aktif kombucha daun sirsak dengan protein target DPP4 yang dibandingkan dengan kontrol sitagliptin. Berdasarkan hasil molecular docking sisi aktif DPP4 terdiri dari asam amino GLU408, GLU464, LYS463, dan ALA465 dan bersifat antagonis terhadap DPP4

Molecular Docking Senyawa Aktif Kombucha Daun Sirsak (*Annona Muricata* Linn.) Dengan SDF-1

Sitagliptin memiliki afinitas terhadap SDF-1 berdasarkan nilai energi ikatan bebas yaitu -9,39 kcal/mol, konstanta inhibisi sebesar 131,91 μ M, nilai interaksi permukaan sebesar 764,931 Å,

mengikat residu asam amino HIS203, GLU288, VAL196, ASP187, TYR190, ASP97, ARG188, GLN200, TYR116, TRP94. Sisi aktif dari SDF-1 dan bersifat antagonis terhadap SDF-1 adalah TYR61, GLN54, ILE51, HIS17, LEU26, dan ARG47. SDF-1 memiliki sisi aktif TYR61, GLN54, ILE51, HIS17, LEU26, dan ARG47. Pada

penelitian ini tidak didapatkan kesamaan asam amino kontrol dengan protein target.

Hasil penambatan senyawa aktif kombucha daun sirsak terhadap protein SDF-1 dapat dilihat pada **Tabel 2**. Diketahui bahwa dari 11 senyawa aktif kombucha daun sirsak (*Annona muricata* Linn), *Quercetin* dan *homoorientin* merupakan senyawa aktif kombucha daun sirsak (*Annona muricata* Linn.) yang diprediksi mempunyai afinitas terhadap SDF-1 dengan nilai energi ikatan bebas masing-masing kurang dari -7 kcal/mol, nilai K_i *quercetin* sebesar $-6,39 \times 10^{-3} \mu\text{M}$,

nilai interaksi permukaan *quercetin* sebesar 595.449 Å, dan mengikat residu asam amino GLU464, LEU410, LEU366, SER412, THR365. *Homoorientin* memiliki konstanta inhibisi sebesar $6,54 \times 10^{-3} \mu\text{M}$, interaksi permukaan sebesar 555,441 Å, mengikat residu asam amino LEU166, PRO163, LEU167, VAL158, ILE169, PRO170.

Berdasarkan hasil *molecular docking*, didapatkan *homoorientin* dan *quercetin* mempunyai afinitas terhadap enzim SDF-1, namun keduanya tidak mengikat sisi aktif SDF-1.

Tabel 2. Afinitas Senyawa Aktif Kombucha Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn.) dan Kontrol Sitagliptin Dengan SDF-1.

Ligan	Energi ikatan bebas (kcal/mol)	Konstanta Inhibisi (uM)	Interaksi Permukaan (Å)	Residu Asam Amino	Jumlah persamaan residu asam amino
Sitagliptin	-9.39	131.91	764.931	Ikatan hidrogen: HIS203, GLU288 halogen: VAL196, ASP187, TYR190, ASP97 Polar: ARG188, GLN200 hidrofobik: HIS113 Lain-lainnya: PHE199, CYS186, TRP102	100%
<i>Quercetin</i>	-7.15	5,79	595.449	Hidrofobik: TYR302, LEU58, PRO299, VAL54, VAL59 Lain-lainnya: THR51, VAL62	0%
<i>Homoorientin</i>	-7.07	$6,54 \times 10^{-3}$	555.441	Hidrofobik: LEU166, PRO163, LEU167 Lain-lainnya: VAL158, ILE169, PRO170	0%
<i>Gluconic acid</i>	-6.52	$16,59 \times 10^{-3}$	396.045	Kation-pi: PHE304 Lain-lainnya: LEU301, ALA303	0%
<i>Epicatechin gallate</i>	-6.38	$21,20 \times 10^{-3}$	621.445	Hidrofobik: PHE249, TYR256, LEU216 Lain-lainnya: LEU246	0%
<i>Asetic acid</i>	-6.17	$29,99 \times 10^{-3}$	718.363	Polar: TYR65 Hidrofobik: LEU61, ILE60, ILE53, LEU85, ILE89	0%
<i>Luteolin</i>	-6.13	$32,18 \times 10^{-3}$	567.345	Polar: THR51 Hidrofobik: ILE300, TYR302, PRO299 Lain-lainnya: LEU58, VAL59, CYS296, A	0%
<i>Daidzein</i>	-5.47	$98,16 \times 10^{-3}$	561.622	Hidrofobik: PHE249, TYR219, LEU246	0%
<i>Tangeretin</i>	-5,43	103,85	649.019	Hidrofobik: TRP283, VAL280, ILE261, PHE276, ILE257, PRO254	0%
<i>Emodin</i>	-5.38	$114,22 \times 10^{-3}$	539.769	Hidrofobik: TYR302, ALA303, VAL59, MET63 Lain-lainnya: PRO299, LEU58	0%
<i>Coumaric acid</i>	-5.29	$133,55 \times 10^{-3}$	639.014	Kation-pi: TYR219 Hidrofobik: PHE249, LEU216 Lain-lainnya: LEU246, LEU208, ILE215,	0%
<i>Mallic acid</i>	-3.75	$1,78 \times 10^{-3}$	336.821	Ikatan hidrogen: THR240 Hidrofobik: LEU301 Lain-lainnya: LYS239	0%

Keterangan: Data yang ditampilkan merupakan hasil dari penambatan dari 11 senyawa aktif kombucha daun sirsak dan kontrol sitagliptin dengan SDF-1. Residu asam amino yang terikat zat aktif, dengan kontrol Sitagliptin. SDF-1 memiliki sisi aktif TYR61, GLN54, ILE51, HIS17, LEU26, dan ARG47 dan bersifat antagonis terhadap SDF-1

Fisikokimia, Farmakokinetik, dan Toksisitas Senyawa Aktif Kombucha Daun Sirsak

Berdasarkan hasil *molecular docking*, senyawa *homoorientin* dan *epicatechin gallate* tidak memenuhi aturan Lipinski sedangkan *coumaric acid* memenuhi aturan Lipinski. Prediksi sifat fisikokimia dilakukan untuk menentukan apakah senyawa tersebut dapat digunakan sebagai obat oral aktif dengan memenuhi parameter *Lipinski's rule of five*. Parameter tersebut menunjukkan bahwa suatu senyawa memenuhi dari sifat fisikokimia dengan berat molekul tidak lebih

dari 500 Da agar mudah masuk dan menembus membrane sel. Nilai koefisien partisi oktanol terhadap air (Log P) tidak lebih dari 5 agar selektif dalam mengikat protein target. Jumlah donor ikatan hidrogen atau *Hydrogen Bond Donors* (HBD) tidak lebih dari 5, dan jumlah akseptor ikatan hidrogen atau *Hydrogen Bond Acceptors* (HBA) yang tidak lebih dari 10 untuk menyebabkan efektivitas dari prediksi berdasarkan nilai farmakokinetik, absorpsi, distribusi, metabolisme, ekskresi dan toksisitas (Susanti, Sukmawaty, and Masriany 2021, Kesuma et al. 2018).

Tabel 5.3 Fisikokimia Senyawa Aktif Kombucha Daun Sirsak Dan Kontrol Sitagliptin

Senyawa	Parameter Hukum Lipinski						Penerapan Hukum Lipinski
	BM	LogP	HBA	HBD	PSA	Torsion	
Homoorientin	448,38	-0,2027	11	8	198,208	3	Tidak memenuhi
Epicatechin gallate	442,376	2,5276	10	7	191,669	3	Tidak memenuhi
Tangeretin	372,373	3,503	7	0	179,107	6	Tidak memenuhi
Coumaric acid	326,301	-1,0369	7	5	142,859	5	Memenuhi
Quercetin	302,238	-1,988	7	5	122,108	1	Memenuhi
Luteolin	286,239	2,2824	6	4	119,662	1	Memenuhi
Emodin	270,24	188,722	5	3	112,519	0	Memenuhi
Daidzein	254,241	2,8712	4	2	107,725	1	Memenuhi
Gluconic acid	196,155	-3,4931	6	6	69,587	5	Tidak Memenuhi
Mallic acid	134,087	-1,0934	3	3	57,546	3	Memenuhi
Acetic acid	60,052	0,0909	7	5	56,475	1	Memenuhi

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) senyawa aktif kombucha daun sirsak dan kontrol

Tabel 5.4. ADME Senyawa Aktif Kombucha Daun Sirsak dan Kontrol Sitagliptin

Nama senyawa	Kelarutan (mol/ml)	Absorpsi (%)	Distribusi BBB dan unbound	Metabolisme	Ekskresi
Epicatechin gallate	-3,206	50,393	-1,833 dan 0,129	-	-0,039
Quercetin	-3,097	76,081	-1,363 dan 0,051	-	0,457
Homoorientin	-2,989	39,901	-2,034 dan 0,123	-	-0,641
Asam asetat	0,885	95,7	-0,329 dan 0,749	CYP2D6 substrate	0,595
Asam malat	-2,695	33,875	-0,996 dan 0,60	-	0,221
Gluconic acid	-2,735	0	-1,806 dan 0,499	-	0,978
Coumaric acid	-2,349	14,543	-1,084 dan 0,482	-	0,336
Daidzein	-4,046	91,165	-0,241 dan 0,097	CYP3A4 substrate CYP1A2 inhibitor CYP2C19 inhibitor CYP2C9 inhibitor	0,171
Emodin	-3,21	71,316	-0,861 dan 0,159	CYP1A2 inhibitor	0,352
Luteolin	-3,198	80,066	-1,257 dan 0,054	CYP1A2 inhibitor CYP2C19 inhibitor CYP2C9 inhibitor CYP3A4 inhibitor	0,55
Tangeretin	-4,782	98,278	-1,032 dan 0,224	CYP3A4 substrate CYP1A2 inhibitor CYP2C19 inhibitor	0,811

Keterangan : prediksi ADME senyawa terbaik kombucha daun sirsak menggunakan pkCSM *online tool*

Indikator kemampuan senyawa aktif dalam mengabsorpsi dapat dilihat menggunakan nilai kemampuan absorpsi oleh intestinal dan sifat kelarutan dalam air. Hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa aktif kombucha daun sirsak mempunyai kemampuan absorpsi dari urutan terbaik adalah *epicatechin gallate*, *quercetin*, *homoorientin* dan *coumaric acid* mempunyai kelarutan masing-masing 50%, 76%, 34% dan 14%. Berdasarkan sifat kelarutan, keempat senyawa kombucha daun sirsak masing-masing *epicatechin gallate* senilai -3,206 mol/ml, *quercetin* senilai -

3,097 mol/ml, *homoorientin* senilai -2,989 mol/ml, dan *coumaric acid* senilai -2,349 mol/ml.

Indikator distribusi diukur dari kemampuan suatu senyawa aktif dapat menembus BBB dan kadar senyawa aktif dalam darah yang berbentuk unbound. Hasil penelitian ini menunjukkan *epicatechin gallate* memiliki nilai distribusi BBB senilai -1,833, *quercetin* senilai -1,363, *homoorientin* senilai -2,034, dan *coumaric acid* senilai -1,084. Serta mempunyai bentuk unbound berdasarkan urutan dari yang terbesar adalah *coumaric acid* senilai 0,482 Fu, *epicatechin*

gallate senilai 0,129 Fu, *homoorientin* senilai 0,123 Fu, *quercetin* senilai 0,051 Fu.

Indikator senyawa aktif suatu obat di metabolisme dan mempengaruhi aktifitas enzim di hepar diukur berdasarkan kemampuan dalam mengaktifkan atau menghambat enzim–enzim yang berperan dalam metabolisme obat di hepar. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa keempat senyawa tersebut tidak mengaktifkan maupun menghambat enzim CYP450 di hepar.

Indikator ekskresi dilihat berdasarkan dari nilai clearance suatu obat. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa keempat senyawa aktif kombucha daun sirsak yang mempunyai nilai clearance dari urutan terbesar adalah quercetin senilai 0,457 ml/menit/kg, coumaric acid senilai 0,336 ml/menit/kg, *homoorientin* senilai -0,641 ml/menit/kg dan epicatechin gallate senilai 0,039 ml/menit/kg.

Tabel 5.5 Uji Toksisitas pada Kombucha Daun Sirsak dan Sitagliptin

Nama Senyawa	Toksisitas			
	LD ₅₀ (mg/kg)	Mutagenik	Hepatotoksisitas	Alergi kulit
Acetic Acid	1,68	-	-	-
Mallic Acid	1,89	-	-	-
Coumaric Acid	2,542	-	-	-
Quercetin	2,516	-	-	-
Daidzein	1,648	-	-	-
Emodin	2,281	+	-	-
Luteolin	2,378	-	-	-
Homoorientin	2,963	+	-	-
Gluconic acid	1,764	-	-	-
Tangeretin	2,393	-	-	-
Epicatechin gallate	2,66	-	-	-

Keterangan: prediksi Toksisitas menggunakan Pkcsn online tool senyawa aktif terbaik kombucha daun sirsak dan kontrol sitagliptin

Berdasarkan hasil uji toksisitas menunjukkan bahwa sitagliptin memiliki LD₅₀ sebesar 2,716 mg/kg, tidak beresiko mutagenic, beresiko toksik terhadap hepar, dan tidak *sensitive* terhadap kulit. Hasil uji tersebut dapat dilihat pada **Tabel 5**. Pada penelitian ini didapatkan senyawa kombucha daun sirsak yaitu *coumaric acid*, dan *homoorientin* mempunyai LD₅₀ yang sama dengan kontrol. *Homoorientin* dapat menyebabkan perubahan kromosom.

PEMBAHASAN

Potensi Senyawa Aktif Kombucha Daun Sirsak Terhadap Protein Target DPP4 dan SDF-1

Penelitian ini yaitu penelitian *specific molecular docking* dengan menggunakan kontrol sitagliptin. Sitagliptin merupakan salah satu obat antidiabetes golongan DPP4 inhibitor. DPP4 inhibitor akan menghambat aktivitas DPP4 sehingga aktivitas insulinotropik akan meningkat. Sitagliptin akan mengontrol glukosa dengan mensekresi insulin *dependen*, melambatkan pengosongan *gaster*, dan mereduksi *glucagon postprandial*³. Sitagliptin menghambat DPP4 dan memiliki nilai LD₅₀>3000 mg/kg¹³, dan memiliki nilai LC₅₀ (8.7 ± 1.82 µM) secara *insilico* sitagliptin menghambat enzim DPP4 dengan nilai energi ikatan bebas -9,03 kcal/mol¹⁴. Pada teori lain

menyebutkan bahwa sitagliptin memiliki nilai IC₅₀ = 65 nM¹⁵. Afinitas dari suatu ligan terhadap protein target ditentukan oleh parameter nilai energi ikatan bebas, konstanta inhibisi, interaksi permukaan, dan jumlah residu asam amino yang berikatan antara ligan dan protein target. Berdasarkan *molecular docking*, sitagliptin memiliki nilai energi ikatan senilai -9,03 kcal/mol terhadap DPP4. Energi ikatan bebas yang rendah menunjukkan terdapat adanya stabilitas suatu ligan dan protein dalam berikatan¹⁶.

Sitagliptin memiliki nilai konstanta inhibisi sebesar 242,33 µM. Konstanta inhibisi yang tidak tinggi mengacu pada adanya hambatan antara obat dan protein sehingga memudahkan ikatan¹⁷. Nilai interaksi permukaan sitagliptin terhadap enzim DPP4 sebesar 680,203 Å. Interaksi permukaan yang baik menunjukkan tingginya peluang yang bagi ligan dalam interaksi dengan protein. Residu asam enzim DPP4 dan sitagliptin antara lain GLU408, GLU464, LYS463, PHE461, LEU366, THR365, ALA465 yang diprediksi memiliki sisi aktif dengan DPP4. Hal ini sesuai dengan teori yang menyatakan pada enzim DPP4 memiliki sisi aktif GLU408, GLU464, LYS463, LEU366^{18,19}.

Berdasarkan parameter energi ikatan bebas, konstanta inhibisi, interaksi permukaan, dan residu asam amino dari zat aktif kombucha daun sirsak,

maka dapat dilihat senyawa yang memiliki afinitas dalam menghambat DPP4 adalah *epicatechin gallate*. *Epicatechin gallate* termasuk dalam golongan *flavonoid*, *epicatechin gallate* berpotensi sebagai salah satu senyawa aktif yang dapat digunakan sebagai obat antihiperqlikemi. Hasil penelitian secara *in vivo* menyatakan pemberian ekstrak daun sirsak dapat menurunkan kadar gula darah dengan menurunkan aktivitas DPP4²⁰.

Epicatechin gallate meskipun mempunyai afinitas yang tinggi terhadap enzim DPP4 namun tidak mengikat sisi aktif yang sama dengan kontrol, sehingga diprediksi menimbulkan efek yang berbeda dengan kontrol.

Berdasarkan hasil *molecular docking*, diprediksi *homoorientin* dan *coumaric acid* mampu menghambat DPP4 namun memiliki nilai yang lebih sedikit dibanding sitagliptin. Hal tersebut dapat dilihat berdasarkan parameter energi ikatan bebas *homoorientin* dan *coumaric acid* dibawah -6 kcal/mol, nilai konstanta inhibisi yang rendah dibanding kontrol, nilai interaksi permukaan yang tinggi dibanding kontrol, dan mempunyai kesamaan pengikatan residu asam amino dengan kontrol. Nilai kesamaan residu asam amino pada *homoorientin* 50% sedangkan pada *coumaric acid* 25%. Berdasarkan pada penelitian sebelumnya, yang dilakukan secara *invivo* pada tikus model hiperqlikemi yang diberi *coumaric acid* dan *homoorientin* selama 30 hari terdapat penurunan kadar gula darah pada tikus tersebut²¹.

Sitagliptin memiliki afinitas terhadap SDF-1, hal ini dilihat berdasarkan parameter energi ikatan bebas sebesar -9,39, nilai konstanta inhibisi memiliki nilai 131,91, nilai interaksi permukaan sebesar 764,931 Amphere, dan residu asam amino sitagliptin dengan SDF-1 HIS203, GLU288, VAL196, ASP187, TYR190, ASP970, ARG188, GLN200, TYR116, TRP94, HIS113, PHE199, CYS186, TRP102, VAL112, dari hasil *molecular docking* residu asam amino sitagliptin tidak mengikat sisi aktif SDF-1. Sisi aktif SDF-1 terdiri dari TYR61, GLN54, ILE51, HIS17, LEU26, dan ARG47. Hal ini dapat terjadi karena residu asam amino sitagliptin berada diuar *binding site* dari sisi aktif SDF-1²².

Senyawa aktif kombucha daun sirsak memiliki afinitas terhadap SDF-1. Berdasarkan nilai energi ikatan bebas *quercetin* dan *homoorientin* memiliki nilai kurang dari -7 kcal/mol, nilai konstanta inhibisi yang rendah dibanding kontrol, nilai interaksi permukaan yang rendah dibanding kontrol, namun kedua senyawa aktif ini tidak mengikat sisi aktif SDF-1, hal ini terjadi karena *binding site* pada sisi aktif SDF-1 berbeda dengan kontrol. Sehingga diprediksi memiliki efek yang berbeda dengan kontrol²³.

Fisikokimia, Farmakokinetik, dan Toksisitas Senyawa Aktif Kombucha Daun Sirsak

Prediksi sifat fisikokimia dilakukan untuk menentukan apakah senyawa tersebut dapat digunakan sebagai obat oral aktif dengan memenuhi

parameter *Lipinski's rule of five*. Parameter tersebut menunjukkan bahwa suatu senyawa memenuhi dari sifat fisikokimia dengan berat molekul tidak lebih dari 500 Da agar mudah masuk dan menembus membrane sel. Nilai koefisien partisi oktanol terhadap air (Log P) tidak lebih dari 5 agar selektif dalam mengikat protein target. Jumlah donor ikatan hidrogen <5, dan jumlah akseptor ikatan hidrogen < 10^{24,25}.

Pada hasil *molecular docking* didapatkan dari 11 senyawa aktif kombucha daun sirsak yang memiliki afinitas terhadap enzim DPP4 dan SDF-1 adalah *homoorientin* dan *coumaric acid*²⁶. *Coumaric acid* memenuhi aturan Lipinski sehingga dapat diprediksi kedua senyawa tersebut mampu menembus membran sel dan dapat dijadikan kandidat sebagai obat peroral.

Persentase nilai absorpsi merupakan jumlah bioavailabilitas absorpsi suatu senyawa dilihat berdasarkan ekskresi kumulatif tubuh²⁷. Distribusi yang baik mensyaratkan kemampuan penyaluran BBB dan nilai *unbound* yang baik^{27,28}. Sitokrom P450 merupakan detoksifikasi yang berada dalam hepar. Sitokrom P450 mengoksidasi zat yang masuk tubuh termasuk obat²⁷. Hasil pKCSM pada penelitian ini menunjukkan senyawa aktif kombucha daun sirsak yaitu, *homoorientin*, *coumaric acid*, tidak mengaktifkan maupun menghambat sitokrom P450, sehingga tidak mempengaruhi metabolisme P450^{28,29}.

Prediksi ekskresi suatu zat yang masuk tubub dapat dilakukan dengan mengukur *Total Clearance* (CLTOT). Semakin tinggi nilai eksresi yang dihasilkan maka akan semakin cepat proses ekskresi yang dilakukan oleh hepar, bilier, dan ginjal²⁸. Uji toksisitas merupakan bagian dari uji praklinik yang dirancang untuk mengukur efek toksik suatu senyawa. *Homoorientin* dan *coumaric acid*, memiliki nilai absorpsi yang baik di intestinal. Senyawa aktif kombucha daun sirsak antara lain *homoorientin* dan *coumaric acid* tidak menembus *Blood Brain Barrier* (BBB) dan terdistribusi secara merata keseluruh tubuh. Senyawa aktif kombucha daun sirsak diantaranya *Homoorientin* namun terdapat resiko mutagenik pada senyawa aktif *homoorientin* yang dapat merubah struktur DNA. *Coumaric acid* dinilai lebih aman dan tidak menimbulkan toksisitas pada tubuh³⁰.

Berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa senyawa aktif kombucha daun sirsak *coumaric acid* merupakan golongan *flavonoid* yang terdapat pada senyawa aktif kombucha daun sirsak yang dapat dikembangkan menjadi obat antihiperqlikemi. Pada literatur lain menyatakan bahwa *p-coumaric acid* termasuk dalam golongan flavonoid yang menghambat enzim *protein tyrosine phosphatase* (PTP) sehingga diprediksi mampu menurunkan kadar gula darah³¹. Selain itu pemberian *coumaric acid* selama 30 hari mampu menurunkan kadar gula darah pada tikus model hiperqlikemi²¹.

KESIMPULAN

Homoorientin dan *coumaric acid* merupakan senyawa aktif yang mampu menghambat DPP4 dengan potensi yang lebih rendah dibandingkan dengan kontrol sitagliptin. *Coumaric acid* dapat dikembangkan menjadi obat oral antidiabetes melalui penghambatan DPP4 secara aman dan tidak menyebabkan toksistas pada tubuh. Senyawa aktif kombucha daun sirsak tidak menghambat SDF-1. *Coumaric acid* dapat digunakan sebagai kandidat sebagai obat antidiabetes yang aman dan tidak menimbulkan toksistas.

SARAN

Penelitian *insilico* merupakan penelitian awal yang perlu dilanjutkan dengan penelitian *in vitro* dan *in vivo*. Penelitian selanjutnya dapat dilakukan untuk membandingkan antara potensi kombucha daun sirsak dengan potensi penghambatan senyawa aktif daun sirsak dalam ekstrak kasar. Serta pengembangan penelitian *coumaric acid* sebagai *single compound* dengan dilakukan uji secara *in vivo* pada tikus model hiperglikemi.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terima kasih disampaikan kepada IOM (Ikatan Orang Tua Mahasiswa) dan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang, serta tim penelitian yang telah membantu penelitian ini

DAFTAR PUSTAKA

- Soelistijo SA, Lindarto D, Decroli E, Permana H, Sucipto KW, Kusnadi Y, et al. Pedoman pengelolaan dan pencegahan diabetes melitus tipe 2 dewasa di Indonesia 2019. Perkumpulan Endokrinol Indones [Internet]. 2019;1–117. Available from: <https://pbperkeni.or.id/wp-content/uploads/2020/07/Pedoman-Pengelolaan-DM-Tipe-2-Dewasa-di-Indonesia-eBook-PDF-1.pdf>
- Edwina DA, Manaf A, Efrida E. 102 Jurnal Kesehatan Andalas. 2015; 4(1) Pola Komplikasi Kronis Penderita Diabetes Melitus Tipe 2 Rawat Inap di Bagian Penyakit Dalam RS. Dr. M. Djamil Padang Januari 2011 - Desember 2012. J Kesehat Andalas. 2015;4(1):102–6.
- Röhrborn D, Wronkowitz N, Eckel J. DPP4 in diabetes. Front Immunol. 2015;6(JUL):1–20.
- Shin J, Fukuhara A, Onodera T, Kita S, Yokoyama C, Otsuki M, et al. SDF-1 is an autocrine insulin-Desensitizing factor in adipocytes. Diabetes. 2018;67(6):1068–78.
- Abu Khalaf R, Jarekji Z, Al-Qirim T, Sabbah D, Shattat G. Pharmacophore modeling and molecular docking studies of acridines as potential DPP-IV inhibitors. Can J Chem. 2015;93(7):721–9.
- Sihotang RC, Ramadhani R, Tahapary DL. Efikasi dan Keamanan Obat Anti Diabetik Oral pada Pasien Diabetes Melitus Tipe 2 dengan Penyakit Ginjal Kronik. J Penyakit Dalam Indones. 2018;5(3):150.
- Damayanti DS, Kusuma HMSC, Soeatmadji DW. Soursop (Annona Muricata) Leaf Water Extract (SLWE) Prevent Pancreatic B-Cell Damage in Male Wistar Rats Induced By High Fat and High Fructose (HFHF) Diet. Int J Diabetes Metab Disord. 2019;4(6):4–11.
- Suhardini PN, Zubaidah E. Studi Aktivitas Antioksidan Kombucha Dari Berbagai Jenis Daun Selama Fermentasi. J Pangan dan Agroindustri. 2016;4(1):221–9.
- Wistiana D, Zubaidah E. Karakteristik Kimiawi dan Mikrobiologi Berbagai Daun Tinggi Fenol Selama Fermentasi (Chemical and Microbiological Characteristics of Kombucha from Various High Leaf Phenols During Fermentation). J Pangan dan Agro Ind. 2015;3(4):1446–57.
- Jayabalan R, Malbaša R V., Lončar ES, Vitas JS, Sathishkumar M. A review on kombucha tea-microbiology, composition, fermentation, beneficial effects, toxicity, and tea fungus. Compr Rev Food Sci Food Saf. 2014;13(4):538–50.
- Damayanti DS, Nurdiana, Chandra Kusuma HMS, Soeatmadji DW. The potency of soursop leaf water extract on activating GLP-1R, inhibiting DPP4 and FOXO1 protein based on in silico analysis. Int J Appl Pharm. 2019;11(Special Issue 6):72–9.
- Tan WC, Muhialdin BJ, Meor Hussin AS. Influence of Storage Conditions on the Quality, Metabolites, and Biological Activity of Soursop (Annona muricata. L.) Kombucha. Front Microbiol. 2020;11(December):1–10.
- Bahaya P, Kehati-hatian P. LEMBARAN DATA KESELAMATAN Sitagliptin / Metformin Extended Release Formulation LEMBARAN DATA KESELAMATAN Sitagliptin / Metformin Extended Release Formulation. 2021;1–20.
- Okechukwu P, Sharma M, Tan WH, Chan HK, Chirara K, Gaurav A, et al. In-vitro anti-diabetic activity and in-silico studies of binding energies of palmatine with alpha-amylase, alpha-glucosidase and DPP-IV enzymes. Pharmacia. 2020;67(4):363–71.
- Corbett JW, Dirico K, Song W, Boscoe BP, Doran SD, Boyer D, et al. Design and synthesis of potent amido- and benzyl-substituted cis-3-amino-4-(2-cyanopyrrolidide)pyrrolidiny DPP-IV inhibitors. Bioorganic Med Chem Lett. 2007;17(24):6707–13.
- Syahputra G, Ambarsari L, T S. Simulasi docking kurkumin enol, bisdemetoksikurkumin dan analognya sebagai inhibitor enzim 12-lipoksigenase.

- Biofisika. 2014;10(1):55–67.
17. Arrasyid MAA, Damayanti DS, Lestari RD. Studi In Silico Senyawa Aktif Ekstrak Rimpang Jahe Emprit (*Zingiber officinale* Rosc .) terhadap Penghambatan Asetilkolinesterase , β -Tubulin dan Aktivasi Kanal Kalsium sebagai Antelmintik In Silico Study on Compound Activities of Emprit Ginger Rhizomes. East Java. 2018;147–58.
 18. Sinurat MR, Rahmayanti Y, Rizarullah* R. Uji Aktivitas Antidiabetes Senyawa Baru Daun Yakon (*Smallanthus sonchifolius*) sebagai Inhibitor Enzim DPP-4: Studi in Silico. J IPA Pembelajaran IPA. 2021;5(2):138–50.
 19. Pantaleão SQ, Philot EA, de Resende-Lara PT, Lima AN, Perahia D, Miteva MA, et al. Structural dynamics of DPP-4 and its influence on the projection of bioactive ligands. *Molecules*. 2018;23(2):1–10.
 20. Hilmi AA, Budijastuti W. Pengaruh Pemberian Senyawa Epigallocatechine gallate (EGCG) terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah dan Histopatologi Testis Mencit Diabetes Melitus Induksi Alloxan monohydrate The Effect of Epigallocatechin gallate (EGCG) Administration on the Decreas. 2020;9:146–52.
 21. Amalan V, Vijayakumar N, Indumathi D, Ramakrishnan A. Antidiabetic and antihyperlipidemic activity of p-coumaric acid in diabetic rats, role of pancreatic GLUT 2: In vivo approach. *Biomed Pharmacother* [Internet]. 2016;84:230–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopha.2016.09.039>
 22. Remm F, Kränkel N, Lener D, Drucker DJ, Sopper S, Brenner C. Sitagliptin Accelerates Endothelial Regeneration after Vascular Injury Independent from GLP1 Receptor Signaling. *Stem Cells Int*. 2018;2018:12–5.
 23. Arifin B, Ibrahim S. Struktur, Bioaktivitas Dan Antioksidan Flavonoid. *J Zarah*. 2018;6(1):21–9.
 24. Susanti S, Sukmawaty E, Masriany. Penambatan molekuler senyawa cendawan endofit *trichoderma* sp. Sebagai inhibitor protein low density Lipoprotein, enzim lanasterol 14- α demetilase dan lipase yang bertanggung jawab dalam dermatitis seboroik. *J Ilm Ibnu Sina*. 2021;6(1):98–107.
 25. Kesuma D, Siswandono S, Purwanto BT, Hardjono S. Uji in silico Aktivitas Sitotoksik dan Toksisitas Senyawa Turunan N-(Benzoil)-N'- feniltiourea Sebagai Calon Obat Antikanker. *JPSCR J Pharm Sci Clin Res*. 2018;3(1):1.
 26. Lipinski CA. Rule of five in 2015 and beyond: Target and ligand structural limitations, ligand chemistry structure and drug discovery project decisions. *Adv Drug Deliv Rev* [Internet]. 2016;101:34–41. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.addr.2016.04.029>
 27. Tahir M, Damayanti S, Tjahyono DH. Studi In Silico Senyawa Turunan 8-Tersubstitusi-7-Methoxy-2h-Chromen-2-One Sebagai Penghambat Enzim Telomerase. Vol. 10, *Jurnal Farmasi Indonesia*. 2018. p. 418–34.
 28. Pires DEV, Blundell TL, Ascher DB. pkCSM: Predicting small-molecule pharmacokinetic and toxicity properties using graph-based signatures. *J Med Chem*. 2015;58(9):4066–72.
 29. Krihariyani D, Haryanto E, Sasongkowati R, Woelansari ED. Studi Insilico Aktivitas Antioksidan dan ADMET Brazilein Kayu Secang (*Caesalpinia sappan* L .) terhadap *Escherichia Coli* Extended Spectrum Beta-Lactamase (ESBL). *Pros Semin Nas Kesehatan, Poltekkes Kemenkes Surabaya*. 2019;251–7.
 30. Dickow LM, Podell M, Gerken DF. Clinical effects and plasma concentration determination after 2,4-dichlorophenoxyacetic acid 200 mg/kg administration in the dog. *J Toxicol - Clin Toxicol*. 2000;38(7):747–53.
 31. Damián-Medina K, Salinas-Moreno Y, Milenkovic D, Figueroa-Yáñez L, Marino-Marmolejo E, Higuera-Ciapara I, et al. In silico analysis of antidiabetic potential of phenolic compounds from blue corn (*Zea mays* L.) and black bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Heliyon*. 2020;6(3).