

BAB 4

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

4.1. Parameter Uji

Untuk mempermudah dalam memahami istilah dari masing-masing parameter uji yang dilakukan dapat dilihat pada tabel di bawah ini.

Tabel 4.1. Parameter Uji Fisikokimia

No.	Parameter	Definisi	Standar
1	Berat Molekul (BM)	Berat suatu molekul dengan satuan massa atom. Berat molekul ditentukan berdasarkan dari jumlah berat atom dari atom-atom yang menyusun molekul tersebut.	BM < 500 g/mol
2	Logaritma koefisien partisi oktanol/air (Log P)	Koefisien kelarutan dalam lemak atau air. Apabila semakin tinggi nilai Log P, maka akan semakin tinggi juga lipofilitasnya.	Log P < 5
3	<i>Hydrogen Bond Acceptors</i> (HBA)	Ikatan yang menerima hidrogen dan dinyatakan dengan atom O dan N. apabila kapasitas suatu ikatan hidrogen semakin tinggi, maka semakin tinggi pula energi yang dibutuhkan agar proses absorpsi dapat terjadi.	Jumlah atom O dan N < 10
4	<i>Hydrogen Bond Donor</i> (HBD)	Ikatan hidrogen donor ini dinyatakan dengan jumlah gugus O-H (Oksigen berikatan dengan Hidrogen) dan N-H (Nitrogen berikatan dengan Hidrogen). Apabila kapasitas suatu ikatan hidrogen semakin tinggi,	Jumlah atom O-H dan N-H < 5

		maka semakin tinggi pula energi yang dibutuhkan agar proses absorpsi dapat terjadi.	
--	--	---	--

Tabel 4.2. Parameter Uji Farmakokinetik

No.	Parameter	Definisi	Standar
Absorpsi			
1	Absorpsi Intestinal (%)	Prediksi yang dilakukan untuk melihat apakah obat yang diberikan secara oral mampu terabsorpsi dengan baik atau tidak pada dinding usus agar dapat masuk ke pembuluh darah.	Dikatakan baik jika nilai >80% dan dikatakan kurang baik jika nilai <30%.
2	Kelarutan dalam Air (Log mol/L)	Prediksi yang menggambarkan kelarutan molekul di dalam air pada suhu 25°C.	Kelarutan rendah jika nilai Log mol/L <-6
3	Permeabilitas CaCo2 (Log Papp in 10 ⁻⁶ cm/s)	Prediksi yang dilakukan untuk melihat penyerapan obat yang diberikan secara oral	Dikatakan tinggi jika nilai Log Papp in 10 ⁻⁶ cm/s > 0,90.
Distribusi			
1	<i>Volume Distribution Steady-state</i> (Log L/kg)	Untuk melihat apakah obat tersebut didistribusikan ke dalam jaringan atau plasma. Apabila semakin rendah maka obat terdistribusi secara merata karena mampu memberikan konsentrasi yang sama pada plasma darah.	Dikatakan rendah jika nilai Log L/kg < -0,15 dan dikatakan tinggi jika Log L/kg > 0,45.

2	Permeabilitas <i>Blood Brain Barrier</i> (Log BB)	Untuk melihat apakah obat tersebut memiliki efek samping dan toksisitas terhadap otak.	Dikatakan dapat menembus sawar darah otak jika nilai Log BB > 0,3 dan tidak dapat menembus sawar darah otak jika nilai Log BB < -1.
3	<i>Fraction Unbound</i> (Fu)	Untuk melihat kemampuan sejauh mana dalam mengikat protein dalam darah.	Semakin kecil menandakan bahwa senyawa tersebut efisien dalam melintasi membran sel atau berdifusi.
4	Permeabilitas <i>Central Nervous System</i> (Log PS)	Untuk melihat kemampuan dalam menembus sistem saraf pusat (SSP).	Dikatakan dapat menembus SSP apabila nilai Log PS > -2 dan tidak dapat menembus SSP jika nilai Log PS < -3.
Metabolisme			
1	Substrat CYP2D6	Jika bertindak sebagai substrat maka tingkat metabolismenya lebih tinggi.	Yes/No
2	Substrat CYP3A4		Yes/No
3	Inhibitor CYP1A2		Yes/No

4	Inhibitor CYP2C19	Jika bertindak sebagai inhibitor maka tingkat toksisitasnya akan semakin meningkat.	Yes/No
5	Inhibitor CYP2C9		Yes/No
6	Inhibitor CYP2D6		Yes/No
7	Inhibitor CYP3A4		Yes/No
Ekskresi			
1	Renal OCT2	Memainkan peran penting dalam disposisi serta pembersihan obat-obatan dan senyawa endogen. Parameter ini untuk melihat adanya interaksi samping pada senyawa.	Yes/No
2	Total Clearance	Memprediksi kecepatan suatu senyawa untuk ekskresi	Semakin tinggi semakin cepat diekskresi dalam tubuh.

Tabel 4.3. Parameter Uji Toksisitas

No.	Parameter	Definisi	Standar
1	LD ₅₀ (<i>Lethal Dose</i>) dan Kelas Toksisitas	LD ₅₀ adalah jumlah suatu bahan yang diberikan sekaligus yang menyebabkan kematian 50% (setengah) kelompok hewan uji. Kelas I: fatal jika tertelan manusia. Kelas II: fatal jika tertelan manusia. Kelas III: beracun jika tertelan manusia.	Kelas I: (LD ₅₀ ≤ 5 mg/kg) Kelas II: (5 < LD ₅₀ ≤ 50 mg/kg) Kelas III: (50 < LD ₅₀ ≤ 300 mg/kg)

		<p>Kelas IV: berbahaya jika tertelan manusia.</p> <p>Kelas V: bisa berbahaya jika tertelan manusia.</p> <p>Kelas VI: tidak beracun bagi manusia.</p>	<p>Kelas IV: ($300 < LD_{50} \leq 2000$ mg/kg)</p> <p>Kelas V: ($2000 < LD_{50} \leq 5000$ mg/kg)</p> <p>Kelas VI: ($LD_{50} > 5000$ mg/kg)</p>
2	<i>Ames Toxicity</i>	Untuk melihat sifat mutagen suatu senyawa secara <i>in silico</i> .	Yes/No
3	<i>Hepatotoxicity</i>	Untuk melihat reaksi toksisitas suatu senyawa terhadap hepar secara <i>in silico</i> .	Yes/No

Tabel 4.4. Parameter *Molecular Docking*

No.	Parameter	Definisi	Standar
1	<i>Binding affinity</i>	Ukuran kemampuan suatu obat untuk berikatan dengan reseptor yang sudah ditentukan.	Semakin rendah nilainya, maka semakin tinggi afinitas antara reseptor dan ligan.
2	RMSD (<i>Root Mean Square Deviation</i>) <i>Lower Bound</i>	Nilai besar perubahan interaksi protein-ligan baik sebelum dan sesudah docking di bagian batas bawah.	Dapat diterima jika <3 , valid jika <2 , dan lebih baik jika mendekati 0.

3	RMSD (<i>Root Mean Square Deviation</i>) <i>Upper Bound</i>	Nilai besar perubahan interaksi protein-ligan baik sebelum dan sesudah docking di bagian batas atas. RMSD ini cocok dengan setiap atom dalam satu konformasi dengan dirinya sendiri dan mengabaikan simetri apapun.	
4	Ikatan Hidrogen	Ikatan yang terbentuk oleh interaksi atom hidrogen dan atom dengan nilai elektronegatif tinggi seperti oksigen (O), nitrogen (N), dan flour (F).	Senyawa yang memiliki protein yang membentuk ikatan hidrogen sama dengan senyawa pembanding dikatakan memiliki mekanisme kerja yang sama dengan pembanding.

4.2. Penelusuran Ligan Senyawa Uji

Sebelum melakukan *molecular docking*, perlu disiapkan terlebih dahulu senyawa yang dibutuhkan sebagai ligan. Hal ini perlu melakukan pencarian informasi terlebih dahulu mengenai kandungan senyawa aktif dalam *Passiflora foetida* L. melalui aplikasi berbasis website yaitu KNApSack. KNApSack itu sendiri adalah database hubungan spesies-metabolit yang komprehensif. Adapun senyawa-senyawa yang terkandung di dalam *Passiflora foetida* L. berdasarkan pencarian di KNApSack dapat dilihat pada Tabel 4.5. dibawah ini.

Tabel 4.5. Senyawa aktif dalam *Passiflora foetida* L. dan obat pembanding metformin

Nama Senyawa	Molecular Formula
5-Hydroxy-7,4'-dimethoxyflavone	C ₁₇ H ₁₄ O ₅
Deidaclin	C ₁₂ H ₁₇ NO ₆
Linamarin	C ₁₀ H ₁₇ NO ₆
Volkenin	C ₁₂ H ₁₇ NO ₇
(1S,4S)-Tetraphyllin B	C ₁₂ H ₁₇ NO ₇
(S)-Tetraphyllin A	C ₁₂ H ₁₇ NO ₆
Passifloricin A	C ₂₆ H ₄₈ O ₅
Metformin (kontrol)	C ₄ H ₁₁ N ₅

Sumber: knapsackfamily.com

4.3. Preparasi Ligan

Preparasi ligan senyawa uji adalah tahap pertama yang harus dilakukan untuk melakukan *molecular docking*. Ligan diunduh dalam bentuk struktur 3D di situs PubChem dalam format file .sdf. Ligan-ligan yang digunakan pada penelitian ini adalah senyawa-senyawa aktif yang terkandung dalam *Passiflora foetida* L. serta obat pembanding metformin (Tabel 4.6.). Selanjutnya format ligan tersebut diubah menjadi format file .pdb menggunakan aplikasi Biovia Discovery Studio Visualizer 2021 agar dapat dibaca oleh aplikasi Autodock Tool 1.5.7 untuk proses selanjutnya. Preparasi ligan dilakukan dengan menambah hidrogen dalam keadaan *polar only* kemudian dilakukan *detect root* serta *choose torsion* dan disimpan dalam format file .pdbqt.

Tabel 4.6. Daftar Ligan Senyawa Uji

Nama Senyawa	Keterangan	
	Nama IUPAC	ID Senyawa
5-Hydroxy-7,4'-dimethoxyflavone	5-hidroksi-7-metoksi-2-(4-metoksifenil)-6,8-bis[(2 S ,4 S ,5 S	CID 44258362

) -3,4,5-trihidroksioksan-2-il]kromen-4-satu	
Deidaclin	(1R)-1-[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihidroksi-6-(hidroksimetil)oksan-2-il] oksisiklopen-2-ena-1-karbonitril	CID 73604
Linamarin	2-(beta-D-Glucopyranosyloxy)-2-metilpropanenitrile	CID 11128
Volkenin	(1 R , 4 R)-4-hidroksi-1-[(2 S , 3 R , 4 S , 5 S , 6 R)-3,4,5-trihidroksi-6-(hidroksimetil)oksan-2-il] oksisiklopen-2-ena-1-karbonitril	CID 181811
(1S,4S)-Tetraphyllin B	4-hidroksi-1-[3,4,5-trihidroksi-6-(hidroksimetil)oksan-2-il] oksisiklopen-2-ena-1-karbonitril	CID 115164
(S)-Tetraphyllin A	1-[(2 S , 3 R , 4 S , 5 S , 6 R)-3,4,5-trihidroksi-6-(hidroksimetil)oksan-2-il]oksisiklopen-2-ena-1-karbonitril	CID 56842796
Passifloricin A	(2 R)-2-[(2 S , 4 S , 7 S)-2,4,7-trihidroksihenikosil]-2,3-dihidropiran-6-satu	CID 10928338
Metformin (kontrol)	3-(diaminometilidena)-1,1-dimetilguanidin	CID 4091

Langkah berikutnya yang harus dilakukan adalah mencatat semua *code SMILES* (*Simplified Molecular Input Line Entry System*) dari ligan senyawa yang akan diujikan, *code SMILES* tersebut tertera pada PubChem. *Code SMILES* tersebut dibutuhkan untuk uji selanjutnya yaitu seperti prediksi fisikokimia, prediksi

farmakokinetik, dan prediksi toksisitas. Hasil *code SMILES* ligan senyawa uji yang didapatkan dari PubChem dapat dilihat pada Tabel 4.7. di bawah ini.

Tabel 4.7. Daftar Ligan Senyawa Uji

Nama Senyawa	Code SMILES
5-Hydroxy-7,4'-dimethoxyflavone	<chem>COc1ccc(cc1)C2=CC(=O)c3c(O)c([C@@H]4OC[C@H](O)[C@H](O)[C@H]4O)c(OC)c([C@@H]5OC[C@H](O)[C@H](O)[C@H]5O)c3O2</chem>
Deidaclin	<chem>C1CC(C=C1)(C#N)OC2C(C(C(C(O2)CO)O)O)O</chem>
Linamarin	<chem>CC(C)(C#N)OC1C(C(C(C(O1)CO)O)O)O</chem>
Volkenin	<chem>C1C(C=CC1(C#N)OC2C(C(C(C(O2)CO)O)O)O)O</chem>
(1S,4S)-Tetraphyllin B	<chem>C1C(C=CC1(C#N)OC2C(C(C(C(O2)CO)O)O)O)O</chem>
(S)-Tetraphyllin A	<chem>C1CC(C=C1)(C#N)OC2C(C(C(C(O2)CO)O)O)O</chem>
Passifloricin A	<chem>CCCCCCCCCCCCCCCC(CCC(CC(CC1CC=CC(=O)O1)O)O)O</chem>
Metformin (kontrol)	<chem>CN(C)C(=N)N=C(N)N</chem>

4.4. Prediksi Sifat Fisikokimia

Fisikokimia adalah nama sifat yang mengacu ke sifat fisik dari sebuah senyawa kimia, dan merupakan cabang kimia yang berkaitan dengan interaksi dan transformasi bahan (Mohammad et al., 2003). Prediksi sifat fisikokimia dilakukan dengan melihat parameter yang telah ditentukan melalui hukum lima Lipinski. Hukum lima Lipinski adalah hukum yang digunakan untuk menentukan senyawa kimia terhadap *bioavailabilitas oral* yang artinya persentase dan kecepatan zat aktif dalam suatu produk obat yang mencapao atau tersedia dalam sirkulasi sistemik dalam bentuk utuh atau aktif setelah pemberian produk obat tersebut. Adapaun parameter hukum lima lipinski diantaranya adalah Berat Molekul (BM), nilai Logaritma koefisien partisi oktanol/air (Log P), *Hydrogen Bond Acceptors* (HBA), dan *Hydrogen Bond Donor* (HBD). Langkah yang dilakukan dengan memasukkan *code SMILES* yang sudah didapatkan pada program pkCSM Online Tool. Berikut hasil prediksi sifat fisikokimia dari ligan senyawa uji pada tabel 4.8.

Tabel 4.8. Hasil prediksi sifat fisikokimia senyawa menggunakan *pkCSM Online Tool*

Nama Senyawa	Parameter Hukum Lima Lipinski				Penerapan Hukum Lima Lipinski
	BM (g/mol)	Log P	HBA	HBD	
5-Hydroxy-7,4'-dimethoxyflavone	562,524	-0,5092	13	7	Ya, 3 kesalahan
Deidaclin	271.269	-1.58472	7	4	Ya, 0 kesalahan
Linamarin	247.247	-1.89492	7	4	Ya, 0 kesalahan
Volkenin	287.268	-2.61392	8	5	Ya, 1 kesalahan
(1S,4S)-Tetraphyllin B	287,268	-2,61392	8	5	Ya, 1 kesalahan
(S)-Tetraphyllin A	271,269	-1.58472	7	4	Ya, 0 kesalahan
Passifloricin A	454.692	5,9825	5	3	Ya, 0 kesalahan
Metformin (kontrol)	129.167	-1.24383	1	3	Ya, 0 kesalahan

Sumber: pkCSM Online Tool

Keterangan Batas Maksimum Hukum Lima Lipinski:

BM : Berat Molekul < 500

Log P : Koefisien Partisi < 5

HBA : *Hydrogen Bond Acceptor* < 10

HBD : *Hydrogen Bond Donor* < 5

Tabel 4.8. di atas menunjukkan bahwa semua senyawa aktif dalam *Passiflora foetida* L. yaitu senyawa 5-Hydroxy-7,4'-dimethoxyflavone, Deidaclin, Linamarin, Volkenin, (1S,4S)-Tetraphyllin B, (S)-Tetraphyllin A dan Passifloricin A memenuhi hukum lima lipinski, yaitu memiliki berat molekul <500, nilai Log P <5, jumlah ikatan hidrogen penerima (HBA) <10, dan jumlah ikatan hidrogen pemberi (HBD) <5. Senyawa uji tersebut dengan metformin diprediksi mudah diabsorpsi, memiliki permeabilitas yang baik serta memiliki *bioavailabilitas oral* dimana persentase dan kecepatan zat aktif dalam suatu produk obat yang mencapai

atau tersedia dalam sirkulasi sistemik dalam bentuk utuh atau aktif setelah pemberian produk obat tersebut, diukur dari kadarnya dalam darah terhadap waktu atau dari ekskresinya dalam urin yang baik. Berdasarkan hukum lima lipinski juga dan hasil analisa tersebut maka semua senyawa aktif *Passiflora foetida* L. berpotensi menjadi obat.

Hasil yang didapatkan menunjukkan bahwa senyawa yang memiliki berat molekul paling besar yaitu senyawa *5-Hydroxy-7,4'-dimethoxyflavone*. Adapun senyawa yang memiliki berat molekul paling kecil yaitu senyawa *linamarin*. Menurut Pratama, (2020) hal ini dikarenakan, nilai dari berat molekul dari kriteria pertama aturan *Lipinski* adalah semua ligan kurang dari 500 Dalton. Bila nilai berat molekul ini lebih dari 500 Dalton maka tubuh akan mengalami kesulitan untuk dapat menyerapnya secara sempurna.

Nilai log P berhubungan dengan hidrofobisitas atau lipofilisitas suatu senyawa. Semakin besar nilai log P maka senyawa akan bersifat hidrofobik. Jika nilai log P > 5 menyebabkan suatu senyawa akan lebih lama tinggal di lipid bilayer dan terdistribusi lebih luas di dalam tubuh. Hal ini menyebabkan selektivitas ikatan terhadap enzim target menjadi berkurang dan cenderung memiliki toksisitas yang lebih tinggi (Bachtiar et al., 2021). Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa terdapat beberapa senyawa yang memiliki nilai Log P lebih besar dibandingkan dengan obat pembanding metformin. Dimana senyawa uji tersebut lebih mudah dalam menembus membran biologis sehingga mudah berikatan dengan reseptor daripada metformin. Senyawa yang memiliki nilai Log P lebih besar daripada metformin adalah *Passifloricin A*. Hal ini sejalan dengan yang dipaparkan oleh Syahputra et al. (2014) nilai log P yang terlalu negatif juga tidak baik karena jika molekul tersebut tidak dapat melewati membran lipid bilayer. Jumlah donor dan akseptor ikatan hidrogen mendeskripsikan semakin tinggi kapasitas ikatan hidrogen, maka semakin tinggi energi yang dibutuhkan agar proses absorpsi dapat terjadi. Secara umum aturan *Lipinski* menggambarkan solubilitas senyawa tertentu untuk menembus membran sel oleh difusi pasif.

Senyawa-senyawa uji memiliki nilai *hydrogen bond acceptor* (HBA) <10 dan *hydrogen bond donor* (HBD) <5. Namun, terdapat satu senyawa uji yang

memiliki nilai HBA di atas batas maksimum yaitu *5-Hydroxy-7,4'-dimethoxyflavone* dengan nilai HBA 13, serta tiga senyawa uji yang memiliki nilai HBD di atas batas maksimum yaitu *5-Hydroxy-7,4'-dimethoxyflavone* nilai 7, sedangkan nilai HBD *Volkenin*, dan *(1S,4S)-Tetraphyllin B* adalah 5. Nilai donor dan akseptor ikatan hidrogen berhubungan dengan aktivitas biologis dari suatu molekul obat. Ikatan hidrogen dapat mempengaruhi sifat-sifat kimia-fisika senyawa, seperti titik didih, titik lebur, kelarutan dalam air, kemampuan dalam pembentukan kelat dan keasaman. Perubahan sifat-sifat tersebut dapat berpengaruh terhadap aktivitas biologis senyawa (Ruswanto, 2015).

4.5. Prediksi Sifat Farmakokinetik

Metode ini mempelajari pergerakan obat dalam tubuh manusia mulai dari proses absorpsi, distribusi, metabolisme, dan ekskresi (ADME). Proses ADME di dalam tubuh dapat digambarkan sebagai hubungan matematis berupa perubahan konsentrasi berdasarkan waktu dalam sistem yang diperiksa, yang disebut model farmakokinetik. Deskripsi proses dapat berupa satu model kompartemen dan dua model kompartemen (Miftahurrohman et al., 2019). Prediksi sifat farmakokinetik senyawa uji dilakukan dengan melihat parameter *Absorption*, *Distribution*, *Metabolism*, dan *Excretion* (ADME) menggunakan bantuan program pkCSM. Adapun hasil prediksi sifat farmakokinetik dapat dilihat pada Tabel 4.9. di bawah ini.

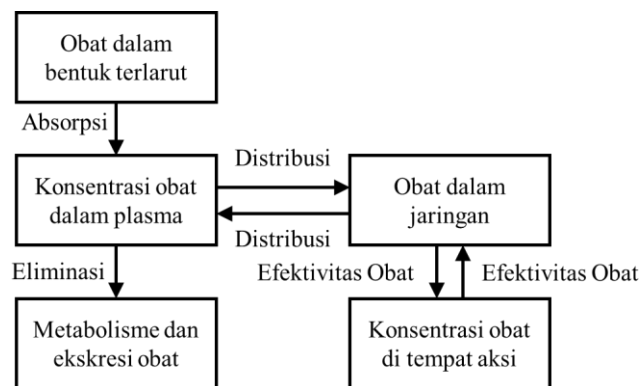
Tabel 4.9. Hasil prediksi farmakokinetik senyawa uji

Parameter ADME	Absorpsi			Distribusi				Metabolisme							Ekskresi	
	Absorpsi intestinal	Kelarutan dalam air	Permeabilitas CaCO ₂	VD _{ss}	Permeabilitas BBB	Fraction unbound	Permeabilitas CNS	Substrat CYP2D6	Substrat CYP3A4	Inhibitor CYP1A2	Inhibitor CYP2C19	Inhibitor CYP2C9	Inhibitor CYP2D6	Inhibitor CYP3A4	Renal OCT2	Total Clearance
Satuan	(%)	Log mol/L	Log Papp in 10 ⁻⁶ cm/s	Log L/kg	Log BB	Fu	Log PS	Yes /No	Yes /No	Yes /No	Yes /No	Yes /No	Yes /No	Yes/ No	Yes/ No	Log ml/min /kg
5-Hydroxy-7,4'-dimethoxyflavone	34,969	-2.951	0.04	-0.254	-1.764	0.248	-4.835	No	No	No	No	No	No	No	No	0.225
Deidaclin	45,894	-2.316	-0.109	-0.104	-0.865	0.8	-3.657	No	No	No	No	No	No	No	No	1.46
Linamarin	40,86	-1.743	-0.273	-0.214	-0.888	0.828	-3.649	No	No	No	No	No	No	No	No	1.422
Volkenin	38,743	-2.216	0.357	-0.002	-0.956	0.808	-3.749	No	No	No	No	No	No	No	No	1.465
(1S,4S)-Tetraphyllin B	38,743	-2.216	0.357	-0,002	-0,956	0,808	-3,749	No	No	No	No	No	No	No	No	1.465
(S)-Tetraphyllin A	45,894	-2.316	-0.109	-0.104	-0.865	0.8	-3.657	No	No	No	No	No	No	No	No	1,46
Passifloricin A	91,043	-5.931	0.568	-0.362	-1.106	0.064	-3.393	No	Yes	No	No	No	No	No	No	1.874
Metformin (kontrol)	59,401	-2,707	-0,339	-0,232	-0,946	0,811	-4,238	No	No	No	No	No	No	No	No	0,1

Sumber: *pkCSM Online Tool*

Keterangan	:
Absorpsi Intestinal	: Dikatakan baik jika nilai > 80% dan tidak baik jika nilai <30%.
Kelarutan dalam Air	: Dikatakan rendah jika nilai < -6.
Permeabilitas CaCO ₂	: Dikatakan tinggi jika nilai > 0,90.
VD _{ss}	: Dikatakan rendah jika nilai < -0,15 dan tinggi jika nilai > 0,45.
<i>(Volume Distribution Steady-state)</i>	
Permeabilitas BBB	: Dikatakan dapat menembus sawar darah otak jika nilai > 0,3 dan tidak mampu menembus sawar darah
<i>(Blood Brain Barrier)</i>	otak jika nilai < -1.
<i>Fraction Unbound</i>	: Dikatakan semakin kecil nilainya maka semakin baik.
Permeabilitas CNS	: Dikatakan dapat menembus sistem saraf pusat jika nilai > -2 dan tidak dapat menembus sistem saraf pusat
<i>(Central Nervous System)</i>	jika nilai < -3.
Substrat CYP	: Jika bertindak sebagai substrat artinya dapat memetabolisme obat hampir 50%.
Inhibitor CYP	: Jika bertindak sebagai inhibitor maka tingkat toksisitasnya akan semakin meningkat.
Renal OCT2	: Jika bertindak sebagai substrat OCT2 maka menimbulkan interaksi samping.
<i>(Organic Cation Transporter 2)</i>	
<i>Total Clearance</i>	: Semakin besar maka semakin cepat diekskresi dari tubuh.

Mekanisme farmakokinetik obat dalam tubuh dapat dilihat pada Gambar 4.1. di bawah ini.



Gambar 4.1. Diagram farmakokinetika

Sumber: Mohammad et al., 2003

Tahap pertama dalam proses farmakokinetik obat adalah absorpsi. Absorpsi merupakan proses penyerapan obat dari tempat pemberian yang menyangkut kelengkapan dan kecepatan proses tersebut. Setelah proses absorpsi, obat selanjutnya didistribusi ke seluruh tubuh melalui sirkulasi darah. Distribusi obat tergantung oleh aliran darah dan sifat fisikokimianya (Ramadhan, 2021). Pada prinsipnya penerapan farmakokinetik klinis bertujuan untuk meningkatkan efektivitas terapi atau menurunkan efek samping dan toksisitas obat pada pasien. Efek obat selalu dihubungkan dengan konsentrasi obat pada tempat aksinya atau reseptornya. Sedangkan tempat aksi obat dapat berada secara luas di dalam tubuh, misalnya di jaringan (Mohammad et al., 2003).

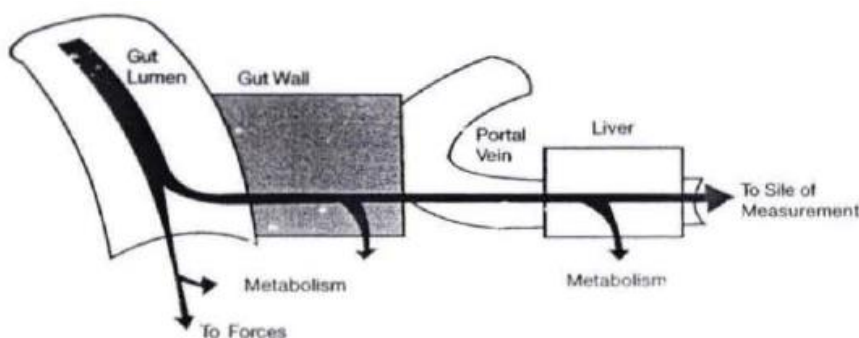
Berdasarkan penyebarannya dalam tubuh, distribusi obat dibedakan atas 2 fase yakni fase pertama terjadi setelah penyerapan, yaitu ke organ yang perfusinya sangat baik misalnya jantung, hati, ginjal dan otak serta distribusi fase kedua jauh lebih luas yaitu mencakup ke berbagai jaringan, jaringan yang perfusinya tidak sebaik organ di atas misalnya otot, visera, kulit dan jaringan lemak. Obat yang mudah larut dalam lemak akan melintasi membran sel dan terdistribusi ke dalam otak, sedangkan obat yang tidak larut dalam lemak akan sulit menembus membran sel sehingga distribusinya terbatas terutama di cairan ekstrasel (Ramadhan, 2021).

Proses selanjutnya adalah metabolisme obat yakni proses perubahan struktur kimia obat yang terjadi dalam tubuh dan dikatalis oleh enzim. Molekul obat

diubah menjadi lebih polar, artinya lebih mudah larut dalam air dan kurang larut dalam lemak sehingga lebih mudah diekskresi melalui ginjal. Tahap terakhir adalah ekskresi yakni obat dikeluarkan dalam tubuh berdasarkan bentuk metabolit polar diekskresi lebih cepat daripada obat larut lemak, kecuali pada ekskresi melalui paru-paru. Proses ekskresi terdiri dari 3 yaitu filtrasi di glomerulus, sekresi aktif di tubuli proksimal, dan reabsorpsi pasif di tubuli proksimal dan distal (Ramadhan, 2021). Adapun hasil dari penelitian terkait profil farmakokinetik senyawa pada *Passiflora foetida* L. adalah sebagai berikut.

4.5.1. Absorpsi

Mekanisme absorpsi obat pada usus halus (Gambar 4.2.) merupakan proses yang terjadi adalah disintegrasi, disolusi sehingga obat berada dalam keadaan terlarut (pada bentuk sediaan padat). Dalam lumen saluran cerna kemungkinan obat mengalami peruraian karena pH lambung, enzim, flora pada saluran cerna, dan komponen lainnya. Selanjutnya proses penembusan obat ke dinding saluran cerna (absorpsi) menuju sirkulasi sistemik, pada tahap penembusan ini kemungkinan obat mengalami metabolisme (Mohammad et al., 2003).



Gambar 4.2. Proses Mekanisme Absorpsi Obat

Sumber: Mohammad et al., 2003

Semua senyawa memiliki nilai lebih besar dari 30% adalah senyawa 5 *Hydroxy-7,4'-dimethoxyflavone*, *Deidaclin*, *Linamarin*, *Volkenin*, *(1S,4S)-Tetraphyllin B*, *(S)-Tetraphyllin A*, dan *Metformin* (kontrol), dengan nilai masing-masing senyawa yaitu 34,969%, 45,894%, 40,86%, 38,743%, 38,743%, 45,893%, dan 59,401% dikatakan baik karena diatas >30%, terkecuali *Passifloricin A* memiliki nilai Intestinal Absorption >90% yaitu dengan nilai 91,043% sangat baik

untuk diserap melalui usus manusia dengan absorpsi nilainya di atas $>30\%$ dan $>90\%$. Menurut Chander et al., (2017), senyawa tersebut dikatakan memiliki absorpsi yang baik apabila nilai absorpsi intestinalnya $>80\%$ dan dikatakan kurang baik jika nilai absorpsi intestinalnya $<30\%$. Setiap senyawa memiliki kemampuan absorpsi yang berbeda-beda, jika kemampuan terabsorpsinya rendah maka obat tersebut tidak akan mampu untuk mencapai reseptor targetnya. Prediksi ini dilakukan untuk melihat kemampuan obat yang diberikan secara oral dapat terabsorpsi dengan baik atau tidak pada dinding usus agar dapat masuk ke pembuluh darah (Wilson, 2011).

Kelarutan air pada senyawa (LogS) menggambarkan kelarutan molekul di dalam air pada suhu 25°C . Obat yang larut dalam air dapat diserap dengan baik dibandingkan yang larut dalam lemak (Pires et al., 2015). Senyawa dikatakan memiliki kelarutan yang rendah apabila memiliki nilai *water solubility* <-6 (Abdullah et al., 2021). Semua senyawa *5 Hydroxy-7,4'-dimethoxyflavone*, *Deidaclin*, *Linamarin*, *Volkenin*, *(1S,4S)-Tetraphyllin B*, *(S)-Tetraphyllin A*, *Passifloricin A* dan *Metformin* (kontrol) memiliki nilai kelarutan dalam air memiliki nilai <-6 .

Permeabilitas sel lapis tunggal CaCO_2 (*Human colon adenocarcinoma*) banyak digunakan dalam model *in vitro* dari mukosa usus manusia untuk memprediksi penyerapan obat yang diberikan secara oral. Senyawa dikatakan memiliki permeabilitas CaCO_2 tinggi jika nilainya $> 8 \times 10^{-6} \text{ cm/s}$, akan tetapi dalam pkCSM akan diterjemahkan ke dalam nilai prediksi $> 0,90$ (Bucio & Solidum, 2022). Senyawa *5 Hydroxy-7,4'-dimethoxyflavone*, *Volkenin*, *(1S,4S)-Tetraphyllin B* dan *Passifloricin A* yang memiliki nilai $> -0,01$ dan $< 0,90$, senyawa-senyawa tersebut yang dikatakan lebih baik untuk memiliki kemampuan untuk menembus membran sel usus tetapi kurang maksimal karna nilainya dibawah $0,90$.

4.5.2. Distribusi

Distribusi obat adalah tahapan farmakokinetika setelah proses absorpsi obat mencapai sirkulasi sistemik. Obat didistribusikan ke berbagai bagian tubuh melalui aliran darah. Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi distribusi obat yaitu Pertama karakteristik jaringan (aliran darah, koefisien partisi, kelarutannya dalam

lemak), dalam jaringan yang perfusinya baik, kadar obat naik dengan cepat dan mencapai keseimbangan antara darah dan letaknya. Kedua status penyakit yang dapat mempengaruhi fisiologi dan Ketiga ikatan obat-protein, mempunyai molekul sangat besar dan tidak dapat melewati membran lipid sehingga obat tidak dapat didistribusikan ke dalam jaringan dan hanya obat bebas yang bisa didistribusikan ke dalam jaringan tubuh (N. Wulansari, 2009).

Volume Distribution Steady-state (VDss) merupakan volume teoretis yang mengatakan bahwa dosis total suatu obat harus didistribusikan secara merata agar dapat memberikan konsentrasi yang sama seperti pada plasma darah. Apabila semakin tinggi nilai VDss, maka semakin banyak obat yang didistribusikan ke dalam jaringan daripada plasma. Senyawa dapat dikatakan tinggi jika nilai $\log VDss > 0,45$ (Pires et al., 2015). Semua senyawa *Deidaclin*, *Volkenin*, *(1S,4S)-Tetraphyllin B*, dan *(S)-Tetraphyllin A* memiliki nilai $VDss < 0,45$ tetapi $> -0,15$ yang artinya senyawa tersebut dapat didistribusikan secara merata agar dapat memberikan konsentrasi yang sama seperti pada plasma darah.

Otak manusia dilindungi senyawa eksogen oleh penghalang darah-otak *Blood Brain Barrier* (BBB). Kemampuan suatu obat agar dapat masuk ke otak merupakan parameter penting sebagai bahan pertimbangan untuk membantu mengurangi efek samping dan toksisitas otak. Bahkan untuk meningkatkan kemanjuran obat yang memiliki aktivitas farmakologis di dalam otak. Permeabilitas darah menuju otak ini diukur melalui *in vivo* pada model hewan sebagai $\log BB$, rasio logaritmik otak terhadap konsentrasi obat plasma. Senyawa dikatakan mampu menembus sawar darah otak dengan baik jika memiliki nilai $\log BB > 0,3$ dan dikatakan tidak mampu menembus terdistribusi dengan baik jika memiliki nilai $\log BB < -1$ (Pires et al., 2015). Senyawa *Deidaclin*, *Linamarin*, *Volkenin*, *(1S,4S)-Tetraphyllin B*, *(S)-Tetraphyllin A*, dan *Metformin* (kontrol) memiliki nilai permeabilitas BBB > -1 dengan masing-masing nilainya $-0,865 \log BB$; $-0,888 \log BB$; $-0,956 \log BB$; $-0,956 \log BB$; $-0,865 \log BB$; dan $-0,946 \log BB$ yang artinya dapat dikatakan dapat terdistribusi dengan baik tetapi tidak dapat menembus sawar darah otak secara maksimal. Sedangkan senyawa *5-Hydroxy-7,4'-dimethoxyflavone* dan *Passifloricin A* memiliki nilai $-1,765 \log BB$ dan $-1,106 \log BB$

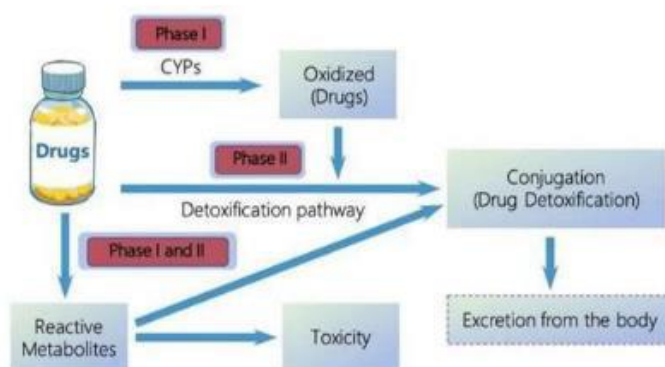
BB yang artinya tidak mampu menembus sawar darah otak yang tidak terdistribusi dengan baik.

Sebagian besar obat dalam plasma akan ada dalam kesetimbangan antara keadaan tidak terikat atau terikat pada protein serum. Kemampuan obat dipengaruhi oleh sejauh mana dapat mengikat protein dalam darah. Semakin banyak yang terikat maka akan semakin kurang efisien dalam melintasi membran sel atau berdifusi (Pires et al., 2015). Semua senyawa aktif *Passiflora foetida* L. memiliki nilai *unbound* lebih rendah dibandingkan *Metformin* (kontrol) terkecuali senyawa *Linamarin* yang memiliki nilai *unbound* 0,828 Fu, karena jika semakin besar nilai *unbound* suatu senyawa maka akan semakin banyak yang berikatan dengan protein plasma, sehingga semua senyawa aktif *Passiflora foetida* L. efisien dalam melintasi membran sel atau berdifusi. Senyawa *Passifloricin A* yang memiliki nilai *unbound* yang paling rendah dengan nilai 0,064 yang menunjukkan bahwa senyawa tersebut dapat melintasi membran sel atau berdifusi.

Permeabilitas CNS (*Central Nervous System*) merupakan kemampuan dalam menembus sistem saraf pusat. Apabila nilai $\log PS > -2$ artinya dapat menembus sistem saraf pusat (SSP), sedangkan jika nilai $\log PS < -3$ dikatakan tidak dapat menembus sistem saraf pusat (Pires et al., 2015). Semua senyawa *5 Hydroxy-7,4'-dimethoxyflavone*, *Deidaclin*, *Linamarin*, *Volkenin*, *(1S,4S)-Tetraphyllin B*, *(S)-Tetraphyllin A*, *Passifloricin A* dan *Metformin* (kontrol) memiliki nilai permeabilitas CNS > -2 dengan masing-masing nilai -4,835 LogPS; -3,657 LogPS; -3,649 LogPS; -3,749 LogPS; -3,749 LogPS; -3,657 LogPS; -3,393 LogPS; dan -4,238 LogPS yang artinya dari nilai tersebut diprediksi tidak dapat menembus sistem saraf pusat.

4.5.3. Metabolisme

Metabolisme adalah keseluruhan reaksi kimia biotransformasi baik pada zat-zat endogen maupun zat-zat eksogen yang terjadi secara enzimatik. Metabolisme obat mempunyai tujuan dasar mengubah zat dari aktif menjadi tidak aktif ; dari kurang polar menjadi polar sehingga dapat dengan mudah diekskresikan melalui urine. Proses metabolisme paling besar terjadi di hati, meskipun dapat juga di kulit, jaringan, paru-paru, saluran cerna, dan ginjal (Noviana Wulansari, 2009).



Gambar 4.3. Proses metabolisme obat

Sumber: Dwininda et al., 2023

Berdasarkan gambar 4.3. berikut merupakan mekanisme metabolisme obat terbagi atas 2 fase yaitu fase 1 dan fase 2. Pada tahap 1 terjadi proses oksidasi, reduksi dan hidrolisis sehingga obat tidak dapat disekresikan dari tubuh. Obat yang dimodifikasi kemudian dikonjugasi menjadi senyawa polar dalam reaksi fase II, yang dikatalisis oleh berbagai transferase enzim seperti uridine diphosphate (UDP)-glucuronosyltransferases, sulfotransferases, dan glutathione S-trans-ferases (Dwininda et al., 2023).

Profil metabolisme yang dianalisis menggunakan ada tidaknya penghambatan pada sitokrom P450 terutama pada isoform CYP2D6 dan CYP3A4. Menurut Pires et al., (2015), sitokrom P450 adalah enzim detoksifikasi penting dalam tubuh, terutama ditemukan pada hati. Sitokrom ini mampu mengoksidasi xenobiotik untuk memberikan fasilitas ekskresinya. Beberapa obat banyak yang dinonaktifkan oleh sitokrom P450 dan beberapa ada yang dapat diaktifkan oleh P450. Senyawa yang menjadi substrat diartikan bahwa senyawa tersebut mampu dimetabolisme oleh CYP450, sedangkan yang menjadi inhibitor mampu menekan aktivitas metabolismenya (Abdullah et al., 2021). Senyawa yang dapat di metabolisme oleh P450 atau CYP3A4 adalah senyawa *Passifloricin A* yang dapat menjadi substrat CYP3A4. CYP3A4 adalah sitokrom yang mampu memetabolisme obat hampir 50% (Mutiarra et al., 2022). Artinya tingkat metabolisme senyawa tersebut lebih tinggi dibandingkan senyawa lainnya. Semua senyawa tidak dikategorikan CYP Inhibitor, dimana metabolisme tersebut membuat obat yang

bersifat inhibitor CYP maka tidak memiliki tingkat toksisitasnya dan tidak akan semakin meningkat.

4.5.4. Ekskresi

Organ terpenting untuk ekskresi obat adalah ginjal. Obat diekskresi melalui ginjal dalam bentuk utuh maupun bentuk metabolitnya. Ekskresi melalui ginjal melibatkan 3 proses, yakni filtrasi glomerulus, sekresi aktif di tubulus proksimal dan reabsorpsi pasif di sepanjang tubulus. Selain itu ada pula beberapa cara lain yaitu melalui kulit bersama keringat, paru-paru, empedu, air susu, dan usus (Aisyah, 2012). Ekskresi obat adalah eliminasi terakhir obat atau metabolit dari sirkulasi sistemik melalui ginjal bersama urine, melalui empedu dan air liur ke dalam usus bersama tinja, melalui keringat, melalui kulit dan air susu ibu. Obat-obat yang kurang larut dalam air, sulit untuk diekskresikan melalui jalur diatas, obat-obat tersebut dimetabolisme lebih dahulu sehingga berubah menjadi bentuk polar dan selanjutnya diekskresi (N. Wulansari, 2009).

CLTOT (*Total Clearance*) adalah kombinasi antara *hepatic clearance* (metabolisme di hati dan empedu) dan *renal clearance* (ekresi melalui ginjal). CLTOT terkait dengan bioavailabilitas dan sangat penting untuk menentukan laju pemberian dosis untuk mencapai konsentrasi *steady-state*. Dari nilai CLTOT ini dapat diprediksi kecepatan suatu senyawa untuk melakukan ekskresi (Pires et al., 2015). Terdapat semua senyawa aktif *Passiflora foetida* L. yang memiliki nilai *total clearance* lebih tinggi daripada *Metformin* (kontrol) yakni senyawa 5-Hydroxy-7,4'-dimethoxyflavone, *Deidaclin*, *Linamarin*, *Volkenin*, (1*S*,4*S*)-*Tetraphyllin B*, (S)-*Tetraphyllin A*, dan *Passifloricin A* dengan nilai masing-masing 0,225; 1,46; 1,422; 1,465; 1,465; 1,46; 1,874 > 0,1 nilai dari *Metformin* (kontrol) dengan satuan Log ml/min/kg. Artinya jika memiliki nilai *total clearance* paling tinggi sehingga paling cepat diekskresikan dari tubuh.

Renal OCT2 (*Organic Cation Transporter 2*) adalah transporter serapan ginjal yang memainkan peran penting dalam disposisi dan pembersihan obat-obatan dan senyawa endogen. Substrat OCT2 berpotensi memberikan interaksi yang merugikan bila diberikan bersama-sama dengan inhibitor OCT2 (Pires et al., 2015). Semua senyawa tidak mempengaruhi substrat OCT2 sehingga diprediksi bahwa

senyawa tersebut bukan merupakan substrat OCT2 sehingga tidak dapat menimbulkan interaksi samping.

Dari hasil penelitian yang sudah dilakukan terhadap profil farmakokinetik, dapat diprediksi bahwa senyawa *Passifloricin A* memiliki profil farmakokinetik yang paling baik untuk menjadi kandidat antidiabetes. Senyawa tersebut mampu terabsorpsi dengan baik pada dinding usus agar dapat masuk ke dalam pembuluh darah, dapat larut dalam air sehingga diserap dengan baik, memiliki kemampuan untuk menembus membran sel usus tetapi kurang maksimal. Senyawa tersebut juga mampu didistribusikan secara merata untuk dapat memberikan konsentrasi yang sama pada plasma darah. Selain itu memiliki nilai *fraction unbound* yang lebih rendah daripada *Metformin* (kontrol) yang diprediksi lebih efisien dalam melintasi membran sel atau berdifusi. Senyawa tersebut merupakan substrat CYP3A4 dan bukan merupakan inhibitor dari CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6, dan CYP3A4.

4.6. Prediksi Sifat Toksisitas

Senyawa yang akan diuji selain dilakukan prediksi dari segi sifat fisikokimia dan farmakokinetik, juga dilakukan prediksi sifat toksisitasnya. Tujuan prediksi toksisitas ini untuk mengetahui toksisitas serta resiko yang mungkin ditimbulkan dari senyawa yang dapat berdampak buruk bagi tubuh manusia. Adapun prediksi toksisitas ini menggunakan parameter LD_{50} dan kelas toksisitas menggunakan bantuan aplikasi berbasis website *Protox Online Tool* yang diakses melalui laman <https://tox-new.charite.de/>. Kelas toksisitas disini diklasifikasikan berdasarkan *Globally Harmonized System* (GHS) yang mengklasifikasikan kelas toksisitas ke dalam 5 kelas. Menurut Drwal et al., (2014). Kelima kelas tersebut diantaranya kelas I fatal jika tertelan ($LD_{50} \leq 5$), kelas II fatal jika tertelan ($5 < LD_{50} \leq 50$), kelas III beracun jika tertelan ($50 < LD_{50} \leq 300$), kelas IV berbahaya jika tertelan ($300 < LD_{50} \leq 2000$), kelas V mungkin berbahaya jika tertelan ($2000 < LD_{50} \leq 5000$), dan kelas VI tidak beracun ($LD_{50} > 5000$).

Adapun parameter lainnya adalah *Ames toxicity* dan *Hepatotoxicity* menggunakan *pkCSM Online Tool* yang dapat diakses melalui laman <https://biosig.lab.uq.edu.au/pkcsm/prediction> secara bebas. Tujuan prediksi ini

penting dilakukan karena aktivitas senyawa saja tidak akan cukup untuk digunakan sebagai kandidat obat. Tetapi dibutuhkan senyawa yang memiliki toksisitas rendah agar dapat meminimalisasi efek samping obat. Hasil prediksi toksisitas dari senyawa uji dan senyawa pembanding *metformin* dapat dilihat pada Tabel 4.10.

Tabel 4. 10. Hasil prediksi sifat toksisitas

Nama Senyawa	Toksistas			
	LD 50 (m/kg)	Ames Toxicity	Hepatotoxicity	Kelas Toksistas
5-Hydroxy-7,4'-dimethoxyflavone	3.919	Yes	No	5
Deidaclin	2.000	No	No	4
Linamarin	29.700	No	No	6
Volkenin	2.000	No	No	4
(1S,4S)-Tetraphyllin B	2.000	No	No	4
(S)-Tetraphyllin A	2.000	No	No	4
Passifloricin A	1.890	No	Yes	4
Metformin (kontrol)	680	Yes	No	4

Sumber: *ProTox Online Tool* dan *pkCSM Online Tool*

- Keterangan :
- LD₅₀ : Semakin besar maka semakin rendah tingkat toksisitasnya.
- Ames Toxicity : Jika masuk kategori No, maka tidak bertindak sebagai karsinogen, jika masuk kategori Yes maka bertindak sebagai karsinogen.
- Hepatotoxicity : Jika masuk kategori No, maka tidak toksis terhadap hepar, jika masuk kategori Yes maka toksis terhadap hepar.
- Kelas Toksisitas : Kelas dari tingkat toksisitas suatu senyawa

Berdasarkan tabel hasil prediksi toksisitas di atas, didapatkan hasil bahwa terdapat enam senyawa yang tergolong ke dalam kelas 4, satu senyawa yang tergolong ke dalam kelas 5, dan satu senyawa yang tergolong ke dalam kelas 6. Senyawa yang tergolong pada kelas 4 yaitu *Deidaclin*, *Volkenin*, *(1S,4S)-Tetraphyllin B*, *(S)-Tetraphyllin A*, *Passifloricin A*, dan *Metformin* (kontrol). Senyawa yang tergolong pada kelas 5 yaitu *5-Hydroxy-7,4'-dimethoxyflavone*. Sedangkan senyawa yang tergolong ke dalam kelas 6 yaitu *Linamarin*. Menurut

Globally Harmonized System (GHS) berdasarkan pengklasifikasian kelas toksisitas dapat diartikan bahwa semakin besar nilai LD₅₀ maka semakin baik pula senyawa dapat ditoleransi atau berada dalam tubuh. Senyawa yang berada di dalam kelas 6 merupakan senyawa yang tidak beracun jika berada di dalam tubuh.

Parameter toksisitas selanjutnya yaitu *ames toxicity* merupakan metode yang banyak digunakan untuk menilai potensi mutagenik suatu senyawa menggunakan bakteri. Hasil positif menunjukkan bahwa senyawa tersebut bersifat mutagenik sehingga dapat bertindak sebagai karsinogen (Pires et al., 2015). berdasarkan hasil prediksi di atas, semua senyawa uji dan obat pembanding *metformin* bersifat mutagen secara *in silico*.

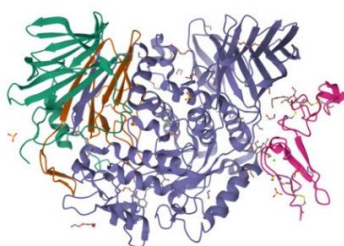
Selain *ames toxicity*, dilakukan juga prediksi menggunakan parameter uji *hepatotoxicity*. Cedera hati akibat obat merupakan masalah keamanan utama dalam pengembangan obat. Uji *hepatotoxicity* ini adalah suatu uji untuk mengetahui ada tidaknya potensi obat yang dapat menginduksi kerusakan pada hati (Pires et al., 2015). Dari hasil prediksi di atas dapat dilihat bahwa hampir semua senyawa aktif dalam *Passiflora foetida* L. tidak bersifat toksik terhadap hepar terkecuali senyawa *Passifloricin A* bersifat toksik bagi hepar. Akan tetapi, obat pembanding *metformin* tidak bersifat toksik terhadap hepar.

Berdasarkan seluruh hasilnya dapat diketahui bahwa senyawa yang berada di kelas 4 (*Deidaclin*, *Volkenin*, *(1S,4S)-Tetraphyllin B*, *(S)-Tetraphyllin A*, *Passifloricin A*), kelas 5 yaitu *5-Hydroxy-7,4'-dimethoxyflavone*, dan senyawa pada kelas 6 yaitu *Linamarin* relatif lebih aman, tidak bersifat mutagen serta toksis terhadap hepar terkecuali senyawa *Passifloricin A* yang bersifat toksis terhadap hepar dibandingkan dengan senyawa pembanding *metformin*. Sedangkan senyawa yang berada di kelas 4 senyawa lainnya menunjukkan bahwa senyawa tersebut lebih baik daripada senyawa pembanding *metformin*.

4.7. Pengunduhan Protein Target

Struktur makromolekul yang akan digunakan diperoleh dari RCSB Protein Data Bank (PDB). Struktur 3D yang digunakan pada penelitian ini adalah *Alpha-glucosidase* subunit B dengan PDB ID 7KBJ (Gambar 4.4.). Protein adalah *Alpha-glucosidase* subunit B ini bertindak sebagai reseptor yang akan digabungkan

dengan masing-masing ligan senyawa yang sudah diperoleh sebelumnya. Identitas protein ini memiliki resolusi 2.21 Å yang terdapat pada organisme *Mus musculus* diperoleh dari x-ray diffraction yang diunduh dalam bentuk PDB Format. Keterangan gambar bahwa warna-warna tersebut merupakan ligan (berwarna kuning, abu dan merah), molekul air (berwarna titik kuning), Ion (berwarna kuning), dan Polimer (berwarna hijau, merah, ungu, jingga, abu-abu dan merah muda).

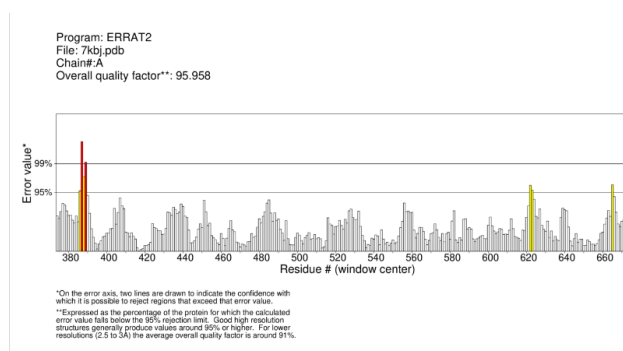


Gambar 4.4. Struktur 3D adalah Alpha-glucosidase Subunit B 7KBJ

Sumber: RSCB PDB ID 7KBJ

4.8. Uji Validitas Reseptor Target

Sebelum dilakukan preparasi, protein yang menjadi reseptor target dilakukan uji validasi terlebih dahulu melalui ERRAT yang diakses pada laman <https://saves.mbi.ucla.edu/>. Adapun hasil dari uji validasi ERRAT ini dapat dilihat pada Gambar 4.5. berikut ini.



Gambar 4.5. Hasil Validasi Protein 7KBJ

Sumber: ERRAT (<https://saves.mbi.ucla.edu/>)

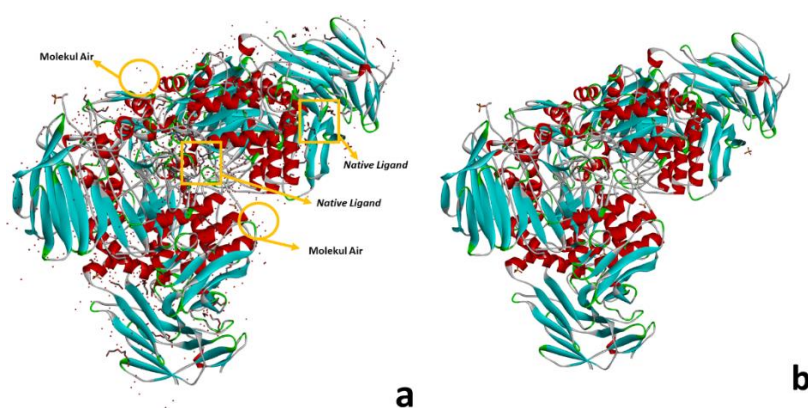
Adapun hasilnya menunjukkan struktur resolusi tinggi yang baik umumnya menghasilkan nilai sekitar 95% atau lebih tinggi. Untuk resolusi yang lebih rendah

(2.5 Å hingga 3 Å) rata-rata faktor kualitas keseluruhan adalah sekitar 91%. Dari hasil uji validasi (Gambar 4.5.) didapatkan bahwa nilai untuk reseptor 7KBJ adalah 95.958%. Artinya protein yang akan digunakan dapat dikatakan valid dan sangat baik untuk digunakan.

4.9. Preparasi Reseptor Target

Struktur makromolekul reseptor *Alpha-glucosidase* subunit B (PDB ID 7KBJ) yang telah diunduh dari laman RCSB PDB kemudian dilakukan preparasi terlebih dahulu menggunakan *software* Autodock Tool 1.5.7. Sebelum dipreparasi, reseptor target dipisahkan terlebih dahulu dari molekul air dan *native ligand* yang menempelnya menggunakan bantuan *software* Biovia Discovery Studio Visualizer 2021.

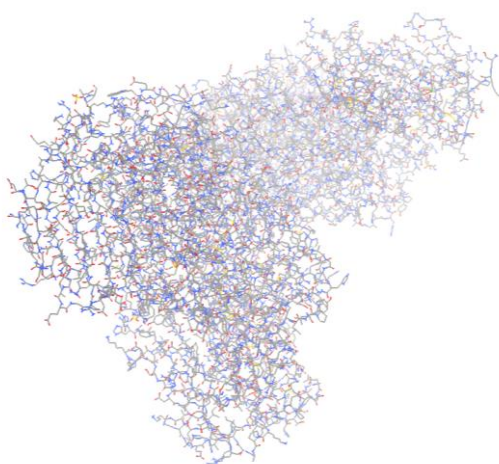
Proses preparasi reseptor dilakukan dengan menghapus molekul air pada reseptor kemudian dilakukan protonasi reseptor untuk proses docking selanjutnya (A. A. Pratama et al., 2017). Penghilangan molekul air bertujuan untuk menyisakan asam amino pada protein target sehingga ketika proses docking hanya senyawa uji dengan asam amino yang berinteraksi (Huey et al., 2012). Molekul air tersebut dihilangkan untuk memaksimalkan interaksi antara senyawa uji dengan protein target (I. W. Sari et al., 2020). Hasil preparasi reseptor dapat dilihat pada Gambar 4.6. di bawah ini.



Gambar 4.6. Proses penghilangan molekul air dan *native ligand* sebelum (a) dan sesudah (b)

Sumber : Dokumen Pribadi dari Biovia Discovery Studio Visualizer 2021.

Setelah proses penghilangan *native ligand* dan molekul air tersebut, kemudia file dibuka melalui Autodock Tool untuk disimpang dalam format .pdbqt. Lalu ditambahkan hidrogen dalam keadaan *polar only* dan *merge non polar*. Penambahan hidrogen dilakukan untuk menyesuaikan suasana docking agar mendekati pada pH 7 (I. W. Sari et al., 2020). Gambar 4.7. menunjukkan reseptor yang sudah diberikan hidrogen.



Gambar 4.7. Hasil preparasi reseptor 7KBJ yang sudah diberikan muatan hidrogen

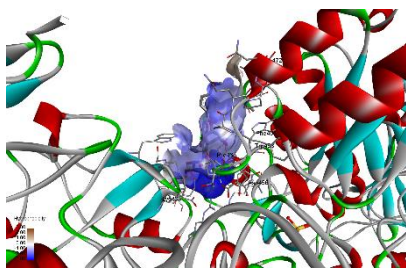
Sumber: Dokumen Pribadi Hasil Preparasi Reseptor melalui Autodock Tool 1.5.7

4.10. Molecular Docking Senyawa Aktif *Passiflora foetida* L. dan Metformin pada Reseptor 7KBJ

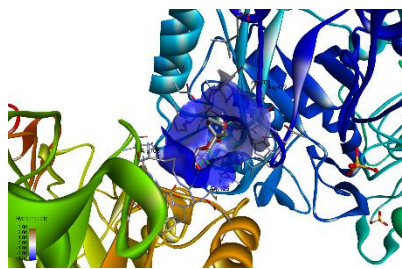
Tahap *molecular docking* antar senyawa aktif *Passiflora foetida* L. dan metformin pada reseptor 7KBJ dilakukan menggunakan *software* Autodock Tool 1.5.7. Terdapat 4 parameter *docking* yang digunakan untuk mengukur kekuatan ikatan obat dengan reseptor yaitu *Binding Affinity*, *RMSD Lower Bound*, *RMSD Upper Bond*, dan *H-Bond* (Ikatan Hidrogen).

4.10.1. Hasil Molecular Docking Senyawa Aktif *Passiflora foetida* L. dan Metformin pada Reseptor 7KBJ

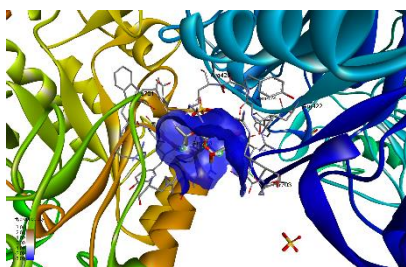
Hasil visualisasi 3D *docking* yang diperoleh dari proses penambatan antara senyawa aktif *Passiflora foetida* L. serta senyawa pembanding metformin dengan reseptor 7KBJ dapat dilihat pada Gambar 4.8. di bawah ini.



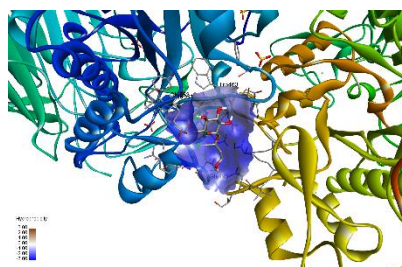
7KBJ - 5-Hydroxy-7,4'-
dimethoxyflavone



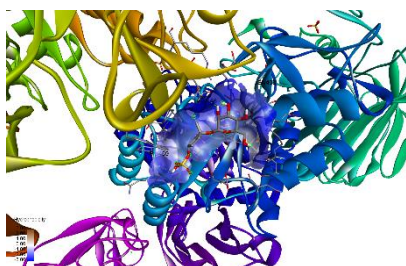
7KBJ - Deidaclin



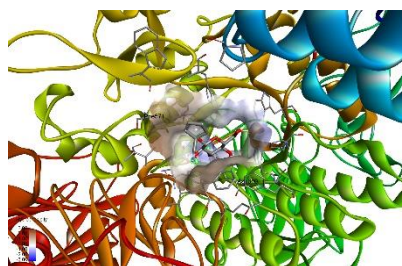
7KBJ - Linamarin



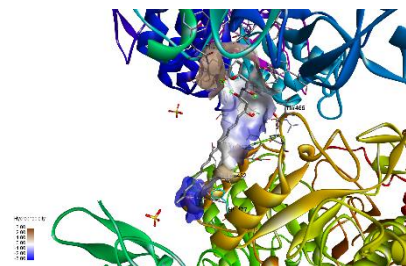
7KBJ - Volkenin



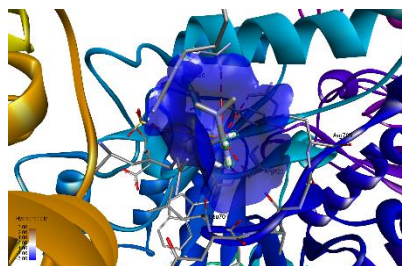
7KBJ - (1S,4S)-Tetraphyllin B



7KBJ - (S)-Tetraphyllin A



7KBJ - Passifloricin A



7KBJ - Metformin

Gambar 4.8. Visualisasi 3D hasil molecular docking senyawa uji dan obat pembanding terhadap reseptor 7KBJ

Adapun hasil *molecular docking* berupa *binding affinity* dan nilai RMSD yang dilakukan antara senyawa uji dan obat pembanding metformin terhadap reseptor 7KBJ dapat dilihat pada Tabel 4.11. di bawah ini.

Tabel 4.11. Hasil *molecular docking* senyawa uji dan obat pembanding pada reseptor 7KBJ

No.	Ligan	Konformasi	Binding Affinity (kcal/mol)	dist. from best mode	
				rmsd Lb.	rmsd u.b.
1	5-Hydroxy-7,4'-dimethoxyflavone	1	-10,4	0,000	0,000
		2	-10,4	10,636	14,995
		3	-10,2	11,390	15,004
		4	-9,8	3,079	8,957
		5	-9,7	24,919	27,861
		6	-9,7	2,090	2,586
		7	-9,6	30,128	33,328
		8	-9,5	14,592	17,983
		9	-9,5	25,651	29,517
2	Deidaclin	1	-7,4	0,000	0,000
		2	-7,4	15,370	17,935
		3	-7,2	2,252	3,763
		4	-7,1	14,951	17,254
		5	-7,1	14,424	16,332
		6	-7,1	13,641	15,209
		7	-7,0	16,541	19,232
		8	-6,8	13,491	14,812
		9	-6,8	17,541	19,529
3	Linamarin	1	-7,7	0,000	0,000
		2	-7,0	1,611	3,981
		3	-6,7	2,213	5,369
		4	-6,4	22,695	24,656
		5	-6,4	35,500	37,413
		6	-6,3	2,489	5,103

		7	-6,3	12,989	14,172
		8	-6,3	21,547	23,434
		9	-6,3	22,099	23,990
4	Volkenin	1	-7,5	0,000	0,000
		2	-7,4	13,020	15,602
		3	-7,3	13,100	16,271
		4	-7,2	14,421	16,294
		5	-7,2	15,246	16,279
		6	-7,2	22,304	23,890
		7	-7,2	2,271	4,162
		8	-7,2	2,568	4,138
		9	-7,1	2,318	5,828
5	(1S,4S)-Tetraphyllin B	1	-8,3	0,000	0,000
		2	-8,2	15,848	19,140
		3	-7,9	27,005	28,287
		4	-7,8	2,278	3,526
		5	-7,7	31,342	33,373
		6	-7,7	2,737	3,493
		7	-7,7	2,964	3,871
		8	-7,6	2,628	3,587
		9	-7,6	16,850	20,358
6	(S)-Tetraphyllin A	1	-7,3	0,000	0,000
		2	-7,3	18,149	21,253
		3	-7,3	32,194	34,743
		4	-7,1	17,458	19,573
		5	-7,0	14,359	16,897
		6	-6,9	24,641	25,644
		7	-6,9	5,306	7,328
		8	-6,8	27,527	29,248
		9	-6,8	20,116	22,186

7	Passifloricin A	1	-9,1	0,000	0,000
		2	-8,9	29,198	34,401
		3	-8,8	16,844	22,597
		4	-8,7	14,916	19,449
		5	-8,6	31,452	33,941
		6	-8,6	35,766	38,850
		7	-8,6	23,502	26,350
		8	-8,4	36,947	41,362
		9	-8,4	28,471	33,869
8	Metformin (kontrol)	1	-5,3	0,000	0,000
		2	-4,8	36,756	37,920
		3	-4,7	1,431	2,269
		4	-4,7	19,682	20,816
		5	-4,6	39,837	40,991
		6	-4,4	38,479	39,837
		7	-4,4	38,745	39,386
		8	-4,4	20,221	21,167
		9	-4,3	21,260	22,593

Sumber: AutoDock Tools 1.5.7

Keterangan :

Binding affinity : Semakin rendah maka nilai afinitas antara reseptor dan ligannya semakin tinggi.

RMSD : Dapat diterima jika <3, optimal jika <2, dan semakin bagus jika mendekati 0.

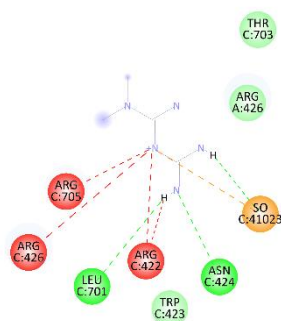
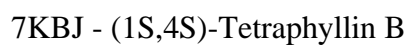
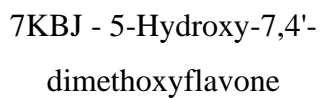
Dari hasil di atas, semua senyawa uji dikatakan valid karena memiliki nilai RMSD 0. Ligan senyawa uji yang memiliki nilai *binding affinity* lebih baik dari metformin adalah senyawa 5 *Hydroxy-7,4'-dimethoxyflavone*, *Deidaclin*, *Linamarin*, *Volkenin*, *(1S,4S)-Tetraphyllin B*, *(S)-Tetraphyllin A*, *Passifloricin A* dengan nilai *binding affinity* berurutan yaitu -10,4 kcal/mol, -7,4 kcal/mol, -7,7 kcal/mol, -7,5 kcal/mol, -8,3 kcal/mol, -7,3 kcal/mol, -9,1 kcal/mol. Sementara itu,

dapat dilihat bahwa nilai *binding affinity* dari metformin adalah -5,3 kcal/mol. Ligan terbaik adalah ligan-ligan yang memiliki nilai *binding affinity* paling negatif (Faqih et al, 2019). *Binding affinity* merupakan nilai yang menunjukkan kemampuan ligan berikatan dengan reseptor dalam satuan kkal/mol. Semakin rendah nilainya, maka semakin tinggi afinitas antara reseptor dan ligan, dan begitupun sebaliknya. Semakin tinggi nilainya, maka semakin rendah afinitas ligan antara reseptor (Ningrat, 2022).

Nilai RMSD yang di dapat ada dua, yaitu RMSD *lower bound* (rmsd lb.), dan RMSD *upper bound* (rmsd ub.). Nilai RMSD untuk kesejajaran konformasi struktur yang masih dapat diterima adalah <3 tetapi optimal jika <2, apabila semakin mendekati 0 maka nilai kesejajaran semakin baik (Mutiar et al., 2022). Berdasarkan teori tersebut, maka ditemukan bahwa tidak semua ligan dengan pose interaksi antara ligan-reseptor tersebut dikatakan valid. Ligan yang berinteraksi baik dalam pose valid ditemukan pada ligan senyawa 5 *Hydroxy-7,4'-dimethoxyflavone*, *Deidaclin*, *Linamarin*, dan *(1S,4S)-Tetraphyllin B* dengan nilai *binding affinity* berurutan yaitu -9,7 kcal/mol, -7,2 kcal/mol, -7,0 kcal/mol, -7,8 kcal/mol, -7,7 kcal/mol, -7,7 kcal/mol, dan -7,6 kcal/mol. Sementara itu, dapat dilihat bahwa nilai *binding affinity* dari metformin adalah -4,7 kcal/mol. Dari hasil tersebut, dapat diprediksi bahwa senyawa uji 5 *Hydroxy-7,4'-dimethoxyflavone* memiliki kemampuan lebih baik daripada *metformin* untuk menghambat glukosa ke reseptor 7KBJ.

4.10.2. Hasil Interaksi Ligan dan Asam Amino

Interaksi ligan dengan asam amino dapat terjadi di area *binding site* protein. *Binding site* adalah lubang atau kantong di permukaan protein yang kemudian digunakan untuk mengikat ligan (obat) (Mahdiyah, 2015). *Binding site* mengandung residu asam amino yang berperan penting dalam pengikatan dengan ligan. Interaksi yang terjadi antara ligan dengan residu asam amino makromolekul terbentuk sebagai ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik, dan interaksi elektrostatik (Arwansyah et al., 2014). Visualisasi 2D interaksi antara senyawa uji dan metformin dengan reseptor 7KBJ dapat dilihat pada Gambar 4.9. di bawah ini.



7KBJ - Metformin

Gambar 4.9. Interaksi ligan senyawa uji dan obat pembanding dengan reseptor 7KBJ

Ikatan yang terbentuk dari penambatan antara ligan senyawa uji dan obat pembanding metformin terhadap reseptor 7KBJ adalah ikatan hidrogen konvensional, ikatan van der Waals, ikatan Pi-Sigma, ikatan Pi-Pi T-shaped, ikatan hidrofobik, alkyl dan pi-alkyl, ikatan Pi-Cation, ikatan unfavourable donor-donor, ikatan unfavourable acceptor-acceptor, dan ikatan hidrogen (*fluorine*). Ikatan hidrogen adalah ikatan non-kovalen yang paling kuat akan tetapi lebih rapuh daripada ikatan ion atau ikatan kovalen. Ikatan hidrogen paling banyak digunakan untuk menciptakan tindakan farmakologis, sehingga sangat penting untuk menganalisis ikatan hidrogen yang terjadi (Naja et al., 2022). Dalam senyawa uji, ikatan hidrogen ditemukan pada TRP C463, PHE C468, GLY C498, SO C41023, ARG A705, ARG A426, ARG C422, THR C703, PHE C461, ASP C456, PRO C469, THR A466 dan GLU C553 (ikatan hidrokarbon) sebagai bagian dari ikatan hidrogen. Sedangkan pada obat pembanding, ikatan hidrogen yang ditemukan LEU C701 dan ASN C424.

Ikatan Van der Waals adalah gaya tarik menarik antara molekul atau atom yang tidak bermuatan dan terletak berdekatan atau berjarak $\pm 4-6$. Ikatan ini terjadi karena sifat polarisasi molekul atau atom. Kekuatan ikatan van der Waals adalah 0,5 kkal/mol (Ulya, 2022). Ikatan Van der Waals yang ditemukan adalah PRO C471, GLN C470, PRO C469, THR C462, TRP A523, TYR C499, ARG C500, ASP A496, VAL A495, SER A497, PRO A526, SER A528, GLU C553, LEU C701, ARG C426, ASN C424, GLY C704, TYR A425, ASP A430, ARG C705, TRP C423, SO C41023, ASN A424, ARG A422, ARG A705, TYR C499, PRO C465, ASP C456, ARG C459, ARG A459, LYS A494, ASP A496, ARG A459, LYS A494, TRP C463, PRO C471, GLN C470, GLU C553, MET C546, VAL C501, VAL A576, ASP H305, PHE H307, ARG A624, MET A565, PHE A673, PHE A674, TRP A423, HIS A700, TRP A525, GLN A436, LYS A481, ARG A467, TRP C423, HIS C700, PHE C674, TRP C525, PHE C571, VAL C576, ASP J305, SO

B41803, GLN A436, dan LYS A48. Sedangkan Ikatan Van der Waals pada obat pembanding adalah TRP C423, ARG A426, dan THR C703.

Ikatan alkyl dan pi-alkyl diklasifikasikan sebagai ikatan hidrofobik, membantu memperkuat interaksi hidrofobik ligan dalam kantong pengikat reseptor (Arthur & Uzair, 2019). Bentuk ikatan pi adalah ikatan non-kovalen antara cincin aromatik yang ditumpuk. Sementara itu, ikatan alkyl adalah ikatan gugus non-polar yang mengandung karbon dan hidrogen (Putri et al., 2021). Pada interaksi ini antara ligan senyawa uji dengan reseptor 7KBJ, ikatan alkyl dan pi-alkyl ditemukan pada PRO C465, LEU C472, ARG C705, LEU A701, ARG C426, ARG A426, PHE A571, HIS A477, LEUS A432, ALA A429.

Ikatan unfavorable donor-donor adalah ikatan negatif yang ditandai dengan garis merah. Formasi ini mempengaruhi stabilitas aktivitas obat. Ikatan ini ditemukan pada LYS A494 pada senyawa *5-Hydroxy-7,4'-dimethoxyflavone*, ARG C422 dan SN C424 pada senyawa *Linamarin*, dan pada obat pembanding terdapat ARG C705, ARG C426, dan ARG C422. Bentuk ikatan ini adalah gaya tolak menolak antara dua molekul. Pengaruh langsung pada hubungan ini tidak dapat disimpulkan secara langsung dari studi *in silico*, tetapi pengujian lebih lanjut dengan metode *in vitro* harus dilakukan (Putri et al., 2021). Ditemukan juga ikatan unfavorable acceptor-acceptor pada ARG C422, ASN C424 pada senyawa *Linamarin*, dan ASP A640 pada senyawa *(S)-Tetraphyllin A*. Pada obat pembanding metformin terdapat ikatan *unfavorable positive-positive* yaitu ARG C705, ARG C426, ARG C422.

Istilah pi-anion digunakan dalam studi komputasi terbaru untuk menggambarkan interaksi ini. Istilah anion–aromatik untuk interaksi ini karena: interaksi tersebut melibatkan tepi cincin aromatik positif sebagian, tempat orbital molekul pi berada; Dan istilah anion-aromatik membedakan interaksi yang jarang dibahas ini dari pasangan anion-pi yang banyak dibahas interaksi gugus bermuatan negatif dengan permukaan sistem aromatik yang kekurangan elektron (Schawns, 2013). Adapun ditemukannya Pi-Anion yaitu PHE J307 pada senyawa *Passifloricin A*. Adapun hasil interaksi asam amino senyawa uji dengan reseptor 7KBJ ditunjukkan pada Tabel 4.12 berikut.

Tabel 4.12. Hasil interaksi asam amino dalam ikatan hidrogen dan sterik pada reseptor 7KBJ

No.	Ligan	Konformasi
1	5-Hydroxy-7,4'-dimethoxyflavone	Ikatan Hidrogen Konvesional: TRP C463, PHE C468, GLY C498
		Ikatan Van der Waals: PRO C471, GLN C470, PRO C469, THR C462, TRP A523, TYR C499, ARG C500, ASP A496, VAL A495, SER A497, PRO A526, SER A528, GLU C553
		Ikatan Hidrokarbon: ASP C456
		Ikatan Hidrofobik alkyl: PRO C465, LEU C472
		Ikatan Unfavorable donor-donor: LYS A494
2	Deidaclin	Ikatan Hidrogen Konvesional: SO C41023, ARG A705, ARG A426, ARG C422
		Ikatan Van der Waals: LEU C701, ARG C426, ASN C424, GLY C704, ASN A424, TYR A425, ASP A430
		Ikatan Hidrofobik alkyl: ARG C705
3	Linamarin	Ikatan Hidrogen Konvesional: THR C703
		Ikatan Van der Waals: ARG C705, LEU C701, TRP C423, SO C41023, ASN A424, ARG A422, ARG A705, TYR A425
		Ikatan Hidrofobik alkyl: LEU A701, ARG C426, ARG A426

		Ikatan Unfavorable donor-donor: ARG C422*, ASN C424
		Ikatan unfavorabel acceptor-acceptor: ARG C422, ASN C424
4	Volkenin	Ikatan Hidrogen Konvesional: GLY C498, PHE C461, TRP C463
		Ikatan Van der Waals: ASP A496, TYR C499, ARG C500, THR C462, PRO C465, ASP C456, ARG C459, ARG A459, LYS A494, ASP A496
		Ikatan Hidrokarbon: GLU C553
5	(1S,4S)-Tetraphyllin B	Ikatan Hidrogen Konvesional: ASP C456, GLY C498, PRO C469
		Ikatan Van der Waals: ARG A459, ARG C459, LYS A494, THR C462, PRO C465, TRP C463, TRP A523, PRO C471, GLN C470, GLU C553, MET C546, ARG C500, TYR C499, VAL C501
6	(S)-Tetraphyllin A	Ikatan Hidrogen Konvesional:
		Ikatan Van der Waals: VAL A576, ASP H305, PHE H307, ARG A624, MET A565, PHE A673, PHE A674, TRP A423, HIS A700, TRP A525
		Ikatan hidrofobik pi-alkyl: PHE A571
		Ikatan unfavorabel acceptor-acceptor: ASP A640
7	Passifloricin A	Ikatan Hidrogen Konvesional: THR A466

		Ikatan Van der Waals: GLN A436, LYS A481, LEU C701, ARG A467, TRP C423*, HIS C700, PHE C674, TRP C525, PHE C571, VAL C576, ASP J305, SO B41803, GLN A436, LYS A481
		Ikatan Hidrofobik alkyl: HIS A477, LEU A432, ALA A429
		Ikatan hidrofobik pi-alkyl: HIS A477, LEUS A432, ALA A429
		Ikatan Pi-Anion: PHE J307
8	Metformin (kontrol)	Ikatan Hidrogen Konvesional: LEU C701, ASN C424
		Ikatan Van der Waals: TRP C423, ARG A426, THR C703
		Ikatan Attractive Charge: SO C41023
		Ikatan Unfavorable donor-donor: ARG C705, ARG C426, ARG C422
		Ikatan unfavorable Positive-positive: ARG C705, ARG C426, ARG C422

Sumber: Biovia Discovery Studio Visualizer 2021

Keterangan :

Tanda (*) : residu asam amino yang sama dengan kontrol metformin.

Berdasarkan hasil analisis residu asam amino, menunjukkan bahwa terdapat beberapa senyawa uji yang memiliki residu asam amino yang sama dengan obat pembanding metformin. interaksi residu asam amino yang sama dengan senyawa pembanding atau *native ligand* dapat dikatakan memiliki kemampuan aktivitas biologis yang sama dengan senyawa pembanding atau *native ligand* tersebut (Prasetiawati et al., 2021).

Hasil dari tabel 4.12. diatas menunjukkan bahwa senyawa pembanding metformin pada reseptor 7KBJ memiliki 6 residu dengan rincian 1 ikatan hidrogen

yaitu LEU C701 dan ASN C424, 1 Ikatan Van der Waals yaitu TRP C423, ARG A426, dan THR C703, ikatan Attractive Charge yaitu SO C41023, Ikatan *Unfavorable donor-donor*: ARG C705, ARG C426, ARG C422 dan Ikatan *Unfavorable positive-positive*: ARG C705, ARG C426, ARG C422. Hasil yang diperoleh tersebut dijadikan sebagai acuan untuk membandingkan antara residu asam amino yang berikatan pada senyawa uji terhadap reseptor 7KBJ.

Interaksi antara senyawa *Linamarin* dengan reseptor 7KBJ memiliki kesamaan residu asam amino dengan obat pembanding metformin yaitu SO C41023 dan ARG C422. Senyawa *Passifloricin A* memiliki kesamaan residu asam amino dengan obat pembanding metformin yaitu TRP C423. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa uji ligan ini memiliki kemiripan dengan obat pembanding (kontrol) metformin.

4.11. *Booklet* sebagai Sumber Belajar Biologi pada Konsep Plantae

Hasil penelitian ini akan dijadikan sebagai sumber belajar biologi khususnya pada materi Plantae di kelas X SMA/MA. Adapun KD yang dirujuk mengacu pada KD 3.8 Mengelompokkan tumbuhan ke dalam divisio berdasarkan ciri-ciri umum, serta mengaitkan peranannya dalam kehidupan serta KD 4.8 Menyajikan laporan hasil pengamatan dan analisis fenetik dan filogenetik tumbuhan serta peranannya dalam kehidupan. Adapun *design booklet* yang dibuat dapat dilihat pada Gambar 4.10. di bawah ini.



Gambar 4.10. Cover depan dan belakang *booklet*

Booklet ini berisikan tentang penjelasan konsep plantae atau tumbuhan terutama pada penjelasan tumbuhan *Passiflora foetida* L. yang merupakan sebagai kandidat obat antidiabetes. Dalam *booklet* ini dilengkapi dengan sinopsis yang dapat dilihat di atas pada gambar *cover* belakang (Gambar 4.10.) yang berisi ringkasan isi *booklet*. *Booklet* ini pun dilengkapi pula dengan kata pengantar, daftar isi, riwayat hidup, dan daftar pustaka. Adapun daftar isi tersebut dapat dilihat pada Gambar 4.11. di bawah ini.

Daftar Isi	
Kata Pengantar	1
Daftar Isi	2
Tumbuhan Rambutan (<i>Passiflora foetida</i> L.)	3
A. Klasifikasi Tumbuhan Rambutan	3
B. Morfologi Tumbuhan Rambutan	5
C. Habitat	6
D. Kandungan	7
Diabetes	10
A. Pengertian Diabetes	10
B. Diabetes Tipe 1	11
C. Diabetes Tipe 2	15
D. Diabetes Tipe Spontik	12
E. Diabetes mellitus gestasional	12
Penelitian Terkini	14
A. Prediksi Toksikologi	14
B. Prediksi Farmakokinetik	15
C. Prediksi Toksikologi	16
D. Molekuler docking	17
E. Batas Toleransi dan Asam Amino	18
Daftar Pustaka	21
Penutup Penulis	24

Gambar 4.11. Daftar isi *booklet*

Selain itu, *booklet* ini terdiri dari 4 bab yang masing-masing bab-nya dilengkapi dengan tujuan dari pembelajaran yang akan dicapai. Bab 1 membahas konsep tumbuhan secara umum, bab 2 membahas klasifikasi tumbuhan *Passiflora foetida* L. secara spesifik, bab 3 membahas manfaat tumbuhan *Passiflora foetida* L. salah satunya sebagai antidiabetes, dan bab 4 menjelaskan keterkaitan penelitian terkini mengenai pencarian kandidat antidiabetes secara *in silico*. Contoh isi dari *booklet* ini dapat dilihat pada Gambar 4.12. dibawah ini.

