

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Hiperkolesterolemia menjadi salah satu masalah kesehatan yang berkontribusi terhadap *Cardiovascular Diseases* (CVDs), yang saat ini masih menjadi penyebab utama morbiditas dan mortalitas masyarakat dunia (Widhi & Putri, 2020). Hiperkolesterolemia ditandai dengan tingginya kadar kolesterol total dalam sirkulasi darah, yang umumnya disertai dengan peningkatan kadar *Triglycerides* (TG). Keadaan ini memicu peningkatan *Low-Density Lipoproteins* (LDL) dan penurunan kadar *High Density Lipoproteins* (HDL) yang menjadi indikator ketidakseimbangan lipid (Narapati & Dainy, 2024). Berdasarkan data Survei Kesehatan Indonesia (SKI) tahun 2023, prevalensi hiperkolesterolemia, faktor pemicu penyakit gangguan metabolik di Indonesia, mencapai 11,7% dari penduduk yang berusia lebih dari 15 tahun. Angka prevalensi ini mengindikasikan bahwa kasus hiperkolesterolemia di Indonesia cukup tinggi sehingga diperlukan penanganan yang cepat namun tetap efektif.

Hiperkolesterolemia merupakan gangguan metabolisme yang berhubungan erat dengan disregulasi metabolisme lipid, salah satunya melalui peningkatan absorpsi lipid oleh enterosit di saluran pencernaan (Baila-Rueda *et al.*, 2016). Proses ini dipengaruhi oleh aktivitas enzim *Pancreatic Lipase* (PL), yang berperan penting dalam memecah TG menjadi dua molekul asam

lemak dan satu molekul monogliserida di lumen duodenum. Hasil pemecahan ini kemudian membentuk misel yang diabsorpsi oleh enterosit (Cañamares-Orbis *et al.*, 2021). Lipid dan kolesterol setelah diabsorpsi selanjutnya dikemas menjadi kilomikron, dikirim ke dalam sirkulasi darah, dan sisanya diserap oleh hepatosit untuk diproses menjadi lipoprotein yang berperan dalam pembentukan kolesterol darah (Salih, 2021). Aktivitas enzim PL yang berlangsung secara berlebihan akan memicu peningkatan absorpsi yang berkontribusi pada akumulasi lipid di hati (Chiu *et al.*, 2025). Penghambatan aktivitas enzim PL menjadi strategi yang menjanjikan dalam pengelolaan kondisi hiperkolesterolemia.

Penanganan hiperkolesterolemia dapat dilakukan melalui pendekatan farmakologis menggunakan obat seperti orlistat (Lucas *et al.*, 2003). Orlistat bekerja dengan menghambat aktivitas enzim PL pada situs aktif residu serin (Bansal *et al.*, 2024). Mekanisme ini mengakibatkan penurunan absorpsi lipid oleh enterosit di usus halus (Siddiqui *et al.*, 2023). Penggunaan orlistat meskipun efektif juga dapat menimbulkan beberapa efek samping bagi tubuh, seperti diare, perut kembung, nyeri perut, gagal hati akut, dan defisiensi vitamin yang larut dalam lemak (Dragano *et al.*, 2020). Efek samping ini mendorong pencarian alternatif alami yang lebih aman namun tetap efektif.

Antosianin merupakan salah satu senyawa yang diketahui berpotensi dalam penanganan hiperkolesterolemia (Zhang *et al.*, 2016). Senyawa ini memiliki berbagai aktivitas biologis yang bermanfaat bagi kesehatan, seperti antioksidan, anti-inflamasi, hingga anti-diabetik, anti-obesitas dan anti-

kanker (Panda *et al.*, 2022). Aktivitas antioksidan oleh antosianin bekerja dengan cara melindungi sel endotel dari stres oksidatif dan menghambat oksidasi LDL (Naseri *et al.*, 2018). Penghambatan ini penting karena oksidasi LDL berkontribusi terhadap perkembangan akumulasi lipid atau aterosklerosis (Thangasparan *et al.*, 2024). Aktivitas anti-inflamasi antosianin berperan dalam menekan ekspresi *Nuclear Factor kappa b* (NF- κ b) dan *Tumor Necrosis Factor-alpha* (TNF- α) yang memicu peradangan, juga memperburuk aterosklerosis (Reis *et al.*, 2016). Kedua mekanisme ini bekerja sama mencegah penumpukan lipid yang berlebihan, sehingga dapat membantu memperbaiki profil lipid darah (Martins *et al.*, 2022).

Beras hitam (*Oryza sativa* L.) merupakan varietas beras lokal yang memiliki kandungan flavonoid, salah satunya antosianin yang mencapai 327,60 mg/100g yang termasuk tertinggi diantara jenis beras berwarna lainnya (Thanuja & Parimalavalli, 2018). Antosianin yang terdapat dalam beras hitam, terdiri dari *cyanidin 3-O-glucoside*, *peonidin 3-O-glucoside*, *malvidin 3-O-glucoside*, *delphinidin 3-O-glucoside*, *pelargonidin 3-O-glucoside* (Kim *et al.*, 2014), dan *petunidin 3-O-glucoside* (Uivarasan *et al.*, 2024). Studi sebelumnya menunjukkan bahwa antosianin dari beras hitam mampu menurunkan kadar TG dan kolesterol total pada model tikus obesitas dengan diet tinggi lemak (Song *et al.*, 2021). Senyawa ini juga dilaporkan dapat menghambat penyerapan lipid melalui mekanisme inhibisi enzim PL secara *in vitro* (Yao *et al.*, 2013). Berdasarkan literatur sebelumnya yang dituliskan oleh Song *et al.* (2021) dan Yao *et al.* (2013), antosianin beras

hitam berpotensi dimanfaatkan sebagai alternatif pengobatan alami dalam upaya pengelolaan kondisi hiperkolesterolemia. Oleh karena itu, penelitian mekanisme interaksi kelompok senyawa bioaktif kelompok antosianin dari beras hitam terhadap enzim PL pada penyakit hiperkolesterolemia menjadi penting dilakukan.

Mekanisme interaksi dapat dieksplorasi melalui pendekatan *in silico*, yaitu metode komputasi yang memanfaatkan simulasi dan algoritma untuk menganalisis struktur, karakteristik, serta aktivitas senyawa kandidat obat (Al-Mohaya *et al.*, 2024). Salah satu metode yang dapat digunakan mencakup *virtual screening* dan *molecular docking* (Islam *et al.*, 2025). *Virtual screening* merupakan tahap awal pengembangan obat yang digunakan untuk mengidentifikasi senyawa yang berpotensi sebagai kandidat obat sebelum dilakukan proses *docking* (Lin *et al.*, 2020). *Molecular docking* merupakan metode bioinformatika yang digunakan untuk menentukan dan memprediksi interaksi antara senyawa kandidat obat (ligan) dengan protein target. Metode ini bertujuan untuk menemukan konformasi dan orientasi optimal antara ligan dan protein sehingga interaksi keduanya menghasilkan energi bebas minimum yang menunjukkan afinitas ikatan terkuat (Tripathi & Misra, 2017). Kelebihan *molecular docking* yaitu mempercepat proses penemuan obat, mengurangi biaya penelitian, dan meningkatkan efektivitas pengembangan senyawa kandidat obat (Muhammed & Aki-Yalcin, 2024).

Penelitian mengenai interaksi kelompok senyawa antosianin dari beras hitam terhadap enzim PL pada penyakit hiperkolesterolemia melalui

pendekatan *molecular docking* masih terbatas. Berdasarkan urgensi tersebut, penelitian ini bertujuan untuk mengeksplorasi potensi kelompok senyawa antosianin dari beras hitam sebagai agen anti-hiperkolesterolemia dalam menghambat enzim PL dengan menggunakan metode *molecular docking*. Hasil yang ditemukan diharapkan dapat menjadi dasar ilmiah untuk mengembangkan obat anti-hiperkolesterolemia yang lebih efektif dan aman, serta memiliki toleransi risiko yang kecil.

1.2 Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut, rumusan masalah dalam penelitian ini, yaitu bagaimana potensi kelompok senyawa antosianin dari beras hitam (*Oryza sativa* L.) dalam menghambat aktivitas enzim *pancreatic lipase* sebagai agen anti-hiperkolesterolemia secara *in silico*?

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini memiliki tujuan yaitu menganalisis dan membuktikan potensi kelompok senyawa antosianin dari beras hitam (*Oryza sativa* L.) dalam menghambat aktivitas enzim *pancreatic lipase* sebagai agen anti-hiperkolesterolemia secara *in silico*.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini bermanfaat untuk memperluas pengetahuan serta keterampilan secara langsung tentang potensi kelompok senyawa antosianin dari beras hitam sebagai inhibitor enzim PL melalui *molecular docking*. Hasilnya menjadi dasar sumber ilmiah untuk penelitian selanjutnya dalam

mengembangkan potensi kelompok senyawa antosianin dari beras hitam sebagai bahan pencegahan dan pengobatan hiperkolesterolemia. Hasil penelitian diharapkan dapat menambah koleksi pustaka dan bahan bacaan tentang topik tersebut. Hasil penelitian ini, selain menambah menjadi koleksi pustaka, juga dapat menjadi sumber ilmiah mengenai potensi beras hitam sebagai agen anti-hiperkolesterolemia yang lebih efektif dan aman. Temuan tersebut diharapkan mampu membuka peluang dalam pengembangan produk obat yang lebih efisien serta mudah terjangkau oleh masyarakat.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Hiperkolesterolemia

2.1.1 Definisi dan Klasifikasi Hiperkolesterolemia

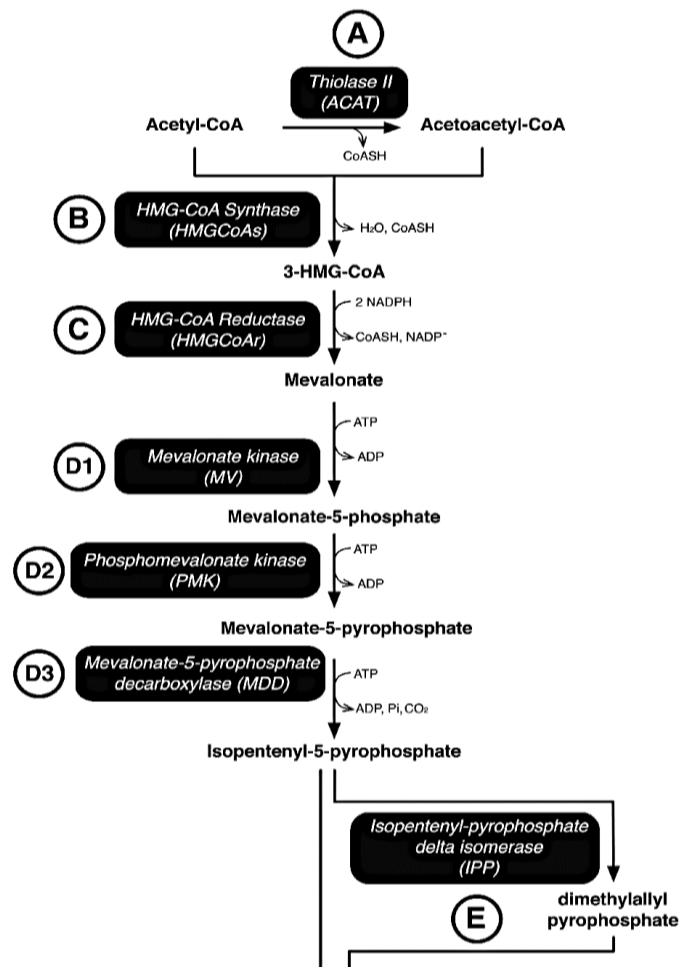
Hiperkolesterolemia merupakan kondisi kelainan metabolisme lipid yang ditandai dengan kadar kolesterol total yang melebihi batas normal, yaitu mencapai ≥ 240 mg/dl (Ardian dkk., 2020). Berdasarkan faktor penyebabnya, hiperkolesterolemia dibedakan menjadi dua jenis yaitu hiperkolesterolemia primer dan sekunder. Hiperkolesterolemia primer disebabkan oleh faktor genetik atau keturunan yang memengaruhi metabolisme lipid, sebagai contoh *Familial Hypercholesterolemia* (FH). Penyakit ini ditandai dengan kadar *Low Density Lipoproteins-cholesterol* (LDL-C) yang tinggi sejak lahir (Tokgozoglu & Kayikcioglu, 2021). Hiperkolesterolemia sekunder adalah penyakit gangguan metabolisme lipid yang disebabkan oleh faktor lingkungan atau gangguan lain seperti pola hidup yang tidak sehat, kurang berolahraga, obesitas, dan sindrom nefrotik (Zulfamidah dkk., 2022). Pola hidup yang tidak sehat seperti sering mengonsumsi makanan yang berlemak jenuh tinggi, alkohol, dan kebiasaan merokok (Hamria dkk., 2020).

Hiperkolesterolemia dapat didiagnosis melalui pemeriksaan profil lipid lengkap yang mencakup pengukuran kadar kolesterol total, trigliserida, *Low-Density Lipoproteins* (LDL) dan *High Density Lipoproteins* (HDL) (Huff *et al.*, 2023). Beberapa profil lipid tersebut memiliki nilai ambang batas yang ditetapkan. Kolesterol total yang normal memiliki nilai ≤ 200 mg/dl, LDL ≤ 100 mg/dl, HDL ≥ 40 mg/dl untuk pria, ≥ 50 mg/dl untuk wanita dan trigliserida ≤ 150 mg/dl (Pappan *et al.*, 2024). Kolesterol total yang tidak normal memiliki nilai ≥ 240 mg/dl, LDL ≥ 160 mg/dl, HDL ≤ 40 mg/dl dan trigliserida ≥ 150 mg/dl (Ardian dkk., 2020). Nilai dari beberapa profil lipid tersebut sering ditentukan oleh berbagai macam faktor, antara lain umur, jenis kelamin dan makanan (Pappan *et al.*, 2024).

2.1.2 Tahap Biosintesis Kolesterol

Kolesterol merupakan molekul lipofilik yang dapat ditemukan dalam membran sel tubuh, sangat penting bagi kehidupan manusia. Molekul ini memiliki peranan penting sebagai komponen struktural membran sel, pengontrol fluiditas membran, juga bahan pembentuk vitamin D, hormon steroid (kortisol, aldosteron, androgen adrenal), serta hormon seks (testosteron, estrogen, progesteron) (Huff *et al.*, 2023). Kolesterol dalam darah sebagian besar diproduksi di organ hati, sedangkan kolesterol ekogen berasal dari makanan yang kemudian diabsorpsi di usus halus. Kolesterol

ekogen setelah diabsorpsi, ditransportasikan ke hati (Ibrahim *et al.*, 2021). Keseimbangan kolesterol dalam tubuh dijaga oleh sistem tubuh, mencakup proses biosintesis, transport dan ekskresi (Huang *et al.*, 2018).



Gambar 2.1. Jalur biosintesis kolesterol tahap awal (dari asetil-Koa hingga isopentenil pirofosfat/ dimetilalil pirofosfat) (Cerqueira *et al.*, 2016)

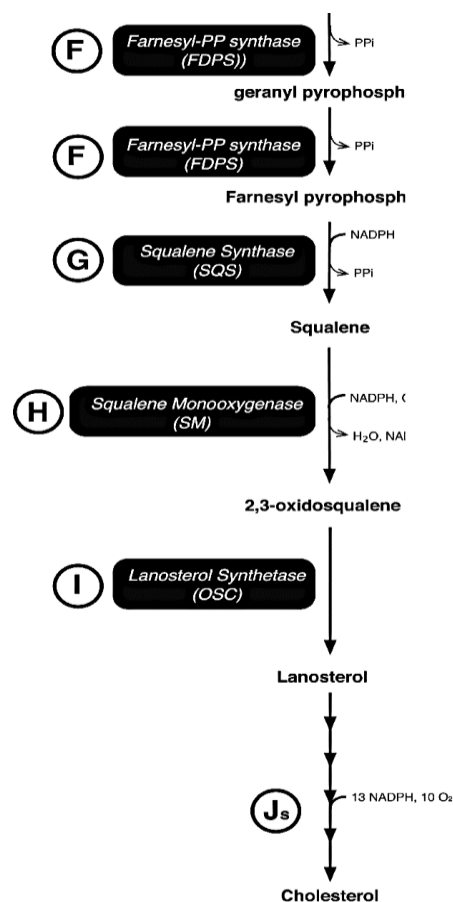
Proses pembentukan kolesterol secara endogen dimulai dengan pembentukan *acetoacetyl*-CoA seperti tahap A pada Gambar 2.1 melalui proses kondensasi antara dua molekul *acetyl* coenzyme A (*acetyl*-CoA) dengan melibatkan enzim tiolase II.

Senyawa *acetoacetyl*-CoA selanjutnya berkondensasi kembali dengan molekul *acetyl*-CoA lainnya membentuk *3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A* (HMG-CoA) dengan melibatkan HMG-CoA *synthase* (HMG-CoAs) (tahap B pada Gambar 2.1). Senyawa HMG-CoA kemudian direduksi menjadi molekul enam karbon mevalonat oleh enzim HMG-CoA *reductase* (HMG-CoAr) dengan bantuan *Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate* (NADPH) (tahap C pada Gambar 2.1) (Cerqueira *et al.*, 2016).

Asam mevalonat dengan bantuan enzim *Mevalonate Kinase* (MK) mengalami fosforilasi membentuk *Mevalonate 5-Phosphate* (MVAPP) (tahap D1 pada Gambar 2.1). Senyawa MVAPP difosforilasi kembali oleh *Phosphomevalonate Kinase* (PMK) membentuk *mevalonate 5-diphosphate* (tahap D2 pada Gambar 2.1). *Mevalonate 5-diphosphate* kemudian mengalami dekarboksilasi oleh enzim *Mevalonate 5-Pyrophosphate Decarboxylase* (MDD) membentuk *Isopentenyl Pyrophosphate* (IPP) sebagai produk akhir jalur mevalonat (tahap D3 pada Gambar 2.1) (Cerqueira *et al.*, 2016).

Senyawa IPP mengalami isomerisasi oleh enzim *isopentenyl pyrophosphate delta isomerase* membentuk *Dimethylallyl Pyrophosphate* (DMAPP) (tahap E pada Gambar 2.1). Konversi ini mengubah IPP yang relatif kurang reaktif menjadi DMAPP yang lebih reaktif. Senyawa DMAPP bersama dengan IPP mengalami reaksi pemanjangan rantai yang melibatkan enzim *Farnesyl*

Diphosphate Synthase (FDPS) membentuk *Geranyl Diphosphate* (GPP) dan selanjutnya *Farnesyl Diphosphate* (FPP) (tahap F pada Gambar 2.2). Senyawa FPP berkondensasi dengan molekul FPP lainnya melalui reaksi dimerisasi reduktif dengan melibatkan enzim *Squalene Synthase* (SQS). Reaksi ini menghasilkan senyawa *squalene* (tahap G pada Gambar 2.2) (Cerqueira *et al.*, 2016).



Gambar 2.2. Jalur biosintesis kolesterol tahap akhir (dari geranyl difosfat hingga kolesterol) (Cerqueira *et al.*, 2016)

Squalene kemudian dioksidasi menjadi *2,3-oxidosqualene* oleh enzim *Squalene Monooxygenase* (SM) yang bergantung pada NADPH dan oksigen (tahap H pada Gambar 2.2). 2,3-

oxidosqualene dikonversi menjadi senyawa siklik lanosterol melalui reaksi yang dikatalisis oleh *lanosterol synthase* (OSC) (tahap I pada Gambar 2.2). Lanosterol diubah menjadi kolesterol melalui dua jalur, yaitu jalur Bloch dan jalur Kandutch-Russell. Kedua jalur tersebut melibatkan serangkaian reaksi enzimatik bertahap (tahap J pada Gambar 2.2). (Cerqueira *et al.*, 2016).

2.1.3 Patofisiologis Hiperkolesterolemia

Mekanisme patofisiologis hiperkolesterolemia umumnya dimulai ketika tubuh menerima asupan lemak jenuh dan kolesterol yang berlebihan, sehingga metabolisme lipid menjadi terganggu (Sugiarti & Meikawati, 2018). Metabolisme lipid dapat diatur oleh enzim *Pancreatic Lipase* (PL) yang berperan penting dalam proses hidrolisis lemak makanan (Alnuaimi *et al.*, 2023) untuk penyerapan di usus halus (Subramaniyan & Hanim, 2025). Gangguan aktivitas lipase seperti aktivitas yang berlebihan memicu peningkatan akumulasi lipid di hati (Chiu *et al.*, 2025), yang mengakibatkan produksi dan kadar LDL dalam darah meningkat (Sugiarti dan Meikawati, 2018).

Kadar LDL yang tinggi menyebabkan LDL mampu menembus lapisan endotel dan menumpuk di ruang subendotel (tunika intima). Penumpukan kadar LDL yang terjadi dapat disebabkan karena adanya interaksi dengan proteoglikan yang memerangkap lemak di tunika intima (Ibrahim *et al.*, 2023). Kondisi

hiperkolesterolemia juga meningkatkan produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) dalam jumlah yang berlebihan melebihi kapasitas produksi antioksidan sehingga memicu stres oksidatif dan peningkatan peroksidasi lipid (Faozah *et al.*, 2021). Kondisi stres oksidatif berakibat pada LDL mengalami modifikasi melalui dua jalur, yaitu secara non-enzimatik dengan melibatkan reaksi ion tembaga dan besi dan secara enzimatis melibatkan enzim lipoksigenase dan mieloperoksidase. Kedua jalur ini mengubah struktur LDL menjadi bentuk yang teroksidasi (Ox LDL) yang bersifat imunogenik, juga mempunyai efek kerusakan yang lebih besar (Mosalmanzadeh & Pence, 2024). Kondisi ini membentuk siklus patologis yang mengganggu metabolisme lipid, terutama yang diatur oleh enzim PL (Zhang *et al.*, 2022).

Reactive oxygen species mengaktifkan jalur sinyal *Nuclear Factor kappa B* (NF- κ B) yang membuat Ox LDL memicu peradangan lokal di sel endotel bagian tunika intima pada pembuluh darah. Aktivasi jalur ini menyebabkan sel endotel mengalami penurunan fungsi yang diikuti pembentukan banyak molekul adhesi pada permukaan membran sel, yang meliputi *Vascular Cell Adhesion Molecule-1* (VCAM-1), *Intercellular Adhesion Molecule-1* (ICAM-1), *E-selectin* dan *P-selection* (Rojková, 2021). Molekul adhesi berperan penting dalam tahap adhesi dan migrasi sel darah putih (monosit) pada lapisan endotelium yang mengalami

peradangan (Lee *et al.*, 2017). Sel endotel sebelumnya juga memberi respon inflamasi awal berupa pelepasan sitokin dan kemokin, yang berfungsi sebagai sinyal kimiawi yang menstimulasi kehadiran sel imun ke lokasi inflamasi. Monosit yang telah menempel akan melakukan penetrasi pada lapisan endotelium menembus sampai ke ruang subendotel (Rojková, 2021).

Monosit setelah menembus ruang subendotel akan mengalami diferensiasi menjadi makrofag. Makrofag ini kemudian akan memfagositosis Ox LDL melalui reseptor *scavenger* pada sel target (Nashruddin, 2021). Penumpukan kolesterol dalam makrofag akan bertransformasi menjadi sel busa atau *foam cell* pada tunika intima. *Foam cell* yang terbentuk akan terakumulasi di lapisan subendotel dan membentuk garis lemak (*fatty streak*). Garis lemak merupakan bagian awal pembentukan plak aterosklerosis yang semakin lama akan berkembang menjadi plak matang. Kondisi ini akan mempersempit diameter pembuluh darah serta mengganggu aliran darah secara normal (Perwisa dan Hanriko, 2020).

Kondisi hiperkolesterolemia diperparah dengan menurunnya fungsi reseptor LDL di dalam sel-sel hati yang berperan mengikat dan menyerap kembali kolesterol dari sirkulasi atau jaringan perifer tubuh (Sugiarti & Meikawati, 2018). Kondisi hiperkolesterolemia juga ditandai dengan penurunan kadar HDL. Jenis kolesterol ini berfungsi dalam proses transport balik kolesterol (*reverse*

cholesterol transport) dari jaringan perifer menuju hati untuk dimetabolisme menjadi cairan empedu (Nugraheni dkk., 2016).

2.1.4 Dampak Hiperkolesterolemia

Hiperkolesterolemia berdampak pada berbagai organ vital, antara lain jantung, otak, dan pembuluh darah perifer, sehingga dapat memicu berbagai penyakit kardiovaskular. Efek hiperkolesterolemia pada organ jantung dapat menyebabkan penyumbatan arteri koroner akibat terbentuknya plak aterosklerosis (Safitri dkk., 2023), sehingga fungsional diastolik jantung menjadi terganggu (Andreadou *et al.*, 2017) dan miokardiosit kekurangan oksigen. Kondisi ini menyebabkan miokardiosit mengalami kerusakan dan nekrosis yang berujung pada infark miokardiosit (serangan jantung) (Ojha & Dhamoon, 2023). Hiperkolesterolemia juga berdampak pada penyumbatan darah di otak yang mengakibatkan stroke iskemik (Prayoga & Rasyid, 2022), serta dapat menyebabkan kerusakan pada pembuluh darah kapiler, yang dikenal dengan penyakit *Cerebral Small Vessel Disease* (CSVD) (Kraft *et al.*, 2017). Hiperkolesterolemia tidak hanya memicu stroke, tetapi juga berdampak pada penyumbatan pembuluh darah perifer di bagian kaki, atau dikenal dengan *Peripheral Artery Disease* (PAD) (Bharata dkk., 2021).

Hiperkolesterolemia yang terjadi dalam waktu lama dapat memicu munculnya penyakit metabolik akibat stres oksidatif yang

ditandai dengan peradangan kronis pada organ tubuh. Hasil penelitian menunjukkan peradangan kronis yang tidak tertangani dengan tepat dan terjadi dalam waktu lama dapat memicu pertumbuhan sel kanker, terutama pada usus besar, rektum, prostat, dan testis (Ding *et al.*, 2019). Kadar kolesterol yang berlebihan merupakan faktor resiko terjadinya kanker payudara melalui peningkatan aktivitas hormon estrogen (Hassen *et al.*, 2023). Hiperkolesterolemia yang tidak terkontrol berdampak pada disfungsi endotel pada glomerulus ginjal, yang ditandai dengan respons inflamasi (Salim *et al.*, 2018). Kondisi ini juga memicu terjadinya kerusakan pada retina mata (El-Sayyad *et al.*, 2015).

2.1.5 Penanganan Hiperkolesterolemia dengan Orlistat

Orlistat atau dikenal dengan Xenical dan Alli merupakan obat yang telah disertifikasi oleh *Food and Drug Administration* (FDA) dan dapat mengontrol berat badan (Javed *et al.*, 2023). Orlistat termasuk bentuk turunan jenuh dari lipstatin, metabolit alami dari bakteri *Streptomyces toxytricini* (Bansal *et al.*, 2024). Orlistat bekerja dengan menghambat lipase lambung dan pankreas di dalam usus secara ireversibel. Kedua enzim lipase tersebut berperan penting dalam pencernaan lemak makanan (Peng *et al.*, 2018). Orlistat berikatan secara kovalen pada situs aktif serin lipase dan membuatnya tidak aktif. Inaktivasi ini berfungsi untuk mencegah

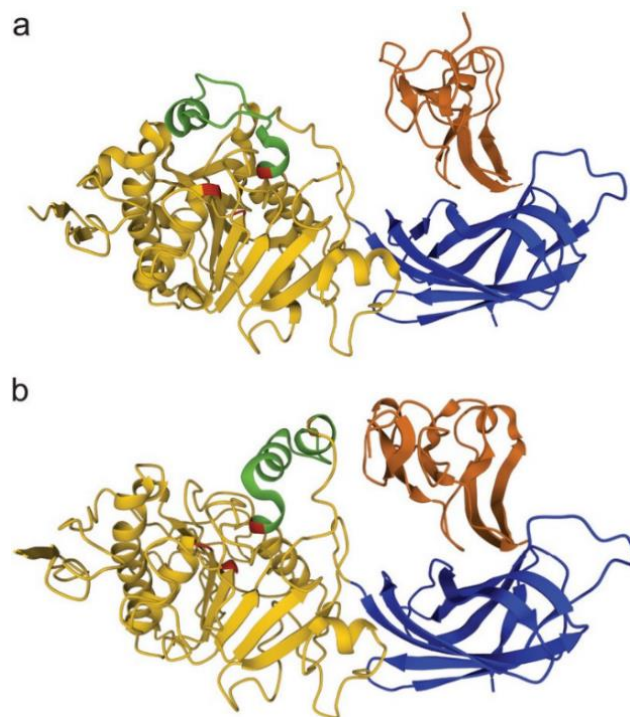
hidrolisis trigliserida sehingga menyebabkan penurunan penyerapan asam lemak bebas (Bansal *et al.*, 2024).

Orlistat secara farmakokinetik memiliki tingkat absorpsi sistemik yang terbatas karena bereaksi utama di lumen usus. Orlistat juga berikatan pada protein plasma, seperti albumin dan lipoprotein. Hal ini mempengaruhi efektivitas, distribusi, dan durasi efek orlistat. Orlistat mengalami metabolisme primer di dalam lumen usus dan dapat dikeluarkan melalui feses (Bansal *et al.*, 2024).

Orlistat diketahui dapat digunakan untuk pengobatan hiperkolesterolemia (Lucas *et al.*, 2003). Penelitian Alanazi *et al.* (2022) melaporkan bahwa penggunaan orlistat secara signifikan dapat memperbaiki profil lipid termasuk kolesterol total, LDL, HDL, dan TG. Orlistat meskipun terbukti efektif, memiliki efek samping gastrointestinal seperti gangguan pencernaan, perut kembung, sakit perut dan diare. Orlistat juga memiliki efek samping hepatoksisitas dan muskuloskeletal, yaitu seperti gagal hati, dan osteoporosis karena gangguan penyerapan kalsium dan vitamin D (Bansal *et al.*, 2024). Efek samping ini membatasi penggunaannya pada kelompok pasien khusus, seperti anak-anak, ibu hamil, lansia, dan pasien dengan penyakit dasar (Shamarao & Chethankumar, 2022). Hal ini mendorong pencarian alternatif terapi alami menggunakan senyawa dari bahan alami dengan mekanisme yang serupa dan toksisitas yang baik (Huo *et al.*, 2022).

2.2 *Pancreatic Lipase (PL)*

Pancreatic lipase atau lipase pankreas (PL) merupakan enzim lipolitik yang disintesis dan disekresikan oleh pankreas (Seyedan *et al.*, 2015). Enzim ini dibagi menjadi dua domain yang berbeda, yaitu domain N-terminal dan domain C-terminal. Domain N-terminal (berwarna kuning pada Gambar 2.4) terdiri dari 1-336 residu asam amino, dan berfungsi sebagai lokasi bagi situs aktif yang bertanggung jawab atas aktivitas katalitiknya. Domain ini mengandung tiga residu asam amino (Serin, Histidin, dan Aspartat) di dalam situs aktif PL manusia dan membentuk struktur triad katalitik. Domain C-terminal (berwarna biru pada Gambar 2.4) terdiri dari 336-449 residu asam amino dan berperan penting dalam aktivitas non-katalitik enzim, seperti pengikatan kofaktor, lipid, dan hepar (Lim *et al.*, 2022).



Gambar 2.3. Struktur tiga dimensi enzim *Pancreatic Lipase (PL)* (a) Kondisi enzim PL saat tidak aktif (b) Kondisi enzim PL saat aktif (Lim *et al.*, 2022)

Keadaan aktivitas PL, seperti dalam bentuk aktif atau tidak aktif, dapat ditentukan oleh posisi pergerakan struktur lid domain (penutup) N-terminal. Lid domain (berwarna hijau pada Gambar 2.3 bagian a) menutupi triad katalitik (berwarna merah) saat PL tidak aktif. Keadaan ini menyebabkan substrat sulit bermigrasi ke daerah situs aktif. *Pancreatic lipase* dalam keadaan aktif (Gambar 2.3 bagian b) menunjukkan keterbukaan lid domain yang mempermudah substrat masuk dan bereaksi secara langsung. Hal ini dikarenakan lid domain yang terbuka juga membuka akses terhadap triad katalitik. Struktur lid domain dapat distabilkan oleh kolipase (berwarna oranye pada Gambar 2.4) yang mengikat domain C-terminal dari PL (Lim *et al.*, 2022).

Pancreatic lipase berperan penting dalam pencernaan dan penyerapan lemak di duodenum. Enzim ini bertanggung jawab untuk memecah 50-70% lemak makanan (Glisan *et al.*, 2017), terutama *Triglycerides* (TG) pada posisi karbon pertama atau *stereospecific number 1* (sn-1) dan sn-3 (Carreiro, 2018). *Triglycerides* (TG) merupakan salah satu jenis lipid sederhana yang tersusun atas satu gugus gliserol dan tiga asam lemak (Aoki & Sato, 2018), berperan sebagai sumber energi di dalam tubuh manusia. (Wardawati dkk., 2022). Proses pemecahannya dilakukan dengan bantuan kolipase menjadi sn-2 monogliserol dan asam lemak bebas. Hasil produk tersebut bergabung dengan garam empedu (Sun *et al.*, 2024) dan kolesterol membentuk misel campuran (Salih, 2021). Misel campuran berperan penting dalam membawa molekul-molekul lipid menuju membran apikal enterosit jejunum. Misel mengalami

disosiasi di dekat membran, mengakibatkan terlepasnya asam lemak dan monogliserida dari struktur misel tersebut. Kedua molekul tersebut kemudian diserap ke dalam sel enterosit melalui proses difusi dan meninggalkan garam empedu di lumen usus (Engelking, 2015).

Asam lemak dan monogliserida yang berada di dalam enterosit akan disintesis kembali menjadi TG (D'Aquila *et al.*, 2016). *Triglycerides* (TG) selanjutnya bergabung dengan fosfolipid, kolesterol dan apolipoprotein membentuk kilomikron (Subramanayan & Hanim, 2025). Kilomikron merupakan lipoprotein terbesar yang kaya akan TG, tetapi mengandung kolesterol dalam jumlah rendah (Zhang *et al.*, 2021). Kilomikron memiliki ukuran yang besar dengan sifat hidrofobik, sehingga kilomikron tidak dapat diserap langsung ke dalam sirkulasi darah (McQuilken, 2021). Kilomikron disekresikan ke dalam sistem limfatik melalui getah bening sebagai jalur alternatif, kemudian mengalir melalui duktus toraks dan akhirnya mencapai sirkulasi darah sistemik (Zhang *et al.*, 2021).

Triglycerides (TG) dalam kilomikron setelah memasuki sirkulasi darah mengalami hidrolisis oleh enzim *Lipoprotein lipase* (LPL) di jaringan adiposa dan otot. Proses pemecahan tersebut menghasilkan sisa-sisa kilomikron atau *remnant chylomicron* (Gaudet, 2024) yang mengandung kolesterol dengan jumlah yang tinggi, kemudian diserap oleh hepatosit. Sisa kilomikron yang berada di hati digunakan sebagai bahan dasar pembentukan *Very Low-Density Lipoprotein* (VLDL), yang pada akhirnya berubah menjadi *Low-Density Lipoprotein* (LDL) (Zhang *et al.*, 2021). *Low-Density lipoprotein* merupakan

jenis lipoprotein yang kaya kolesterol (Feingold, 2024) dan memiliki peran utama dalam perkembangan hiperkolesterolemia dan aterosklerosis (Mormone *et al.*, 2024).

2.3 Beras Hitam (*Oryza sativa* L.)

Beras hitam varietas *Oryza sativa* L. (Gambar 2.4) merupakan salah satu beras yang berasal dari negara China dan termasuk dalam famili Poaceae (Ito & Lacerda, 2019). Varietas beras ini telah tersebar luas di negara Amerika Serikat, Eropa (Rahim *et al.*, 2022), India, Indonesia, Jepang, Sri Lanka dan Thailand (Das *et al.*, 2023). Beras hitam sering dikonsumsi oleh masyarakat dunia sebagai makanan pokok dalam kehidupan sehari-hari karena memiliki kandungan nutrisi yang tinggi (Mapoung *et al.*, 2023). Beras hitam juga mengandung senyawa bioaktif yang mendukung kesehatan manusia. (Das *et al.*, 2025).

Menurut *Global Biodiversity Information Facility* (GBIF) (2023), beras hitam berdasarkan sistem internasional diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom : Plantae

Filum : Tracheophyta

Kelas : Liliopsida

Ordo : Poales

Famili : Poaceae

Genus : *Oryza*

Spesies : *Oryza sativa* L.



Gambar 2.4. Beras hitam (Maurya *et al.*, 2022)

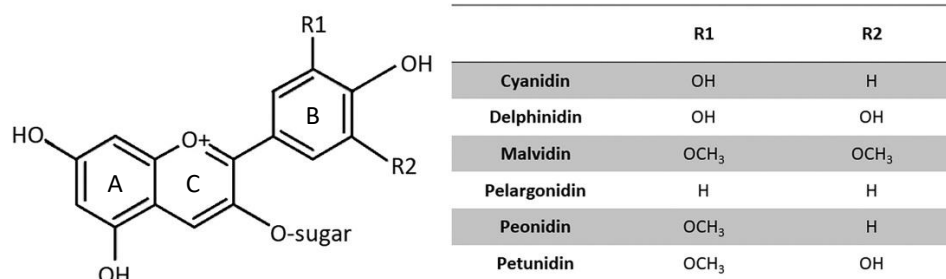
Tanaman beras hitam memiliki kemampuan adaptasi yang baik terhadap berbagai kondisi lingkungan. Tanaman ini dapat tumbuh optimal di tanah berpasir dengan kedalaman 50 cm, ketinggian antara 0-1.500 mdpl, suhu harian 25-29°C dengan curah hujan antara 1.500-2.000 mm/tahun (Alfian, 2021). Tanaman padi beras hitam mempunyai sistem perakaran serabut, batang beruas-ruas yang bisa mencapai dua meter serta daun berbentuk lanset. Tanaman ini memiliki bunga yang terdiri atas dua tangkai putik dan enam benang sari dengan kepala putik berwarna putih atau ungu (Yanda, 2020). Biji beras hitam memiliki 3 pigmen berwarna gelap, yaitu merah, ungu dan biru yang berasal dari senyawa antosianin. Pigmen-pigmen tersebut terakumulasi, baik di lapisan aleuron atau di dalam bijinya (Mapoung *et al.*, 2023).

Beras hitam dikenal mengandung makro dan mikronutrien serta senyawa bioaktif yang lebih tinggi dibandingkan beras putih. Varietas beras ini untuk setiap 100 g mengandung makronutrien, antara lain karbohidrat sebanyak 76,20 g, protein 9,61 g, dan lemak 2,15 g (Ito & Lacerda, 2019).

Jenis nutrien ini berperan penting sebagai sumber energi utama yang dibutuhkan dalam jumlah besar bagi tubuh (Ramadhani dkk., 2024). Mikronutrien dalam beras hitam terdiri atas 3 komponen utama, yaitu serat makanan yang mencapai 4,32 g per 100 g beras, berbagai vitamin, seperti vitamin A, B dan E (Rahim *et al.*, 2022), serta beberapa mineral essensial, yang meliputi seng (Zn), magnesium (Mg), kalsium (Ca), kalium (K), nitrogen (N), besi (Fe), tembaga (Cu) dan mangan (Mn) (Mapoung *et al.*, 2023). Mikronutrien dibutuhkan dalam jumlah sedikit oleh sel tubuh, tetapi mempunyai peran penting yang mendukung berbagai aktivitas biologis (Ramadhani dkk., 2024).

Beras hitam juga memiliki kandungan senyawa bioaktif yang sangat beragam. Senyawa tersebut meliputi flavonoid, antosianin, asam fenolik, tokoferol, tokotrienol dan gamma (γ) oryzanol (Das *et al.*, 2023). Senyawa flavonoid yang terdapat dalam beras hitam selain antosianin, dapat berupa trifolin, quercetin, isoquercitroside, dihidromiricetin, taxifolin, rutin dan naringin (Chen *et al.*, 2022). Asam fenolik dalam beras hitam terdiri dari asam vanilat, asam ferulat, asam p-kumarat, asam siringat dan asam sinamat (Nguyen & Beta, 2024). Tokoferol beras hitam didominasi oleh alfa (α) dan beta (β) tokoferol, sedangkan tokotrienol oleh α dan γ -tokotrienol (Shammugasamy *et al.*, 2015). Komponen γ -oryzanol dalam beras hitam antara lain sikloartenil ferulat, 24-metilen sikloartenil ferulat, kampesterol ferulat dan sitosteril ferulat (Vardhani *et al.*, 2020).

Antosianin merupakan salah satu komponen penting dalam beras hitam (Das *et al.*, 2023). Antosianin sebagai pigmen alami termasuk dalam kelompok besar flavonoid (Martin *et al.*, 2017) dan bersifat larut dalam air. Senyawa ini memiliki struktur dasar berupa kation α -fenilbenzopiran dengan kerangka karbon berupa C6-C3-C6 (Liu *et al.*, 2021). Secara kimia, antosianin dapat didefinisikan sebagai glikosida dari antosianidin yang terbentuk melalui proses glikosilasi pada jalur fenilpropanoid. Proses ini terjadi ketika gula berikatan dengan gugus hidroksil (-OH) pada posisi 3 dari molekul antosianidin (Habibi *et al.*, 2023). Gula yang paling umum adalah glukosa, galaktosa dan rhamnosa (Kowalczyk *et al.*, 2024). Struktur antosianin tersusun dari 3 cincin utama yaitu cincin A (benzena), cincin B (fenol) dan cincin C (benzopiran) yang bersama-sama membentuk kerangka kation *flavylium* seperti Gambar 2.5. Cincin B berikatan dengan beragam gugus kimia, termasuk gugus hidroksil (OH), hidrogen (H) dan metoksi (OCH₃). Keterikatan ini menghasilkan 6 jenis senyawa antosianidin, meliputi sianidin, peonidin, delphinidin, pelargonidin, petunidin dan malvidin (Habibi *et al.*, 2023).



Gambar 2.5 Struktur kimia antosianin yang terikat pada molekul gula beserta turunannya (Santamarina *et al.*, 2023)

Senyawa antosianin yang dominan dalam beras hitam adalah *cyanidin 3-O-glucoside*, disusul oleh senyawa *peonidin 3-O-glucoside* (Das *et al.*, 2023). Senyawa antosianin lainnya antara lain *malvidin 3-O-glucoside*, *delphinidin 3-O-glucoside* dan *petunidin 3-O-glucoside* (Uivarasan *et al.*, 2024). Kadar kandungan antosianin dapat dilihat pada Tabel 2.1. *Pelargonidin 3-O-glucoside* (Pg3G) juga ditemukan di dalam beras hitam namun memiliki kandungan yang jauh lebih sedikit dari kandungan antosianin lainnya (Bennett *et al.*, 2021).

Tabel 2.1 Kadar kandungan antosianin beras hitam (Zhang *et al.*, 2022)

Jenis Antosianin	Kadar Antosianin (mg/100g)
<i>Cyanidin 3-O-glucoside</i>	203,18 – 2568,63
<i>Peonidin 3-O-glucoside</i>	7,94 – 95,46
<i>Malvidin 3-O-glucoside</i>	1,50 – 16,02
<i>Delphinidin 3-O-glucoside</i>	0,27 – 4,18

Antosianin beras hitam memiliki potensi terhadap kesehatan manusia, termasuk sebagai anti-diabetik, anti-kanker, anti-obesitas (Li *et al.*, 2025), anti-inflamasi dan antioksidan (Mapoung *et al.*, 2023). Antioksidan bekerja dengan menyumbangkan elektron kepada radikal bebas, sehingga menetralkan molekul tersebut dan mencegah kerusakan sel. Mekanisme ini membantu mencegah penyakit degeneratif seperti penyakit jantung, kanker, dan katarak (Azizah, 2023). Antosianin dengan kemampuan anti-inflamasi berperan menghambat aktivitas NF- κ B dan produksi *Tumor Necrosis Factor-alpha* (TNF- α), *Interleukin-1* (IL-1), dan IL-6 oleh makrofag (Hartati *et al.*, 2017). *Nuclear Factor-kappa B* (NF- κ B) merupakan protein faktor transkripsi yang berperan penting dalam mengatur ekspresi gen yang terlibat dalam

respons imun dan inflamasi, termasuk produksi sitokin inflamasi (TNF- α , IL-1, dan IL-6), kemokin dan molekul adhesi (Liu *et al.*, 2017).

Antosianin beras hitam memiliki kemampuan dalam memperbaiki profil lipid melalui berbagai mekanisme (Ou *et al.*, 2023). Penelitian Song *et al.* (2021) melaporkan bahwa antosianin yang terkandung dalam beras hitam mampu menurunkan kadar *Triglycerides* (TG) dan total kolesterol pada model tikus dengan obesitas yang disebabkan oleh diet tinggi lemak. Penelitian *in vitro* oleh Yao *et al.* (2013) menunjukkan bahwa antosianin beras hitam dapat menurunkan absorpsi kolesterol dengan melibatkan mekanisme inhibisi enzim pencernaan lemak seperti PL yang pada akhirnya mengganggu pembentukan misel. Antosianin beras hitam juga dapat mencegah akumulasi LDL di endotel arteri yang memicu pembentukan aterosklerosis (Panda *et al.*, 2022). Kandungan antosianin dalam beras hitam jika dikonsumsi secara rutin dapat mencegah risiko terjadinya hiperkolesterolemia (Nastiti dkk., 2020).

2.3.1 *Cyanidin 3-O-glucoside* (C3G)

Cyanidin 3-O-glucoside (C3G) merupakan antosianin utama yang ditemukan pada beras hitam (Tan *et al.*, 2019). *Cyanidin 3-O-glucoside* berasal dari struktur dasar *cyanidin* yang mengalami glikosilasi dan tergolong ke dalam kelas antosianin monomerik. *Cyanidin 3-O-glucoside* memiliki karakteristik sebagai senyawa yang mudah larut dalam air atau hidrofilik dengan kelarutan 0,6 mg/mL, Log P sebesar 0,39 dan memiliki berat molekul 449,4 g/mol. Berdasarkan hasil analisis spektrum UV, *Cyanidin 3-O-glucoside*

memiliki struktur molekul yang dipengaruhi oleh nilai pH. Bentuk dominan dari C3G pada pH 3 adalah kation flavylium dengan tingkat absorbansi tinggi. Pigmen ini pada pH yang berkisar antara 4-5 memiliki struktur molekul yang berbentuk quinoidal dengan intensitas yang menurun. Senyawa bioaktif ini pada pH 6-8 mengalami transformasi menjadi bentuk quinoidal dan chalcone, yang masing-masing memiliki karakteristik warna dan stabilitas berbeda (Prayoga *et al.*, 2025).

Cyanidin 3-O-glucoside memiliki aktivitas antioksidan, kardioprotektif, anti-inflamasi, neuroprotektif, antikanker, sitoprotektif dan anti-diabetik yang kuat terhadap penyakit yang berhubungan dengan stres oksidatif (Forsan & Awad, 2023). Aktivitas antioksidan yang kuat ini disebabkan oleh dua gugus hidroksil pada cincin B (Tan *et al.*, 2019). *Cyanidin 3-O-glucoside* memiliki aktivitas antioksidan dengan cara menekan dan mengurangi produksi ROS, sehingga mencegah terjadinya gangguan metabolik dalam sel. *Cyanidin 3-O-glucoside* juga berperan dalam menurunkan kadar kolesterol dengan menghambat jalur *Sterol Regulatory Element-Binding Protein 2* (SREBP2) dan HMG-CoAr, meningkatkan produksi ATP, serta menurunkan kadar asetil-KoA (Liu *et al.*, 2024). *Cyanidin 3-O-glucoside* selain bersifat antioksidan, juga memiliki efek anti-inflamasi yang kuat. Senyawa

ini mampu menghambat produksi sitokin proinflamasi utama, seperti IL-6, IL-10, dan TNF- α (Prayoga *et al.*, 2025).

2.3.2 *Peonidin 3-O-glucoside* (P3G)

Peonidin 3-O-glucoside (P3G) adalah salah satu senyawa yang termasuk ke dalam kelompok antosianin dan ditemukan dalam beras hitam (Lang *et al.*, 2025). *Peonidin 3-O-glucoside* memberikan warna merah dan ungu dan warna tersebut dipengaruhi oleh nilai pH lingkungan (Han & Xu, 2015). *Peonidin 3-O-glucoside* berasal dari proses metilasi C3G yang dikatalisis oleh antosianin O-metiltransferase (Du *et al.*, 2015). Proses penambahan gugus metil terjadi pada posisi 3' (Dong *et al.*, 2022). Berdasarkan karakteristik fisikokimia, P3G memiliki berat molekul sebesar 498,9 g/mol (PubChem, 2025).

Peonidin 3-O-glucoside diketahui memiliki efek biologis, seperti sifat antioksidan dan anti-inflamasi. Senyawa ini bekerja sebagai antioksidan dengan cara menghasilkan produk yang bersifat tidak reaktif. Aktivitas antioksidan berkontribusi dalam memperpanjang umur sel dan meningkatkan ketahanan organisme terhadap stres lingkungan, seperti radiasi ultraviolet (UV) dan panas (Nas *et al.*, 2021). Senyawa anti-inflamasi memiliki aktivitas sebagai inhibitor jalur NF- κ B dan menekan ekspresi gen, seperti *Nod-Like Receptor Protein 3* (NLRP3) (Semmarath *et al.*, 2022). *Nod-Like Receptor Protein 3* merupakan protein gabungan dengan struktur

yang kompleks, berperan dalam aktivasi *inflammatory cytokines interleukin* (IL)-1 β , dan IL-18, yang berfungsi sebagai pengatur respons imun bawaan (Chen *et al.*, 2021).

2.3.3 ***Delphinidin 3-O-glucoside* (D3G)**

Delphinidin 3-O-glucoside (D3G) merupakan salah satu pigmen antosianin yang ditemukan pada beras hitam (Kim *et al.*, 2014). *Delphinidin 3-O-glucoside* berasal dari ikatan antara *delphinidin* dengan glukosida pada posisi C-3 (Iqbal *et al.*, 2024). Gugus gula pada senyawa *delphinidin* memiliki keterkaitan dengan tingkat bioavailabilitas yang tinggi (Husain *et al.*, 2022). Senyawa dengan struktur molekul ini bersifat hidrofilik (Shafawi, 2022) dan memiliki berat molekul sebesar 465.4 g/mol (PubChem, 2025).

Delphinidin 3-O-glucoside berperan dalam mekanisme biologis tubuh melalui aktivitas antioksidan dan anti-inflamasi. Antioksidan D3G bekerja dengan cara menetralkan radikal bebas (ROS) dan mencegah kerusakan oksidatif pada sel (Nas & Medina, 2024). Senyawa bioaktif ini memiliki gugus hidroksil tambahan pada cincin B yang memberi pengaruh terhadap peningkatan kapasitas antioksidan, dan bersifat kurang stabil (Mazewki *et al.*, 2019). Kemampuan dari D3G ini membantu melawan efek negatif dari stres oksidatif dan berkontribusi dalam pemeliharaan, mempertahankan integritas serta fungsi sel (Nas & Medina, 2024). *Delphinidin 3-O-glucoside* dengan kemampuan anti-inflamasi

diketahui dari kemampuannya sebagai inhibitor reseptor dan persinyalan TNF- α (Sari *et al.*, 2019). *Delphinidin 3-O-glucoside* juga memiliki kemampuan menghambat akumulasi lipid dan tidak bersifat sitotoksik pada dosis yang tepat (Park *et al.*, 2019). Penghambatan akumulasi lipid diketahui berdasarkan penurunan produksi kadar kolesterol total dan trigliserida dalam hepar dan aorta (Sun *et al.*, 2022).

2.3.4 **Malvidin 3-O-glucoside (M3G)**

Malvidin 3-O-glucoside (M3G) termasuk dalam golongan senyawa antosianin glikosida yang berasal dari aglikon malvidin (Sood *et al.*, 2024). Senyawa ini juga banyak ditemukan pada beras hitam (Kaur *et al.*, 2025). *Malvidin 3-O-glucoside* bertanggung jawab memberikan warna merah pada makanan (Sun *et al.*, 2020). Berdasarkan karakteristik fisikokimia, M3G memiliki berat molekul sebesar 493.4 g/mol (PubChem, 2025).

Malvidin 3-O-glucoside memiliki sifat antioksidan, anti-inflamasi, anti-kanker dan anti-diabetes (Sood *et al.*, 2024). M3G memiliki aktivitas antioksidatif, yaitu dengan cara menetralkan radikal bebas melalui donor elektron atau atom hidrogen. Senyawa bioaktif ini diketahui dapat menginduksi ekspresi *Glutathione Peroxidase* (GPx), *Catalase* (CAT), dan *Superoxide Dismutase* (SOD). *Malvidin 3-O-glucoside* dapat menghambat enzim penghasil ROS, seperti *Xanthine Oxidase* (XO), serta meningkatkan sistem

pertahanan antioksidan. Kemampuan anti-inflamasinya dari senyawa ini ditunjukkan melalui perannya sebagai inhibitor pada jalur NF- κ B, sehingga aktivasi transkripsi gen yang terkait dengan respons inflamasi dapat dicegah. Hambatan aktivasi pada jalur tersebut dapat menurunkan produksi ROS berlebihan yang bersumber dari sel inflamasi (Merecz-Sadowska *et al.*, 2023).

2.3.5 *Petunidin 3-O-glucoside (Pt3G)*

Petunidin 3-O-glucoside (Pt3G) tergolong sebagai salah satu bentuk antosianin yang dapat ditemukan pada beras hitam (Xie *et al.*, 2024). *Petunidin 3-O-glucoside* berkontribusi memberikan warna biru dan ungu (Qian *et al.*, 2025). *Petunidin 3-O-glucoside* berasal dari aglikon petunidin yang terikat dengan glukosa (Kuasnei *et al.*, 2025). Berdasarkan karakteristik fisikokimia, Pt3G memiliki berat molekul sebesar 514,9 g/mol (PubChem, 2025).

Petunidin 3-O-glucoside memiliki berbagai aktivitas biologis, yang meliputi antioksidan, agen anti-inflamasi dan anti-kanker. *Petunidin 3-O-glucoside* sebagai antioksidan memiliki aktivitas dalam menangkal radikal bebas dan mengikat logam transisi (Al-Najjar *et al.*, 2025). Logam transisi seperti tembaga (Cu) berkontribusi dalam pembentukan *reactive oxygen species* (ROS), yang terlibat dalam reaksi redoks. *Reactive oxygen species* dengan kadar tinggi dan diproduksi dalam waktu yang lama dapat menyebabkan stres oksidatif yang memicu terjadinya nekrosis sel

(Vo *et al.*, 2024). *Petunidin 3-O-glucoside* sebagai anti-inflamasi diketahui memiliki aktivitas dalam menekan ekspresi sitokin proinflamasi, seperti TNF- α (Sari *et al.*, 2019)

2.3.6 ***Pelargonidin 3-O-glucoside (Pg3G)***

Pelargonidin 3-O-glucoside (Pg3G) merupakan turunan dari pigmen antosianin. *Pelargonidin 3-O-glucoside* berasal dari aglikon pelargonidin yang memiliki satu gugus gula β -D-glukosa yang terikat pada gugus hidroksil pada posisi cincin karbon ke-3'. Senyawa ini juga memiliki satu gugus hidroksil yang menempel pada posisi cincin B nomor 4' (Karim *et al.*, 2022). *Pelargonidin 3-O-glucoside* bertanggung jawab terhadap munculnya warna rona merah (Luo *et al.*, 2025). Berdasarkan karakteristik fisikokimia, Pt3G memiliki berat molekul sebesar 433,4 g/mol (PubChem, 2025).

Pelargonidin 3-O-glucoside adalah senyawa bioaktif yang memiliki efek antioksidan, anti-inflamasi, anti-obesitas, anti-diabetik, anti-kanker, anti-hiperglikemik dan neuroprotektif. Efek terapeutik Pg3G dapat dipengaruhi oleh berbagai macam faktor, antara lain pH fisiologis, suhu, oksigen, garam, dan enzim (Karim *et al.*, 2022). Efek antioksidan Pg3G bekerja dengan cara menghambat pembentukan ROS yang diinduksi oleh paparan hidrogen peroksida (H_2O_2), sehingga dapat melindungi sel dari stres oksidatif (Xu *et al.*, 2018). Efek anti-inflamasi Pg3G bekerja dengan cara menghambat

jalur persinyalan NF- κ B dan menekan kadar oksida nitrat (NO_x), TNF- α dan IL-6 (Duarte *et al.*, 2018).

2.4 Pendekatan *In Silico*

In Silico merupakan metode pendekatan berbasis model komputasi yang mempelajari struktur, sifat serta aktivitas molekul dengan menggunakan simulasi komputer dan algoritma matematika. Pendekatan ini memiliki kemampuan untuk memprediksi sifat obat sesuai dengan struktur molekulnya. Metode ini dapat membantu penelitian *in vivo* menjadi lebih efisien, sehingga menghemat waktu dan biaya sekaligus mempercepat produksi obat. Metode *in silico* juga membantu dalam mengidentifikasi dan memprediksi dampak obat pada sistem biologis, sehingga efek sampingnya dapat dihindari dan pengobatan dapat dikembangkan menjadi lebih baik (Al-Mohaya *et al.*, 2024).

Virtual screening (VS) merupakan tahap awal dalam pengembangan obat secara *in silico* yang melibatkan identifikasi terhadap kumpulan senyawa asli dengan karakteristik molekul aktif (Gimeno *et al.*, 2019). Metode ini diawali dengan evaluasi kemiripan obat atau *drug likeness* untuk menilai sifat fisikokimia suatu senyawa yang memiliki kandidat sebagai obat. Penilaian ini dilakukan dengan membandingkan senyawa kandidat obat terhadap aturan *Lipinski's rule of five* (RO5) (Ani *et al.*, 2018). *Lipinski's rule of five* terdiri atas jumlah gugus hidrofilik, berat molekul, dan hidrofobisitas (Ahire *et al.*, 2021). Beberapa sifat fisikokimia tersebut ditetapkan berdasarkan indikator nilai RO5 untuk memberi gambaran bahwa kandidat obat dapat diabsorpsi dengan baik oleh sel target di dalam tubuh (Ivanović *et al.*, 2020).

Nilai-nilai RO5 yang baik memiliki berat molekul (MW) ≤ 500 Dalton, nilai $\log P \leq 5$, jumlah donor ikatan hidrogen (HBD) ≤ 5 dan jumlah akseptor ikatan hidrogen (HBA) ≤ 10 (Ameji *et al.*, 2023). Senyawa kandidat obat yang tidak memenuhi kriteria tersebut berisiko menimbulkan masalah farmakokinetik. Kandidat obat dengan MW > 500 Dalton cenderung sulit diabsorpsi oleh tubuh. Nilai $\log P > 5$ mengindikasikan toksisitas yang tinggi dan penurunan afinitas senyawa terhadap protein target. Jumlah HBA dan HBD yang berlebihan dapat mengurangi kemampuan senyawa untuk berinteraksi dengan sel target (Bela *et al.*, 2024). Senyawa yang melanggar > 2 aturan ini menunjukkan kelarutan dan permeabilitas yang buruk (Benet *et al.*, 2016).

Pendekatan komputasi dalam mengembangkan desain obat melalui VS juga memprediksi aktivitas biologis suatu senyawa kandidat obat, yang meliputi parameter *Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion*, dan *Toxicity* (ADMET) (Ani *et al.*, 2018). Prediksi aktivitas ini dilakukan untuk mengetahui kesesuaian karakteristik farmakokinetik pada senyawa yang diuji, serta mengidentifikasi potensi efek yang ditimbulkan di dalam tubuh manusia (Faqi, 2017). Parameter *absorption* memberikan gambaran tentang kemampuan molekul kandidat obat dapat menembus barrier enterosit masuk ke dalam sistem sirkulasi darah. Parameter ini dinilai melalui beberapa indikator, yaitu *Human Intestinal Absorption* (HIA), *caco-2 permeability*, interaksi *P-Glycoprotein*, (P-gp) dan *Renal Organic Cation Transporter* (OCT) sebagai substrat atau inhibitor (Olujinmi *et al.*, 2025). Senyawa dengan

profil absorpsi yang optimal memiliki nilai HIA > 90% dan *caco-2 permeability* > 0,90, yang mengindikasikan kemampuan absorpsi yang baik di usus (Er-Rajy *et al.*, 2022). Senyawa juga ditandai dengan bertindak sebagai non-substrat P-gp karena cenderung memiliki bioavailabilitas yang tinggi (Zeki *et al.*, 2024) dan sebagai non-inhibitor OCT agar proses absorpsi usus dapat berlangsung secara optimal (Samodelov *et al.*, 2020).

Parameter *distribution* memberikan gambaran tentang kemampuan molekul kandidat obat dalam menembus barrier pada sel target untuk berinteraksi dengan molekul spesifik yang menjadi target dari kandidat obat tersebut. Parameter ini ditentukan berdasarkan lokalisasi subseluler (Olujinmi *et al.*, 2025) dan *Blood-Brain Barrier Permeability* (BBB). Nilai BBB *permeability* > 3, mengindikasikan penetrasi yang baik, sedangkan nilai < 1 menunjukkan ketidakmampuan senyawa mencapai target di sistem saraf pusat (Er-Rajy *et al.*, 2022). Parameter *metabolism* memberikan gambaran tentang interaksi molekul kandidat obat dengan enzim metabolisme, terutama sitokrom P450 yang dinilai sebagai substrat atau inhibitor (Ekowati *et al.*, 2018).

Parameter *excretion* memberikan gambaran tentang kemampuan molekul kandidat obat untuk dieliminasi dari tubuh dan durasi efek farmakologisnya dalam tubuh. Parameter ini dievaluasi berdasarkan nilai laju pembersihan (*clearance rate*) dengan indeks rendah (<0,5) mengindikasikan retensi obat dalam tubuh (Aloui *et al.*, 2024). Parameter *toxicity* memberikan gambaran tentang keamanan dan efek molekul kandidat obat dalam tubuh.

Parameter ini mencakup prediksi toksisitas AMES, potensi karsinogenik, serta toksisitas oral akut (Swapna *et al.*, 2024). Suatu senyawa dianggap memiliki sifat ADMET yang baik apabila menunjukkan penyerapan, distribusi, metabolisme dan ekskresi yang baik, serta tidak bersifat toksik (Misran *et al.*, 2025).

Molecular docking termasuk salah satu metode yang sering digunakan dalam analisis *in silico* (Setiyabudi *et al.*, 2022). Metode ini merupakan metode komputasi yang digunakan untuk memprediksi karakteristik ikatan dan afinitas antara dua makromolekul, seperti ligan dengan protein target. Input yang digunakan dalam *molecular docking* adalah struktur tiga dimensi ligan dan protein target. Ligan merupakan molekul kecil yang mengikat protein target dan berpotensi menjadi obat, sedangkan protein target merupakan molekul protein yang berinteraksi dengan ligan (Permatasari *et al.*, 2024). Ligan yang digunakan dapat berasal dari bahan sintesis (organik dan anorganik) atau alami (tumbuhan dan hewan) (Verma *et al.*, 2022). *Molecular docking* selain memiliki input juga mempunyai komponen lain saat menjalankan simulasi *docking*, yaitu *grid box* (Purwanto dkk., 2021). *Grid box* berfungsi untuk menentukan atau membatasi wilayah pencarian sebagai tempat interaksi ligan dengan protein target (Hafshah *et al.*, 2024).

Proses *molecular docking* menghasilkan beberapa output penting, seperti *Root Mean Square Deviation* (RMSD) (Hindami dkk., 2024), nilai afinitas pengikatan (*binding affinity*), serta interaksi antara ligan dengan residu protein target (Rachmania dkk., 2022). *Root Mean Square Deviation*

digunakan untuk menilai tingkat kemiripan posisi ligan hasil *docking* dengan posisi aslinya (Sari dkk., 2020). *Binding affinity* menggambarkan kekuatan interaksi antara ligan (senyawa kandidat obat) dengan protein target (Nur dkk., 2022). Interaksi ligan dengan residu protein umumnya melibatkan empat jenis gaya, yaitu elektrostatik, hidrofobik, ikatan hidrogen dan gaya van der Waals (Zhang *et al.*, 2022). Proses *docking* setelah dilakukan dapat mengidentifikasi *binding pocket* (Agu *et al.*, 2023). *Binding pocket* merupakan cekungan pada permukaan protein yang menjadi tempat pengikatan ligan (Carpenter & Altman, 2024) dan dikelilingi oleh residu asam amino (Senior *et al.*, 2020).

2.5 Hipotesis

Senyawa antosianin yang meliputi C3G, P3G, D3G, M3G, Pt3G, dan Pg3G pada beras hitam memiliki potensi dalam menghambat enzim *pancreatic lipase* (PL) sebagai agen anti-hiperkolesterolemia yang ditunjukkan melalui nilai *binding affinity* yang tinggi dan jenis interaksi molekuler yang stabil berdasarkan analisis *molecular docking* secara *in silico*.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian Skripsi akan dilakukan di Laboratorium Biologi Struktur dan Fungsi Hewan, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro, Semarang. Penelitian ini akan dilaksanakan dari bulan Agustus hingga November 2025.

3.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam kegiatan penelitian ini dibagi menjadi dua jenis, yaitu perangkat lunak dan perangkat keras. Perangkat lunak yang digunakan berupa sistem operasi windows 10 dan sistem operasi 64-bit. Perangkat lunak lainnya untuk metode *in silico* mencakup UCSF Chimera 1.18, AutoDock Tools 1.5.7, PyRx, PyMOL dan BIOVIA Discovery Studio 2024. Perangkat tersebut didukung dengan perangkat lunak seperti Python 3.9.2, Python 2.5.0, MGLTools 1.5.6, dan Java *version* 8 agar perangkat keras dapat beradaptasi untuk membuka dan *running* perangkat lunak *docking in silico*. Perangkat lunak untuk analisis data berupa SPSS *Statistics* versi 31. Perangkat keras yang digunakan berupa laptop personal ThinkPad dengan spesifikasi *processor* Intel (R) Core (TM) i5-6300U CPU @ 2.40GHz, *memory* 16 GB RAM, Harddisk 477GB, dan VGA Intel HD *Graphics* 520.

Bahan utama yang digunakan dalam kegiatan penelitian ini yaitu struktur tiga dimensi (3D) enam senyawa antosianin dari beras hitam

(*cyanidin 3-O-glucoside*, *peonidin 3-O-glucoside*, *delphinidin 3-O-glucoside*, *malvidin 3-O-glucoside*, *petunidin 3-O-glucoside*, dan *pelargonidin 3-O-glucoside*) dan senyawa pembanding orlistat yang diunduh dari database PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) dan struktur makromolekul 3D enzim *pancreatic lipase* (PL) yang diperoleh dari database RCSB *Protein Data Bank* (RCSB PDB) (<http://www.rcsb.org/pdb/>).

3.3 Prosedur Penelitian

Prosedur yang dilakukan dalam penelitian ini diawali dengan preparasi struktur ligan dan protein. *Virtual screening* dilakukan selama preparasi ligan dengan cara ligan diuji berdasarkan kemiripan obat (*drug likeness*), toksisitas (*toxicity screening*) dan *absorption; distribution; metabolism; & excretion; toxicity* (ADMET) (*bioactivity screening*). Ligan dan protein target kemudian dilakukan *redocking* dan simulasi *molecular docking* melalui beberapa tahapan. *Molecular docking* yang sudah disimulasi divisualisasikan dan dianalisis data hasil datanya.

3.3.1 Preparasi Struktur Ligan

Struktur kimia enam senyawa antosianin dari beras hitam, yaitu *cyanidin 3-O-glucoside* (CID: 197081), *peonidin 3-O-glucoside* (CID: 14311152), *delphinidin 3-O-glucoside* (CID: 443650), *malvidin 3-O-glucoside* (CID: 443652), *petunidin 3-O-glucoside* (CID: 443651), dan *pelargonidin 3-O-glucoside* (CID: 3080714) diperoleh melalui database PubChem

(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>). Pencarian dilakukan dengan menggunakan nama sistematis masing-masing senyawa, kemudian dipilih hasil yang paling sesuai (*best match*) atau berdasarkan referensi jurnal terpublikasi. Tampilan senyawa yang digunakan menunjukkan banyak informasi, salah satunya rumus *Simplified Molecular Input Line Entry System* (SMILES). Rumus SMILES menggambarkan struktur molekul yang paling lengkap, sehingga dapat digunakan untuk menguji kemiripan obat, toksisitas dan ADMET.

Pengujian skrining kemiripan obat dilakukan menggunakan platform SwissADME (<http://www.swissadme.ch/index.php>) dengan memasukkan rumus SMILES setiap senyawa. Parameter yang dianalisis meliputi aturan lima lipinski yang mencakup lima subparameter dan skor bioavailabilitas seperti pada Tabel 3.1.

Tabel 3.1. Aturan lima lipinski dan skor bioavailabilitas (Benet *et al.*, 2016; Martin *et al.*, 2005; Lipinski *et al.*, 2004)

Parameter Farmakokinetik	Druglikeness
Berat molekul (gr/mol)	< 500
Konsesus Koefisiensi partisi lipofil (CLogP)	< 5
Jumlah donor ikatan hidrogen (HBD)	< 5
Jumlah akseptor ikatan hidrogen (HBA)	< 10
Pelanggaran atau pelanggaran	< 2
Skor bioavailabilitas (%)	> 10

Pengujian skrining selanjutnya yaitu toksisitas dilakukan menggunakan layanan prediksi *acute rat toxicity* pada platform Way2Drug (<https://www.way2drug.com/passonline/>). Data input berupa rumus SMILES yang sebelumnya telah diperoleh. Hasil

prediksi digunakan untuk mengetahui klasifikasi tingkat toksisitas dari masing-masing ligan sebagai kandidat obat. Kriteria klasifikasi tingkat toksisitas dibedakan menjadi 5 kategori seperti pada Tabel 3.2.

Tabel 3.2. Kriteria klasifikasi toksisitas (Nations, 2011)

Kategori GHS	Toksitas Akut Oral (mg/kg)	Keterangan Bahaya
Kategori I	< 5	Toksitas tertinggi
Kategori II	5 – 50	Toksitas
Kategori III	51 – 300	Toksitas sedang
Kategori IV	301 – 2000	Toksitas ringan
Kategori V	2001 – 5000	Toksitas akut rendah

Pengujian skrining bioaktivitas menggunakan platform admetSAR 1.0 (<https://lmmd.ecust.edu.cn/admetSAR1>) dengan memasukkan 5 rumus SMILES dari senyawa antosianin. Analisis dilakukan terhadap tiga parameter utama, yaitu *Absorption*, *Metabolism* dan *Toxicity* (AMT). Masing-masing parameter memiliki sejumlah subparameter yang digunakan untuk mengevaluasi karakteristik farmakokinetik senyawa sebagai kandidat obat. Parameter *absorption* mengevaluasi *Human Intestinal Absorption* (HIA) dan *caco-2 permeability* (Swapna *et al.*, 2024) (Er-Rajy *et al.*, 2022). Parameter *metabolisme* mengevaluasi senyawa sebagai inhibitor atau non-inhibitor untuk enzim berjenis sitokrom CYP540 (CYP3A4 dan CYP2D6). Terakhir parameter *toxicity* mengevaluasi toksisitas AMES dan potensi karsinogenik (Swapna *et al.*, 2024).

Struktur kimia senyawa beras hitam berikutnya diunduh dari database PubChem dalam format *3D Structure-Data File* (SDF), kemudian diimport ke dalam perangkat lunak PyRx melalui fitur Open Babel. Setiap senyawa diminimalkan energinya untuk mendapatkan kondisi ikatan yang stabil dan mengoptimalkan simulasi *molecular docking* (Nuur'Alimah *et al.*, 2024). File struktur molekul selanjutnya dikonversi ke format *pdqt* sebagai persiapan untuk simulasi *docking*.

3.3.2 Preparasi Struktur Protein

Persiapan protein target PL pada organisme dilakukan dengan cara diunduh dari database RCSB PDB (<https://www.rcsb.org/>) dengan format PDB. Pencarian dilakukan dengan menggunakan kode ID protein, yaitu ID PDB: 1ETH, yang diperoleh dari referensi jurnal terpublikasi. Struktur protein setelah diunduh dibersihkan menggunakan UCSF Chimera 1.18 (<https://www.cgl.ucsf.edu/chimera/download.html>) dengan menghilangkan residu non-standard. Penghilangan ini bertujuan untuk menyederhanakan struktur protein dari komponen yang tidak berperan langsung dalam proses pengikatan, sehingga tidak mengganggu simulasi *docking* (Sundalian *et al.*, 2020).

Struktur protein yang telah dibersihkan kemudian diproses lebih lanjut menggunakan AutoDock Tools 1.5.7 (<https://autodock.scripps.edu/download-autodock4/>). Tahap ini

melibatkan beberapa tahapan, salah satunya molekul air dihapus karena keberadaannya dapat mempengaruhi interaksi ligan dengan protein (Hasan & Herowati, 2024). Protein selanjutnya ditambahkan atom hidrogen dan muatan parsial (*gasteiger charge*) untuk mengoptimalkan struktur protein (Gouthami *et al.*, 2022) sehingga interaksi elektrostatis dapat dimodelkan secara lebih akurat saat simulasi *docking*. Penambahan muatan juga berperan penting dalam menghasilkan nilai afinitas pengikatan (*binding affinity*) yang representatif (Asmara *et al.*, 2024). Struktur protein selanjutnya menetapkan jenis tipe atom dalam molekul sesuai standar AutoDock 4 dengan menggunakan fitur *Assign AD4 style*. Penetapan ini penting untuk menghitung energi interaksi antara ligan dan protein target selama simulasi *docking* (Maulidia, 2021). Hasil dari proses preparasi ini disimpan dalam format *protein data bank*, *partial charge*, & *atom type* (pdbqt) tanpa mengubah tempat penyimpanan file tersebut.

3.3.3 **Redocking**

Redocking dilakukan menggunakan *native ligand* dari struktur kristalografi protein target PL yang diunduh dari database RCSB PDB pada bagian *small molecules*. Proses ini dilakukan dengan menambatkan kembali *native ligand* ke situs pengikatan aslinya, sehingga ukuran *grid box* dapat ditentukan. *Native ligand* atau ligan asli merupakan molekul alami yang sudah diketahui menempel pada

situs aktif protein target (Anugrah *et al.*, 2022). Ligan asli yang dipilih berdasarkan kesesuaiannya dengan situs aktif protein target, pada area C, yang terdiri dari Serin153, Histidin264 dan Aspartat177. Ligan asli yang digunakan pada penelitian ini memiliki kode ID: C8E. Struktur C8E memiliki dua *chain* atau rantai, yaitu L dan M. Perbedaan rantai dalam file PDB digunakan untuk membedakan masing-masing rantai pada struktur protein. Rantai yang digunakan pada penelitian ini adalah L. Ligan asli setelah diunduh, diubah formatnya menjadi bentuk PDB menggunakan PyMOL. Ligan asli dan protein yang sudah dipreparasi dimasukkan ke dalam AutoDockTools untuk mendapatkan ukuran *grid box*. Ukuran *grid box* yang didapatkan sebesar 40 x 40 x 40 dengan *spacing (angstrom)* 0.375 Å, dan koordinat pusat *grid box* yaitu x = 71.979, y = 29.113, z = 144.768.

3.3.4 Simulasi *Molecular Docking*

Simulasi *molecular docking* dilakukan menggunakan perangkat lunak PyRx dengan memanfaatkan fitur *Vina Wizard*. File protein target dan ligan yang telah dipreparasi dimasukkan sebagai makromolekul dan ligan. Penelitian ini menggunakan pendekatan *targeted docking* untuk memprediksi interaksi antara ligan dan protein target. Area situs aktif protein tetap ditentukan sebagai lokasi kemungkinan interaksi dengan ligan. Protein PL pada penelitian ini diketahui memiliki tiga situs aktif utama yang berlokasi di area C,

sesuai pada Tabel 3.3. Koordinat *grid box* yang didapatkan disesuaikan pada PyRx. Simulasi *docking* selanjutnya dijalankan antara protein target dengan ligan uji, ligan asli, maupun senyawa pembanding (obat kontrol).

Tabel 3.3. Protein target dan senyawa pembanding (Wang *et al.*, 2025)

Protein	PDB ID	Kontrol	Situs Aktif
PL	1ETH	Orlistat	Ser153, Asp177, His264

Simulasi *molecular docking* menghasilkan beberapa parameter, antara lain afinitas pengikatan (*binding affinity*), mode ikatan, *Root Mean Square Deviation* (RMSD) *lower* dan *upper*. Nilai *binding affinity* menggambarkan kekuatan ikatan antara ligan dan reseptor. Jika nilainya semakin negatif, maka interaksi yang terjadi akan semakin kuat dan stabil. Jika nilainya semakin positif, maka interaksi yang terjadi akan semakin lemah dan tidak stabil (Nur dkk., 2022). Nilai RSMD dinyatakan valid apabila kurang dari 2Å (Prasetyanti *et al.*, 2021). Hasil *ouput* dari simulasi *docking* disimpan dalam format SDF pada file khusus untuk penelitian ini.

3.3.5 Visualisasi Hasil *Molecular Docking*

Visualisasi hasil *molecular docking* dapat dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak PyMOL (<https://pymol.org/edu/?q=educational/>) dan BIOVIA Discovery Studio 2024. Tahap ini dilakukan dengan cara file preparasi protein target, dan preparasi ligan dari hasil *docking* PyRx dimasukkan ke

dalam PyMOL, sehingga mendapatkan gambaran struktur tiga dimensi kompleks protein-ligan. Hasil visualisasi dari PyMOL diexport dan disimpan dalam format PDB untuk divisualisasikan lebih lanjut dengan BIOVIA Discovery Studio 2024.

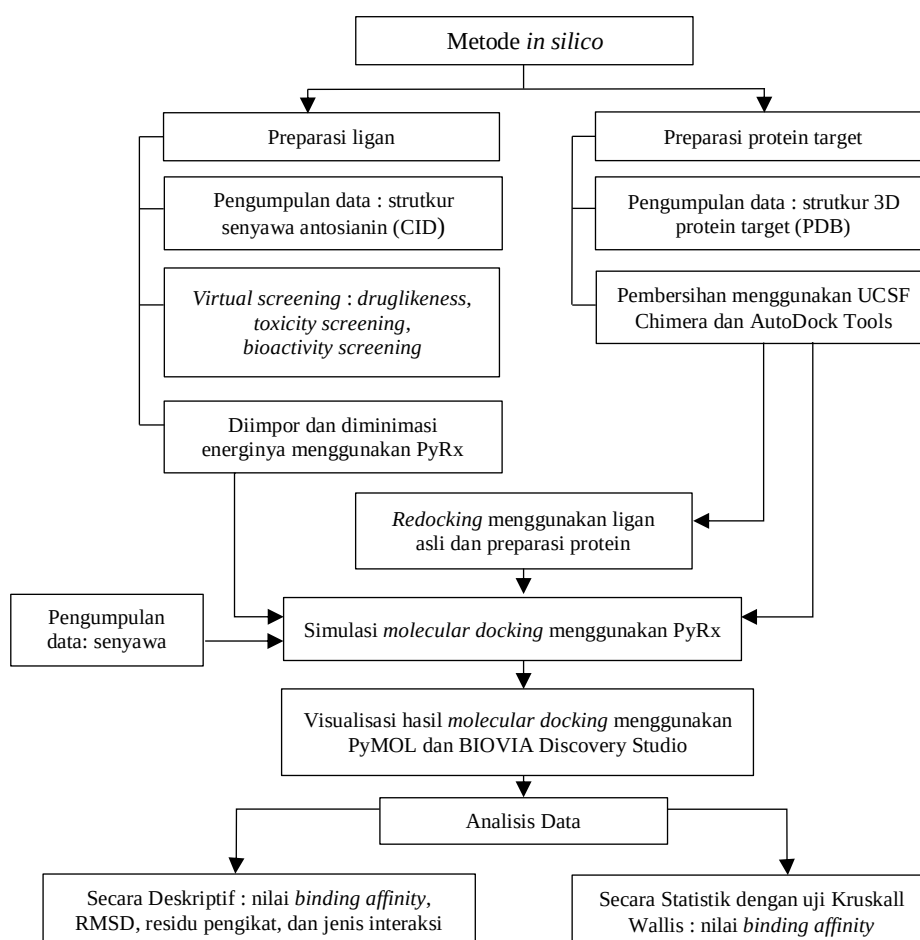
File dari hasil visualisasi dari PyMOL selanjutnya dimasukkan ke dalam BIOVIA Discovery Studio 2024. Hasil tersebut divisualisasikan kembali dengan menggunakan fitur “*show 2D diagram*”. Tahap ini dilakukan untuk menganalisis situs aktif dari kompleks ligan-protein (Baroroh *et al.*, 2023), mengidentifikasi residu pengikat, dan menampilkan visualisasi interaksi molekul dalam bentuk 2D atau 3D, termasuk ikatan hidrogen dan interaksi hidrofobik (Bhalekar & Raskar, 2025). Hasil visualisasi dari BIOVIA disimpan dalam format *portable network graphics* (png).

3.3.6 Analisis Data

Data yang diperoleh pada penelitian ini akan dianalisis secara deskriptif dan statistik. Data yang dianalisis secara deskriptif berupa hasil *lipinski rules of five* dan analisis ADMET, nilai *binding affinity*, RMSD, residu pengikat antara ligan dan protein target, serta jenis interaksi yang terbentuk. Data *binding affinity* akan dianalisis secara statistik dengan perangkat lunak *Statistical Package for Social Sciences* (SPSS) menggunakan uji non-parametrik Kruskal Wallis (taraf signifikasi 0,05). Analisis data ini bertujuan untuk memastikan kembali hasil output perhitungan dari *molecular docking* secara

akurat. Uji Kruskal-Wallis dilakukan karena data diketahui tidak terdistribusi normal dan bersifat homogen. Hasil data yang dianalisis dibandingkan dengan ligan asli dan ligan pembanding sebagai pembanding sehingga menghasilkan hasil analisis yang lebih kuat. Data yang diperoleh dari penelitian ini disajikan dalam bentuk tabel untuk memberikan gambaran yang jelas dan mempermudah interpretasi hasil analisis.

3.3.7 Diagram Alur Prosedur Penelitian



Gambar 3.1. Diagram Alur Prosedur Penelitian

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Analisis *Lipinski's Rule of Five*, Toxicity PASS, dan ADMET pada Senyawa Uji

Senyawa uji yang digunakan pada penelitian ini berupa enam senyawa bioaktif dari beras hitam yaitu *cyanidin 3-O-glucoside*, *peonidin 3-O-glucoside*, *delphinidin 3-O-glucoside*, *malvidin 3-O-glucoside*, *petunidin 3-O-glucoside*, dan *pelargonidin 3-O-glucoside*. Senyawa uji dianalisis terlebih dahulu untuk mengetahui senyawa tersebut dapat digunakan atau tidak sebelum *didocking*. Analisis senyawa uji dapat dilakukan menggunakan aturan *lipinski's rule of five* dan skor bioavailabilitas pada platform SwissADME. Aturan lipinski mencakup berat molekul, konsesus LogP, jumlah ikatan hidrogen donor dan aseptor.

Tabel 4.1 Hasil prediksi senyawa uji dengan aturan lipinski dan skor bioavailabilitas

Ligand	Molecular Weight (gr/mol) (< 500)	ClogP (< 5)	H-Bond Donor (< 5)	H-Bond Acceptor (< 10)	Bioavailability Score (%) (> 10)	Violation (< 2)
<i>Cyanidin 3-O-glucoside</i>	484,84	-2,17	8	11	17	2
<i>Peonidin 3-O-glucoside</i>	498,86	-1,66	7	11	17	2
<i>Delphinidin 3-O-glucoside</i>	465,38	-1,55	9	12	17	2
<i>Malvidin 3-O-glucoside</i>	493,44	-0,90	7	12	17	2
<i>Petunidin 3-O-glucoside</i>	479,41	-0,95	8	12	17	2
<i>Pelargonidin 3-O-glucoside</i>	468,84	-2,12	7	10	55	1

Keterangan :

: Kriteria yang tidak memenuhi aturan lipinski dan skor bioavailabilitas

Hasil prediksi pada tabel 4.1 menunjukkan bahwa senyawa uji memiliki berat molekul dibawah 500 Da, yaitu berkisar antara 465,38 hingga 498,86 Da, dengan *delphinidin 3-O-glucoside* yang terendah dan *peonidin 3-O-glucoside* yang tertinggi. Data tersebut mengindikasikan bahwa senyawa uji memenuhi kriteria dan dapat diabsorpsi dengan baik oleh tubuh. Menurut pernyataan Bela *et al.* (2024), suatu senyawa dengan berat molekul lebih dari 500 Da cenderung sulit diabsorpsi oleh tubuh karena tidak dapat berdifusi melewati membran sel.

Hasil prediksi Clog P pada tabel 4.1 menunjukkan bahwa semua senyawa uji memiliki nilai dibawah lima, yang berkisar antara -0,90 hingga -2,19, dengan *cyanidin 3-O-glucoside* yang paling negatif dan *malvidin 3-O-glucoside* yang mendekati positif. Berdasarkan aturan lipinski, nilai tersebut dianggap memenuhi kriteria *drug-likeness*, namun nilai Clog P juga dapat dianggap bahwa senyawa uji bersifat hidrofilik. Truzzi *et al.* (2021) menyatakan bahwa suatu senyawa dengan nilai LogP yang lebih kecil dari 1 bersifat hidrofilik. Nilai Clog P juga menentukan bioavailabilitas oral suatu senyawa melalui kemampuannya dalam melewati membran atau tidak. Nilai LogP yang terlalu negatif atau kurang dari -4 membuat senyawa tidak dapat melewati lapisan ganda fosfolipid (Afladhanti *et al.*, 2022).

Hasil prediksi skor bioavailabilitas pada tabel 4.1 menunjukkan bahwa hampir semua senyawa uji memiliki nilai sebesar 17%, pengecualian untuk *pelargonidin 3-O-glucoside* dengan nilai sebesar 55%. Kedua nilai tersebut menandakan bahwa semua senyawa memenuhi nilai batas minimal, yaitu

sebesar 10% (Daina *et al.*, 2017), namun senyawa *pelargonidin 3-O-glucoside* menunjukkan potensi absorpsi yang lebih baik, sehingga berpotensi mampu mencapai sel target secara efektif. Tingginya skor bioavailabilitas *pelargonidin-3-O-glucoside* kemungkinan disebabkan oleh parameter fisikokimia yang mendukung, seperti berat molekul <500 g/mol, nilai cLogP dan jumlah akseptor ikatan hidrogen yang seimbang (Tabel 4.1). Hal ini juga dapat disebabkan karena karakteristik struktur senyawa *pelargonidin 3-O-glucoside* yang memiliki satu gugus hidroksil di cincin B (Karim *et al.*, 2022), sehingga secara teoritis memiliki permeabilitas membran yang lebih baik.

Nilai skor bioavailabilitas sebesar 55% menandakan potensi aktivitas biologis yang baik, ditandai dengan kemampuan ligan untuk berdifusi secara efektif ke dalam sel target, bersifat stabil, serta memiliki waktu paruh yang lebih efektif. Kondisi ini akan memberi pengaruh terhadap aktivitas biologis yang lebih lama. Bioavailabilitas yang baik dapat menjadi faktor penentu dalam pengembangan kandidat obat, termasuk potensi efek samping yang ditimbulkan (Akash *et al.*, 2023). Senyawa *pelargonidin 3-O-glucoside* meskipun diprediksi memiliki nilai skor bioavailabilitas sebesar 55%, namun realisasi secara biologisnya secara *in vivo* dan *in vitro* dilaporkan lebih rendah (Xu *et al.*, 2021). Perbedaan ini dapat disebabkan karena proses metabolisme, degradasi senyawa di dalam tubuh, serta faktor lingkungan kompleks yang mempengaruhi tidak diperhitungkan secara detail dalam prediksi *in silico*.

Hasil prediksi mempunyai parameter yang tidak memenuhi senyawa, seperti jumlah ikatan hidrogen donor dan akseptor. Hasil analisis jumlah

ikatan hidrogen donor seperti tabel 4.1 menunjukkan bahwa semua senyawa uji memiliki jumlah ikatan hidrogen donor yang melebihi nilai lima, yang berkisar antara 7 hingga 9. Data tersebut mengindikasikan bahwa senyawa uji sulit melewati membran yang bersifat hidrofobik untuk menempel pada protein target di dalam tubuh. Menurut pernyataan Jadar dan Haritha (2025), ikatan hidrogen donor berperan penting dalam meningkatkan aktivitas biologis obat melalui proses pengikatan obat dengan reseptor. Apabila jumlah ikatan hidrogen donor terlalu tinggi, maka kemampuan senyawa untuk melewati membran sel menjadi terbatas.

Jumlah ikatan hidrogen akseptor juga mempengaruhi sifat fisikokimia senyawa, seperti kelarutan dan kemampuannya menembus membran sel di dalam tubuh. Hasil prediksi jumlah ikatan hidrogen akseptor seperti tabel 4.1 menunjukkan bahwa hampir senyawa uji memiliki jumlah ikatan hidrogen akseptor yang melebihi nilai 10, yaitu sebesar 11 dan 12. Data tersebut mengindikasikan bahwa senyawa *cyanidin 3-O-glucoside*, *peonidin 3-O-glucoside*, *delphinidin 3-O-glucoside*, *malvidin 3-O-glucoside*, dan *petunidin 3-O-glucoside* terlalu polar sehingga sulit untuk menembus membran sel. Pengecualian untuk *pelargonidin 3-O-glucoside* yang bernilai 10, dimana senyawa berada pada nilai batas yang berarti tidak terlalu polar, sehingga senyawa masih mampu untuk menembus membran sel. Pernyataan ini didukung dengan pendapat Jadar & Haritha (2025) yang menyatakan bahwa jumlah ikatan hidrogen akseptor dalam suatu senyawa mempengaruhi kelarutan dan permeabilitas. Apabila jumlah ikatan hidrogen akseptor terlalu

tinggi, maka kelarutan senyawa semakin meningkat, juga kemampuannya untuk melewati membran sel mengalami penurunan.

Berdasarkan hasil analisis seluruh parameter aturan lipinski seperti tabel 4.1, lima senyawa yang mencakup *cyanidin 3-O-glucoside*, *peonidin 3-O-glucoside*, *delphinidin 3-O-glucoside*, *malvidin 3-O-glucoside* dan *petunidin 3-O-glucoside* diketahui melanggar dua aturan lipinski, yang mengindikasikan absorpsi oral yang kurang optimal. Senyawa lain seperti *pelargonidin 3-O-glucoside* melanggar satu parameter, yang menunjukkan kriteria *drug-likeness* yang lebih baik. Pelanggaran yang terjadi berkaitan dengan jumlah ikatan hidrogen donor dan akseptor, yang membuat senyawa sulit untuk melewati membran sel usus, namun semua uji masih memenuhi batasan aturan lipinski dan layak untuk dianalisis selanjutnya sebagai obat oral. Pernyataan ini didukung dengan pendapat Benet *et al.* (2016) yang menyatakan bahwa suatu senyawa yang melanggar lebih dari dua aturan lipinski menunjukkan kelarutan dan permeabilitas yang buruk, sehingga tidak layak dijadikan senyawa uji.

Tabel 4.2 Hasil prediksi toksisitas senyawa uji

Ligand	Rat Oral LD50 (mg/kg)	Rat Oral LD50 Klasifikasi	Toksistas (Ya / Tidak)
<i>Cyanidin 3-O-glucoside</i>	2074	5	Tidak
<i>Peonidin 3-O-glucoside</i>	3147	5	Tidak
<i>Delphinidin 3-O-glucoside</i>	2009	5	Tidak
<i>Malvidin 3-O-glucoside</i>	3074	5	Tidak
<i>Petunidin 3-O-glucoside</i>	3070	5	Tidak
<i>Pelargonidin 3-O-glucoside</i>	2066	5	Tidak

Keterangan :

Rat Oral LD50 (*Median Lethal Dose* 50): dosis oral suatu zat yang dapat menyebabkan kematian pada 50% populasi tikus uji coba (mg/kg berat badan)

Senyawa uji yang lolos dari analisis lipinski dilanjutkan dengan analisis *toxicity* PASS pada platform Way2Drug untuk mengetahui sifat toksistas

pada suatu senyawa. Hasil analisis seperti tabel 4.2 menunjukkan bahwa masing-masing enam senyawa uji memiliki nilai oral berkisar antara 2009 hingga 3147, yang termasuk dalam klasifikasi 5, yang berarti *non-toxic*. Sifat *non-toxic* dapat didefinisikan suatu senyawa memiliki toksisitas akut rendah, sehingga senyawa memiliki efek biologis yang aman di dalam tubuh dan layak untuk dianalisis selanjutnya. Gadaleta *et al.* (2019) menyatakan bahwa suatu senyawa dengan kategori V yang bernilai lebih dari 2000 mg/kg dianggap tidak toksik atau aman.

Tabel 4.3 Hasil prediksi senyawa uji dengan ADMETsar

Senyawa (Ligan)	Absorpsi		Metabolisme		Toksistas	
	Permeabilitas Caco-2	Penyerapan Usus Manusia	CYP		Toksistas AMES	Karsinogen
			3A4	2D6		
			Inhibitor			
			Kategori (Ya/Tidak)			
Kategori (Ya/Tidak)		Kategori (Ya/Tidak)		Kategori (Ya/Tidak)		
Cyanidin 3-O-glucoside	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak
Peonidin 3-O-glucoside	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak
Delphinidin 3-O-glucoside	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak
Malvidin 3-O-glucoside	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak
Petunidin 3-O-glucoside	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak
Pelargonidin 3-O-glucoside	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak

Keterangan :

CYP : Cytochrome P450

Senyawa uji berikutnya dianalisis berdasarkan sifat farmakokinetiknya melalui platform ADMET mencakup *absorption*, *metabolism*, dan *toxicity*. Analisis parameter pertama berupa *absorption* yang memiliki subparameter Caco-2 *permeability*. Caco-2 *permeability* merupakan model *in vitro* yang menggunakan sel Caco-2, yaitu kultur sel epitel usus besar manusia untuk meniru permeabilitas usus manusia. Model ini banyak digunakan dalam proses *drug development* untuk mengevaluasi kemampuan

absorpsi oral pada suatu senyawa (Celik *et al.*, 2019). Caco-2 bekerja melalui berbagai mekanisme, termasuk difusi pasif (Pham-The *et al.*, 2015). Hasil uji permeabilitas Caco-2 seperti tabel 4.3. menunjukkan bahwa semua senyawa diprediksi negatif atau Caco-2–, yang berarti semua senyawa uji memiliki kemampuan absorpsi yang sangat rendah dalam menembus sel Caco-2 secara difusi pasif. Pernyataan ini didukung dengan pendapat Celik *et al.* (2019) yang menyatakan bahwa sel senyawa dengan hasil negatif pada uji permeabilitas Caco-2 mengindikasikan bahwa senyawa tersebut tidak permeabel atau sulit melewati dinding sel usus. Hasil analisis senyawa dapat mendukung sifat farmakokinetik senyawa uji yang memiliki skor bioavailabilitas yang rendah.

Analisis subparameter *absorption* juga mencakup *Human Intestinal Absorption* (HIA). *Human Intestinal Absorption* merupakan salah satu parameter yang berkaitan dengan proses penyerapan suatu obat atau senyawa yang diberikan secara oral dari sistem gastrointestinal ke dalam sirkulasi darah di dalam tubuh manusia (Cordeiro *et al.*, 2022). Hasil analisis HIA pada tabel 4.3 menunjukkan bahwa semua senyawa uji diprediksi negatif atau HIA–, yang berarti senyawa uji tersebut memiliki kemampuan dalam menyerap dan menembus dinding sel usus untuk masuk ke dalam pembuluh darah yang rendah. Hasil ini didukung dengan pernyataan Kumar *et al.* (2022) yang menyatakan senyawa yang diprediksi dengan tanda negatif (HIA–) merepresentasikan penyerapan usus yang buruk. Hasil prediksi parameter ini justru menguntungkan untuk target *pancreatic lipase* yang bekerja lokal di

lumen usus (Venkatesh & Kasi, 2025), karena aktivitas penghambat senyawa uji tetap bekerja di lumen usus dan tidak perlu menembus dinding sel untuk masuk ke darah.

Analisis parameter kedua berupa *metabolism* yang memiliki subparameter isoenzim CYP3A4 dan CYP2D6. Kedua enzim tersebut termasuk ke dalam jenis keluarga enzim sitokrom P450 protein. Sitokrom P450 merupakan enzim yang ditemukan di dalam organ hati dan berperan dalam mengubah senyawa toksik menjadi senyawa dengan bentuk yang lebih aman dan mudah dikeluarkan dari tubuh. CYP3A4 dan CYP2D6 termasuk dalam dua jenis utama sitokrom yang bertanggung jawab dalam memecah atau metabolisme obat (Ekowati *et al.*, 2018). Hasil analisis terhadap isoenzim CYP3A4 dan CYP2D6 seperti tabel 4.3 menunjukkan bahwa semua uji diprediksi sebagai non-inhibitor, yang berarti semua senyawa uji dapat dimetabolisme dengan baik oleh isoenzim CYP3A4 dan CYP2D6 di dalam tubuh dan bukan menghambat isoenzim tersebut. Pernyataan ini didukung dengan pendapat Khatab dan Hassan (2022) yang menyatakan bahwa suatu senyawa yang menghambat enzim CYP3A4 dan CYP2D6 berpotensi menimbulkan akumulasi obat atau senyawa metabolit di dalam tubuh, sehingga menyebabkan efek toksik atau samping yang tidak diinginkan.

Analisis parameter ke-tiga berupa *toxicity* yang memiliki subparameter *ames toxicity* dan *carcinogens*. Uji *ames toxicity* atau *mutagenecity* merupakan uji yang digunakan untuk mengetahui potensi mutagenetik pada suatu senyawa yang dapat memicu kanker dan menggunakan bakteri (Bela *et*

al., 2024). Hasil uji *ames toxicity* pada tabel 4.3 menunjukkan bahwa semua senyawa diprediksi negatif atau non-AMES *toxic*, yang berarti tidak berpotensi memicu mutasi. Al Noman *et al.* (2024) menyatakan bahwa senyawa memiliki sifat non-AMES *toxic* mengindikasikan senyawa tersebut tidak bersifat mutagenik atau tidak akan memicu mutasi genetik apapun. Karsinogenetik merupakan sifat perubahan sel normal menjadi sel kanker secara tidak normal akibat kelainan genetik pada suatu senyawa (Bela *et al.*, 2024). Hasil uji *carcinogens* pada tabel 4.3. menunjukkan bahwa semua senyawa diprediksi negatif atau non-carcinogens, yang berarti tidak berpotensi memicu kanker. Al-Halbosy *et al.* (2023) menyatakan bahwa senyawa yang dikategorikan sebagai non-karsinogen dapat didefinisikan dengan senyawa yang memiliki risiko karsinogenesis yang lebih rendah.

Berdasarkan hasil analisis seluruh parameter ADMET yang dipilih seperti tabel 4.3, semua senyawa uji diprediksi menunjukkan profil yang aman dari segi metabolisme dan toksisitas, sedangkan dari segi absorpsi rendah. Profil farmakokinetik tersebut menunjukkan kriteria yang sesuai dengan target protein *pancreatic lipase* yang bekerja secara lokal di lumen usus. Hal ini tidak menghambat dalam melakukan evaluasi parameter ADMET. Analisis tersebut tetap penting dilakukan karena untuk menilai keamanan apabila terjadi absorpsi dalam jumlah kecil, memprediksi metabolisme yang dapat mempengaruhi kemungkinan akumulasi senyawa dalam tubuh, serta mengevaluasi potensi toksisitas pada seluruh tubuh. Profil ADMET yang

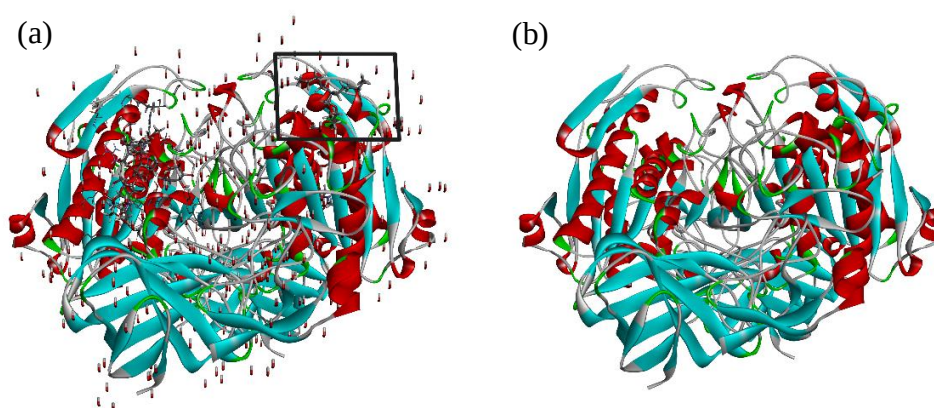
lengkap memberikan gambaran menyeluruh tentang keamanan dan kelayakan senyawa sebagai kandidat agen terapeutik (Er-Rajy *et al.*, 2022).

4.2 Preparasi Struktur Protein Target

Protein target yang digunakan pada penelitian ini berupa *pancreatic lipase* (PL) dengan kode PDB ID: 1ETH. Protein target ini dipilih karena memiliki peran dalam memecah lemak makanan, yang secara tidak langsung berkorelasi dengan patofisiologis hiperkolesterolemia. Struktur PL pada penelitian ini berasal dari organisme babi (*Sus scrofa*) yang diperoleh dari *x-ray diffraction* dengan resolusi sebesar 2.80 Å. *Pancreatic lipase* babi atau dikenal *Porcine Pancreatic Lipase* (PPL) digunakan sebagai protein target pada penelitian ini karena memiliki aktivitas optimal pada pH 8.0 (Gonçalves *et al.*, 2021), yang sesuai dengan kondisi fisiologis usus manusia (Engelking, 2015). Protein ini juga dipilih karena tingkat homologi urutan asam amino dengan *pancreatic lipase* manusia tinggi, sekitar 85% (Rocha *et al.*, 2025). Oleh karena itu, situs aktif yang dimiliki antara babi dan manusia sangat mirip, meskipun tidak selalu sama. Situs aktif *pancreatic lipase* manusia yang termasuk triad katalitik meliputi Ser152, Asp176, dan His263 (Upadhyaya *et al.*, 2025).

Struktur PL diketahui terikat dengan ligan asli berupa *(hydroxyethyloxy) tri(ethyloxy)octane* dengan kode ID: C8E. Menurut pendapat Durgbank (2005), *(hydroxyethyloxy) tri(ethyloxy)octane* termasuk dalam golongan senyawa organik yang dikenal sebagai polietilen glikol.

Polietilen glikol memiliki fungsi dalam meningkatkan aktivitas PL (Zhang *et al.*, 2019).



Gambar 4.1 Struktur preparasi protein target (*Pancreatic Lipase*) (a) Struktur PL sebelum dipreparasi (b) Struktur PL setelah dipreparasi
 □ : Ligan alami yang terikat dengan protein target

Struktur PL setelah diunduh dari RCSB PDB, dipreparasi melalui beberapa tahapan menggunakan UCSF Chimera 1.18 dan AutoDock Tools 1.5.7. Struktur PL sebelum dipreparasi seperti gambar 4.1.(a) masih terlihat adanya residu non-standard dan molekul air. Kedua molekul tersebut dihilangkan dari struktur protein target karena dapat mengganggu proses simulasi *docking*. Pernyataan ini didukung dengan pendapat Sundalian *et al.* (2020) yang menyatakan bahwa penghilangan residu non-standard bertujuan untuk menyederhanakan struktur protein dari komponen yang tidak berperan langsung dalam proses pengikatan selama simulasi *docking*. Hasan dan Herowati (2024) juga menambahkan bahwa molekul air dihapus karena keberadaannya dapat mempengaruhi interaksi ligan dengan protein.

Proses penghilangan molekul setelah dilakukan, dilanjutkan dengan penambahan hidrogen dan muatan parsial (*gasteiger charge*). Hal ini

bertujuan untuk mendapatkan struktur protein yang optimal serta hasil interaksi yang akurat antara ligan dan reseptor. Pernyataan ini didukung dengan pendapat Gouthami *et al.* (2022) dan Asmara *et al.* (2024) yang menyatakan bahwa protein selanjutnya ditambahkan atom hidrogen dan muatan parsial (*gasteiger charge*) untuk mengoptimalkan struktur protein sehingga interaksi yang dihasilkan lebih akurat. Interaksi tersebut dapat dinilai dari skor afinitas pengikatannya. Struktur protein yang telah dipreparasi menjadi bersih seperti Gambar 4.1. (b) dan siap digunakan untuk simulasi *molecular docking* dengan berfokus pada pengikatan senyawa uji terhadap situs aktif dari PL.

4.3 Analisis Hasil *Molecular Docking*

Molecular docking dilakukan sebagai metode *in silico* untuk mengevaluasi potensi kelompok senyawa antosianin dari beras hitam sebagai agen anti-hiperkolesterolemia terhadap enzim PL. Proses *docking* dimulai dengan *redocking* ligan asli (*hydroxyethyloxy tri(ethyloxy)octane*) ke dalam struktur kristal enzim PL. Hasil *redocking* menunjukkan nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD) kurang dari 2 Å, yaitu 0, yang berarti metode *docking* yang digunakan menghasilkan parameter yang valid, sehingga hasil *binding affinity* dari senyawa uji dapat direpresentasikan dengan baik. Kesuksesan *redocking* diukur dari nilai RMSD berkisar antara 0.0-2.0 Å (Llop-Peiró *et al.*, 2024).

Proses *docking* selanjutnya dilakukan antara ligan pembanding (orlistat) dengan enzim PL. Hasil *docking* menunjukkan bahwa orlistat

memiliki *binding affinity* sebesar -7.0 kcal/mol, sedangkan ligan asli (*hydroxyethyloxy*) *tri(ethyloxy)octane* mempunyai *binding affinity* sebesar -4.8 kcal/mol. Data tersebut menandakan bahwa orlistat jauh lebih rendah (negatif) dibandingkan ligan asli dengan selisih nilai sebesar 2,2 kcal/mol, yang berarti orlistat secara terbukti memiliki mekanisme penghambatan enzim PL yang efektif. Orlistat juga terbukti dapat digunakan sebagai obat untuk mengatasi penyakit hiperkolesterolemia sesuai literatur.

Proses *docking* dilanjutkan kembali menggunakan enam senyawa antosianin beras hitam dan enzim PL pada situs aktif yang sama, melalui ukuran *grid box* yang didapatkan saat *redocking*. Simulasi *docking* dijalankan sebanyak lima kali untuk mendapatkan kestabilan nilai *binding affinity*, yang ditunjukkan dengan seluruh nilai RMSD kurang dari 2. Hasil *docking* menunjukkan bahwa *cyanidin 3-O-glucoside* memiliki nilai rata-rata *binding affinity* sebesar -8.3 kcal/mol, *peonidin 3-O-glucoside* sebesar -8.1 kcal/mol, *delphinidin 3-O-glucoside* sebesar -8.2 kcal/mol, *malvidin 3-O-glucoside* sebesar -7.5 kcal/mol, *petunidin 3-O-glucoside* sebesar -9.2 kcal/mol dan *pelargonidin 3-O-glucoside* sebesar -8.1 kcal/mol. Data tersebut menandakan bahwa senyawa antosianin memiliki *binding affinity* yang lebih kuat dibandingkan orlistat dan ligan asli, dengan perbedaan masing-masing 0.5 kcal/mol hingga 2.2 kcal/mol dan 3,3 kcal/mol hingga 4,4 kcal/mol. Hal ini berarti senyawa antosianin beras hitam memiliki potensi inhibisi enzim PL yang jauh lebih besar dibandingkan orlistat dan ligan asli.

Data *binding affinity* dari lima kali simulasi *docking* enam senyawa antosianin terhadap enzim PL dianalisis secara statistik menggunakan uji non-parametrik Kruskal Wallis. Hasil uji (Lampiran 11) menunjukkan nilai yang tidak berbeda signifikan ($p > 0,05$), yaitu 0,347, yang berarti tidak ada perbedaan yang signifikan secara statistik pada nilai *binding affinity* di antara ke-enam senyawa antosianin terhadap enzim PL. Hal ini mengindikasikan bahwa potensi pengikat seluruh senyawa antosianin relatif serupa dalam menghambat enzim PL. Hasil statistik pada nilai *binding affinity* meskipun tidak menunjukkan perbedaan signifikan, masih dapat digunakan sebagai parameter awal untuk menilai kekuatan interaksi antara ligan dan protein target (Spassov, 2024). Maka dari itu, senyawa antosianin terbaik selanjutnya dipilih berdasarkan nilai *binding affinity* untuk dianalisis lebih lanjut pada interaksi molekulernya.

Berdasarkan hasil seleksi, *petunidin 3-O-glucoside* menjadi kandidat obat karena menunjukkan nilai *binding affinity* terbaik, yaitu sebesar -9,2 kcal/mol. Nilai tersebut mengindikasikan bahwa senyawa *petunidin 3-O-glucoside* memiliki kemampuan inhibisi yang optimal terhadap mekanisme enzim PL dalam penyakit hiperkolesterolemia. Senyawa *petunidin 3-O-glucoside* meskipun memiliki nilai *binding affinity* yang paling kuat, menunjukkan nilai bioavailabilitas yang cukup rendah (17%). Kondisi ini dapat terjadi karena karakteristik senyawa *petunidin* yang bersifat terlalu polar berdasarkan jumlah ikatan hidrogen donor dan akseptornya, seperti yang ditunjukkan pada tabel 4.1. Akibatnya, ligan tersebut kurang efektif melintasi

membran sel target, sehingga memberikan pengaruh kecil terhadap proses biologis. Bioavailabilitas yang rendah dapat diatasi dengan memformulasikan senyawa kandidat obat tersebut dengan partikel berukuran nano, seperti nanosuspensi, liposom, dan mikroemulsi, agar transport lintas membran dari produk tersebut menjadi lebih efektif dan memberi pengaruh secara optimal terhadap proses biologis di dalam sel target (Sahu & Khan, 2021).

Pelargonidin 3-O-glucoside juga dianalisis lebih lanjut karena memiliki nilai bioavailabilitas yang relatif lebih tinggi dibandingkan senyawa antosianin lainnya, dengan nilai *binding affinity* sebesar -8,1 kcal/mol. Nilai tersebut lebih tinggi dibandingkan nilai senyawa *petunidin 3-O-glucoside* (-9,2 kcal/mol), yang berarti memiliki potensi interaksi yang lebih lemah dengan protein target atau memiliki derajat disosiasi yang lebih tinggi. Perbedaan nilai *binding affinity* ini berkaitan dengan karakteristik struktur kimia *petunidin 3-O-glucoside*. *Petunidin 3-O-glucoside* merupakan antosianin glikosida yang memiliki gugus hidroksil (-OH) fenolik yang banyak (Liu *et al.*, 2024), gugus hidroksil pada cincin glukosa, serta struktur aromatik planar (Amogne *et al.*, 2020; Maahury *et al.*, 2019). Karakteristik tersebut mendukung terbentuknya interaksi yang stabil antara ligan dan protein target, sehingga afinitas ligan terhadap protein target cenderung meningkat. Posisi ligan pada sisi aktif atau alosterik enzim juga dapat dipertahankan. Pembahasan lebih lanjut mengenai jenis interaksi ini akan dijelaskan pada analisis visualisasi hasil *docking*.

Binding affinity senyawa *pelargonidin 3-O-glucoside* berpotensi dapat ditingkatkan melalui formulasi kombinasi dengan antosianin lainnya. Ou *et al.* (2020) menyatakan bahwa kombinasi antar senyawa flavonoid berpotensi dalam meningkatkan *binding affinity* terhadap protein target yang digunakan. Antosianin yang berikatan dengan protein secara umum melibatkan ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik, interaksi elektrostatis, serta gaya van der Waals yang berperan dalam stabilitas kompleks protein–antosianin (Li *et al.*, 2020). Berdasarkan mekanisme tersebut, kombinasi senyawa *petunidin 3-O-glucoside* dengan senyawa antosianin lainnya berpotensi membentuk lebih banyak ikatan, sehingga meningkatkan *binding affinity* terhadap *pancreatic lipase* dan memberikan efek inhibisi yang lebih kuat.

4.4 Visualisasi Hasil *Molecular Docking*

Hasil identifikasi seperti tabel 4.4 menunjukkan bahwa ligan asli berinteraksi dengan tiga residu asam amino (Ser195, Val322, Ser323) melalui ikatan hidrogen, dan satu residu asam amino (Pro194) melalui ikatan hidrofobik. Jika dibandingkan dengan pola interaksi ligan asli, ligan pembanding (orlistat) menunjukkan kesamaan pada satu residu asam amino yaitu Ser195, sedangkan ligan yang diuji (senyawa antosianin) menunjukkan kesamaan pada satu hingga dua residu asam amino yaitu Ser195 dan Val322. Maka residu asam amino yang dipakai pada penelitian ini Ser195 dan Val322. Kesamaan jumlah residu asam amino dari hasil *docking* menunjukkan bahwa senyawa antosianin dan orlistat mampu berinteraksi pada area pengikatan

enzim yang serupa dengan ligan asli, sehingga diduga memiliki potensi penghambatannya yang serupa.

Tabel 4.4 Hasil interaksi residu asam amino antara ligan asli orlistat dan senyawa antosianin

Senyawa	Binding Affinity (kcal/mol)	Residu Asam Amino Ikatan Hidrogen	Residu Asam Amino Ikatan Hidrofobik
Ligan Asli (<i>Native Ligand</i>)	-4,8	Ser195, Val322, Ser323	Pro194
Ligan Pembanding (<i>Orlistat</i>)	-7,0	Arg164, Gly168, Ser195, Lys198, His224, Asn320, Gly321	Pro285, Val325, Phe326
Cyanidin 3-O-glucoside	-8,3	Lys198, Ser195, Asn320, Val322, Gln324, Val325	Pro285
Peonidin 3-O-glucoside	-8,1	Ser195, Pro194, Lys198, Glu303, Asn320, Gly321, Val 322, Gln324	
Delphinidin 3-O-glucoside	-8,2	Pro194, Ser195, Ala197, Asp196, Cys286, Val322	Val325
Malvidin 3-O-glucoside	-7,5	Glu188, Ser195, Gln220, Val322	Leu198
Petunidin 3-O-glucoside	-9,2	Ser195, Ala197, His224, Asn320, Gly321, Val322, Gln324, Val325	
Pelargonidin 3-O-glucoside	-8,1	Lys198, Val322, Gln324, Val325	Pro285

Keterangan :

: Residu asam amino yang sama dengan situs aktif ligan asli

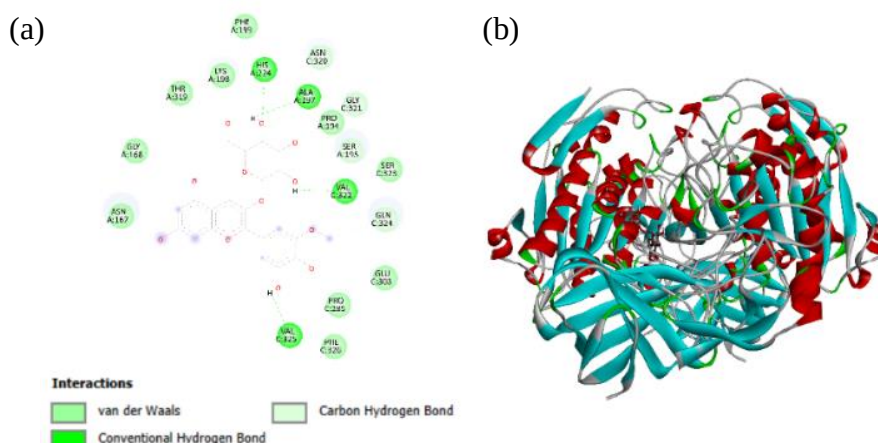
Ser195 merupakan residu yang berada pada area situs aktif atau bagian dari *binding pocket* enzim PL, dimana *binding pocket* berperan sebagai tempat pengikatan ligan (Carpenter & Altman, 2024). Studi Zhou *et al.* (2020) menunjukkan bahwa inhibitor alami dari golongan flavonoid, seperti catechin, dapat berinteraksi dengan Ser195 bersama residu lain (Pro194, Ala197, Lys198) di situs aktif PL. Hasil penelitian ini sejalan dengan temuan tersebut, dimana kelima senyawa antosianin (yang juga merupakan turunan flavonoid) menunjukkan interaksi dengan Ser195. Hal ini mengindikasikan bahwa residu tersebut diduga berperan dalam proses pengikatan inhibitor flavonoid pada enzim PL.

Residu lainnya seperti Val322 juga banyak ditemukan pada interaksi dengan semua senyawa antosianin, namun tidak ditemukan di dalam orlistat. Val322 berperan membantu menjaga posisi ligan di *binding pocket* melalui interaksi hidrogen, sehingga interaksi antara ligan dengan enzim menjadi lebih stabil (Alghamdi, 2023). Keterlibatan Val322 sebagai bagian dari *binding pocket* enzim PL menunjukkan bahwa senyawa antosianin memiliki potensi interaksi molekuler yang lebih stabil dengan PL sebagai kandidat obat anti-hiperkolesterolemia.

Dari hasil identifikasi residu asam amino, terdapat perbedaan residu yang dihasilkan pada ligan asli dibandingkan dengan yang dilaporkan di literatur. Wang *et al.* (2025) melaporkan bahwa enzim PL dengan kode PDB: 1ETH memiliki situs aktif katalitik yang mencakup residu Ser153, Asp177, dan His264. Hasil *molecular docking* dalam penelitian ini menunjukkan bahwa senyawa antosianin berinteraksi dengan residu Ser195 dan Val322 yang merupakan bagian dari *binding pocket*, bukan situs aktif katalitik.

Perbedaan residu ini dapat disebabkan oleh pendekatan *docking* yang digunakan. *Targeted docking* memanfaatkan informasi mengenai lokasi situs aktif pada reseptor yang telah diketahui (Pradani *et al.*, 2021) sehingga membatasi ruang pencarian ligan pada area tertentu dengan menggunakan ukuran *grid box* yang telah ditentukan. Ligan tidak selalu berikatan langsung dengan residu katalitik tersebut karena proses *docking* akan memilih konformasi ligan yang memberikan energi ikatan paling stabil (Tripathi &

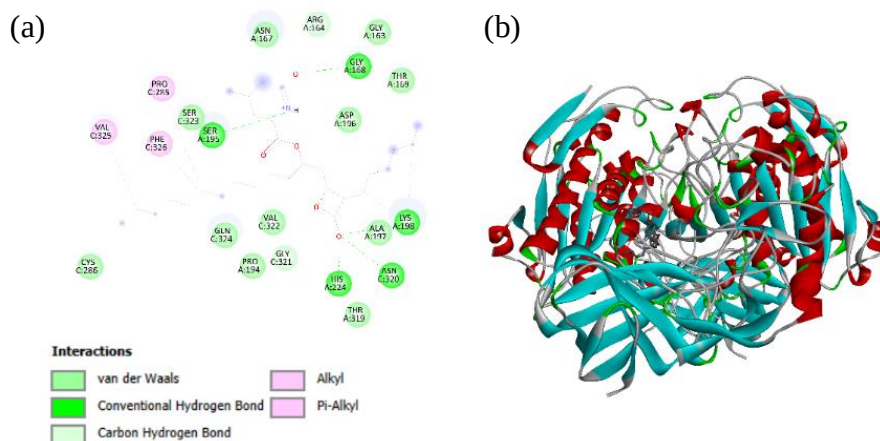
Misra, 2017), sehingga dapat diketahui interaksi lain yang terbentuk di sekitar situs aktif atau *binding pocket*.



Gambar 4.2 Visualisasi interaksi senyawa *petunidin 3-O-glucoside* dengan ligan asli dalam bentuk 2D (a) dan 3D (b)

Visualisasi hasil *molecular docking* selanjutnya dianalisis dalam bentuk 2 dimensi (2D) dan 3 dimensi (3D). Analisis dilakukan untuk memahami detail interaksi secara lebih spesifik antara ligan asli, orlistat dan senyawa *petunidin 3-O-glucoside*. Senyawa *petunidin 3-O-glucoside* tetap dipilih sebagai representatif senyawa dari seluruh antosianin yang diuji, karena memiliki nilai *binding affinity* yang lebih tinggi dibandingkan senyawa lain sesuai hasil yang ditunjukkan pada tabel 4.4. Hasil visualisasi interaksi antara senyawa *petunidin 3-O-glucoside* dengan ligan asli secara 2D dan 3D (Gambar 4.2) menunjukkan bahwa senyawa tersebut membentuk ikatan hidrogen dengan jumlah residu asam amino yang banyak. Ikatan hidrogen merupakan salah satu jenis ikatan non-kovalen yang dapat ditemukan dalam tubuh manusia secara biologis, salah satunya protein. Adanya ikatan ini menandakan bahwa ligan berikatan dan bekerja pada reseptornya (Akbar *et*

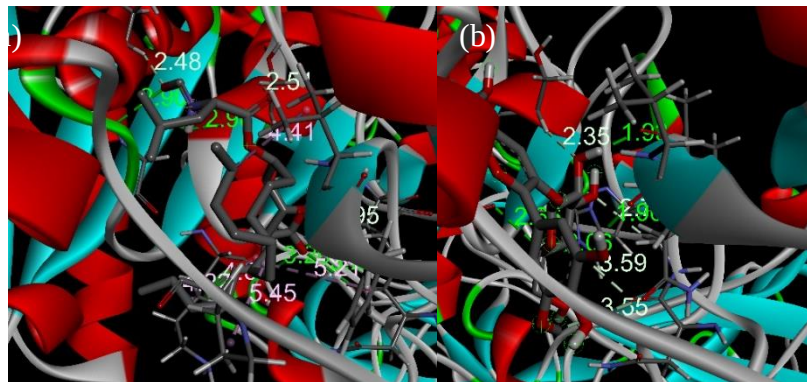
al., 2022). Ikatan hidrogen terjadi ketika atom hidrogen berinteraksi dengan atom yang mempunyai sifat elektronegatif, seperti oksigen (O), nitrogen (N), dan fluor (F) (Frimayanti, 2021).



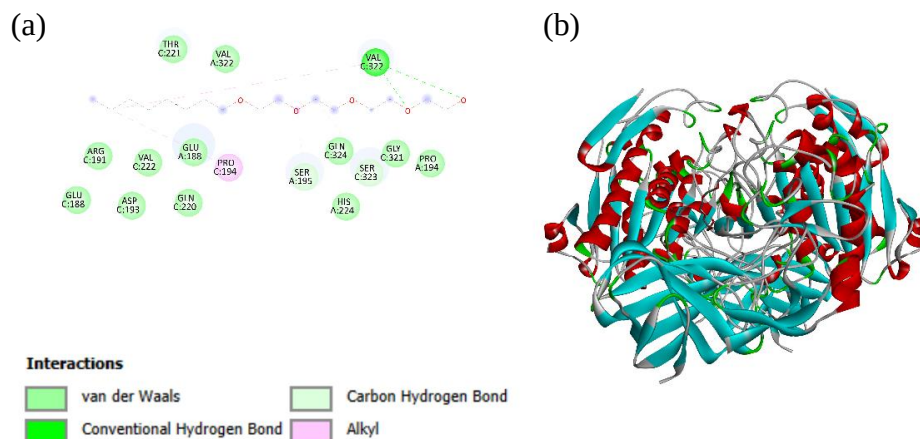
Gambar 4.3 Visualisasi interaksi orlistat dengan ligan asli dalam bentuk 2D (a) dan 3D (b)

Berdasarkan visualisasi secara 2D dan 3D seperti gambar 4.3, diketahui bahwa orlistat selain membentuk ikatan hidrogen, juga membentuk ikatan hidrofobik, seperti pi-alkil dan alkil. Ikatan hidrofobik merupakan jenis ikatan non-kovalen yang berperan penting dalam meningkatkan kestabilan ikatan ligan dengan reseptor (Amin dkk., 2023). Orlistat meskipun membentuk dua jenis interaksi, menunjukkan jarak ikatan yang cukup jauh terhadap ligan asli dibandingkan senyawa *petunidin 3-O-glucoside*. Jarak ikatan yang dihasilkan antara orlistat dengan ligan asli pada residu Ser195 seperti gambar 4.4 sebesar 2.51 Å hingga 2.98 Å, sedangkan senyawa *petunidin 3-O-glucoside* dengan ligan asli menghasilkan jarak pada residu Ser195 seperti gambar 4.4 sebesar 2.35 Å dan pada residu Val322 sebesar

1.93 Å. Apabila jarak ikatan ligan yang diuji dengan reseptor bernilai kurang dari 3 Å, maka ikatan tersebut menunjukkan ikatan yang kuat (Prasetyawati dkk., 2021). Hal ini berarti orlistat memang terbukti memiliki *binding affinity* yang lebih rendah, karena ikatan yang terbentuk lemah dibandingkan senyawa *petunidin 3-O-glucoside* yang membentuk ikatan yang kuat.



Gambar 4.4 Visualisasi jarak ikatan antara orlistat dengan ligan asli (a) jarak ikatan antara senyawa *petunidin 3-O-glucoside* dengan ligan asli (b)



Gambar 4.5 Visualisasi interaksi ligan asli pada situs aktif enzim dalam bentuk 2D (a) dan 3D (b)

Ligan asli divisualisasikan seperti gambar 4.5 dan menunjukkan dua pola interaksi pada situs aktif enzim, yaitu ikatan hidrogen dan hidrofobik (alkil). Pola interaksi tersebut menjadi pedoman untuk analisis interaksi

orlistat dan senyawa antosianin yang dihasilkan pada penelitian ini. Visualisasi interaksi antar ketiga ligan dalam bentuk 2D dan 3D membuktikan bahwa senyawa *petunidin 3-O-glucoside* berpotensi sebagai obat anti-hiperkolesterolemia. Potensi ini dapat dilihat melalui kesamaan jenis ikatan dan keterlibatan residu asam amino dengan ligan asli maupun ligan referensi orlistat, serta jarak ikatan yang relatif lebih pendek dibandingkan orlistat. Senyawa *petunidin 3-O-glucoside* menunjukkan kemungkinan berinteraksi dengan residu Ser195. Interaksi ini mengindikasikan bahwa senyawa tersebut berpotensi menghambat aktivitas enzim PL melalui interaksi pada daerah situs aktif. Mekanisme penghambatan senyawa *petunidin 3-O-glucoside* secara fisiologis selanjutnya diteliti dengan menggunakan literatur pendukung.

4.5 Faktor Pemicu Hiperkolesterolemia dan Inhibisi *Pancreatic Lipase* oleh Antosianin Beras Hitam

Pancreatic lipase (PL) merupakan enzim yang bertanggung jawab untuk pencernaan lemak makanan, seperti TG. Peningkatan aktivitas dari enzim PL berkontribusi terhadap absorpsi lipid oleh sel-sel epitel di usus halus yang semakin banyak (Chiu *et al.*, 2025) dan memicu hiperkolesterolemia (Baila-Rueda *et al.*, 2016). Hiperkolesterolemia akibat peningkatan absorpsi lipid oleh sel-sel epitel usus halus dapat terjadi melalui beberapa kondisi fisiologis, patologis, maupun akibat faktor lingkungan dan genetik. Kondisi ini secara umum berkaitan dengan meningkatnya efisiensi masuknya

kolesterol dan asam lemak dari lumen usus ke dalam sirkulasi darah (Wresdiyati *et al.*, 2023).

Aktivitas PL dalam kondisi fisiologis dipengaruhi oleh temperatur tubuh, pH, kolipase dan garam empedu. Temperatur sekitar 35°C - 45°C (Gonçalves *et al.*, 2021) dan pH netral (6.5-7.5) (Vo *et al.*, 2022) serta keberadaan kofaktor seperti ion logam, mempunyai peran penting dalam menstabilkan interaksi antara PL dengan substrat lipid, sehingga proses pengaturan emulsifikasi lemak di usus halus dapat berjalan dengan baik (Ye *et al.*, 2020). Kondisi pH yang terlalu basa (>8,5) dapat menyebabkan hidrolisis spontan dan menurunkan aktivitas enzimatis PL (Vo *et al.*, 2022). Peningkatan absorpsi lipid juga diperantarai oleh keberadaan transporter utama kolesterol, yaitu *Niemann-Pick C1-Like 1* (NPC1L1) di sel-sel epitel usus halus (enterosit). Peningkatan ekspresi atau aktivitas NPC1L1 akan memperbesar jumlah kolesterol yang diserap dari makanan. Akibatnya, lebih banyak kolesterol yang masuk ke dalam enterosit, sehingga terjadinya peningkatan kadar kolesterol dalam plasma darah (Xiao *et al.*, 2023; Xu *et al.*, 2023).

Hiperkolesterolemia juga dapat diperantarai oleh penurunan aktivitas efluks kolesterol. Transporter *ATP-Binding Cassette Transporter, Subfamily G, Member 5* (ABCG5) dan *ATP-Binding Cassette Transporter, Subfamily G, Member 8* (ABCG8) berfungsi mengeluarkan kembali kolesterol dari enterosit ke lumen usus (Rahmawati dkk., 2023). Apabila aktivitas kedua transporter ini menurun, misalnya akibat gangguan regulasi, maka kolesterol

lebih banyak tertahan di dalam sel dan selanjutnya masuk ke peredaran darah, sehingga memicu hiperkolesterolemia (Helgadottir *et al.*, 2020). Konsumsi tinggi lemak jenuh dan kolesterol merupakan faktor penting pemicu hiperkolesterolemia (Sugiarti & Meikawati, 2018) yang meningkatkan pembentukan misel empedu yang membawa kolesterol ke permukaan enterosit. Kondisi ini mempermudah proses difusi dan transport aktif kolesterol ke dalam sel epitel usus, sehingga memperbesar total absorpsi lipid (Wresdiyati *et al.*, 2023).

Faktor lain yang dapat memicu hiperkolesterolemia adalah peningkatan sekresi garam empedu. Garam empedu berperan penting dalam proses emulsifikasi lipid (Malik, 2016). Peningkatan produksi atau efisiensi kerja garam empedu dapat meningkatkan pembentukan misel (Xiao *et al.*, 2021), sehingga absorpsi kolesterol, trigliserida, dan asam lemak menjadi lebih tinggi (Hsu *et al.*, 2019). Kondisi ini dapat berkontribusi terhadap peningkatan kadar kolesterol dalam sirkulasi (Wang *et al.*, 2017). Faktor pemicu lainnya bisa diakibatkan oleh kondisi hormonal dan metabolik. Sindrom metabolik yang berkaitan dengan resistensi insulin dan obesitas (Hamooya *et al.*, 2025), dapat meningkatkan sintesis dan absorpsi lipid di usus halus (Susilowati & Susanti, 2025). Kondisi ini dapat mengganggu keseimbangan metabolisme kolesterol dan mempercepat terjadinya hiperkolesterolemia (Hastuty, 2015).

Penghambatan aktivitas PL pada penyakit hiperkolesterolemia dapat dilakukan dengan menggunakan senyawa bioaktif dari bahan alami. Senyawa

antosianin dari beras hitam berpotensi sebagai inhibitor alami PL (Yuan *et al.*, 2024), sehingga bersifat antagonis terhadap proses lipolisis melalui penghambatan hidrolisis TG di usus halus. Akibatnya kolesterol yang masuk ke dalam sirkulasi darah akan menurun sehingga tidak terjadi kondisi hiperkolesterolemia.

4.5.1 Mekanisme Inhibisi Senyawa Antosianin Terbaik terhadap *Pancreatic Lipase*

Berdasarkan hasil yang ditemukan, dapat disimpulkan bahwa terdapat dua senyawa antosianin yang berpotensi sebagai obat alami untuk mengatasi penyakit hiperkolesterolemia. Senyawa *pelargonidin 3-O-glucoside* menunjukkan nilai bioavailabilitas oral tertinggi, yang mengindikasikan ketersediaannya di lokasi target. Senyawa *petunidin 3-O-glucoside* menunjukkan profil farmakokinetik yang relatif baik dan nilai *binding affinity* yang tinggi. Senyawa tersebut juga menunjukkan keterlibatan residu asam amino di daerah sekitar situs aktif enzim PL yang juga berinteraksi dengan orlistat. Temuan ini mengindikasikan bahwa senyawa tersebut berpotensi berikatan di wilayah sekitar situs aktif enzim PL, meskipun mekanisme penghambatan yang terjadi masih memerlukan konfirmasi lebih lanjut melalui studi eksperimental.

Penghambatan enzim PL oleh senyawa *petunidin 3-O-glucoside* diduga terjadi melalui interaksi pada area pengikatan enzim yang juga berperan dalam pengikatan orlistat. Senyawa

petunidin 3-O-glucoside setelah dikonsumsi secara oral, sebagian besar struktur molekul dari senyawa ini diperkirakan tetap utuh (75-97%) saat melewati lambung, kemudian menuju usus halus (Han *et al.*, 2019). *Petunidin 3-O-glucoside* yang berada di lumen usus berpotensi menghambat aktivitas PL sehingga substrat lipid sederhana (trigliserida) tidak dapat terdergradasi menjadi produk monumernya. Kondisi ini berakibat tidak terjadinya absorpsi kolesterol.

Mekanisme inhibisi senyawa *petunidin 3-O-glucoside* terhadap aktivitas PL diduga berpotensi bersifat kompetitif. Hal ini dikarenakan secara teoritis, senyawa tersebut berinteraksi di daerah pengikatan enzim PL, yaitu residu Ser195. Orlistat diketahui bekerja dengan mekanisme yang serupa, yaitu menghambat aktivitas enzim PL pada situs aktif residu serin (Bansal *et al.*, 2024). Hambatan aktivitas enzim tersebut dapat mencegah hidrolisis trigliserida menjadi asam lemak dan monogliserida (Cañamares-Orbis *et al.*, 2021). Jenis mekanisme inhibisi ini masih memerlukan konfirmasi lebih lanjut melalui pengujian aktivitas enzim secara eksperimental.

Senyawa *petunidin 3-O-glucoside* selain mempunyai peran penting sebagai inhibitor enzim PL, juga memiliki aktivitas antioksidan dan anti-inflamasi. Molekul ligan ini berfungsi sebagai antioksidan yang bekerja pada sel-sel endotel tunika intima dan mencegah pembentukan ROS (Al-Najjar *et al.*, 2025) serta stres

oksidatif (Vo *et al.*, 2024) pada kasus hiperkolesterolemia. Senyawa ini juga memiliki aktivitas anti-inflamasi yang berperan dalam menekan ekspresi TNF- α (Sari *et al.*, 2019) melalui mekanisme transport lintas membran yang melibatkan *sodium-dependent glucose transporter 1* (SGLT1) dan *glucose transporter 2* (GLUT2) (Ayvaz *et al.*, 2022). Kondisi ini memberi pengaruh penting dalam pencegahan terjadinya penurunan struktur dan fungsi sel, serta aterosklerosis pada tunika intima dalam pembuluh darah (Reis *et al.*, 2016).

4.5.2 Potensi Sinergis Antar Senyawa Antosianin

Secara teoritis, *pelargonidin 3-O-glucoside* dan *petunidin 3-O-glucoside* berpotensi memberikan efek sinergis dalam menghambat aktivitas enzim PL. *Pelargonidin 3-O-glucoside* memiliki bioavailabilitas yang lebih tinggi, sedangkan *petunidin 3-O-glucoside* menunjukkan afinitas pengikatan yang lebih kuat terhadap enzim. Mi *et al.* (2024) melaporkan bahwa kombinasi senyawa antosianin memiliki aktivitas penghambatan yang sangat baik terhadap PL. Kombinasi antar senyawa meskipun dapat memberikan efek sinergis, masih bersifat prediktif sehingga diperlukan validasi melalui studi *molecular docking* kombinasi dan pengujian eksperimental lebih lanjut.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Kelompok senyawa antosianin dari beras hitam (*Oryza sativa* L.) terbukti berpotensi sebagai kandidat obat anti-hiperkolesterolemia melalui yang ditunjukkan pada inhibisi enzim PL secara *in silico* dan nilai *binding affinity* yang lebih tinggi dibandingkan dengan orlistat dan *native ligand*. *Petunidin 3-O-glucoside* terpilih sebagai kandidat obat yang paling potensial dibandingkan senyawa antosianin lainnya.

5.2 Saran

Penelitian secara *in vitro* dan *in vivo* perlu dilakukan untuk membuktikan potensi senyawa antosianin dari beras hitam (*Oryza sativa* L.) sebagai anti-hiperkolesterolemia secara langsung. Eksplorasi seluruh senyawa bioaktif dari beras hitam perlu dilakukan untuk membuktikan potensi menyeluruh sebagai agen anti-hiperkolesterolemia.

DAFTAR PUSTAKA

- Afladhanti, P. M., Romadhan, M. D., Hamzah, H. A., & Bhelqis, Q. 2022. Molecular Docking Study of *Garcinia Mangostana* (Mangosteen) Compounds as Sars-Cov-2 Potential Inhibitors. *Sriwijaya Journal of Medicine*. 5(1): 31-40.
- Agu, P.C., Afiukwa, C. A., Orji, O. U., Ezech, E. M., Ofoke, I. H., Ogbu, C. O. O., Ugwuja, E. I. U., & Aja, P. M. 2023. Molecular Docking as a Tool for The Discovery of Molecular Targets of Nutraceuticals in Diseases Management. *Scientific Reports*. 13: 13398.
- Ahire, E. D., Sonawane, V. N., Surana, K. R., & Talele, G. S. 2021. *Drug Discovery, Drug-Likeness Screening, & Bioavailability: Development of Drug-Likeness Rule for Natural Products*. In *Applied Pharmaceutical Practice and Nutraceuticals* (pp. 191-208). Apple Academic Press.
- Akash, S., Abdelkrim, G., Bayil, I., Hosen, M. E., Mukerjee, N., Shater, A. F., Saleh, F. M., Albadrani, G., Al-Ghadi, M. Q., Abdel-Daim, M. M., & Tok, T. T. 2023. Antimalarial Drug Discovery Against Malaria Parasites Through Haplopine Modification: An Advanced Computational Approach. *Journal Of Cellular and Molecular Medicine*. 27(20): 3168-3188.
- Akbar, N. A., Amin, S., & Wulandari, W. T. 2022. Studi *In Silico* Senyawa Yang Terkandung Dalam Tanaman Daun Sirih Merah (*Piper Crocatum Ruiz & Pav*) Sebagai Kandidat Anti Sars Cov-2. *Prosiding Seminar Nasional Diseminasi Hasil Penelitian Program Studi S1 Farmasi*. 2(1).
- Al Amin, M., Ekstrak, E., Annona, D., Terhadap, M., Najib, A., Syahbana, A., Keperawatan, D., & Banyuwangi, S. 2023. Efektivitas Ekstrak Daun *Annona Muricata* Terhadap Penurunan Kolesterol Total Pada Lansia Dengan Hiperkolesterolemia Di Panti Werdha Mojopahit Mojokerto. *Profesional Health Journal*. 5(1): 80-89.
- Al Noman, A., Sharma, P. D., Mim, T. J., Al Azad, M., & Sharma, H. 2024. Molecular Docking and Admet Analysis of Coenzyme Q10 As A Potential Therapeutic Agent For Alzheimer's Disease. *Aging Pathobiology and Therapeutics*. 6(4): 170-182.
- Alanazi, J., Unnisa, A., Ahmad, S., Itumalla, R., Alanazi, M., Alharby, T. N., Anwar, S., Younes, K. M., Hussain, T., Hussain, A., Elamine, B. A., & Mohamed, O. A. 2022. Significance of Orlistat in Management of Dyslipidemia, Systolic Blood Pressure and Body Mass Index. *European Review for Medical & Pharmacological Sciences*. 26(22).
- Alfian, M. A. 2021. Budidaya Padi Hitam (*Oryza sativa, L. indica*) Dengan Metode Tanam Jajar Legowo 4: 1 Di Teaching Farm Politeknik Negeri Lampung. *Skripsi*. Politeknik Negeri Lampung, Lampung.
- Alghamdi, O. A. 2023. The Protective Effects of Betanin Against Experimental Gastric Ulcer by Reduction of Ros and Suppression of Inflammatory

- Genes Via Nf-Kb, Inos, Cox-2 And Tnf-A Pathways. *Journal of Chemistry and Nutritional Biochemistry*. 4(2): 51-72.
- Al-Halbosy, A. T., Hamada, A. A., Faihan, A. S., Saleh, A. M., Yousef, T. A., Abou-Krishna, M. M., Alhalafi, M. H., & Al-Janabi, A. S. 2023. Thiourea Derivative Metal Complexes: Spectroscopic, Anti-Microbial Evaluation, Admet, Toxicity, And Molecular Docking Studies. *Inorganics*. 11(10): 390.
- Al-Mohaya, M., Mesut, B., Kurt, A., & Çelik, Y. S. 2024. *In Silico* Approaches Which Are Used in Pharmacy. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 14(4): 239-253.
- Al-Najjar, B. O., Elshibani, F., Sharkasi, M. A., Shintiri, N. E., Naili, E. E., Abdulsayid, M., Abozayed, R. S., & Mohammed, H. A. 2025. Phytochemical Analysis, Bioactivity, and Molecular Docking Studies of Myrtus Communis L. Seeds and Fruit Peel Extracts Demonstrating Antioxidant and Anti-Tyrosinase Properties. *Scientific Reports*. 15(1): 5634.
- Alnuaimi, A., Ajayi, F. F., Hamdi, M., Mudgil, P., Kamal, H., Gan, C. Y., & Maqsood, S. 2023. A Comparative Analysis of Anti-Lipidemic Potential of Soybean (Glycine Max) Protein Hydrolysates Obtained from Different Ripening Stages: Identification, and Molecular Interaction Mechanisms of Novel Bioactive Peptides. *Food Chemistry*. 402: 134192.
- Aloui, M., Mujwar, S., Er-Rahmani, S., Abuelizz, H. A., Er-Rajy, M., Zarougui, S., & Elhallaoui, M. 2024. Design of Novel Potent Selective Survivin Inhibitors Using 2D-QSAR Modeling, Molecular Docking, Molecular Dynamics, and ADMET Properties of New MX-106 Hydroxyquinoline Scaffold Derivatives. *Heliyon*. 10(19).
- Ameji, P. J., Uzairu, A., Shallangwa, G. A., & Uba, S. 2023. Molecular Docking-Based Virtual Screening, Drug-Likeness, and Pharmacokinetic Profiling of Some Anti-Salmonella Typhimurium Cephalosporin Derivatives. *Journal of Taibah University Medical Sciences*. 18(6): 1417-1431.
- Amin, S., Rosmiyati, R., Aprilia, A. Y., Adlina, S., & Prasetyo, A. 2023. Penambatan Senyawa Antivirus Pada Reseptor Non Structural Protein Sebagai Agen Terapeutik Covid-19. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada: Jurnal Ilmu-Ilmu Keperawatan, Analis Kesehatan Dan Farmasi*. 23(1).
- Amogne, N. Y., Ayele, D. W., & Tsigie, Y. A. 2020. Recent Advances in Anthocyanin Dyes Extracted from Plants for Dye Sensitized Solar Cell. *Materials For Renewable and Sustainable Energy*, 9(4): 23.
- Andreadou, I., Iliodromitis, E. K., Lazou, A., Görbe, A., Giricz, Z., Schulz, R., & Ferdinandy, P. 2017. Themed Section: Redox Biology and Oxidative Stress in Health and Disease. *British Journal of Pharmacology*. 174: 1555.
- Ani, R., Manohar, R., Anil, G., & Deepa, O. S. 2018. Virtual Screening of Drug Likeness Using Tree Based Ensemble Classifier. *Biomed Pharmacol J*. 11(3).
- Anugrah, R., Mumtaz, R. K., & Suryasaputra, D. 2020. Study In-Silico Oleanane Triterpenoids in *Aquilaria* spp. as a Covid-19 Antiviral. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 1104 (1): 1-7.

- Aoki, M., & Sato, N. 2018. Fatty Acid Content and Composition of Triacylglycerols of *Chlorella Kessleri*. *Bio-Protocol*. 8(1).
- Apridamayanti, P., Pratiwi, R., Purwestri, Y. A., Tunjung, W. A. S., & Rumiyati, R. 2017. Anthocyanin, Nutrient Contents, and Antioxidant Activity of Black Rice Bran of *Oryza Sativa* L. 'Cempo Ireng' from Sleman, Yogyakarta, Indonesia. *Indonesian Journal of Biotechnology*. 22(1): 49-54.
- Ardian, J., Jauhari, M. T., & Rahmiati, B. F. 2020. Pengaruh Pemberian Jus Jambu Biji Merah terhadap Penurunan Kadar Ldl (Low Density Lipoprotein) dan Kolesterol Total. *Nutriology: Jurnal Pangan, Gizi, Kesehatan*. 1(1): 26-34.
- Aryasa, I. W. T., Indis, N. A., Rahmawati, Musrifah, Fitriana, W. D., Fahmi, A., Anurogo, D., Mariadi, P. D., Rosyadi, A. S. A., Rasyid, N. Q., Rochyani, N., & Lestar, L. P. 2023. *Kimia Kehidupan*. Padang: Get Press Indonesia.
- Asmara, A. P., Hernawan, H., & Nuzlia, C. 2024 *In Silico* Analysis of Antibacterial Activity of Fatty Acids in *Swietenia humilis* Zucc. Seed Extract Against *Staphylococcus aureus* sortase A enzyme. *JKPK (Jurnal Kimia dan Pendidikan Kimia)*. 9(2): 227-242.
- Ayvaz, H., Cabaroglu, T., Akyildiz, A., Pala, C. U., Temizkan, R., Ağçam, E., Ayvaz, Z., Durazzo, A., Lucarini, M., Direito, R., & Diaconeasa, Z. 2022. Anthocyanins: Metabolic Digestion, Bioavailability, Therapeutic Effects, Current Pharmaceutical/Industrial Use, and Innovation Potential. *Antioxidants*. 12(1): 48.
- Azizah, N. 2023. Pengaruh Konsentrasi Elisitor dan Waktu Elisitasi Terhadap Total Antosianin, Aktivitas Antioksidan, dan GABA Beras Hitam (*Oryza sativa* L.). *Skripsi*. Fakultas Pertanian, Universitas Hasanuddin.
- Baila-Rueda, L., Pérez-Ruiz, M. R., Jarauta, E., Tejedor, M. T., Mateo-Gallego, R., Lamiquiz-Moneo, I., de Castro Orós, I., Cenarro, A., & Civeira, F. 2016. Cosegregation of Serum Cholesterol with Cholesterol Intestinal Absorption Markers in Families with Primary Hypercholesterolemia without Mutations in LDLR, APOB, PCSK9, and APOE Genes. *Atherosclerosis*. 246: 202–207.
- Bansal, A. B., Patel, P., & Al Khalili, Y. 2024. *Orlistat*. In StatPearls: StatPearls Publishing.
- Baroroh, U., Biotek, M., Muscifa, Z. S., Destiarani, W., Rohmatullah, F. G., & Yusuf, M. 2023. Molecular Interaction Analysis and Visualization of Protein-Ligand Docking using Biovia Discovery Studio Visualizer. *Indonesian Journal of Computational Biology (IJCB)*. 2(1): 22-30.
- Bela, A., Dewi, T. T., Prabawa, S., Khatib, A., Latief, M., & Tarigan, I. L. 2024. *In Silico* Study of Bioactive Compounds of Putat Leaf Extract (*Planchonia valida*) as Anti-Cancer Against the VEGFR2 Receptor. *Journal of The Indonesian Society of Integrated Chemistry*. 16(1): 1-14.
- Benet, L. Z., Hosey, C. M., Ursu, O., & Oprea, T. I. 2016. BDDCS, the Rule of 5 and drugability. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 101: 89-98.

- Bennett, C., Sookwong, P., Jakmunee, J., & Mahatheeranont, S. 2021. Smartphone Digital Image Colorimetric Determination of the Total Monomeric Anthocyanin Content in Black Rice via the pH Differential Method. *Analytical Methods*. 13: 3348–3358.
- Bergsell, P. 2022. Encapsulation of Probiotic Bacteria in an Oleogel. *Thesis*. Department of Food Technology, Engineering and Nutrition Lund University, Sweden.
- Bhalekar, S. M., & Raskar, S. V. 2025. Molecular Docking Studies of Some Pyridazinone Derivatives. *World Journal of Pharmaceutical Research*. 14(8): 1065-1075.
- Bharata, A. A., Wibisono, S., & Ekoputranto, J. N. 2021. Lama Diabetes Melitus Terhadap Peripheral Artery Disease di RSUD Dr. Soetomo. *Jurnal Kesehatan Soetomo*. 8(3): 128-132.
- Cañamares-Orbis, P., Bernal-Monterde, V., Sierra-Gabarda, O., Casas-Deza, D., Garcia-Rayado, G., Cortes, L., & Lué, A. 2021. Impact of Liver and Pancreas Diseases on Nutritional Status. *Nutrients*. 13(5): 1650.
- Carpenter, K. A., & Altman, R. B. 2024. Databases of Ligand-Binding Pockets and Protein-Ligand Interactions. *Computational & Structural Biotechnology Journal*. 23: 1320-1338.
- Carreiro, A. L. 2018. Regulation Of Intestinal Lipid Storage and Mobilization. *Dissertation*. Department of Nutrition Science West Lafayette, Indiana
- Celik, S., Albayrak, A. T., Akyuz, S., & Ozel, A. E. 2020. Synthesis, Molecular Docking and Admet Study of Ionic Liquid as Anticancer Inhibitors of Dna and Cox-2, Topii Enzymes. *Journal Of Biomolecular Structuree and Dynamics*. 38(5): 1354-1364.
- Cerqueira, N. M. F. S. A., Oliveira, E. F., Gestó, D. S., Santos-Martins, D., Moreira, C., Moorthy, H. N., Ramos, M. J., & Fernandes, P. A. 2016. Cholesterol Biosynthesis: a Mechanistic Overview. *Biochemistry*. 55(39): 5483-5506.
- Chen, R., Yin, C., Fang, J., & Liu, B. 2021. The NLRP3 Inflammasome: An Emerging Therapeutic Target for Chronic Pain. *Journal of Neuroinflammation*. 18: 1-12
- Chen, X., Yang, Y., Yang, X., Zhu, G., Lu, X., Jia, F., Diao, B., Yu, S., Ali, A., Zhang, H., Xu, P., Liao, Y., Sun, C., Zhou, H., Liu, Y., Wang, Y. 2022. Investigation of Flavonoid Components and Their Associated Antioxidant Capacity in Different Pigmented Rice Varieties. *Food Research International*. 161: 111726. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111726>.
- Chiu, C. Y., Huang, S. Y., Tzen, J. T., & Liu, P. F. 2025. Mechanism of Pancreatic Lipase Inhibition by Strictinin Purified from Pu'er Tea. *Food Bioscience*. 69: 106954.
- Cordeiro, R., Khan, S., Tajir, H., Bagwan, A., Shaikh, M. A., & Gupta, A. 2022. Admet Prediction of Synthesized Heterocyclic Derivatives to Treat Renal Cancer. *German Journal of Pharmaceuticals and Biomaterials*. 1(3): 14-43.

- Daina, A., Michielin, O., & Zoete, V. 2017. Swissadme: A Free Web Tool to Evaluate Pharmacokinetics, Drug-Likeness and Medicinal Chemistry Friendliness of Small Molecules. *Scientific Reports*. 7(1): 42717.
- D'Aquila, T., Hung, Y. H., Carreiro, A., & Buhman, K. K. 2016. Recent Discoveries on Absorption of Dietary Fat: Presence, Synthesis, and Metabolism of Cytoplasmic Lipid Droplets within Enterocytes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular & Cell Biology of Lipids*. 1861(8): 730-747.
- Das, M., Dash, U., Mahanand, S. S., Nayak, P. K., & Kesavan, R. K. 2023. Black Rice: A Comprehensive Review on Its Bioactive Compounds, Potential Health Benefits and Food Applications. *Food Chemistry Advances*. 3: 100462.
- Das, S. S., Kumari, T., Babu, S., C, N., Kumar, S., Deka, S. C. 2025. Bioactive Compounds, Functional Properties, Health Benefits, and Food Applications of Black Rice: A Comprehensive Review. *Food Chemistry Advances*. 7: 101028. <https://doi.org/10.1016/j.focha.2025.101028>.
- Ding, X., Zhang, W., Li, S., & Yang, H. 2019. The Role of Cholesterol Metabolism in Cancer. *Am J Cancer Res*. 9(2).
- Dong, Y., Wu, X., Han, L., Bian, J., He, C., El-Omar, E., Gong, L., & Wang, M. 2022. The Potential Roles of Dietary Anthocyanins in Inhibiting Vascular Endothelial Cell Senescence and Preventing Cardiovascular Diseases. *Nutrients*. 14(14): 2836.
- Dragano, N. R. V., Fernø, J., Diéguez, C., López, M., & Milbank, E. 2020. Recent Updates on Obesity Treatments: Available Drugs and Future Directions. *Neuroscience*. 437: 215-239.
- DrugBank. 2005. (Hydroxyethyloxy)tri(ethyloxy)octane. Retrieved October, 27 2025, from <https://go.drugbank.com/drugs/db04233>
- Du, H., Wu, J., Ji, K. X., Zeng, Q. Y., Bhuiya, M. W., Su, S., Shu, Q. Y., Ren, H. X., Liu, Z. A., & Wang, L. S. 2015. Methylation Mediated by an Anthocyanin, O-Methyltransferase, Is Involved in Purple Flower Coloration in *Paeonia*. *Journal of Experimental Botany*. 66(21): 6563-6577.
- Duarte, L. J., Chaves, V. C., Nascimento, M. V. P. dos S., Calvete, E., Li, M., Ciraolo, E., Ghigo, A., Hirsch, E., Simões, C. M. O., Reginatto, F. H., & Dalmarco, E. M. 2018. Molecular Mechanism of Action of Pelargonidin-3-O-Glucoside, the Main Anthocyanin Responsible for the Anti-Inflammatory Effect of Strawberry Fruits. *Food Chemistry*. 247: 56–65
- Ekowati, J., Diyah, N. W., Nofianti, K. A., & Hamid, I. S. 2018. Molecular Docking of Ferulic Acid Derivatives on P2Y12 Receptor and Their ADMET Prediction. *Journal of Mathematical & Fundamental Sciences*. 50(2): 203-219.
- Ekowati, J., Diyah, N. W., Nofianti, K. A., & Hamid, I. S. 2018. Molecular Docking of Ferulic Acid Derivatives on P2Y12 Receptor and Their Admet Prediction. *Journal of Mathematical and Fundamental Sciences*. 50(2): 203-219.

- El-Sayyad, H. I., Elmansi, A. A., & Bakr, E. H. 2015. Hypercholesterolemia-Induced Ocular Disorder: Ameliorating Role of Phytotherapy. *Nutrition*. 31(11-12): 1307-1316.
- Engelking, L. R. 2015. *Textbook of Veterinary Physiological Chemistry (Third Edition)*. <https://doi.org/10.1016/C2010-0-66047-0>.
- Faozah, N., Nasihun, T., Chodidjah, C., Sumarawati, T., Pertiwi, D., & Widodo, J. W. 2021. Pengaruh Pemberian N-Acetylcystein Terhadap Kadar Hormon Testosteron pada Hiperkolesterolemia. *Jurnal Litbang Edusaintech*. 2(1): 8–12.
- Faqi, A. S. 2017. *A Comprehensive Guide to Toxicology in Nonclinical Drug Development*. Academic Press.
- Feingold, K. R. 2023. Obesity and Dyslipidemia. In Endotext: MDText.com. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK305895/>
- Feingold, K. R. 2024. *Introduction to Lipids & Lipoproteins*. In Endotext: MDText.com. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK305896/>.
- Forsan, H. F., & Awad, S. S. 2023. *Cyanidin: Advances on Resources, Biosynthetic Pathway, Bioavailability, Bioactivity, & Pharmacology*. In *H&book of Dietary Flavonoids (pp. 1-50)*. Cham: Springer International Publishing.
- Frimayanti, N. 2020. Simulasi Molecular Dynamic (Md) Senyawa Analog Kalkon Sebagai Inhibitor Untuk Sel Kanker Paru A549. *Jurnal Penelitian Farmasi Indonesia*. 9(2): 56-60.
- Gadaleta, D., Vuković, K., Toma, C., Lavado, G. J., Karmaus, A. L., Mansouri, K., Kleinstreuer, N. C., Benfenati, E., & Roncaglioni, A. 2019. Sar And Qsar Modeling of A Large Collection Of Ld50 Rat Acute Oral Toxicity Data. *Journal Of Cheminformatics*. 11(1): 58.
- Gaudet, D. 2024. 35 - Special Patient Populations: Treatment of Familial Chylomicronemia Syndrome and Sustained Chylomicronemia. In *Companion to Braunwald's Heart Disease, Clinical Lipidology (Third Edition)*: 336-344.e2. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-88286-6.00035-2>.
- GBIF.org. 2023. *Oryza sativa* L. in GBIF Backbone Taxonomy. <https://www.gbif.org/species/2703459>
- Gimeno, A., Ojeda-Montes, M. J., Tomás-Hernández, S., Cereto-Massagué, A., Beltrán-Debón, R., Mulero, M., Pujadas, G., & Garcia-Vallvé, S. 2019. The Light and Dark Sides of Virtual Screening: What Is There to Know? *International Journal of Molecular Sciences*. 20(6): 1375.
- Glisan, S. L., Grove, K. A., Yennawar, N. H., & Lambert, J. D. 2017. Inhibition of Pancreatic Lipase by Black Tea Theaflavins: Comparative Enzymology and *In Silico* Modeling Studies. *Food Chemistry*. 216: 296-300.
- Gonçalves, G. R. F., Gandolfi, O. R. R., Brito, M. J. P., Bonomo, R. C. F., Fontan, R. D. C. I., & Veloso, C. M. 2021. Immobilization of Porcine Pancreatic Lipase on Activated Carbon by Adsorption and Covalent Bonding and Its Application in the Synthesis of Butyl Butyrate. *Process Biochemistry*. 111: 114-123.
- Gouthami, K., Veeraraghavan, V., & Nagaraja, P. 2022. In-Silico Characterization of Phytochemicals Identified from Vitex Negundo (L) Extract as Potential

- Therapy for Wnt-Signaling Proteins. *Egyptian Journal of Medical Human Genetics*. 23(1): 3.
- Habibi, F., García-Pastor, M. E., Puente-Moreno, J., Garrido-Auñón, F., Serrano, M., & Valero, D. 2023. Anthocyanin in Blood Oranges: A Review on Postharvest Approaches for Its Enhancement and Preservation. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*. 63(33): 12089-12101.
- Hafshah, M., Firdaus, I. M., Fitriani, I. N., & Rahmawati, L. 2024. QSAR, Molecular Docking, and Molecular Dynamic of Novel Coumarin Derivatives as α -Glucosidase Inhibitor. *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*. 27(7): 316-327.
- Hamooya, B. M., Siame, L., Muchaili, L., Masenga, S. P., & Kirabo, A. 2025. Metaboilc Syndrome: Epidemiology, Mechanisms, and Current Therapeutic Approaches. *Frontiers Nutrition*. DOI: 10.3389/fnut.2025.1661603
- Hamria, H., Mien, M., & Saranani, M. 2020. Hubungan Pola Hidup Penderita Hipertensi Dengan Kejadian Hipertensi di Wilayah Kerja Puskesmas Batalaiworu Kabupaten Muna. *Jurnal Keperawatan*. 4(1): 17-21.
- Han, F. L., & Xu, Y. 2015. Effect of the Structure of Seven Anthocyanins on Self-Association and Colour in an Aqueous Alcohol Solution. *South African Journal of Enology & Viticulture*. 36(1): 105-116.
- Han, F., Yang, P., Wang, H., Fernandes, I., Mateus, N., & Liu, Y. 2019. Digestion and Absorption of Red Grape and Wine Anthocyanins Through the Gastrointestinal Tract. *Trends in Food Science & Technology*. 83: 211-224.
- Hartati, F. K., Widjanarko, S. B., Widyaningsih, T. D., & Rifa'i, M. 2017. Anti-Inflammatory Evaluation of Black Rice Extract Inhibits TNF- α , IFN- γ and IL-6 Cytokines Produced by Immunocompetent Cells. *Food & Agricultural Immunology*. 28(6): 1116-1125.
- Hasan, R., & Herowati, R. 2024. Molecular Docking and Pharmacokinetic Studies of Moringa Oleifera as Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitors. *Pharmacy & Pharmaceutical Sciences Journal*. 11(1): 80-88.
- Hassen, C. B., Goupille, C., Vigor, C., Durand, T., Guéraud, F., Silvente-Poirot, S., Poirot, M., & Frank, P. G. 2023. Is Cholesterol a Risk Factor for Breast Cancer Incidence and Outcome? *The Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology*. 232: 106346.
- Hastuty, Y. D. 2015. Perbedaan Kadar Kolesterol Orang Yang Obesitas Dengan Orang Yang Non Obesitas. *Averrous: Jurnal Kedokteran Dan Kesehatan Malikussaleh*. 47-55.
- Helgadottir, A., Thorleifsson, G., Alexandersson, K. F., Tragante, V., Thorsteinsdottir, M., Eiriksson, F. F., Gretarsdottir, S., Björnsson, E., Magnusson, O., Sveinbjornsson, G., Jonsdottir, I., Steinthorsdottir, V., Ferkingstad, E., Jensson, B. Ö., Stefansson, H., Olafsson, I., Christensen, A. H., Torp-Pedersen, C., Køber, L., Pedersen, O. B., Erikstrup, C., Sørensen, E., Brunak, S., Banasik, K., Hansen, T. F., Nyegaard, M., Eyjolfsson, G. I., Sigurdardottir, O., Thorarinsson, B. L., Matthiasson, S. E., Steingrimsdottir, T., Bjornsson, E. S., Danielsen, R., Asselbergs, F. W.,

- Arnar, D. O., Ullum, H., Bundgaard, H., Sulem, P., Thorsteinsdottir, U., Thorgeirsson, G., Holm, H., Gudbjartsson, D. F., & Stefansson, K. 2020. Genetic Variability in The Absorption of Dietary Sterols Affects the Risk of Coronary Artery Disease. *European Heart Journal*. 41(28): 2618-2628.
- Hindami, F. T., Da'i, M., Fauzi, A., & Wulandari, F. 2024. Studi Docking Molekuler Senyawa [(5-Prop-2-enylpyrimidin-2-yl) propanoate] dan [4-((1E)-buta-1, 3-dienyl) phenol] Terhadap Protein Er- α , Er- β , dan IKK sebagai Agen Sitotoksik. *Jurnal Farmasetis*. 13(3): 99-110.
- Hsu, C. Y., Wang, P. W., Alalaiwe, A., Lin, Z. C., & Fang, J. Y. 2019. Use Of Lipid Nanocarriers to Improve Oral Delivery of Vitamins. *Nutrients*. 11(1): 68.
- Huang, J., Chen, S., Cai, D., Bian, D., & Wang, F. 2018. Long Noncoding RNA lncARSR Promotes Hepatic Cholesterol Biosynthesis Via Modulating Akt/SREBP-2/HMGCR Pathway. *Life Sciences*. 203: 48-53.
- Huff, T., Boyd, B., & Jialal, I. 2023. *Physiology, cholesterol*. In StatPearls: StatPearls Publishing. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470561/>
- Huo, X. D., Qin, X. Y., Hou, J., Tang, H., & Ge, G. B. 2022. The Potential of Natural Sources for Pancreatic Lipase Inhibitors: A Solution of The Obesity Crisis?. *Expert Opinion on Drug Discovery*. 17(12): 1295-1298.
- Husain, A., Chanana, H., Khan, S. A., Dhanalekshmi, U. M., Ali, M., Alghamdi, A. A., & Ahmad, A. 2022. Chemistry and Pharmacological Actions of Delphinidin, a Dietary Purple Pigment in Anthocyanidin and Anthocyanin Forms. *Frontiers in Nutrition*. 9: 746881.
- Ibrahim, M. A., Asuka, E., & Jialal, I. 2023. *Hypercholesterolemia*. In StatPearls: StatPearls Publishing.
- Ibrahim, M., Asuka, E., & Jialal, I. 2021. *Hypercholesterolemia Pathophysiology*. In StatPearls: StatPearls Publishing
- Iqbal, S., Omara, T., Kahwa, I., et al. 2024. Anticancer Potential of Delphinidin and Its Derivatives: Therapeutic and Mechanistic Insights. *Medical Chemistry Research*. 33: 1769–1786. <https://doi.org/10.1007/s00044-024-03296-y>
- Islam, A., Jena, D., Mondal, N. S., Teli, A., Mondal, S., & Gautam, M. K. 2025. In-Silico Approaches for Drug Designing Technology: Bridging Discovery and Development. *Current Drug Discovery Technologies*. 22(5): 14.
- Ito, V. C., & Lacerda, L. G. 2019. Black Rice (*Oryza sativa* L.): A Review of Its Historical Aspects, Chemical Composition, Nutritional and Functional Properties, and Applications and Processing Technologies. *Food Chemistry*. 301: 125304.
- Ivanović, V., Rančić, M., Arsić, B., & Pavlović, A. 2020. Lipinski's Rule of Five, Famous Extensions and Famous Exceptions. *Popular Scientific Article*. 3(1): 171-177.
- Jadar, P. G., & Haritha, M. M. 2025. Evaluation Of Phytochemicals from Azadirachta Indica for Drug-Like Properties: A Computational Insight into Natural Product-Based Drug Discovery. *Journal Of Ayurveda and Holistic Medicine (Jahm)*. 13(8): 63-78.
- Javed, M., Ahmed, W., Khan, A., & Rabbani, I. 2023. Comparison of Efficacy of Fermented Garlic and Orlistat (Lipase Inhibitor) in Obesity Management Using an Experimental Rodent Model. *Food*. 12(21): 3905.

- Karim, N., Shishir, M. R. I., Li, Y., Zineb, O. Y., Mo, J., Tangpong, J., & Chen, W. 2022. Pelargonidin-3-O-Glucoside Encapsulated Pectin-Chitosan-Nanoliposomes Recovers Palmitic Acid-Induced Hepatocytes Injury. *Antioxidants*. 11(4): 623.
- Kaur, A., Purewal, S. S., Swamy, C. T., & Sen, A. 2025. Harnessing the Power of Black Rice Anthocyanins: A Review in Context of Extraction and Chromatographic Techniques. *Journal of Food Quality*. 2025(1): 4005156.
- Khatab, T. K., & Hassan, A. S. 2023. Computational Molecular Docking and *In Silico* Admet Prediction Studies of Pyrazole Derivatives as Covid-19 Main Protease (Mpro) And Papain-Like Protease (Plpro) Inhibitors. *Bulletin Of the Chemical Society of Ethiopia*. 37(2): 449-461.
- Kim, G. R., Jung, E. S., Lee, S., Lim, S. H., Ha, S. H., & Lee, C. H. 2014. Combined Mass Spectrometry-Based Metabolite Profiling of Different Pigmented Rice (*Oryza sativa* L.) Seeds and Correlation with Antioxidant Activities. *Molecules*. 19: 15673-15686.
- Kowalczyk, T., Muskała, M., Merecz-Sadowska, A., Sikora, J., Picot, L., & Sitarek, P. 2024. Anti-Inflammatory and Anticancer Effects of Anthocyanins in In Vitro and In Vivo Studies. *Antioxidants*. 13(9): 1143.
- Kraft, P., Schuhmann, M. K., Garz, C., Jandke, S., Urlaub, D., Mencl, S., Zernecke, A., Heinze, H. J., Carare, R. O., Kleinschnitz, C., & Schreiber, S. 2017. Hypercholesterolemia Induced Cerebral Small Vessel Disease. *PLoS ONE*. 12(8).
- Kuasnei, M., Leonarski, E., Dartora, M., Bredun, M. A., Burin, V. M., Cesca, K., de Oliveira, D., Sayer, C., & Zielinski, A. A. F. 2025. In Vitro Antioxidant, Antiglycemic, and Antitumor Potential of Anthocyanin-Rich Extracts from Black Bean Hulls Obtained by Pressurized Liquid Extraction. *ACS Food Science & Technology*. 5(2).
- Kumar, N., Srivastava, R., Mongre, R. K., Mishra, C. B., Kumar, A., Khatoon, R., Banerje, A., Ashraf-Uz-Zaman, Md., Singh, H., Lynn, A. M., Lee, M. S., & Prakash, A. 2022. Identifying The Novel Inhibitors Against the Mycolic Acid Biosynthesis Pathway Target “Mtfabh” Of Mycobacterium Tuberculosis. *Frontiers In Microbiology*. 13: 818714.
- Lang, H., Jia, X., He, B., & Yu, X. 2025. Advances and Future Prospects of Pigment Deposition in Pigmented Rice. *Plants*. 14(6): 963.
- Lee, B. K., Lee, W. J., & Jung, Y. S. 2017. Chrysin Attenuates VCAM-1 Expression and Monocyte Adhesion in Lipopolysaccharide-Stimulated Brain Endothelial Cells by Preventing NF- κ B Signaling. *International Journal of Molecular Sciences*. 18(7): 1424.
- Li, J., Wang, B., He, Y., Wen, L., Nan, H., Zheng, F., Liu, H., Lu, A., Wu, M., & Zhang, H. 2021. A Review of The Interaction Between Anthocyanins and Proteins. *Food Science and Technology International*. 27(5): 470-482.
- Li, X., Li, F., Zeng, Y., Zhang, H., & Tang, Y. 2025. Encapsulated Black Rice Anthocyanins by Mildly Heat-Induced Egg Yolk Immunoglobulin and Fucoidan with Electrostatic Interaction to Enhance Stability and Delay the Oxidation of Yak Meat. *Food Bioscience*. 107127.

- Lim, S. Y., Steiner, J. M., & Cridge, H. 2022. Lipases: It's Not Just Pancreatic Lipase! *American Journal of Veterinary Research*. 83(8).
- Lin, X., Li, X., & Lin, X. 2020. A Review on Applications of Computational Methods in Drug Screening and Design. *Molecules*. 25(6): 1375.
- Lipinski CA. 2004. Lead profiling Lead and Drug-Like Compounds: The Rule-Of-Five Revolution Drug Discov. *Today Technol*. 1(4):337–341.
- Liu, D., Zhang, H., Dai, Y., Sun, J., Sun, H., Yu, Z., Kong, F., & Feng, X. 2024. Cyanidin-3-O-Glucoside Ameliorates Hydrogen Peroxide-Induced Oxidative Stress by Regulating HMGCR-Mediated Cholesterol Anabolism in HEK-293T Cells. *Food Science & Nutrition*. 12(9): 6673-6689.
- Liu, H., Liu, Z., Wu, Y., Zheng, L., & Zhang, G. 2021. Regulatory Mechanisms of Anthocyanin Biosynthesis in Apple and Pear. *International Journal of Molecular Sciences*. 22(16): 8441.
- Liu, S., Ma, C., Zhang, Y., Wang, Y., Tian, J., Li, B., & Zhao, J. 2024. Different Processing Methods on Anthocyanin Composition and Antioxidant Capacity in Blueberry Juice: Based On Metabolomics And DFT Analysis. *Efood*. 5(1): e131.
- Liu, T., Zhang, L., Joo, D., & Sun, S. C. 2017. NF- κ B Signaling in Inflammation. *Signal Transduction & Targeted Therapy*. 2(1): 1-9.
- Llop-Peiró, A., Macip, G., Garcia-Vallvé, S., & Pujadas, G. 2024. Are Protein–Ligand Docking Programs Good Enough To Predict Experimental Poses Of Noncovalent Ligands Bound To The SARS-Cov-2 Main Protease?. *Drug Discovery Today*. 29(10): 104137.
- Lucas, C. P., Boldrin, M. N., Reaven, G. M. 2003. Effect Of Orlistat Added to Diet (30% Of Calories from Fat) On Plasma Lipids, Glucose, And Insulin in Obese Patients with Hypercholesterolemia. *The American Journal of Cardiology*. 91(8): 961-964.
- Luo, J., Chen, W., Pan, Y., He, Q., Sun, J., & Bai, W. 2025. Unraveling the Color Evolution and Metabolic Pathways of Pelargonidin-3-O-Glucoside During Lactic Acid Fermentation of the Strawberry Juice Color Simulation System: A Novel Perspective Through Untargeted Metabolomics. *Food Chemistry*. 464: 141740.
- Maahury, M. F., Martoprawiro, M. A., & Wayan Sutapa, I. 2019. Computational Calculation Potency of Petunidin and Peonidin as Photosensitizer in Dye-Sensitized Solar Cell. *International J. Scientific and Research Publications (IJSRP)*. 9(11): p95108.
- MacFarlane, N. G. 2018. Digestion and Absorption. *Anaesthesia & Intensive Care Medicine*. 19(3): 125-127.
- Malik, N. A. 2016. Solubilization And Interaction Studies of Bile Salts with Surfactants and Drugs: A Review. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 179(2): 179-201.
- Mapoung, S., Semmarath, W., Arjsri, P., Thippraphan, P., Srisawad, K., Umsumarng, S., Phromnoi, K., Jamjodm, S., Prom-u-Thai, C., & Dejkriengkraikul, P. 2023. Comparative Analysis of Bioactive-Phytochemical Characteristics, Antioxidants Activities, and Anti-

- Inflammatory Properties of Selected Black Rice Germ and Bran (*Oryza sativa* L.) Varieties. *European Food Research & Technology*. 249(2): 451-464.
- Martin, J., Kuskoski, E. M., Navas, M. J., Asuero, A. G. 2017. *Antioxidant Capacity of Anthocyanin Pigments: Flavonoids from Biosynthesis to Human Health*. By InTech: Croatia.
- Martin, Y.C. 2005. A Bioavailability Score. *Journal of Medicinal Chemistry*. 48(9): 3164-3170.
- Martins, I. C., Maciel, M. G., Do Nascimento, J. L., Mafra, D., Santos, A. F., & Padilha, C. S. 2023. Anthocyanins-Rich Interventions on Oxidative Stress, Inflammation and Lipid Profile in Patients Undergoing Hemodialysis: Meta-Analysis and Meta-Regression. *European Journal of Clinical Nutrition*. 77(3): 316-324.
- Maulidia, N. R. 2021. Docking Oligomer Heparin 2S dan 2SNS dengan Konformasi Iduronat 2S0 pada Komplek Reseptor FGFR1-FGF2 sebagai Antikanker. *Skripsi*. Fakultas Sains dan Teknologi, Univ. Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang.
- Maurya, N. K., Yadav, L., & Chaudhary, S. 2022. Nutraceutical Potentials of Black Rice. *Research & Reviews: Journal of Food Science & Technology*. 11(3): 27-35.
- Mazewski, C., Kim, M. S., & Gonzalez de Mejia, E. 2019. Anthocyanins, Delphinidin-3-O-Glucoside and Cyanidin-3-O-Glucoside, Inhibit Immune Checkpoints in Human Colorectal Cancer Cells In Vitro and *In Silico*. *Scientific Reports*. 9(1): 11560.
- McQuilken, S. A. 2021. Digestion and Absorption. *Anaesthesia & Intensive Care Medicine*. 22(5): 336-338. <https://doi.org/10.1016/j.mpaic.2020.12.009>.
- Merecz-Sadowska, A., Sitarek, P., Kowalczyk, T., Zajdel, K., Jęcek, M., Nowak, P., & Zajdel, R. 2023. Food Anthocyanins: Malvidin and Its Glycosides as Promising Antioxidant and Anti-Inflammatory Agents with Potential Health Benefits. *Nutrients*. 15(13): 3016.
- Mi, J., Zhang, L. T., Lu, L., Wei, J. Y., Jin, B., Luo, Q., Yan, Y. M., & Cao, Y. L. 2023. Separation and Pancreatic Lipase Inhibitory Activity of Two Petunidin Anthocyanins from *Lycium ruthenicum* Murr. by Preparative Medium-Pressure Liquid Chromatography. *CABI Databases*.
- Misran, E., Husin, F., Sa'at, A. N., Harun, A. Q., Zubairi, S. I., & Ya'akob, H. 2025. *In Silico* Evaluation of Guarana's Bioactive Compounds for Diabetes, Inflammation, and Oxidative Stress: Insights from Molecular Docking and ADMET Profiling. *Results in Chemistry*. 102394.
- Mohammed, E. R.-RAJY, El Fadili, M., Naceiri Mrabti, N., Zarougui, S., & Elhallaoui, M. 2022. QSAR, Molecular Docking, ADMET Properties *In Silico* Studies for a Series of 7-Propanamide Benzoxaboroles as Potent Anti-Cancer Agents. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*. 50(12): 100163. <https://doi.org/10.1016/j.cjac.2022.100163>.
- Mormone, A., Tortorella, G., Esposito, F., Caturano, A., Marrone, A., Cozzolino, D., Galiero, R., Marfella, R., Sasso, F. C., & Rinaldi, L. 2024. Advances in Pharmacological Approaches for Managing Hypercholesterolemia: A

- Comprehensive Overview of Novel Treatments. *Biomedicines*. 12(2): 432. <https://doi.org/10.3390/biomedicines12020432>.
- Mosalmanzadeh, N., & Pence, B. D. 2024. Oxidized Low-Density Lipoprotein and Its Role in Immunometabolism. *International Journal of Molecular Sciences*. 25(21): 11386.
- Muhammed, M. T., & Aki-Yalcin, E. 2024. Molecular Docking: Principles, Advances, and Its Applications in Drug Discovery. *Letters in Drug Design & Discovery*. 21(3): 480-495.
- Nabila, N. A. M. S. 2022. Method Validation of Delphinidin-3-O-Glucoside Chloride in Rat Plasma by High-Performance Liquid Chromatography (HPLC). *Dissertation*. Degree of Master of Science (Biomedicine) Univ. Sains Malaysia, Malaysia.
- Narapati, A. N., & Dainy, N. C. 2024. Relationship Between Nutritional Status and Other Factors with The Incidence of Hypercholesterolemia in Adults in Cikupa. *Arsip Keilmuan Gizi (AKG)*. 1(1): 23–32.
- Nas, J. S. B., & Medina, P. M. B. 2024. Delphinidin-3-Glucoside Prolongs Lifespan and Healthspan in *Caenorhabditis Elegans* with and without Environmental Stress. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 14(1): 108-113.
- Nas, J. S. B., Manalo, R. V. M., & Medina, P. M. B. 2021. Peonidin-3-Glucoside Extends the Lifespan of *Caenorhabditis Elegans* and Enhances Its Tolerance to Heat, UV, and Oxidative Stresses. *ScienceAsia*. 47(4): 457.
- Naseri, R., Farzaei, F., Haratipour, P., Nabavi, S. F., Habtemariam, S., Farzaei, M. H., Khodarami, R., Tewari, D., & Momtaz, S. 2018. Anthocyanins in the Management of Metabolic Syndrome: A Pharmacological and Biopharmaceutical Review. *Frontiers in Pharmacology*. 9: 1310.
- Nashruddin, M. H. 2021. Analisis Fungsional Senyawa Aktif Eugenol Daun Lampes Secara Sebagai Kandidat Agen Kompetitif Inhibitor ox-LDL Dalam Berikatan Dengan SR-A dan CD-36. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Dan Ilmu Kesehatan, Univ. Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang.
- Nastiti, R. D. W., & Nurhidajah, N. 2020. Berat Badan, Feed Conversion Ratio (FCR), dan Berat Jaringan Adiposa pada Tikus Hiperkolesterolemia dengan Diet Beras Hitam. *Jurnal Pangan dan Gizi*. 10(2): 147-158.
- National Center for Biotechnology Information 2025. PubChem Compound Summary for CID 14311152, Peonidin 3-Glucoside. Retrieved July 11, 2025 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Peonidin-3-O-glucoside-chloride>.
- National Center for Biotechnology Information 2025. PubChem Compound Summary for CID 443650, Delphinidin 3-O-Glucoside Cation. Retrieved July 11, 2025 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Delphinidin-3-O-glucoside-cation>.
- National Center for Biotechnology Information 2025. PubChem Compound Summary for CID 443652, Malvidin 3-O-Beta-D-Glucoside. Retrieved July 11, 2025 from

- <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Malvidin-3-O-beta-D-glucoside>.
- National Center for Biotechnology Information 2025. PubChem Compound Summary for CID 443651, Petunidin 3-O-Glucoside. Retrieved July 11, 2025 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Petunidin-3-O-glucoside>.
- National Center for Biotechnology Information 2025. PubChem Compound Summary for CID 443648, Pelargonidin 3-Glucoside Ion. Retrieved July 11, 2025 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Pelargonidin-3-glucoside-ion>.
- Nations U. 2011. Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals (GHS). p. 107–9.
- Nguyen, S. N., & Beta, T. 2024. Cereal-Derived Polyphenols and Their Bioactive Properties. *Current Opinion in Food Science*. 56: 101136.
- Nugraheni, R. W. D., Wahyono, F., & Isroli, I. 2016. Pengaruh Penambahan Ramuan Tepung Jahe Merah, Daun Sembung, Daun Katuk Dan Kencur (Jsk2) Terhadap Gambaran Lemak Darah Ayam Petelur. *Skripsi*. Fakultas Peternakan & Pertanian, Univ. Diponegoro, Semarang.
- Nur, M. S., Yudiandani, R. E., & Solikah, A. N. M. 2022. Potensi Senyawa Chromodoris sebagai Pengikat Reseptor SARS-CoV-2 secara *In Silico*. *Sains dan Matematika*. 7(2): 70-76.
- Nutricati, E., Sabella, E., Negro, C., Min Allah, S., Luvisi, A., De Bellis, L., & Accogli, R. A. 2025. Anthocyanins and Anthocyanin Biosynthesis Gene Expression in Passiflora Flower Corona Filaments. *Plants*. 14(7): 1050.
- Nuur'Alimah, S., Jannati, A. N., Ambarsari, L., & Falah, S. 2024. *In Silico* Study: Molecular Docking of SARS-Cov-2 Endoribonuclease on Active Compounds of *Gmelina arborea* Roxb. bark. *Menara Perkebunan*. 92(1): 70-81.
- Ojha, N., & Dhamoon, A. S. 2023. Myocardial infarction. In StatPearls: StatPearls Publishing.
- Olujinmi, F. E., Ajaelu, C. J., Akintelu, S. A., & Oyebamiji, A. K. 2025. Dataset on Potential Biochemical Activities of Cylo Phe-Ala-Asp-Gly-Based Compounds as Caspase 1 Inhibitor. *Data in Brief*. 60: 111503.
- Ou, R., Lin, L., Zhao, M., & Xie, Z. 2020. Action Mechanisms and Interaction of Two Key Xanthine Oxidase Inhibitors in Galangal: Combination of In Vitro and *In Silico* Molecular Docking Studies. *International Journal of Biological Macromolecules*. 162: 1526-1535.
- Ou, S. J. L., Yang, D., Pranata, H. P., Tai, E. S., & Liu, M. H. 2023. Postprandial Glycemic and Lipidemic Effects of Black Rice Anthocyanin Extract Fortification in Foods of Varying Macronutrient Compositions and Matrices. *npj Science of Food*. 7(1): 59.
- Panda, D. K., Jyotirmayee, B., & Mahalik, G. 2022. Black Rice: A Review from Its History to Chemical Makeup to Health Advantages, Nutritional Properties and Dietary Uses. *Plant Science Today*. 9: 1-15.
- Pappan, N., Awosika, A. O., & Rehman, A. 2024. *Dyslipidemia*. In StatPearls: StatPearls Publishing. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK560891/>

- Park, M., Sharma, A., & Lee, H. J. 2019. Anti-Adipogenic Effects of Delphinidin-3-O- β -Glucoside in 3T3-L1 Preadipocytes and Primary White Adipocytes. *Molecules*. 24(10): 1848.
- Peng, H., Wang, Q., Wi, X., Wang, X., & Zhao, X. 2017. Orlistat Induces Apoptosis and Protective Autophagy in Ovarian Cancer Cells: Involvement of Akt-mTOR-Mediated Signaling Pathway. *Archives of Gynecology and Obstetrics*. 298(3): 597-605.
- Permatasari, H. K., Taslim, N. A., Al Mahira, M. F. N., Amalia, N., Farradisya, S., Putri, R. R. A., Arnamalia, A., Faradis, M. A. W., Yusuf, M., Gunawan, W. B., Surya, R., Mayulu, N., Tallei, T. E., Tjandrawinata, R. R., Kurniawan, R., & Nurkolis, F. 2024. A Perspective on Molecular Docking Approaches in the Discovery and Development of Natural-Based Functional Foods. *Nutrición Clínica y Dietética Hospitalaria*. 44(1): 84-91.
- Perwisa, I., R., & Hanriko, R. 2020. Pengaruh Pemberian Ekstrak Black Garlic (*Allium sativum*) Sebagai Penghambat Aterosklerosis Yang Diinduksi Minyak Jelantah. *Jurnal Medika Hutama*. 2(1): 213-217.
- Pham-The, H., Casañola-Martin, G., Garrigues, T., Bermejo, M., González-Álvarez, I., Nguyen-Hai, N., Cabrera-Pérez, M. Á., & Le-Thi-Thu, H. 2015. Exploring Different Strategies for Imbalanced Adme Data Problem: Case Study on Caco-2 Permeability Modeling. *Molecular Diversity*. 20(1): 93-109.
- Pradani, T. C., Fatimawali, F., Manampiring, A. E., Kepel, B. J., Budiarso, F. D., & Bodhi, W. 2021. *Molecular Docking Terhadap Senyawa Kurkumin Dan Arturmeron Pada Tumbuhan Kunyit (Curcuma longa Linn.) Yang Berpotensi Menghambat Virus Corona*. *eBiomedik*. 9(2): 374927.
- Prasetiawati, R., Suherman, M., Permana, B., & Rahmawati, R. 2021. Molecular Docking Study of Anthocyanidin Compounds Against Epidermal Growth Factor Receptor (Egfr) As Anti-Lung Cancer. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*. 8(1): 8-20.
- Prasetyanti, I. K., Sukardiman, S., & Suharjo, S. 2021. Molecular Docking of Mangostin and Sinensetin Derivatives on SUR1-Pancreatic KATP Channel Target as Antidiabetic. *Jurnal Farmasi dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 8(3).
- Prayoga, A., & Rasyid, Z. 2022. Determinan Kejadian Stroke Iskemik Pasien Rawat Inap di RSUD Petala Bumi Provinsi Riau Tahun 2019. *Jurnal Kesehatan Komunitas*. 8(1): 52-58.
- Prayoga, D. K., Aulifa, D. L., Budiman, A., Levita, J., & Jiranusornkul, S. 2025. Cyanidin and Cyanidin-3-Glucoside Alleviate Peptic Ulcer Disease: Insights from In Vitro, and In Vivo Studies. *Drug Design, Development & Therapy*. 841-856.
- Purwanto, D. S., Susanti, H., & Sugihartini, N. 2021. Docking Molekuler Potensi Anti Inflamasi Quersetin Daun Kelor (*Moringa Oleifera L.*) dengan Autodock-Vina. *Jurnal Ilmiah Manusia Dan Kesehatan*. 4(2).
- Qian, R., Ye, Y., Ma, X., Gao, H., Hu, Q., & Zheng, J. 2024. Targeted Metabolome and Transcriptome Analysis Reveals the Key Metabolites and Genes

- Influencing Blue–Purple Colour Development in Clematis Lanuginosa Flowers. *Ornamental Plant Research*. 5(1).
- Rachmania, R. A., & Susilawati, D. 2022. Molecular Docking Study of Isoflavonoid Erythrina Variegata to Plasminogen Receptor as Thrombolytic Agent on Myocardial Infarction Disease. *Jurnal Jamu Indonesia*. 7(1): 12-19.
- Rahim, M. A., Umar, M., Habib, A., Imran, M., Khalid, W., Lima, C. M. G., Shoukat, A., Itrat, N., Nazir, A., Ejaz, A., Zafar, A., Awuchi, C. G., Sharma, R., Santana, R. F., & Emran, T. B. 2022. Photochemistry, Functional Properties, Food Applications, and Health Prospective of Black Rice. *Journal of Chemistry*. 2022(1): 2755084.
- Rahmawati, A., Kurniawan, D., & Damayanti, D. S. 2023. Stigmasterol Dari Biji Kacang Tungak (*Vigna Unguiculata*) Berpotensi Sebagai Penghambat Absorpsi Kolesterol Melalui Penghambatan NPC1L1 Dan Aktivasi ABCG5: Studi *In Silico*. *Jurnal Bio Komplementer Medicine*. 10(1).
- Ramadhani, A., Wahyuni, S. D., Agusfiranda, A., Elvania, E., Seftani, N., & Khairati, S. 2024. Optimalisasi Nutrisi Dalam Mendukung Pertumbuhan dan Perkembangan Anak. *Interdisiplin: Journal of Qualitative & Quantitative Research*. 1(5): 338-355.
- Reis, J. F., Monteiro, V. V. S., de Souza Gomes, R., do Carmo, M. M., da Costa, G. V., Ribera, P. C., & Monteiro, M. C. 2016. Action Mechanism and Cardiovascular Effect of Anthocyanins: A Systematic Review of Animal and Human Studies. *Journal of Translational Medicine*. 14(1): 315.
- Rocha, S., Proenca, C., Araujo, A. N., Freitas, M., Rufino, I., Aniceto, N., Silva, A. M. S., Carvalho, F., Guedes, R. C., & Fernandes, E. 2025. Flavonoids as Potential Modulators Of Pancreatic Lipase Catalytic Activity. *Pharmaceutics*. 17(2): 163.
- Rojková, T. 2021. Study Programme: Special Chemical and Biological Programmes Branch of study: Molecular Biology and Biochemistry of Organisms. *Bachelor's Thesis*. Faculty of Science. Charles University, Czech Republic.
- Safitri, S., Mappahya, A., Nurhikmawati, W., & Safitri, A. 2023. Hubungan Faktor Risiko Kejadian Hiperkolesterolemia Pasien Rawat Jalan Jantung Koroner RS Ibnu Sina Makassar. *Fakumi Med JJ Mhs Kedokt*. 3(8): 359-367.
- Sahu, R. K., & Khan, J. 2021. Formulation Strategies to Improve the Bioavailability of Poorly Absorbed Drugs. In *Advances and Challenges in Pharmaceutical Technology* (pp. 229-242). Academic Press.
- Salih, K. J. 2021. The Major Pathways of Lipids (Triglyceride and Cholesterol) and Lipoprotein Metabolism. *Zanco Journal of Pure & Applied Sciences*. 33(4): 61-72.
- Salim, H. M., Kurnia, L. F., & Bintarti, T. W. 2018. The Effects of High-Fat Diet on Histological Changes of Kidneys in Rats. *Biomolecular & Health Science Journal*. 1(2): 109-112.
- Samodelov, S. L., Kullak-Ublick, G. A., Gai, Z., & Visentin, M. 2020. Organic cation Transporters in Human Physiology, Pharmacology, and Toxicology. *International Journal of Molecular Sciences*. 21(21): 7890.

- Santamarina, A. B., Calder, P. C., Estadella, D., & Pisani, L. P. 2023. Anthocyanins Ameliorate Obesity-Associated Metainflammation: Preclinical and Clinical Evidence. *Nutrition Research*. 114: 50-70.
- Sari, D. R. T., Cairns, J. R. K., Safitri, A., & Fatchiyah, F. 2019. Virtual Prediction of the Delphinidin-3-O-Glucoside and Peonidin-3-O-Glucoside as Anti-Inflammatory of TNF- α Signaling. *Acta Informatica Medica*. 27(3): 152.
- Sari, I. W., Junaidin, J., & Pratiwi, D. 2020. Studi Molecular Docking Senyawa Flavonoid Herba Kumis Kucing (*Orthosiphon Stamineus* B.) pada Reseptor α -Glukosidase Sebagai Antidiabetes Tipe 2. *Jurnal Farmagazine*. 7(2): 54-60.
- Semmarath, W., Mapoung, S., Umsumarng, S., Arjsri, P., Srisawad, K., Thippraphan, P., Yodkeeree, S., & Dejkriengkraikul, P. 2022. Cyanidin-3-O-Glucoside and Peonidin-3-O-Glucoside-Rich Fraction of Black Rice Germ and Bran Suppresses Inflammatory Responses from SARS-CoV-2 Spike Glycoprotein S1-Induction In Vitro in A549 Lung Cells and THP-1 Macrophages via Inhibition of the NLRP3 Inflammasome Pathway. *Nutrients*. 14(13): 2738. doi: 10.3390/nu14132738. PMID: 35807916; PMCID: PMC9268823.
- Senior, T., Botha, M. J., Kennedy, A. R., & Calvo-Castro, J. 2020. Understanding the Contribution of Individual Amino Acid Residues in the Binding of Psychoactive Substances to Monoamine Transporters. *ACS Omega*. 5(28): 17223-17231.
- Setiyabudi, L., Ulya, N. F., Indratmoko, S., & Swandari, M. T. K. 2022. In-Silico Analysis of Maricaffeoylide from *Avicennia Marina* Using Molecular Docking with Tumor Necrosis Factor Receptor. *Biomedical Journal of Indonesia*. 8(1): 20–24. <https://doi.org/10.32539/BJI.v8i1.141>
- Seyedan, A., Alshawsh, M. A., Alshagga, M. A., Koosha, S., & Mohamed, Z. 2015. Medicinal Plants and Their Inhibitory Activities Against Pancreatic Lipase: A Review. *Evidence-Based Complementary & Alternative Medicine*. 2015(1): 973143.
- Shamarao, N., & Chethankumar, M. 2022. Antiobesity Drug-Likeness Properties and Pancreatic Lipase Inhibition of a Novel Low Molecular Weight Lutein Oxidized Product, LOP6. *Food Funct*. 13(11):6036–6055.
- Shammugasamy, B., Ramakrishnan, Y., Ghazali, H. M., & Muhammad, K. 2015. Tocopherol and Tocotrienol Contents of Different Varieties of Rice in Malaysia. *J Sci Food Agric*. 95(4): 672-678. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6742>.
- Siddiqui, S. A., Azmy Harahap, I., Suthar, P., Wu, Y. S., Ghosh, N., & Castro-Muñoz, R. 2023. A Comprehensive Review of Phytonutrients as a Dietary Therapy for Obesity. *Foods*. 12(19): 3610.
- SKI. 2023. *Survei Kesehatan Indonesia (SKI) Tahun 2023 Dalam Angka*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Song, H., Shen, X., Zhou, Y., & Zheng, X. 2021. Black Rice Anthocyanins Alleviate Hyperlipidemia, Liver Steatosis and Insulin Resistance by Regulating Lipid Metabolism and Gut Microbiota in Obese Mice. *Food & Function*. 12(20): 10160-10170.

- Sood, R., Sanjay, Kang, S. U., Yoon, N. Y., & Lee, H. J. 2024. Malvidin-3-O-Glucoside Mitigates α -Syn and MPTP Co-Induced Oxidative Stress and Apoptosis in Human Microglial HMC3 Cells. *International Journal of Molecular Sciences*. 25(23): 12733.
- Spasov, D. S. 2024. Binding Affinity Determination In Drug Design: Insights From Lock And Key, Induced Fit, Conformational Selection, And Inhibitor Trapping Models. *International Journal of Molecular Sciences*. 25(13): 7124.
- Sugiarti, E. I., & Meikawati, W. 2018. Hubungan Aktivitas Fisik Dan Status Obesitas Dengan Kadar Kolesterol Dan Kadar Asam Urat Pada Pegawai Puskesmas Gubug 1 Kabupaten Grobogan. *Skripsi*. Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan, Univ. Muhammadiyah Semarang, Semarang.
- Sun, B., Li, F., Zhang, X., Wang, W., Shao, J., & Zheng, Y. 2022. Delphinidin-3-O-Glucoside, an Active Compound of Hibiscus Sabdariffa Calyces, Inhibits Oxidative Stress and Inflammation in Rabbits with Atherosclerosis. *Pharmaceutical Biology*. 60(1): 247-254.
- Sun, J., Li, X., Luo, H., Ding, L., Jiang, X., Li, X., Jiao, R., & Bai, W. 2020. Comparative Study on the Stability and Antioxidant Activity of Six Pyranoanthocyanins Based on Malvidin-3-Glucoside. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*. 68(9): 2783-2794.
- Sun, Y., Zhu, B., Cong, P., Li, X., Liu, L., Guo, C., Zhao, K., Qiu, J., Ji, H., Zhu, X., & Kouame, K. J. E.-P. 2024. Regulating Fat Globule Structure of Infant Formula Based on MFGM to Promote Lipid Uptake by Improving Lipolysis. *Food Hydrocolloids*. 155: 110167.
- Sundalian, M., Adnan, K., Yusuf, M., & Astriany, D. 2020. Molecular Docking of Xanthone Compounds of Mangosteen Fruits Peel (*Garcinia Mangostana* L.) as Beta-OG Pocket Binding Inhibitor in Dengue Virus Envelope. In 2nd Bakti Tunas Husada-Health Science International Conference (BTH-HSIC 2019). *Atlantis Press*. 26: 81-87.
- Susilowati, E., & Susanti, E. 2025. Hubungan Indeks Masa Tubuh (IMT) Dengan Kadar Kolesterol Total Pada Komunitas Masyarakat Di Kota Malang. *Pharmademics: Jurnal Kefarmasian Dan Gizi*. 5(1): 107-115.
- Swapna, K., Srujana, M., & Mamidala, E. 2024. *In Silico* Toxicity Evaluation Of Novel Compounds Isolated From Withania Somnifera. *Cahiers Magellanes-NS*. 6(2): 2076-2083.
- Tan, J., Li, Y., Hou, D. X., & Wu, S. 2019. The Effects and Mechanisms of Cyanidin-3-Glucoside and Its Phenolic Metabolites in Maintaining Intestinal Integrity. *Antioxidants*. 8(10): 479.
- Thangasparan, S., Kamisah, Y., Ugusman, A., Mohamad Anuar, N. N., & Ibrahim, N. I. 2024. Unravelling the Mechanisms of Oxidised Low-Density Lipoprotein in Cardiovascular Health: Current Evidence from In Vitro and In Vivo Studies. *International Journal of Molecular Sciences*. 25(24): 13292.

- Thanuja, B., & Parimalavalli, R. 2018. Role of Black Rice in Health and Diseases. *Internasional Journal of Health Science & Research*. 8: 241-248.
- Tokgozoglu, L., & Kayikcioglu, M. 2021. Familial Hypercholesterolemia: Global Burden and Approaches. *Current Cardiology Reports*. 23(151): 1-13.
- Tripathi, A., & Misra, K. 2017. Molecular Docking: A Structure-Based Drug Designing Approach. *JSM Chem*. 5(2): 1042-1047.
- Truzzi, F., Tibaldi, C., Zhang, Y., Dinelli, G., & D' Amen, E. 2021. An Overview on Dietary Polyphenols and Their Biopharmaceutical Classification System (Bcs). *International Journal of Molecular Sciences*. 22(11): 5514.
- Uivarasan, A., Lukinac, J., Jukić, M., Šelo, G., Peter, A., Nicula, C., Mihaly Cozmata, A., & Mihaly Cozmata, L. 2024. Characterization of Polyphenol Composition and Starch and Protein Structure in Brown Rice Flour, Black Rice Flour and Their Mixtures. *Foods*. 13(11): 1592.
- Upadhyaya, S. R., Bashyal, J., Raut, B. K., & Parajuli, N. 2025. In Silico Study Of Therapeutic Potential Of Natural Polyphenol Derivatives Targeting Pancreatic Lipase. *Discover Chemistry*. 2(1): 189.
- Vardhani, A. F. I. F. A. H., Jufri, M. A. H. D. I., & Purwaningsih, E. R. N. I. 2020. Potency of γ -Oryzanol Rich Black Rice Bran (*Oryza sativa L. Indica*) Extract for Tyrosinase Inhibition. *Int J Pharm Pharm Sci*. 12(5): 90-93.
- Venkatesh, P., & Kasi, A. 2025. *Pancrelipase Therapy*. In StatPearls: StatPearls Publishing. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK534816/>
- Verma, C., Quraishi, M. A., & Rhee, K. Y. 2022. Natural Ligands: Promising Ecofriendly Alternatives for Corrosion Protection and Plethora of Many Prospects. *Process Safety & Environmental Protection*. 162: 253-290.
- Vo, C. V. T., Luu, N. V., Nguyen, T. T., Nguyen, T. T., Ho, B. Q., Nguyen, T. H., Nguyeng, T. T., Ho, B. Q., Nguyen, T. H., Tran T. D., & Nguyen, Q. T. 2022. Screening For Pancreatic Lipase Inhibitors: Evaluating Assay Conditions Using P-Nitrophenyl Palmitate as Substrate. *All Life*. 15(1): 13-22.
- Vo, T. T. T., Peng, T. Y., Nguyen, T. H., Bui, T. N. H., Wang, C. S., Lee, W. J., Chen, Y. H., & Lee, I. T. 2024. The Crosstalk Between Copper-Induced Oxidative Stress and Cuproptosis: A Novel Potential Anticancer Paradigm. *Cell Communication & Signaling*. 22(1): 353.
- Wang, H. H., Garruti, G., Liu, M., Portincasa, P., & Wang, D. Q. 2018. Cholesterol And Lipoprotein Metabolism and Atherosclerosis: Recent Advances in Reverse Cholesterol Transport. *Annals Of Hepatology*. 16(1): 27-42.
- Wang, P., Song, X., & Liang, Q. 2025. Molecular Docking Studies and In Vitro Activity of Pancreatic Lipase Inhibitors from Yak Milk Cheese. *International Journal of Molecular Sciences*. 26(2): 756.
- Wardawati, Sulaiman, Y., Suharmi, S., Sebba, A. K., Zulkifli, Z., Dina, D., Rifai, A., Alawiyah, T., Asmuni, A., Haerani, H., Putri, S. A., Wulandari, E., & Sastrariah, S. 2022. *Dasar-Dasar Ilmu Gizi*. Yayasan Penerbit Muhammad Zaini: Aceh.

- Wresdiyati, T., Rizaldi, D. A., & Purnawan, T. 2023. Hypercholesterolemia and Its Management Using Various Bioactive Compounds: A Literature Review. *Jurnal Veteriner*. 24(3).
- Xiao, J., Dong, L. W., Liu, S., Meng, F. H., Xie, C., Lu, X. Y., Zhang, W. J., Luo, J., & Song, B. L. Bile Acids-Mediated Intracellular Cholesterol Transport Promotes Intestinal Cholesterol Absorption And NPC1L1 Recycling. *Nature Communications*, 14(1): 6469.
- Xiao, Y., Nie, M., Zhao, H., Li, D., Gao, R., Zhou, C., Xu, Y., Dai, Z., & Zhang, Z. Citrus Flavanones Enhance The Bioaccessibility Of β -Carotene By Improving Lipid Lipolysis And Incorporation Into Mixed Micelles. *Journal Of Functional Foods*, 87, 104792.
- Xie, B., Wang, M., & Yang, D. 2024. Identification of Anthocyanins in Deep Colored Berries and Grains in China. *Food Chemistry: X*. 23: 101602.
- Xu, C., Fu, F., She, Y., & Xu, C. NPC1L1 Plays A Novel Role In Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *ACS Omega*, 8(51): 48586-48589.
- Xu, Y., Hu, D., Li, Y., Sun, C., & Chen, W. 2018. An Effective Method for Preparation of High-Purity Pelargonidin-3-O-Glucoside from Strawberry and Its Protective Effect on Cellular Oxidative Stress. *Journal of Chromatography B*. 1072: 211-220.
- Xu, Y., Li, Y., Xie, J., Xie, L., Mo, J., & Chen, W. 2021. Bioavailability, Absorption, and Metabolism of Pelargonidin-Based Anthocyanins Using Sprague–Dawley Rats and Caco-2 Cell Monolayers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 69(28): 7841-7850.
- Yanda, W. 2020. Respon Pemberian Pupuk Organik Cair Keong Mas dan Biochar Kendaga Biji Karet Terhadap Peningkatan Produksi Tanaman Padi Hitam (*Oriza Sativa L.*). *Skripsi*. Fakultas Pertanian, Univ. Medan Area, Medan.
- Yao, S. L., Xu, Y., Zhang, Y. Y., & Lu, Y. H. 2013. Black Rice and Anthocyanins Induce Inhibition of Cholesterol Absorption *In Vitro*. *Food & Function*. 4(11).
- Ye, A., Roy, D., & Singh, H. 2020. Structurel Changes to Milk Protein Products during Gastrointestinal Digestion. *Milk Proteins*. 671-700.
- Yuan, T., Wang, L., Chen, L., Zhong, J., Lin, Y., Wang, Y., Lin, C., & Fan, H. (2024). Combinatorial Preparation and Structurel Characterization of Anthocyanins and Aglycones from Purple-Heart Radish for Evaluation of Physicochemical Stability and Pancreatic Lipase Inhibitory Activity. *Food Chemistry*. 446: 138832.
- Zang, X., Zhu, Y., Song, F., Yao, Y., Ya, F., Li, D., Ling, W., & Yang, Y. 2016. Effects of Purified Anthocyanin Supplementation on Platelet Chemokines in Hypocholesterolemic Individuals: A Randomized Controlled Trial. *Nutrition & Metabolism*. 13(1): 1-12.
- Zeki, N. M., & Mustafa, Y. F. 2024. Digital Alchemy: Exploring the Pharmacokinetic and Toxicity Profiles of Selected Coumarin-Heterocycle Hybrids. *Results in Chemistry*. 10: 101754.
- Zhang, B., Kuipers, F., de Boer, J. F., & Kuivenhoven, J. A. 2021. Modulation of Bile Acid Metabolism to Improve Plasma Lipid and Lipoprotein Profiles. *Journal of Clinical Medicine*. 11(1): 4.

- Zhang, S., Li, X., Ai, B., Zheng, L., Zheng, X., Yang, Y., Xiao, D., & Sheng, Z. 2022. Binding of β -Lactoglobulin to Three Phenolics Improves the Stability of Phenolics Studied by Multispectral Analysis and Molecular Modeling. *Food Chemistry*: X. 15: 100369. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2022.100369>.
- Zhang, S., Ma, Q., Dong, L., Jia, X., Liu, L., Huang, F., Liu, G., Sun, Z., Chi, J., Zhang, M., & Zhang, R. 2022. Phenolic Profiles and Bioactivities of Different Milling Fractions of Rice Bran from Black Rice. *Food Chemistry*. 378: 132035.
- Zhang, X., Xia, M., Zhao, J., Cao, Z., Zou, W., & Zhou, Q. 2022. Photoaging Enhanced the Adverse Effects of Polyamide Microplastics on the Growth, Intestinal Health, and Lipid Absorption in Developing Zebrafish. *Environment International*. 158: 106922.
- Zhang, Y., Luo, X. A., Zhu, L. J., Wang, S. Z., Jia, M. Q., & Chen, Z. X. 2019. Catalytic Behavior of Pancreatic Lipase in Crowded Medium for Hydrolysis of Medium-Chain and Long-Chain Lipid: An Isothermal Titration Calorimetry Study. *Thermochimica Acta*. 672: 70-78.
- Zhou, Q., Zhou, J., Liu, X., Zhang, Y. B., & Cai, S. 2020. Digestive Enzyme Inhibition Of Different Phenolic Fractions And Main Phenolic Compounds Of Ultra-High-Pressure-Treated Palm Fruits: Interaction And Molecular Docking Analyses. *Journal of Food Quality*. 2020(1): 8811597.
- Zulfamidah, Z., Abdullah, R. P. I., & Fajriansyah, F. 2022. Pkm Sosialisasi Bahaya Hiperkolesterolemia pada Tubuh dan Pemeriksaan Kadar Kolesterol di Desa Paddingin Kabupaten Takalar. *Jurnal Pengabdian Kedokteran Indonesia*. 3(1): 14-20.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyadari bahwa pelaksanaan penelitian dan penulisan naskah ini tidak dapat terselesaikan tanpa bantuan, bimbingan, dukungan dan doa dari berbagai pihak. Maka dari itu pada kesempatan ini, penulis ingin menyampaikan rasa hormat dan terima kasih yang tulus kepada :

1. Tuhan Yang Maha Esa yang telah memberikan kesabaran, kekuatan dan kesehatan kepada penulis sehingga penulisan naskah penelitian ini dapat terselesaikan dengan baik.
2. Diri sendiri yang telah berjuang dan bertahan dari awal sampai akhir kuliah, terutama dalam proses penulisan naskah penelitian.
3. Dr. Sunarno, S. Si., M. Si. selaku dosen pembimbing pertama dan Rizki Sandhi Titisari, S. Si, M. Si. selaku dosen pembimbing kedua yang telah memberikan arahan, nasihat dan bimbingan kepada penulis selama proses penulisan naskah.
4. Dr. Dra. Agung Janika Sitasiwi, M. Si. selaku kepala Laboratorium Biologi Struktur dan Fungsi Tumbuhan Departemen Biologi dan dosen penguji yang telah memberikan saran dan kritik yang bermanfaat pada naskah penelitian.
5. Prof. Drs. Sapto Purnomo Putro, M. Si., Ph. D. selaku ketua Departemen Biologi
6. Seluruh keluarga besar penulis termasuk orang tua, saudara kandung maupun saudara jauh penulis yang selalu berdoa untuk kesehatan dan kelancaran penulis dalam menyelesaikan tugas akhir.

7. Roihana Zulfa selaku teman seperjuangan kuliah penulis, Nicco Chandra selaku teman kecil penulis, Amalia Khusna, Hans Peter, serta Darren Tan selaku teman penulis yang telah menjadi tempat berbagi cerita, tawa dan sedih hingga saat ini.
8. Fauzan Ramadhan Putra, dan Azra Muhammad Bhaskarogra selaku teman-teman terdekat penulis yang telah menemani dan memberikan kebahagiaan selama penulis di Semarang.
9. Nisrinaa Syarifah Yusuf, Adzra Salsabila Kirana, dan Fatimah Usfatina selaku teman-teman satu pembimbing penulis dan seangkatan, yang sering membantu penulis berdiskusi terkait penulisan naskah, sehingga penulis dapat termotivasi dalam menyelesaikannya dengan baik.
10. Member-member dari komunitas Gara Gara Roblox (G2R) dan Squad Tablo yang telah membuat penulis bahagia di masa-masa sulit. Penulis sangat bersyukur dapat mengenal mereka meskipun secara tidak langsung, dan berharap suatu saat dapat dipertemukan.
11. Teman-teman lainnya yang penulis kenal melalui media sosial, terima kasih karena selalu memberikan kebahagiaan dan kekuatan kepada penulis melalui karya seni yang dibuat.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Tabel hasil prediksi toksisitas pada semua senyawa antosianin.

Ligand	Rat IP LD50 (mg/kg)	Rat IP LD50 Classification	Rat IV LD50 (mg/kg)	Rat IV LD50 Classification	Rat Oral LD50 (mg/kg)	Rat Oral LD50 Classification	Rat SC LD50 (mg/kg)	Rat SC LD50 Classification
<i>cyanidin 3-O-glucoside</i>	716,9	5	3390	Non-toxic	2074	5	5178	Non-toxic
<i>peonidin 3-O-glucoside</i>	722,4	5	1976	Non-toxic	3147	5	4558	Non-toxic
<i>delphinidin 3-O-glucoside</i>	815,6	5	4320	Non-toxic	2009	5	8603	Non-toxic
<i>malvidin 3-O-glucoside</i>	554,8	5	2518	Non-toxic	3074	5	5894	Non-toxic
<i>petunidin 3-O-glucoside</i>	472	4	2325	Non-toxic	3070	5	4490	Non-toxic
<i>pelargonidin 3-O-glucoside</i>	960,2	5	3602	Non-toxic	2066	5	6988	Non-toxic

Lampiran 2. Hasil prediksi ADMET senyawa *cyanidin 3-O-glucoside*

Predict

Models

Blood-Brain Barrier

Model A_BBB_I

The entire dataset were collected from Sheri's work, which included 1839 compounds (1438 BBB+ and 401 BBB- compounds).

Q 0.9429 SE 0.9861

SP 0.788 AUC 0.9517

Reference

Input SMILES Here

SMILES:

Lampiran 3. Hasil prediksi ADMET senyawa *peonidin 3-O-glucoside*

Models

Blood-Brain Barrier

ModelA_BBB_I

The entire dataset were collected from Sheri's work, which included 1839 compounds (1438 BBB+ and 401 BBB- compounds).

Q0.9429SE0.9861

SP0.788AUC0.9517

Reference

Input SMILES Here

SMILES:COC1=C(C=CC(=C1)C2=[O+]C3=CC(=CC(=C3C=C2O[C@H]4[C@@H]([C@H]([C@@H]([C@H]4)O)O)O)O)O

Predict

Results

ADMET Predicted Profile --- Classification

Model	Result	Probability
Absorption		
Blood-Brain Barrier	BBB-	0.7556
Human Intestinal Absorption	HIA-	0.6123
Caco-2 Permeability	Caco2-	0.7923
P-glycoprotein Substrate	Substrate	0.5937
P-glycoprotein Inhibitor	Non-inhibitor	0.9505
Renal Organic Cation Transporter	Non-inhibitor	0.8526
Distribution		
Subcellular localization	Nucleus	0.4937
Metabolism		
CYP450 2C9 Substrate	Non-substrate	0.7224
CYP450 2D6 Substrate	Non-substrate	0.8594
CYP450 3A4 Substrate	Non-substrate	0.5058
CYP450 1A2 Inhibitor	Non-inhibitor	0.8376
CYP450 2C9 Inhibitor	Non-inhibitor	0.8455
CYP450 2D6 Inhibitor	Non-inhibitor	0.8933
CYP450 2C19 Inhibitor	Non-inhibitor	0.7540
CYP450 3A4 Inhibitor	Non-inhibitor	0.9149
CYP Inhibitory Promiscuity	Low CYP Inhibitory Promiscuity	0.7025
Excretion		
Toxicity		
Human Ether-a-go-go-Related Gene Inhibition	Weak inhibitor	0.9521
AMES Toxicity	Non-AMES toxic	0.7656
Carcinogens	Non-carcinogens	0.6463
Fish Toxicity	High FHMT	0.9392
Tetrahymena Pyriformis Toxicity	High TPT	0.7564
Honey Bee Toxicity	High HBT	0.9736
Biodegradation	Not ready biodegradable	0.6081
Acute Oral Toxicity	III	0.7112
Carcinogenicity (Three-class)	Non-required	0.6096

ADMET Predicted Profile --- Regression

Model	Value	Unit
Absorption		
Aqueous solubility	-2.9316	LogS
Caco-2 Permeability	-0.5882	LogPapp, cm/s
Distribution		
Metabolism		
Excretion		
Toxicity		
Rat Acute Toxicity	2.5194	LD50, mol/kg
Fish Toxicity	0.7701	pLC50, mg/L
Tetrahymena Pyriformis Toxicity	0.2912	pIGC50, ug/L

Lampiran 4. Hasil prediksi ADMET senyawa *delphinidin 3-O-glucoside*

Predict			
Models Blood-Brain Barrier Model A_BBB_I Desc. The entire dataset were collected from Sher's work, which included 1839 compounds (1438 BBB+ and 401 BBB- compounds). Q 0.9429 SE 0.9861 SP 0.788 AUC 0.9517 Reference		Input SMILES Here SMILES: <chem>C1=C(C=C(C(=C1O)O)C2=O+ C3=CC(=CC(=C3C=C2O)[C@H]4[C@@H](C@H)([C@@H]4</chem> Predict	
Results ADMET Predicted Profile --- Classification			
Model	Result	Probability	
Absorption			
Blood-Brain Barrier	BBB-	0.5551	
Human Intestinal Absorption	HIA-	0.8367	
Caco-2 Permeability	Caco2-	0.9012	
P-glycoprotein Substrate	Substrate	0.5543	
P-glycoprotein Inhibitor	Non-inhibitor	0.9364	
Renal Organic Cation Transporter	Non-inhibitor	0.8584	
Distribution			
Subcellular localization	Nucleus	0.4412	
Metabolism			
CYP450 2C9 Substrate	Non-substrate	0.8185	
CYP450 2D6 Substrate	Non-substrate	0.8718	
CYP450 3A4 Substrate	Non-substrate	0.6071	
CYP450 1A2 Inhibitor	Non-inhibitor	0.8856	
CYP450 2C9 Inhibitor	Non-inhibitor	0.9002	
CYP450 2D6 Inhibitor	Non-inhibitor	0.9191	
CYP450 2C19 Inhibitor	Non-inhibitor	0.8426	
CYP450 3A4 Inhibitor	Non-inhibitor	0.9550	
CYP Inhibitory Promiscuity	Low CYP Inhibitory Promiscuity	0.7819	
Excretion			
Toxicity			
Human Ether-a-go-go-Related Gene Inhibition	Weak inhibitor	0.9604	
AMES Toxicity	Non-AMES toxic	0.6352	
Carcinogens	Non-carcinogens	0.9558	
Fish Toxicity	High FHMT	0.7644	
Tetrahymena Pyriformis Toxicity	High TPT	0.8065	
Honey Bee Toxicity	High HBT	0.6379	
Biodegradation	Ready biodegradable	0.6168	
Acute Oral Toxicity	III	0.4439	
Carcinogenicity (Three-class)	Non-required	0.6532	
ADMET Predicted Profile --- Regression			
Model	Value	Unit	
Absorption			
Aqueous solubility	-2.5111	LogS	
Caco-2 Permeability	-0.9220	LogPapp, cm/s	
Distribution			
Metabolism			
Excretion			
Toxicity			
Rat Acute Toxicity	2.2223	LD50, mol/kg	
Fish Toxicity	1.1989	pLC50, mg/L	
Tetrahymena Pyriformis Toxicity	0.2031	pIGC50, ug/L	

Lampiran 5. Hasil prediksi ADMET senyawa *malvidin 3-O-glucoside*

Predict			
Models Blood-Brain Barrier Model A_BBB_I Desc. The entire dataset were collected from Sher's work, which included 1839 compounds (1438 BBB+ and 401 BBB- compounds). Q 0.9429 SE 0.9861 SP 0.788 AUC 0.9517 Reference		Input SMILES Here SMILES: COC1=CC(=CC(=C1O)OC)C2=[O+]C3=CC(=CC(=C3C=C2O[C@H]4[C@@H]([C@H]([C@@H]4O)O)O)O)O Predict	
Results ADMET Predicted Profile --- Classification			
Model	Result	Probability	
Absorption			
Blood-Brain Barrier	BBB-	0.8788	
Human Intestinal Absorption	HIA-	0.8759	
Caco-2 Permeability	Caco2-	0.8406	
P-glycoprotein Substrate	Substrate	0.6409	
P-glycoprotein Inhibitor	Non-inhibitor	0.9338	
Renal Organic Cation Transporter	Non-inhibitor	0.8580	
Distribution			
Subcellular localization	Mitochondria	0.4444	
Metabolism			
CYP450 2C9 Substrate	Non-substrate	0.8049	
CYP450 2D6 Substrate	Non-substrate	0.8770	
CYP450 3A4 Substrate	Non-substrate	0.5000	
CYP450 1A2 Inhibitor	Non-inhibitor	0.8736	
CYP450 2C9 Inhibitor	Non-inhibitor	0.9021	
CYP450 2D6 Inhibitor	Non-inhibitor	0.9124	
CYP450 2C19 Inhibitor	Non-inhibitor	0.8659	
CYP450 3A4 Inhibitor	Non-inhibitor	0.9390	
CYP Inhibitory Promiscuity	Low CYP Inhibitory Promiscuity	0.7446	
Excretion			
Toxicity			
Human Ether-a-go-go-Related Gene Inhibition	Weak inhibitor	0.9666	
AMES Toxicity	Non-AMES toxic	0.8470	
Carcinogens	Non-carcinogens	0.9562	
Fish Toxicity	High FHMT	0.6419	
Tetrahymena Pyriformis Toxicity	High TPT	0.9237	
Honey Bee Toxicity	High HBT	0.6595	
Biodegradation	Not ready biodegradable	0.5812	
Acute Oral Toxicity	III	0.6596	
Carcinogenicity (Three-class)	Non-required	0.6723	
ADMET Predicted Profile --- Regression			
Model	Value	Unit	
Absorption			
Aqueous solubility	-2.5341	LogS	
Caco-2 Permeability	-0.6119	LogPapp, cm/s	
Distribution			
Metabolism			
Excretion			
Toxicity			
Rat Acute Toxicity	2.2742	LD50, mol/kg	
Fish Toxicity	1.2206	pLC50, mg/L	
Tetrahymena Pyriformis Toxicity	0.1759	pIGC50, ug/L	

Lampiran 6. Hasil prediksi ADMET senyawa *petunidin 3-O-glucoside*

Predict			
Models Blood-Brain Barrier Model A_BBB_I Desc. The entire dataset were collected from Shen's work, which included 1839 compounds (1438 BBB+ and 401 BBB- compounds). Q 0.9429 SE 0.9861 SP 0.788 AUC 0.9517 Reference		Input SMILES Here SMILES: <chem>COC1=CC(=CC(=C1O)O)C2=[O+]C3=CC(=CC(=C3C=C2O)[C@H]4[C@@H]([C@H]([C@@H]([C@@H]([C@H]4O)O)O)O)O)O</chem> Predict	
Results ADMET Predicted Profile — Classification			
Model	Result	Probability	
Absorption			
Blood-Brain Barrier	BBB-	0.8551	
Human Intestinal Absorption	HIA-	0.8436	
Caco-2 Permeability	Caco2-	0.8470	
P-glycoprotein Substrate	Substrate	0.6401	
P-glycoprotein Inhibitor	Non-inhibitor	0.9284	
	Non-inhibitor	0.8512	
Renal Organic Cation Transporter	Non-inhibitor	0.8899	
Distribution			
Subcellular localization	Nucleus	0.4385	
Metabolism			
CYP450 2C9 Substrate	Non-substrate	0.7698	
CYP450 2D6 Substrate	Non-substrate	0.8708	
CYP450 3A4 Substrate	Non-substrate	0.5380	
CYP450 1A2 Inhibitor	Non-inhibitor	0.8757	
CYP450 2C9 Inhibitor	Non-inhibitor	0.8838	
CYP450 2D6 Inhibitor	Non-inhibitor	0.9199	
CYP450 2C19 Inhibitor	Non-inhibitor	0.8383	
CYP450 3A4 Inhibitor	Non-inhibitor	0.9475	
CYP Inhibitory Promiscuity	Low CYP Inhibitory Promiscuity	0.7426	
Excretion			
Toxicity			
Human Ether-a-go-go-Related Gene Inhibition	Weak inhibitor	0.9550	
	Non-inhibitor	0.7534	
AMES Toxicity	Non AMES toxic	0.6780	
Carcinogens	Non-carcinogens	0.9620	
Fish Toxicity	High FHMT	0.6563	
Tetrahymena Pyriformis Toxicity	High TPT	0.9066	
Honey Bee Toxicity	High HBT	0.6337	
Biodegradation	Ready biodegradable	0.5901	
Acute Oral Toxicity	III	0.6492	
Carcinogenicity (Three-class)	Non-required	0.6325	
ADMET Predicted Profile — Regression			
Model	Value	Unit	
Absorption			
Aqueous solubility	-2.4040	LogS	
Caco-2 Permeability	-0.7276	LogPapp, cm/s	
Distribution			
Metabolism			
Excretion			
Toxicity			
Rat Acute Toxicity	2.1315	LD50, mol/kg	
Fish Toxicity	1.2432	pLC50, mg/L	
Tetrahymena Pyriformis Toxicity	0.1447	pIGC50, ug/L	

Lampiran 7. Hasil prediksi ADMET senyawa *pelargonidin 3-O-glucoside*

Predict			
Models		Input SMILES Here	
Blood-Brain Barrier			
Model	A_BBB_I	SMILES: C1=CC(=CC=C1)C2=[O+]C3=CC(=CC(=C3)C2O)[C@H]4[C@@H](C@H)(C@H)(C@H)(C@H)(C@H)(C@H) Predict	
Desc.	The entire dataset were collected from Sher's work, which included 1839 compounds (1438 BBB+ and 401 BBB- compounds).		
Q	0.9429	SE	0.9861
SP	0.788	AUC	0.9517
Reference			
Results			
ADMET Predicted Profile --- Classification			
Model	Result	Probability	
Absorption			
Blood-Brain Barrier	BBB+	0.5767	
Human Intestinal Absorption	HIA-	0.6009	
Caco-2 Permeability	Caco2-	0.8481	
P-glycoprotein Substrate	Substrate	0.5000	
P-glycoprotein Inhibitor	Non-inhibitor	0.9530	
	Non-inhibitor	0.8478	
Renal Organic Cation Transporter	Non-inhibitor	0.8993	
Distribution			
Subcellular localization	Nucleus	0.4904	
Metabolism			
CYP450 2C9 Substrate	Non-substrate	0.7783	
CYP450 2D6 Substrate	Non-substrate	0.8600	
CYP450 3A4 Substrate	Non-substrate	0.5754	
CYP450 1A2 Inhibitor	Non-inhibitor	0.8308	
CYP450 2C9 Inhibitor	Non-inhibitor	0.8680	
CYP450 2D6 Inhibitor	Non-inhibitor	0.8865	
CYP450 2C19 Inhibitor	Non-inhibitor	0.7689	
CYP450 3A4 Inhibitor	Non-inhibitor	0.9202	
CYP Inhibitory Promiscuity	Low CYP Inhibitory Promiscuity	0.7468	
Excretion			
Toxicity			
Human Ether-a-go-go-Related Gene Inhibition	Weak inhibitor	0.9579	
	Non-inhibitor	0.7077	
AMES Toxicity	Non AMES toxic	0.6009	
Carcinogens	Non-carcinogens	0.9305	
Fish Toxicity	High FHMT	0.8389	
Tetrahymena Pyriformis Toxicity	High TPT	0.9548	
Honey Bee Toxicity	High HBT	0.6151	
Biodegradation	Not ready biodegradable	0.6926	
Acute Oral Toxicity	III	0.4306	
Carcinogenicity (Three-class)	Non-required	0.6175	
ADMET Predicted Profile --- Regression			
Model	Value	Unit	
Absorption			
Aqueous solubility	-3.0979	LogS	
Caco-2 Permeability	-0.7599	LogPapp, cm ² /s	
Distribution			
Metabolism			
Excretion			
Toxicity			
Rat Acute Toxicity	2.6483	LD50, mol/kg	
Fish Toxicity	0.7078	pLC50, mg/L	
Tetrahymena Pyriformis Toxicity	0.4104	pIGC50, ug/L	

Lampiran 8. Tabel hasil simulasi *docking* enam senyawa antosianin, orlistat dan ligan asli terhadap enzim *Pancreatic Lipase* (PL)

Ligand	Binding Affinity (kcal/mol)				
	Ulangan				
	1	2	3	4	5
<i>cyanidin 3-O-glucoside</i>	-8.9	-8.2	-8.1	-8.4	-8.3
<i>peonidin 3-O-glucoside</i>	-8.9	-8.3	-8.1	-8.1	-8.1
<i>delphinidin 3-O-glucoside</i>	-8.8	-8.2	-7.7	-7.6	-8.2
<i>malvidin 3-O-glucoside</i>	-8.7	-8.3	-7.5	-7.5	-7.4
<i>petunidin 3-O-glucoside</i>	-9.7	-9.6	-9.2	-8.1	-7.6
<i>pelargonidin 3-O-glucoside</i>	-9.1	-8.1	-7.7	-7.6	-8.1
<i>Native ligand</i>	-4.8	-4.4	-4.9	-4.4	-5.0
<i>Orlistat</i>	-7.0	-6.8	-5.1	-5.0	-5.0

Lampiran 9. Hasil uji normalitas nilai *binding affinity* senyawa antosianin

Tests of Normality						
	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
VAR00001	.180	30	.014	.924	30	.034

a. Lilliefors Significance Correction

Lampiran 10. Hasil uji homogenitas nilai *binding affinity* senyawa antosianin

Tests of Homogeneity of Variances					
		Levene	df1	df2	Sig.
		Statistic			
VAR00001	Based on Mean	2.979	5	24	.031
	Based on Median	.963	5	24	.460
	Based on Median and with adjusted df	.963	5	17.140	.467
	Based on trimmed mean	2.792	5	24	.040

Lampiran 11. Hasil analisis uji Kruskal-Wallis

Test Statistics^{a,b}

VAR00001

Kruskal-Wallis H	5.602
df	5
Asymp. Sig.	.347

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: antosianin

DAFTAR RIWAYAT HIDUP



1.	Nama Lengkap	Evelyn Edlyna
2.	Jenis Kelamin	Perempuan
3.	Program Studi	Biologi
4.	NIM	24020121140199
5.	Tempat/ Tanggal Lahir	Tangerang/ 19 Agustus 2003
6.	Alamat E-mail	evelynedlyna19@gmail.com
7.	Nomor Telephon/HP	089657375774
8.	Alamat	Jl. Jatisari IV no. 9, Tembalang, Kec. Tembalang, Kota Semarang, Jawa Tengah 50275

RIWAYAT PENDIDIKAN

Nama Sekolah	Tahun Lulus
IPEKA Tomang Sekolah Kristen I	2015
IPEKA Tomang Sekolah Kristen II	2018
SMA Negeri 112 Jakarta	2021

PENGALAMAN ORGANISASI

No.	Jenis Kegiatan	Status dalam Kegiatan	Waktu dan Tempat
1.	Research Incubator Center (RIC)	Kepala Bidang NIC	2024 Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro
2.	Unit Kegiatan Mahasiswa Panahan	Staff Muda Bidang PSDM	2023 Universitas Diponegoro

PENGALAMAN SEMINAR

No.	Jenis Kegiatan	Penyelenggara	Waktu
1.	Latihan Keterampilan Manajemen Mahasiswa Pra Dasar	Departemen Biologi Fakultas Sains dan Matematika Universitas Diponegoro	4-5 September 2021
2.	Grand Opening Research External (GORE)	Fakultas Sains dan Matematika Universitas Diponegoro	17 September 2021
3.	Diskusi Ilmiah Online Seri 3 “Strategi Bisnis Online”	Universitas Diponegoro	24 September 2021
4.	Visiting Professor on Biotechnology Study Program “ <i>Application of Molecular Biology on Development of Vaccines for Fisheries</i> ”	Universitas Diponegoro	25 Oktober 2021
5.	Gelar Karya Diestetika Sehat S1 Gizi 2019	Universitas Airlangga	14 Januari 2022
6.	Diskusi Ilmiah Online Seri 9 “Potensi Tanaman Obat Indonesia Sebagai Agen Sitotoksik Sel Kanker Melalui Uji <i>In Vitro</i> ”	Universitas Diponegoro	25 Maret 2023
7.	Diskusi Ilmiah Online Seri 12 “Bioteknologi Fermentasi Untuk Pangan Fungsional”	Universitas Diponegoro	30 September 2023
8.	Webinar Series #15 “Riset Kanker & <i>In Silico</i> ”	Virtual Research Center for Bioinformatics and Biotechnology (VRCBB) dan CV Jalan Tengah	19 Januari 2025

PENGALAMAN ASISTEN PRAKTIKUM

Praktikum	Tahun
Fisiologi Tumbuhan	2023
Morfologi Tumbuhan	2023
Kultur Jaringan Tumbuhan	2024

Fisiologi Hewan	2025
-----------------	------

PENGALAMAN KERJA PRAKTIK

Judul	Tempat	Tahun
Penambahan BAP pada Media Subkultur Tanaman Kentang <i>Granola</i> (<i>Solanum tuberosum</i> <i>Granola</i> L.) Secara <i>In Vitro</i> Di Instalansi Penelitian Dan Pengkajian Teknologi Pertanian Ungaran (IP2TP)	Instalansi Penelitian Dan Pengkajian Teknologi Pertanian Ungaran (IP2TP)	2023

Semarang, 11 Maret 2026

Penulis