Vol. 8, No. 2, Agustus 2026, pp 434-450
https://doi.org/10.36590/jika.v8i2.1755
http:salnesia.id/index.php/jika
jika@salnesia.id, p-ISSN: 2337-9847, e-ISSN: 2686-2883
Penerbit: Sarana Ilmu Indonesia (salnesia)

ARTIKEL PENELITIAN

Eksplorasi Mekanisme Kardioprotektif Fraksi Etil Asetat Vitex cofassus melalui Farmakologi Jejaring

Exploring the Cardioprotective Mechanisms of the Ethyl Acetate Fraction of Vitex cofassus Through Network Pharmacology

Puput Widarini[1], Ruslin Ruslin[2], Muhammad Arba[2*]

[1]Program Studi Farmasi, Postgraduate, Faculty of Pharmacy, Universitas Halu Oleo, Kendari, Indonesia

[2]Departemen Analisis Farmasi dan Kimia Medisinal, Faculty of Pharmacy, Universitas Halu Oleo, Kendari, Indonesia

Abstract

Cardiovascular diseases (CVDs) are the leading cause of mortality worldwide, with an increasing prevalence each year. The complexity of CVD pathophysiology, which involves multiple biological pathways, required a multitarget therapeutic approach. This study aimed to investigate the potential anti-cardiovascular activity of the ethyl acetate fraction of Vitex cofassus leaves through integrated phytochemical analysis, network pharmacology and molecular docking approaches. The ethyl acetate fraction of Vitex cofassus leaves was analyzed using liquid chromatography-high-resolution mass spectrometry (LC-HRMS), identifying 232 compounds, of which 104 met drug-likeness criteria. Network pharmacology screening revealed 274 potential cardiovascular-related targets. Gene Ontology (GO) analysis highlighted enriched biological processes including responses to oxygen-containing compounds, while cellular component analysis localized target genes primarily to plasma membrane structures, neuron projections, and synapses. Molecular functions were significantly associated with signaling receptor activity and kinase activity, while KEGG pathway analysis further linked Vitex cofassus to key cardiovascular pathways including neuroactive ligand-receptor interactions. The results of Network pharmacology analysis identified SRC, HSP90AA1 and TNF-a proteins as potential targets associated with cardiovascular diseases. Molecular docking studies demonstrated strong binding affinities of selected compounds to HSP90AA1, particularly Compound 74 (-9.703 kcal/mol) and Compound 199 (-9.471 kcal/mol), surpassing the HSP90AA1 native ligand. Similarly, TNF-α binding analysis revealed potent interactions, with Compound 20 (-4.483) and Compound 74 (-4.444) exhibiting superior affinity compared to the native ligand. In conclusion, these findings suggest that Vitex cofassus ethyl acetate fraction contains bioactive compounds with multi-target cardiovascular protective effects, supporting its potential as a therapeutic candidate for cardiovascular diseases.

Keywords: *cardiovascular, network pharmacology, src, Vitex cofassus*

Article history :

Submitted 15 September 2025
Accepted 25 Juli 2026
Published 25 Juli 2026

PUBLISHED BY:
Sarana Ilmu Indonesia (salnesia)
Address:
Jl. Dr. Ratulangi No. 75A, Baju Bodoa, Maros Baru, Kab. Maros, Provinsi Sulawesi Selatan, Indonesia

Email:
info@salnesia.id, jika@salnesia.id
Phone:
+62 85255155883

Abstrak

Penyakit kardiovaskular (CVD) merupakan penyebab utama kematian di seluruh dunia, dengan prevalensi yang terus meningkat setiap tahunnya. Kompleksitas patofisiologi CVD yang melibatkan berbagai jalur biologis memerlukan pendekatan terapi multitarget. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi aktivitas antikardiovaskular fraksi etil asetat daun Vitex cofassus melalui pendekatan fitokimia, farmakologi jaringan, dan molecular docking. Fraksi etil asetat daun Vitex cofassus dianalisis menggunakan liquid menggunakan LC-HRMS sehingga teridentifikasi 232 senyawa, di mana 104 senyawa di antaranya memenuhi kriteria sifat mirip obat. Analisis jejaring farmakologi menemukan 274 target kardiovaskular potensial. Analisis Gene Ontology (GO) menemukan proses biologis terkait Vitex cofassus di antaranya respon terhadap senyawa kimia, sedangkan analisis komponen seluler mengindikasikan bahwa target gen terutama berada di struktur membran sel. Analisis fungsi molekuler terkait dengan aktivitas pengikatan enzim, sedangkan analisis jalur KEGG menunjukkan keterkaitan Vitex cofassus dengan jalur kardiovaskular termasuk interaksi ligan reseptor neuroaktif. Hasil analisis jejaring farmakologi mengidentifikasi protein SRC, HSP90AA1 dan TNF-α sebagai target potensial yang berhubungan dengan penyakit kardiovaskular. Hasil penambatan molekul menunjukkan bahwa senyawa-senyawa terpilih memiliki afinitas ikatan yang kuat terhadap HSP90AA1, terutama senyawa 74 (-9,703 kcal/mol) dan senyawa 199 (-9,471 kcal/mol), yang bahkan melampaui ligan alami HSP90AA1. Demikian pula, analisis ikatan terhadap TNF-α menunjukkan interaksi yang kuat, di mana senyawa 20 (-4,483 kcal/mol) dan senyawa 74 (-4,444 kcal/mol) memiliki afinitas yang lebih baik dibandingkan ligan alaminya. Kesimpulannya, temuan ini menunjukkan bahwa fraksi etil asetat dari Vitex cofassus mengandung senyawa bioaktif dengan efek perlindungan kardiovaskular multi-target, sehingga mendukung potensinya sebagai kandidat terapeutik untuk penyakit kardiovaskular.

Kata Kunci: farmakologi jejaring, kardiovaskular, src, Vitex cofassus

*Penulis Korespondensi:
Muhammad Arba, email: muh.arba@uho.ac.id

*This is an open access article under the **CC–BY** license*

Highlight:

- Penelitian berhasil mengidentifikasi lebih dari seratus senyawa kandidat dengan karakteristik menyerupai obat (*drug-like compounds*) dari daun *Vitex cofassus* yang menargetkan ratusan protein terkait kardiovaskular.
- Melalui analisis farmakologi jaringan (*network pharmacology*) dan jalur KEGG, ekstrak tanaman menunjukkan mekanisme multitarget yang berpotensi memberikan efek kardioprotektif, terutama melalui modulasi proses biologis yang berkaitan dengan respons terhadap senyawa kimia dan oksigen serta penghambatan jalur inflamasi dan aterosklerosis.
- Analisis *molecular docking* mengonfirmasi bahwa beberapa senyawa bioaktif utama, seperti Senyawa 74 dan Senyawa 20, menunjukkan afinitas pengikatan yang lebih kuat terhadap protein target utama HSP90AA1 dan TNF-α dibandingkan dengan ligan alaminya.

PENDAHULUAN

Penyakit kardiovaskular (CVD) merupakan penyebab utama kematian dan disabilitas di seluruh dunia, menyebabkan sekitar 19 juta kematian setiap tahun dan 32,9% kematian akibat penyakit tidak menular (Qureshi et al., 2025; Jurado et al., 2025; Goh et al., 2025; Tsao et al., 2022). Kematian terkait CVD meningkat hampir 19% pada 2010–2020, dengan angka tertinggi di Eropa Timur, Asia Tengah, Timur Tengah, dan sebagian Afrika. Sebagian besar kasus baru terjadi pada individu berusia ≥50 tahun (Meeks dan Agyemang, 2025). Perserikatan Bangsa-Bangsa menargetkan penurunan 25% kematian dini akibat CVD melalui peningkatan pencegahan dan diagnosis dini.

CVD mencakup gangguan pada jantung dan pembuluh darah, seperti penyakit arteri koroner, stroke, gagal jantung, dan penyakit arteri perifer (Qureshi et al., 2025). Faktor risikonya meliputi hipertensi, peningkatan LDL, diabetes, obesitas, merokok, kurang aktivitas fisik, gangguan fungsi ginjal, aterosklerosis, dan predisposisi genetik (Parsa et al., 2025; Goh et al., 2025). Keterbatasan pendekatan konvensional dalam pengobatan presisi mendorong pengembangan strategi inovatif untuk memahami regulasi kompleks dan perkembangan CVD. Terapi farmakologis merupakan salah satu strategi yang hemat biaya untuk mengatasi faktor risiko metabolik.

Etil asetat merupakan pelarut semipolar yang efektif mengekstraksi metabolit sekunder bioaktif, terutama flavonoid, senyawa fenolik, dan terpenoid, yang memiliki aktivitas antioksidan dan antiinflamasi serta berpotensi memberikan perlindungan kardiovaskular (Jiang et al., 2015). Fraksi etil asetat umumnya memiliki kandungan fenolik dan flavonoid lebih tinggi dibandingkan fraksi pelarut lainnya, sehingga menunjukkan aktivitas antioksidan, antiinflamasi, dan kardioprotektif yang potensial. Stres oksidatif dan inflamasi merupakan faktor penting dalam perkembangan CVD. Genus *Vitex* diketahui memiliki berbagai aktivitas farmakologis, termasuk antimalaria, antioksidan, dan antibakteri (Rasamison et al., 2009), sedangkan *Vitex negundo* telah dilaporkan memiliki efek kardioprotektif (Prasad et al., 2017).

Penelitian ini mengevaluasi fraksi etil asetat *Vitex cofassus* sebagai agen potensial untuk perlindungan kardiovaskular. Mekanisme molekuler efek kardioprotektif *Vitex cofassus* masih belum banyak diketahui. Oleh karena itu, penelitian ini memanfaatkan farmakologi jaringan dan data kromatografi cair-spektrometri massa resolusi tinggi (LC-HRMS) untuk mengidentifikasi interaksi senyawa bioaktif dengan berbagai target dan jalur kardiovaskular. Analisis *molecular docking* juga dilakukan untuk memperjelas mekanisme pengikatan senyawa utama dengan target reseptor tertentu.

METODE

Daun *Vitex cofassus* dikumpulkan pada Juni 2024 dari Kesatuan Pengelolaan Hutan (KPH) Gantara di Desa Liwu Metingki, Kabupaten Muna, Sulawesi Tenggara, Indonesia. Spesies tersebut diidentifikasi oleh Laboratorium Farmasi Universitas Halu Oleo, Indonesia. Daun yang baru dipanen dibersihkan, diiris tipis, dan dikeringkan dengan diangin-anginkan hingga menghasilkan simplisia kering. Bahan kering kemudian dimaserasi menggunakan metanol, dilanjutkan dengan penguapan pelarut untuk menghasilkan ekstrak kasar. Fraksinasi selanjutnya dilakukan menggunakan etil asetat dan pemurnian melalui kromatografi kolom. Terakhir, fraksi etil asetat dianalisis menggunakan kromatografi cair-spektrometri massa resolusi tinggi (LC-HRMS) untuk mengidentifikasi kandungan kimianya (Zubair et al., 2021; Arba et al., 2025).

Analisis kromatografi dilakukan menggunakan sistem Thermo Scientific™

Vanquish™ UHPLC Binary Pump yang terhubung dengan Q Exactive™ Hybrid Quadrupole-Orbitrap™ High-Resolution Mass Spectrometer untuk memperoleh profil metabolik secara komprehensif. Pemisahan dilakukan menggunakan kolom Thermo Scientific™ Accucore™ Phenyl-Hexyl (100 mm × 2,1 mm ID, ukuran partikel 2,6 µm), dengan kondisi analisis yang mengacu pada metode yang telah ditetapkan (Windarsih et al., 2022).

Senyawa yang diidentifikasi melalui LC-HRMS dievaluasi berdasarkan sifat *drug-like* menggunakan perangkat daring SwissADME (http://www.swissadme.ch/). Skrining awal menerapkan kriteria *Lipinski's Rule of Five*, yaitu massa molekul (≤500 Da), donor ikatan hidrogen (≤5), akseptor ikatan hidrogen (≤10), dan LogP (≤5). Seleksi selanjutnya mensyaratkan senyawa memiliki skor bioavailabilitas >0,55 dan absorpsi gastrointestinal tinggi berdasarkan prediksi SwissADME. Senyawa yang tidak memenuhi lebih dari satu kriteria Lipinski, memiliki skor bioavailabilitas <0,55, atau menunjukkan absorpsi intestinal yang rendah dieliminasi dari penelitian selanjutnya.

Target biologis potensial dari fraksi etil asetat *Vitex cofassus* diprediksi menggunakan basis data SwissTargetPrediction dan SEA (*Similarity Ensemble Approach*). SwissTargetPrediction dipilih karena memiliki kinerja prediksi target yang andal berdasarkan analisis kemiripan kimia dan basis data bioaktivitas tervalidasi yang luas. Hanya target *Homo sapiens* dengan skor probabilitas >0 yang dimasukkan dalam analisis selanjutnya (Keiser et al., 2007). Gen yang berkaitan dengan penyakit kardiovaskular diperoleh dari basis data OMIM (https://www.omim.org) dan GeneCards (https://www.genecards.org) (Rebhan et al., 1998; Amberger et al., 2015; Arba et al., 2025), dengan fokus pada 500 target paling relevan (Jiang et al., 2021). Target yang sama antara target senyawa hasil prediksi dan target terkait kardiovaskular diidentifikasi dan divisualisasikan melalui diagram Venn menggunakan platform daring Bioinformatics and Systems Biology (https://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/Venn).

Jaringan interaksi protein-protein (PPI) dibentuk menggunakan basis data STRING (https://string-db.org) dengan protein target yang sama sebagai kueri. Analisis dilakukan secara khusus pada *Homo sapiens* dengan menerapkan batas skor kepercayaan yang ketat sebesar 0,700. Simpul merepresentasikan protein, sedangkan sisi merepresentasikan interaksi protein-protein. Gen hub diidentifikasi menggunakan Cytoscape berdasarkan analisis derajat, *betweenness centrality*, dan *closeness centrality*. Jaringan PPI yang diperoleh selanjutnya divisualisasikan dan dianalisis menggunakan perangkat lunak Cytoscape (versi 3.10.2) (Shannon et al., 2003).

Analisis pengayaan Gene Ontology (GO) dilakukan menggunakan Metascape (https://www.metascape.org) dan shinyGO 0.80 untuk mengidentifikasi relevansi biologis target yang diprediksi, meliputi proses biologis, komponen seluler, dan fungsi molekuler (Kanehisa et al., 2017; Zhou et al., 2019; Ge et al., 2020).

Signifikansi statistik ditentukan menggunakan batas *p-value* <0,05, sedangkan koreksi pengujian berganda dilakukan menggunakan metode *false discovery rate* (FDR) untuk mengurangi hasil positif palsu. Jalur dan istilah GO dengan nilai FDR terkoreksi < 0,05 dianggap mengalami pengayaan yang signifikan. Selain itu, analisis jalur KEGG digunakan untuk mengidentifikasi jalur metabolik dan pensinyalan penting yang dimodulasi oleh senyawa bioaktif dan protein target yang berkaitan dengan *Vitex cofassus* serta fungsi kardiovaskular. Jalur tersebut diinterpretasikan sebagai mekanisme kerja terapeutik yang potensial.

Molecular docking dilakukan menggunakan perangkat lunak Maestro Schrödinger (v11.1.012). Grid *docking* dibuat berdasarkan lokasi pengikatan ligan asli pada setiap

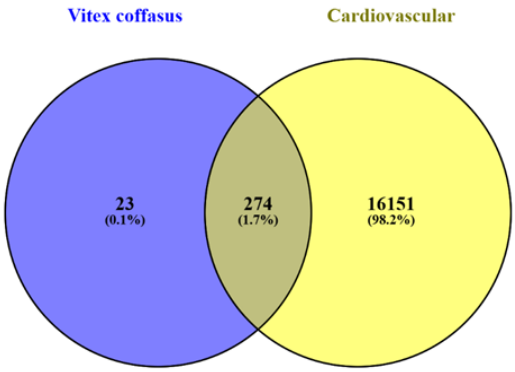
protein target. Validasi *docking* dilakukan dengan melakukan *redocking* ligan asli, dengan nilai RMSD <2,0 Å dianggap dapat diterima. Simulasi *molecular docking* dilakukan untuk mengevaluasi konformasi dan afinitas pengikatan senyawa yang diidentifikasi terhadap tiga target reseptor utama, yaitu *sarcoma* (SRC), *heat shock protein 90 alpha family class A member 1* (HSP90AA1), dan *tumor necrosis factor-α* (TNF-α). Struktur kristal tiga dimensi protein tersebut diperoleh dari Protein Data Bank (https://www.rcsb.org).

Senyawa yang dikarakterisasi melalui LC-HRMS dari fraksi etil asetat *Vitex cofassus* dioptimalkan secara struktural menggunakan modul LigPrep pada Maestro (Schrödinger Suite), dengan minimisasi energi menggunakan medan gaya OPLS_2005 (Citra et al., 2025). Preparasi protein dan ligan mengikuti protokol *docking* yang telah ditetapkan (Arba et al., 2022) menggunakan perangkat lunak Maestro Schrödinger (v11.1.012, rilis 2017-1) (Sastry et al., 2013). Untuk setiap protein target, grid *docking* ditentukan berdasarkan koordinat kristalografi lokasi pengikatan ligan asli masing-masing (Vulpetti et al., 2024).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Identifikasi senyawa bioaktif dan prediksi target

Analisis LC-HRMS mengidentifikasi sebanyak 232 senyawa bioaktif dalam fraksi etil asetat *Vitex cofassus* (Tabel Tambahan S1). Penyaringan awal menggunakan *Lipinski's Rule of Five*, yang dikombinasikan dengan kriteria skor bioavailabilitas (>0,55) dan absorpsi gastrointestinal, mengeksklusi 128 senyawa, termasuk Senyawa 1, Senyawa 2, Senyawa 3, Senyawa 5, dan seterusnya, sebagaimana ditunjukkan pada Tabel Tambahan S2. Dengan demikian, sebanyak 104 senyawa tersisa untuk dilakukan analisis lebih lanjut.



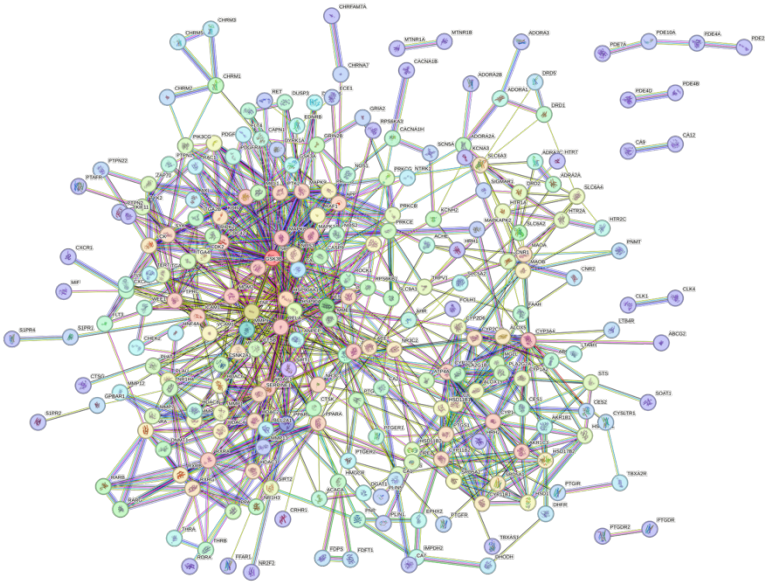
Gambar 1. Diagram Venn yang menunjukkan target yang sama antara gen yang berkaitan dengan penyakit kardiovaskular dan senyawa dari *Vitex cofassus*. Bagian berwarna kuning menunjukkan gen yang berkaitan dengan penyakit kardiovaskular, bagian berwarna biru menunjukkan target *Vitex cofassus*, sedangkan area tumpang tindih berwarna kuning muda menunjukkan gen yang sama pada kedua kelompok

Hasil analisis prediksi target menunjukkan masing-masing 300 dan 204 target protein potensial dari basis data TargetNet dan SEA. Analisis perbandingan dengan gen yang berkaitan dengan penyakit kardiovaskular dari basis data OMIM (1.158 target) dan GeneCards (16.056 target) mengidentifikasi 274 target yang saling tumpang tindih

(Gambar 1), yang selanjutnya ditetapkan sebagai gen hub untuk dianalisis lebih lanjut.

Analisis jaringan senyawa–target

Sebanyak 274 target potensial digunakan untuk membangun jaringan yang memetakan hubungan antara senyawa bioaktif *Vitex cofassus* dan target terapeutik kardiovaskular. Analisis interaksi protein-protein (*protein-protein interaction*/PPI) dilakukan menggunakan basis data STRING, dan jaringan yang dihasilkan divisualisasikan menggunakan Cytoscape. Jaringan akhir terdiri atas 270 simpul (*nodes*) yang merepresentasikan gen target dan senyawa terkait, serta 2.966 sisi interaksi (*interaction edges*) yang menghubungkan antarsimpul (Gambar 2).



Gambar 2. Jaringan interaksi protein-protein (PPI) yang dihasilkan melalui analisis basis data STRING, terdiri atas 270 protein target yang terhubung oleh 2.966 interaksi fungsional

Dari jaringan ini, diidentifikasi 10 target hub teratas dengan nilai derajat tertinggi, yang menunjukkan peran regulasi sentral dalam mekanisme potensial antikardiovaskular. Karakteristik topologi jaringan, meliputi derajat, *closeness centrality* (aksesibilitas simpul dalam jaringan), dan *betweenness centrality* (pengaruh sebagai penghubung), disajikan pada Tabel 1.

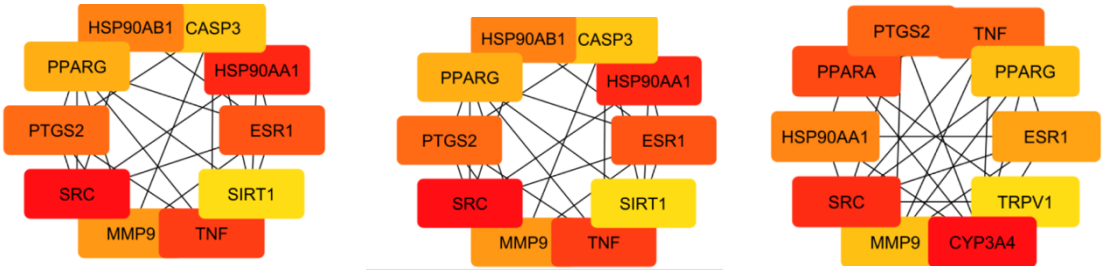
Tabel 1. Sepuluh target hub teratas berdasarkan parameter sentralitas jaringan: Derajat (*degree*): jumlah interaksi protein secara langsung; sentralitas kedekatan (*closeness centrality*): ukuran kedekatan suatu simpul dengan seluruh simpul lainnya; sentralitas perantara (*betweenness centrality*): indikator pengaruh suatu simpul terhadap aliran informasi dalam jaringan

Nama	Derajat (*Degree*)	Kedekatan (*Closeness*)	Perantara (*Betweenness*)
Sarcoma (SRC)	42	0,4359464627151052	0,17058244993514118
Heat shock protein 90 alpha family class A	39	0,41081081081081083	0,08156490221643325

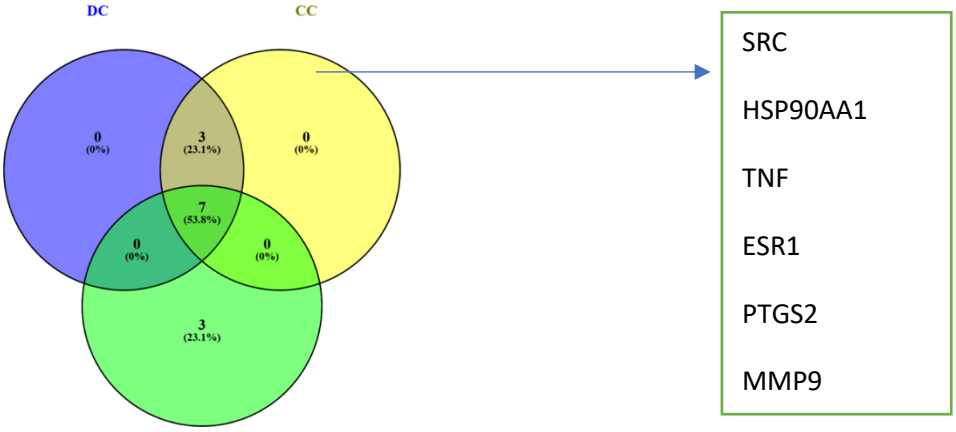
member 1 (HSP90AA1)			
Tumor necrosis factor-α (TNF-α)	33	0,4137931034482759	0,09284413725741601
Heat shock protein 90 alpha family class B member 1 (HSP90AB1)	29	0,3931034482758621	0,03841012576015561
Estrogen receptor (ESR1)	27	0,41834862385321103	0,09782415656097705
Prostaglandin endoperoxide synthase 2 (PTGS2)	26	0,4049733570159858	0,12413030108904753
Matrix metalloproteinase-9 (MMP9)	25	0,4021164021164021	0,058624272070281674
Caspase 3 (CASP3)	24	0,38841567291311757	0,04730096701988529
Peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPARG)	24	0,4000000000000000	0,08082664924813539
Sirtuin 1 (SIRT1)	23	0,38578680203045684	0,048330417885924105

Analisis jaringan target utama

Parameter derajat (*degree*), yang merepresentasikan jumlah interaksi langsung antara protein target dan komponen lain dalam jaringan, merupakan salah satu indikator penting dalam menentukan relevansi biologis. Nilai derajat yang lebih tinggi menunjukkan signifikansi fungsional yang lebih besar. Hasil penelitian mengidentifikasi beberapa target dengan nilai derajat yang tinggi, yaitu *sarcoma* (SRC), *heat shock protein 90 alpha family class A member 1* (HSP90AA1), *tumor necrosis factor-α* (TNF-α), *heat shock protein 90 alpha family class B member 1* (HSP90AB1), *estrogen receptor* (ESR1), *prostaglandin endoperoxide synthase 2* (PTGS2), *matrix metalloproteinase-9* (MMP9), *caspase 3* (CASP3), *peroxisome proliferator-activated receptor gamma* (PPARG), dan *sirtuin 1* (SIRT1), yang ditetapkan sebagai target hub utama. Analisis jaringan menggunakan dua parameter tambahan, yaitu: (1) sentralitas kedekatan (*closeness centrality*), yang mengukur rata-rata panjang jalur suatu simpul terhadap seluruh simpul lainnya, dan (2) sentralitas perantara (*betweenness centrality*), yang mengukur fungsi suatu protein sebagai penghubung dalam komunikasi jaringan (Zhou et al., 2016).



(a) (b) (c)



Gambar 3. Analisis sentralitas jaringan protein target potensial: (a) sentralitas derajat (*degree centrality*), (b) sentralitas perantara (*betweenness centrality*), dan (c) sentralitas kedekatan (*closeness centrality*). Integrasi diagram Venn (d) mengidentifikasi tujuh target terapeutik konsensus yang terdapat pada seluruh ukuran sentralitas, yaitu SRC, HSP90AA1, TNF-α, ESR1, PTGS2, MMP9, dan PPARG

Analisis irisan terhadap 10 target teratas dari setiap ukuran sentralitas mengidentifikasi tujuh protein konsensus, yaitu SRC, HSP90AA1, TNF-α, ESR1, PTGS2, MMP9, dan PPARG (Gambar 3). Target-target yang saling tumpang tindih tersebut, yang divisualisasikan melalui analisis diagram Venn (Gambar 3d), merupakan kandidat yang paling potensial untuk intervensi terapeutik. Panel a–c menunjukkan protein dengan peringkat tertinggi berdasarkan masing-masing ukuran sentralitas.

Analisis pengayaan fungsional target potensial

Untuk mengidentifikasi mekanisme antikardiovaskular dari 274 target yang saling tumpang tindih, dilakukan analisis pengayaan fungsional secara komprehensif menggunakan basis data Gene Ontology (GO) dan jalur KEGG melalui ShinyGO 0.80. Hasil analisis menunjukkan bahwa istilah GO terdiri atas 749 proses biologis (*biological processes*/BP), 88 komponen seluler (*cellular components*/CC), dan 247 fungsi molekuler (*molecular functions*/MF) yang mengalami pengayaan secara signifikan.

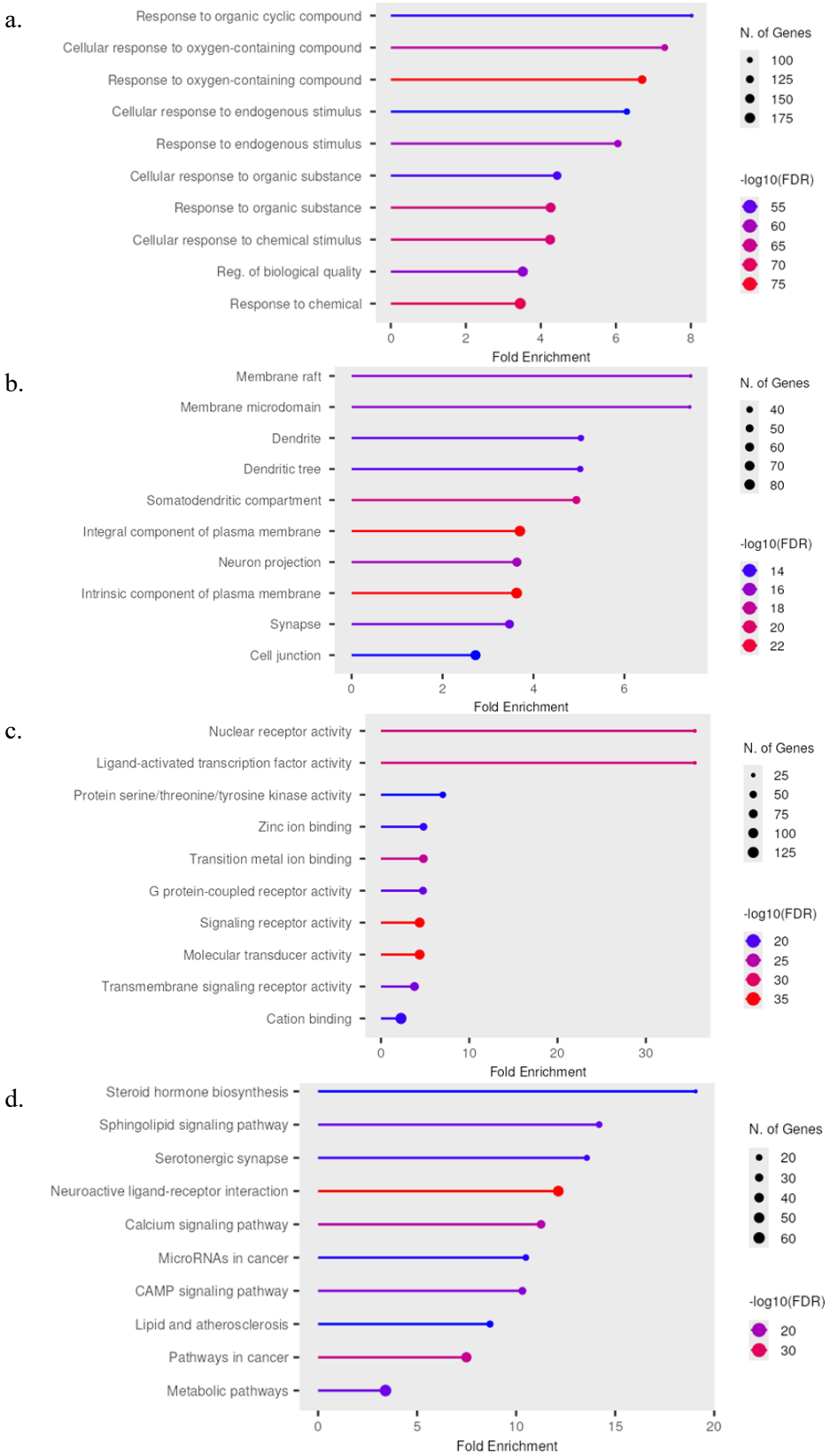
Analisis proses biologis Gene Ontology (GO) mengidentifikasi 10 jalur dengan pengayaan tertinggi. Hasil tersebut menunjukkan bahwa gen target dari fraksi etil asetat *Vitex cofassus* terutama berkaitan dengan respons terhadap senyawa yang mengandung oksigen (*response to oxygen-containing compound*), respons terhadap bahan kimia (*response to chemical*), respons seluler terhadap rangsangan kimia (*cellular response to chemical stimulus*), respons terhadap senyawa organik (*response to organic substance*), respons seluler terhadap senyawa yang mengandung oksigen (*cellular response to oxygen-containing compound*), respons terhadap rangsangan endogen (*response to endogenous stimulus*), regulasi kualitas biologis (*regulation of biological quality*), respons seluler terhadap senyawa organik (*cellular response to organic substance*), respons terhadap senyawa siklik organik (*response to organic cyclic compound*), dan respons seluler terhadap rangsangan endogen (*cellular response to endogenous stimulus*).

Analisis komponen seluler GO menunjukkan bahwa gen target terutama terlokalisasi pada komponen intrinsik membran plasma (*intrinsic component of plasma membrane*), kompartemen somatodendritik (*somatodendritic compartment*), proyeksi neuron (*neuron projection*), mikrodomian membran (*membrane microdomain*), rakit membran (*membrane raft*), sinaps (*synapse*), pohon dendritik (*dendritic tree*), dendrit (*dendrite*), dan sambungan sel (*cell junction*).

Analisis fungsi molekuler GO menunjukkan adanya pengayaan signifikan pada aktivitas reseptor pensinyalan (*signaling receptor activity*), aktivitas transduser molekuler (*molecular transducer activity*), aktivitas reseptor nuklir (*nuclear receptor activity*), aktivitas faktor transkripsi yang diaktifkan ligan (*ligand-activated transcription factor activity*), pengikatan ion logam transisi (*transition metal ion binding*), aktivitas reseptor pensinyalan transmembran (*transmembrane signaling receptor activity*), aktivitas reseptor berpasangan protein G (*G protein-coupled receptor activity*), pengikatan kation (*cation binding*), pengikatan ion seng (*zinc ion binding*), serta aktivitas protein serin/treonin/tirosin kinase (*protein serine/threonine/tyrosine kinase activity*).

Analisis jalur KEGG mengungkapkan berbagai jalur pensinyalan yang berkaitan dengan sistem kardiovaskular dan berpotensi berhubungan dengan efek terapeutik fraksi etil asetat *Vitex cofassus*, antara lain interaksi ligan neuroaktif–reseptor (*neuroactive ligand-receptor interaction*), jalur pada kanker (*pathways in cancer*), jalur pensinyalan kalsium (*calcium signaling pathway*), jalur pensinyalan cAMP (*cAMP signaling pathway*), jalur metabolisme (*metabolic pathways*), jalur pensinyalan sfingolipid (*sphingolipid signaling pathway*), sinaps serotonergik (*serotonergic synapse*), mikroRNA pada kanker (*microRNAs in cancer*), lipid dan aterosklerosis (*lipid and atherosclerosis*), biosintesis hormon steroid (*steroid hormone biosynthesis*), dan jalur lainnya. Gambar 4 menyajikan peta gelembung (*bubble map*) yang menampilkan istilah GO dan jalur KEGG dengan tingkat signifikansi tertinggi.

Berdasarkan analisis jalur KEGG, SRC, TNF-α, dan HSP90AA1 merupakan target utama dalam jalur aterosklerosis yang berperan dalam proses inflamasi, stres oksidatif, dan pembentukan plak. Oleh karena itu, penghambatan terhadap target-target tersebut berpotensi memberikan efek kardioprotektif. Perkembangan penyakit kardiovaskular, khususnya aterosklerosis, merupakan proses kompleks yang melibatkan interaksi antara akumulasi lipid, respons inflamasi, proliferasi sel, dan mekanisme apoptosis. Reseptor VLDLR dan LOX-1 berperan penting pada tahap awal aterogenesis melalui peningkatan akumulasi lipoprotein. Aktivasi LOX-1 dapat menginduksi stres oksidatif dan disfungsi endotel yang memicu inisiasi lesi aterosklerotik (Libby et al., 2002). Stres oksidatif dan kerusakan DNA mengaktifkan protein P53, yang selanjutnya menginduksi ekspresi protein. Ketidakseimbangan pada jalur-jalur tersebut dapat mempercepat perkembangan penyakit kardiovaskular dan meningkatkan risiko kejadian akut, seperti infark miokard dan stroke. Oleh karena itu, protein yang terlibat dalam jalur-jalur tersebut berpotensi menjadi target terapeutik untuk mencegah perkembangan penyakit dan komplikasi kardiovaskular.



Gambar 4. Peta gelembung (*bubble map*) yang menggambarkan secara terperinci evaluasi senyawa bioaktif dari fraksi etil asetat daun *Vitex cofassus* berdasarkan: (a) proses biologis Gene Ontology (GO), (b) komponen seluler GO, (c) fungsi molekuler GO, dan (d) jalur KEGG

Sebagai kesimpulan, analisis pengayaan GO menunjukkan bahwa gen target dari fraksi etil asetat *Vitex cofassus* terutama terlibat dalam respons seluler terhadap rangsangan kimia dan yang berkaitan dengan oksigen, dengan lokasi utama pada struktur yang berkaitan dengan neuron dan membran serta fungsi yang berhubungan dengan transduksi sinyal, aktivitas reseptor, dan regulasi kinase. Selain itu, analisis jalur KEGG menunjukkan keterlibatan gen-gen tersebut dalam berbagai jalur pensinyalan yang berkaitan dengan penyakit kardiovaskular dan penyakit lainnya, termasuk jalur lipid dan aterosklerosis, pensinyalan kalsium, serta interaksi ligan neuroaktif–reseptor. Secara keseluruhan, temuan ini menunjukkan bahwa fraksi etil asetat *Vitex cofassus* berpotensi memberikan efek terapeutik melalui modulasi multipel terhadap target-target biologis dan jalur pensinyalan utama yang relevan dengan penyakit kardiovaskular.

Berdasarkan analisis jalur KEGG, SRC, TNF-α, dan HSP90AA1 merupakan target utama dalam jalur aterosklerosis yang berperan dalam inflamasi, stres oksidatif, dan pembentukan plak. Oleh karena itu, penghambatan terhadap target-target tersebut berpotensi memberikan efek kardioprotektif. Perkembangan penyakit kardiovaskular, khususnya aterosklerosis, merupakan proses kompleks yang melibatkan interaksi antara akumulasi lipid, respons inflamasi, proliferasi sel, dan mekanisme apoptosis.

Analisis *molecular docking* terhadap target utama

Dengan menggunakan pendekatan jaringan terpadu yang menggabungkan analisis senyawa–target, interaksi protein–protein, serta analisis senyawa–target–penyakit, SRC, HSP90AA1, dan TNF-α diidentifikasi sebagai protein dengan prioritas tertinggi untuk analisis *molecular docking*. Senyawa yang dipilih untuk analisis *docking* meliputi satu senyawa untuk SRC, yaitu Senyawa 216; 11 senyawa untuk HSP90AA1, yaitu Senyawa 4, Senyawa 6, Senyawa 29, Senyawa 31, Senyawa 74, Senyawa 87, Senyawa 123, Senyawa 131, Senyawa 133, Senyawa 199, dan Senyawa 225; serta tujuh senyawa untuk TNF-α, yaitu Senyawa 4, Senyawa 19, Senyawa 20, Senyawa 24, Senyawa 74, Senyawa 147, dan Senyawa 173.

Selanjutnya, hasil afinitas pengikatan (Tabel 2) menunjukkan bahwa kompleks HSP90AA1–ligan memiliki energi pengikatan berkisar antara −5,855 kcal/mol (Senyawa 131) hingga −9,703 kcal/mol (Senyawa 74), dengan beberapa senyawa menunjukkan energi pengikatan yang lebih rendah dibandingkan dengan ligan asli (−7,244 kcal/mol). Kompleks TNF-α–ligan menunjukkan energi pengikatan berkisar antara −3,128 kcal/mol (Senyawa 19) hingga −4,483 kcal/mol (Senyawa 20), dibandingkan dengan ligan aslinya yang memiliki energi pengikatan sebesar −3,647 kcal/mol. Sementara itu, kompleks SRC–Senyawa 216 menunjukkan energi pengikatan sebesar −5,024 kcal/mol, yang lebih lemah dibandingkan dengan ligan asli sebesar −7,694 kcal/mol.

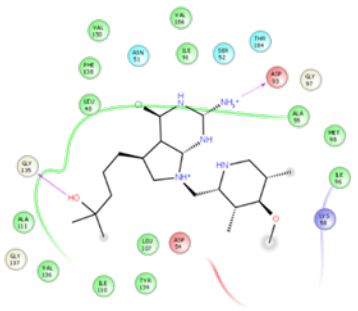
Tabel 2. Energi pengikatan yang dihitung (kcal/mol) berdasarkan analisis *molecular docking* senyawa bioaktif terhadap target utama (SRC, HSP90AA1, dan TNF-α)

Senyawa	Binding energy (kcal/mol)		
	SRC (PDB ID: 2SRC)	HSP90AA1 (PDB ID: 7S9H)	TNF-α (PDB ID: 2AZ5)
Ligan asli	−7,694	−7,244	−3,647
Senyawa 4		−8,847	−4,115
Senyawa 6		−9,020	
Senyawa 19			−3,128

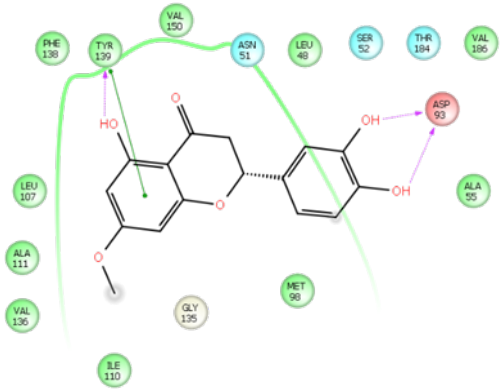
Senyawa 20			−4,483
Senyawa 24			−4,004
Senyawa 74		−9,703	−4,444
Senyawa 87		−8,395	
Senyawa 123		−6,387	
Senyawa 131		−5,855	
Senyawa 133		−7,874	
Senyawa 147			−3,976
Senyawa 199		−9,471	
Senyawa 216	−5,024		

Struktur molekul dan konformasi pengikatan senyawa yang dilakukan *docking* terhadap HSP90AA1 ditampilkan pada Gambar 5. Analisis afinitas pengikatan menunjukkan interaksi yang sangat kuat, terutama pada Senyawa 74 (−9,703 kcal/mol) dan Senyawa 199 (−9,471 kcal/mol), diikuti oleh Senyawa 6 (−9,020 kcal/mol), Senyawa 4 (−8,847 kcal/mol), Senyawa 87 (−8,395 kcal/mol), dan Senyawa 133 (−7,874 kcal/mol). Afinitas pengikatan yang relatif lebih lemah ditemukan pada Senyawa 123 (−6,387 kcal/mol) dan Senyawa 131 (−5,855 kcal/mol).

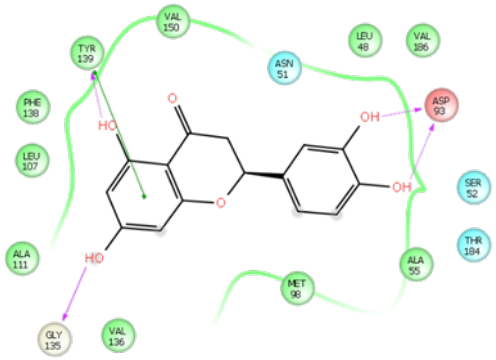
Hasil energi pengikatan menunjukkan bahwa beberapa senyawa memiliki afinitas pengikatan yang lebih kuat dibandingkan dengan ligan asli pada protein HSP90AA1. Hal ini ditunjukkan oleh nilai energi pengikatan yang lebih rendah. Dengan demikian, semakin rendah nilai energi pengikatan, semakin stabil interaksi yang terbentuk dan semakin kuat afinitas pengikatannya (Issa et al., 2019).



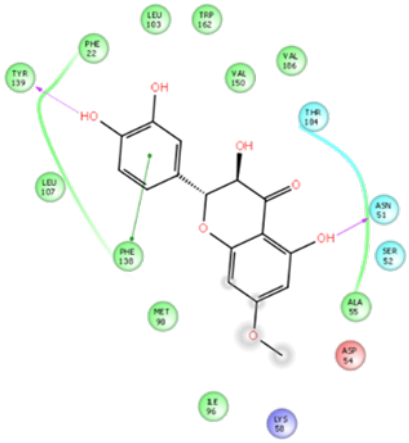
Native ligand: -7.244 kcal/mol



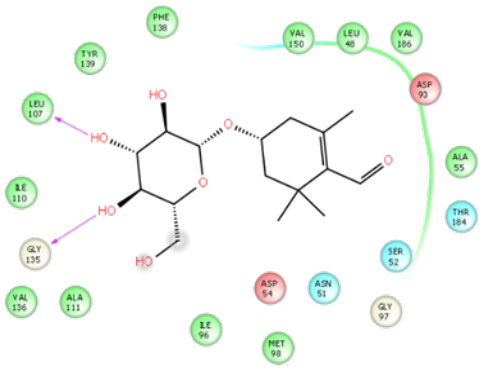
Compounds 4: -8.847 kcal/mol



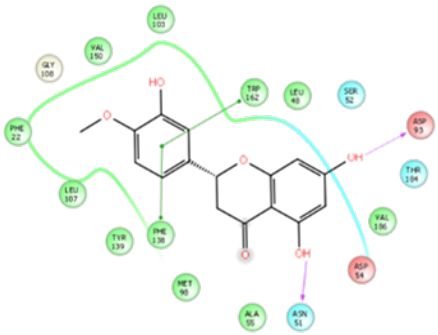
Compound 6: -9.020 kcal/mol



Compound 74: -9.703 kcal/mol
kcal/mol



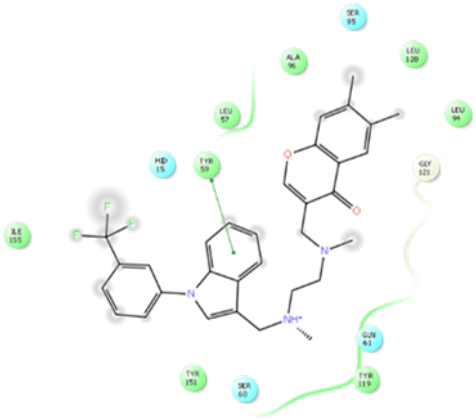
Compound 87: -8.395 kcal/mol



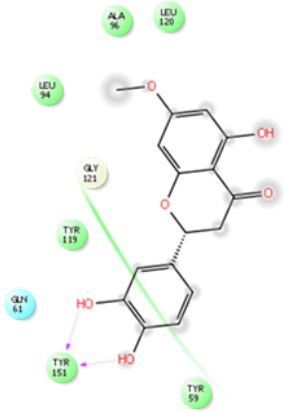
Compound 199: -9.471 kcal/mol
kcal/mol

Gambar 5. Pose pengikatan optimal senyawa terpilih dengan HSP90AA1 yang menunjukkan afinitas pengikatan sebagai berikut: Senyawa 4 (−8,847 kcal/mol), Senyawa 6 (−9,020 kcal/mol), Senyawa 74 (−9,703 kcal/mol), Senyawa 87 (−8,395 kcal/mol), dan Senyawa 199 (−9,471 kcal/mol)

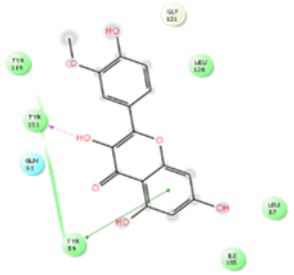
Gambar 6 menunjukkan konformasi pengikatan senyawa yang dilakukan *docking* terhadap TNF-α. Analisis afinitas pengikatan menunjukkan interaksi yang menguntungkan pada beberapa senyawa, dengan Senyawa 20 menunjukkan pengikatan terkuat (−4,483 kcal/mol), diikuti oleh Senyawa 74 (−4,444 kcal/mol), Senyawa 4 (−4,115 kcal/mol), Senyawa 24 (−4,004 kcal/mol), dan Senyawa 147 (−3,976 kcal/mol). Selain itu, hasil analisis *docking* terhadap SRC menunjukkan bahwa Senyawa 216 memiliki energi pengikatan sebesar −5,024 kcal/mol (Tabel S3).



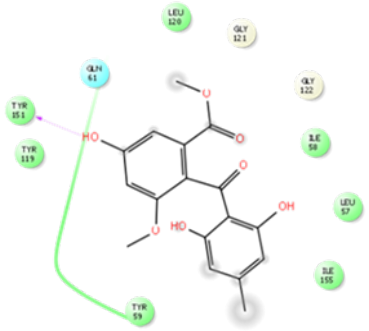
Native ligand: -4.059 kcal/mol



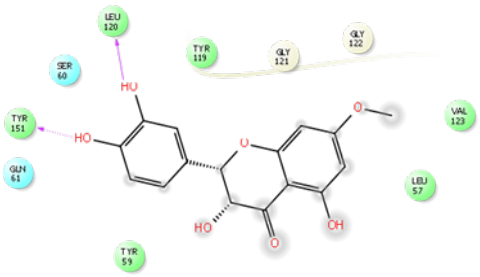
Compound 4: -4.115 kcal/mol



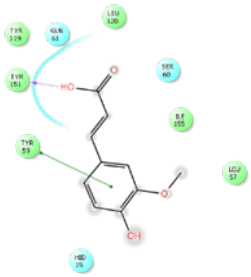
Compound 20 (-4.483 kcal/mol)



Compound 24 (-4.004 kcal/mol),



Compound 74 (-4.444 kcal/mol)



Compound 147 (-3.976 kcal/mol).

Gambar 6. Konformasi pengikatan paling stabil dari senyawa terpilih dengan TNF-α beserta energi pengikatannya: Senyawa 4 (−4,115 kcal/mol), Senyawa 20 (−4,483 kcal/mol), Senyawa 24 (−4,004 kcal/mol), Senyawa 74 (−4,444 kcal/mol), dan Senyawa 147 (−3,976 kcal/mol)

KESIMPULAN

Penelitian ini menunjukkan bahwa fraksi etil asetat daun *Vitex cofassus* memiliki potensi yang signifikan sebagai sumber agen terapeutik kardiovaskular dengan mekanisme multitarget. Melalui pendekatan terpadu fitokimia dan farmakologi jaringan (*network pharmacology*), sebanyak 104 senyawa dengan karakteristik menyerupai obat (*drug-like compounds*) berhasil diidentifikasi dalam fraksi etil asetat, dengan 274 target potensial yang berkaitan dengan sistem kardiovaskular. Protein utama, termasuk SRC, HSP90AA1, TNF-α, ESR1, PTGS2, MMP9, dan PPARG, diidentifikasi sebagai mediator sentral dari efek farmakologisnya. Analisis pengayaan fungsional menunjukkan peran penting senyawa-senyawa tersebut dalam respons terhadap stres oksidatif, pensinyalan membran, regulasi reseptor nuklir, serta jalur yang relevan dengan sistem kardiovaskular, seperti pensinyalan kalsium, metabolisme lipid, dan aterosklerosis. Secara khusus, analisis *molecular docking* mengonfirmasi interaksi yang kuat antara Senyawa 74–HSP90AA1 (−9,703 kcal/mol) dan Senyawa 20–TNF-α (−4,483 kcal/mol), dengan afinitas pengikatan yang lebih kuat dibandingkan dengan ligan aslinya. Temuan ini tidak hanya mendukung penggunaan tradisional *V. cofassus*, tetapi juga memberikan dasar ilmiah bagi pengembangannya sebagai agen fitoterapeutik multitarget untuk penanganan penyakit kardiovaskular. Penelitian lebih lanjut secara *in vitro* dan *in vivo* diperlukan untuk mengevaluasi efikasi dan keamanannya sebelum dapat diterapkan dalam konteks klinis.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didukung oleh hibah Penelitian Tesis Magister dari Direktorat Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat, Direktorat Jenderal Riset dan Pengembangan, Kementerian Pendidikan Tinggi, Sains, dan Teknologi Republik Indonesia, berdasarkan kontrak nomor 068/C3/DT.05.00/PL/2025.

DAFTAR PUSTAKA

Amberger, J.S., Bocchini, C.A., Schiettecatte, F., Scott, A.F., Hamosh, A., 2015. OMIM.org: Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM®), an Online Catalog of Human Genes and Genetic Disorders. Nucleic Acids Research 43, D789–D798. https://doi.org/10.1093/nar/gku1205

Arba, M., Ihsan, S., Fatihah, N., Jamili, J., 2025. Molecular Mechanism of Avicennia marina (Forssk.) Vierh. in Inhibiting Hepatitis C Virus Based on Network Pharmacology and Molecular Docking. Tropical Journal of Natural Product Research 9(4), 1449–1456. https://doi.org/10.26538/tjnpr/v9i4.10

Arba, M., Ihsan, S., Hatma, F.M.I., Jamili, J., Wahyudi, S.T., Wahyuni, T.S., 2025. Inhibition of Hepatitis C Virus by Avicennia marina (Forssk.) Vierh. Leaves Extract: Liquid Chromatography-High-Resolution Mass Spectrometry, Network Pharmacology, Molecular Simulation, and in Vitro Study. Journal of Herbmed Pharmacol 14(2), 188-199. https://doi.org/10.34172/jhp.2025.52905

Arba, M., Paradis, N., Wahyudi, S.T., Brunt, D.J., Hausman, K.R., Lakernick, P.M., Singh, M., Wu, C., 2022. Unraveling the Binding Mechanism of the Active form of Remdesivir to RdRp of SARS-CoV-2 and Designing New Potential Analogues: Insights from Molecular Dynamics Simulations. Chemical Physics Letters 799, 1-22. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35475235/

Citra, S.N.A.L., Arfan, A., Alroem, A., Bande, L.S., Irnawati, I., 2025. Docking-Based Workflow and ADME Prediction of Some Compounds in *Curcuma longa* and *Andrographis paniculata* as Polymerase PA-PB1 Inhibitors of Influenza A/H5N1 Virus. Journal of Research in Pharmacy 27(1), 221-231. https://dergipark.org.tr/en/pub/jrespharm/article/1686887

Ge, S.X., Jung, D., Yao, R., 2020. ShinyGO: A Graphical Gene-Set Enrichment Tool for Animals and Plants. Bioinformatics 36(8), 2628–2629. https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btz931

Goh, L.H., Chong, B., Lubbe, S.C.C., Jayabaskaran, J., Nagarajan, S., Chia, J., Johnson, C.O., Dai, X., Valderas, J.M., Aji, B., Aldecoa, K.A.T., Aljunid, S.M., Ananda. R.A., Apostol, G.L.C., Ariffin, H., Asri. Y., Baig, A.A., Bermudez. A.N.C., Bisignano, C., Cenderadewi, M., Chen, H., Dalakoti, M., Efendi, F., Faraon, E.J.A.A., Fauk, N.K., Garcia, F.B., Hargono, A., Has, E.M.M., Hasan, F., Hay, S.I., Ibrahim, U.I., Iqhrammullah, M., Iskandar, B., Ismail, N.E., Jamaluddin, J., Jonas, J.B., Kamarajah, S.K., Kim, Y.J., Kurniasari, M.D., Kusnali, A., Kustanti, C.Y.Y., Lai, D.T.C., Lukas, G.A., Ma. Z.F., Martini, S., Marzo, R.R., Melisa, S., Muharram, F.R., Murray, C.J.L., Musa, K.I., Nainu, F., Nascimento. G.G., Nur, A., Ong, S.K., Pepito, V.C.F., Porntaveetus, T., Pribadi, D.R.A., Rahmawaty, S., Ramadhan, K., Ramazanu, S., Romadlon, D.S., Samodra, Y.L., Selvaraj, S., Setiawan, C.H., Shaharudin, S., Subramaniyan, V., Sulistiyorini, D., Sun, Z., Tarigan, I.U., Ticoalu, J.H.V., Venketasubramanian, N., Wahidin, M., Wicaksana, A.L., Wijayanto, M.A., Wilandika, A., Zuniga, Y.M.H., Roth. G.A., Chew,

N.W.S., Ng, M., 2025. The Epidemiology and Burden of Cardiovascular Diseases in Countries of the Association of Southeast Asian Nations (ASEAN), 1990-2021: Findings from the Global Burden of Disease Study 2021. The Lancet Public Health 10(6), e467-e479. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/40441814/

Issa, N.T., Badiavas, E.V., Schürer, S., 2019. Research Techniques Made Simple: Molecular Docking in Dermatology - A Foray into In Silico Drug Discovery. Journal of Investigative Dermatology 139(12), 2400-2408. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31753122/

Jiang, L.R., Qin, Y., Nong, J.L., An, H., 2021. Network Pharmacology Analysis of Pharmacological Mechanisms Underlying the Anti-Type 2 Diabetes Mellitus Effect of Guava Leaf. Arabian Journal of Chemistry 14(6), 1-16. doi: 10.1016/j.arabjc.2021.103143

Jurado, J., Anderson, N., Datcher, I., Foster, C., Jackson, P., Hidalgo, B., 2025. Striving Towards Equity in Cardiovascular Genomics Research. Current Atherosclerosis Reports 27(34), 1-10. https://link.springer.com/article/10.1007/s11883-025-01277-z

Kanehisa, M., Furumichi, M., Tanabe, M., Sato, Y., Morishima, K., 2017. KEGG: New Perspectives on Genomes, Pathways, Diseases and Drugs. Nucleic Acids Research 45(D1), D353–D361. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27899662/

Keiser, M.J., Roth, B.L., Armbruster, B.N., Ernsberger, P., Irwin, J.J., Shoichet, B.K., 2007. Relating Protein Pharmacology by Ligand Chemistry. Nature Biotechnology 25(2), 197–206. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17287757/

Libby, P., Ridker, P.M., Maseri, A., 2002. Inflammation and Atherosclerosis. Circulation 105(9), 1135-1143. https://doi.org/10.1161/hc0902.104353

Meeks, K.A.C., Agyemang, C., 2025. Cardiovascular Disease Burden among African Migrants. Current Atherosclerosis Reports 27(59), 1-10. https://link.springer.com/article/10.1007/s11883-025-01307-w

Parsa, S., Noroozpoor, R., Dehghanbanadaki, H., Khateri, S., Moradi, Y., 2025. Endometriosis and Risk of Cardiovascular Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. BMC Public Health 25(1), 1-16. https://doi.org/10.1186/s12889-025-21486-0

Prasad, E.M., Mopuri, R., Islam, M.S., Kodidhela, L.D., 2017. Cardioprotective Effect of Vitex Negundo on Isoproterenol-Induced Myocardial Necrosis in Wistar Rats: A Dual Approach Study. Biomedicine & Pharmacotherapy 85, 601-610. https://doi.org/10.1016/j.biopha.2016.11.069

Qureshi, M., Ishaq, K., Daniyal, M., Iftikhar, H., Rehman, M.Z., Salar, S.A.A., 2025. Forecasting Cardiovascular Disease Mortality using Artificial Neural Networks in Sindh, Pakistan. BMC Public Health 25(34), 1-14. https://doi.org/10.1186/s12889-024-21187-0

Rasamison, V.E., Ranaivo-Harimanana, L., Cao, S., Pan, E., Ratovoson, F., Randriantafika, F., Rakotondrajaona, R., Rakotonandrasana, S., Andriantsiferana, R., Kingston, D.G.I., 2009. A New Labdane Diterpene from Vitex Cauliflora Moldenke from the Madagascar Rainforest. Fitoterapia 81(1), 55-58. https://doi.org/10.1016/j.fitote.2009.07.007

Rebhan, M., Chalifa-Caspi, V., Prilusky, J., Lancet, D., 1998. GeneCards: A Novel Functional Genomics Compendium with Automated Data Mining and Query Reformulation Support. Bioinformatics 14(8), 656–664. https://academic.oup.com/bioinformatics/article/14/8/656/228862

Sastry, G.M., Adzhigirey, M., Day, T., Annabhimoju, R., Sherman, W., 2013. Protein and Ligand Preparation: Parameters, Protocols, and Influence on Virtual Screening Enrichments. Journal of Computer-Aided Molecular Design 27(3), 221-234. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23579614/

Shannon, P., Markiel, A., Ozier, O., Baliga, N.S., Wang, J.T., Ramage, D., Amin, N., Schwikowski, B., Ideker, T., 2003. Cytoscape: A Software Environment for Integrated Models of Biomolecular Interaction Networks. Genome Research 13(11), 2498–2504. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14597658/

Souto, E.B., Durazzo, A., Nazhand, A., Lucarini, M., Zaccardelli, M., Souto, S.B., Silva, A.M., Severino, P., Novellino, E., Santini, A., 2020. *Vitex agnus-castus L.*: Main Features and Nutraceutical Perspectives. Forests 11(7), 1-16. https://doi.org/10.3390/f11070761

Tsao, C.W., Aday, A.W., Almarzooq, Z.I., Alonso, A., Beaton, A.Z., Bittencourt, M.S., Boehme, A.K., Buxton, A.E., Carson, A.P., Commodore-Mensah, Y., Elkind, M.S.V., Evenson, K.R., Eze-Nliam, C., Ferguson, J.F., Generoso, G., Ho, J,E., Kalani, R., Khan, S.S., Kissela, B,M., Knutson, K.L., Levine, D.A., Lewis, T.T., Liu, J., Loop, M.S., Ma, J., Mussolino, M.E., Navaneethan, S.D., Perak, A.M., Poudel, R., Rezk-Hanna, M., Roth, G.A., Schroeder, E.B., Shah, S.H., Thacker, E.L., VanWagner, L.B., Virani, S.S., Voecks, J.H., Wang. N.Y., Yaffe, K., Martin, S.S., 2022. Heart Disease and Stroke Statistics 2022 Update: A Report from the American Heart Association. Circulation 145(8) e153-e639. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35078371/

Vulpetti, A., Rondeau, J.M., Bellance, M.H., Blank, J., Boesch, R., Boettcher, A., Bornancin, F., Buhr, S., Connor, L.E., Dumelin, C.E., Esser, O., Hediger, M., Hintermann, S., Hommel, U., Koch, E., Lapointe, G., Leder, L., Lehmann, S., Lehr, P., Meier, P., Muller, L., Ostermeier, D., Ramage, P., Schiebel-Haddad, S., Smith, A.B., Stojanovic, A., Velcicky, J., Yamamoto, R., Hurth, K., 2024. Ligandability Assessment of IL-1β by Integrated Hit Identification Approaches. Journal of Medicinal Chemistry 67(10), 8141-8160. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38728572/

Windarsih, A., Suratno, S., Warmiko, H.D., Indrianingsih, A.W., Rohman, A., Ulumuddin, Y.I., 2022. Untargeted Metabolomics and Proteomics Approach using Liquid Chromatography-Orbitrap High Resolution Mass Spectrometry to Detect Pork Adulteration in *Pangasius hypopthalmus* Meat. Food Chemistry 386, 1-12. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35367799/

Zhou, W., Wang, Y., Lu, A., Zhang, G., 2016. Systems Pharmacology in Small Molecular Drug Discovery. International Journal of Molecular Sciences 17(2), 1-16. https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4783977/

Zhou, Y., Zhou, B., Pache, L., Chang, M., Khodabakhshi, A.H., Tanaseichuk, O., Benner, C., Chanda, S.K., 2019. Metascape Provides a Biologist-Oriented Resource for the Analysis of Systems-Level Datasets. Nature Communications 10(1), 1-6. https://doi.org/10.1038/s41467-019-09234-6

Zubair, M.S., Maulana, S., Widodo, A., Pitopang, R., Arba, M., Hariono, M., 2021. GC-MS, LC-MS/MS, Docking and Molecular Dynamics Approaches to Identify Potential SARS-CoV-2 3-Chymotrypsin-Like Protease Inhibitors from Zingiber Officinale Roscoe. Molecules 26(17), 1-15. https://doi.org/10.3390/molecules26175230