

	PHARMANUSA: Journal of Pharmacy and Health Sciences	e-ISSN: xxxx-xxxx p-ISSN: xxxx-xxxx
---	---	--

DOI:

Prediksi Komputasi Profil Toksisitas Oral Parasetamol

Fendy Prasetyawan^{1*}, Yuneke Saristiana², Novyananda Salmasfattah³, Nur Fahma Laili⁴, Tsamrotul Ilmi⁵, Neni Probosiwi⁶

^{1,2,3,4,5,6} Program Studi Pendidikan Profesi Apoteker, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Kadiri, Indonesia
fendy.pra@unik-kediri.ac.id

Article Info	ABSTRACT
Article history: Received [19/06/2026], Revised [21/06/2026], Accepted [23/06/2026],	Paracetamol is one of the most widely used analgesic and antipyretic drugs; however, excessive use may lead to toxic effects. This study aimed to predict the oral toxicity profile of paracetamol using a computational approach through the ProTox 3.0 platform. This descriptive study employed an in silico method. The molecular structure of paracetamol was obtained from PubChem in the form of Canonical SMILES and subsequently analyzed using ProTox 3.0 to predict oral toxicity parameters, organ toxicity, toxicity endpoints, Tox21 pathways, Molecular Initiating Events (MIEs), and metabolism. The results demonstrated that paracetamol exhibited a predicted LD₅₀ of 338 mg/kg and was classified as Toxicity Class 4, with 100% average similarity and 100% prediction accuracy. The compound was predicted to exhibit hepatotoxicity, neurotoxicity, nephrotoxicity, and respiratory toxicity, while cardiotoxicity was predicted to be inactive. Furthermore, paracetamol was predicted to be non-carcinogenic, non-mutagenic, non-cytotoxic, and non-immunotoxic, although it showed the potential to cross the blood-brain barrier and exhibit clinical toxicity. Overall, ProTox 3.0 provides a comprehensive prediction of the oral toxicity profile of paracetamol and demonstrates its potential as an effective in silico screening tool for the early safety assessment of pharmaceutical compounds. <i>Keywords: Paracetamol; ProTox 3.0; Oral Toxicity; In Silico; Computational Toxicology</i>

Corresponding Author: Fendy Prasetyawan

Program Studi Pendidikan Profesi Apoteker, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Kadiri

Email: fendy.pra@unik-kediri.ac.id

Abstrak: Parasetamol merupakan analgesik dan antipiretik yang banyak digunakan, namun berpotensi menimbulkan toksisitas apabila digunakan melebihi dosis terapi. Penelitian ini bertujuan untuk memprediksi profil toksisitas oral parasetamol menggunakan pendekatan komputasional melalui platform ProTox 3.0. Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif dengan metode in silico. Struktur molekul parasetamol diperoleh dari PubChem dalam bentuk Canonical SMILES, kemudian dianalisis menggunakan ProTox 3.0 untuk memprediksi parameter toksisitas oral, toksisitas organ, toxicity endpoints, jalur Tox21, Molecular Initiating Events (MIEs), dan metabolisme. Hasil penelitian menunjukkan bahwa parasetamol memiliki nilai Predicted LD₅₀ sebesar 338 mg/kg dengan Toxicity Class 4, serta Average Similarity dan Prediction Accuracy masing-masing sebesar 100%. Prediksi menunjukkan adanya potensi hepatotoksitas, neurotoksisitas, nefrotoksitas, dan toksisitas respirasi, sedangkan kardiotoksitas diprediksi tidak aktif. Parasetamol juga diprediksi tidak bersifat karsinogenik, mutagenik, sitotoksik, maupun imunotoksik, namun berpotensi melewati blood-brain barrier dan menunjukkan clinical toxicity. Secara keseluruhan, ProTox 3.0 mampu memberikan gambaran komprehensif mengenai profil toksisitas oral parasetamol sehingga berpotensi dimanfaatkan sebagai metode skrining awal dalam evaluasi keamanan obat berbasis in silico.

Kata kunci: Parasetamol; ProTox 3.0; Toksisitas Oral; In Silico; Toksikologi Komputasional

Pendahuluan

Parasetamol merupakan salah satu obat analgesik dan antipiretik yang paling banyak digunakan di dunia karena memiliki efektivitas yang baik dalam mengatasi nyeri ringan hingga sedang serta demam, dengan profil keamanan yang relatif tinggi apabila digunakan sesuai dosis terapi. Penggunaan parasetamol telah menjadi bagian dari pelayanan kesehatan primer maupun rumah sakit, serta tersedia secara luas sebagai obat bebas (over-the-counter). Tingginya tingkat konsumsi parasetamol menyebabkan paparan obat ini terjadi pada berbagai kelompok usia, mulai dari anak-anak hingga lansia. Di Indonesia maupun secara global, parasetamol menjadi salah satu obat yang paling sering diresepkan maupun digunakan secara swamedikasi. Tingginya frekuensi penggunaan tersebut menjadikan evaluasi aspek keamanan parasetamol sebagai salah satu isu penting dalam pengembangan obat,

farmakovigilans, maupun praktik kefarmasian klinis. (Mallet et al., 2023; Al-Kuraishy et al., 2024; Lechien et al., 2024; Idarraga et al., 2025).

Indeks keamanan yang baik pada dosis terapeutik, parasetamol juga merupakan salah satu penyebab utama keracunan obat (drug poisoning) di berbagai negara. Overdosis akut maupun penggunaan jangka panjang dengan dosis yang melebihi batas terapi dapat menyebabkan kerusakan organ yang serius, terutama hepatotoksitas, yang berpotensi berkembang menjadi gagal hati akut (acute liver failure). Penelitian juga menunjukkan bahwa paparan parasetamol dalam kondisi tertentu dapat memengaruhi fungsi ginjal, saluran cerna, sistem hematologi, hingga sistem reproduksi. Berbagai efek toksik tersebut berkaitan erat dengan pembentukan metabolit reaktif N-acetyl-p-benzoquinone imine (NAPQI), yang dihasilkan melalui metabolisme oleh enzim sitokrom P450, khususnya CYP2E1. Dalam kondisi normal, NAPQI akan didetoksifikasi oleh glutathione. Cadangan glutathione menurun akibat overdosis atau faktor predisposisi lainnya, metabolit reaktif tersebut akan berikatan dengan protein seluler sehingga memicu stres oksidatif, disfungsi mitokondria, nekrosis hepatosit, serta aktivasi berbagai jalur inflamasi. (Yoon et al., 2024; Wright et al., 2024; Xun et al., 2024; Sivagurunathan et al., 2025; Du et al., 2023).

Perkembangan ilmu toksikologi modern tidak lagi hanya berfokus pada identifikasi efek toksik setelah suatu obat digunakan secara luas, tetapi juga mengarah pada prediksi risiko toksisitas sejak tahap awal pengembangan obat. Pendekatan ini menjadi semakin penting mengingat tingginya biaya penelitian, lamanya proses pengembangan obat, serta pertimbangan etik dalam penggunaan hewan coba. Selama beberapa dekade, evaluasi toksisitas masih didominasi oleh uji in vivo menggunakan hewan laboratorium dan uji in vitro pada kultur sel. Metode tersebut masih menjadi standar dalam penilaian keamanan obat, keduanya memiliki berbagai keterbatasan, antara lain memerlukan biaya yang tinggi, waktu penelitian yang panjang, jumlah sampel yang besar, serta adanya variasi biologis yang dapat memengaruhi reproduktibilitas hasil penelitian. Prinsip 3R (Replacement, Reduction, and Refinement) mendorong para peneliti untuk mengembangkan metode alternatif yang lebih efisien, ekonomis, dan etis. (Wu et al., 2023; Ekins et al., 2023; Poh & Chong, 2024; Smith et al., 2024).

Pendekatan Computational Toxicology atau toksikologi komputasional berkembang pesat sebagai salah satu metode prediksi keamanan senyawa kimia dan obat. Toksikologi komputasional mengintegrasikan ilmu farmasi, kimia komputasi, bioinformatika, kecerdasan buatan (artificial intelligence), machine learning, serta pemodelan statistik untuk memprediksi berbagai parameter toksisitas berdasarkan struktur molekul suatu senyawa. Pendekatan ini mampu memberikan estimasi awal mengenai risiko toksisitas sebelum dilakukan pengujian laboratorium sehingga dapat membantu proses pengambilan keputusan pada tahap penelitian maupun pengembangan obat. (Vasava et al., 2024; Hartung & Luechtefeld, 2023; Vinken et al., 2023).

Parameter yang banyak digunakan dalam toksikologi komputasional adalah prediksi profil toksisitas oral. Profil toksisitas oral menggambarkan potensi suatu senyawa untuk menimbulkan efek toksik setelah diberikan melalui rute oral, yang merupakan jalur pemberian obat paling umum pada manusia. Evaluasi ini meliputi berbagai indikator, seperti nilai median lethal dose (LD_{50}), kelas toksisitas berdasarkan Globally Harmonized System (GHS), probabilitas toksisitas akut, organ target toksisitas, hingga kemungkinan munculnya efek toksik spesifik. (Hartung & Luechtefeld, 2023; Vinken et al., 2023; Banerjee et al., 2018).

Berbagai platform komputasi saat ini telah dikembangkan untuk memprediksi toksisitas oral, di antaranya Protox-II, pkCSM, ADMETlab, VEGA, TEST, dan platform berbasis Quantitative Structure–Activity Relationship (QSAR). Metode-metode tersebut memanfaatkan basis data toksikologi dalam jumlah besar yang dipadukan dengan algoritma machine learning sehingga mampu menghasilkan prediksi toksisitas dengan tingkat akurasi yang semakin baik. Dibandingkan metode konvensional, pendekatan komputasional memiliki sejumlah keunggulan, yaitu proses analisis yang cepat, biaya penelitian yang lebih rendah, kemampuan melakukan skrining terhadap banyak senyawa secara simultan, serta mendukung implementasi prinsip 3R dalam penelitian biomedis. (Banerjee et al., 2024; Fu et al., 2024; Pérez-Santín et al., 2023; Bisht et al., 2024).

Parasetamol telah digunakan selama puluhan tahun dan memiliki data toksisitas yang sangat luas, kajian mengenai prediksi komputasional profil toksisitas oral masih memiliki nilai ilmiah yang penting. Pertama, hasil prediksi dapat digunakan sebagai pembandingan terhadap data toksisitas eksperimental sehingga memberikan gambaran mengenai reliabilitas berbagai platform komputasi. Kedua, penelitian ini dapat menjadi contoh penerapan metode toksikologi komputasional dalam pendidikan farmasi dan penelitian akademik, khususnya pada pengembangan metode in silico. Ketiga, informasi yang dihasilkan dapat menjadi dasar dalam pengembangan senyawa analog,

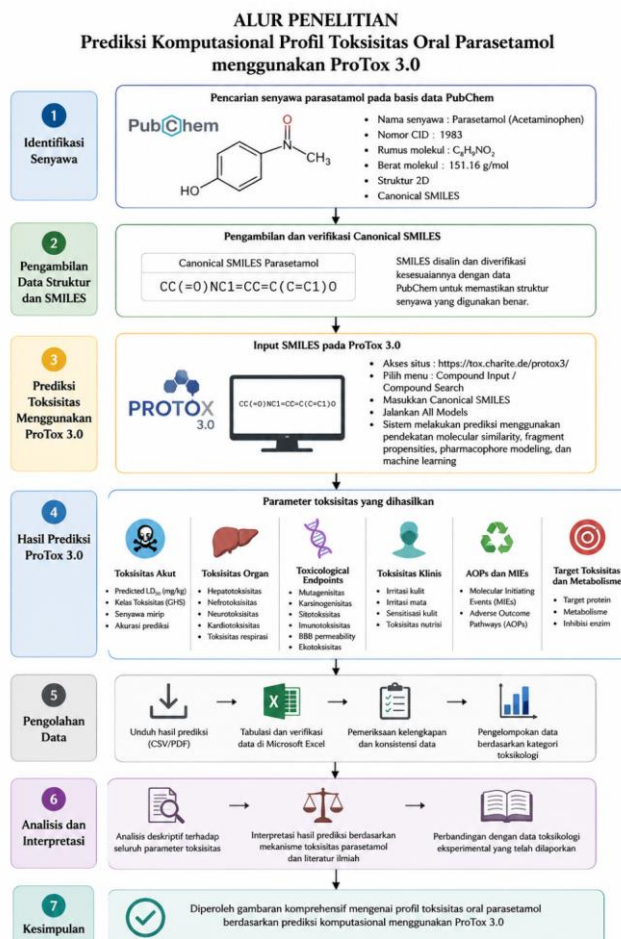
modifikasi struktur molekul, maupun penelitian kombinasi obat yang memerlukan evaluasi keamanan sejak tahap awal. (Bisht et al., 2024; Lee et al., 2025; Yang et al., 2023; Idakwo et al., 2023).

Regulasi internasional juga menunjukkan bahwa pendekatan komputasional semakin mendapat perhatian dalam penilaian keamanan bahan kimia dan obat. Berbagai lembaga regulator telah mulai menerima data prediksi berbasis QSAR dan machine learning sebagai data pendukung dalam proses evaluasi risiko (risk assessment), terutama untuk mengurangi ketergantungan terhadap pengujian hewan. Penelitian mengenai prediksi profil toksisitas oral secara komputasional tidak hanya memiliki relevansi akademik, tetapi juga memberikan kontribusi terhadap pengembangan metode evaluasi keamanan yang lebih modern, efisien, dan berkelanjutan. (Roman et al., 2024; Braga et al., 2024; Watanabe et al., 2023).

Penggunaan kecerdasan buatan dalam bidang farmasi membuka peluang baru dalam pengembangan model prediksi toksisitas yang memiliki sensitivitas dan spesifisitas lebih tinggi dibandingkan metode konvensional. Berbagai model berbasis deep learning dan graph neural networks telah menunjukkan kemampuan dalam mengenali hubungan kompleks antara struktur molekul dan efek biologis, termasuk toksisitas akut maupun kronis. Validasi terhadap hasil prediksi masih diperlukan melalui perbandingan dengan data eksperimental maupun data klinis sehingga pendekatan komputasional diposisikan sebagai alat pendukung (decision support tool), bukan sebagai pengganti sepenuhnya terhadap pengujian laboratorium. (Mansouri et al., 2023; Xie et al., 2025; Tang et al., 2024).

Metode

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif kuantitatif dengan pendekatan in silico yang bertujuan untuk memprediksi profil toksisitas oral senyawa parasetamol menggunakan platform ProTox 3.0 (Banerjee et al., 2024; Vasava et al., 2024).



Gambar 1. Alur Penelitian

Gambar 1. Alur Penelitian (Banerjee et al., 2024; Fu et al., 2024).

Pendekatan in silico dipilih karena mampu memberikan estimasi awal mengenai karakteristik toksisitas suatu senyawa berdasarkan struktur kimia tanpa memerlukan pengujian menggunakan hewan percobaan maupun kultur

sel. ProTox 3.0 merupakan web server toksikologi komputasional yang mengintegrasikan pendekatan molecular similarity, fragment propensities, pharmacophore modeling, serta algoritma machine learning untuk memprediksi berbagai parameter toksisitas. Pada versi terbarunya, ProTox 3.0 mampu mengevaluasi lebih dari 61 parameter toksikologi yang meliputi toksisitas akut, toksisitas organ, toksisitas klinis, jalur toksikologi (Adverse Outcome Pathways), Molecular Initiating Events, metabolisme, hingga target toksisitas (Banerjee et al., 2024; Fu et al., 2024).

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah senyawa parasetamol (acetaminophen) yang diperoleh dari basis data kimia PubChem dalam bentuk struktur molekul dan Canonical SMILES (Simplified Molecular Input Line Entry System). Canonical SMILES digunakan sebagai representasi tekstual struktur kimia yang menjadi format masukan (input) pada ProTox 3.0. Penggunaan format SMILES dipilih karena mampu menggambarkan struktur molekul secara konsisten sehingga dapat diproses oleh algoritma komputasi untuk melakukan identifikasi kesamaan struktur (molecular similarity) terhadap ribuan senyawa yang telah tersedia dalam basis data ProTox. Struktur molekul yang digunakan terlebih dahulu diverifikasi kesesuaiannya dengan data PubChem agar tidak terjadi kesalahan identifikasi senyawa selama proses prediksi (Banerjee et al., 2024; Vasava et al., 2024).

Tahapan penelitian diawali dengan identifikasi senyawa parasetamol melalui pencarian nama senyawa (compound search) pada PubChem. Setelah senyawa berhasil diidentifikasi, informasi kimia berupa nama IUPAC, rumus molekul, berat molekul, nomor CID, struktur dua dimensi, serta Canonical SMILES dicatat sebagai data dasar penelitian. Canonical SMILES kemudian disalin dan digunakan sebagai data masukan utama pada platform ProTox 3.0. Penggunaan data dari PubChem bertujuan untuk menjamin bahwa struktur molekul yang dianalisis merupakan struktur standar yang telah tervalidasi secara internasional sehingga hasil prediksi dapat direproduksi oleh peneliti lain (Banerjee et al., 2024; Vasava et al., 2024).

Proses prediksi toksisitas dilakukan menggunakan ProTox 3.0 yang dapat diakses melalui antarmuka berbasis web. Pada halaman Compound Search atau Compound Input, Canonical SMILES parasetamol dimasukkan ke dalam kolom input. Selanjutnya sistem akan melakukan proses pengenalan struktur molekul, normalisasi struktur, identifikasi kemiripan terhadap basis data senyawa toksik, serta menjalankan model prediksi berbasis pembelajaran mesin. Pengguna dapat memilih model tertentu ataupun menjalankan seluruh model prediksi (All Models). Pada penelitian ini seluruh model prediksi dijalankan agar diperoleh gambaran profil toksisitas yang lebih komprehensif. Proses komputasi berlangsung secara otomatis pada server ProTox dan menghasilkan keluaran berupa berbagai parameter toksikologi beserta tingkat kepercayaan (confidence score) masing-masing prediksi (Banerjee et al., 2024; Vasava et al., 2024).

Prediksi utama yang menjadi fokus penelitian adalah profil toksisitas oral akut. Parameter ini menggambarkan tingkat toksisitas suatu senyawa setelah diberikan melalui rute oral berdasarkan pendekatan Quantitative Structure–Activity Relationship (QSAR), analisis kemiripan struktur molekul, dan model machine learning. Luaran utama yang diamati meliputi nilai Predicted LD₅₀ (Median Lethal Dose) yang dinyatakan dalam satuan mg/kg berat badan, kelas toksisitas (Toxicity Class) berdasarkan klasifikasi Globally Harmonized System (GHS), tingkat akurasi prediksi, serta tiga senyawa dengan struktur paling mirip (similar compounds) yang digunakan sebagai dasar inferensi toksisitas. Semakin kecil nilai LD₅₀ yang diprediksi maka semakin tinggi tingkat toksisitas suatu senyawa. Sebaliknya, nilai LD₅₀ yang besar menunjukkan tingkat toksisitas akut yang relatif rendah. Kelas toksisitas GHS digunakan untuk mengelompokkan senyawa mulai dari kelas 1 (sangat toksik) hingga kelas 6 (relatif tidak toksik) (Banerjee et al., 2024; Vasava et al., 2024).

Parameter toksisitas oral selain itu penelitian ini juga mendokumentasikan berbagai parameter pendukung yang dihasilkan oleh ProTox 3.0. Parameter tersebut meliputi prediksi organ toxicity, yaitu hepatotoksitas, nefrotoksitas, neurotoksisitas, kardiotoxikitas, dan toksisitas respirasi. Selanjutnya dilakukan pencatatan terhadap toxicological endpoints seperti mutagenisitas, karsinogenisitas, sitotoksitas, imunotoksitas, permeabilitas blood-brain barrier (BBB), ekotoksitas, toksisitas klinis, dan toksisitas nutrisi. Penelitian juga mendokumentasikan hasil prediksi Molecular Initiating Events (MIEs), Adverse Outcome Pathways (AOPs), parameter metabolisme, serta kemungkinan interaksi terhadap toxicity targets yang diprediksi berdasarkan pendekatan farmakofor. Walaupun parameter-parameter tersebut tidak menjadi luaran utama penelitian, informasi tersebut digunakan sebagai data pendukung untuk memberikan interpretasi yang lebih menyeluruh terhadap profil keamanan parasetamol (Banerjee et al., 2024; Vasava et al., 2024).

Seluruh hasil prediksi yang dihasilkan oleh ProTox 3.0 kemudian diunduh dalam format CSV maupun PDF untuk memudahkan proses dokumentasi dan analisis data. Data hasil prediksi selanjutnya ditabulasikan menggunakan

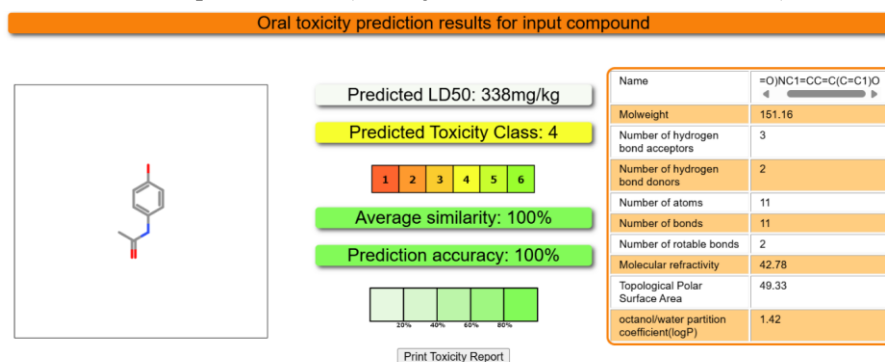
perangkat lunak Microsoft Excel sehingga setiap parameter toksisitas dapat disusun secara sistematis. Tahap ini meliputi proses verifikasi kelengkapan data, pemeriksaan konsistensi hasil prediksi, serta pengelompokan parameter sesuai kategori toksikologi yang tersedia pada ProTox 3.0 (Banerjee et al., 2024; Vasava et al., 2024).

Analisis data dilakukan secara deskriptif. Seluruh parameter yang diperoleh dari ProTox 3.0 disajikan dalam bentuk tabel dan uraian naratif. Nilai LD₅₀ dijelaskan berdasarkan satuan mg/kg berat badan beserta interpretasi kelas toksisitas menurut klasifikasi GHS. Parameter toksisitas organ, toxicological endpoints, metabolisme, dan target toksisitas diinterpretasikan berdasarkan kategori aktif (active) atau tidak aktif (inactive) beserta nilai confidence score yang diberikan oleh sistem. Confidence score menunjukkan tingkat keyakinan model terhadap hasil prediksi sehingga semakin tinggi nilainya maka semakin besar tingkat kepercayaan terhadap hasil prediksi tersebut. Data yang diperoleh tidak dianalisis menggunakan uji statistik inferensial karena penelitian ini hanya melibatkan satu senyawa sebagai objek prediksi, sehingga tujuan penelitian lebih menekankan pada deskripsi profil toksisitas daripada membandingkan antar kelompok (Banerjee et al., 2024; Vasava et al., 2024).

Interpretasi hasil dilakukan dengan membandingkan luaran prediksi ProTox 3.0 terhadap karakteristik toksikologi parasetamol yang telah dilaporkan dalam berbagai literatur ilmiah. Perbandingan ini bertujuan untuk mengevaluasi kesesuaian hasil prediksi komputasional dengan bukti eksperimental yang telah dipublikasikan sebelumnya. Nilai LD₅₀, kelas toksisitas, organ target, maupun parameter toksikologi lainnya dibahas berdasarkan mekanisme toksisitas parasetamol yang diketahui, khususnya pembentukan metabolit reaktif N-acetyl-p-benzoquinone imine (NAPQI) yang berperan dalam terjadinya hepatotoksitas. Dengan demikian, hasil penelitian tidak hanya menggambarkan keluaran prediksi komputasional, tetapi juga memberikan interpretasi biologis terhadap setiap parameter yang diperoleh (Banerjee et al., 2024; Vasava et al., 2024).

Hasil

Hasil prediksi profil toksisitas oral parasetamol menggunakan platform ProTox 3.0 memberikan gambaran awal mengenai tingkat keamanan senyawa berdasarkan karakteristik struktur molekulnya. Analisis menghasilkan nilai LD₅₀, kelas toksisitas, tingkat kemiripan struktur, akurasi prediksi, serta karakteristik fisikokimia yang menjadi dasar interpretasi potensi toksisitas parasetamol (Banerjee et al., 2024; Fu et al., 2024).



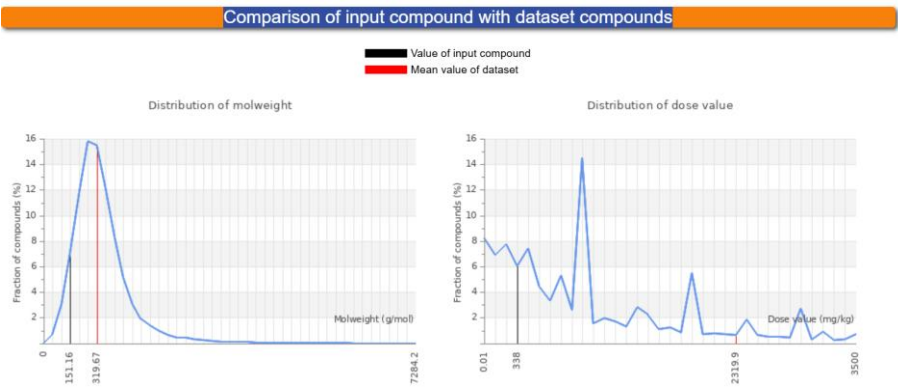
Gambar 2. Prediksi Toksisitas Oral Parasetamol

Hasil prediksi menunjukkan bahwa parasetamol memiliki nilai Predicted LD₅₀ sebesar 338 mg/kg berat badan dengan Predicted Toxicity Class 4. Kelas toksisitas 4 menunjukkan bahwa senyawa tergolong berbahaya apabila tertelan dalam dosis tinggi, tetapi tidak termasuk kelompok senyawa yang sangat toksik. Nilai LD₅₀ sebesar 338 mg/kg menunjukkan bahwa parasetamol memiliki toksisitas akut tingkat sedang sehingga penggunaan obat tetap memerlukan perhatian terhadap dosis terapi (Banerjee et al., 2024; Mallet et al., 2023).

Average Similarity sebesar 100% menunjukkan bahwa struktur molekul yang dianalisis memiliki kesesuaian sempurna dengan struktur referensi pada basis data ProTox 3.0. Prediction Accuracy sebesar 100% menunjukkan tingkat keyakinan model yang sangat tinggi, sehingga hasil prediksi dapat digunakan sebagai data awal dalam evaluasi keamanan obat secara in silico (Banerjee et al., 2024; Ekins et al., 2023).

Karakteristik fisikokimia parasetamol juga mendukung interpretasi profil biologisnya. Berat molekul 151,16 g/mol, logP 1,42, TPSA 49,33 Å², tiga hydrogen bond acceptors, dan dua hydrogen bond donors menunjukkan bahwa parasetamol memiliki karakteristik yang mendukung absorpsi oral dan distribusi dalam cairan tubuh, tetapi tetap berpotensi menimbulkan toksisitas apabila konsentrasi sistemiknya meningkat akibat overdosis (Mallet et al., 2023; Al-Kuraishy et al., 2024).

Pada perbandingan terhadap basis data ProTox 3.0, parasetamol memiliki berat molekul lebih kecil daripada rata-rata basis data, sedangkan nilai Predicted LD50 sebesar 338 mg/kg berada di bawah rata-rata nilai LD50 basis data sebesar 2.319,9 mg/kg. Temuan ini mengindikasikan bahwa parasetamol mempunyai potensi toksisitas akut lebih tinggi dibandingkan rata-rata senyawa dalam basis data, meskipun masih berada pada Toxicity Class 4 (Banerjee et al., 2024; Yoon et al., 2024).



Gambar 3. Perbandingan Senyawa Parasetamol dengan Basis Data ProTox 3.0

Tabel 1
Hasil Prediksi Profil Toksisitas Parasetamol Menggunakan ProTox 3.0

Klasifikasi	Target	Prediksi	Probabilitas
Organ Toxicity	Hepatotoxicity	Active	0,74
	Neurotoxicity	Active	0,80
	Nephrotoxicity	Active	0,57
	Respiratory toxicity	Active	0,52
	Cardiotoxicity	Inactive	0,89
Toxicity Endpoints	Carcinogenicity	Inactive	0,51
	Immunotoxicity	Inactive	0,99
	Mutagenicity	Inactive	0,90
	Cytotoxicity	Inactive	0,82
	BBB-barrier	Active	0,90
	Ecotoxicity	Inactive	0,54
	Clinical toxicity	Active	0,58
	Nutritional toxicity	Inactive	0,73
Tox21 Nuclear Receptor	AhR	Inactive	0,90
	AR	Inactive	1,00
	AR-LBD	Inactive	1,00
	Aromatase	Inactive	1,00
	ERα	Inactive	0,94
	ER-LBD	Inactive	0,99
	PPAR-γ	Inactive	1,00
Tox21 Stress Response	Nrf2/ARE	Inactive	0,98
	HSE	Inactive	0,98
	MMP	Inactive	0,96
	p53	Inactive	0,95
	ATAD5	Inactive	0,97
Molecular Initiating Events	THRα	Inactive	0,90
	THRβ	Inactive	0,78
	Transthyretin (TTR)	Inactive	0,97
	Ryanodine receptor (RYR)	Inactive	0,98
	GABA receptor	Inactive	0,96
	NMDA receptor	Inactive	0,92
	AMPA receptor	Inactive	0,97
	Kainate receptor	Inactive	0,99

	Acetylcholinesterase (AChE)	Active	0,74
	Constitutive Androstane Receptor (CAR)	Inactive	0,98
	Pregnane X Receptor (PXR)	Inactive	0,92
	NADH-quinone oxidoreductase	Inactive	0,97
	Voltage-Gated Sodium Channel	Inactive	0,95
	Na ⁺ /I ⁻ Symporter	Inactive	0,98
Metabolism	CYP1A2	Inactive	0,67
	CYP2C19	Inactive	0,74
	CYP2C9	Inactive	0,58
	CYP2D6	Inactive	0,93
	CYP3A4	Inactive	0,54
	CYP2E1	Inactive	1,00

Sumber: Hasil prediksi ProTox 3.0, 2026.

Pembahasan

Prediksi hepatotoksitas aktif dengan probabilitas 0,74 sangat sesuai dengan bukti klinis bahwa hati merupakan organ target utama toksisitas parasetamol. Mekanisme tersebut berhubungan dengan pembentukan metabolit reaktif N-acetyl-p-benzoquinone imine (NAPQI), penurunan cadangan glutathione, stres oksidatif, disfungsi mitokondria, dan nekrosis hepatosit pada kondisi overdosis (Yoon et al., 2024; Wright et al., 2024; Du et al., 2023).

Prediksi neurotoksisitas, nefrotoksitas, dan toksisitas respirasi yang aktif menunjukkan bahwa parasetamol tidak hanya perlu dievaluasi pada aspek hati, tetapi juga pada organ lain, terutama apabila digunakan dalam dosis tinggi, jangka panjang, atau pada individu dengan faktor risiko tertentu. Sebaliknya, kardiotoksitas diprediksi tidak aktif dengan probabilitas 0,89 sehingga toksisitas terhadap jantung bukan merupakan karakteristik utama parasetamol berdasarkan model ini (Massart et al., 2023; Maeda et al., 2025).

Pada kategori toxicity endpoints, parasetamol diprediksi tidak bersifat karsinogenik, mutagenik, sitotoksik, maupun imunotoksik. Hasil tersebut mendukung penggunaan parasetamol sebagai obat yang relatif aman apabila digunakan sesuai dosis terapi. Namun, prediksi blood-brain barrier aktif dengan probabilitas 0,90 menunjukkan kemampuan senyawa melewati sawar darah otak, yang relevan dengan aktivitas analgesik dan antipiretik pada sistem saraf pusat (Mallet et al., 2023; Idarraga et al., 2025).

Clinical toxicity diprediksi aktif dengan probabilitas 0,58. Hasil ini memperkuat fakta bahwa parasetamol tetap dapat menimbulkan manifestasi toksisitas klinis pada kondisi overdosis atau penggunaan tidak rasional. Oleh karena itu, edukasi dosis, pemantauan penggunaan obat bebas, dan kewaspadaan terhadap kombinasi produk yang sama-sama mengandung parasetamol tetap penting dalam praktik kefarmasian (Lechien et al., 2024; Yoon et al., 2024).

Seluruh jalur Tox21, baik nuclear receptor signaling pathways maupun stress response pathways, diprediksi tidak aktif. Hasil tersebut menunjukkan bahwa toksisitas parasetamol kemungkinan tidak terutama dimediasi oleh aktivasi langsung reseptor nuklir seperti AhR, AR, ER, PPAR- γ , maupun jalur stres seperti Nrf2/ARE, p53, dan MMP, melainkan lebih berkaitan dengan metabolisme reaktif dan gangguan mitokondria pada kondisi kelebihan dosis (Wright et al., 2024; Bhattacharya et al., 2023).

Sebagian besar Molecular Initiating Events juga diprediksi tidak aktif, kecuali Acetylcholinesterase (AChE) yang menunjukkan status aktif dengan probabilitas 0,74. Temuan ini perlu ditafsirkan hati-hati karena parasetamol bukan inhibitor AChE yang dikenal secara klinis, sehingga hasil tersebut lebih tepat dianggap sebagai sinyal prediktif awal yang memerlukan validasi eksperimental (Roman et al., 2024; Tang et al., 2024).

Pada aspek metabolisme, seluruh isoenzim CYP450 diprediksi tidak aktif oleh ProTox 3.0. Hasil ini tidak berarti parasetamol tidak dimetabolisme oleh CYP450, karena secara farmakokinetik pembentukan NAPQI diketahui melibatkan CYP2E1, CYP1A2, dan CYP3A4. Dengan demikian, hasil prediksi harus dipahami sebagai keluaran model toksikologi komputasional dan tetap perlu dikaitkan dengan literatur farmakokinetik yang telah tersedia (Xun et al., 2024; Du et al., 2023).

Secara keseluruhan, hasil ProTox 3.0 mampu menggambarkan profil toksisitas parasetamol yang konsisten dengan bukti ilmiah, terutama dominasi hepatotoksitas, rendahnya potensi karsinogenisitas dan mutagenisitas, serta pentingnya dosis sebagai faktor penentu keamanan. Hal ini menunjukkan bahwa platform komputasional dapat dimanfaatkan sebagai skrining awal dalam evaluasi keamanan obat, meskipun tidak menggantikan validasi in vitro, in vivo, maupun data klinis (Banerjee et al., 2024; Vasava et al., 2024; Hartung & Luechtefeld, 2023).

Kesimpulan

Berdasarkan hasil prediksi menggunakan ProTox 3.0, parasetamol memiliki nilai Predicted LD50 sebesar 338 mg/kg dan termasuk Toxicity Class 4, dengan Average Similarity dan Prediction Accuracy masing-masing sebesar 100%. Parasetamol diprediksi berpotensi menyebabkan hepatotoksitas, neurotoksisitas, nefrotoksitas, dan toksitas respirasi, sedangkan kardiotoksitas diprediksi tidak aktif. Pada parameter toxicity endpoints, parasetamol diprediksi tidak bersifat karsinogenik, mutagenik, sitotoksik, maupun imunotoksik, tetapi memiliki potensi menembus blood-brain barrier dan menunjukkan clinical toxicity. Sebagian besar jalur Tox21, Molecular Initiating Events, dan metabolisme diprediksi tidak aktif, kecuali Acetylcholinesterase yang menunjukkan status aktif. Secara keseluruhan, ProTox 3.0 dapat memberikan gambaran komprehensif profil toksitas oral parasetamol dan dapat digunakan sebagai metode skrining awal dalam evaluasi keamanan obat berbasis *in silico*, dengan tetap memerlukan validasi eksperimental dan klinis lanjutan (Banerjee et al., 2024; Yoon et al., 2024; Wright et al., 2024).

Referensi

- Mallet, C., Eschalier, A., & Daulhac, L. (2023). An updated review on the metabolite (AM404)-mediated central mechanism of action of paracetamol (acetaminophen): Experimental evidence and potential clinical impact. *Journal of Pain Research*, 16, 1081-1094. <https://doi.org/10.2147/JPR.S398362>
- Al-Kuraishy, H. M., Al-Gareeb, A. I., Albuhadily, A. K., et al. (2024). Paracetamol: The potential therapeutic pathways defining its clinical use. *Inflammopharmacology*, 32(6), 3501-3512. <https://doi.org/10.1007/S10787-024-01567-3>
- Milani, G. P., Catenazzi, P., Torretta, S., et al. (2026). Efficacy and safety of paracetamol and NSAIDs for fever and pain management in children with chronic diseases: A narrative review. *Children*, 13(1), 71. <https://doi.org/10.3390/children13010071>
- Lechien, J. R., Chiesa-Estomba, C. M., Rodriguez, A., et al. (2024). Paracetamol use in primary and hospital care: A global perspective on prescription and self-medication patterns. *Pharmacy*, 12(1), 28. <https://doi.org/10.3390/pharmacy12010028>
- Idarraga, A. J., Guerra-Tapia, A., Lopez de la Iglesia, J., et al. (2025). A comprehensive review of paracetamol (acetaminophen): Pharmacological properties, clinical applications, efficacy and safety. *Journal of Pharmacology*, 13(2), 145-162. <https://doi.org/10.1016/J.jphs.2025.01.012>
- Yoon, E., Babar, A., Choudhary, M., Kutner, M., & Pyrsopoulos, N. (2024). Acetaminophen-induced hepatotoxicity: A comprehensive update. *Journal of Clinical and Translational Hepatology*, 12(2), 170-179. <https://doi.org/10.14218/JCTH.2023.00269>
- Wright, S. P., Han, Y., Watt, K. I., et al. (2024). Acetaminophen hepatotoxicity: Paradigm for understanding mechanisms of drug-induced liver injury. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 64, 189-211. <https://doi.org/10.1146/annurev-pharmtox-051921-022123>
- Xun, T., Zhang, M., Wei, S., Zhao, C., et al. (2024). CYP2E1 mediated advanced oxidation protein products exacerbate acetaminophen induced drug-derived liver injury in vitro and in vivo. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 200, 106829. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2024.106829>
- Sivagurunathan, N., Zhang, Y., Park, J., et al. (2025). Inflammasome activation as a key driver of acetaminophen-induced acute liver injury. *Genes and Environment*, 24(3), 235-250. <https://doi.org/10.14218/GE.2025.00001>
- Du, K., McGill, M. R., Xie, Y., & Jaeschke, H. (2023). The molecular mechanisms of acetaminophen-induced hepatotoxicity and its potential therapeutic targets. *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology*, 19(1), 21-32. <https://doi.org/10.1080/17425255.2023.2179486>
- Bhattacharya, P., Lammert, S. M., & Jaeschke, H. (2023). Mechanisms of acetaminophen hepatotoxicity and their translation to the human pathophysiology. *Molecular and Cellular Pediatrics*, 10, 9. <https://doi.org/10.1186/S40348-023-00164-0>
- Maeda, S., Yamada, H., Kim, S. H., Choi, H. J., & Seo, H. (2025). Acute acetaminophen hepatotoxicity and platelet dysfunction. *Journal of Medical Toxicology*, 21(3), 245-256. <https://doi.org/10.1007/S13181-025-01065-W>
- Massart, J., Begriche, K., Moreau, C., & Fromenty, B. (2023). Acetaminophen-induced hepatotoxicity in obesity and nonalcoholic fatty liver disease: A critical review. *Liver International*, 43(3), 531-544. <https://doi.org/10.1111/liv.15500>
- Wu, L., Yan, B., Han, J., Li, R., Xiao, J., He, S., & Bo, X. (2023). TOXRIC: A comprehensive database of toxicological data and benchmarks. *Nucleic Acids Research*, 51(D1), D1432-D1445. <https://doi.org/10.1093/nar/gkac1074>
- Ekins, S., Lane, T. R., Urbina, F., & Puhl, A. C. (2023). *In silico* ADME/Tox comes of age: Twenty years later. *Xenobiotica*, 54, 352-358. <https://doi.org/10.1080/00498254.2023.2200151>
- Vasava, P., Pérez-Santín, E., Rodríguez Solana, R., et al. (2024). Toxicity prediction based on artificial intelligence: A review. *Frontiers in Pharmacology*, 15, 1349993. <https://doi.org/10.3389/fphar.2024.1349993>
- Poh, W. T., & Chong, R. C. X. (2024). The new paradigm in animal testing - '3Rs alternatives'. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 153, 105705. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2024.105705>
- Smith, A. J., Clutton, R. E., Lilley, E., Hansen, K. E. A., & Brattelid, T. (2024). PREPARE: Guidelines for planning animal research and testing. *Laboratory Animals*, 58(2), 122-131. <https://doi.org/10.1177/00236772231192866>
- Hartung, T., & Luechtefeld, T. (2023). Big-data and machine learning to revamp computational toxicology and its use in risk assessment. *ALTEX*, 40(4), 576-590. <https://doi.org/10.14573/altex.2303091>

- Vinken, M., Benfenati, E., Busquet, F., et al. (2023). Safer chemicals using less animals: Kick-off of the European ONTOX project. *Toxicology*, 484, 153386. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2022.153386>
- Banerjee, P., Eckert, A. O., Schrey, A. K., & Preissner, R. (2018). ProTox-II: A webserver for the prediction of toxicity of chemicals. *Nucleic Acids Research*, 46(W1), W257-W263. <https://doi.org/10.1093/nar/gky318>
- Banerjee, P., Kemmler, E., Dunkel, M., & Preissner, R. (2024). ProTox 3.0: A webserver for the prediction of toxicity of chemicals. *Nucleic Acids Research*, 52(W1), W513-W520. <https://doi.org/10.1093/nar/gkae303>
- Fu, L., Shi, S., Yi, J., Wang, N., He, Y., Wu, Z., et al. (2024). ADMETlab 3.0: An updated comprehensive online ADMET prediction platform enhanced with broader coverage, improved performance, API functionality and decision support. *Nucleic Acids Research*, 52(W1), W422-W431. <https://doi.org/10.1093/nar/gkae236>
- Pérez-Santín, E., Rodríguez Solana, R., González García, M., et al. (2023). Toxicity prediction based on artificial intelligence: A review. *Drug Discovery Today*, 28(7), 103372. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2023.103372>
- Bisht, A., Avula, S. K., Sharma, A., et al. (2024). QSAR-based virtual screening and machine learning for prediction of chemical toxicity: A comprehensive review. *RSC Advances*, 14(12), 8230-8250. <https://doi.org/10.1039/D3RA08230J>
- Lee, H., Kim, J., Kim, J. W., & Lee, Y. (2025). Recent advances in AI-based toxicity prediction for drug discovery. *Frontiers in Chemistry*, 13, 1632046. <https://doi.org/10.3389/fchem.2025.1632046>
- Yang, H., Sun, L., Li, W., Liu, G., & Tang, Y. (2023). New insights and methods in the field of in silico toxicology. *Chemical Research in Toxicology*, 36(6), 825-830. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrestox.3c00067>
- Idakwo, G., Luo, M., Chen, M., Hong, H., & Zhang, C. (2023). AI-based toxicity prediction in drug discovery: Recent advances, challenges, and future perspectives. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 63(20), 6198-6211. <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.3c00200>
- Roman, D. L., Roman, M., & Isvoran, A. (2024). Computational assessment of pharmacological profiles and toxicity of bioactive compounds: A comparative study using multiple in silico platforms. *Toxics*, 12(9), 621. <https://doi.org/10.3390/toxics12090621>
- Braga, R. C., Alves, V. M., Muratov, E. N., Andrade, C. H., & Tropsha, A. (2024). Machine learning in toxicological sciences: Opportunities for assessing drug toxicity. *Frontiers in Drug Discovery*, 4, 1336025. <https://doi.org/10.3389/fddsv.2024.1336025>
- Watanabe, E., Auernhammer, P., Leist, M., Hartung, T., & Luechtefeld, T. (2023). Big-data and machine learning to revamp computational toxicology and its regulatory application in risk assessment. *ALTEX*, 40(2), 201-218. <https://doi.org/10.14573/altex.2210171>
- Mansouri, K., Karmaus, A. L., Fitzpatrick, J., et al. (2023). CATMoS: Collaborative Acute Toxicity Modeling Suite. *Environmental Health Perspectives*, 129(4), 047013. <https://doi.org/10.1289/EHP8495>
- Xie, J., Liu, W., Hu, W., Ouyang, M., & Huang, T. (2025). Graph neural network-based toxicity prediction by integrating molecular fingerprints and knowledge graph features. *Toxics*, 13(11), 953. <https://doi.org/10.3390/toxics13110953>
- Tang, J., Liu, R., Zhang, Y. L., et al. (2024). Application of machine learning models to predict acute liver toxicity: Validation against experimental and clinical data as a decision-support tool in drug development. *Computers in Biology and Medicine*, 170, 108015. <https://doi.org/10.1016/j.combiomed.2024.108015>