

RESEARCH ARTICLE

Analisis Komputasi untuk Memprediksi *Organ Toxicity* dan *Toxicity End Points* pada Penggunaan Paracetamol

Fendy Prasetyawan^{1*}, Yuneka Saristiana², M. Wahyu Ariawan³, Tsamrotul Ilmi⁴, Sri Lestari⁵

^{1,2,4}Prodi Pendidikan Profesi Apoteker, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Kadiri

³Prodi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Mulawarman

⁵Prodi Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Kadiri

Received: 09 Juli 2026

Revised: 21 Juli 2026

Accepted: 24 Juli 2026

Available Online: 28 Juli 2026

*Correspondence: fendy.pra@unik-kediri.ac.id

Abstrak

Paracetamol merupakan analgesik dan antipiretik yang digunakan secara luas karena efektivitas dan profil keamanannya. Namun, penggunaan yang tidak rasional atau melebihi dosis terapi dapat meningkatkan risiko toksisitas pada berbagai organ. Pendekatan *in silico* menggunakan ProTox-3.0 dapat dimanfaatkan sebagai metode awal untuk mengevaluasi profil toksisitas suatu senyawa secara cepat dan efisien. Penelitian ini bertujuan menganalisis prediksi *organ toxicity*, *toxicity end points*, dan *toxicity target* pada paracetamol menggunakan platform ProTox-3.0. Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif dengan pendekatan *in silico*. Struktur molekul paracetamol diperoleh dari PubChem dalam format SMILES, kemudian dianalisis menggunakan ProTox-3.0 untuk memprediksi *organ toxicity*, *toxicity end points*, dan *toxicity target*. Data dianalisis secara deskriptif berdasarkan status prediksi dan nilai probabilitas. Paracetamol diprediksi memiliki potensi *organ toxicity* berupa hepatotoksitas (0,74), neurotoksisitas (0,80), nefrotoksitas (0,57), dan toksisitas respirasi (0,52), sedangkan kardiotoksitas diprediksi Inactive (0,89). Pada Toxicity end points, parameter BBB-barrier (0,90) dan Clinical toxicity (0,58) diprediksi Active, sementara carcinogenicity, immunotoxicity, mutagenicity, cytotoxicity, ecotoxicity, dan nutritional toxicity diprediksi Inactive. Analisis toxicity target mengidentifikasi prostaglandin G/H synthase 1 sebagai target potensial dengan *avg similarity known ligands* sebesar 72,55%. ProTox-3.0 berhasil memberikan gambaran awal mengenai profil toksisitas paracetamol dan menunjukkan bahwa obat ini memiliki potensi toksisitas terhadap beberapa organ serta target biologis tertentu yang dapat menjadi dasar penelitian lanjutan secara eksperimental.

Kata Kunci: Paracetamol; ProTox-3.0; *Organ toxicity*; *Toxicity end points*; *In silico*.

Computational Analysis to Predict Organ Toxicity and Toxicity End Points in Paracetamol Use

Abstract

Paracetamol is one of the most widely used analgesic and antipyretic drugs due to its efficacy and favorable safety profile. However, inappropriate use or overdose may increase the risk of toxicity in multiple organs. An *in silico* approach using ProTox-3.0 provides a rapid and efficient strategy for the early evaluation of drug toxicity. This study aimed to predict the organ toxicity, toxicity end points, and toxicity target of paracetamol using the ProTox-3.0 platform. A descriptive *in silico* study was conducted. The molecular structure of paracetamol was retrieved from PubChem in SMILES format and analyzed using ProTox-3.0 to predict organ toxicity, toxicity end points, and toxicity target. The prediction results were analyzed descriptively based on toxicity classification and probability scores. Paracetamol was predicted to exhibit active hepatotoxicity (0.74), neurotoxicity (0.80), nephrotoxicity (0.57), and respiratory toxicity (0.52), whereas cardiotoxicity was predicted to be inactive (0.89). Among the toxicity end points, BBB-barrier (0.90) and clinical toxicity (0.58) were predicted as active, while carcinogenicity, immunotoxicity, mutagenicity, cytotoxicity, ecotoxicity, and nutritional toxicity were predicted as inactive. The predicted toxicity target was prostaglandin G/H synthase 1, with an average similarity to known ligands of 72.55%. ProTox-3.0 successfully provided an initial toxicity profile of paracetamol, indicating its potential toxicity toward several organs and specific biological targets, supporting further experimental validation.

Keywords: Paracetamol; ProTox-3.0; *Organ toxicity*; *Toxicity end points*; *In silico*

PENDAHULUAN

Paracetamol 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. Obat ini tersedia secara luas sebagai obat bebas (*over the counter*), sehingga mudah diakses oleh masyarakat tanpa memerlukan resep tenaga Kesehatan [1]. Tingginya tingkat penggunaan paracetamol didukung oleh profil keamanan yang relatif baik apabila digunakan sesuai dosis terapi yang dianjurkan. Dibandingkan dengan golongan antiinflamasi nonsteroid (NSAID), paracetamol memiliki risiko iritasi saluran cerna dan gangguan kardiovaskular yang lebih rendah sehingga sering menjadi terapi pilihan pertama pada berbagai kondisi klinis [2]. Di Indonesia, paracetamol juga menjadi salah satu obat yang paling sering diresepkan maupun dibeli secara swamedikasi untuk mengatasi keluhan nyeri kepala, nyeri otot, nyeri pascaoperasi, hingga demam akibat infeksi [3].

Meskipun dikenal sebagai obat yang relatif aman, penggunaan paracetamol tidak terlepas dari berbagai risiko toksisitas, terutama apabila digunakan dalam dosis tinggi, jangka panjang, atau pada pasien dengan faktor risiko tertentu [4]. Paracetamol memiliki indeks terapi yang cukup luas, namun metabolisme obat ini menghasilkan metabolit reaktif yang dikenal sebagai *N-acetyl-p-benzoquinone imine* (NAPQI) [5]. Pada kondisi normal, metabolit tersebut akan dinetralisasi oleh glutathione sehingga tidak menimbulkan kerusakan seluler. Akan tetapi, ketika kapasitas glutathione menurun atau produksi NAPQI meningkat akibat overdosis maupun gangguan metabolisme, metabolit tersebut akan berikatan dengan protein intraseluler sehingga memicu stres oksidatif, disfungsi mitokondria, nekrosis sel, serta kerusakan berbagai organ [6].

Kasus keracunan paracetamol hingga saat ini masih menjadi salah satu penyebab tersering gagal hati akut (*acute liver failure*) di berbagai negara [7]. Selain hepatotoksitas yang telah banyak diteliti, berbagai penelitian terbaru menunjukkan bahwa penggunaan paracetamol juga berpotensi memengaruhi organ lain, seperti ginjal, jantung, paru, sistem hematologi, sistem saraf pusat, hingga organ reproduksi [8]. Manifestasi toksisitas tersebut dipengaruhi oleh berbagai faktor, antara lain dosis, durasi penggunaan, usia, status gizi, konsumsi alkohol, penyakit penyerta, polimorfisme genetik enzim metabolisme, serta interaksi dengan obat lain [9]. Kompleksitas faktor-faktor tersebut menyebabkan evaluasi keamanan paracetamol tidak hanya berfokus pada hati, tetapi juga perlu mempertimbangkan kemungkinan terjadinya toksisitas multisystem [10].

Dalam pengembangan obat modern, evaluasi aspek keamanan merupakan tahapan yang sangat penting sebelum suatu senyawa dapat digunakan secara luas pada manusia. Penelitian toksikologi secara konvensional umumnya dilakukan melalui uji *in vitro* menggunakan kultur sel maupun uji *in vivo* pada hewan percobaan [11]. Walaupun kedua pendekatan tersebut masih menjadi standar dalam penelitian toksikologi, pelaksanaannya memerlukan biaya yang tinggi, waktu yang relatif lama, sumber daya laboratorium yang besar, serta menghadapi berbagai pertimbangan etik terkait penggunaan hewan percobaan [12]. Efek toksik terhadap berbagai organ dapat diamati secara komprehensif dalam satu penelitian eksperimental [13].

Perkembangan teknologi komputasi telah menghasilkan berbagai pendekatan baru dalam bidang toksikologi prediktif (*predictive toxicology*). Pendekatan ini memanfaatkan algoritma kecerdasan buatan (*artificial intelligence*), *machine learning*, *quantitative structure-activity relationship* (QSAR), serta basis data toksikologi berskala besar untuk memprediksi potensi toksisitas suatu senyawa hanya berdasarkan struktur kimia dan karakteristik molekulnya [14]. Pendekatan tersebut dikenal sebagai analisis komputasi atau *in silico*, yang saat ini semakin banyak diterapkan dalam proses penemuan obat, optimasi kandidat obat, hingga evaluasi keamanan senyawa farmasi [15].

Analisis komputasi memiliki berbagai keunggulan dibandingkan metode konvensional. Selain mampu menghemat biaya dan waktu penelitian, metode ini memungkinkan proses penyaringan awal (*early screening*) terhadap ribuan senyawa secara simultan sehingga dapat mengidentifikasi potensi toksisitas sejak tahap awal pengembangan obat [16]. Prediksi yang dihasilkan juga dapat membantu peneliti menentukan organ target yang berpotensi mengalami kerusakan sehingga penelitian eksperimental berikutnya dapat dilakukan secara lebih terarah. Pendekatan ini juga sejalan dengan prinsip 3R (*replacement, reduction, and refinement*) dalam penelitian hewan karena mampu mengurangi jumlah penggunaan hewan percobaan [17].

Salah satu aspek penting dalam analisis komputasi toksikologi adalah prediksi *organ toxicity* [18]. Parameter ini menggambarkan kemungkinan suatu senyawa memberikan efek toksik terhadap organ tertentu, seperti hati, ginjal, jantung, paru, sistem imun, maupun sistem saraf [19]. Prediksi tersebut dilakukan berdasarkan hubungan antara struktur molekul dengan data toksisitas yang telah tersedia dalam berbagai basis data internasional. Informasi mengenai *organ toxicity* menjadi sangat penting karena mampu memberikan gambaran awal mengenai organ target yang berpotensi mengalami gangguan sebelum dilakukan penelitian laboratorium [20].

Selain *organ toxicity*, parameter lain yang memiliki peranan penting adalah *toxicity end points*. Parameter ini mencakup berbagai indikator toksisitas spesifik, seperti karsinogenisitas, mutagenisitas, sitotoksitas,

hepatotoksitas, nefrotoksitas, imunotoksitas, genotoksitas, iritasi, toksitas reproduksi, toksitas perkembangan, gangguan mitokondria, serta berbagai mekanisme toksik lainnya [21]. Evaluasi terhadap *toxicity end points* memberikan gambaran yang lebih luas mengenai karakteristik toksik suatu senyawa sehingga dapat digunakan sebagai dasar dalam pengambilan keputusan ilmiah maupun regulatori [22].

Berbagai perangkat lunak dan platform *in silico* telah dikembangkan untuk mendukung prediksi toksitas, di antaranya ProTox-3.0, pkCSM, ADMETlab, SwissADME, Toxtree, VEGA, serta platform berbasis QSAR lainnya [23]. Platform-platform tersebut mengintegrasikan data eksperimen toksikologi dalam jumlah besar dengan algoritma prediksi modern sehingga mampu menghasilkan estimasi tingkat toksitas secara cepat dan cukup akurat [24]. Meskipun demikian, setiap platform memiliki karakteristik, basis data, serta algoritma yang berbeda sehingga hasil prediksi perlu diinterpretasikan secara ilmiah dan dikaitkan dengan mekanisme farmakologi maupun toksikologi paracetamol [25].

Paracetamol menjadi salah satu senyawa yang menarik untuk dianalisis menggunakan pendekatan komputasi karena merupakan obat yang telah digunakan selama puluhan tahun namun masih terus menjadi perhatian dalam aspek keamanan [26]. Banyak penelitian berfokus pada hepatotoksitas akibat overdosis, sedangkan kajian yang mengevaluasi secara komprehensif berbagai potensi *organ toxicity* dan *toxicity end points* melalui pendekatan komputasi masih relatif terbatas, khususnya di Indonesia [27]. Padahal, informasi tersebut sangat penting sebagai dasar pengembangan penelitian eksperimental, penyusunan strategi farmakovigilans, serta peningkatan keamanan penggunaan obat di Masyarakat [30].

Selain memberikan manfaat dalam bidang penelitian, hasil prediksi komputasi juga memiliki implikasi praktis bagi tenaga kesehatan. Apoteker, dokter, serta tenaga kefarmasian dapat memanfaatkan informasi mengenai profil toksitas suatu obat untuk meningkatkan kewaspadaan terhadap pasien yang memiliki faktor risiko tertentu, melakukan pemantauan terapi secara lebih optimal, serta memberikan edukasi mengenai penggunaan obat yang rasional [31]. Dengan demikian, pendekatan *predictive toxicology* tidak hanya berkontribusi terhadap pengembangan ilmu pengetahuan, tetapi juga mendukung peningkatan keselamatan pasien (*patient safety*) [32].

Dalam konteks perkembangan teknologi kesehatan, integrasi analisis komputasi dengan ilmu farmasi merupakan bagian dari transformasi menuju *computational pharmacology* dan *computational toxicology*. Pendekatan ini semakin relevan dengan berkembangnya teknologi kecerdasan buatan, *big data*, dan *machine learning* yang memungkinkan analisis keamanan obat dilakukan secara lebih komprehensif [33]. Hasil prediksi yang diperoleh dapat menjadi dasar dalam merancang penelitian lanjutan menggunakan metode *in vitro*, *in vivo*, maupun uji klinis sehingga proses penelitian menjadi lebih efisien [34].

Berdasarkan uraian tersebut, penelitian ini dilakukan untuk menganalisis prediksi *organ toxicity* dan *toxicity end points* pada penggunaan paracetamol menggunakan pendekatan analisis komputasi. Penelitian ini diharapkan mampu memberikan gambaran ilmiah mengenai profil toksitas paracetamol berdasarkan prediksi *in silico*, mengidentifikasi organ target yang berpotensi mengalami efek toksik, serta mengevaluasi berbagai parameter toksitas yang relevan [35]. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi sumber informasi ilmiah yang bermanfaat bagi pengembangan ilmu farmasi, toksikologi, farmakovigilans, serta penelitian lanjutan dalam evaluasi keamanan obat berbasis teknologi komputasi.

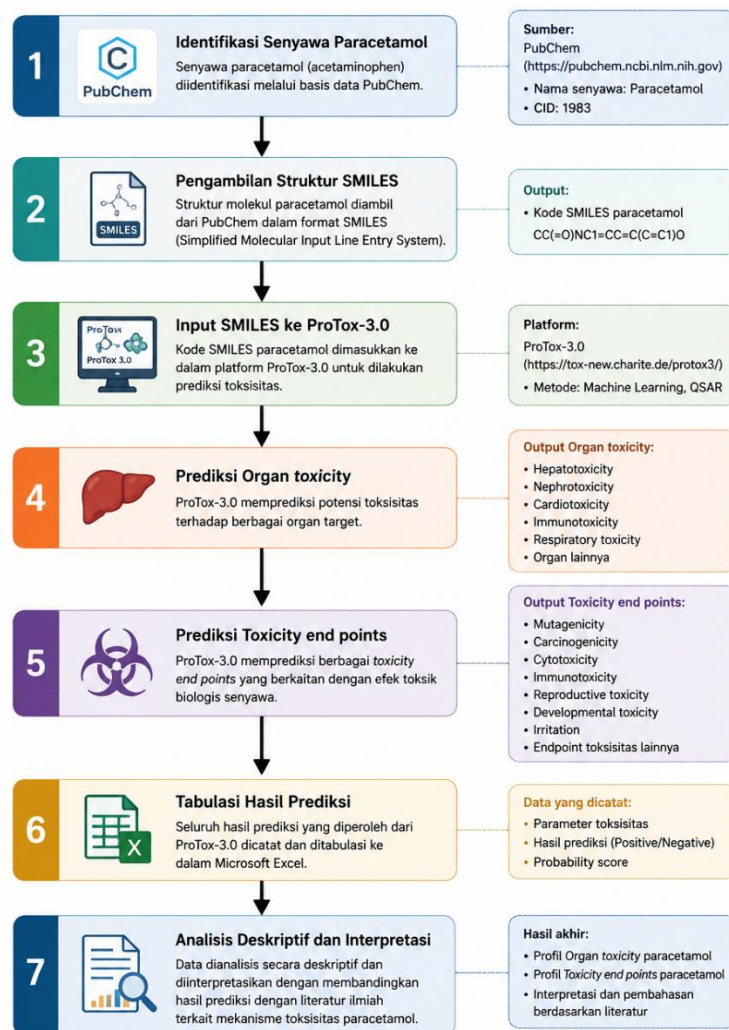
BAHAN DAN METODE

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif dengan pendekatan *in silico* yang bertujuan untuk menganalisis prediksi *organ toxicity* dan *toxicity end points* pada paracetamol menggunakan platform komputasi ProTox-3.0. Penelitian dilakukan tanpa melibatkan subjek manusia maupun hewan percobaan, sehingga seluruh analisis didasarkan pada prediksi komputasional yang memanfaatkan algoritma *machine learning*, *Quantitative Structure-Activity Relationship* (QSAR), serta basis data toksikologi yang telah tervalidasi. Penelitian dilaksanakan pada bulan Juli 2026 melalui pemanfaatan perangkat komputer yang terhubung dengan jaringan internet untuk mengakses platform ProTox-3.0.

Objek penelitian adalah senyawa paracetamol (acetaminophen) yang merupakan salah satu obat analgesik dan antipiretik yang banyak digunakan dalam praktik klinis. Struktur molekul paracetamol diperoleh dari basis data kimia PubChem dalam format *simplified molecular input line entry system* (SMILES). Representasi SMILES tersebut selanjutnya digunakan sebagai masukan (*input*) pada platform ProTox-3.0 untuk memperoleh prediksi parameter toksitas berdasarkan karakteristik struktur molekul senyawa.

Instrumen penelitian berupa perangkat keras yang terdiri atas komputer atau laptop dengan spesifikasi yang memadai untuk menjalankan aplikasi berbasis web, sedangkan perangkat lunak yang digunakan meliputi peramban internet (*google chrome* atau *mozilla firefox*), platform ProTox-3.0 sebagai perangkat utama analisis toksitas, serta

perangkat lunak pengolah data seperti Microsoft Excel untuk melakukan tabulasi dan penyajian hasil penelitian. Basis data PubChem digunakan sebagai sumber informasi struktur kimia paracetamol yang akan dianalisis.



Gambar 1. Alur pelaksanaan penelitian

Prosedur penelitian diawali dengan identifikasi senyawa paracetamol melalui basis data PubChem untuk memperoleh struktur molekul dalam format SMILES. Struktur tersebut kemudian dimasukkan ke dalam kolom pencarian pada platform ProTox-3.0. Setelah proses prediksi selesai dilakukan, sistem secara otomatis menghasilkan berbagai parameter toksisitas yang meliputi prediksi *organ toxicity* dan *toxicity end points*. Seluruh hasil prediksi yang diperoleh kemudian didokumentasikan dalam bentuk tabel dan dilakukan pemeriksaan ulang untuk memastikan tidak terdapat kesalahan pencatatan data.

Parameter *organ toxicity* yang diamati dalam penelitian ini meliputi prediksi potensi toksisitas terhadap berbagai organ target yang tersedia pada platform ProTox-3.0, terutama hepatotoksitas, nefrotoksitas, kardiotoxikitas, imunotoksitas, toksisitas terhadap sistem respirasi, serta organ lain yang ditampilkan oleh sistem prediksi. Setiap parameter dievaluasi berdasarkan status prediksi yang diberikan oleh ProTox-3.0 beserta nilai probabilitas (*probability score*) yang menunjukkan tingkat keyakinan model terhadap hasil prediksi tersebut.

Parameter *toxicity end points* yang dianalisis meliputi berbagai indikator toksisitas biologis yang disediakan oleh ProTox-3.0, seperti mutagenisitas, karsinogenisitas, sitotoksitas, imunotoksitas, toksisitas reproduksi, toksisitas perkembangan, iritasi, serta parameter toksisitas lainnya yang tersedia pada hasil prediksi. Setiap *toxicity end point* diklasifikasikan berdasarkan hasil prediksi positif maupun negatif serta nilai probabilitas yang dihasilkan oleh algoritma ProTox-3.0.

Data hasil penelitian dianalisis secara deskriptif. Seluruh hasil prediksi disajikan dalam bentuk tabel yang memuat jenis parameter toksisitas, status prediksi, dan nilai probabilitas. Selanjutnya dilakukan interpretasi terhadap hasil prediksi dengan membandingkan profil toksisitas paracetamol yang diperoleh dari ProTox-3.0 dengan mekanisme toksisitas yang telah dilaporkan dalam berbagai literatur ilmiah. Pendekatan ini bertujuan untuk

memberikan gambaran komprehensif mengenai potensi *organ toxicity* dan *toxicity end points* paracetamol berdasarkan analisis komputasi.

Karena penelitian ini hanya menggunakan data yang tersedia secara terbuka (*open access*) dan tidak melibatkan manusia, hewan percobaan, maupun data pasien, penelitian tidak memerlukan persetujuan etik (*ethical clearance*). Seluruh proses penelitian dilakukan sesuai dengan prinsip integritas ilmiah melalui penggunaan data yang dapat ditelusuri, terdokumentasi, dan dapat direplikasi oleh peneliti lain menggunakan prosedur yang sama.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Prediksi *Organ toxicity* Paracetamol Menggunakan ProTox-3.0

Hasil analisis komputasi menggunakan platform ProTox-3.0 menunjukkan bahwa paracetamol memiliki potensi toksisitas terhadap beberapa organ target dengan tingkat probabilitas yang berbeda-beda. Prediksi tersebut disajikan pada **Tabel 1**.

Tabel 1. Hasil prediksi *organ toxicity* paracetamol menggunakan ProTox-3.0

<i>Classification</i>	<i>Target</i>	<i>Prediction</i>	<i>Probability</i>
<i>Organ toxicity</i>	<i>Hepatotoxicity</i>	<i>Active</i>	0,74
<i>Organ toxicity</i>	<i>Neurotoxicity</i>	<i>Active</i>	0,80
<i>Organ toxicity</i>	<i>Nephrotoxicity</i>	<i>Active</i>	0,57
<i>Organ toxicity</i>	<i>Respiratory toxicity</i>	<i>Active</i>	0,52
<i>Organ toxicity</i>	<i>Cardiotoxicity</i>	<i>Inactive</i>	0,89

Berdasarkan hasil prediksi pada **Tabel 1**, ProTox-3.0 mengidentifikasi bahwa paracetamol memiliki potensi menimbulkan hepatotoksitas, neurotoksisitas, nefrotoksitas, dan toksisitas respirasi dengan status *active*, sedangkan parameter kardiotoksitas diprediksi *inactive*. Nilai probabilitas yang dihasilkan menunjukkan tingkat keyakinan model komputasi terhadap masing-masing prediksi, di mana semakin mendekati angka 1 maka semakin tinggi tingkat kepercayaan model terhadap hasil klasifikasi yang diberikan.

Hepatotoksitas merupakan parameter yang secara biologis paling sesuai dengan karakteristik farmakologi dan toksikologi paracetamol. Pada penelitian ini, hepatotoksitas diprediksi *active* dengan nilai probabilitas sebesar 0,74, yang menunjukkan bahwa model ProTox-3.0 memiliki tingkat keyakinan yang cukup tinggi terhadap potensi toksisitas hati dari paracetamol. Temuan ini sejalan dengan berbagai penelitian yang menyatakan bahwa hati merupakan organ utama metabolisme paracetamol. Sebagian besar paracetamol dimetabolisme melalui jalur glukuronidasi dan sulfatasi, sedangkan sebagian kecil dimetabolisme oleh enzim sitokrom P450, terutama CYP2E1, CYP1A2, dan CYP3A4, menghasilkan metabolit reaktif *N-acetyl-p-benzoquinone imine* (NAPQI). Dalam kondisi fisiologis, NAPQI akan didetoksifikasi oleh glutathione menjadi metabolit yang tidak toksik. Akan tetapi, pada penggunaan dosis tinggi atau kondisi cadangan glutathione yang menurun, NAPQI akan terakumulasi dan berikatan dengan protein intraseluler sehingga menyebabkan stres oksidatif, gangguan fungsi mitokondria, peroksidasi lipid, nekrosis hepatosit, hingga gagal hati akut. Hasil prediksi ProTox-3.0 semakin memperkuat bukti bahwa hati merupakan organ target toksisitas paracetamol.

Selain hepatotoksitas, penelitian ini juga menunjukkan bahwa paracetamol diprediksi memiliki potensi neurotoksisitas dengan status *active* dan nilai probabilitas tertinggi, yaitu 0,80. Nilai tersebut mengindikasikan tingkat keyakinan model yang tinggi terhadap kemungkinan adanya efek toksik pada sistem saraf. Walaupun neurotoksisitas bukan merupakan efek samping utama paracetamol dalam penggunaan klinis normal, beberapa penelitian menunjukkan bahwa overdosis paracetamol dapat menyebabkan perubahan fungsi neurologis sebagai akibat sekunder dari gagal hati akut. Kerusakan hati yang berat menyebabkan peningkatan kadar amonia dalam sirkulasi sehingga memicu ensefalopati hepatis yang ditandai dengan edema serebral, gangguan neurotransmitter, peningkatan stres oksidatif, dan penurunan fungsi neuron. Selain mekanisme tidak langsung tersebut, beberapa penelitian eksperimental juga menunjukkan bahwa metabolit oksidatif paracetamol dapat memengaruhi fungsi mitokondria sel saraf serta meningkatkan pembentukan *reactive oxygen species* (ROS). Hasil prediksi ProTox-3.0 memberikan indikasi bahwa sistem saraf merupakan salah satu organ yang perlu mendapatkan perhatian pada penggunaan paracetamol dalam kondisi toksik.

Parameter berikutnya adalah nefrotoksitas, yang diprediksi *active* dengan nilai probabilitas 0,57. Meskipun nilainya lebih rendah dibandingkan hepatotoksitas dan neurotoksisitas, hasil tersebut menunjukkan bahwa model komputasi masih mengidentifikasi adanya kemungkinan efek toksik terhadap ginjal. Secara fisiologis, ginjal merupakan organ yang berperan dalam eliminasi metabolit paracetamol sehingga memiliki risiko terpapar metabolit

reaktif hasil biotransformasi. Beberapa penelitian melaporkan bahwa overdosis parasetamol dapat menyebabkan nekrosis tubular akut, penurunan laju filtrasi glomerulus, hingga gagal ginjal akut. Mekanisme nefrotoksitas diduga berkaitan dengan pembentukan NAPQI pada jaringan ginjal, stres oksidatif, kerusakan mitokondria, inflamasi, serta penurunan kadar antioksidan endogen. Kondisi hipoperfusi ginjal akibat gagal hati berat juga dapat memperburuk kerusakan ginjal. Hasil prediksi ProTox-3.0 mendukung bukti ilmiah bahwa ginjal merupakan organ sekunder yang berpotensi mengalami toksisitas akibat paparan parasetamol, terutama pada penggunaan dosis berlebih.

Hasil analisis juga menunjukkan bahwa *respiratory toxicity* diprediksi *active* dengan probabilitas 0,52. Nilai ini merupakan probabilitas terendah di antara parameter yang diprediksi aktif, sehingga menunjukkan tingkat keyakinan model yang relatif moderat. Secara klinis, toksisitas respirasi akibat parasetamol relatif jarang terjadi sebagai efek primer. Namun demikian, pada kasus keracunan berat, gangguan fungsi respirasi dapat muncul sebagai konsekuensi dari gagal multiorgan, asidosis metabolik, ensefalopati hepatik, maupun respons inflamasi sistemik. Beberapa penelitian juga menunjukkan bahwa stres oksidatif yang dipicu oleh metabolit reaktif dapat meningkatkan kerusakan jaringan paru melalui mekanisme inflamasi dan disfungsi endotel. Meskipun bukan organ target utama, hasil prediksi ini menunjukkan bahwa sistem respirasi tetap memiliki potensi terdampak pada kondisi toksisitas sistemik akibat paparan parasetamol dalam dosis tinggi.

Berbeda dengan keempat parameter sebelumnya, kardiotoksitas diprediksi *Inactive* dengan probabilitas 0,89. Nilai probabilitas yang tinggi menunjukkan tingkat keyakinan model yang kuat bahwa parasetamol tidak memiliki kecenderungan menyebabkan toksisitas langsung terhadap jantung berdasarkan karakteristik struktur molekulnya. Temuan ini konsisten dengan penggunaan klinis parasetamol yang selama ini dikenal memiliki profil keamanan kardiovaskular yang lebih baik dibandingkan obat antiinflamasi nonsteroid (NSAID), yang diketahui dapat meningkatkan risiko trombotik, hipertensi, maupun kejadian kardiovaskular lainnya. Meskipun demikian, beberapa laporan kasus menyebutkan adanya gangguan irama jantung atau perubahan fungsi miokard pada pasien dengan overdosis parasetamol berat. Namun, kondisi tersebut umumnya terjadi sebagai komplikasi sekunder akibat hipoksia, asidosis metabolik, gangguan elektrolit, atau gagal multiorgan, bukan karena efek toksik langsung terhadap jaringan jantung. Dengan demikian, hasil prediksi ProTox-3.0 yang mengklasifikasikan kardiotoksitas sebagai *inactive* memiliki kesesuaian yang baik dengan bukti klinis yang tersedia.

Hasil Prediksi Toxicity end points Parasetamol Menggunakan ProTox-3.0

Hasil prediksi *toxicity end points* menggunakan platform ProTox-3.0 menunjukkan bahwa parasetamol memiliki profil toksisitas yang bervariasi pada beberapa parameter biologis. Ringkasan hasil prediksi tersebut disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil prediksi *toxicity end points* parasetamol menggunakan ProTox-3.0

<i>Classification</i>	<i>Target</i>	<i>Prediction</i>	<i>Probability</i>
<i>Toxicity end points</i>	<i>Carcinogenicity</i>	<i>Inactive</i>	0,51
<i>Toxicity end points</i>	<i>Immunotoxicity</i>	<i>Inactive</i>	0,99
<i>Toxicity end points</i>	<i>Mutagenicity</i>	<i>Inactive</i>	0,90
<i>Toxicity end points</i>	<i>Cytotoxicity</i>	<i>Inactive</i>	0,82
<i>Toxicity end points</i>	<i>BBB-barrier</i>	<i>Active</i>	0,90
<i>Toxicity end points</i>	<i>Ecotoxicity</i>	<i>Inactive</i>	0,54
<i>Toxicity end points</i>	<i>Clinical toxicity</i>	<i>Active</i>	0,58
<i>Toxicity end points</i>	<i>Nutritional toxicity</i>	<i>Inactive</i>	0,73

Berdasarkan hasil prediksi pada Tabel 2, ProTox-3.0 menunjukkan bahwa sebagian besar parameter *toxicity end points* pada parasetamol diklasifikasikan sebagai *Inactive*, meliputi *carcinogenicity*, *immunotoxicity*, *mutagenicity*, *cytotoxicity*, *ecotoxicity*, dan *nutritional toxicity*. Sebaliknya, dua parameter, yaitu *BBB-barrier* dan *Clinical toxicity*, diprediksi *active*. Profil ini menunjukkan bahwa meskipun parasetamol relatif aman terhadap beberapa parameter toksisitas kronis dan genetik, obat ini tetap memiliki karakteristik tertentu yang perlu diperhatikan, khususnya terkait distribusi ke sistem saraf pusat dan potensi toksisitas klinis pada kondisi tertentu.

Parameter *carcinogenicity* diprediksi *inactive* dengan probabilitas sebesar 0,51. Nilai ini menunjukkan bahwa berdasarkan struktur molekulnya, parasetamol tidak memiliki kecenderungan kuat sebagai senyawa karsinogenik. Secara biologis, hasil tersebut sesuai dengan berbagai penelitian toksikologi yang menyatakan bahwa penggunaan parasetamol dalam dosis terapi tidak berhubungan langsung dengan peningkatan risiko pembentukan kanker. Berbeda dengan senyawa yang bersifat karsinogen, parasetamol tidak diketahui menginduksi proliferasi sel secara abnormal maupun menyebabkan perubahan genetik yang dapat memicu proses transformasi sel menjadi ganas.

Walaupun beberapa studi epidemiologi pernah melaporkan hubungan antara penggunaan jangka panjang analgesik dengan peningkatan risiko kanker tertentu, hubungan tersebut masih dipengaruhi oleh berbagai faktor perancu, seperti penyakit penyerta, pola penggunaan obat, gaya hidup, dan faktor genetik. Oleh karena itu, hasil prediksi ProTox-3.0 semakin mendukung bahwa paracetamol bukan merupakan senyawa dengan potensi karsinogenik yang signifikan.

Pada parameter immunotoxicity, ProTox-3.0 memberikan hasil Inactive dengan probabilitas sangat tinggi, yaitu 0,99. Nilai tersebut menunjukkan tingkat keyakinan model yang sangat kuat bahwa paracetamol tidak memiliki efek toksik langsung terhadap sistem imun. Temuan ini sejalan dengan praktik klinis, di mana paracetamol secara luas digunakan pada berbagai kelompok pasien, termasuk anak-anak, lansia, dan individu dengan gangguan imun, tanpa menunjukkan efek supresi imun yang bermakna. Walaupun reaksi hipersensitivitas terhadap paracetamol dapat terjadi pada sebagian kecil individu, kejadian tersebut lebih berkaitan dengan mekanisme alergi idiosinkratik daripada efek imunotoksik langsung terhadap sel-sel sistem imun. Dengan demikian, hasil prediksi ini memperkuat profil keamanan paracetamol terhadap fungsi imun tubuh.

Hasil prediksi untuk mutagenicity menunjukkan status Inactive dengan probabilitas 0,90. Hal ini menunjukkan bahwa paracetamol tidak diperkirakan menyebabkan perubahan materi genetik yang dapat diwariskan kepada sel anak. Mutagenisitas merupakan salah satu parameter penting dalam evaluasi keamanan obat karena berkaitan dengan potensi terjadinya kerusakan DNA, mutasi kromosom, maupun abnormalitas genetik lainnya. Berbagai penelitian eksperimental menggunakan uji Ames, *micronucleus assay*, maupun pengujian genotoksitas lainnya umumnya menunjukkan bahwa paracetamol tidak memiliki aktivitas mutagenik yang bermakna pada dosis terapi. Oleh karena itu, hasil prediksi ProTox-3.0 memiliki kesesuaian yang baik dengan bukti ilmiah yang telah tersedia mengenai rendahnya risiko mutagenisitas paracetamol.

Parameter *cytotoxicity* juga diprediksi *inactive* dengan probabilitas 0,82. Hasil ini menunjukkan bahwa secara umum struktur molekul paracetamol tidak bersifat toksik secara langsung terhadap berbagai jenis sel pada kondisi normal. Meskipun demikian, perlu dipahami bahwa pada dosis sangat tinggi atau setelah terbentuk metabolit reaktif NAPQI, kerusakan sel dapat terjadi sebagai konsekuensi sekunder dari stres oksidatif dan gangguan fungsi mitokondria. Dengan kata lain, kematian sel yang terjadi pada keracunan paracetamol lebih disebabkan oleh mekanisme metabolik spesifik daripada sifat sitotoksik intrinsik molekul paracetamol itu sendiri. Hal ini menjelaskan mengapa prediksi *cytotoxicity* menunjukkan status tidak aktif meskipun hepatotoksitas pada penelitian sebelumnya diprediksi aktif.

Menariknya, parameter BBB-barrier diprediksi Active dengan probabilitas tinggi sebesar 0,90. Hasil ini menunjukkan bahwa paracetamol memiliki kemampuan untuk menembus *blood-brain barrier* (BBB), sehingga dapat mencapai sistem saraf pusat. Secara farmakologis, karakteristik ini merupakan salah satu mekanisme utama yang mendukung efek analgesik dan antipiretik paracetamol. Setelah melewati BBB, paracetamol memengaruhi jalur prostaglandin di sistem saraf pusat serta berinteraksi dengan berbagai sistem neurotransmiter, termasuk sistem serotonergik dan endokannabinoid, yang berkontribusi terhadap efek terapeutiknya. Oleh karena itu, status Active pada parameter BBB tidak secara langsung menunjukkan adanya toksisitas, tetapi lebih menggambarkan kemampuan distribusi senyawa menuju jaringan otak. Namun demikian, kemampuan menembus BBB juga menjelaskan mengapa pada kondisi overdosis, sistem saraf pusat dapat mengalami gangguan sebagai akibat akumulasi metabolit toksik maupun komplikasi ensefalopati hepatic.

Pada parameter *ecotoxicity*, hasil prediksi menunjukkan status *inactive* dengan probabilitas 0,54. Hal ini mengindikasikan bahwa berdasarkan model komputasi, paracetamol tidak memiliki potensi tinggi sebagai senyawa yang menyebabkan toksisitas lingkungan. Walaupun residu paracetamol telah banyak ditemukan pada limbah rumah tangga, rumah sakit, maupun badan air akibat ekskresi dan pembuangan obat, konsentrasi yang ditemukan di lingkungan umumnya relatif rendah. Namun demikian, beberapa penelitian menunjukkan bahwa paparan kronis terhadap organisme akuatik masih perlu mendapat perhatian karena metabolit obat dapat memberikan dampak biologis tertentu. Oleh sebab itu, hasil prediksi ini tetap perlu diinterpretasikan secara hati-hati dengan mempertimbangkan kondisi lingkungan yang sebenarnya.

Parameter *clinical toxicity* diprediksi *active* dengan probabilitas 0,58. Hasil ini menunjukkan bahwa paracetamol memiliki kemungkinan menimbulkan manifestasi toksisitas pada kondisi klinis tertentu, terutama apabila digunakan melebihi dosis yang direkomendasikan atau pada individu dengan faktor risiko tertentu, seperti penyakit hati, konsumsi alkohol kronis, malnutrisi, maupun penggunaan obat yang menginduksi enzim sitokrom P450. Prediksi ini sejalan dengan fakta bahwa paracetamol merupakan salah satu penyebab tersering keracunan obat di berbagai negara dan menjadi penyebab utama gagal hati akut akibat obat. Manifestasi klinis toksisitas dapat berkembang secara bertahap, mulai dari mual, muntah, nyeri abdomen, peningkatan enzim hati, hingga gagal hati fulminan dan kegagalan multiorgan apabila tidak segera mendapatkan terapi antidotum berupa N-asetilsistein (*N-acetylcysteine*).

Oleh karena itu, hasil prediksi *clinical toxicity* memberikan informasi yang relevan mengenai pentingnya penggunaan paracetamol secara rasional sesuai dosis terapi.

Parameter terakhir, yaitu *nutritional toxicity*, diprediksi *inactive* dengan probabilitas 0,73. Hasil ini menunjukkan bahwa paracetamol tidak memiliki kecenderungan menyebabkan gangguan metabolisme nutrisi atau status gizi secara langsung. Secara klinis, penggunaan paracetamol pada dosis terapi memang tidak diketahui mengganggu absorpsi, distribusi, maupun metabolisme zat gizi secara bermakna. Walaupun penggunaan jangka panjang pada pasien dengan malnutrisi dapat meningkatkan risiko hepatotoksitas akibat rendahnya cadangan glutathione, kondisi tersebut lebih berkaitan dengan status nutrisi pasien sebagai faktor predisposisi daripada efek toksik langsung paracetamol terhadap metabolisme nutrisi.

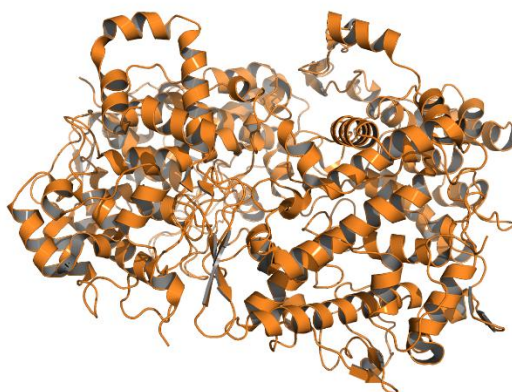
Hasil Prediksi Toxicity Target Paracetamol Menggunakan ProTox-3.0

Hasil analisis menggunakan ProTox-3.0 menunjukkan bahwa paracetamol memiliki satu target toksisitas utama yang berhasil diprediksi berdasarkan kemiripan struktur terhadap ligan yang telah diketahui. Target tersebut disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil prediksi *toxicity target* paracetamol menggunakan ProTox-3.0

<i>Toxicity Target</i>	<i>Avg Pharmacophore Fit</i>	<i>Avg Similarity Known Ligands</i>
<i>Prostaglandin G/H Synthase 1</i>	0%	72,55%

Berdasarkan hasil prediksi pada Tabel 3, platform ProTox-3.0 mengidentifikasi bahwa *Prostaglandin G/H Synthase 1* merupakan target biologis yang paling berpotensi berinteraksi dengan paracetamol berdasarkan pendekatan *ligand similarity*. Target tersebut memiliki nilai *avg similarity known ligands* sebesar 72,55%, sedangkan *avg pharmacophore fit* sebesar 0%. Hasil ini menunjukkan bahwa walaupun kesesuaian farmakofor terhadap model yang tersedia tidak teridentifikasi, struktur kimia paracetamol masih memiliki tingkat kemiripan yang cukup tinggi dengan ligan-ligan yang diketahui berinteraksi dengan protein tersebut.



Gambar 2. *Prostaglandin G/H synthase 1*

Prostaglandin G/H synthase 1 (PGHS-1), yang lebih dikenal sebagai *cyclooxygenase-1* (COX-1), merupakan enzim penting dalam biosintesis prostaglandin dari asam arakidonat. Enzim ini berperan dalam berbagai proses fisiologis, seperti perlindungan mukosa lambung, regulasi aliran darah ginjal, agregasi trombosit, serta pembentukan berbagai mediator inflamasi. Selain COX-1, terdapat isoenzim lain yaitu COX-2 yang terutama diekspresikan pada jaringan yang mengalami inflamasi. Berbeda dengan obat antiinflamasi nonsteroid (NSAID) klasik yang menghambat COX-1 maupun COX-2 secara langsung di jaringan perifer, mekanisme kerja paracetamol lebih kompleks dan diduga bekerja dominan pada sistem saraf pusat melalui penghambatan sintesis prostaglandin pada kondisi kadar peroksida yang rendah.

Nilai *avg similarity known ligands* sebesar 72,55% menunjukkan bahwa struktur molekul paracetamol memiliki kemiripan yang cukup tinggi dengan molekul-molekul yang telah diketahui berinteraksi dengan *prostaglandin G/H synthase 1*. Kemiripan struktur tersebut tidak selalu menunjukkan bahwa aktivitas biologis yang dihasilkan identik, tetapi mengindikasikan adanya kemungkinan mekanisme interaksi yang serupa. Dalam pendekatan *ligand-based prediction*, tingkat kemiripan struktur merupakan salah satu indikator penting untuk memprediksi target biologis suatu senyawa. Oleh karena itu, hasil ini mendukung fakta bahwa efek farmakologis utama paracetamol berkaitan dengan modulasi jalur prostaglandin.

Sebaliknya, nilai *avg pharmacophore fit* sebesar 0% menunjukkan bahwa model farmakofor yang digunakan oleh ProTox-3.0 tidak menemukan kecocokan spasial antara fitur-fitur farmakofor parasetamol dengan model farmakofor target yang tersedia dalam basis data. Kondisi ini bukan berarti parasetamol tidak dapat berinteraksi dengan *prostaglandin G/H synthase 1*, melainkan menunjukkan bahwa prediksi interaksi lebih banyak didasarkan pada pendekatan kemiripan struktur (*ligand similarity*) dibandingkan kesesuaian farmakofor tiga dimensi. Perbedaan tersebut dapat dipengaruhi oleh ukuran molekul parasetamol yang relatif kecil, fleksibilitas struktur, keterbatasan model farmakofor yang tersedia, maupun karakteristik algoritma prediksi yang digunakan oleh ProTox-3.0.

Dari aspek toksikologi, identifikasi *prostaglandin G/H synthase 1* sebagai *toxicity target* juga memberikan informasi bahwa jalur metabolisme prostaglandin memiliki keterkaitan dengan efek biologis maupun efek samping parasetamol. Walaupun parasetamol dikenal memiliki efek iritasi saluran cerna yang jauh lebih rendah dibandingkan NSAID, interaksi terhadap jalur prostaglandin tetap dapat memengaruhi berbagai proses fisiologis, terutama apabila digunakan dalam dosis tinggi atau jangka waktu yang lama. Selain itu, metabolisme parasetamol menjadi metabolit reaktif *N-acetyl-p-benzoquinone imine* (NAPQI) dapat memperberat stres oksidatif dan inflamasi seluler, sehingga memperluas dampak toksisitas di luar target farmakologinya.

Hasil prediksi ini juga memperlihatkan bahwa pendekatan *ligand similarity* mampu mengidentifikasi target biologis yang sesuai dengan mekanisme kerja parasetamol yang telah diketahui secara luas. Dengan demikian, prediksi ProTox-3.0 tidak hanya memberikan informasi mengenai potensi toksisitas suatu senyawa, tetapi juga membantu memahami hubungan antara struktur molekul, target biologis, mekanisme aksi, dan kemungkinan efek toksik yang dapat muncul. Informasi tersebut sangat bermanfaat sebagai dasar dalam penelitian *computational toxicology*, terutama untuk mengarahkan studi lanjutan menggunakan metode *molecular docking*, *molecular dynamics simulation*, maupun pengujian *in vitro* guna mengonfirmasi interaksi antara parasetamol dengan target biologis yang diprediksi.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil analisis komputasi menggunakan platform ProTox-3.0, parasetamol menunjukkan potensi *organ toxicity* pada beberapa organ target. Parameter *hepatotoxicity*, *neurotoxicity*, *nephrotoxicity*, dan *respiratory toxicity* diprediksi *active* dengan nilai probabilitas berturut-turut sebesar 0,74, 0,80, 0,57, dan 0,52. Sementara itu, *cardiotoxicity* diprediksi *Inactive* dengan probabilitas 0,89, yang menunjukkan rendahnya potensi toksisitas langsung terhadap sistem kardiovaskular berdasarkan model prediksi yang digunakan.

Pada parameter *toxicity end points*, sebagian besar indikator toksisitas diprediksi *inactive*, meliputi *carcinogenicity* (0,51), *immunotoxicity* (0,99), *mutagenicity* (0,90), *cytotoxicity* (0,82), *ecotoxicity* (0,54), dan *nutritional toxicity* (0,73). Sebaliknya, parameter BBB-barrier diprediksi *Active* dengan probabilitas 0,90, menunjukkan kemampuan parasetamol untuk menembus *blood-brain barrier*, sedangkan *clinical toxicity* diprediksi *active* dengan probabilitas 0,58, yang mengindikasikan adanya potensi toksisitas pada kondisi klinis tertentu.

Selain itu, analisis *toxicity Target* mengidentifikasi *Prostaglandin G/H Synthase 1* sebagai target biologis yang berpotensi berinteraksi dengan parasetamol, dengan nilai *avg similarity known ligands* sebesar 72,55% dan *avg pharmacophore fit* sebesar 0%. Hasil tersebut menunjukkan bahwa prediksi target lebih didasarkan pada kemiripan struktur molekul terhadap ligan yang telah diketahui dibandingkan kecocokan farmakofor.

Secara keseluruhan, hasil penelitian menunjukkan bahwa pendekatan *in silico* menggunakan ProTox-3.0 mampu memberikan gambaran awal mengenai profil *organ toxicity*, *toxicity end points*, dan *toxicity Target* parasetamol. Profil toksisitas yang diperoleh menunjukkan adanya potensi toksisitas terhadap hati, sistem saraf, ginjal, dan sistem respirasi, disertai kemampuan menembus *blood-brain barrier* serta potensi *clinical toxicity*, sementara sebagian besar parameter toksisitas kronis seperti karsinogenisitas, mutagenisitas, imunotoksitas, dan sitotoksitas diprediksi tidak aktif. Hasil ini dapat menjadi dasar bagi penelitian lanjutan untuk mengonfirmasi prediksi komputasi melalui pendekatan *in vitro* maupun *in vivo*.

Kontribusi Penulis: F.P., mengonsept penelitian, melakukan analisis data, menyusun naskah, dan revisi akhir. Y.S., M.W.A., T.I., S.L., berkontribusi pada telaah pustaka, validasi hasil, interpretasi data, serta peninjauan naskah.

Pendanaan: Penelitian ini didanai secara mandiri oleh penulis tanpa dukungan dana dari lembaga pemerintah, swasta, maupun organisasi lain. Seluruh biaya penelitian dan penyusunan naskah ditanggung oleh tim penulis.

Ucapan Terima Kasih: Penulis menyampaikan terima kasih kepada seluruh pihak yang telah memberikan dukungan selama pelaksanaan penelitian, khususnya rekan sejawat yang membantu proses diskusi ilmiah, pengumpulan data, serta penyempurnaan penyusunan naskah penelitian ini.

Konflik kepentingan: Seluruh penulis menyatakan bahwa tidak terdapat konflik kepentingan, baik yang bersifat finansial maupun nonfinansial, yang dapat memengaruhi pelaksanaan penelitian, analisis data, interpretasi hasil, maupun publikasi artikel ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Gajjar M, Siddiqui A. Why paracetamol (acetaminophen) is a suitable first choice for treating mild to moderate acute pain in adults with liver, kidney or cardiovascular disease, gastrointestinal disorders, asthma, or who are older. *Curr Med Res Opin.* 2023;39(1):1–12. <https://doi.org/10.1080/03007995.2022.2049551>
2. Alnasser A, Alhumrran H, Alfehaid M, Alhamoud M, Albunaian N, Ferwana M. Paracetamol versus ibuprofen in treating episodic tension-type headache: a systematic review and network meta-analysis. *Sci Rep.* 2023;13:21310. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-48910-y>
3. Sinuraya RK, Putri NA, Setiawan D, Suwantika AA, Postma MJ. Self-medication with paracetamol among Indonesian adults during the COVID-19 pandemic: a cross-sectional study. *Front Pharmacol.* 2023;14:1127583. <https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1127583>
4. Chiew AL, Buckley NA. Paracetamol (acetaminophen) overdose and hepatotoxicity: mechanism, treatment, prevention measures, and estimates of burden of disease. *Expert Opin Drug Metab Toxicol.* 2023;19(5):297–317. <https://doi.org/10.1080/17425255.2023.2223959>
5. Jasim HA, Jabir MS, Abdulkadhim RM, Hamad SA. Unveiling the molecular basis of paracetamol-induced hepatotoxicity: interaction of N-acetyl-p-benzoquinone imine with mitochondrial succinate dehydrogenase. *Heliyon.* 2024;10(9):e30165. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e30165>
6. Sivagurunathan N, Zhang Y, Park J, Kim JK. Inflammasome activation as a key driver of acetaminophen-induced acute liver injury. *Genes Environ.* 2025;47:9. <https://doi.org/10.1186/s41021-025-00310-6>
7. Chiew AL, Buckley NA. Paracetamol (acetaminophen) overdose and hepatotoxicity: mechanism, treatment, prevention measures, and estimates of burden of disease. *Expert Opin Drug Metab Toxicol.* 2023;19(5):297–317. <https://doi.org/10.1080/17425255.2023.2223959>
8. Ayirebi-Acquah E, Koomson M, Owusu E. Cardiac conduction defects induced by paracetamol overdose: a rare case. *Cureus.* 2025;17(8):e89877. <https://doi.org/10.7759/cureus.89877>
9. Cheung BH, Lam JP, Tse ML, Yuen KL, Lau FL. Paracetamol-induced hepatotoxicity after normal therapeutic doses: a retrospective analysis of risk factors from a poison treatment center. *Hong Kong Med J.* 2024;30(2):112–9. <https://doi.org/10.12809/hkmj2311194>
10. Nouioura G, Kettani T, Tourabi M, Tahiri Elousrouti L, Al Kamaly O, Alshawwa SZ, et al. The protective potential of *Petroselinum crispum* (Mill.) Fuss. on paracetamol-induced hepato-renal toxicity and antiproteinuric effect: a biochemical, hematological, and histopathological study. *Medicina.* 2023;59(10):1814. <https://doi.org/10.3390/medicina59101814>
11. Betti AH, Kenna JG, Van Vleet TR, Aruselman P, Müller LG. Advances in alternative methods in preclinical pharmacology and toxicology. *Front Pharmacol.* 2023;14:1225806. <https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1225806>
12. Lynch C, Sakamuru S, Huang R, Xia M. High-throughput screening to advance in vitro toxicology: accomplishments, challenges, and future directions. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2024;64:191–209. <https://doi.org/10.1146/annurev-pharmtox-112122-104310>
13. Tang J, Shi J, Liu J. Advances in 3D cell culture for drug screening and toxicology evaluation. *Front Bioeng Biotechnol.* 2023;11:1266506. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2023.1266506>
14. Flynn NR, Miller GP, Swamidass SJ. Advancements in computational studies of drug toxicity. *Front Pharmacol.* 2023;14:1230409. <https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1230409>
15. Lee H, Kim J, Kim JW, Lee Y. Recent advances in AI-based toxicity prediction for drug discovery. *Front Chem.* 2025;13:1632046. <https://doi.org/10.3389/fchem.2025.1632046>
16. Masarone S, Beckwith KV, Wilkinson MR, Tuli S, Lane A, Windsor S, et al. Advancing predictive toxicology: overcoming hurdles and shaping the future. *Digit Discov.* 2025;4:303–15. <https://doi.org/10.1039/D4DD000257A>

17. Madden JC, Pawar G, Cronin MTD, Webb S, Tan YM, Pains A, et al. Advancing human health risk assessment: the role of new approach methodologies. *Front Toxicol.* 2025;7:1632941. <https://doi.org/10.3389/ftox.2025.1632941>
18. Roman DL, Roman M, Isvoran A. Computational assessment of pharmacological profiles and toxicity of bioactive compounds: a comparative study using multiple in silico platforms. *Toxics.* 2024;12(9):621. <https://doi.org/10.3390/toxics12090621>
19. Zhang J, Li H, Zhang Y, Huang J, Ren L, Zhang C, et al. Computational toxicology in drug discovery: applications of artificial intelligence in ADMET and toxicity prediction. *Brief Bioinform.* 2025;26(5):bbaf533. <https://doi.org/10.1093/bib/bbaf533>
20. Zhao H, Chen X, Su W, Wang Q, Liu J, Huang R, et al. Benchmarking web-based in-silico toxicity prediction tools using gold-standard datasets across five key endpoints. *Discov Appl Sci.* 2026;8:124. <https://doi.org/10.1007/s42452-026-08308-7>
21. Braga RC, Alves VM, Muratov EN, Andrade CH, Tropsha A. Machine learning in toxicological sciences: opportunities for assessing drug toxicity. *Front Drug Discov.* 2024;4:1336025. <https://doi.org/10.3389/fddsv.2024.1336025>
22. Jain S, Manganelli S, Gryshkova V, Rodrigues MA, Magarkar A. Methods in predictive toxicology 2023. *Front Pharmacol.* 2025;16:1556352. <https://doi.org/10.3389/fphar.2025.1556352>
23. Fu L, Shi S, Yi J, Wang N, He Y, Wu Z, et al. ADMETlab 3.0: an updated comprehensive online ADMET prediction platform enhanced with broader coverage, improved performance, API functionality and decision support. *Nucleic Acids Res.* 2024;52(W1):W422–31. <https://doi.org/10.1093/nar/gkae236>
24. Banerjee P, Kemmler E, Dunkel M, Preissner R. ProTox 3.0: a webserver for the prediction of toxicity of chemicals. *Nucleic Acids Res.* 2024;52(W1):W513–20. <https://doi.org/10.1093/nar/gkae303>
25. Ortega-Vallbona R, Palomino-Schätzlein M, Tolosa L, Serrano R, Grisolia-García O, Grignard E, et al. A review and in silico screening of plant-derived snake venom/toxin inhibitors: ADMET, drug-likeness, and medicinal chemistry profiling. *PLOS Negl Trop Dis.* 2025;19(10):e0013579. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0013579>
26. Sivagurunathan N, Zhang Y, Park J, Kim JK. Inflammasome activation as a key driver of acetaminophen-induced acute liver injury. *Genes Environ.* 2025;47:9. <https://doi.org/10.1186/s41021-025-00310-6>
27. Chiew AL, Buckley NA. Paracetamol (acetaminophen) overdose and hepatotoxicity: mechanism, treatment, prevention measures, and estimates of burden of disease. *Expert Opin Drug Metab Toxicol.* 2023;19(5):297–317. <https://doi.org/10.1080/17425255.2023.2223959>
28. Aizpurua-Arruti A, Abad-Sazatornil MR, Fernandez-Llimos F, Isla A. Impact of additional monitoring on pharmacovigilance and pharmacists' role: a scoping review. *Pharmacoepidemiol Drug Saf.* 2025;34(9):e70201. <https://doi.org/10.1002/pds.70201>
29. Ferreira FJN, Carneiro AS. AI-driven drug discovery: a comprehensive review. *ACS Omega.* 2025;10(23):23889–903. <https://doi.org/10.1021/acsomega.5c00549>
30. Lee H, Kim J, Kim JW, Lee Y. Recent advances in AI-based toxicity prediction for drug discovery. *Front Chem.* 2025;13:1632046. <https://doi.org/10.3389/fchem.2025.1632046>
31. Tsybmal A, Sotnikov A, Tkachenko V, Oliynyk Y, Kovalishyn V, Kopach M, et al. The role of machine learning in predictive toxicology: a review of current trends and future perspectives. *Life Sci.* 2025;374:123669. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2025.123669>
32. Gao Y, Guo L, Han Y, Zhang J, Dai Z, Ma S. A combination of in silico ADMET prediction, in vivo toxicity evaluation, and potential mechanism exploration of brucine and brucine N-oxide: a comparative study. *Molecules.* 2023;28(3):1341. <https://doi.org/10.3390/molecules28031341>
33. Wu L, Yan B, Han J, Li R, Xiao J, He S, et al. TOXRIC: a comprehensive database of toxicological data and benchmarks. *Nucleic Acids Res.* 2023;51(D1):D1432–45. <https://doi.org/10.1093/nar/gkac1074>
34. Amorim AMB, Piochi LF, Gaspar AT, Preto AJ, Rosário-Ferreira N, Moreira IS. Advancing drug safety in drug development: bridging computational predictions for enhanced toxicity prediction. *Chem Res Toxicol.* 2024;37(6):827–49. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrestox.3c00352>
35. Marin DE, Taranu I. Using in silico approach for metabolomic and toxicity prediction of alternariol. *Toxins.* 2023;15(7):421. <https://doi.org/10.3390/toxins15070421>