

## STUDI *IN SILICO* SENYAWA BIOAKTIF DAUN SIRIH (*PIPER BETLE L.*) SEBAGAI ANTIKOLESTEROL PADA RESEPTOR HMG CO-A REDUKTASE

Muhammad Ilham Djamaluddin\*, Rajwa Dwifauza Suryanto, Salma Salsabila, Calista  
Sasikirana Finola Aziz, Lulu Alya Setyowati

Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran  
Jl. Raya Bandung Sumedang km 21 Jatinangor 45363  
muhammad21052@mail.unpad.ac.id  
diserahkan 01/08/2023, diterima 17/01/2024

### ABSTRAK

Daun sirih (*Piper betle L.*) adalah tanaman yang memiliki potensi efek farmakologis dalam mengatasi kolesterol. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan analisis potensi senyawa (*eucalyptol*, *cadinene*, *estragole*, *pinene*, *limonene*, *chavicol*, *hydroxychavicol*, *carvacrol*, *safrole*, dan *eugenol*) sebagai antikolesterol dengan pembandingan kontrol positif obat simvastatin. Tahapan penelitian analisis potensi senyawa pada daun sirih (*Piper betle L.*) secara *in silico* terdiri dari prediksi Lipinski, penentuan ADMET, skrining farmakofor, dan *molecular docking*. Analisis penelitian menggunakan *website* PubChem, PreADMET dan perangkat lunak *Discovery Studio Client 4.1*, *Ligandscout* dan *Autodock Tools*. Senyawa *hydroxychavicol* dan *eugenol* menunjukkan hasil *molecular docking* terbaik untuk menjadi *lead compound*. Menilai dari energi Gibbs ( $\Delta G$ ), konstanta inhibisi, dan kemiripan interaksi senyawa dengan kontrol positif, meliputi interaksi ikatan hidrogen ARGD590 (arginin), ASPD690 (asam aspartat), ASNC755 (asparagin) dan ikatan residu asam amino. Senyawa *hydroxychavicol* dan *eugenol* dapat dilakukan penelitian lebih lanjut sebagai potensi antikolesterol dilihat dari seluruh pengujian pada penelitian yang menunjukkan kemiripan dengan kontrol positif simvastatin.

Kata Kunci: Daun sirih, *In Silico*, *Hydroxychavicol*, *Eugenol*, Simvastatin.

### ABSTRACT

*ABetel leaf (Piper betle L.) is a plant with potential pharmacological effects in dealing with cholesterol. This study aims to analyze the potency of these compounds (eucalyptol, cadinene, estragole, pinene, limonene, chavicol, hydroxychavicol, carvacrol, safrole, and eugenol) as anti-cholesterol in comparison with the positive control of simvastatin. The research steps for analyzing the potential compounds in betel leaf (Piper betle L.) in silico consist of Lipinski predictions, ADMET determination, pharmacophore screening, and molecular docking. This analysis uses the PubChem website, PreADMET and Discovery studio client 4.1 software, Ligandscout and Autodock Tools. The Hydroxychavicol and Eugenol compounds showed the best molecular docking results to become Lead Compounds. Judging from the Gibbs energy ( $\Delta G$ ), inhibition constant and the similarity of the interactions between the compounds and the positive control, including the hydrogen bond interactions of ARGD590 (arginine), ASPD690 (aspartate acid), ASNC755 (asparagine) and bonds of amino acid residues. Hydroxychavicol and Eugenol can be carried out further research as anti-cholesterol potential seen from all tests in studies that show similarities with simvastatin positive controls.*

*Keywords: Piper betle, In Silico, Hydroxychavicol, Eugenol, Simvastatin.*

## PENDAHULUAN

Kolesterol merupakan molekul esensial dalam tubuh dan berperan dalam berbagai regulasi fungsional sel normal (Yin *et al.*, 2019). Kolesterol berfungsi sebagai prekursor dalam sintesis vitamin D, hormon steroid, penyusun garam empedu, dan berperan penting dalam proses pencernaan untuk memfasilitasi absorpsi vitamin yang larut dalam lemak seperti vitamin A, D, E, dan K (Huff *et al.*, 2023).

Hiperkolesterolemia merupakan kondisi yang mendeskripsikan terjadinya peningkatan konsentrasi LDL (*low density lipoprotein*) dalam plasma serta berkontribusi dalam pembentukan plak yang menumpuk pada arteri atau aterosklerosis (Ekayanti, 2019). Penumpukan plak pada arteri tersebut dapat menyebabkan penyumbatan aliran darah yang berkaitan dengan risiko tinggi terkena stroke dan serangan jantung (Hervas dan Ascaso, 2019).

Menurut *World Health Organization* (WHO), prevalensi hiperkolesterolemia sebesar 48% terjadi di Amerika Serikat dan lebih banyak penderita di Eropa, yakni berkisar 54%. Berdasarkan data yang tercatat dalam *American Heart Association* (AHA) disebutkan bahwa 31,9 juta dari 13,8% populasi dewasa berusia  $\geq 20$  tahun memiliki kadar kolesterol serum total  $\geq 240$  mg/dL (Go *et al.*, 2013). Menurut Riskesdas pada tahun 2018 didapatkan data bahwa prevalensi stroke di Indonesia meningkat menjadi 10,9% dari 7%. Tercatat sebesar 28% dari warga negara Indonesia menderita kolesterol dan sekitar 7,9% mengalami kematian akibat penyakit ini (Hasan *et al.*, 2022).

Pengobatan untuk mengatasi hiperkolesterolemia secara farmakologi diberikan berdasarkan usia dan kondisi kesehatan pengidap secara menyeluruh untuk mengontrol kadar kolesterol LDL mereka. Pilihan obat tersebut

terdiri dari *HMG-CoA reductase inhibitors* (statin), *cholesterol absorption inhibitors* (ezetimibe), dan *Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin Type 9* (PCSK9) *Inhibitors* (DiPiro *et al.*, 2020).

Statin merupakan golongan obat yang dapat menurunkan kolesterol LDL dan meningkatkan HDL (*high-density lipoprotein*) yang membawa kolesterol ke hati lalu mengeluarkannya dari tubuh. Simvastatin adalah salah satu obat golongan statin yang bekerja dengan secara kompetitif memblokir situs aktif enzim pembatas laju pertama dan kunci dalam jalur mevalonat, reduktase HMG-CoA. Penghambatan situs ini mencegah akses substrat, sehingga menghalangi konversi HMG-CoA menjadi asam mevalonat (ClevelandClinic, 2022). Efek samping utama dari penggunaan statin adalah peningkatan transaminase, mialgia, dan miopati serta diabetes baru. Sebelum diresepkan, apoteker perlu memperhatikan treatment dan pilihan obat yang diberikan serta menyadari efek samping statin seperti nyeri otot dan kerusakan hati (Ibrahim *et al.*, 2022).

Daun sirih (*Piper betle*) merupakan salah satu jenis tanaman dari famili Piperaceae yang tumbuh merambat dan menjalar pada batang pohon dengan tinggi yang mencapai 5-15 meter. Bagian daun dari tanaman ini secara ilmiah telah terbukti memiliki berbagai aktivitas sebagai tanaman obat (fitofarmaka) seperti antibakteri, antioksidan, antimikroba, antiseptik, anti-jamur, antivirus, antikanker, penyembuh luka (Naja *et al.*, 2022). Selain itu, daun sirih memiliki aktivitas sebagai antioksidan di mana terdiri dari golongan senyawa fenol seperti *chavicol*, *hydroxychavicol*, *carvacrol*, komponen minyak atsiri seperti *eucalyptol*, *cadinene*, *estragole*, *pinene*, *limonene*, *safrole*, dan *eugenol* (Aara *et al.*, 2020). Penggunaan tanaman herbal yang digunakan untuk mengobati penyakit memiliki efek samping yang lebih rendah karena berbagai

komponen kimia yang terkandung dalam tanaman tersebut akan bersinergi sehingga menghasilkan efektivitas yang lebih baik dibandingkan pengobatan konvensional dari bahan aktif tunggal (Karimi *et al.*, 2015).

Meninjau dari perkembangan teknologi dalam penelitian untuk memprediksi calon senyawa obat dari tanaman herbal, dalam hal ini adalah potensi daun sirih (*Piper betle*) sebagai kandidat obat antikolesterol, belum ada penelitian yang menggunakan pendekatan *in silico* untuk memprediksi aktivitas dari senyawa biologi yang terkandung dalam tanaman ini sebagai prekursor yang berperan terhadap proses inhibisi enzim *3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme* (HMG- CoA) reduktase atau reseptor 3CCW untuk mereduksi proses biosintesis kolesterol di hati (Mustarichie *et al.*, 2013). Maka, dilakukan penelitian ini untuk menguji senyawa aktif berupa *eucalyptol, cadinene, estragole, pinene, limonene, chavicol, hydroxychavicol, carvacrol, safrole*, dan *eugenol* yang terkandung dalam daun sirih. Senyawa uji tersebut akan dibandingkan dengan simvastatin sebagai obat yang sudah terbukti memiliki aktivitas sebagai inhibitor kompetitif terhadap enzim HMG-CoA reduktase.

## METODE

Perangkat keras berupa laptop dengan spesifikasi VivoBook Asus Laptop dengan *processor AMD RYZEN 7 2700U With Radeon Vega Mobile Gfx* (8 GB RAM). Adapun situs dan perangkat lunak yang digunakan antara lain:

1. *Research Collaboratory for Structural Bioinformatics* (RCSB) *Protein Data Bank* (<https://www.rcsb.org/>) yang digunakan untuk mengunduh struktur protein reseptor.
2. PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) untuk mengunduh struktur senyawa uji dan senyawa pembanding.

3. Aplikasi ChemDraw Ultra 12.0 untuk menggambar struktur senyawa uji dan senyawa pembanding serta Chem3D Pro 12.0 untuk meminimalkan energi dari ligan uji.

4. *DUD.EA Database of Useful Decoys: Enhanced* (<https://dude.docking.org>) untuk mengunduh senyawa aktif dan *decoy*.

5. PreADMET (<https://preadmet.webservice.bmdrc.org/>) untuk mengetahui prediksi ADME dan toksisitas senyawa uji dan senyawa pembanding.

6. Aplikasi *BIOVIA Discovery Studio 2020* untuk preparasi ligan dan reseptor serta untuk visualisasi hasil penambatan molekuler.

7. Aplikasi *AutoDock Tools-1.5.6* untuk melakukan analisis penambatan molekuler

Protein target dalam format PDB dengan kode PDB ID 3CCW yang diperoleh dari PDB *database*, ligan alami, dan senyawa pembanding berupa simvastatin, serta senyawa uji *eucalyptol, cadinene, estragole, pinene, limonene, chavicol, hydroxychavicol, carvacrol, safrole*, dan *eugenol*.

### *Prediksi Lipinski*

Menganalisis profil *drug-likeness* senyawa uji melalui situs PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>). Parameter uji pada *Lipinski's Rule of Five* antara lain adalah bobot molekul, nilai log P, ikatan hidrogen donor, dan ikatan hidrogen akseptor (Khan *et al.*, 2019).

### *Penentuan ADMET*

Menganalisis profil *drug-likeness* dan toksisitas senyawa uji melalui penentuan ADMET (*adsorption, distribution, metabolism, excretion, toxicology*) menggunakan situs PreADMET (<https://preadmet.webservice.bmdrc.org/>) (Suciati *et al.*, 2020).

### *Pemodelan Molekul Senyawa Uji*

Struktur 2D (dua dimensi) dan 3D (tiga dimensi) senyawa uji *eucalyptol*, *cadinene*, *estragole*, *pinene*, *limonene*, *chavicol*, *hydroxychavicol*, *carvacrol*, *safrole*, *eugenol* diambil melalui PubChem lalu disimpan dalam bentuk format pdb dan format cdxml dan c3xml didapatkan dari ChemDraw dan Chem3D (Suciati *et al.*, 2020).

### *Skrining Farmakofor*

Menggunakan aplikasi *LigandScout* untuk melakukan skrining farmakofor terhadap 10 senyawa uji dengan menggunakan format pdb yang sebelumnya telah disiapkan. Diawali dengan melakukan preparasi *database active* dan *decoy* yang diunduh dari DUD-E dan diubah ke dalam format ldb. Selanjutnya dilakukan preparasi *database* senyawa uji dengan mengubah format 10 senyawa uji ke dalam ldb (Wolber dan Langer, 2005).

Tahap berikutnya pembuatan model farmakofor berdasarkan *database* senyawa aktif yang sudah diminimalisasi menjadi kluster sehingga didapatkan sepuluh model farmakofor, kemudian ditetapkan model terbaik berdasarkan plot kurva ROC. Setelah didapat model terbaik, dilakukan skrining farmakofor terhadap *database* senyawa uji dengan model terbaik farmakofor dan *database decoy* (Wolber dan Langer, 2005).

### *Molekular Docking*

#### 1. Preparasi Reseptor

Struktur 3D reseptor HMG Co-A Reduktase dengan kode 3CCW beserta ligan alaminya diunduh dari situs *Protein Data Bank* kemudian disimpan dalam format pdb. Lalu *file* tersebut dibuka pada aplikasi *Discovery Studio* untuk dipreparasi dengan menghilangkan atom hidrogen (*polar only*), molekul air dan ligan

asli dari reseptor tersebut. Reseptor yang telah dipreparasi disimpan dalam bentuk *file* pdbqt (Suciati *et al.*, 2020).

#### 2. Preparasi Ligan

Struktur 3D senyawa uji diminimalkan energinya menggunakan Chem3D dan disimpan dalam format *file* pdb. Selanjutnya ligan uji dan ligan alami yang telah dipisahkan dijalankan dalam program *AutoDockTools* dan ditambahkan muatan, parameter torsi, dan disimpan dalam format pdbqt (Suciati *et al.*, 2020).

### *Validasi Metode*

Proses validasi dilakukan dengan melakukan *docking* kembali (*re-docking*) antara reseptor HMG Co-A reduktase dengan ligan alaminya yang telah dipreparasi dengan berbagai pengulangan dan pengaturan *docking* yang berbeda untuk mendapatkan hasil terbaik. Hasil validasi ini ditandai dengan nilai RMSD yang paling kecil dan tidak lebih dari 2 Å. *Redocking* dilakukan dengan program *AutoDockTools* dan diamati parameter residu asam amino, ikatan hidrogen, dan nilai RMSD (Wolber dan Langer, 2005).

### *Simulasi Docking*

Simulasi *docking* diawali dengan pembuatan parameter grid berdasarkan pemetaan ligan uji terhadap ligan alami terbaik dan reseptor HMG Co-A reduktase pada program *AutoDockTools* yang disimpan dalam format gpf. Kemudian disiapkan parameter *docking* berdasar *genetic algorithm* sebanyak 100 kali *running* ligan uji terhadap reseptor dan disimpan dalam format dpf. Setelah itu, digunakan CMD untuk menjalankan pengujian secara komputasi (Suciati *et al.*, 2020).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Lima aturan Lipinski adalah konsep dalam ilmu Kimia Medisinal untuk memprediksi apakah molekul aktif secara biologis pada suatu senyawa cenderung memiliki sifat kimia dan fisik yang tersedia secara hayati secara oral (Riyaldi *et al.*, 2022).

Berdasarkan hasil tes yang tertera pada Tabel 1, semua senyawa uji memenuhi aturan Lipinski sehingga zat aktif yang nantinya diformulasikan dari bahan alam tersebut dapat dibuat dalam sediaan oral. Di antara syarat dalam 5 aturan Lipinski adalah berat molekul <500 Da, log P <5, ikatan hidrogen donor <5, dan ikatan hidrogen akseptor <10. Sediaan oral yang dapat dibuat di antaranya terdapat tablet, kapsul, kaplet, ataupun granul.

Prediksi ADMET dilakukan untuk menghindari kegagalan dalam pengembangan dan penemuan obat dari hambatan yang signifikan pada absorpsi, distribusi, *metabolisme*, ekskresi, dan sifat toksisitas suatu kandidat obat dengan cara mengeliminasi senyawa dalam tahap penemuan yang kemungkinan besar akan gagal pada tahap selanjutnya. ADME *in vitro* membutuhkan

banyak waktu dan banyak sumber daya sehingga kurang efektif untuk dilakukan. Oleh karena itu, dikembangkan PreADMET yang merupakan aplikasi berbasis *web* yang dapat memprediksi sifat *drug-likeness* dengan cepat dan data ADME/Tox (Nusantoro dan Fadlan, 2020).

Fitur prediksi PreADMET terdiri dari *drug-likeness*, ADME, dan toxicity. Fitur *drug-likeness* meliputi aturan yang menghubungkan struktur kimia dengan aktivitas biologisnya atau aturan Lipinski, *lead-like rule*, *CMC-like rule*, *MDDR-like rule*, *reactive functional group*. Fitur ADME menyediakan beberapa modul prediksi yang dapat menilai penyerapan usus calon obat. (Nusantoro dan Fadlan, 2020).

*Plasma Protein Binding* (PPB) memprediksi persen obat yang terikat pada protein plasma di mana hanya obat yang tidak terikat yang tersedia untuk difusi atau transportasi melintasi membran sel serta interaksi dengan target farmakologis. Klasifikasi senyawa kimia yang sangat terikat memiliki persen PPB >90% dan jika di bawah 90% maka terikat lemah. Berdasarkan data yang diperoleh, seluruh senyawa yang diuji terikat kuat di mana 9 dari 10 senyawa memiliki persentase

**Tabel 1.** Hasil Prediksi *Lipinski's Rule of Five*

Nama Senyawa	Berat Molekul < 500 Da	LogP <5	Ikatan Hidrogen		Pelanggaran RO5	<i>Druglikeness</i>
			Donor <5	Akseptor <10		
<i>Eucalyptol</i>	154.25	2,74	0	1	0	<i>Suitable</i>
<i>Cadinene</i>	206.37	5,5	0	0	1	<i>Suitable</i>
<i>Estragole</i>	148.20	3,47	0	1	0	<i>Suitable</i>
<i>Pinene</i>	136.23	2,6	0	0	0	<i>Suitable</i>
<i>Limonene</i>	136.23	4,5	0	0	0	<i>Suitable</i>
<i>Chavicol</i>	134.17	2,9	1	1	0	<i>Suitable</i>
<i>Hydroxychavicol</i>	150.17	0,8	2	2	0	<i>Suitable</i>
<i>Carvacrol</i>	150.22	3,49	1	1	0	<i>Suitable</i>
<i>Safrole</i>	162.18	3,45	0	2	0	<i>Suitable</i>
<i>Eugenol</i>	150.17	0,8	2	2	0	<i>Suitable</i>



Tabel 2. Hasil Prediksi ADMET

Nama Senyawa	Absorpsi		Distribusi		Toksisitas	
	%HIA	Caco (nm/sec)	%PPB	BBB	Mutagen	Karsinogen
<i>Eucalyptol</i>	100	21,895	100	1,46723	Positive	Mouse (+) Rat (+)
<i>Cadinene</i>	100	23,4018	100	13,4767	Positive	Mouse (-) Rat (+)
<i>Estragole</i>	100	58,0905	100	1,51179	Positive	Mouse (+) Rat (-)
<i>Pinene</i>	100	23,6322	100	5,5333	Positive	Mouse (+) Rat (-)
<i>Limonene</i>	100	23,6317	100	8,27823	Positive	Mouse (-) Rat (+)
<i>Chavicol</i>	100	40,3765	100	4,11765	Positive	Mouse (+) Rat (-)
<i>Hydroxychavicol</i>	89,4116	18,4093	100	3,3968	Positive	Mouse (+) Rat (-)
<i>Carvacrol</i>	100	49,5448	94,7448	14,1639	Positive	Mouse (-) Rat (-)
<i>Safrole</i>	100	57,5623	100	1,11687	Positive	Mouse (+) Rat (+)
<i>Eugenol</i>	96,7744	46,8865	100	2,25544	Positive	Mouse (+) Rat (+)

PPB sebesar 100% dan *carvacrol* sebesar 94,74% (Shargel, 2005).

*Blood Brain Barrier* (BBB) Penetration memprediksi apakah senyawa mampu melewati penghalang darah-otak. Pengamatan ini sangat penting dalam bidang farmasi karena senyawa aktif SSP harus melewatinya dan senyawa tidak aktif SSP tidak boleh melewatinya untuk menghindari efek samping SSP. Klasifikasi penetrasi BBB terdiri dari, yaitu untuk *CNS active compounds* (+) nilai BB ( $C_{brain}/C_{blood}$ ) >0,4 dan logBB >-0,4 serta untuk *CNS inactive compounds* (+) nilai BB ( $C_{brain}/C_{blood}$ ) <0,4 dan logBB <-0,4. Kemudian, untuk klasifikasi nilai logBB untuk *high absorption* yaitu >0,3; *middle* -1-0,3; dan *low* <-1. Berdasarkan data yang diperoleh, *safrole* memiliki nilai logBB terkecil, yaitu 0,04 di mana menunjukkan absorbansi menengah untuk melewati sawar darah otak. Sementara itu, *carvacrol* memiliki nilai logBB terbesar yaitu yang menunjukkan absorbansi tinggi untuk

melewati sawar darah otak (Adam, 2015).

PreADMET dapat memprediksi persentase penyerapan usus manusia (%HIA). Data *human intestinal absorption* adalah jumlah bioavailabilitas dan penyerapan yang dievaluasi dari rasio ekskresi atau ekskresi kumulatif dalam urin, empedu, dan feses. Klasifikasinya yaitu senyawa yang sulit diserap 0-20%, senyawa yang diserap sedang 20-70%, dan senyawa yang terserap dengan baik 70-100%. Berdasarkan data yang diperoleh, seluruh senyawa termasuk kedalam senyawa yang diserap dengan baik di usus (Kelutur *et al.*, 2020).

Permeabilitas sel CaCO<sub>2</sub> digunakan dalam proses pemilihan obat untuk menilai penyerapan usus calon obat. Sel CaCO<sub>2</sub> berasal dari adenokarsinoma usus besar manusia dan memiliki beberapa jalur transportasi obat melalui epitel usus. Klasifikasinya yaitu dimana untuk permeabilitas rendah memiliki nilai <4, permeabilitas menengah 4-70, dan permeabilitas tinggi >70. Berdasarkan

Tabel 3. Hasil Prediksi ADMET

Nama Senyawa	Model 2D	Model 3D
<i>Carvacrol</i>		
<i>Chavicol</i>		
<i>Eugenol</i>		
<i>Hydroxychavicol</i>		
Simvastatin (Kontrol Positif)		

data yang diperoleh, nilai  $CaCO_2$  terendah dimiliki oleh senyawa *hydroxychavicol* yaitu 18,4093 nm/detik di mana nilai tersebut menunjukkan senyawa yang memiliki permeabilitas rendah

dalam hal penyerapan di usus. Sementara itu, nilai tertinggi dimiliki *estragole* yaitu 58,0905 yang menunjukkan permeabilitas baik di usus (Agus *et al.*, 2023).

Toksistasitas dalam farmasi merupakan sifat atau efek negatif suatu zat terhadap organisme hidup, termasuk manusia. Hal tersebut berkaitan dengan kemampuan zat untuk menyebabkan kerusakan atau efek merugikan pada sistem biologis, seperti organ tubuh, jaringan, atau sel-sel. Toksistasitas yang tinggi dapat menyebabkan efek samping yang serius, seperti kerusakan organ, reaksi alergi, atau bahkan kematian. Penilaian toksistasitas dalam farmasi melibatkan uji praklinis yang luas pada hewan laboratorium dan sistem *in vitro*. Mutagen adalah zat yang dapat menyebabkan perubahan genetik atau mutasi dalam materi genetik organisme hidup. Dalam konteks farmasi, mutagenisitas obat-obatan sangat penting karena mutasi genetik dapat menyebabkan perubahan yang tidak diinginkan dalam sel manusia. Sementara itu, karsinogen adalah zat yang dapat menyebabkan perkembangan kanker atau tumor ganas. Berdasarkan data yang diperoleh, seluruh senyawa menunjukkan hasil positif pada toksistasitas mutagen serta karsinogen positif pada senyawa *eucalyptol*, *safrole*, dan *eugenol* (Berniyanti, 2018).

*HMG Co-A Reductase Receptor Active Database* dan *Decoy Database* (PDB Code: 3CCW) diunduh dari <https://dude.doccking.org> dipilih, menyisakan 100 senyawa untuk *database* aktif dan 400 senyawa untuk *database decoy*. Membangun model farmakofor di *LigandScout* menggunakan *database* yang telah dibangun sebelumnya menghasilkan 10 model farmakofor. Selanjutnya masing-masing dari 10 model farmakofor divalidasi dengan memplot kurva ROC (*Receiver Operating Characteristic*) untuk melihat kemampuan model farmakofor dalam membedakan senyawa aktif dan inaktif. Dalam kurva ROC, sumbu x menunjukkan jumlah persentase *decoy* yang diterima (tingkat positif palsu) atau spesifikasi tertulis 1. Semakin rendah

nilai pada sumbu x, semakin akurat. Di sisi lain, sumbu Y dari CO<sub>2</sub> kurva ROC adalah jumlah hasil yang diperoleh (*true positive count*) atau ditulis sebagai sensitivitas. Semakin tinggi nilai pada sumbu y, semakin baik akurasinya. Pada saat yang sama, nilai AUC (area di bawah kurva) juga menunjukkan keakuratannya. Sehingga semakin tinggi nilainya, semakin baik kemampuan menyaring bahan aktif dari bahan inaktif (*decoy*). Kisaran nilai AUC pada ROC adalah  $0 \leq AUC \leq 1$ . Jika nilai  $AUC = 0,5$  maka pemilihan tidak bekerja sama sekali. Jika nilai  $AUC > 0,5$  dan semakin mendekati 1 maka akurasinya semakin tinggi. Nilai  $AUC \geq 0,7$  dapat dianggap valid, dimana metode menunjukkan diskriminasi yang dapat diterima. Pada validasi hasil farmakofor modelling dipilih model 4 dimana memiliki nilai AUC terbaik dengan total 191 *hit*. Dengan model ini, senyawa uji diskriming aktivitasnya terhadap reseptor HMG Co-A reduktase. Hasil skrining menunjukkan ada tidaknya aktivitas senyawa uji terhadap reseptor yang diinterpretasikan dalam bentuk *fit score* (Ruswanto, 2015). Untuk mengetahui seberapa besar aktivitas senyawa uji terhadap reseptor maka dapat dibandingkan *fit score* senyawa uji terhadap kontrol positif (Hafeez *et al.*, 2013). Kontrol positif kali ini digunakan simvastatin, termasuk senyawa golongan statin yang merupakan kompleks dalam reseptor.

Setelah dilakukan *molecular docking* terhadap 10 senyawa yang diuji, didapatkan hasil data pada Tabel 4. Menimbang hasil skrining farmakofor sebelumnya, senyawa-senyawa yang memiliki gugus yang dapat berinteraksi dengan reseptor 3CCW adalah *carvacrol*, *chavicol*, *eugenol*, dan *hydroxychavicol*. Senyawa yang memiliki aktivitas terhadap reseptor target akan memiliki interaksi hidrogen dan residu asam amino tertentu (Bare dan Sari, 2021). Interpretasi data dengan cara membandingkan senyawa uji



dengan kontrol positif simvastatin.

Penilaian pertama dilakukan dengan melihat energi bebas Gibbs ( $\Delta G$ ) dan konstanta inhibisi yang dimiliki oleh senyawa. Nilai energi ikatan Gibbs ( $\Delta G$ ) yang diambil adalah yang memiliki nilai semakin negatif dimana menunjukkan ikatan yang terbentuk antara reseptor dan ligan semakin kuat sehingga menunjukkan tingkat kestabilan yang baik (Balle dan Liljefors, 2016). Energi bebas Gibbs ( $\Delta G$ ) dan konstanta inhibisi terendah didapatkan pada senyawa *cadinene*. Namun pada skrining farmakofor sebelumnya, *cadinene* bukan salah satu senyawa yang memiliki gugus atau yang dapat berikatan dengan reseptor. Penilaian selanjutnya dilihat dari hasil senyawa yang termasuk dalam skrining farmakofor sebelumnya. Energi Gibbs ( $\Delta G$ ) dan konstanta inhibisi terkecil didapatkan pada senyawa *carvacrol*. Untuk kandidat selanjutnya dengan energi Gibbs ( $\Delta G$ ) dan nilai konstanta inhibisi yang rendah secara berurutan adalah *hydroxychavicol*, *chavicol*, dan *eugenol*.

Penilaian selanjutnya, melihat kemiripan interaksi dengan residu asam amino terhadap kontrol positif simvastatin (Khan *et al.*, 2019). Senyawa simvastatin berinteraksi secara *hydrogen bond* dengan asam amino ARGD590 (*arginine*), ASPD690 (asam aspartat), ASNC755 (*asparagin*). Walaupun senyawa *carvacrol* memiliki energi Gibbs ( $\Delta G$ ) dan KI terendah, kemiripannya hanya pada satu interaksi yaitu pada ASNC755 (*asparagin*) (Bare *et al.*, 2019). Pada senyawa *hydroxychavicol* memiliki dua kemiripan interaksi asam amino yaitu pada interaksi ASPD690 (asam aspartat), dan ARGD590 (*arginin*). Senyawa *chavicol* kemiripan interaksi pada ASNC755 (*asparagin*). Senyawa *eugenol* didapatkan kemiripan interaksi pada ketiga interaksi *hydrogen bond* pada kontrol positif yaitu ARGD590 (*arginin*), ASPD690 (asam aspartat), ASNC755

(*asparagin*). Dari penilaian tersebut selanjutnya dilakukan skrining terakhir dengan melihat HBR atau *hydrogen bond ratio* (perbandingan *hydrogen bond* dengan non *hydrogen bond*). HBR terbesar memberi nilai senyawa yang baik untuk berinteraksi dengan reseptor. Senyawa *chavicol* dan *eugenol* mendapatkan nilai HBR yang sama, yaitu 1. Namun, pada *chavicol* kemiripan interaksi sebelumnya hanya terjadi pada 1 interaksi, sedangkan *eugenol* memiliki kemiripan interaksi yang sama dengan simvastatin. Dilanjut dengan *hydroxychavicol* dan juga *carvacrol* yang mendapatkan HBR 0,75.

Berdasarkan penelitian Aqeel *et al.* (2018) menyatakan bahwa senyawa golongan fenol memiliki afinitas yang tinggi untuk berikatan dengan situs aktif enzim HMG-CoA reduktase secara *in silico*. *Hydroxychavicol* sebagai golongan senyawa fenol memiliki kemiripan interaksi dengan residu asam amino senyawa kontrol (Maharatha *et al.*, 2020). Sementara itu, berdasarkan penelitian Harb *et al.* (2019), *eugenol* memiliki aktivitas sebagai anti kolesterol melalui kemampuannya untuk menginduksi penurunan regulasi saluran *transient receptor potensial vanilloid* (TRPV1) di hati. Untuk hal ini, dapat dinyatakan bahwa *eugenol* dan *hydroxychavicol* memiliki pertimbangan *lead compound* lebih baik dilihat dari kemiripan interaksi asam amino yang dimiliki.

## SIMPULAN

Hasil dari studi *in silico* pada penelitian ini yang dilakukan menggunakan skrining farmakofor dan simulasi *molecular docking*, dapat dinyatakan *lead compound* dari senyawa yang dimiliki daun sirih, yaitu *hydroxychavicol* dan *eugenol*. Di mana keduanya memiliki potensi sebagai anti kolesterol berdasarkan interaksinya terhadap enzim HMG Co-A reduktase. Berdasarkan prediksi Lipinski,

kedua senyawa tersebut memenuhi persyaratan untuk dibuat menjadi sediaan oral dan dapat dilakukan penelitian lebih lanjut.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Aara, A., Chappidi, V., dan Ramadas, M.N. 2020. Antioxidant Activity of Eugenol in Piper betel Leaf Extract. *Journal of Family Medicine and Primary Care*, 9(1): 327-331.
- Adam, A. 2015. Pathology Discharge In The Blood (Brain Barrier). Tersedia secara online di <https://pustaka.unpad.ac.id/archives/135530>. [Diakses tanggal 30 Mei 2023]
- Agus, A.S.R., Purnaningtyas, S.R.D., Wahidin, W., Sari, D.R.T., Ischak, N.I., Gianti, L., dan Cahyanto, H.N. 2023. Kimia Medisinal. Padang : PT Global Eksekutif Teknologi.
- Aqeel, M.T., Rahman, N., Khan, A., Ashraf, Z., Latif, M., Rafique, H., dan Rasheed, U. 2018. Antihyperlipidemic Studies of Newly Synthesized Phenolic Derivatives: In Silico and In Vivo Approaches. *Drug Des Devel Ther*, 12: 2443–2453.
- Bare, Y., Kuki, A. D., Rophi, A. H., dan Candrakirana, G. 2019. Prediksi Asam Kuinat Sebagai Anti-Inflamasi Terhadap COX-2 Secara Virtual. *Biota*, 4(3): 124-129.
- Bare, Y., dan Sari, D. R. T. 2021. Pengembangan Lembar Kerja Mahasiswa (LKM) Berbasis Inkuiri Pada Materi Interaksi Molekuler. *Jurnal BioEdUIN*, 11(1): 19-25.
- Balle, T. dan Liljefors T. 2016. *Molecular Recognition*. Di dalam Strömgaard K, Krogsgaard-Larsen P, Madsen U (Eds.), Textbook of Drug Design and Discovery (5th ed.). CRC Press.
- Berniyanti, T. 2018. *Biomarker Toksisitas*. Surabaya : Airlangga University Press.
- Cleveland Clinic. 2022. Hypercholesterolemia. Tersedia secara online di <https://my.clevelandclinic.org/health/diseases/23921-hypercholesterolemia>. [Diakses pada 21 Mei 2023].
- DiPiro, T.L. Wells, B. G., J. T. Schwinghammer, dan C. V. 2020. *Handbook of Pharmacotherapy 11th Edition*. New York: McGraw-Hill.
- Ekayanti, I.G. 2019. Analisis Kadar Kolesterol Total dalam Darah Pasien dengan Diagnosis Penyakit Kardiovaskuler. *International Journal of Applied Chemistry Research*, 1(1): 6-11.
- Go, A. S., Mozaffarian, D., Roger, V. L., Benjamin, E. J., Berry, J. D., Borden, W. B., dan Turner, M. B. 2013. Heart disease and stroke statistics-2013 update: A Report from the American Heart Association. *Circulation*, 127(1).
- Hafeez, A., Saify, Z.S., Naz, A., Yasmin, F., Akhtar N. 2013. Molecular penambatan study on the interaction of riboflavin (vitamin B2) and cyanocobalamin (vitamin B12) coenzymes. *Journal of Computational Medicine*, 1– 5.
- Harb, A.A., Bustanji, Y.K., Almasri, I.M., dan Abdalla, S.S. 2019. *Eugenol Reduces LDL Cholesterol and Hepatic Steatosis in Hypercholesterolemic Rats by Modulating TRPV1 Receptor*. *Scientific Reports*, 9(14003): 1-10.
- Hasan, A.M., Rahmayani, F., dan Rudiyanto, W. 2022. Pengaruh Kadar LDL dan HDL pada Stroke. *Jurnal Penelitian Perawat Profesional*, 4(4): 1245-1252.
- Hervas, S.M., dan Ascaso, J.F. 2019. *Encyclopedia of Endocrine Disease: Hypercholesterolemia*. Amsterdam: Elsevier.

- Huff, T., Boyd, B., dan Jialal, I. 2023. Physiology Cholesterol. Tersedia online di <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470561/> [Diakses pada 21 Mei 2023].
- Ibrahim, M.A, Asuka, E., Jialal, I. 2022. Hypercholesterolemia. Tersedia secara online di <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK459188/>. [Diakses pada 21 Mei 2023].
- Karimi, A., Majlesi, M., dan Kopaei, M.R. 2015. Herbal Versus Synthetic Drugs; Beliefs and Facts. *Journal of Nephro pharmacology*, 4(1): 27-30.
- Kelutur, F.J., Mustarichie, R., dan Umar, A.K. 2020. Virtual Screening Kandungan Senyawa Kipas Laut (*Gorgonia mariae*) sebagai Anti Asma. *Alchemy Jurnal Penelitian Kimia*, 16(2) : 199-210,
- Khan, S., Nazir, M., Raiz, N., Saleem, M., Zengin, G., Fazal, G., Saleem, H., Mukhtar, M., Tousif, M.I., Tareen, R.B., Abdallah, H.H., Mahomoodally, F.M. 2019. Phytochemical profiling, in vitro biological properties and in silico studies on *Caragana ambigua* stocks (Fabaceae): A comprehensive approach. *Industrial Crops and Products*. 131: 117–124.
- Marahatha, R., Basnet, S., Bhattarai, B.R., Budhathoki, P., Aryal, B., Adhikari, B., Lamichhane, G., Poudel, D.K., Parajuli, N. 2020. In-Silico Analysis of Secondary Metabolites that Modulates Enzymes of *Cholesterol Target*. *Biorxiv*, 1-17.
- Mustarichi, R., Levita, J., Febriani, D. 2013. In-silico study of curcumin, demethoxycurcumin, and xanthorrhizol as skin whitening agents. *World Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1(3): 72–80.
- Naja, A.P., Andika, dan Mi'rajunnisa. 2022. Studi in Silico Senyawa Metabolit Sekunder Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L) sebagai Inhibitor Enzim Main Protease (Mpro) pada SARS-CoV-2. *Medical Sains*, 7(2): 343-356.
- Nusantoro, Y.R. dan Fadlan, A. 2020. Analisis Sifat Mirip Obat, Prediksi ADMET, dan Penambatan Molekular Isatinil-2-Aminobenzoilhidrazon dan Kompleks Logam Transisi Co(II), Ni(II), Cu(II), Zn(II) Terhadap BCL2-XL. *Akta Kimia Indonesia*, 5(2) : 114-126.
- Riyaldi, M.R., Fatiya, N.U., Dipadharma, R.H.F., Kusnadi, I.F., Hidayat, S., Suhandi, C., dan Muchtaridi, M. 2022. Studi In-Silico Senyawa pada Ekstrak Bawang Putih (*Allium sativum* L.) Sebagai Inhibitor Neuraminidase pada Influenza. *Farmaka*, 20(3) : 1-11.
- Ruswanto. 2015. Molekular docking empat turunan isonicotinohydrazide pada *Mycobacterium tuberculosis* enoyl-acyl carrier reduktase (InhA). *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada*. 13: 213–227.
- Shargel, L. 2005. *Applied Biopharmaceutics and Pharmacokinetics*. New York: McGraw-Hill, Medical Pub
- Suciati, L., Lestari, S.R., dan Lukiati, B. 2020. Molecular docking studies of geraniin, corilagin, and ellagic acid from rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) peel extract against squalene synthase as potential anti hypercholesterolemia. *AIP Conf. Proc.* 2231: 040040-1–040040-6.
- Wolber, G., dan Langer, T. (2005): LigandScout: 3-D pharmacophores derived from protein-bound ligands and their use as virtual screening filters. *J. Chem. Inf. Model.* 45: 160-169.
- Yin, W., Li, Z., dan Zhang, W. 2019. Modulation

of Bone and Marrow Niche by Cholesterol.  
*Nutrients*, 11(6): 1394.