

Studi *In Silico* Flavonoid Daun Sirih Merah sebagai Antivirus Hepatitis C

Destia Maharani Mufthi *, Fetri Lestari, Hilda Aprilia Wisnuwardhani

Prodi Farmasi, Fakultas MIPA, Universitas Islam Bandung, Indonesia.

destiamaharanimufthi@gmail.com, fetri.lestari@unisba.ac.id, hilda.aprilia.w@unisba.ac.id

Abstract. Hepatitis C is a major global health concern, infecting millions worldwide. This disease can lead to chronic liver disorders, cirrhosis, hepatocellular carcinoma, and death. Current therapies, particularly Direct-Acting Antivirals (DAAs), have shown good efficacy by targeting the NS5A protein involved in viral replication. Recently, plant-derived antivirals have gained increasing attention, including red betel leaf (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.), which is rich in flavonoids. This study aimed to investigate the binding affinity of flavonoid compounds from *Piper crocatum* leaves against the NS5A protein and predict their toxicity profiles. An *in silico* approach using molecular docking simulations was employed. Flavonoid compounds, including kavikol, hydroxykavikol, quercetin, procyanidin, gossypin, and brazilin, known for their antioxidant activity, were analyzed for their interactions with NS5A. Docking results revealed that procyanidin exhibited the lowest binding free energy ($\Delta G = -7.9$ kcal/mol) with an inhibition constant of 1.604 μM , suggesting its potential as an HCV antiviral agent. Toxicity predictions indicated that most compounds displayed high toxicity classes, implying potential safety concerns. However, they remained within acceptable exposure limits, posed low exposure risks, and were non-carcinogenic and non-mutagenic, except for brazilin. This study provides a preliminary screening of natural compounds to support future therapeutic development for hepatitis C.

Keywords: Hepatitis C, Flavonoid, *In silico*.

Abstrak. Hepatitis C merupakan masalah global yang serius dan telah menginfeksi jutaan orang diseluruh dunia. Hepatitis C dapat menyebabkan penyakit hati kronis, sirosis, karsinoma hepatoseluler dan kematian. Terapi yang saat ini tersedia yaitu *Direct-Acting Antivirals* (DAAs) menunjukkan efektivitas yang baik dan menargetkan protein NS5A yang berperan dalam replikasi virus. Pemanfaatan tanaman sebagai antivirus semakin diminati salah satunya daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) yang mengandung flavonoid dalam jumlah tinggi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui afinitas senyawa golongan flavonoid dari daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) terhadap protein NS5A serta memprediksi toksisitasnya. Penelitian ini dilakukan secara *in silico* menggunakan simulasi *molecular docking*. Senyawa kavikol, hidroksikavikol, kuersetin, prosianidin, gosipin dan brazilin yang memiliki aktivitas antioksidan diprediksi interaksinya dengan protein NS5A. Hasil *docking* menunjukkan prosianidin memiliki energi bebas ikatan terendah dengan nilai ΔG yaitu -7,9 kkal/mol dengan konstanta inhibisi 1,604 μM . Oleh karena itu, senyawa tersebut berpotensi sebagai antivirus HCV. Kemudian berdasarkan hasil toksisitas sebagian besar senyawa memiliki toksisitas kelas tinggi sehingga tidak menjamin terhadap keamanannya, akan tetapi berada dalam ambang batas paparan dengan resiko paparan yang rendah dan tidak menyebabkan karsinogenik dan mutagenesis kecuali untuk senyawa brazilin. Penelitian ini menjadi skrining awal senyawa alami untuk menunjang terapi Hepatitis C.

Kata Kunci: Hepatitis C, Flavonoid, *In silico*.

A. Pendahuluan

Hepatitis C merupakan masalah kesehatan yang serius di berbagai wilayah di dunia. Miliaran orang di seluruh dunia telah terinfeksi virus hepatitis (Kao et al., 2021). Menurut (WHO), sekitar 325 juta orang di seluruh dunia menderita Hepatitis B atau C. Selain itu, diperkirakan terdapat sekitar 50 juta orang menderita infeksi virus hepatitis C kronis secara global, dengan sekitar 1,0 juta infeksi baru terjadi per tahun. Sementara itu, prevalensi hepatitis di Indonesia tinggi, dengan 7,1% penduduk terkena Hepatitis B dan 1% terkena Hepatitis C.

Keparahan dari paparan virus hepatitis C dapat terjadi mulai dari penyakit akut ringan hingga kronis. Virus hepatitis C (HCV) menjadi salah satu penyebab paling umum penyakit hati kronis, sirosis, transplantasi hati, dan kanker (Manne et al., 2021). Hepatitis C berpotensi memerlukan transplantasi hati dan dapat mengakibatkan kematian, pada tahun 2022 *World Health Organization* memperkirakan bahwa terdapat sekitar 242.000 orang meninggal karena hepatitis C, sebagian besar disebabkan oleh sirosis dan karsinoma hepatoseluler (kanker hati primer). Menurut WHO, sejumlah pasien tepatnya sekitar 30% (15–45%) orang yang terinfeksi sembuh secara spontan dari virus dalam periode 6 bulan pertama setelah terpapar virus tanpa pengobatan apa pun. Namun, sisanya sebanyak 70% (55–85%) mengalami perkembangan menjadi kondisi kronis. Adapun risiko sirosis pada infeksi HCV kronis berkisar antara 15% hingga 30% dalam 20 tahun.

Interferon digunakan sebagai standar dalam pengobatan untuk hepatitis C. Namun, pada penggunaannya sering menyebabkan efek samping yang signifikan, seperti gejala mirip flu, kelelahan, depresi, dan gangguan autoimun. Durasi pengobatan terapi juga panjang (24 hingga 48 minggu) dan memiliki tingkat respon yang rendah dimana sebelum adanya terapi kombinasi dengan ribavirin, tingkat respons virologis yang berkelanjutan (SVR) berkisar antara 15-20%. Selain itu, tidak semua pasien dapat menerima terapi interferon, terutama yang memiliki penyakit hati yang parah atau kondisi medis tertentu, efektivitas terapi interferon terbatas pada pasien dengan infeksi HIV/HCV ko-infeksi.

Selain itu, ribavirin juga digunakan sebagai standar pengobatan untuk hepatitis C selama bertahun-tahun. Namun pada penggunaan ribavirin tersebut terdapat kekhawatiran diantaranya risiko anemia signifikan serta potensi komplikasi pada pasien dengan penyakit gagal ginjal stadium akhir.

Direct-acting antivirals (DAAs) merupakan metode pengobatan HCV saat ini yang dapat menyembuhkan sebagian besar pasien dalam jangka waktu pengobatan yang singkat (biasanya 12 hingga 24 minggu) tergantung ada atau tidaknya sirosis. Pengobatan dengan antiviral kerja langsung (DAA) memiliki tingkat penyembuhan HCV lebih dari 95% (Burstow et al., 2017). Terapi obat antivirus langsung (DAA) lebih unggul dibandingkan terapi sebelumnya. Hal tersebut dikarenakan terapi ini dapat ditoleransi, lebih efektif dan lebih sederhana dalam penerapannya. Pengobatan yang tersedia untuk penyakit HCV saat ini sebagian besar ditujukan untuk menghambat replikasi HCV seperti simeprevir, sofosbuvir, dan daclatasvir (Kemenkes, 2019). Target terapi DAA diantaranya dengan menghambat protein NS5A. Mekanisme dari protein NS5A yaitu dengan menekan jalur PKR dalam sel inang (Alhawaris, 2019).

Pemanfaatan tanaman sebagai antivirus semakin diminati, salah satunya yaitu tanaman daun sirih merah yang mengandung senyawa golongan flavonoid yang tinggi. Pada penelitian (Purnamasari et al., 2022) yang membandingkan kadar flavonoid beberapa tanaman, ekstrak etanol daun sirih merah memiliki kadar flavonoid tertinggi (1,8131%). Selain itu, pada penelitian yang dilakukan, daun sirih merah mengandung flavonoid tertinggi (45.771 µg/g) (Pramudiska et al., 2023). Daun sirih merah juga mengandung senyawa lain yang khas seperti hidroksikavikol dan kavikol (Novilia et al., 2018).

Senyawa flavonoid merupakan senyawa fenolik yang memiliki peran diantaranya sebagai antioksidan (Prayitno et al., 2018). Selain itu, flavonoid memiliki aktivitas sebagai antivirus diantaranya dengan mekanisme inhibisi replikasi virus, pengikatan pada protei n virus, modulasi respon imun dan penghambatan enzim viral (Zakaryan et al., 2017).

Senyawa quersetin terbukti memiliki aktivitas sebagai antioksidan dan antivirus pada beberapa jenis virus dengan menekan fase awal infeksi virus dan berinteraksi dengan protease replikasi virus. (Shorobi et al., 2023). Selain itu, terdapat senyawa prosianidin yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan yang sangat kuat. Prosianidin telah terbukti menghambat replikasi RSV, memiliki aktivitas antivirus untuk influenza A dan B, HIV-1 dan virus hepatitis C (Dasiman et al., 2022). Senyawa brazilin juga terdapat aktivitas antioksidan dan aktivitas penangkal radikal DPPH tertinggi (IC₅₀= 57,2MM) serta aktivitas reduksi besi dibandingkan dengan vitamin E standar (Nirmal et al., 2015). Senyawa gosipin memiliki aktivitas sebagai antioksidan dan antivirus pada HSV.

Sehubungan dengan hal-hal yang telah disebutkan diatas, dapat di simpulkan rumusan masalah dari penelitian ini adalah bagaimana afinitas senyawa golongan flavonoid dari daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) terhadap protein virus NS5A hepatitis C secara *in silico*? dan bagaimana prediksi toksisitas senyawa golongan flavonoid dari daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) sebagai antivirus hepatitis C secara *in silico*? Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui afinitas senyawa golongan flavonoid dari daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) terhadap protein virus NS5A hepatitis C secara *in silico* dan untuk mengetahui prediksi toksisitas senyawa golongan flavonoid dari daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) sebagai antivirus hepatitis C secara *in silico*. Adapun manfaat dari penelitian ini adalah untuk *screening* senyawa yang memiliki potensi serta diharapkan dapat menunjang terapi HCV.

B. Metode

Pada penelitian ini akan dilakukan secara *in silico* antara senyawa golongan flavonoid (kuersetin, prosianidin, brazilin, gosipin), senyawa hidroksikavikol dan kavikol dengan protein NS5A virus hepatitis C. Senyawa-senyawa tersebut dilakukan uji farmakokinetik *Lipinski's Rule of Five* terlebih dahulu menggunakan SwissADME sebelum dilanjutkan ke tahap selanjutnya. Senyawa yang akan digunakan dalam percobaan ini digambar dalam bentuk gambar 2D dan 3D menggunakan *software ChemBio Draw* dan *ChemBio 3D Ultra*, lalu dilakukan optimasi geometri senyawa golongan flavonoid menggunakan *software Gauss View 5.0* dan *Gaussian 09* dengan metode DFT basis set 3-21G. Pengunduhan protein virus hepatitis C sebagai reseptor diunduh melalui website Protein Data Bank (www.rcsb.org) dengan kode 4CL1 untuk protein NS5A. Setelah itu, dilakukan penghapusan molekul air, kemudian dilakukan preparasi dengan penambahan atom hidrogen dan penambahan muatan parsial pada senyawa dan protein virus Hepatitis C.

Selanjutnya, dilakukan validasi penambatan molekul pada reseptor uji protein NS5A serta simulasi penambatan molekul menggunakan *software MGL Tools* versi 1.5.7 dilengkapi dengan *AutoDock Tools* versi 1.5.7 dan *AutoDock Vina* versi 1.2.5. Data dari hasil simulasi penambatan molekul kemudian dianalisis menggunakan *software Pymol* dan *BIOVIA Discovery Studio Visualizer* versi 2025. Uji toksisitas dilakukan menggunakan *software Toxtree* versi 3.1.0. dengan 3 parameter yaitu *Cramer Rules*, *Kroes TTC decision tree* dan *Benigni/Bossa rulebase* dan dilakukan uji ADMET menggunakan pKCSM.

C. Hasil Penelitian dan Pembahasan

Senyawa uji yang digunakan yaitu kuersetin, prosianidin, brazilin, gosipin, kavikol dan hidroksikavikol terlebih dahulu dilakukan penentuan parameter sifat fisikokimia. Acuan yang digunakan adalah aturan *Lipinski's Rule of Five*. *Lipinski's Rule of Five* adalah pendekatan eksperimental awal untuk memperkirakan kelarutan, permeabilitas dan khasiat dalam penemuan dan pengembangan obat. Aturan tersebut berfungsi sebagai acuan dalam menilai potensi absorpsi dan permeasi suatu senyawa dalam tubuh (Fakih et al., 2022).

Tabel 1. Nilai lifofilisitas ClogP senyawa uji dan ligan

No	Nama senyawa	Nilai lipofilisitas (ClogP)
1	Kavikol	2,37
2	Hidroksikavikol	1,71
3	Kuersetin	-0,56
4	Prosianidin	-0,6
5	Gosipin	-3,07
6	Brazilin	1,04
7	Daclatasvir	1,22

Berdasarkan pada **Tabel 1**, nilai ClogP dari keenam senyawa uji dan ligan telah memenuhi aturan Lipinski dengan nilai lipofilisitas kurang dari 5. Akan tetapi terdapat senyawa dengan nilai negatif yaitu senyawa kuersetin dan gosipin. Hal tersebut akan menyebabkan molekul sulit untuk menembus membran lipid. Sementara itu keempat senyawa lainnya dapat diprediksi senyawa tersebut memiliki

penyerapan yang baik. Jika nilai ClogP tinggi maka molekul tersebut bersifat lipofilik. Hal tersebut dapat meningkatkan kemampuan molekul untuk menembus *membrane lipid bilayer*. Nilai ClogP yang terlalu tinggi dapat menyebabkan senyawa terperangkap dalam membran lipid pertama yang ditemuinya, sehingga akan menghambat distribusi lebih lanjut ke dalam tubuh (Sahu et al., 2022).

Tabel 2. Nilai bobot molekul senyawa uji dan ligan

No	Nama senyawa	Nilai Bobot Molekul
1	Kavikol	134,18 g/mol
2	Hidroksikavikol	150,17 g/mol
3	Kuersetin	302,24 g/mol
4	Prosianidin	592,52 g/mol
5	Gosipin	480,38 g/mol
6	Brazilin	286,28 g/mol
7	Daclatasvir	738,87 g/mol

Menurut aturan Lipinski, bobot molekul senyawa yang baik yaitu tidak lebih dari 500 Dalton. Jika memiliki bobot molekul lebih tinggi dari 500 Dalton hal tersebut menunjukkan terdapat penurunan penyerapan (Sahu et al., 2022). Berdasarkan hasil yang diperoleh pada **Tabel 2**, senyawa uji prosianidin dan ligan daclatasvir memiliki nilai bobot molekul berturut-turut sebesar 592,52 g/mol dan 738,87 g/mol sehingga senyawa prosianidin dan ligan daclatasvir tidak memenuhi aturan Lipinski karena bobot molekul yang diperoleh lebih dari 500 Dalton. Sementara itu, untuk senyawa lainnya yaitu kuersetin, brazilin, gosipin, hidroksikavikol, kavikol telah memenuhi aturan Lipinski dengan bobot molekul tidak lebih dari 500 Dalton. Senyawa yang memenuhi tersebut cenderung lebih mudah untuk melewati membrane sel dan senyawa yang tidak memenuhi cenderung memiliki kelarutan rendah dan sulit untuk melewati membran sel (Sahu et al., 2022).

Parameter selanjutnya yaitu Jumlah Ikatan Hidrogen Akseptor senyawa uji dan ligan. Jumlah akseptor ikatan hidrogen pada setiap senyawa dihitung dengan melihat jumlah atom N dan O dari rumus molekulnya (Sahu et al., 2022). Parameter ini terkait dengan aktivitas biologis molekul obat dan dengan potensi terapeutik suatu senyawa.

Tabel 3. Jumlah Ikatan Hidrogen Akseptor senyawa uji dan ligan

No	Nama senyawa	Jumlah ikatan hidrogen akseptor
1	Kavikol	1
2	Hidroksikavikol	2
3	Kuersetin	7
4	Prosianidin	13
5	Gosipin	13
6	Brazilin	5
7	Daclatasvir	8

Berdasarkan hasil yang diperoleh pada **Tabel 3**, senyawa prosianidin dan gosipin tidak memenuhi aturan *Lipinski* karena jumlah ikatan hidrogen akseptor lebih dari 10. Sementara itu, untuk senyawa lainnya yaitu kuersetin, brazilin, hidroksikavikol, kavikol dan daclatasvir telah memenuhi aturan Lipinski. Akseptor hidrogen dapat mempengaruhi permeabilitas dengan berinteraksi dengan pelarut yang mengikat hidrogen. Senyawa dengan banyak ikatan hidrogen akseptor maka akan cenderung hidrofilik sehingga mudah larut dalam cairan tubuh (Indah Kurnia Klara et al., 2023).

Parameter selanjutnya yaitu jumlah donor ikatan hidrogen dihitung dengan mengetahui jumlah gugus NH dan OH dari rumus struktur (Sahu et al., 2022). Jumlah ikatan hidrogen donor yang tinggi dalam suatu senyawa dapat membentuk interaksi dengan molekul pelarut dan pada akhirnya akan menghambat kemampuan senyawa menembus membran lipid dan mencapai target farmakologisnya. Jumlah ikatan hidrogen donor dalam jumlah tinggi dalam suatu senyawa dapat membentuk interaksi dengan molekul pelarut melalui ikatan hidrogen (Indah Kurnia Klara et al., 2023).

Tabel 4. Jumlah Ikatan Hidrogen Donor senyawa uji dan ligan

No	Nama senyawa	Jumlah ikatan hidrogen donor
1	Kavikol	1
2	Hidroksikavikol	2
3	Kuersetin	5
4	Prosianidin	10
5	Gosipin	9
6	Brazilin	4
7	Daclatasvir	4

Berdasarkan hasil yang diperoleh pada **Tabel 4**, senyawa prosianidin dan gosipin tidak memenuhi aturan Lipinski karena jumlah ikatan hidrogen donor lebih dari 5. Sementara itu, untuk senyawa lainnya yaitu kuersetin, brazilin, hidroksikavikol, kavikol dan ligan daclatasvir telah memenuhi aturan Lipinski.

Selanjutnya yaitu tahap optimasi geometri yang dilakukan terhadap senyawa uji untuk memperoleh konformasi struktur yang paling stabil. Optimasi geometri ini dilakukan menggunakan *software Gaussview* dan *Gaussian* dengan menggunakan metode DFT (*Density Functional Theory*) dan potensial fungsional teori B3LYP pada basis set 3-21G.

Parameter untuk optimasi geometri yaitu energi total dan selisih HOMO-LUMO. Energi total yang rendah mengindikasikan bahwa konformasi struktur tersebut berada dalam keadaan stabil (Diana, et.al., 2022). HOMO (*Highest Occupied Molecular Orbital*) adalah orbital molekul tertinggi yang masih mengandung elektron. LUMO (*Lowest Unoccupied Molecular Orbital*) adalah orbital molekul terendah yang belum terisi elektron dalam suatu molekul (Fakih et al., 2022).

Tabel 5. Data Energi Total

No	Nama Senyawa	Energi Total ΔE (kkal/mol)
1	Kavikol	-421,845
2	Hidroksikavikol	496,647
3	Kuersetin	-1098,103
4	Prosianidin	2124,945
5	Gosipin	1780,282
6	Brazilin	-988,748

Berdasarkan hasil **Tabel 5**, diantara senyawa uji tersebut nilai energi total yang paling baik adalah senyawa kuersetin dengan nilai -1098,103. Senyawa yang stabil cenderung mempertahankan bentuk optimal saat berada dalam lingkungan biologis, sehingga akan berpotensi untuk meningkatkan afinitas terhadap target virus. Struktur yang lebih stabil memungkinkan untuk mempertahankan bentuk aktifnya saat berinteraksi dengan target biologis seperti protein virus hepatitis C.

Tabel 6. Data HOMO-LUMO

No	Nama Senyawa	HOMO	LUMO	HOMO-LUMO
1	Kavikol	-0,21295	0,00278	0,21573
2	Hidroksikavikol	-0,20187	0,01093	0,2128
3	Kuersetin	-0,20027	-0,07156	0,12871
4	Prosianidin	-0,19034	-0,01952	0,17082
5	Gosipin	-0,20417	-0,07181	0,13236
6	Brazilin	-0,19975	-0,00365	0,1961

Molekul dengan *energy gap* yang kecil cenderung lebih reaktif dan memiliki potensi besar untuk berinteraksi dengan target biologis (Lidya Tesalonika et al., 2024). Berdasarkan hasil pada **Tabel 6**, senyawa dengan nilai selisih HOMO-LUMO yang paling baik adalah senyawa kuersetin karena memiliki nilai selisih HOMO-LUMO terkecil yaitu sebesar 0,12871.

Tabel 7. Ukuran *Grid Box*, *Grid Center* dan Spasing (Angstrom) pada protein NS5A

Ukuran <i>Grid Box</i>			Ukuran <i>Grid Center</i>			Spasing (Angstrom)
x	y	z	x	y	z	
32	24	28	-12,672	-23,695	22,276	1,000

Tabel 8. Hasil simulasi *docking* protein NS5A terhadap senyawa uji dan ligan alami

No	Senyawa uji	Energi Bebas Ikatan (kkal/mol)	Konstanta Inhibisi (μ M)
1	Kavikol	-4,3	701,00
2	Hidroksikavikol	-4,6	422,200
3	Kuersetin	-7,0	7,326
4	Prosianidin	-7,9	1,604
5	Gosipin	-7,4	3,726
6	Brazilin	-6,8	102,70
7	Daclatasvir	9,1	0,211

Tabel 9. Interaksi Antara Senyawa Uji, Ligan Alami dengan protein NS5A

Residu Asam amino	Senyawa						
	Kavikol	Hidroksikavikol	Kuersetin	Prosianidin	Gosipin	Brazilin	Daclatasvir
PHE C:7	4,24	4,65				4,31; 5,31	
PHE C:7		4,91					
VAL A: 8						2,67	
VAL C: 8		3,37		5,42			
SER A: 9				1,91			3,59
CYS A: 10		2,01; 2,02					
GLN A: 11				2,14			2,47
GLN A: 11				3,39			
ARG A: 12				4,03			2,16
ARG A: 12			3,75	4,55	4,91	4,84; 5,02; 5,41	4,65
ARG A: 15			4,86				
ARG A: 15			3,01				
ARG D: 15			5,32		5,5		
HIS A: 29							3,87; 4,77
MET D: 43					2,6		
ILE D: 45					2,06		
ARG C: 49			2,06; 2,41		2,53		3,04
ARG C: 49					3,50; 4,34		4,23
ARG C: 49					1,4		
ARG C: 49					5,14		
ARG A: 52				2,15		2,13	2,71
SER D: 56			1,86		2,12		
ASN A: 62							2,17
GLU A: 123				4,15			
ARG A: 128				5,24			
ARG A: 128				2,11; 2,30			

Keterangan:

	: Hidrogen Karbon
	: Hidrogen
	: Hidrofobik Pi-Alkil
	: Hidrofobik Pi-Pi

	: Hidrofobik Pi-sigma
	: Elketrokstatik
	: Halogen
	: Tidak Ada Interaksi
	: Tidak menguntungkan positif-positif

Berdasarkan **Tabel 8**, menunjukkan bahwa senyawa uji dengan nilai energi bebas ikatan (ΔG) yang paling rendah adalah prosianidin dengan nilai $-7,9$ kkal/mol dengan konstanta inhibisi sebesar $1,604 \mu\text{M}$. Semakin negatif nilai energi bebas ikatan (ΔG) maka nilai konstanta inhibisi akan semakin kecil. Jika nilai energi bebas ikatan (ΔG) semakin rendah, maka interaksi antara ligan dan reseptor akan semakin baik serta pengikatannya akan semakin stabil (Pitaloka et al., 2023).

Berdasarkan hasil *docking* ligan alami daclatasvir pada **Tabel 9**, didapatkan 10 residu asam amino yang berikatan diantaranya terdapat lima ikatan hidrogen (GLNA: 11, ARG A: 12, ARG C: 49, ARG A: 52, ASN A: 62) dan 5 ikatan hidrofobik (SER A: 9, ARG A: 12, HIS A: 29, HIS A: 29 dan ARG C: 49). Asam amino tersebut digunakan sebagai acuan untuk membandingkan residu asam amino yang berikatan antara senyawa uji dengan reseptor. Terdapat kesamaan residu asam amino antara senyawa uji dengan reseptor daclatasvir yaitu residu asam amino ARG A: 12, ARG C: 49, SER A: 9, ARG A: 12 dan ARG C: 49. Dengan demikian, senyawa uji kuersetin, prosianidin, gosipin dan brazilin diprediksi memiliki aktivitas yang sama dengan ligan alami daclatasvir.

Tahap selanjutnya yaitu pengujian toksisitas yang dilakukan terhadap senyawa uji yaitu kavikol, hidroksikavikol, kuersetin, prosianidin, gosipin dan brazilin menggunakan *software Toxtree-v3.1.0.1851*.

Tabel 10. Pengujian Toksisitas

Nama Senyawa	<i>Cramer Ruler</i>	<i>Kroes TTC Decision Tree</i>	<i>Begigni/bossa rulerbase</i>
Kavikol	Rendah (Kelas I)	Resiko yang sangat kecil (probabilitas rendah dari resiko kanker seumur hidup 1 dalam 10^6)	Peringatan struktural untuk karsinogenisitas genotoksik dan negatif untuk karsinogenisitas nongenotoksik
Hidroksikavikol	Rendah (Kelas I)	Resiko yang sangat kecil (probabilitas rendah dari resiko kanker seumur hidup 1 dalam 10^6)	Peringatan struktural untuk karsinogenisitas genotoksik dan negatif untuk karsinogenisitas nongenotoksik
Kuersetin	Tinggi (Kelas III)	Senyawa tidak diharapkan menjadi masalah keamanan	Negatif untuk karsinogenisitas genotoksik dan nongenotoksik
Prosianidin	Tinggi (Kelas III)	Senyawa tidak diharapkan menjadi masalah keamanan	Negatif untuk karsinogenisitas genotoksik dan nongenotoksik
Gosipin	Tinggi (Kelas III)	Senyawa tidak diharapkan menjadi masalah keamanan	Negatif untuk karsinogenisitas genotoksik dan s nongenotoksik
Brazilin	Tinggi (Kelas III)	Senyawa tidak diharapkan menjadi masalah keamanan	Negatif untuk karsinogenisitas genotoksik dan nongenotoksik

Tujuan dilakukannya pengujian toksisitas adalah untuk memprediksi keamanan suatu zat dengan melihat risiko yang muncul dari suatu senyawa. *Cramer rules* merupakan tingkatan toksisitas yang dapat ditentukan dari gugus fungsi senyawa. *Kroes TTC Decision Tree* adalah algoritma berbasis struktur kimia untuk mengklasifikasikan suatu zat dan menentukan ambang batas paparan harian (*daily intake*) serta risiko kesehatan dari zat tersebut apakah dapat diabaikan atau sangat rendah. *Begigni/bossa rulerbase* adalah pengujian yang digunakan untuk memprediksi karsinogenitas pada senyawa uji dan memiliki tujuan untuk mengetahui senyawa yang dapat menyebabkan terjadinya kanker (Fakih et al., 2022).

Berdasarkan **Tabel 10**, menunjukkan bahwa senyawa kavikol dan hidroksikavikol termasuk ke dalam kelas I dalam uji *cramer rules*. Sementara itu, untuk senyawa kuersetin, prosianidin, gosipin dan brazilin termasuk ke dalam kelas III dalam uji *Cramer rules*. Hal tersebut menunjukkan senyawa tersebut memiliki potensi toksisitas yang tinggi atau signifikan. Untuk parameter *Kroes TTC Decision Tree*, senyawa kavikol dan hidroksikavikol termasuk ke dalam zat yang memiliki resiko sangat kecil (probabilitas rendah dari resiko kanker seumur hidup 1 dalam 10^6) sehingga dapat dikategorikan memiliki tingkat keamanan tinggi. Sementara itu, untuk senyawa kuersetin, prosianidin, gosipin dan

brazilin termasuk dalam senyawa yang tidak diharapkan menjadi masalah keamanan dan dikategorikan memiliki tingkat keamanan sangat tinggi. Untuk parameter *Begigni/bossa rulerbase* menunjukkan bahwa senyawa kavikol dan hidroksikavikol terdapat peringatan struktural untuk karsinogenisitas genotoksik dan negatif untuk karsinogenisitas nongenotoksik. Sementara itu, untuk senyawa kuersetin, prosianidin, gossipin dan brazilin menunjukkan hasil negatif untuk karsinogenisitas genotoksik dan nongenotoksik. Karsinogen genotoksik adalah zat kimia yang menimbulkan karsinogenisitas melalui induksi mutasi. Sebaliknya karsinogen nongenotoksik menyebabkan kanker melalui mekanisme selain mutasi (Nohmi, 2018).

Tabel 11. Hasil prediksi profil ADMET menggunakan pKCSM

Nama Senyawa	Penyerapan usus (%)	Permeabilitas Caco2 (log Papp in 10 ⁻⁶ cm/s)	VDss (log L/kg)	CYP2D6	Klirens total (log ml/min/kg)	Toksistas Ames
Kavikol	93,411	1,607	0,465	Tidak	0,257	Tidak
Hidroksikavikol	92,09	1,676	0,477	Tidak	0,206	Tidak
Kuersetin	77,207	-0,229	1,559	Tidak	0,407	Tidak
Prosianidin	55,527	0,131	0,193	Tidak	-0,058	Tidak
Gosipin	29,553	-1,379	1,708	Tidak	0,29	Tidak
Brazilin	94,651	0,259	0,686	Tidak	0,083	Ya

Berdasarkan **Tabel 11**, seluruh senyawa uji memiliki tingkat penyerapan usus yang baik (>30%), dengan kavikol dan hidroksikavikol menunjukkan permeabilitas Caco-2 tinggi (>0,90), menandakan kemampuan optimal melewati epitel usus. Sementara itu, kuersetin, prosianidin, gosipin, dan brazilin memiliki permeabilitas rendah, yang dapat membatasi penyerapan. Parameter Volume Distribusi pada *Steady State* (VDss) menunjukkan seluruh senyawa memiliki nilai >0,45, yang berarti senyawa lebih banyak terdistribusi ke jaringan dibanding tetap dalam plasma, sehingga berpotensi memberikan efek farmakologis yang luas.

Enzim metabolik CYP2D6 tidak berinteraksi dengan seluruh senyawa uji, menunjukkan bahwa senyawa ini tidak dimetabolisme secara signifikan melalui jalur tersebut dan cenderung stabil secara metabolik. Untuk klirens total, kuersetin memiliki nilai tertinggi (0,407 ml/min/kg) yang menandakan eliminasi cepat, sedangkan brazilin dan prosianidin memiliki nilai terendah, menunjukkan retensi yang lebih lama di dalam tubuh.

Parameter toksistas ames menunjukkan bahwa hanya brazilin yang bersifat mutagenik dan berpotensi karsinogenik, sementara kavikol, hidroksikavikol, kuersetin, prosianidin, dan gosipin termasuk kategori aman tanpa sifat mutagenik.

D. Kesimpulan

Berdasarkan hasil analisis data yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan berdasarkan *Lipinski's Rule of Five*, senyawa uji telah memenuhi aturan kecuali untuk senyawa prosianidin dan brazilin. Kemudian berdasarkan nilai ΔE , senyawa uji dengan nilai energi total yang paling baik adalah senyawa kuersetin dengan nilai energi total sebesar -1098,103 dengan selisih HOMO-LUMO sebesar 0,12871. Untuk nilai energi bebas ikatan (ΔG), senyawa uji prosianidin memiliki nilai energi bebas ikatan (ΔG) terendah untuk protein NS5A yaitu -7,9 kkal/mol dengan konstanta inhibisi 1,604 μ M. Dengan demikian, senyawa tersebut berpotensi besar sebagai antivirus hepatitis C dibanding senyawa uji lainnya. Kemudian berdasarkan hasil toksistas terdapat senyawa yang memiliki toksistas kelas tinggi sehingga tidak menjamin terhadap keamanannya, akan tetapi berada dalam ambang batas paparan dengan resiko paparan yang rendah dan tidak menyebabkan karsinogenik dan mutagenisitas kecuali untuk senyawa brazilin. Untuk parameter ADMET, senyawa kavikol dan hidroksikavikol menunjukkan profil ADMET terbaik.

Ucapan Terimakasih

Dengan segala hormat penulis mengucapkan terima kasih kepada seluruh civitas akademika Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Bandung

(FMIPA UNISBA), yang telah memberikan dukungan, bimbingan, serta fasilitas selama proses penelitian ini berlangsung.

Daftar Pustaka

- Alhawaris. (2019). Hepatitis C: Epidemiologi, Etiologi, dan Patogenitas. *Jurnal Sains Dan Kesehatan*, 2(2), 139–150. <https://doi.org/10.25026/jsk.v2i2.132>
- Andi Wilda Angraini, Muhammad Asri SR, & Widya Ariati. (2024). FORMULASI SEDIAAN SERUM DARI EKSTRAK ETANOL DAUN NANGKA (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) SEBAGAI ANTIJERAWAT TERHADAP *Propionibacterium acnes*. *Jurnal Ilmiah Farmasi Farmasyifa*, 7(2), 132–146. <https://doi.org/10.29313/jiff.v7i2.3033>
- Burstow, N. J., Mohamed, Z., Gomaa, A. I., Sonderup, M. W., Cook, N. A., Waked, I., Spearman, C. W., & Taylor-Robinson, S. D. (2017). Hepatitis C treatment: Where are we now? In *International Journal of General Medicine* (Vol. 10, pp. 39–52). Dove Medical Press Ltd. <https://doi.org/10.2147/IJGM.S127689>
- Dasiman, R., Nor, N. M., Eshak, Z., Mutalip, S. S. M., Suwandi, N. R., & Bidin, H. (2022). A review of procyanidin: Updates on current bioactivities and potential health benefits. In *Biointerface Research in Applied Chemistry* (Vol. 12, Issue 5, pp. 5918–5940). AMG Transcend Association. <https://doi.org/10.33263/BRIAC125.59185940>
- Fakih, T. M., Putri, N. W. R. P., Marillia, V., Ramadhan, D. S. F., & Darusman, F. (2022). Identifikasi Aktivitas Biologis, Prediksi Toksisitas, dan Molecular Docking Senyawa Jubanine dari Tanaman Bidara Arab sebagai Kandidat Antivirus SARS-CoV-2. *Jurnal Riset Kimia*, 13(1), 111–121. <https://doi.org/10.25077/jrk.v13i1.437>
- Fauziah Supyan, A., Lina Rahmawati Rizkulloh, & Salsabila Adlina. (2025). Aktivitas Antioksidan dan Evaluasi Mutu Fisik Sediaan Serum Wajah Ekstrak Etanol Daun Kelengkeng (*Dimocarpus logan* L.). *Jurnal Ilmiah Farmasi Farmasyifa*, 8(2), 72–82. <https://doi.org/10.29313/jiff.v8i2.6988>
- Indah Kurnia Klara, Purwono, R. M., & Achmadi, P. (2023). Analisis In Silico Senyawa Flavonoid Kayu Secang (*Caesalpinia sappan* L.) pada Reseptor α -Amilase Sebagai Antihiperlipidemia. *Acta VETERINARIA Indonesiana*, 11(3), 210–219. <https://doi.org/10.29244/avi.11.3.210-219>
- Kao, C., Surjit, M., & Ranjith-Kumar, C. T. (2021). Editorial: Viral Hepatitis: Pathophysiology, Prevention, and Control. In *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* (Vol. 11). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.633580>
- KEPUTUSAN MENTERI KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA. (n.d.).
- Lidya Tesalonika, Manurung, T. W., & Mokhamat Ariefin. (2024). Pemodelan Molekul untuk Pengaplikasian Senyawa Anti-UV dari Senyawa Kuersetin Menggunakan Pendekatan Semi Empiris. *Jurnal Sains Dan Edukasi Sains*, 7(2), 128–135. <https://doi.org/10.24246/juses.v7i2p128-135>
- Manne, V., Ryan, J., Wong, J., Vengayil, G., Basit, S. A., & Gish, R. G. (2021). Hepatitis c vaccination: Where we are and where we need to be. In *Pathogens* (Vol. 10, Issue 12). MDPI. <https://doi.org/10.3390/pathogens10121619>

- Nirmal, N. P., Rajput, M. S., Prasad, R. G. S. V., & Ahmad, M. (2015). Brazilin from *Caesalpinia sappan* heartwood and its pharmacological activities: A review. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 8(6), 421–430. <https://doi.org/10.1016/j.apjtm.2015.05.014>
- Nohmi, T. (2018). Thresholds of genotoxic and non-genotoxic carcinogens. *Toxicological Research*, 34(4), 281–290. <https://doi.org/10.5487/TR.2018.34.4.281>
- Novilia, L., Harahap, U., & Hasibuan, P. A. Z. (2018). Evaluation of hepatoprotective effect of ethanolic extract from red betel (*Piper crocatum* ruiz and pav.) leaves. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 11(7), 248–250. <https://doi.org/10.22159/ajpcr.2018.v11i7.25542>
- Nur, S., Putra, P., Garna, H., & Rizki Akbar, M. (n.d.). *Hubungan Indeks Massa Tubuh, Kualitas Tidur, dan Tekanan Darah dengan Tingkat Stres Karyawan Pabrik PT Primastra Sandang Lestari Bandung Tahun 2022*. <https://journals.sangkuriangpublisher.com/pharmacomedic>
- Pitaloka, A. D., Nurhijriah, C. Y., Musyaffa, H. A., & Azzahra, A. M. (2023). Molecular Docking of Chemical Constituents of Dayak Onion (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr) towards VHR Receptors as Candidates for Cervical Anticancer Drugs. *Indonesian Journal of Biological Pharmacy*, 3(2), 83–95.
- Pramudiska, R. V., Amartya, A. N., Yolanda, D. K., Mumtazah, Z., & Palupi, B. (2023). Extraction of Flavonoid Compounds from Red Betel Leaves (*Piper Crocatum*) Using Ultrasound-Assisted Extraction (UAE) Method. *Journal of Biobased Chemicals*, 3(2), 124–145. <https://doi.org/10.19184/jobc.v3i2.395>
- Prayitno, S. A., Kusnadi, J. K., & Murtini, E. S. (2018). Karakteristik (Total Flavonoid, Total Fenol, Aktivitas Antioksidan) Ekstrak Serbuk Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.). *FOODSCITECH*, 1(2), 26. <https://doi.org/10.25139/fst.v1i2.1355>
- Purnamasari, A., Zelviani, S., Fuadi Jurusan Fisika Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar Jl Sultan Alauddin No, N., & Selatan, S. (n.d.). *ANALISIS NILAI ABSORBANSI KADAR FLAVONOID TANAMAN HERBAL MENGGUNAKAN SPEKTROFOTOMETER UV-VIS*.
- Sahu, V. K., Singh, R. K., & Singh, P. P. (2022). Extended Rule of Five and Prediction of Biological Activity of peptidic HIV-1-PR Inhibitors. *Trends Journal of Sciences Research*, 1(1), 20–42. <https://doi.org/10.31586/ujpp.2022.403>
- Shorobi, F. M., Nisa, F. Y., Saha, S., Chowdhury, M. A. H., Srisuphanunt, M., Hossain, K. H., & Rahman, M. A. (2023). Quercetin: A Functional Food-Flavonoid Incredibly Attenuates Emerging and Re-Emerging Viral Infections through Immunomodulatory Actions. In *Molecules* (Vol. 28, Issue 3). MDPI. <https://doi.org/10.3390/molecules28030938>
- Zakaryan, H., Arabyan, E., Oo, A., & Zandi, K. (2017). Flavonoids: promising natural compounds against viral infections. In *Archives of Virology* (Vol. 162, Issue 9, pp. 2539–2551). Springer-Verlag Wien. <https://doi.org/10.1007/s00705-017-3417-y>