

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Padi (*Oryza sativa* L.) merupakan salah satu sumber pangan pokok yang sangat melimpah di Indonesia dan beragam jenis baik tanaman maupun berasnya. Jenis beras tersebut, antara lain beras putih (*Oryza sativa* L.), beras merah (*Oryza nivara*) dan beras hitam (*Oryza sativa* Indica). Beras putih (*Oryza sativa* L.) pada umumnya banyak dimanfaatkan sebagai makanan pokok dan diolah menjadi nasi. Beras putih memiliki sedikit aleuron dengan kandungan amilosanya sekitar 20%. Beras merah (*Oryza nivara*) merupakan bahan pangan pokok di Indonesia selain beras putih. Beras merah telah diuji memiliki nilai yang baik untuk kesehatan dibandingkan beras putih. Kandungan beras merah yaitu karbohidrat, lemak, protein, serat, mineral, antosianin dan lainnya. Antosianin pada beras merah merupakan pigmen yang berwarna merah, pigmen tersebut terdapat pada pericarp dan tegmen (lapisan kulit) beras dan pula pada setiap bagian gabah. Beras hitam (*Oryza sativa* Indica) merupakan beras yang berwarna ungu pekat dan mempunyai kadar serat sebesar 7,5% dan 5,8%. Warna pada beras hitam terdapat pada pericarp dan endosperm yang menunjukkan bahwa beras hitam memiliki kandungan antosianin sama halnya dengan beras merah. Beberapa laporan menyatakan bahwa beras memiliki kandungan nilai kesehatan tinggi berdasarkan senyawa bioaktif yang berpotensi sebagai antioksidan (Suliantini dkk, 2011).

Varietas beras berpigmen mengandung beberapa senyawa bioaktif sebagai antioksidan berupa asam fenolik, flavonoid, tokoferol, tokotrienol, antosianin, proantosianidin, γ -oryzanol dan asam fitat. Senyawa bioaktif yang menyebabkan pigmen pada beras adalah antosianin dan proantosianidin. Protoantosianidin atau tanin terkondensasi adalah kelas senyawa fenolik polimer yang terdiri dari unit flavon-3-ol (katekin, epikatekin, dan 3-O-galat dan epigalat). Jenis antosianin yang terdapat pada beras merah maupun beras hitam adalah *cyanidin-3-glucoside* dan *peonidin-3-glucoside* (Goufo dan Trindade 2013).

Radikal bebas adalah suatu molekul yang relatif tidak stabil dengan atom yang pada orbit terluarnya memiliki (1) satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan, sehingga molekul tersebut menjadi tidak stabil dan menjadi radikal

bebas (Robins, 2007). Radikal bebas tersebut banyak terdapat pada lingkungan seperti sinar ultra violet (UV), asap rokok, radiasi, polusi dari kendaraan maupun pabrik, pestisida, obat-obatan dan berbagai sumber radikal bebas lainnya. Efek yang dihasilkan dari radikal bebas yaitu dapat menyebabkan kerusakan pada tingkat biomolekul (misalnya lipid, protein, DNA) dan berpotensi menimbulkan penyakit seperti kanker, aterosklerosis, diabetes dan berbagai penyakit *degenerative* pada manusia (Prawirodiharjo, 2014). Salah satu cara untuk mencegah adanya reaksi stres oksidatif adalah dengan mengetahui aktivitas enzim antioksidan seperti myeloperoksidase, superoksida dismutase, dan glutathion peroksidase terhadap senyawa-senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan seperti vitamin C, vitamin E, kuersetin dan lainnya merupakan antioksidan bahan alam, yang apabila dalam jumlah kecil jika dibandingkan dengan zat yang dioksidasi mampu menghambat atau memperlambat oksidasi secara bermakna (Suhartono, 2016).

Myeloperoksidase (MPO) adalah enzim antioksidan yang mengandung heme disekresi oleh sel-sel fagosit setelah adanya aktivasi dari mekanisme *respiratory burst* yaitu peningkatan langsung kebutuhan oksigen yang tinggi. MPO berperan pada subspecies leukosit termasuk neutrofil dan juga makrofag dalam plasma sehingga enzim MPO dapat mengkatalis *reactive oxidant species* atau radikal bebas (Suhartono, 2016).

Superoksida dismutase (SOD) adalah enzim antioksidan yang dihasilkan oleh rantai transport elektron pada rantai pernapasan sel yang menghasilkan hidrogen peroksida. Superoksida dismutase terdiri dari MnSOD dalam mitokondria dan CuZn SOD dalam sitosol. Fungsi enzim superoksida dismutase adalah memberikan perlindungan terhadap kemungkinan efek superoksida yang merusak organisme (Suhartono, 2016).

Glutathion peroksidase (GPx) adalah enzim antioksidan yang mengandung selenium dengan mekanismenya yaitu dapat mengkatalis perubahan hidrogen peroksida dan oksigen yang dibentuk oleh enzim SOD didalam sitosol dan mitokondria (Indrayati, 2014).

Metode *in silico* menggunakan teknik *docking*, diperlukan enzim atau reseptor yang bertanggung jawab pada aktivitas didalam tubuh. Setelah bioinformatika berkembang, data-data protein yang sudah dianalisa dapat diakses

oleh siapapun, baik data sekuen asam amino-nya maupun struktur 3D yang tersedia, salah satunya di *Protein Data Bank* (PDB). Enzim antioksidan yang digunakan pada penelitian diperoleh dari *Protein Data Bank* (PDB) antara lain: 5FIW (myeloperoksidase), 5YTO (superoksida dismutase) dan 2F8A (glutation peroksidase) berdasarkan *homo sapiens*, *crystal* dan *non mutans*. Ketiga enzim tersebut merupakan reseptor penghambat aktivitas radikal bebas sehingga dapat dilihat interaksi atau kecocokan antara reseptor maupun ligan senyawa uji apakah dapat berikatan secara kompetitif dalam mengurangi atau mencegah oksidasi sel. Pada penelitian sebelumnya oleh Mumpuni Esti tahun 2019 “Skrining Virtual dan Elusidasi Senyawa dalam Bawang Putih (*Alium sativum* L.) sebagai Penghambat Reseptor *Advanced Glycation End Product*”, penambatan molekul menggunakan *software* YASARA sebagai preparasi ligan dan protein target, *MarvinSketch* sebagai aplikasi yang menggambarkan struktur dua dimensi (2D) dari hasil preparasi ligan dan protein, PLANTS sebagai simulasi *docking* dari senyawa uji dan senyawa pembanding dan VMD sebagai visualisasi senyawa representatif dan reseptornya dalam bentuk tiga dimensi (3D) terhadap senyawa uji dan senyawa pembanding yaitu vitamin C, vitamin E dan kuersetin serta senyawa-senyawa lain yang mengandung flavonoid. 20 senyawa uji yaitu: *Tocotrienol*, *Oryzanol I*, *Oryzanol II*, *A- Oryzanol I*, *A- Oryzanol II*, *A- Oryzanol III*, *C- Oryzanol I*, *C- Oryzanol II*, *Gamma- Oryzanol I*, *Gamma- Oryzanol II*, *Gamma- Oryzanol III*, *Gamma- Oryzanol IV* dan *Gamma- Oryzanol V* belum diketahui aktivitas antioksidan dengan menggunakan protein target sebagai ligan (5FIW, 5YTO, 2F8A). Analisis *in silico* dapat memberikan gambaran untuk mengetahui aktivitas antioksidan yang mempengaruhi mekanisme kerja beberapa enzim, sehingga dapat dilakukan penelitian lebih lanjut secara *in vitro* dan *in vivo* seperti melakukan percobaan terhadap hewan uji, pemanfaatan nutrasetikal dan lainnya.

Metode *in vitro* dan *in vivo* lazim digunakan dalam proses penemuan obat. Komputer menawarkan metode *in silico*, yakni suatu metode yang menggunakan kemampuan komputer dalam merancang senyawa kimia dalam berbagai komplemen dari metode *in vitro* dan *in vivo*. Pendekatan penapisan virtual (*virtual screening*) dapat digunakan dalam mengidentifikasi senyawa-senyawa aktif dengan target tertentu, dimana dapat diketahui pula moda ikatannya. Penapisan virtual

merupakan penapisan menggunakan protokol tervalidasi yang biasanya bergantung pada *docking* maupun kemiripan farmakofor. Ilmu statistik digunakan untuk menilai manfaat dan akurasi protokol penapisan virtual. Simulasi *docking* molekul sering digunakan sebagai acuan pencarian senyawa aktif yang terdapat dalam *SBVS* (*Structure- Based Virtual Screening*). Pendekatan secara virtual dalam penemuan suatu senyawa khususnya berasal dari bahan alam yang berpotensi sebagai antioksidan, lebih aman, efektif dan memenuhi efikasi, menjadi alternatif dengan waktu yang relatif lebih cepat, yakni suatu penelitian kimia yang mengurangi atau menghilangkan penggunaan zat kimia.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah 20 senyawa dari 3 jenis varietas beras yaitu beras putih (*Oryza sativa* L.), beras hitam (*Oryza sativa* Indica), dan beras merah (*Oryza nivara*) memiliki aktivitas antioksidan pada reseptor (Myeloperoksidase, Superoksida dismutase, Glutation peroksidase), dengan menggunakan protein target sebagai ligan (5FIW, 5YTO, 2F8A) ?
2. Bagaimana visualisasi ikatan molekul antara senyawa yang aktif sebagai antioksidan dengan reseptor dan ligan yang digunakan tersebut ?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Mendapatkan kandidat senyawa dalam berbagai varietas beras (*Oryza sativa* L.) yang memiliki aktivitas antioksidan dengan *molecular docking* dan menganalisis selektivitas senyawa dalam berbagai varietas beras (*Oryza sativa* L.) terhadap enzim antioksidan dengan protein target (5FIW, 5YTO, 2F8A).
2. Memvisualisasikan ikatan secara molekuler kandidat senyawa dalam berbagai varietas beras (*Oryza sativa* L.) yang memberikan aktivitas antioksidan pada sisi aktif reseptor.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Memberikan informasi mengenai mekanisme kerja dan memodelkan interaksi senyawa dalam berbagai varietas beras (*Oryza sativa* L.) secara *in silico*.
2. Mengetahui aktivitas senyawa dalam berbagai varietas beras (*Oryza sativa* L.) sebagai enzim antioksidan dengan protein target (5FIW,5YTO, 2F8A).