

Bab I

Pendahuluan

1.1 Latar Belakang

Seiring dengan meningkatnya jumlah penyakit akibat radikal bebas dan infeksi bakteri yang terjadi di negara berkembang sebagai penyebab salah satu masalah kematian di Indonesia (Wahyono, 2007). Permasalahan dalam pemakaian antibiotik yang tidak tepat serta karena paparan mikroorganisme pada tubuh menjadi pemicu terjadinya penyakit. Sebagai contoh terjadinya resistensi bakteri. Resistensi terjadi sebagai akibat dari pemakaian antibiotik yang tidak tepat dosis, macam dan lama pemberian (Brahma & Marak, 2012). Sedangkan penyakit infeksi disebabkan karena jenis patogen dan faktor risiko yang menyertainya (Dye, 2015).

Salah satu penyakit yang perlu diperhatikan adalah penyakit degeneratif. Untuk mengatasi dan mencegah stres oksidatif, maka diperlukan antioksidan (Werdhasari, 2014). Oleh karena itu, di dalam tubuh memiliki sistem pertahanan terhadap radikal bebas yaitu antioksidan endogen intrasel yang terdiri dari enzim-enzim seperti glutathione peroxidase, katalase, superoksida dismutase dan (Sanmugapriya & Venkataraman, 2006). Namun, apabila jumlah radikal bebas berlebihan maka aktivitas enzim-enzim diatas menurun, sehingga diperlukan antioksidan eksogen untuk menetralkan efek radikal bebas (Astuti, 2008). Namun masyarakat masih khawatir oleh bahaya dari antioksidan produk sintetik. Oleh sebab itu, diperlukan eksplorasi sumber antioksidan secara alami, yaitu berasal dari bagian-bagian tanaman.

Uji *in silico* dapat dilakukan dengan cara melakukan *docking* molekul, dimana metode ini akan memprediksi aktivitasnya pada sel target. *Docking* merupakan cara untuk menyamakan antara ligan dari molekul kecil ke dalam sel target dari molekul protein besar (Jensen, 2007). Pengujian *in silico* dapat menghasilkan nilai *Rerank Score* (RS) atau energi ikatan. Dalam membentuk ikatan antara ligan dan reseptor maka dibutuhkan energi ikatan. Semakin kecil energi ikatan maka semakin stabil ikatan

tersebut, sehingga semakin besar pula aktivitasnya (Hardjono, 2012). Berdasarkan penelitian sebelumnya telah diketahui bahwa *molecular docking* dapat melakukan *skrining* senyawa dan mengkalkulasi ikatan terkuat antara protein target dan senyawa bioaktif. Terdapat 2 aspek penting dalam *molecular docking*, yaitu penggunaan algoritma dan fungsi *scoring*. Penggunaan algoritma berfungsi sebagai penentu konformasi (*docking pose*) yang paling stabil dari pembentukan kompleks (Leach, 2017). Sedangkan fungsi *scoring* berperan sebagai penentu jumlah afinitas ikatan antara makromolekul dengan ligan. Kedua aspek ini merupakan salah satu cara untuk mengeksplorasi dua molekul sebagai contoh obat dengan enzim target yang saling berikatan. Ligan dapat berikatan dengan reseptor tertentu. Interaksi antara reseptor dengan ligan dapat diidentifikasi dengan program *docking*.

Indonesia memiliki kekayaan alam terbesar di dunia yaitu 30.000 spesies diantaranya 7.500 spesies sudah diketahui manfaat herbalnya (Munadi, 2017). Tanaman teh-tehan (*Acalypha siamensis*) atau ribang adalah tanaman bercabang termasuk semak, daunnya dijadikan sebagai pagar dan digunakan untuk makanan kambing. Masyarakat masih belum mengetahui manfaat lain dari penggunaan tanaman tersebut. Pada penelitian sebelumnya, tanaman teh-tehan (*Acalypha siamensis*) mengandung senyawa fenolik dan flavonoid (Pertiwi, 2018). Hasil penelitian terdahulu tentang potensi tanaman teh-tehan (*Acalypha siamensis*) masih terbatas pada tingkat ekstrak dan masih belum diketahui aktivitas dari senyawa spesifiknya. Oleh karena itu, diperlukan penelitian yang lebih lanjut untuk menemukan senyawa aktif spesifik dari tanaman ini.

Penelitian ini dilakukan untuk memperoleh isolat senyawa aktif yang berfungsi sebagai antibakteri dan antioksidan dalam ekstrak etanolik daun teh-tehan (*Acalypha siamensis*) serta aktivitasnya melalui uji *in silico*. Pengujian aktivitas antioksidan dapat diketahui oleh nilai IC_{50} . Sedangkan pengujian aktivitas antibakteri dapat diketahui dengan nilai KBM dan KHM. Pengujian secara *in silico* dilakukan dengan melakukan desain senyawa, preparasi protein dengan ligan menggunakan program Chemdraw ultra 8.0, kemudian dilakukan pencarian sisi aktif sehingga akan memberikan Energi Ikatan. kemudian dilakukan *docking* menggunakan PyRx dimana program ini

bertujuan untuk memprediksi interaksi/ikatan antara ligan dan protein. Dari hasil *docking* tersebut akan memberikan nilai RMSD. Hasil akhir akan divisualisasikan dengan menggunakan software Discovery Studio 4.0 Hasil akhir sintesis yang diperoleh diuji kemurniannya dan diidentifikasi menggunakan teknik elusidasi struktur. Dengan demikian, diharapkan penelitian ini dapat memberikan manfaat berupa penggunaan isolat tanaman teh-tehan (*Acalypha siamensis*) sebagai antioksidan dan antibakteri serta pendekatan aktivitasnya melalui uji *in silico*.

1.2 Identifikasi Masalah

Seiring dengan meningkatnya jumlah penyakit akibat radikal bebas dan infeksi bakteri sehingga dibutuhkan usaha untuk menemukan senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan dan antibakteri. Senyawa dengan aktivitas antioksidan, antibakteri dapat ditemukan pada bahan alam, terutama yang mengandung senyawa golongan alkaloid, flavonoid, dan terpenoid. Daun teh-tehan (*Acalypha siamensis*) merupakan tumbuhan Indonesia yang memiliki khasiat obat, tetapi hanya diteliti ekstraknya dan belum ada informasi mengenai senyawa aktif yang spesifik. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk melakukan identifikasi jenis senyawa aktif yang memiliki aktivitas antioksidan, antibakteri dan pendekatan aktivitas melalui uji *in silico*.

1.3 Batasan Masalah

Isolasi senyawa aktif dalam penelitian ini dilakukan dengan batasan masalah sebagai berikut:

1. Tumbuhan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun teh-tehan (*Acalypha siamensis*) yang diambil dari halaman Universitas Ma Chung (7°57'26.3"S112°35'20.6"E), Kota Malang, Jawa Timur.
2. Ekstrak yang digunakan dalam proses isolasi diperoleh melalui ekstraksi dengan metode maserasi dan pelarut metanol.
3. Fraksinasi dan isolasi dalam penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode ekstraksi cair-cair dan kromatografi lapis tipis preparatif.

4. Penampisan aktivitas antioksidan dan antibakteri dari fraksi dilakukan dengan metode bioautografi hingga diperoleh suatu senyawa tunggal.
5. Uji aktivitas antibakteri isolat aktif dilakukan dengan penentuan nilai Kadar Hambat Minimum dan Kadar Bunuh Minimum pada bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.
6. Uji aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan reagen DPPH.
7. Uji aktivitas *in silico* dilakukan pada protein *superoxide dismutase* (SOD), *glutathione peroxidase* (GPX), *peptidoglycan glycosyltransferase* (PGT) dan *D-alanyl-D-alanine carboxypeptidase* (DACA) dengan melakukan penambatan molekul (*molecular docking*).
9. Uji kemurnian isolat dilakukan dengan metode kromatografi lapis tipis 2 dimensi.
10. Karakterisasi isolat aktif dilakukan dengan menggunakan reagen semprot dan instrumen yang meliputi: spektrofotometer UV-Vis, spektrofotometer inframerah, spektrometer massa, serta spektrometer $^1\text{H-NMR}$ dan $^{13}\text{C-NMR}$.

1.4 Perumusan Masalah

Dari latar belakang diatas dapat diperoleh rumusan masalah sebagai berikut :

1. Bagaimana rumus struktur dari isolat aktif antioksidan dan antibakteri dari ekstrak daun teh-tehan (*Acalypha siamensis*)?
2. Bagaimana aktivitas antioksidan dari isolat ekstrak daun teh-tehan (*Acalypha siamensis*)?
3. Bagaimana aktivitas antibakteri dari isolat ekstrak teh-tehan (*Acalypha siamensis*) terhadap bakteri Gram positif dan Gram negatif
4. Bagaimana aktivitas uji *in silico* dari isolat ekstrak daun teh-tehan (*Acalypha siamensis*) terhadap protein SOD,GPX, PGT dan DACA?

1.5 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Identifikasi rumus struktur dari isolat aktif antioksidan, antibakteri dan pendekatan *in silico* dari ekstrak daun teh-tehan (*Acalypha siamensis*).

2. Menguji aktivitas antioksidan dari isolat ekstrak daun teh-tehan (*Acalypha siamensis*).
3. Menguji aktivitas antibakteri dari isolat ekstrak daun teh-tehan (*Acalypha siamensis*) terhadap bakteri Gram positif dan Gram negatif.
4. Menguji aktivitas uji *in silico* dari isolat ekstrak daun teh-tehan (*Acalypha siamensis*) terhadap protein SOD,GPX, PGT dan DACA.

1.6 Luaran

Penelitian ini diharapkan mampu menghasilkan artikel ilmiah yang dapat dipublikasikan dalam jurnal internasional bereputasi.

1.7 Manfaat

1.7.1 Manfaat Umum

Penelitian ini diharapkan mampu menghasilkan informasi dan pengetahuan baru tentang potensi penggunaan suatu isolat aktif dari daun teh-tehan (*Acalypha siamensis*) sebagai antioksidan dan antibakteri alternatif.

1.7.2 Manfaat Khusus

1. Mengetahui rumus struktur dari isolat aktif antibakteri, antioksidan, dan pendekatan *in silico* dari ekstrak daun teh-tehan (*Acalypha siamensis*).
2. Mengetahui aktivitas antioksidan dari isolat aktif ekstrak daun teh-tehan (*Acalypha siamensis*).
3. Mengetahui aktivitas antibakteri dari isolat aktif ekstrak daun teh-tehan (*Acalypha siamensis*) terhadap bakteri Gram positif dan Gram negatif.
4. Mengetahui aktivitas uji *in silico* dari isolat ekstrak daun teh-tehan (*Acalypha siamensis*) terhadap protein SOD,GPX, PGT dan DACA.

1.8 Sistematika Penulisan

Karya tulis ini terdiri atas 5 bagian, yaitu pendahuluan, tinjauan pustaka, metode penelitian, hasil dan pembahasan, serta penutup. Berikut merupakan garis besar isi dari masing-masing bagian:

Bab I : Pendahuluan

Bab ini menjelaskan mengenai hal-hal yang melatarbelakangi penelitian, identifikasi masalah, batasan masalah, perumusan masalah, tujuan, luaran, manfaat, dan sistematika penulisan karya tulis ini.

Bab II : Tinjauan Pustaka

Bab ini menjelaskan hasil pembelajaran secara teoritis terhadap topik-topik yang akan dikaji dalam penelitian ini. Topik-topik yang dibahas pada bagian ini meliputi tumbuhan daun teh-tehan, pemisahan senyawa metode kromatografi, analisis struktur senyawa dengan berbagai metode spektroskopi, uji antibakteri, uji antioksidan, uji *in silico*, dan penambatan molekul.

Bab III : Metode Penelitian

Bagian metodologi berisi pemaparan peralatan, bahan, dan runtutan prosedur kerja yang akan dilakukan.

Bab IV : Hasil dan Pembahasan

Bagian hasil dan pembahasan berisi data-data hasil penelitian beserta dengan hasil interpretasinya berdasarkan pada hasil kajian teoritis yang telah dilakukan.

Bab V : Penutup

Bagian penutup berisi simpulan dari hasil penelitian dan saran yang dapat dilakukan dalam penelitian berikutnya.