

## BAB I

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang

Rosela, juga dikenal sebagai *Flore de Jamaica* (dalam bahasa Spanyol), *red sorrel* (dalam bahasa Inggris), atau *karkadé* (dalam bahasa Arab), adalah tanaman tahunan dari genus *Hibiscus* (Keluarga Malvaceae) (Izquierdo-Vega *et al.*, 2020). Salah satu jenis yang paling sering digunakan adalah *Hibiscus sabdariffa* Linn, dikenal dengan nama ambasthika dalam teks kedokteran India kuno. Tanaman ini juga dikenal sebagai rosela atau coklat kemerah-merahan ('*Gongura*' dalam bahasa Hindi) (Abat *et al.*, 2017).

Rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.) memiliki sejarah penggunaan yang panjang di berbagai negara, termasuk Indonesia (Izquierdo-Vega *et al.*, 2020). Secara tradisional, daun, kelopak bunga, mahkota bunga, atau bunga utuh digunakan untuk beberapa pengobatan, antara lain sebagai diuretik, pencahar ringan, dan untuk pengobatan penyakit ginjal, jantung, serta hati (Abat *et al.*, 2017). Beberapa penelitian ilmiah telah menegaskan kemampuannya sebagai antibakteri (Isnaeni *et al.*, 2020), antioksidan, antidiabetes, antilipidemik, antihipertensi, hepatoprotektif, dan lain-lain (Izquierdo-Vega *et al.*, 2020).

Antioksidan sangat dibutuhkan oleh tubuh untuk mengurai dan menekan pelepasan radikal bebas agar jumlahnya terkendali. Hal ini dibutuhkan karena radikal bebas yang tinggi dan berkelanjutan memiliki efek berbahaya pada homeostasis sel, struktur, dan fungsi serta mengakibatkan stres oksidatif (Alfadda dan Sallam, 2012). Kerusakan oksidatif pada biomolekul besar seperti lipid, DNA, dan protein dapat meningkatkan resiko penyakit kardiovaskular, kanker-kanker tertentu, penuaan (Zhang *et al.*, 2015), diabetes mellitus dan komplikasi diabetes (Alfadda dan Sallam, 2012), serta neurodegeneratif, seperti penyakit Alzheimer dan Parkinson (Brieger *et al.*, 2012).

Ekstrak daun, kelopak bunga, dan bunga rosela memiliki efek pembersihan pada radikal bebas (Abat *et al.*, 2017). Beberapa penelitian secara *in vitro* dan *in vivo* telah menunjukkan bahwa ekstrak air dan etanol bunga, biji, atau daun rosela memiliki aktivitas antioksidan yang kuat (Da-Costa-Rocha *et al.*, 2014). Hasil penelitian Obouayeba *et al.* (2015) dan Frank *et al.* (2012) juga menunjukkan bahwa konsumsi ekstrak air kelopak bunga rosela dapat membantu memperkuat kapasitas antioksidan pada tikus dan manusia. Ekstrak air kelopak bunga rosela ini memiliki aktivitas

antioksidan total tertinggi dibanding bagian tanaman yang lain (Mohd-Esa *et al.*, 2010). Aktivitas antioksidan ekstrak kelopak bunga rosela diketahui lebih tinggi dibandingkan asam askorbat (Kouakou *et al.*, 2015), *butylated hydroxytoluene* (BHT) (Mohd-Esa *et al.*, 2010), dan vitamin E (Hirunpanich *et al.*, 2005).

Aktivitas antioksidan dari suatu senyawa atau ekstrak dapat diketahui dengan melakukan berbagai pengujian, salah satu di antaranya adalah uji aktivitas penghambatan terhadap reaksi yang dikatalisis oleh xantin oksidase (Alam *et al.*, 2013). Xantin oksidase adalah enzim yang mengkatalisis oksidasi hipoksantin menjadi xantin dan kemudian menjadi asam urat. Dalam reaksi tersebut juga dilepaskan spesies oksigen reaktif (ROS) secara bersamaan (Serrano *et al.*, 2020). Ekstrak kelopak bunga rosela diketahui dapat menghambat reaksi yang dikatalisis oleh xantin oksidase secara *in vitro* (Wahyuningsih *et al.*, 2016). Aktivitas antioksidan ekstrak kelopak bunga rosela tersebut disebabkan oleh senyawa-senyawa kimia yang terkandung, terutama senyawa polifenol (Riaz dan Chopra, 2018). Senyawa polifenol, seperti senyawa flavonoid dan asam fenolat, diduga dapat berinteraksi dengan xantin oksidase sehingga dapat menjadi penghambat kompetitif dari reaksi yang dikatalisis oleh xantin oksidase (Liu *et al.*, 2020 dan Serrano *et al.*, 2020).

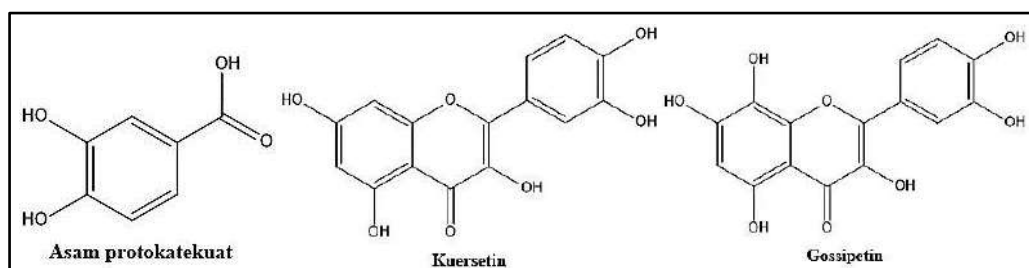
Berbagai studi fitokimia telah memvalidasi bahwa ekstrak air dan pelarut organik kelopak bunga rosela kaya akan asam fenolat, flavonoid (termasuk antosianin), dan asam organik (Izquierdo-Vega *et al.*, 2020). Penelitian Nkumah *et al.* (2015) menunjukkan bahwa ekstrak kelopak bunga rosela kering mengandung tanin (17,0%), saponin (0,96%), fenol (1,1%), glikosida (0,13%), alkaloid (2,14%), dan flavonoid (20,08%). Selain itu, Emelike *et al.* (2014) juga menunjukkan bahwa ekstrak air kelopak bunga rosela kering mengandung alkaloid 0,27%, tannin 0,158%, flavonoid 0,43%, fenol 0,26%, dan saponin 0,009%. Obouayeba *et al.* (2015) juga menunjukkan bahwa ekstrak air kelopak bunga rosela kering mengandung senyawa polifenol yang terdiri dari 20% asam fenolat dan 80% flavonoid. Dari ketiga penelitian tersebut dapat diketahui bahwa senyawa flavonoid menunjukkan persentase terbesar dibandingkan kandungan senyawa yang lain.

Menurut penelitian Obouayeba *et al.* (2015), senyawa-senyawa golongan flavonoid yang terkandung dalam ekstrak air kelopak bunga rosela kering utamanya adalah subkelompok antosianin (delfinidin-3-O-glukosida dan sianidin-3-O-glukosida) dan subkelompok flavonol (gossipetin dan kuersetin). Menurut penelitian Kouakou *et al.* (2015) dan Ramirez-Rodrigues *et al.* (2011), antosianin utama dalam ekstrak

kelopak bunga rosela adalah sianidin-3-O-sambubiosida dan delphinidin-3-O-sambubiosida. Senyawa kuersetin dalam ekstrak kelopak bunga rosela terdapat dalam bentuk aglikon dan glikosida. Bentuk glikosida dari kuersetin yang ada pada ekstrak kelopak bunga rosela dalam jumlah yang tinggi adalah kuersetin-3-rutinosida (Izquierdo-Vega *et al.*, 2020). Selain senyawa golongan flavonoid, senyawa golongan asam fenolat juga terdapat dalam ekstrak air kelopak bunga rosela dalam jumlah yang tinggi, di antaranya asam protokatekuat (Obouayeba *et al.*, 2015) dan asam-3-kaffeoilkuinat (99,94 – 142,18 mg/L) (Ramirez-Rodrigues *et al.*, 2011).

Sejauh ini, belum ada yang menyebutkan senyawa apa dalam ekstrak air kelopak bunga rosela yang menunjukkan aktivitas antioksidan melalui penghambatan terhadap reaksi yang dikatalisis oleh xantin oksidase. Oleh karena itu, untuk mengetahui senyawa yang memiliki potensi sebagai antioksidan dilakukan studi interaksi senyawa-senyawa dalam ekstrak air kelopak bunga rosela secara *in silico* melalui *docking* molekul terhadap xantin oksidase (PDB ID: 3NVY). Protein dengan kode 3NVY adalah struktur kristalografi sinar X xantin oksidase pertama dari mamalia yang mengandung ligan kuersetin, yang termasuk dalam golongan senyawa flavonoid (Cao *et al.*, 2014). Secara *in vitro* (Huang *et al.*, 2011), *in vivo* (Kostić *et al.*, 2015), dan *in silico* (Cao *et al.*, 2014), senyawa kuersetin dapat berinteraksi dengan xantin oksidase sehingga dapat menjadi penghambat kompetitif pada reaksi yang dikatalisis oleh xantin oksidase. Oleh karena itu, kuersetin digunakan sebagai senyawa pembanding.

Senyawa yang diuji adalah 10 senyawa dari golongan flavonoid dan asam fenolat yang memiliki persentase tinggi dalam ekstrak air kelopak bunga rosela, yaitu delphinidin dan sianidin dalam bentuk aglikon dan glikosida (sambubiosida dan glukosida), kuersetin-3-rutinosida, gossipetin, asam protokatekuat, dan asam-3-kaffeoilkuinat. Senyawa delphinidin, sianidin, dan gossipetin memiliki struktur mirip dengan senyawa pembanding kuersetin. Sedangkan asam protokatekuat dan asam-3-kaffeoilkuinat termasuk dalam senyawa golongan asam fenolat yang memiliki gugus hidroksil pada cincin benzena, gugus yang berperan dalam aktivitas antioksidan dan interaksi dengan xantin oksidase (Liu *et al.*, 2020 dan Serrano *et al.*, 2020).



**Gambar 1.1** Struktur senyawa asam protokatekuat, kuersetin, dan gossipetin

*Docking* molekul atau penambatan molekul adalah prosedur komputasional untuk mempelajari interaksi antara molekul obat sebagai ligan dengan reseptor dan memprediksi energi interaksinya. Proses komputasi bertujuan mencari konformasi ligan yang sesuai dengan reseptor secara geometris melalui penghitungan energi interaksi molekul untuk memprediksi afinitas ikatan ligan-reseptor berdasarkan skor *docking*, yaitu nilai energi bebas interaksi ligan-reseptor. Semakin rendah nilai energi bebas, maka semakin stabil interaksi antara ligan dengan reseptor dan semakin besar aktivitas senyawa. Dengan simulasi *docking* dapat diketahui gambaran aktivitas senyawa sebelum senyawa diisolasi dan disintesis sehingga dapat meminimalisir faktor coba-coba (*trial and error*) yang akan memakan waktu, energi, serta biaya yang dibutuhkan (Meng *et al.*, 2011 dan Siswandono, 2016).

Selain harus memiliki aktivitas tinggi terhadap reseptor, senyawa obat juga harus memiliki sifat fisikokimia, farmakokinetika, dan toksisitas yang memenuhi syarat (Siswandono, 2016). Oleh karena itu, senyawa yang potensial sebagai antioksidan dalam ekstrak air kelopak bunga rosela perlu ditelusuri sifat fisikokimia, farmakokinetika, dan toksisitasnya. Untuk sifat-sifat farmakokinetika dan toksisitas dalam studi pengembangan obat sering disingkat sebagai ADMET (absorpsi, distribusi, metabolisme, ekskresi, dan toksisitas). Sebagai calon obat yang akan digunakan secara oral, maka senyawa diprediksi mudah diabsorpsi dan permeasi pada membran baik jika memiliki sifat fisikokimia yang memenuhi syarat Hukum Lima Lipinski, yaitu mempunyai berat molekul  $\leq 500$ ; nilai logaritma koefisien partisi oktanol/air ( $\log P$ )  $\leq +5$ ; *Hydrogen Bond Donors* (HBD), yang dinyatakan dengan jumlah gugus O-H dan N-H,  $\leq 5$ ; dan *Hydrogen Bond Acceptors* (HBA), yang dinyatakan dengan jumlah atom O dan N,  $\leq 10$  (Lipinski *et al.*, 1997). Pertimbangan farmakokinetika dan toksisitas dapat dilakukan pada tahap awal penemuan obat menggunakan metode berbasis komputer, sehingga biaya penelitian relatif lebih rendah dan waktu yang digunakan dalam

penelitian relatif lebih cepat, jika dibandingkan dengan pendekatan eksperimental standar untuk profil ADMET (Ntie-Kang, 2013).

Senyawa yang terpilih sebagai senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan dalam penelitian ini adalah senyawa yang memiliki nilai energi bebas interaksi ligan-xantin oksidase yang lebih rendah dibandingkan dengan kuersetin-xantin oksidase dan profil ADMET yang memenuhi syarat berdasarkan situs pkCSM *online* secara *in silico*.

## 1.2 Rumusan Masalah

- 1) Senyawa-senyawa apa di antara 10 senyawa terpilih dalam ekstrak air kelopak bunga rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.) yang memiliki potensi sebagai antioksidan berdasarkan interaksinya dengan xantin oksidase secara *in silico*?
- 2) Apakah senyawa-senyawa yang aktif terhadap xantin oksidase secara *in silico* mempunyai profil ADMET yang memenuhi persyaratan berdasarkan situs pkCSM *online*?

## 1.3 Tujuan Penelitian

- 1) Menentukan senyawa-senyawa dalam ekstrak air kelopak bunga rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.) yang memiliki potensi sebagai antioksidan berdasarkan interaksinya dengan xantin oksidase secara *in silico*.
- 2) Memprediksi profil ADMET menggunakan pkCSM *online* untuk senyawa-senyawa dalam ekstrak air kelopak bunga rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.) yang aktif terhadap xantin oksidase secara *in silico*.

## 1.4 Manfaat Penelitian

### 1.4.1 Manfaat Bagi Peneliti

Penelitian ini bermanfaat bagi peneliti untuk mendapatkan informasi tentang senyawa dalam ekstrak air kelopak bunga rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.) yang memiliki potensi sebagai antioksidan paling tinggi melalui interaksinya dengan xantin oksidase secara *in silico*.

### 1.4.2 Manfaat Bagi Peneliti Selanjutnya

Penelitian ini bermanfaat bagi peneliti selanjutnya untuk mendapatkan informasi yang dapat digunakan sebagai petunjuk dalam isolasi, modifikasi struktur, dan pengembangan calon obat baru dari senyawa bioaktif dalam ekstrak air kelopak bunga rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.) yang menghasilkan aktivitas antioksidan melalui interaksinya dengan xantin oksidase.

#### **1.4.3 Manfaat Bagi Masyarakat**

Penelitian ini bermanfaat bagi masyarakat untuk memberikan informasi bahwa ekstrak air kelopak bunga rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.) mengandung senyawa-senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan sehingga ekstrak air (rebusan atau seduhan) kelopak bunga rosela dapat dimanfaatkan untuk tujuan kesehatan.