

UJI *IN SILICO* DAN *IN VITRO* PIGMEN WARNA

***Spirulina platensis* SEBAGAI KANDIDAT ANTIOKSIDAN ALAMI**

SKRIPSI

Diajukan untuk Memenuhi Sebagian dari Syarat Memperoleh Gelar Sarjana Sains
Program Studi Kimia



Oleh :

Dea Rachmania Saprudin

1500165

PROGRAM STUDI KIMIA

DEPARTEMEN PENDIDIKAN KIMIA

FAKULTAS PENDIDIKAN MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS PENDIDIKAN INDONESIA

BANDUNG

2019

UJI *IN SILICO* DAN *IN VITRO* PIGMEN WARNA

Spirulina platensis SEBAGAI KANDIDAT ANTIOKSIDAN ALAMI

Oleh:

Dea Rachmania Saprudin

Sebuah skripsi yang diajukan untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana Sains pada Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

© Dea Rachmania Saprudin

Universitas Pendidikan Indonesia

Agustus 2019

Hak Cipta dilindungi undang-undang

Skripsi ini tidak boleh diperbanyak seluruhnya atau sebagian, dengan dicetak ulang, difotokopi, atau cara lainnya tanpa izin dari penulis

HALAMAN PENGESAHAN

DEA RACHMANIA SAPRUDIN

UJI *IN SILICO* DAN *IN VITRO* PIGMEN WARNA
Spirulina platensis SEBAGAI KANDIDAT ANTIOKSIDAN ALAMI

disetujui dan disahkan oleh pembimbing :

Pembimbing I,



Heli Siti Halimatul Munawaroh, M.Si., PhD.
NIP. 197907302001122002

Pembimbing II,



Gun Gun Gumilar, S.Pd., M.Si.
NIP. 197906262001121001

Mengetahui,

Ketua Departemen Pendidikan Kimia,



Dr. Hendrawan, M.Si.
NIP.196310291987031001

ABSTRAK

Antioksidan berperan penting dalam menjaga keseimbangan jumlah radikal bebas dalam tubuh yang dapat menyebabkan penyakit degeneratif. Produksi antioksidan dalam tubuh menurun seiring bertambahnya usia sehingga perlu asupan antioksidan dari luar tubuh. *Spirulina platensis* mengandung pigmen-pigmen yang berperan sebagai antioksidan namun interaksi molekuler dari pigmen tersebut belum banyak diketahui. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui interaksi molekuler dan evaluasi *in vitro* aktivitas antioksidan pigmen-pigmen *Spirulina platensis*. Penelitian ini dilakukan uji *in silico* untuk mengetahui potensi pigmen-pigmen tersebut terhadap enzim-enzim yang berperan dalam jalur antioksidan dalam tubuh serta evaluasi *in vitro* untuk mengetahui aktivitas antioksidannya. Uji *in silico* dilakukan menggunakan metode *molecular docking*, sedangkan evaluasi *in vitro* menggunakan metode DPPH. Hasil uji *in silico* menunjukkan bahwa fikosianin, karoten dan klorofil dapat berinteraksi dengan sisi aktif dari enzim *glutathione peroxide* dan *superoxide dismutase*. Klorofil memiliki kestabilan yang lebih baik untuk berinteraksi dengan enzim *glutathione peroxide* dengan energi paling rendah sebesar -6,7 kkal/mol dibandingkan karoten. Pada enzim *superoxide dismutase* klorofil juga menunjukkan kestabilan yang baik dengan energi sebesar -7,3 kkal/mol. Fikosianin memiliki kestabilan yang baik untuk berinteraksi dengan enzim *superoxide dismutase* dibandingkan *glutathione peroxidase* sebesar -85.59 kkal/mol. Uji antioksidan menunjukkan bahwa pigmen-pigmen *Spirulina platensis* memiliki aktivitas antioksidan untuk meredam radikal DPPH. Aktivitas antioksidan fikosianin, ekstrak kasar karoten dan klorofil menghasilkan persen pemerangkapan DPPH secara berurut turut sebesar 44,3%; 37,2%; dan 48,4%. Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan menunjukkan pigmen-pigmen *Spirulina platensis* memiliki interaksi molekuler terhadap enzim *glutathione peroxidase* dan *superoxida dismutase* serta aktivitas antioksidan sehingga dapat dijadikan antioksidan alami.

Kata Kunci: *Glutathione peroxide* , *Molecular docking*, Pigmen-pigmen *Spirulina*, *Superoxide dismutase*

ABSTRACT

Antioxidants have an important role in maintaining the balance free radicals in the body that can caused degenerative diseases. Production of antioxidant in the body decreases with age, so need to consume antioxidants from outside. *Spirulina platensis* contains pigments that have potential as antioxidants, but molecular interactions of these pigments are non known well yet. This study aims to known molecular interactions and in vitro evaluation antioxidant activity pigments from *Spirulina platensis*. This study was conducted in silico test to known potential of these pigments against enzymes that play a role in antioxidant pathway in the body and in vitro evaluation to known it antioxidant activity. The in silico test uses molecular docking method while in vitro evaluation uses DPPH method. In silico test results showed that phycocyanin, carotene, and chlorophyll can interact with the active site of glutathione peroxide and superoxide dismutase enzymes. Chlorophyll have high stability to interaction with glutathione peroxide enzyme with lower energy of -6.7 kcal/mol compared to carotene. In the superoxide dismutase enzyme chlorophyll also show high stability with lower energy by -7.3 kcal/mol. Phycocyanin have high stability to interact with superoxide dismutase compared to glutathione peroxide of -85,59 kkal/mol. Antioxidant tests show that *Spirulina platensis* pigments have ability to scavange DPPH radical. Percent scavenging DPPH radical produce antioxidant activity by kneeling 44.3%; 37.2%; and 48.4%. Based on the results of research conducted showed *Spirulina platensis* pigments have molecular interactions with enzymes glutathione peroxidase and superoxide dismutase enzymes. This pigment also have antioxidant activity so they can be used as natural antioxidants.

Key Word: Spirulina pigments, Molecular docking, Glutathione peroxide, Superoxide dismutase

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR	i
UCAPAN TERIMA KASIH.....	ii
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR TABEL.....	viii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR LAMPIRAN.....	x
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	3
1.5 Struktur Organisasi Skripsi.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 <i>Spirulina platensis</i>	5
2.2 Pigmen <i>Spirulina platensis</i>	6
2.2.1 Fikosianin.....	6
2.2.2 Karotenoid	8
2.2.3 Klorofil.....	8
2.3 Stres Oksidatif	9
2.4 Antioksidan.....	11
2.4.1 Antioksidan Endogen.....	13
2.4.2 Penentuan Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH.....	15
2.5 <i>Molecular Docking</i>	16
2.5.1 <i>Docking</i> Protein-protein menggunakan PRISM	17
2.5.2 <i>Docking</i> Protein-ligan menggunakan Autodock Vina	17
BAB III METODOLOGI PENELITIAN.....	19
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	19
3.2 Alat.....	19

3.3	Bahan	19
3.4	Prosedur Penelitian	19
3.2.1	<i>Molecular Docking</i> Pigmen <i>Spirulina platensis</i> terhadap <i>Glutathione peroxidase</i> dan <i>Superoxide dismutase</i>	21
3.2.2	Uji Aktivitas Antioksidan Pigmen <i>Spirulina platensis</i>	24
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN		25
4.1	Prediksi Interaksi Molekuler Pigmen <i>Spirulina platensis</i> terhadap <i>Glutathione peroxide</i>	25
4.2	Prediksi Interaksi Molekuler Pigmen <i>Spirulina platensis</i> terhadap <i>Superoxide dismutase</i>	29
4.3	Aktivitas Antioksidan Pigmen <i>Spirulina platensis</i> menggunakan Metode DPPH.....	33
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....		38
5.1	Kesimpulan.....	38
5.2	Saran	38
DAFTAR PUSTAKA		39
LAMPIRAN-LAMPIRAN.....		45
RIWAYAT HIDUP.....		57

DAFTAR PUSTAKA

- Aftari, R. V., Rezaei, K., Bandani, A. R., & Mortazavi, A. (2017). Antioxidant activity optimisation of *Spirulina platensis* C-phycoyanin obtained by freeze-thaw, microwave-assisted and ultrasound-assisted extraction methods. *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods*, 9(1), 1-9.
- Baspinar, A., Cukuroglu, E., Nussinov, R., Keskin, O., & Gursoy, A. (2014). PRISM: a web server and repository for prediction of protein–protein interactions and modeling their 3D complexes. *Nucleic acids research*, 42(W1), W285-W289.
- Bharathiraja, S., Seo, H., Manivasagan, P., Santha Moorthy, M., Park, S., & Oh, J. (2016). In vitro photodynamic effect of phycocyanin against breast cancer cells. *Molecules*, 21(11), 1470.
- Budhi, K., Soemantri, A., Aminullah, A., & Suhartono, S. (2013). Kadar Antioksidan Rendah Meningkatkan Risiko Hemolisis pada Sepsis Neonatus. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, 26(3), 180-184.
- Chu, Wan-Loy, et al. (2010). Protective effect of aqueous extract from *Spirulina platensis* against cell death induced by free radicals. *BMC complementary and alternative medicine* 10.1 (2010): 53.
- de Moraes, M. G., da Fontoura Prates, D., Moreira, J. B., Duarte, J. H., & Costa, J. A. V. (2018). Phycocyanin from microalgae: Properties, extraction and purification, with some recent applications. *Industrial Biotechnology*, 14(1), 30-37.
- e Silva, E. F., Figueira, F. S., Cañedo, A. D., Machado, K. S., Salgado, M. T. S. F., Silva, T. K., ... & Ferreira, V. U. (2018). C-phycoyanin to overcome the multidrug resistance phenotype in human erythroleukemias with or without interaction with ABC transporters. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 106, 532-542.

- Ferruzzi, M. G., & Blakeslee, J. (2007). Digestion, absorption, and cancer preventative activity of dietary chlorophyll derivatives. *Nutrition research*, 27(1), 1-12.
- Gershwin, M. E., & Belay, A. (Eds.). (2007). *Spirulina in human nutrition and health*. CRC press.
- Harliansyah, H. (2011). Efek Penghambatan Gingerol Terhadap 8-Hidroksideoksiganosin (8-OhdG) Penginduksi Sel Kanker, HepG2. *Majalah Kesehatan Pharmamedika*, 3(2), 272-275.
- Hejazi, I. I., Khanam, R., Mehdi, S. H., Bhat, A. R., Rizvi, M. M. A., Islam, A., ... & Athar, F. (2017). New insights into the antioxidant and apoptotic potential of Glycyrrhiza glabra L. During hydrogen peroxide mediated oxidative stress: an in vitro and in silico evaluation. *Biomedicine & pharmacotherapy*, 94, 265-279.
- Henrikson, R. (2009). Earth food spirulina. *Laguna Beach, CA: Ronore Enterprises, Inc*, 187.
- Herman, R. (2019). Studi *in Silico* Lima Senyawa Aktif Sebagai Penghambat Protein Virus Dengue. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*, 40-47.
- Huey, R., Morris, G. M., & Forli, S. (2012). Using AutoDock 4 and AutoDock Vina with AutoDockTools: A Tutorial. *The Scripps Research Institute Molecular Graphics Laboratory*.
- Kang, Yu-Ra, et al. (2018). Synthesis, characterization, and functional properties of chlorophylls, pheophytins, and Zn-pheophytins. *Food chemistry* 245 (2018): 943-950.
- Karadag, A., Ozcelik, B., & Saner, S. (2009). Review of methods to determine antioxidant capacities. *Food analytical methods*, 2(1), 41-60.
- Koníčková, R., Vanková, K., Vaníková, J., Vánová, K., Muchová, L., Subhanová, I., ... & Strnad, H. (2014). Anti-cancer effects of blue-green alga *Spirulina platensis*, a natural source of bilirubin-like tetrapyrrolic compounds. *Annals of Hepatology*, 13(2), 273-283.

- Lanfer-Marquez, U. M., Barros, R. M., & Sinnecker, P. (2005). Antioxidant activity of chlorophylls and their derivatives. *Food Research International*, 38(8-9), 885-891.
- Li, X. L., Xu, G., Chen, T., Wong, Y. S., Zhao, H. L., Fan, R. R., ... & Chan, J. C. (2009). Phycocyanin protects INS-1E pancreatic beta cells against human islet amyloid polypeptide-induced apoptosis through attenuating oxidative stress and modulating JNK and p38 mitogen-activated protein kinase pathways. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 41(7), 1526-1535.
- Lukitaningsih, E., Wisnusaputra, A., & Sudarmanto, B. A. (2015). Scringing *in silico* active compound of pachyrrhizus erosus as antitirosinase on aspergillus oryzae (computattional study with homology modeling and molecular *docking*). *Majalah Obat Tradisional*, 20(1), 7-15.
- McCarty, M. F. (2007). “Iatrogenic Gilbert syndrome”—A strategy for reducing vascular and cancer risk by increasing plasma unconjugated bilirubin. *Medical hypotheses*, 69(5), 974-994.
- Morris, Garrett M., and Marguerita Lim-Wilby. (2008). Molecular docking : *Molecular modeling of proteins*. Humana Press, 2008. 365-382.
- Munifah, Ifah, and Thamrin Wikanta. (2006). Astaxanthin: Senyawa Antioksidan Karoten Bersumber dari Biota Laut. *Squalen Bulletin of Marine and Fisheries Postharvest and Biotechnology* 1.1 (2006): 1-5.
- Nimse, Satish Balasaheb, and Dilipkumar Pal. (2015). Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. *Rsc Advances* 5.35 (2015): 27986-28006.
- Noviardi, H., & Fachrurrazie, F. (2015). Potensi Senyawa Bullatalisin Sebagai Inhibitor Protein Leukotrien A4 Hidrolase Pada Kanker Kolon Secara *In Silico*. *Fitofarmaka/Jurnal Ilmiah Farmasi*, 5(2), 65-73.
- Nur, S., Rumiayati, R., & Lukitaningsih, E. (2017). Screening Of Antioxidants, Anti-Aging and Tyrosinase Inhibitory Activities Of Ethanolic And Ethyl

- Acetate Extracts Of Fruit Flesh And Fruit Peel Langsung (Lansium domesticum Corr) In Vitro. *Majalah Obat Tradisional*, 22(1), 63-72.
- Park, W., Kim, H. J., Li, M., Lim, D., Kim, J., Kwak, S. S., ... & Ahn, M. J. (2018). Two Classes of Pigments, Carotenoids and C-Phycocyanin, in Spirulina Powder and Their Antioxidant Activities. *Molecules*, 23(8), 2065.
- Pirenantyo, P., & Limantara, L. (2008). Pigmen Spirulina sebagai Senyawa Antikanker. *Indonesian Journal of Cancer*, 2(4).
- Prakash, A., Rigelhof, F., & Miller, E. (2001). Medallion laboratories analytical progress: Antioxidant activity. *J. DeVries, PhD (ed), Medallion Laboratories*, 19(2), 1-6.
- Rachmania, R. A., Supandi, S., & Larasati, O. A. (2015). Analisis In-Silico Senyawa Diterpenoid Lakton Herba Sambiloto (*Andrographis Paniculata* Nees) Pada Reseptor Alpha-Glucosidase Sebagai Antidiabetes Tipe II. *Pharmacy: Jurnal Farmasi Indonesia*, 12(02).
- Rodrigues, E., Mariutti, L. R., & Mercadante, A. Z. (2012). Scavenging capacity of marine carotenoids against reactive oxygen and nitrogen species in a membrane-mimicking system. *Marine drugs*, 10(8), 1784-1798.
- Santoso, B. (2011). Docking Analog Kurkumin Turunan Piperazindion Dengan Tubulin (1tub) Rantai Beta Menggunakan Vina Dan Autodock. *Pharmacon*, 12(01), 14-18.
- Saputri, K. E., Fakhmi, N., Kusumaningtyas, E., Priyatama, D., & Santoso, B. (2016). Docking Molekular Potensi Anti Diabetes Melitus Tipe 2 Turunan Zerumbon Sebagai Inhibitor Aldosa Reduktase Dengan Autodock-Vina. *Chimica et Natura Acta*, 4(1), 16-20.
- Sayuti, K., & Yenrina, R. (2015). Antioksidan alami dan sintetik. *Padang. Universitas Adalas*.
- Seo, Y., Choi, W., Park, J., Park, J., Jung, K. H., & Lee, H. (2013). Stable isolation of phycocyanin from *Spirulina platensis* associated with high-

- pressure extraction process. *International journal of molecular sciences*, 14(1), 1778-1787.
- Shanab, S. M. (2007). Antioxidant and antibiotic activities of some seaweeds (Egyptian isolates). *Int J Agric Biol*, 9(2), 220-225.
- Sun, Z., Liu, J., Zeng, X., Huangfu, J., Jiang, Y., Wang, M., & Chen, F. (2011). Astaxanthin is responsible for antiglycoxidative properties of microalga *Chlorella zofingiensis*. *Food chemistry*, 126(4), 1629-1635.
- Terao, J. (1989). Antioxidant activity of β -carotene-related carotenoids in solution. *Lipids*, 24(7), 659-661.
- Trott, O., & Olson, A. J. (2010). AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *Journal of computational chemistry*, 31(2), 455-461.
- Tuncbag, N., Gursoy, A., Nussinov, R., & Keskin, O. (2011). Predicting protein-protein interactions on a proteome scale by matching evolutionary and structural similarities at interfaces using PRISM. *Nature protocols*, 6(9), 1341.
- Urso, M. L., & Clarkson, P. M. (2003). Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation. *Toxicology*, 189(1-2), 41-54.
- Vonshak, A. (Ed.). (2014). *Spirulina platensis arthrospira: physiology, cell-biology and biotechnology*. CRC Press.
- Warsi, Any Guntarti. (2016). Aktivitas Penangkapan Radikal 2,2-Difenil-1-Pikrihidrazil (DPPH) Oleh Ekstrak Metanol of Red Paprika (*Capsicum annum*, L.). *Media Farmasi*, 13(1), 23-34.
- Werdhasari, A. (2014). Peran antioksidan bagi kesehatan. *Jurnal Biotek Medisiana Indonesia*, 3(2), 59-68.
- Widayati, E. (2012). Oksidasi biologi, radikal bebas, dan antioksidan. *Majalah Ilmiah Sultan Agung*, 50(128), 26-32.

- Widiastuti, Sri, Ahyar Ahmad, and Yusafir Hala. (2017). Potensi Co₂+ Terhadap Peningkatan Aktivitas Klorofil Sebagai Antioksi Dan Pada Alga Hijau *Halimeda discoidea*. Makasar:Universitas Hasanuddin.
- Widyastuti, N. (2010). Pengukuran Aktivitas Antioksidan dengan Metode CUPRAC, DPPH, dan FRAP serta Korelasinya dengan Fenol dan Flavonoid pada enam tanaman. *Departemen Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Bogor: IPB*.
- Wijaya, H., & Junaidi, L. (2011). Antioxidants: Mechanism of Action and Its Function in Human Body. *Warta Industri Hasil Pertanian*, 28(02), 44-55.
- Wijayanti, M. (2016). Produksi, isolasi dan karakterisasi superoksida dismutase dari *Spirulina platensis* yang dibiakkan dalam serum lateks. *E-Journal Menara Perkebunan*, 77(1).
- Wu, Q., Liu, L., Miron, A., Klímová, B., Wan, D., & Kuča, K. (2016). The antioxidant, immunomodulatory, and anti-inflammatory activities of *Spirulina*: an overview. *Archives of toxicology*, 90(8), 1817-1840.
- Wulansari, A. N. (2018). Alternatif Cantigi Ungu (*Vaccinium varigiaefolium*) Sebagai Antioksidan. *Farmaka*, 16(2).
- Yudiati, E., Sejati, S., Sunarsih, S., & Agustian, R. (2011). Aktivitas Antioksidan dan Toksisitas Ekstrak Metanol dan Pigmen Kasar *Spirulina* sp. *Ilmu Kelautan: Indonesian Journal of Marine Sciences*, 16(4), 187-192.