

Analisis Potensi Senyawa Alami Pada Cincau Hitam (*Mesona palustris* BL.) Sebagai Bahan Pangan Alami Pengganti *Lactose* Dengan Tekni *In Silico*

Nur Uswatul Khairah^{1*}, Mohamad Amin¹, Fatchur Rohman¹

¹Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Negeri Malang

*E-mail: nuruluswa8@gmail.com

Abstrak. Beberapa orang dapat mencerna berbagai produk yang mengandung *lactose* dengan baik, tetapi banyak pula yang tidak dapat melakukannya karena tidak toleran terhadap *lactose* (*intolerance lactose*). Salah satu cara mengatasi *intolerance lactose* adalah dengan mencari alternatif pengganti *lactose*. Bionformatika dengan menggunakan pendekatan *molecular docking* dapat dimanfaatkan untuk menjadi solusi persoalan *intolerance lactose*. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk memprediksi potensi senyawa alami pada cincau hitam (*mesona palustris* BL.) sebagai bahan pangan fungsional pengganti *lactose* dengan pendekatan *molecular docking*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai afinitas senyawa alami *mannan* lebih kecil daripada senyawa kontrol *lactose*, kemudian terdapat persamaan *site* pengikatan dan jenis pengikatan antara kedua senyawa alami dan senyawa kontrol, dan juga jarak pengikatan yang pendek, serta mekanisme kerja senyawa alami *mannan* mengindikasikan bahwa tanaman cincau hitam dengan senyawa alaminya efektif menjadi pangan fungsional pengganti *lactose*.

Kata Kunci: *Mesona palustris*; *Lactose*; Pangan Fungsional; *In Silico*

Abstract. Some people can digest all the products containing *lactose* well, but many people also cannot do it, due to the fact that they cannot tolerate *lactose* (*intolerance lactose*). One of the ways to overcome *intolerance lactose* is looking for the alternative of *lactose* substitute. Bionformatika by using the approach of *molecular docking* can be utilized to be solution of *intolerance lactose* problem. The purpose of this research is predicting natural compound potential in black grass jelly (*Mesona palustris* BL.) as functional foodstuff that changes *lactose* using . The result of research shows that the affinity value data of the natural *mannan* compound that is smaller than the compound of *lactose* control, there is the same binding *site* and binding among between both of natural compound and control compound, and also the short binding, and the mechanism of natural compound work of *mannam* that can overcome the problem of *the intolerance lactose* so that it indicates that the plant of black cincau with natural effective compound becomes the functional foodstuff replacing *lactose*.

Keywords: *Mesona palustris*; *Lactose*; Functional Foodstuf; *In Silico*

PENDAHULUAN

Lactose (laktosa) seperti yang terkandung didalam asi atau susu sapi yang hanya bisa dihasilkan khusus oleh mamalia merupakan bagian penting dalam proses pertumbuhan dan perkembangan. Proses cerna *lactose* didalam tubuh tidak dapat dilakukan secara langsung, sehingga diperlukan hidrolisis (pemecahan) terlebih dahulu menjadi komponen yang lebih kecil berupa glukosa dan galaktosa. Hidrolisis *lactose* membutuhkan enzim *lactase* agar dapat bekerja dengan baik. Aktivitas *lactase* dalam jumlah yang sedikit atau tidak ada sama sekali dapat

menyebabkan malabsorpsi *lactose* (Pediatri, 2001). *Lactose* untuk beberapa orang tidak dapat dikonsumsi karena ketidaktoleranan tubuhnya terhadap *lactose* (*intolerance lactose*) (Levri, et al., 2005). Hal serupa juga disebutkan dalam hasil penelitian yang menunjukkan bahwa kejadian *intolerance lactose* sudah melanda setidaknya 75% dari populasi dunia yang banyak ditemukan pada orang-orang Asia, Afrika, dan Amerika Selatan (Roy, 2011).

Beberapa cara alternatif untuk menangani masalah *intolerance lactose* adalah dengan melakukan diet *lactose* atau dengan mengganti *lactose* dengan asupan yang tidak mengandung banyak *lactose* (rendah *lactose*) (Wardana, 2013). Pemanfaatan senyawa alami pada tumbuhan untuk mengganti kerja *lactose* menjadi salah satu solusi yang dianggap baik karena jika menggunakan senyawa kimia, ditakutkan efek samping yang akan ditimbulkan jauh lebih beresiko dibanding dengan manfaat yang diharapkan (Karimi, et al., 2015).

Cincau hitam (*Mesona palustris*) atau tanaman yang lebih dikenal dengan nama janggolan adalah salah satu jenis tanaman tradisional Indonesia. Cincau hitam oleh masyarakat awam biasanya hanya diolah sebatas menjadikannya sebagai minuman segar penghilang dahaga. Widyarningsih (2015) melalui penelitiannya menyimpulkan bahwa tanaman cincau hitam tidak hanya dapat digunakan sebagai minuman segar, tetapi juga dapat dijadikan sebagai bahan pangan fungsional. Cincau hitam berdasarkan data, menjadi salah satu tanaman yang tidak banyak mengandung *lactose* atau rendah *lactose*. Selain itu cincau hitam memiliki senyawa-senyawa yang diprediksi dapat digunakan sebagai alternatif pengganti *lactose*. Proses pembuktian prediksi cincau hitam sebagai pangan fungsional pengganti *lactose* dilakukan dengan menggunakan bantuan bioinformatika, yang mendukung kemajuan teknologi khususnya dalam bidang keilmuan biologi yang berbasis teknologi (bioteknologi). Metode dalam penggunaan bioinformatika yang dapat dimanfaatkan pada bidang keilmuan biologi salah satunya adalah dengan menggunakan analisis *molecular docking* (Zhang et al., 2014). Analisis *molecular docking* merupakan teknologi yang memungkinkan *docking* senyawa dengan aktifitas biologis yang dikenal ke dalam situs yang mengikat seluruh struktur 3D dalam *database* protein tertentu (Zhang et al., 2014).

Berdasarkan tinjauan literatur yang ada, riset mengenai cincau hitam dengan menggunakan pendekatan ini belum banyak dilakukan sehingga informasi yang bisa didapat oleh masyarakat mengenai kegunaan cincau hitam sebagai pangan fungsional masih sangat kurang. Oleh karena itu peneliti ingin melakukan penelitian mengenai hal tersebut.

MATERIAL DAN METODE

Penelitian ini menggunakan senyawa alami cincau hitam yang dianalisis menggunakan *LC-MS*, senyawa kontrol dan protein target yang didapat dari database *online*. Penelitian ini merupakan penelitian yang bersifat deskriptif kuantitatif dan kualitatif dengan menghasilkan jenis

data yang sama. Jenis data kuantitatif berupa tingkat afinitas ikatan antara senyawa bioaktif cincau hitam dengan protein target, sedangkan data kualitatif berupa output hasil ikatan senyawa dengan protein target berdasarkan hasil *docking*.

Penelitian dimulai dengan mengidentifikasi senyawa alami pada cincau hitam yang dianalisis berdasarkan hasil *Liquid Chromatography Mass Spectrum* (LC-MS) kemudian dipilih dari komposisi senyawa dari yang terbesar ke yang terkecil. Senyawa yang telah dipilih selanjutnya dicari informasi dan struktur 3Dnya pada database *PubChem*. Langkah selanjutnya adalah mencari protein target dari senyawa alami pada cincau hitam dengan menggunakan beberapa database online seperti *PharmMapper*, *Swiss Target Prediction*, dan juga *SuperPred*. Protein target yang telah ditemukan kemudian dicari senyawa kontrolnya melalui database *DrugBank*. Semua data senyawa alami, senyawa kontrol dan protein target yang telah terkumpul divalidasi dengan pendekatan *molecular docking* menggunakan software *PyRx*, kemudian divisualisasikan menggunakan software *PyMOL*. Hasil validasi dan visualiasi kemudian dianalisis melalui kajian literatur.

HASIL

Hasil Identifikasi Kandungan Senyawa Alami pada Cincau Hitam (*Mesona palustris*) dengan *Liquid Chromatography-Mass Spectrum* (LC-MS)

Hasil uji *Liquid Chromatography-Mass Spectrum* (LC-MS) terhadap cincau hitam hitam (*Mesona palustris*), dapat diidentifikasi kurang lebih 54 senyawa alami. Pemilihan senyawa alami yang akan digunakan untuk proses *docking* dilakukan dengan mengurutkan komposisi senyawa dari yang terbesar ke yang terkecil. Hasil yang didapatkan adalah terdapat 5 senyawa dengan komposisi paling besar disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Senyawa pada Cincau Hitam Hasil LC-MS

No	Peak Number	Senyawa	Komposisi (%)
1	49	Mannan	5,06
2	54	Maltonaose	4,76
3	53	Maltooctaose	4,28
4	51	Maltopentaose	3,91
5	48	Narcissoside	3,69

Koleksi Struktur 2D dan 3D Senyawa Alami

Informasi mengenai identitas senyawa *Mannan* didapatkan dari *PubChem* yang tertera pada Tabel 2.

Tabel 2. Informasi tentang Senyawa *Mannan*

Nama	Mannan Mannans Mannoglycan
Rumus Molekul	C ₂₄ H ₄₂ O ₂₁
Nomor ID	25147451
Canonical Smile	C(C1C(C(C(C(O1)OC2C(OC(C(C2O)O)OC3C(OC(C(C3O)O)OC4C(OC(C(C4O)O)O)CO)CO)CO)O)O)O)O

(Sumber: PubChem)

Gambar 1. Struktur 3D Senyawa Alami *Mannan* divisualisasi menggunakan *Software PyMOL*

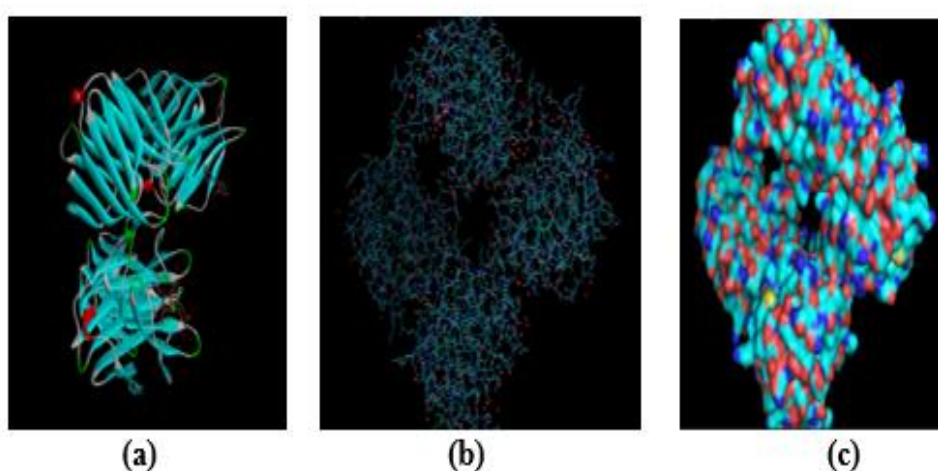
Analisis dan Hasil Prediksi Protein Target

Protein target dari senyawa *Mannan* diprediksi dengan menggunakan sejumlah *webserver* yaitu *SuperPred*, *Swiss Target Prediction*, dan *ChamMapper*. Berdasarkan *webserver* tersebut diatas ditemukan sejumlah protein yang dapat digunakan untuk proses *molecular docking* dengan senyawa alami *mannan*. Protein yang peneliti gunakan adalah protein yang ditemukan sama pada tiap *server* yang berbeda. Protein-protein tersebut dilampirkan pada Tabel 3.

Hasil proterin target untuk senyawa *Mannan* yang didapat menunjukkan bahwa terdapat dua protein yang sama pada ketiga *server* yang berbeda. Kedua protein tersebut kemudian diaplikasikan ke *software PyMOL*, ternyata hasilnya adalah hanya protein *galectin-8* yang dapat berikatan pada satu *site* yang sama dengan senyawa alami maupun dengan senyawa kontrol.

Tabel 3. Prediksi Protein Target

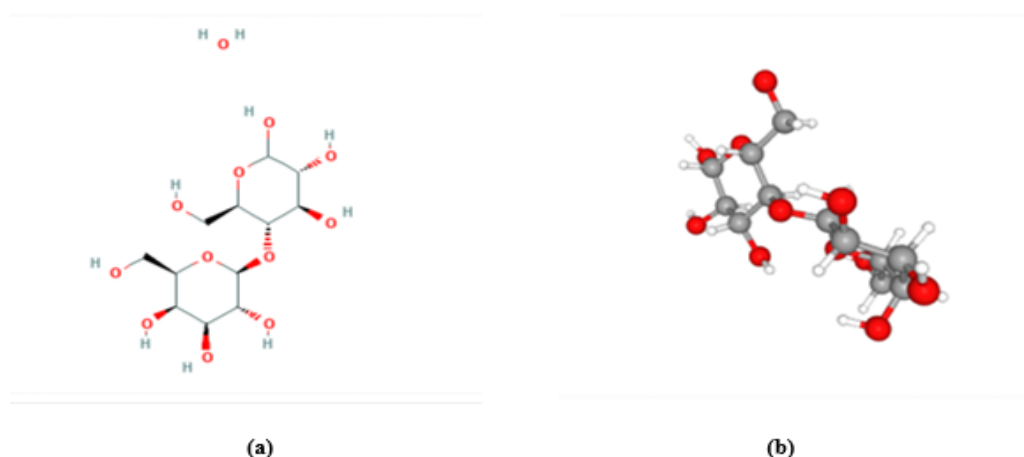
Senyawa	Protein Target	Super Pred	Swiss Target Prediction	Cham Mapper
Mannan	Vascular Endothelial Growth Factor A	✓	✓	✓
	Galectin-3	✓	✓	-
	Galectin-8	✓	✓	✓



Gambar 2. Visualisasi Protein *Galectin-8* (a) *Galectin-8* dari webserver PDB (b) *Galctin-8* sebelum ligannya dipotong (c) *Galectin-8* sesudah ligan dipotong dengan software PyMOL

Koleksi Struktur 3D Senyawa Kontrol

Senyawa kontrol adalah senyawa acuan yang digunakan untuk menguji keefektifan senyawa alami pada protein target. Senyawa kontrol dapat diperoleh informasinya melalui *webserver UniProt, DrugBank*, atau bisa juga dengan menggunakan studi literatur. Senyawa kontrol yang ditemukan pada *Drugbank* menunjukkan bahwa *lactose* (laktosa) dapat berikatan dengan protein *galectin-8*.



Gambar 3. Senyawa Kontrol *Lactose* (a) Struktur 2D *Lactose* (b) Struktur 3D *Lactose*

Hasil *Molecular Docking* berdasarkan *Binding Affinity* (Nilai Afinitas Pengikatan)

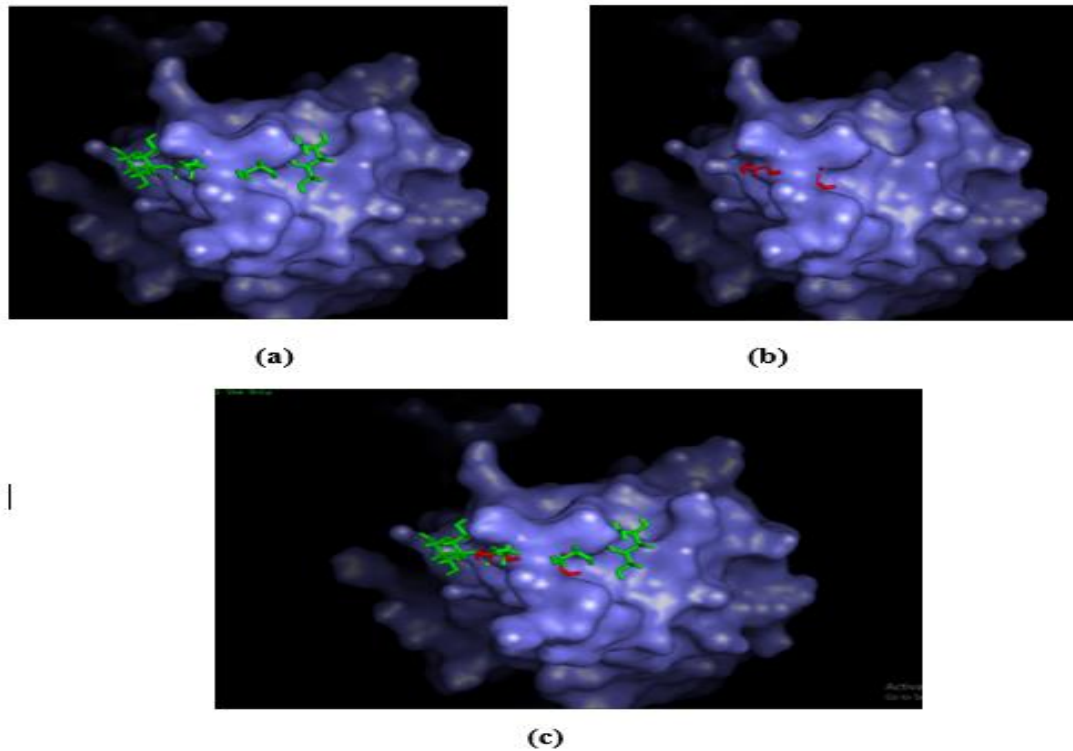
Senyawa alami pada cincau hitam yaitu *Mannan*, protein *galectin-8* serta senyawa kontrol *lactose* kemudian didocking dengan menggunakan *software PyRx* untuk melihat nilai afinitas pengikatannya (*binding affinity*). Hasil yang didapatkan dari proses *molecular docking* tersebut adalah nilai afinitas senyawa alami *mannan* yaitu -7,3 kkal/mol, sedangkan nilai afinitas untuk senyawa kontrol *lactose* adalah sebesar -6,9 kkal/mol. Hasil tersebut menunjukkan bahwa nilai afinitas pengikatan (*binding affinity*) dari senyawa alami lebih kecil dibandingkan dengan senyawa kontrol. Adapun hasil yang ditemukan lebih rinci dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel 4. *Binding Affinity* Senyawa Alami *Mannan*, Senyawa Kontrol *Lactose* terhadap Protein *Galectin-8*

Ligan	<i>Binding Affinity</i> (kkal/mol)
Mannan	-7,3
Mannan	-7,2
Mannan	-7,0
Mannan	-6,9
Mannan	-6,7
Mannan	-6,6
Mannan	-6,6
Mannan	-6,5
Mannan	-6,5
Lactose	-6,9
Lactose	-6,8
Lactose	-6,5
Lactose	-6,5
Lactose	-6,4
Lactose	-6,3
Lactose	-6,3
Lactose	-6,2
Lactose	-6,2

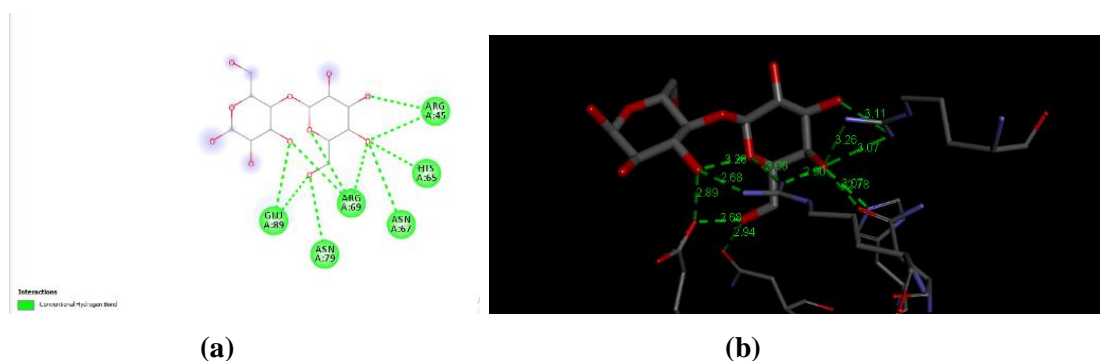
Hasil *Molecular Docking* berdasarkan Struktur 3D dan Struktur 2D

Visualisasi hasil *molecular docking* menggunakan *PyMOL* dilakukan untuk mengetahui letak senyawa alami *mannan* dan juga senyawa kontrol *lactose* terhadap protein *galectin-8*. Adapun hasil yang didapatkan adalah sebagai berikut.



Gambar 4. Struktur 3D Hasil *Molecular Docking* (a) Pengikatan Senyawa Alami *Mannan* dengan Protein *Galectin-8* (b) Pengikatan Senyawa Kontrol *Lactose* dengan Protein *Galectin-8* (c) Pengikatan Senyawa *Mannan* dan Senyawa Kontrol dengan Protein *Galectin-8*

Hasil *molecular docking* selanjutnya dapat divisualisasikan juga dalam bentuk struktur 2D menggunakan *software discovery studio*. Selain struktur 2D, pada *software* tersebut dapat diketahui pula jenis ikatan yang terjadi dalam proses pengikatan antara senyawa alami serta senyawa kontrol terhadap protein target. Jarak antara jenis ikatan yang dihasilkan juga dapat diketahui melalui hasil visualisasi yang disajikan pada Gambar 5.



Gambar 5. Struktur 2D Hasil *Molecular Docking* (a) Jenis Ikatan Senyawa Alami *Mannan* terhadap Protein *Galectin-8* (b) Jarak Ikatan antara Senyawa Alami *Mannan* terhadap Protein *Galectin-8*

PEMBAHASAN

Cincau hitam berdasarkan hasil *LC-MS* menunjukkan bahwa terdapat kurang lebih 54 senyawa alami yang dikandungnya, namun peneliti hanya memilih senyawa *mannan*. *Mannan* merupakan senyawa alami yang termasuk dalam golongan polisakarida. *Mannan* memiliki potensi dalam proses metabolisme pada manusia dan banyak ditemukan di sitoplasma (National Center for Biotechnology Information, 2017). Pemilihan senyawa *mannan* dilakukan setelah dilakukannya prediksi terhadap protein targetnya. Protein target untuk senyawa *mannan* didapat dari prediksi 3 *webservice* yang berbeda sehingga ditemukanlah *galectin-8* sebagai protein targetnya. *Galectin-8* adalah protein yang memiliki fungsi molekuler yaitu dalam proses pengikatan karbohidrat dan pengikatan integrin. Selain itu, *galectin-8* didalam proses biologi tubuh terlibat dalam proses respon tubuh terhadap virus, *autophagy*, dll. Letaknya di dalam tubuh yaitu pada sitosol sitoplasma (National Center for Biotechnology Information, 2017).

Proses *molecular docking* terhadap senyawa alami *mannan* dan protein *galectin-8* dilakukan setelah adanya senyawa kontrol. Senyawa kontrol diperlukan sebagai acuan keefektifan senyawa alami yang digunakan. Senyawa kontrol biasanya merupakan senyawa yang sudah banyak digunakan. Senyawa kontrol untuk protein *galectin-8* yang ditemukan dari *webservice* *Drugbank* dan *Uniprot* adalah senyawa kontrol *lactose*.

Hasil *molecular docking* yang dilakukan antara senyawa alami *mannan* terhadap protein *galectin-8* dianggap potensial karena hasil yang didapatkan setelah divisualisasi menggunakan *software PyMOL* menunjukkan bahwa senyawa *mannan* dapat berikatan tepat satu *site* dengan senyawa kontrol *lactose*. Selain pengikatan pada *site* yang sama, hasil *docking* menggunakan *software PyRx* berupa afinitas pengikatan terhadap protein target juga dapat membantu mengetahui potensi senyawa alami (Kastritis & Bonvin, 2012). Nilai afinitas pengikatan (*binding affinity*) senyawa alami *mannan* terhadap protein *galectin-8* sesuai hasil yang peneliti dapatkan

menunjukkan hasil yang baik, yaitu nilai afinitas pengikatan (*binding affinity*) yang baik ditunjukkan dengan nilai afinitas yang paling kecil. Nilai afinitas pengikatan yang kecil ini menunjukkan bahwa suatu senyawa efektif untuk digunakan (Swinney, 2009; Copeland, 2015).

Interaksi molekuler dan makromolekul pada nilai afinitas pengikatan sangat penting untuk diperhatikan (Swinney, 2009). Berdasarkan hasil *molecular docking*, nilai afinitas pengikatan untuk senyawa alami *mannan* sebesar -7,3 kkal/mol lebih kecil dibanding senyawa kontrol *lactose* yaitu sebesar -6,9 kkal/mol. Nilai afinitas pengikatan senyawa alami *mannan* yang lebih kecil dibanding senyawa kontrol *lactose* menunjukkan bahwa afinitas yang terjadi antara protein dengan ligan (senyawa) menjadi semakin tinggi sehingga energi yang dibebaskan semakin sedikit (Pan, et al., 2013). Hasil tersebut membuktikan bahwa senyawa alami *mannan* berpotensi digunakan sebagai pengganti *lactose* karena untuk berikatan dengan proteinnya, senyawa *mannan* hanya membutuhkan sedikit energi. Energi yang dibebaskan dalam jumlah kecil akan membuat ikatan-ikatan tersebut semakin stabil (Pan, et al., 2013).

Selanjutnya pada hasil *molecular docking* berupa struktur 2D, dapat dilihat bahwa senyawa alami *mannan* berikatan dengan protein *galectin-8* melalui ikatan hidrogen. Ikatan hidrogen pada interaksi antara ligan (senyawa) dengan protein memiliki peran yang sangat penting (Copeland, 2015). sehingga ikut menentukan nilai afinitas dari sebuah ikatan antara ligan dan protein tersebut (Pan, et al., 2013). Jarak pengikatan menunjukkan seberapa kuat suatu ikatan. Agar semakin kuat ikatan, maka jarak yang dibutuhkan harus semakin pendek.

Hasil *molecular docking* berupa *site* pengikatan, nilai afinitas pengikatan (*binding affinity*), jenis ikatan dan jarak ikatan antara senyawa alami *mannan* dan senyawa kontrol *lactose* terhadap protein *galectin-8*, juga prediksi mekanisme kerja pada keduanya menunjukkan bahwa senyawa alami *mannan* berpotensi untuk digunakan sebagai bahan pangan fungsional pengganti *lactose*.

KESIMPULAN

Senyawa alami *mannan* pada tanaman cincau hitam (*mesona palustris* BL.) berdasarkan hasil *molecular docking* berupa *site* pengikatan, nilai afinitas pengikatan, jenis ikatan, dan jarak pengikatan dapat disimpulkan bahwa *mannan* berpotensi sebagai bahan pangan fungsional pengganti *lactose*.

REFERENCES

Copeland R. A. (2015). The drug-target residence time model: a 10-year retrospective. *Nature reviews. Drug discovery*, 15(2), 87–95. <https://doi.org/10.1038/nrd.2015.18>

- Karimi, K., Mohri, M., Seifi, H. A., Azizzadeh, M. , Heidarpour, M. (2015). Relationships between trace elements, oxidative stress and subclinical ketosis during transition period in dairy cows. *Iranian Journal of Veterinary Science and Technology* 7(2), 46-56.
- Kastritis, P. L., & Bonvin, A. M. (2012). On the binding affinity of macromolecular interactions: daring to ask why proteins interact. *Journal of the Royal Society, Interface*, 10(79), 20120835. <https://doi.org/10.1098/rsif.2012.0835>
- Levri, K. M., Ketvertis K, Deramo M, Merenstein J. H., D'Amico F. (2005). Do Probiotics Reduce Adult Lactose Intolerance. A Systematic Review. *J. Farm Pract.* 54(7), 613-20.
- National Center for Biotechnology Information (2021). PubChem Compound Summary for CID 25147451, Mannan. Retrieved June 16, 2021 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Mannan>.
- Pan, P. Shen, M. Yu, H., Li, Y., Li, D. Hou, T. (2013). Advances in the development of Rho-associated protein kinase (ROCK) inhibitors. *Drug Discovery Today.* 18 (23–24), 1323-1333. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2013.09.010>
- Pediatri, Sari. 2001. Intoleransi Laktosa pada Anak dengan Nyeri Perut Berulang. Vol. 2, No. 4: 198-204
- Roy, Praveen K, MD. AGAF. 2011. Lactose Intolerance.
- Swinney, D. C. The role of binding kinetics in therapeutically useful drug action. *Curr. Opin. Drug Discov. Dev.*, 2009, 12, 31-39.
- Wardana A.S. 2013. *Food Habit and Degenerative Diseases*. Prosiding Seminar Nasional.
- Widyaningsih T.D. 2006. Pangan Fungsional: Makanan Untuk Kesehatan. Universitas Brawijaya. Malang.
- Widyaningsih, T.D. 2012. Cytotoxic Effect of Water, Ethanol and Ethyl Acetate Extract of Black Cincau (*Mesona palustris* BL) against HeLa Cell Culture. Sciverse Science Direct APCBEE Procedia: 110-114
- Zhang, S., Shan, L., Li, Q., Wang, X., Li, S., Zhang, Y. , Fu, J., Liu X., Li, H., Zhang, W. (2014). Systematic Analysis of the Multiple Bioactivities of Green Tea through a Network Pharmacology Approach. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 1-11 <https://doi.org/10.1155/2014/512081>