

BAB 2

TINJAUAN TEORITIS

2.1. Tinjauan Pustaka

2.1.1 *Molecular docking*

2.1.1.1 Prinsip *Molecular docking*

Molecular docking atau penambatan molekuler secara *in silico* adalah teknik berbasis komputasi yang diterapkan guna menghitung energi afinitas pengikatan dari suatu ligan terhadap reseptor dan memastikan posisi optimal. Ligan dipandang sebagai mikromolekul yang berikatan dengan daerah ikatan reseptor yang dipandang sebagai makromolekul protein yang menjadi target dengan parameter yang disebut config. Pose pengikatan optimal dari reseptor dan ligan ditetapkan oleh energi afinitas yang lebih rendah (Nurarifa *et al.*, 2020; Zhu *et al.*, 2022). Sebelum melakukan eksperimen di laboratorium, kesalahan dapat dihindari dengan menggunakan *molecular docking*. *Molecular docking* bersifat statis dengan suhu yang mutlak yaitu 25,15°C sehingga tidak dapat mengukur kestabilan interaksi ligan dan reseptor dalam waktu dan suhu yang dinamis (Dewi *et al.*, 2022; Nadhira Zakiyah, 2021). Namun, *molecular docking* penting untuk memperoleh petunjuk pengembangan obat karena dapat melihat interaksi yang akan terjadi pada ligan dan reseptor dengan energi afinitas yang membantu menyingkat waktu, menekan biaya, dan mempertajam ruang lingkup penelitian (Wahyudi & Utomo, 2022).

Algoritma pencarian dan *scoring* menunjang efektivitas *molecular docking*. Algoritma pencarian, yaitu menjamin pose optimal dari suatu ligan terhadap reseptor, sehingga menciptakan pose stabil dari kombinasi ligan-reseptor yang terbentuk. *Scoring* bertujuan guna menghitung atau memperkirakan afinitas pengikatan antara reseptor dan ligan yang timbul. Skor penilaian diberikan pada setiap pose yang akan diurutkan. Pose ligan terhadap protein yang paling optimal ditetapkan di urutan paling atas (Mahendra, 2021). Indikator yang ditinjau selama fase validasi *molecular docking*

adalah *Root Mean Square Deviation* (RMSD) (Maftucha et al., 2022). Posisi ligan hasil docking akan mendekati posisi ligan hasil kristalografi jika hasil RMSD kurang dari 2,0 Å yang menandakan bahwa teknik docking yang digunakan tidak memberikan deviasi yang besar. Konformasi RMSD diterapkan untuk menaksir kesamaan posisi dalam struktur 3D. RMSD biasanya digunakan untuk ukuran kuantitatif kesamaan dua molekul atau lebih, dalam penambatan molekul RMSD berguna untuk mempelajari konstruksi ligan ketika terikat pada reseptor dengan melihat irisan hasil penambatan ulang, semakin rendah nilai RMSD maka semakin mendekati model struktur dengan struktur aslinya (Apriali et al., 2022; Daria et al., 2022; Mahendra, 2021; Nadhira Zakiyah, 2021; Nursanti, 2021). Validasi metode penambatan molekul diterapkan guna menjamin bahwa penambatan akurat dan ukuran *grid box* yang dipakai sudah sesuai (Thahara et al., 2022).

Pengikatan ligan dan reseptor akan menciptakan interaksi yaitu ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik dan interaksi van der Waals. Atom hidrogen dari suatu molekul dengan molekul lain menciptakan ikatan yang lebih elektronegatif yang dikenal ikatan hidrogen. Jenis ikatan ini merupakan ikatan antar molekul yang paling kuat dan tahan lama. Interaksi nonpolar yang tak sanggup menimbulkan ikatan hidrogen dengan molekul air dikenal sebagai interaksi hidrofobik. Ikatan hidrofobik meskipun ikatan lemah namun tetap lebih kuat dibanding interaksi van der Waals. Interaksi van der Waals adalah ikatan yang timbul saat dua atom dalam jarak dekat satu sama lain dan membentuk gaya tarik lemah nonspesifik (Ekawasti *et al.*, 2021).

Dari beberapa pendapat menurut para ahli tersebut dapat ditarik kesimpulan bahwa *Molecular docking* yakni teknik berbasis komputasi yang diterapkan guna menghitung energi afinitas pengikatan dari suatu ligan terhadap reseptor, memastikan posisi optimal, serta meninjau interaksi ikatan ligan dan reseptor yang divalidasi berdasarkan akurasi nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD). Sehingga mengantongi petunjuk perancangan obat dengan waktu dan biaya yang minimal.

2.1.1.2 Database, Software dan Web Server

Molecular docking memerlukan ligan dan reseptor yang diperoleh dari hasil pengujian difraksi X-ray dan *Nuclear Magnetic resonance* (NMR) yang dapat ditemukan pada *database Protein Data Bank* (PDB) dan Pubchem. *Protein Data Base* (PDB) merupakan *database* tunggal yang memuat arsip struktur 3D makromolekul biologi dari berbagai penjuru dunia. *Protein Data Bank* dipakai untuk mencari struktur protein reseptor yang hendak ditambahkan. *Database* tersedia di <https://www.rcsb.org/> gratis dan diperbarui setiap minggu (Protein Data Bank, 2021). Pubchem diterbitkan oleh Pusat Informasi Bioteknologi Nasional (NCBI) Institut Kesehatan Nasional (NHI) untuk menyediakan struktur ligan yang dipakai dalam proses penambatan. Pubchem dapat dijangkau dengan mengunjungi <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>. Molekul yang dilibatkan harus mempunyai resolusi yang terbaik, semakin rendah angka resolusi maka semakin baik kualitas resolusinya (Wahyudi & Utomo, 2022). *PASS Online* (*Prediction of Activity Spectra for Substances*) ialah *web server* yang dipakai guna mengidentifikasi aktivitas biologi dari suatu senyawa berdasarkan *canonical SMILES*. Nilai yang dihadirkan meliputi P_a (*Probable active*) yang mengindikasikan senyawa berpotensi aktif dan P_i (*Probable inactivity*) yang mengindikasikan senyawa tidak berpotensi aktif. Nilai P_a dan P_i tersaji dengan skala 0,000 sampai 1,000 namun hasil akumulasi P_a dan P_i tidak sama dengan 1. Senyawa dengan nilai $P_a > P_i$ berpotensi menjadi senyawa yang ideal, sesuai dengan proyeksi teoritis dari hasil prediksi *PASS online*. Senyawa dengan nilai $P_a > 0,7$ menandakan potensi aktivitas senyawa yang tinggi, sedangkan senyawa dengan nilai $P_a < 0,5$ cenderung mempunyai potensi aktivitas senyawa yang sangat rendah (Prately dan Raj dalam Ruriasri *et al.*, 2021).

Perangkat lunak yang menunjang algoritma pencarian dan fungsi penilaian diperlukan untuk penambatan molekul pada penelitian ini adalah *Biovia Discovery studio*, *Autodock Tools*, *Autodock Vina*, dan *Notepad*. *Biovia Discovery studio* ialah perangkat lunak yang dikembangkan oleh *Dassault Systemes Biovia* yang digunakan

guna memproyeksikan file struktur sebuah molekul dan mengungkapkan interaksi antara reseptor dan ligan. Perangkat lunak *Autodock vina* dari *Scripps Research Institute* memperkirakan konformasi dan energi dari ikatan yang terjalin antara ligan dan target molekul. Perangkat lunak *Autodock* digunakan untuk penambatan molekul yang cepat, murah, dan akurat. *Autodock* terbentuk dari dua program, yaitu *autodock* dan *autogrid*. *Autodock* mempunyai dua program, yaitu program implementasi docking menggunakan *Autodock* dari ligan dengan pose pengikatan pada reseptor, dan program kalkulasi pada area penambatan molekul tersebut yaitu *autogrid*. Afinitas dan konformasi ligan pada area penambatan molekul dapat diverifikasi melalui program *autogrid*. Hal ini perlu guna mengikat ligan ke protein dengan posisi terkuat. Selain untuk penambatan molekul, *Autodock* dapat memproyeksi *grid* afinitas. Telah dikembangkan *AutoDockTools* yang berperan mengatur interaksi mana yang akan diberlakukan sebagai ligan dan menganalisis *docking* (Morris G.M. & Dallakyan S., 2013 dalam Nadhira Zakiyah, 2021). *Notepad* merupakan aplikasi gratis yang dapat diunduh dan berguna untuk mencatat rumus pemrograman. Bahasa pemrograman seperti XML, Java, Javascript, Pascal, Python, HTML, PDB, dan lain-lain didukung oleh *software* ini.

Berdasarkan uraian tersebut dapat ditarik kesimpulan bahwa *database* digunakan untuk mengunduh ligan yang diperoleh dari PubChem dan reseptor yang diperoleh dari *Protein Data Bank*. Perangkat lunak yang dibutuhkan meliputi, *Biovia Discovery studio*, *Autodock Tools*, *Autodock Vina*, dan *Notepad*. *Web server* yang dilibatkan yaitu *PASS Online (Prediction of Activity Spectra for Substances)* *PASS Online (Prediction of Activity Spectra for Substances)* untuk melihat aktivitas biologi ligan. *Biovia Discovery studio* untuk menyiapkan reseptor dan ligan serta tempat visualisasi hasil penambatan dalam bentuk 2D dan 3D. *Autodock Tools* sebagai tempat menyiapkan ligan dan reseptor sebelum ditambatkan sampai pengikatan ligan dan reseptor. *Autodock vina* membantu kecepatan proses *docking* dan memperlihatkan hasil

berupa energi afinitas dan RMSD. *Notepad* sebagai pencatat parameter config untuk menjalankan *Autodock vina*.

2.1.2 Prediksi Toksisitas

Prediksi toksisitas secara *in silico* ialah meramalkan efek yang timbul dari bahan kimia tertentu berbasis komputasi. Prediksi toksisitas dilakukan untuk penilaian senyawa yang hendak digarap sebagai kandidat obat. Konsumsi bahan kimia mensyaratkan keamanan maka perlu prediksi toksisitas guna memperhitungkan keamanan yang dicapai melalui uji laboratorium. Ribuan hewan harus dikorbankan untuk mendapatkan informasi tentang toksisitas bahan kimia, dan bahan kimia tersebut juga harus dievaluasi agar dapat dijual. Namun, dengan memakai metode *in silico*, toksisitas bahan kimia dapat diukur dengan lebih cepat, dengan dampak yang lebih kecil terhadap lingkungan, dengan biaya yang ekonomis, dan akurasi yang lebih tinggi sehingga menekan frekuensi kegagalan uji klinis. Seiring maraknya pemakaian bahan kimia, metode *in silico* mempercepat proses pengambilan keputusan dengan mendeteksi toksisitas dan sifat fisikokimia dan memaksimalkan penggunaan informasi yang disediakan dapat menunjang kebutuhan industri, peraturan, dan publik akan bahan kimia yang lebih aman (Banerjee *et al.*, 2018; Rim, 2020).

Prediksi toksisitas dapat digarap dengan web ProTox-II dan PkCSM berdasarkan *canonical SMILES* yang diambil basis data PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>). Prediksi toksisitas dalam Protox Web Server memunculkan hasil potensial seperti *Average Similarity*, akurasi prediksi, LD 50, dan Kelas Toksisitas. Kelas toksisitas meliputi hepatoksik, sitotoksik, karsiogenik, mutagenik dan imunotoksik dalam sajian tabel. Tabel akan ditandai sebagai "*active*" dengan latar belakang merah kala bahan kimia aktif berpotensi berbahaya, dan "*inactive*" dengan latar belakang hijau jika senyawa tidak aktif berpotensi toksik. Prediksi toksistas pada suatu senyawa dikategorikan menjadi beberapa kelas seperti berikut: Kelas I: fatal saat tertelan ($LD50 \leq 5$), Kelas II: fatal jika tertelan ($5 < LD50 \leq$

50), Kelas III: beracun bila tertelan ($50 < LD50 \leq 300$), Kelas IV: berbahaya saat tertelan ($300 < LD50 \leq 2000$), Kelas V: mungkin berbahaya bila tertelan ($2000 < LD50 \leq 5000$), Kelas VI: tidak beracun ($LD50 > 5000$). Lethal Dose 50 (LD 50) ialah dosis dalam satuan miligram per kilogram hewan uji (mg/Kg) yang dapat membunuh 50% dalam jangka waktu tertentu, semakin rendah kelasnya, semakin beracun senyawa tersebut, dan semakin tinggi kelasnya, semakin aman senyawa tersebut. Sebagai kandidat obat, setidaknya harus berada di kelas 4 dan 5. (Nursanti, 2021).

Web pkCSM adalah sebuah data base yang menyediakan informasi farmakokinetik dengan indikator yang diuji meliputi Absorpsi, Distribusi, Metabolisme, Ekskresi, dan Toksisitas (ADMET). Tersedia 25 prediktor dalam pkCSM yang mengekspresikan sifat farmakokinetik suatu senyawa. Prediktor dibagi menjadi 6 prediktor absorpsi, 4 prediktor distribusi, 6 prediktor metabolisme, ekskresi 2 prediktor, dan 7 prediktor toksisitas. Web pkCSM ialah sebuah alat guna menyeimbangkan sifat farmakokinetik, potensi, dan keamanan (Nursanti, 2021). Selain prediksi ADMET, *Lipinski's Rule of Five* digunakan sebagai kriteria skrining untuk menilai apakah suatu zat memiliki karakteristik kimia dan fisik yang sebanding dengan obat yang dapat dikonsumsi secara oral oleh manusia. Aturan Lipinski menyatakan bioavailabilitas oral suatu senyawa. Bioavailabilitas yang baik akan memenuhi persyaratan Lipinski yakni massa molekul maksimum senyawa 500 Dalton, lipofilitas tinggi yang dilambangkan LogP kurang dari 5, donor ikatan hidrogen kurang dari 5, dan akseptor ikatan hidrogen kurang dari 10, dan nilai refraksi molar 40-130. Suatu senyawa jika melanggar tidak lebih dari satu aturan layak dikategorikan sebagai molekul obat. Hasil perhitungan *Lipinski's Rule of Five* disajikan dengan menggunakan pkCSM (Yeni *et al.*, 2018).

Berdasarkan uraian tersebut dapat ditarik kesimpulan bahwa prediksi toksisitas secara *in silico* ditangani memakai web ProTox-II dan PkCSM berdasarkan *canonical SMILES* dari ligan. Pada ProTox-II dimunculkan kelas toksisitas dari kelas 1-6 dengan kriteria semakin kecil kelas maka dinilai toksik. PkCSM menyajikan data

farmakokimia berupa struktur obat yang dapat dikonsumsi secara oral berdasarkan *Lipinski's Rule of Five* dan farmakokinetik berupa perjalanan obat dalam tubuh berdasarkan kategori Absorpsi, Distribusi, Metabolisme, Ekskresi, dan Toksisitas (ADMET).

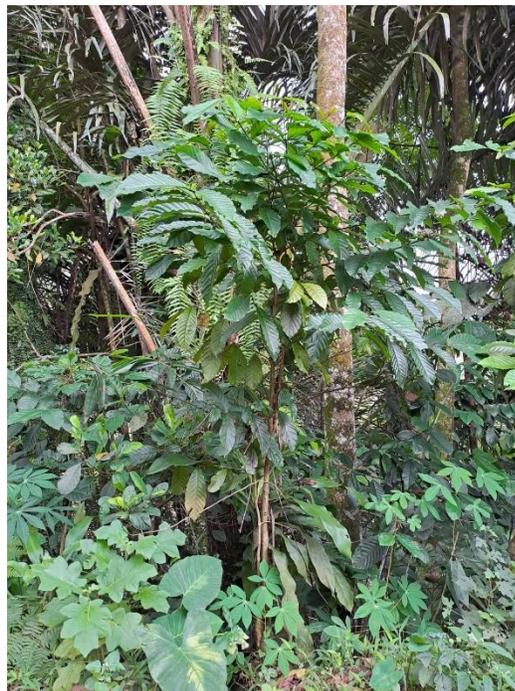
2.1.3 Kopi Robusta (*Coffea canephora*)

Kopi robusta (*Coffea canephora*) merupakan salah satu jenis kopi yang menjadi primadona di Indonesia. Penyakit endemi karat daun yang memaksa penjajah Belanda membarui Arabika dengan kopi robusta yang lebih kebal karat daun. Kopi robusta yang dihadirkan ke Indonesia dari Kongo, Afrika oleh pemerintah kolonial Belanda pada tahun 1900 menjadikan Indonesia lebih banyak menanam kopi robusta yang cepat berkembang (Haswidi, 2017; Soesanto, 2020). Pohon kopi robusta lebih mudah habituasi daripada kopi Arabika karena kopi ini lebih mudah dirawat dan menghasilkan buah lebih banyak daripada Arabika dan karenanya lebih murah untuk diproduksi, sehingga harga pasar kopi robusta juga lebih rendah daripada Kopi Arabika. Karena harganya yang terjangkau, kopi robusta banyak dipakai untuk membuat kopi instan (Virhananda, 2022). Kopi robusta memiliki sensasi aroma yang kuat dan rasa yang dominan pahit. Kopi robusta merupakan tanaman perdu di daerah tropis dataran rendah pada ketinggian 400-800 meter dpl (di atas permukaan laut). robusta tahan panas dengan suhu tumbuh idealnya antara 22-30°C. Kopi robusta tumbuh subur pada tanah dengan taraf keasaman (pH) 5-6,5 (Fibrianto *et al.*, 2020; Izzah *et al.*, 2020).

Berdasarkan uraian tersebut dapat disimpulkan bahwa kopi robusta sebagai kopi paling melimpah daripada kopi arabika karena lebih mudah dirawat, lebih banyak buah yang dipanen, dan kebal terhadap jamur karat sehingga harga kopi robusta lebih ekonomis.

2.1.3.1 Morfologi dan Taksonomi Kopi Robusta

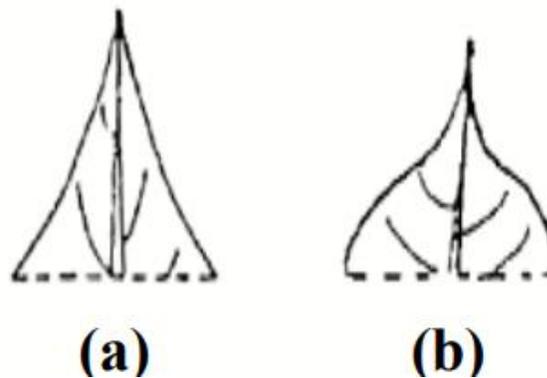
Kopi robusta menurut Rizwan (2021) memiliki perakaran tunggang yang dangkal dengan kedalaman akar primer 45-50 cm. Akar lateral tumbuh ke bawah mencapai 2-3 m. Karena itu, jika akarnya dibiarkan tanpa mulsa pada musim kemarau yang berkepanjangan, tanaman ini rawan kekeringan. Akar kopi robusta akan menjadi kerdil saat kekurangan air atau udara. Pertumbuhan akarnya memiliki reaksi positif dengan kegemburan tanah, kesuburan tanah dan kandungan hara pada tanah seperti N, Ca, dan Mg. N yang tersedia sedikit membuat pertumbuhan akar panjang dan tipis. Bila Ca sedikit menyebabkan kematian ujung akar, demikian juga kekurangan Mg mengakibatkan akar lunak. Toleransi kopi robusta pada cekaman alumunium yang diteliti oleh Santosa *et al.* (2016) menunjukkan efek stres alumunium yang mengakibatkan panjang akar menyusut, pembengkakan akar dengan ujung akar kaku.



Gambar 2.1 Pohon Kopi Robusta

Sumber : Dokumentasi Pribadi

Berdasarkan gambar 2.1 batang tumbuhan kopi robusta berkayu dan berwarna putih keabu-abuan. Kopi robusta memiliki batang yang tegak lurus lebih besar di bagian bawahnya dan semakin mengecil dibagian atas. Pada batang terdiri dari 2 macam tunas yaitu tunas seri (tunas reproduksi) yang tumbuh searah dengan tempat asalnya dan tunas legitim yang hanya sanggup tumbuh sekali dengan arah tumbuh membentuk sudut nyata dengan tempat aslinya. Tunas seri tumbuh menjadi cabang ortotrop dan tunas legitim menjadi cabang plagiotrop. Cabang reproduksi (orthotrop) atau kerap diucap wiwilan merupakan cabang yang tumbuh vertikal, dapat mengambil peran batang saat batang dalam keadaan patah atau dipotong, dan digunakan untuk perbanyak kopi secara vegetatif. Cabang primer (plagiotrop) mempunyai orientasi pertumbuhannya mendatar kesamping, hanya satu kali tumbuh, dan berperan sebagai penghasil bunga (Muningsih *et al.*, 2018; Rizwan, 2021).



Gambar 2.2 Bentuk daun kopi robusta (a) *Acuminate* dan (b) *Apiculate*
Sumber: (Badri *et al.*, 2018)

Kopi robusta mempunyai daun bertangkai yang tersusun atas bagian tangkai daun (petiolus) dan helaian daun (lamina). Berdasarkan gambar 2.2 bentuk daun kopi robusta yaitu membulat dengan ujung daun *Acuminate* dan *Apiculate* dengan urat daun menyirip. Daun kopi robusta relatif besar dengan panjang sekitar 23,5 – 32,3 cm dan lebar 9,4 – 14,3 cm. Daunnya tumbuh pada batang, cabang, dan ranting. Pada batang dan cabang tumbuhnya vertikal dengan susunan daun berseling. Sebaliknya pada

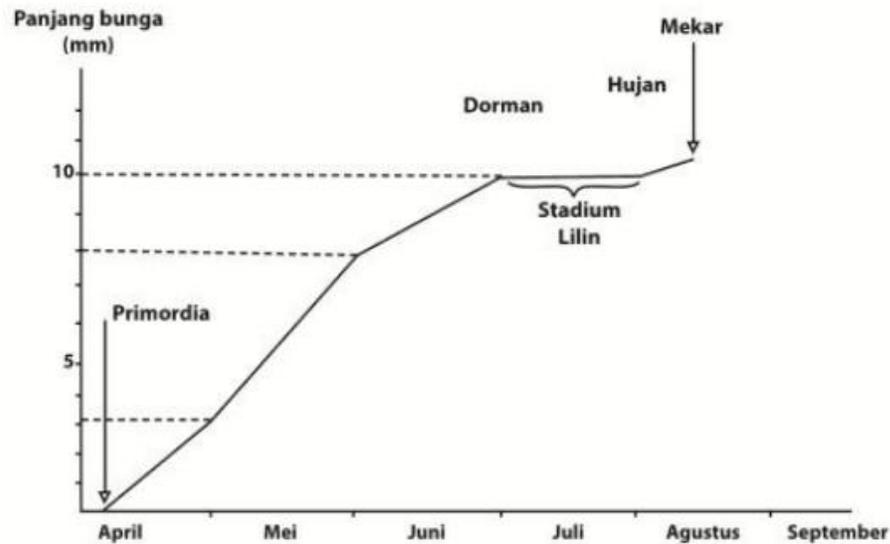
ranting dan cabang tumbuh horizontal dengan pasangan daun tumbuh pada bidang yang sama. Daun dewasa berwarna hijau, sedangkan daun pucuk muda berwarna perunggu. Kopi robusta memiliki stipula dengan wujud oval dan segitiga (Badri *et al.*, 2018; Izzah *et al.*, 2020).



Gambar 2.3 Bunga Kopi Robusta

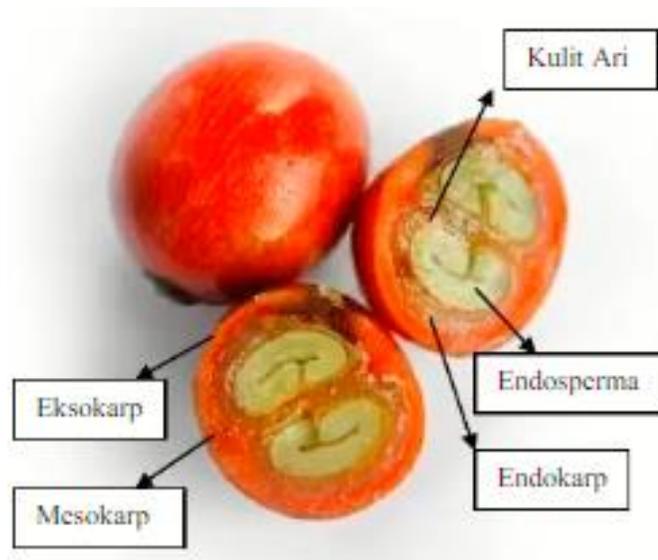
Sumber: (Badri *et al.*, 2018)

Berdasarkan gambar 2.3 bunga kopi robusta berukuran kecil, memiliki aroma semerbak yang menyenangkan, kelopak bunga berwarna hijau dan mahkota bunganya berwarna putih saat terbuka. Kopi robusta memiliki karakteristik khas bunga yang biasa membentuk rangkaian yang bergerombol di ketiak daun cabang plagiotrop yang kerap diucap bunga majemuk. Terdapat 2-4 kelompok bunga pada setiap ketiak daun. 4 hingga 6 kuntum diproduksi oleh setiap kelompok bunga. Kuntum bunga tersusun kelopak bunga, mahkota bunga, benang sari, putik dan bakal buah. Mahkota bunga terdapat dari 3-8 helai, benang sari terdiri dari 5-7 helai (Eddy dalam Jasmitro, 2022). *Self in compatibility* yang dimiliki kopi robusta yakni bila terjalin penyerbukan sendiri maka buluh sari tidak terbentuk akibatnya mencegah pembuahan. Penyerbukan silang berlangsung jika serbuk sari berasal dari individu lain. Sehingga mesti ditanam secara poliklonal (lebih dari klon) dalam satu bentangan saat budidaya kopi robusta.



Gambar 2.4 Laju Pertumbuhan Bunga Kopi Robusta
Sumber: (Rahardjo, 2021)

Cabang plagiotrop akan memanjang dan memunculkan daun baru yang sigap mengeluarkan bunga pada permulaan musim kemarau. Laju pertumbuhan bunga kopi robusta ditunjukkan pada gambar 2.4 yang diawali pembentukan primordia pada akhir musim hujan yang bertahan sampai pertengahan musim kemarau. Dibutuhkan waktu 2—3 bulan untuk membentuk primordia bunga, setelah itu perkembangan tercapai yang dikenal sebagai stadium lilin. Dormansi stadium lilin dapat dipatahkan sesudah ada rangsangan hujan yang memicu bunga mekar. Pada saat bunga mekar (anthesis), terjalin pembuahan sel jantan dan sel telur. Kuncup bunga akan menjadi ros (kekuningan) atau kering sebelum mekar bila sepanjang stadium lilin tanaman menghadapi kekeringan. Bunga dengan warna ros masih sanggup mekar setelah terkena hujan, namun tanpa terjalin pembuahan. Jangka waktu yang ditempuh pembungaan sampai dapat memanen buah adalah 10-11 bulan (Luklukyah *et al.*, 2019; Rahardjo, 2021).



Gambar 2.5 Bagian Buah Kopi Robusta
Sumber: (Badri et al., 2018)

Berdasarkan gambar 2.5 buah kopi robusta terdiri dari daging buah dan biji dengan diskus di ujung bawah buah. Daging buah terdiri atas 3 bagian lapisan kulit luar (eksokarp), lapisan daging atau pulp (mesokarp) dan lapisan kulit tanduk atau perkamen (endokarp) yang tipis tetapi keras. Eksokarpus dikenal sebagai kulit, kupasan, atau epikarpus yaitu lapisan terluar kopi. Eksokarpus pada awal pengembangan buah berwarna hijau sebelum mengalami perubahan visual menjadi merah atau jingga. Mesokarpus kaya akan gula dan lendir. Gula yang belum diproduksi dengan maksimal mengakibatkan daging buah muda agak keras, tidak berlendir, dan tidak terasa manis. Sebaliknya, karena penguraian alami sebagian gula dan pektin selama respirasi, buah yang terlalu masak seringkali memiliki lebih sedikit lendir dan lebih sedikit gula. Bila buah kopi robusta sudah masak mempunyai daging buah yang lunak, berlendir dan bercita rasa manis. (Afriliana, 2018). Lapisan terdalam biji kopi disebut endokarpus atau perkamen. Selama pemasakan, endokarpus mengeras, membatasi ukuran akhir biji kopi. Buah yang telah matang senantiasa kuat melekat di

tangkainya dan tidak lepas dengan sendirinya. Biji yang ada dalam buah umumnya sepasang (Soesanto, 2020).



Gambar 2.6 Biji Kopi Robusta
Sumber: (Abduh, 2018)

Kopi robusta termasuk tanaman biji berkeping dua. Biji kopi robusta yang dapat dilihat pada gambar 2.6 mempunyai bentuk oval dan memiliki garis tengah (parit) dari atas hingga bawah hampir merata. Biji kopi robusta kerap digunakan sebagai campuran kopi racikan untuk meningkatkan cita rasa kopi dan sebagai bahan standar kopi siap saji (Rosmaya, 2020). Mutu biji kopi berdasarkan Standar Nasional Indonesia (2008 dalam Setyani *et al.*, 2018) ditentukan dari nilai kuantitas luka biji kopi yang memiliki efek signifikan terhadap cita rasa. Biji kopi robusta yang rusak berwarna coklat atau hitam, dan berlubang. Biji kopi terdiri atas kulit perak, endosperma dan embrio. Benih diselimuti oleh kulit perak. Cita rasa kopi berkurang oleh keberadaan kulit perak karena sebagai pertanda kopi dipetik sebelum benar-benar matang. Rasa dan aroma kopi berasal dari kumpulan senyawa yang ditemukan di endosperma. Senyawa kimia yang terkandung dalam endosperma dapat dikategorikan sebagai larut dan tidak larut dalam air. Senyawa yang larut dalam air adalah kafein, trigonelin, niasin, asam klorogenat dan mineral, sedangkan yang tidak larut dalam air termasuk selulosa, polisakarida, lignin, dan hemiselulosa serta beberapa protein, mineral dan lipid. Embrio tersusun atas hipokotil dan dua kotiledon. Hipokotil memanjang dan mengangkat benih ke atas tanah

selama perkecambahan epigeal. Kotiledon baru tercipta namun kotiledon asli tetap terkubur (Soesanto, 2020).

Adapun klasifikasi berikut ini yang menggambarkan posisi tumbuhan kopi robusta dalam taksonomi tumbuhan yakni (ITIS, 2011; Rahardjo, 2021) :

Kingdom : Plantae
Subkingdom : Viridiplantae
Superdivision : Embryophyta
Division : Tracheophyta
Class : Magnoliopsida
Order : Gentianales
Family : Rubiaceae
Genus : Coffea
Species : *Coffea canephora* (Kopi robusta)

Berdasarkan pendapat dari beberapa ahli tersebut peneliti dapat menyimpulkan bahwa kopi robusta (*Coffea canephora*) ditanam secara poliklon dengan akar tunggang dengan batang berkayu yang memiliki 2 tunas yaitu tunas seri yang berkembang menjadi cabang orthotrop yang dapat membentuk cabang baru dan tunas legitim yang berkembang menjadi cabang plagiotrop yang dapat menghasilkan bunga. Daun kopi robusta memiliki tulang daun menyirip dan berbentuk membulat dengan ujung daun dapat berbentuk *Acuminate* dan *Apiculate*. Kopi robusta memiliki bunga yang berkelompok dengan mahkota bercorak putih. Buah kopi robusta berwarna hijau sebelum bertransformasi menjadi merah atau hijau saat matang. Biji kopi robusta yang tersimpan pada bagian endokarpus memiliki bentuk oval dengan garis tengah yang merata membagi 2 sisi biji kopi.

2.1.3.2 Asam Klorogenat dalam Kopi Robusta

Asam klorogenat yakni suatu senyawa yang tergolong kedalam komponen fenolik, mempunyai sifat yang larut dalam air, berasal dari jalur asam sikimat yang dibentuk dengan mengesterifikasi asam quinat dan asam kafeat serta bertindak pada efek rasa dan aroma dari biji kopi ataupun kopi yang dihasilkan (Ardiansyah *et al.*, 2018; Dewajanti, 2019).

Dibandingkan dengan biji kopi lainnya, biji kopi robusta menyediakan kadar asam klorogenat tertinggi berkisar 10g /100g (Surma & Oparil, 2021). Kekuatan asam klorogenat pada biji kopi yang dihasilkan juga dipengaruhi oleh perbedaan elevasi pada lokasi penanaman. Suhu rendah di lokasi penanaman, yang mempengaruhi proses kematangan buah kopi dan menimbulkan penimbunan bahan kimia metabolit sekunder, termasuk asam klorogenat, maka asam klorogenat pada biji kopi dataran tinggi memiliki konsentrasi yang lebih besar (Mintesnot & Dechassa, 2018).

Banyaknya efek positif yang didapatkan dari asam klorogenat untuk kesehatan diantaranya asam klorogenat memiliki kedudukan krusial dalam menghindari beragam penyakit terkait dengan stress oksidatif seperti kanker, kardiovaskular, penuaan, penyakit neurodegeneratif, dan kardiovaskular yang berhubungan dengan hipertensi. Hal ini bersebrangan dengan kafein kopi yang masih polemik menyebabkan peningkatan tekanan darah. Kenaikan tekanan darah sebagai dampak kafein terlihat 1 jam setelah konsumsi dan bertahan 3 jam kemudian kembali normal (Waskiewicz *et al.*, 2019). Asam klorogenat ialah antioksidan poten sebagai antihipertensi karena metabolit dari asam klorogenat mengurangi terjadinya stres oksidatif yang berimbas pada penurunan tekanan darah melalui peningkatan fungsi endotel dan otot polos vaskuler, penurunan kolestrol, dan peningkatan bioavailabilitas nitrit oksida (NO) di pembuluh darah arteri serta menghambatan *Angiotensin Converting Enzyme* (ACE) (Han *et al.*, 2022; Kajikawa *et al.*, 2019; Saifur Rohman *et al.*, 2020; Surma & Oparil, 2021; Teramoto *et al.*, 2022; Yamaji *et al.*, 2022). Rahmawati *et al.*, (2021) menuturkan

bahwa asam klorogenat berfungsi sebagai agen antihipertensi mempunyai keahlian untuk menurunkan tekanan darah dengan cara menghambat aktivitas *Angiotensin Converting Enzyme* (ACE) yang terikut serta dalam patogenesis hipertensi, sehingga kadar Angiotensin II yang terbentuk menurun dan menyebabkan efek vasodilatasi. Mengonsumsi rutin 1-3 cangkir kopi menurunkan risiko hipertensi di kelompok non-perokok karena tidak menciptakan reaktivitas vaskuler akibat toleransi terhadap tekanan kafein (Geleijnse, 2022; Hou *et al.*, 2021; Kujawska *et al.*, 2021; Surma & Oparil, 2021).

Berdasarkan penjelasan tersebut dapat ditarik sebuah kesimpulan bahwa asam klorogenat sebagai senyawa fenol yang dapat menetralkan bahaya kafein dalam menurunkan tekanan darah karena berpengaruh mengurangi terjadinya stres oksidatif, meningkatkan fungsi endotel dan otot polos vaskuler dengan meningkatkan bioavailabilitas nitrit oksida (NO) di pembuluh darah, menurunkan kolesterol, dan menghambat *Angiotensin Converting Enzyme* (ACE).

2.1.4 Hipertensi

Tekanan darah tinggi atau yang kerap diketahui hipertensi ialah kondisi kala tekanan darah melebihi batas wajar, yaitu tekanan darah sistolik ≥ 140 mmHg dan atau tekanan darah diastolik ≥ 90 mmHg pada pemeriksaan berulang. Tekanan darah dicatat dengan dua angka, angka pertama bernama sistolik yang mencerminkan tekanan darah yang diberikan oleh darah kala jantung memompa (berkontraksi) dan angka kedua bernama diastolik mewakili tekanan darah kala jantung melakukan relaksasi (Kurnia & Malinti, 2020; Sultan, 2022; WHO, 2021). Saat ini hipertensi merupakan salah satu penyakit tak menular yang menjadi ancaman kesehatan primer yang pengaruhi jutaan orang secara global. Jumlah penyandang hipertensi yang bersumber data *World Health Organization* (WHO) tahun 2015 sebanyak 1,13 miliar orang di seluruh dunia yang berarti 1 dari 3 orang di dunia terdiagnosis menderita hipertensi (P2PTM, 2019). Di Indonesia, prevalensi hipertensi pada usia di bawah 18 tahun mengalami akumulasi

sebesar 34,1% dari 25,8% pada tahun 2013. Di Indonesia, terdapat 63.309.620 orang hipertensi, dan terdapat 427.218 kematian terkait hipertensi (Kemenkes RI, 2018). karena dapat mendatangkan kematian tak terduga tanpa menampilkan indikasi yang disadari, hipertensi dikenal sebagai “Pembunuh senyap” dan tidak sedikit penderita hipertensi telat mengenali datangnya penyakit ini karena tidak terbiasa melakukan pemeriksaan tekanan darah. Hipertensi dalam jangka waktu lama memunculkan komplikasi yaitu, kerusakan pada ginjal, jantung, mata dan otak (Budi Kristanto, 2021; Mansur *et al.*, 2020; Sarawati *et al.*, 2022; Sulistiani & Surury, 2021).

Klasifikasi hipertensi yang digunakan (Kemenkes, 2021) merujuk dari 2018 *ESC/ESH Guidelines for the management of arterial hypertension* yang diuraikan dalam tabel 2.1 menjadi :

Tabel 2.1 Klasifikasi hipertensi

| Klasifikasi | TD sistolik (mmHg) | | TD diastolik (mmHg) |
|----------------------|--------------------|----------|---------------------|
| Optimal | <120 | Dan | <80 |
| Normal | 120-129 | dan/atau | 80-84 |
| Normal tinggi | 130-139 | dan/atau | 85-89 |
| Hipertensi derajat 1 | 140-159 | dan/atau | 90-99 |
| Hipertensi derajat 2 | 160-179 | dan/atau | 100-109 |
| Hipertensi derajat 3 | ≥180 | dan/atau | ≥110 |

Sumber: (Kemenkes, 2021)

Berdasarkan pendapat dari beberapa ahli tersebut peneliti dapat menyimpulkan bahwa hipertensi sebagai beban kesehatan dunia dan seseorang didiagnosis penyakit mematikan ini kala tekanan darah sistolik ≥ 140 mmHg dan atau tekanan darah diastolik ≥ 90 mmHg dengan pemeriksaan yang berulang.

2.1.4.1 Faktor Risiko

Hipertensi terjadi akibat efek peningkatan *cardiac output* (curah jantung) dan peningkatan tekanan perifer. Namun demikian, ada sejumlah faktor risiko yang memicu peningkatan tekanan darah yang dikategorikan menjadi faktor risiko yang

dapat dikendalikan dan yang tidak dapat dikendalikan. Faktor risiko yang dapat dikendalikan yaitu obesitas, aktivitas fisik, konsumsi tinggi natrium, asupan kecanduan alkohol dan merokok, *sleep apnea*, diabetes serta faktor risiko yang tidak dapat dikontrol seperti jenis kelamin, keturunan, dan usia (Bell *et al.*, 2018; Livana & Basthomi, 2020).

Usia mempengaruhi hipertensi karena jantung, pembuluh darah dan hormon secara alamiah mengalami penurunan daya seiring bertambahnya usia. Walaupun hipertensi sanggup menjangkit semua usia, namun mayoritas insiden hipertensi terjadi pada orang berusia lebih dari 40 tahun (Sulistiani & Surury, 2021). Pria lebih rentan disergap hipertensi dibandingkan wanita karena hormon estrogen yang terkait proses menstruasi dapat menunjang fungsi pembuluh darah. Mutasi gen hipertensi dapat diturunkan dari salah satu anggota keluarga ke anggota keluarga lainnya. Menurut Azzahra (2019) *sleep apnea* merangsang kerja sistem saraf simpatis dan sistem renin-angiotensin-aldosteron akibat kandungan oksigen dalam darah yang rendah menyebabkan penyempitan pembuluh darah yang mendorong hipertensi. Obesitas berkaitan dengan hipertensi karena ketidakseimbangan konsumsi makanan memperbesar beban jantung untuk memompa darah lebih keras menyuplai makanan dan oksigen ke jaringan. Aktivitas fisik dapat melatih frekuensi denyut jantung untuk tetap stabil dan sedikit aktivitas fisik membuat risiko obesitas lebih besar yang memicu hipertensi. Kebiasaan merokok menyebabkan saraf simpatis dirangsang nikotin dan karbon monoksida untuk meningkatkan curah jantung merusak pembuluh darah disusul pelonjakan tekanan darah (Kurnia & Malinti, 2020). Ketika asupan natrium melebihi batas wajar mengganggu keseimbangan cairan karena dapat menarik air yang membuat volume darah meningkat sehingga tekanan pembuluh darah tinggi. Alkohol mengandung dampak toksik meningkatkan kekentalan darah yang membuat jantung lebih kuat memompa darah ke seluruh tubuh, merangsang vasokonstriksi, dan

merangsang kortisol yang bersinambung merangsang sistem renin-angiotensin-aldosteron yang meningkatkan hipertensi (Sultan, 2022).

Berdasarkan banyaknya pendapat yang dikemukakan oleh para ahli dapat ditarik kesimpulan bahwa secara garis besar hipertensi disebabkan oleh faktor yang dapat dikendalikan dan faktor risiko yang tidak dapat dikontrol yang dapat merangsang sistem saraf simpatis mempengaruhi organ-organ seperti jantung dan pembuluh darah serta hormon yang berkaitan dengan peredaran darah.

2.1.4.2 Patofisiologi

Tekanan darah dipengaruhi oleh sistem persarafan, jantung, pembuluh darah, dan ginjal. Curah jantung dan total resistensi perifer yang menentukan tekanan darah. Curah jantung adalah banyaknya darah yang terpompa dalam tubuh selama 1 menit yang dipengaruhi oleh volume sekuncup (*stroke volume*) dan denyut nadi (*heart rate*). Resistensi perifer adalah daya yang dikerahkan yang jantung dalam memompa darah ke seluruh tubuh berkaitan dengan diameter pembuluh. Tekanan darah secara umum ditentukan oleh 2 mekanisme yaitu sistem saraf simpatis dan sistem renin angiotensin aldosteron. Sistem saraf simpatis bertanggung jawab mengontrol jangka pendek tekanan darah. Di sisi lain, tekanan darah jangka panjang di kendalikan oleh sistem renin-angiotensin-aldosteron (Novita, 2019).

Kala sistem saraf simpatis diaktifkan akan membebaskan katekolamin berupa epinefrin yang bekerja di otot jantung untuk bertaut dengan reseptor beta adrenergik di dinding pembuluh darah untuk meningkatkan denyut jantung dan vasokonstriksi pembuluh darah sehingga curah jantung meningkat dan resistensi perifer meningkat sehingga terjadi hipertensi. Hipertensi yang datang melalui mekanisme sistem renin angiotensin aldosteron bermula kala renin diproduksi oleh sel juxtaglomerular namun tidak berpartisipasi dalam filtrasi glomerulus, renin akan masuk ke sirkulasi melalui arteriol aferen ginjal bertemu Angiotensinogen yang diproduksi hati untuk menjadi Angiotensinogen I kemudian bergerak melauai aliran darah hingga mencapai di paru-

paru bertemu dengan *Angiotensin Converting Enzyme* (ACE) dan berubah menjadi Angiotensin II sebagai hormon meningkatkan tekanan darah dengan menimbulkan vasokonstriksi di sirkulasi sistemik sehingga resistensi perifer meningkat dan membuat tekanan darah tinggi (Allikmets, 2022; Filippo, 2022; Geleijnse, 2022; Iqbal & Jamal, 2022; Kujawska *et al.*, 2021; Mangopo *et al.*, 2022; Melik *et al.*, 2019; Nabiha, 2020; Nadhira Zakiyah, 2021; Palatini *et al.*, 2022; Sureshkumar, 2022; Van Oort *et al.*, 2020; Yamaji *et al.*, 2022).

Berdasarkan uraian tersebut dapat disimpulkan bahwa hipertensi dipengaruhi reseptor beta adrenergik di dinding pembuluh darah yang aktif saat sistem saraf simpatis membebaskan epinefrin dan Angiotensin II yang berasal dari mekanisme renin angiotensin aldosteron yang diaktifkan oleh *Angiotensin Converting Enzyme* (ACE) yang menimbulkan peningkatan curah jantung dan total resistensi perifer.

2.2. Hasil Penelitian yang Relevan

Adapun hasil penelitian yang diterbitkan Amaluddin & Malik (2018) terkait pengaruh konsumsi kopi terhadap peningkatan tekanan darah dengan sampel yang dilibatkan sebanyak 96 laki-laki pada rentang usia 20-40 tahun melalui tehnik *purposive sampling*. Konsentrasi asam klorogenat, kalium, dan kafein dalam kopi dapat berdampak pada tekanan darah. Sementara kafein meningkatkan tekanan darah, polifenol dan kalium menguranginya. Secara statistik dapat dibuktikan bahwa tak ada pengaruh konsumsi kopi terhadap peningkatan tekanan darah sesuai hasil uji statistik yang dilakukan dengan uji Kolmogorov-Smirnov. Pengaruh jenis kopi terhadap peningkatan tekanan darah didapatkan nilai $p = 1,000$; pengaruh jumlah kopi yang dikonsumsi diperoleh nilai $p = 1,000$; dan pengaruh frekuensi konsumsi kopi didapatkan nilai $p = 1,000$.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan Marillia *et al.* (2021) terkait aktivitas senyawa apigenin terhadap reseptor beta-1 adrenergik sebagai antihipertensi secara *in*

silico menyatakan apigenin sesuai dengan *Lipinski's Rule of five* dan mempunyai kemampuan absorpsi yang baik. Afinitas untuk reseptor adrenergik beta-1 juga ada di semua senyawa uji. Senyawa apigenin 7-O-(6-O-asetil-D-glukopiranosida) merupakan senyawa uji dengan afinitas dan kekuatan ikatan tertinggi untuk reseptor adrenergik beta-1. Hal ini disebabkan fakta bahwa senyawa ini memiliki nilai konstanta inhibisi dan energi bebas ikatan yang paling rendah jika dibandingkan dengan senyawa lainnya. Nilai konstanta inhibisi sebesar 0,04033 m, dan nilai energi bebas ikatan sebesar -10,09 kkal/mol. Kedelapan senyawa uji tersebut masuk ke dalam kelas toksisitas III, yang mengindikasikan bahwa tidak ada jaminan bahwa penggunaannya pada konsentrasi tinggi akan aman dan tidak bersifat mutagenik atau karsinogenik.

Penelitian relevan yang dilakukan Kurniawan *et al.* (2022) terkait senyawa fukoidan rumput laut coklat yang berpotensi sebagai antihipertensi secara *in silico* menyatakan bahwa kemampuan fukoidan dalam menghambat ACE sebagai target enzim yang mempunyai kemampuan merubah angiotensin 1 menjadi angiotensin 2 dibuktikan dengan nilai MolDock dan Rerank Score masing-masing yaitu -82,311 kkal/mol dan -70,872 kkal/mol. Fukoidan memenuhi hukum 5 Lipinski sehingga dapat mudah diabsorpsi dan mempunyai permeabilitas yang baik serta termasuk kategori kelas V yang mempunyai efek toksisitas rendah, tetapi berbahaya jika tertelan dalam rentang $2000 < LD50 \leq 5000$ mg/kg.

2.3. Kerangka Konseptual

Kopi selaku salah satu komoditas penting yang berkontribusi dalam perekonomian Indonesia hingga Indonesia bisa tercatat sebagai salah satu negara peringkat teratas pengekspor biji kopi dan peminum kopi di seluruh dunia. Sehingga minum kopi atau budaya “Ngopi” sudah menjadi hal umum yang dilakukan masyarakat Indonesia. Kopi dulunya kerap diasosiasikan sebagai minuman yang dikonsumsi oleh orang tua, namun belakangan ini, kopi muncul sebagai tren baru di kalangan anak muda yang dapat diperhatikan dengan merebaknya kedai kopi di Indonesia karena kenaikan

permintaan kopi. Selain itu, minum kopi dapat membangkitkan energi, menghadirkan stimulasi, meredakan kelelahan, dan mengusir rasa kantuk. Bahkan ada pecandu kopi yang meyakini bahwa mereka tidak bisa melewatkan satu hari pun tanpa minum kopi dan harus meminumnya sebelum beraktivitas. Namun kopi seringkali dikorelasikan sebagai penyebab penyakit hipertensi.

Hipertensi dikenal sebagai “Pembunuh senyap” menjadi penyakit tidak menular yang menjadi masalah kesehatan paling serius karena dapat menyebabkan kematian mendadak tanpa gejala peringatan dan banyak pasien hipertensi yang tidak menyadari timbulnya penyakit ini. Hipertensi dapat diidentifikasi jika pasien memiliki tekanan darah sistolik kurang dari 140 mmHg dan tekanan darah diastolik kurang dari 90 mmHg selama dua hari berturut-turut. Hipertensi terjadi akibat efek peningkatan *cardiac output* (curah jantung) dan peningkatan tekanan perifer.

Tekanan darah secara umum dikendalikan oleh 2 mekanisme yaitu sistem saraf simpatis dan sistem renin-angiotensin-aldosteron. Kala sistem saraf simpatis diaktifkan akan merilis katekolamin berupa epinefrin yang bekerja di otot jantung untuk berkoneksi dengan reseptor beta adrenergik di dinding pembuluh darah untuk memacu denyut jantung dan vasokonstriksi pembuluh darah sehingga terjadi peningkatan curah jantung dan resistensi perifer meningkat sehingga terjadi hipertensi. Hipertensi dapat datang melalui mekanisme sistem renin-angiotensin-aldosteron bermula saat renin diproduksi memasuki aliran darah melalui arteriol aferen ginjal bertemu Angiotensinogen yang diproduksi hati dan bertransformasi menjadi Angiotensinogen I kemudian bergerak melalui aliran darah hingga datang di paru-paru bertemu dengan *Angiotensin Converting Enzyme* (ACE) dan berubah menjadi Angiotensin II sebagai hormon meningkatkan tekanan darah dengan menimbulkan vasokonstriksi di sirkulasi sistemik sehingga resistensi perifer meningkat dan membuat tekanan darah tinggi.

Kafein dalam kopi memiliki sifat jahat yang dapat meningkatkan tekanan darah seseorang. Namun, adanya kandungan polifenol sebagai antioksidan protektif karena

memiliki yang dapat menetralisasi kafein dan dapat menurunkan tekanan darah. Hal ini juga diperkuat bahwa efek kafein dalam meningkatkan tekanan darah mencapai puncaknya sesuai satu jam konsumsi, dan kembali normal tiga jam kemudian. Kopi robusta memiliki kandungan asam klorogenat lebih tinggi dengan harga beli lebih murah dibandingkan kopi arabika sehingga pecanda kopi lebih mudah mengonsumsi kopi robusta.

Berdasarkan masalah tersebut maka perlu dilakukan analisis fakta secara ilmiah terkait potensi kopi robusta sebagai antihipertensi dengan metode *in silico* dengan teknik *molecular docking* dan prediksi toksisitas sebagai rancangan awal dan memperoleh petunjuk pengembangan obat antihipertensi yang akurat, ramah lingkungan, menyingkat waktu dan menekan biaya. *Molecular docking* atau penambatan molekuler secara *in silico* adalah teknik berbasis komputasi yang diterapkan guna menghitung energi afinitas pengikatan dari suatu ligan yang dipandang sebagai mikromolekul yang berikatan dengan daerah ikatan terhadap reseptor yang dipandang sebagai makromolekul protein yang menjadi target dan memastikan posisi optimal dengan parameter yang disebut config. Prediksi toksisitas secara *in silico* ialah memperhitungkan keamanan dan efek yang timbul dari bahan kimia tertentu berbasis komputasi.

Hasil akhir dari penelitian akan dirancang modul berupa suplemen bahan ajar yakni modul penuntun *molecular docking* dan prediksi toksisitas sebagai upaya memandu pembelajaran bioinformatika di tingkat sekolah menengah pada materi bioteknologi sehingga membentuk kemampuan komputasi yang harus dimiliki sesuai dengan kurikulum merdeka yang dipakai saat ini di Indonesia guna membantu pemecahan masalah jadi efektif dan efisien dan juga membentuk sumber daya manusia yang berkualitas dan sanggup menghadapi persaingan dunia ditengah gempuran perkembangan digital, serta diharapkan dapat bermanfaat bagi pendidik biologi guna meningkatkan kompetensi komputasi.

2.4. Pertanyaan Penelitian

Agar penelitian yang dilakukan lebih jelas dan terarah maka diperlukan pertanyaan penelitian terkait penelitian yang dilakukan yakni:

- 1) Bagaimana hasil proyeksi *molecular docking* asam klorogenat dengan reseptor beta adrenergik?
- 2) Bagaimana hasil proyeksi *molecular docking* asam klorogenat dengan *Angiotensin Converting Enzyme* (ACE)?
- 3) Bagaimana sifat farmakokimia dan farmakokinetik asam klorogenat dalam tubuh manusia?
- 4) Bagaimana hasil prediksi toksisitas asam klorogenat dalam tubuh manusia?