

Potensi Asam kafeat pada Kopi sebagai Simultan Gen *Peroxisme Proliferator-Activated Receptor Gamma* (PPAR- γ): Studi In Silico

 Yohanes Bare^a, Maria Helvina^b, Agustina Elizabeth^c, Dewi Ratih Tirto Sari^d
^aProgram Studi Pendidikan Biologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Nusa Nipa, Maumere, Sikka-NTT, Indonesia, email: bareyohanes@gmail.com
^bProgram Studi PGSD, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Nusa Nipa, Maumere, Sikka-NTT, Indonesia, email: helvinamaria@gmail.com
^cProgram Studi Pendidikan Fisika, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Nusa Nipa, Maumere, Sikka-NTT, Indonesia, email: ma.agustinaelizabeth@gmail.com
^dJurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya, Malang-Jawa Timur, Indonesia, email: dratih303@gmail.com

Artikel Ini Telah Diseminarkan Pada Seminar Nasional Saintek Unimor 2019

Article Info

Article history:

Received 21 November 2019

Received in revised form 23 November 2019

Accepted 26 November 2019

DOI:

<https://doi.org/10.32938/slk.v2i2.866>

Keywords:

 anti-diabetes
 asam kafeat
 diabetes mellitus
 in silico
 PPAR- γ

Abstrak

Tanaman kopi merupakan salah satu tanaman budidaya masyarakat Kabupaten Sikka. Kopi memiliki kandungan senyawa yang sangat dibutuhkan oleh manusia. Salah satunya adalah asam kafeat. Asam kafeat diketahui memiliki potensi sebagai anti inflamasi, antioksidan, dan menyembuhkan penyakit Diabetes melitus tipe 2 (DMT2). Gen *Peroxisme proliferator-activated receptor gamma* (PPAR- γ) memiliki peran dalam regulasi homeostasis gula, sehingga dapat mencegah terjadinya kondisi hiperglikemia, tetapi masih kurang studi molekuler tentang interaksi asam kafeat sebagai anti-diabetes secara molekuler. Tujuan penelitian ini untuk menganalisis dan memprediksi sifat fisiko kimia serta potensi asam kafeat sebagai anti-diabetes melalui interaksi asam kafeat dengan protein PPAR- γ secara *in silico*. Metode yang digunakan terdiri atas pengunduhan protein PPAR- γ melalui *protein data bank* (PDB) dan asam kafeat melalui database PubChem, persiapan protein (PPAR- γ) dan ligan (asam kafeat) dengan program PyRx, analisis interaksi protein dan ligan menggunakan program Hex 8.0 dan *Discovery Studio* 4.1. Hasil penelitian menunjukkan interaksi yang terjadi antara asam kafeat dan PPAR- γ menunjukkan peran sebagai anti-diabetes. Hal ini dibuktikan dengan adanya 11 residu asam amino (ASP441, LYS373, ASP396, LYS438, GLU407, PRO398, GLY399, ARG397, LEU400, GLY395, VAL403) yang mengikat asam klorogenat serta energinya -168,5cal/mol. Fungsi ini mengaktifkan GLUT2 dan GLUT4 sebagai jalur transportasi gula dalam dan di luar sel. Asam kafeat diprediksi memiliki potensi sebagai bahan alam dalam kopi yang dapat digunakan untuk terapi DMT2 dengan perawatan secara genetic (Nurtigenetik). Diperlukan penelitian lanjutan secara *in vivo* untuk mengetahui pengaruh asam kafeat terhadap penderita diabetes melitus tipe 2.

1. Pendahuluan

Revolusi industri yang terjadi pada didunia memiliki korelasi terhadap perkembangan pendidikan. Pada tahun 2010an diperkenalkan revolusi Industri 4.0 dengan kajian terhadap rekayasa intelegensia dan internet of thing sebagai tulang punggung pergerakan dan konektivitas manusia dan mesin (Prasetyo and Trisyanti, 2018; Risdianto, 2019). Era revolusi 4.0 menyebabkan penggunaan teknologi komputasi dan data yang tidak terbatas, berdampak terhadap perkembangan internet dan teknologi digital yang masif. Aktivitas manusia pada era 4.0 membawa pendidikan dan sains kedalam bidang ilmu pengetahuan dan teknologi (iptek) serta pendidikan tinggi. Salah satu visi penyusunan Making Indonesia 4.0 adalah menjadikan Indonesia masuk dalam 10 besar negara yang memiliki perekonomian terkuat di dunia pada tahun 2030 (Risdianto, 2019). Salah satu metode penelitian yang berbasis komputasi adalah *in silico*. Penggunaan metode ini bertujuan untuk menganalisis suatu senyawa kimia yang memiliki sifat dalam interaksinya. Tahapan analisis *in silico* dimulai memprediksi, memberi hipotesis, memberi penemuan baru atau kemajuan baru dalam pengobatan dan terapi (Hardjono, 2013). Uji *in silico* yang ering digunakan adalah docking, yang dilakukan dengan cara menginteraksikan senyawa kimia yang diduga obat dengan reseptor protein (Jensen, 2007). Metode *in silico* yang digunakan memiliki kelebihan mengurangi biaya penelitian eksperimen laboratorium. Salah satu tanaman yang di budidayakan di daerah Kabupaten Sikka adalah kopi. Tingginya permintaan kopi masyarakat Sikka menyebabkan tinggi pula proses budidaya. Data BPS Provinsi NTT tahun 2019 melaporkan terjadi peningkatan produksi kopi tahun 2004 hanya 201 ton menjadi 656 ton di tahun 2017. Pola konsumsi kopi dipagi hari dan sore merupakan kebiasaan masyarakat Sikka menjadi factor utama tingginya permintaan pasar di Indonesia. Biji kopi banyak mengandung komponen kimia seperti kafein, asam klorogenat dan trigonelin. Proses penyangraian yang dilakukan menyebabkan sebagian besar asam klorogenat menjadi asam kafeat dan asam kuanat (Aziz, 2009; Farhaty, 2016; Higdon and Frei, 2006; Yusianto and Nugroho, 2014). Asam kafeat merupakan turunan dari kelas Hydroxycinnamic acids kelompok asam fenolik (Farah and Carmen, 2006). Asam kafeat diketahui memiliki potensi sebagai anti inflamasi, antioksidan, dan menyembuhkan beberapa penyakit degenerative (Hall et al., 2015; Somporn et al., 2011). Diabetes melitus tipe 2 (DMT2) merupakan salah satu penyakit degeneratif yang ditandai dengan kondisi gula yang sangat tinggi didalam darah (*hyperglycemia*). Data World Health Organization (WHO) menunjukkan peningkatan penderita DMT2 dan saat ini Indonesia menempati peringkat 5 di kawasan South-East Asia Region (Bare et al., 2018; Syamsurizal, 2018). Pos Kupang melaporkan dari tahun 2015-2017 terdapat 468 kasus stroke di Kabupaten Sikka, 13,8% adalah penderita diabetes melitus (Moa, 2017). *Peroxisme proliferator-activated receptor gamma* (PPAR- γ) merupakan salah satu anggota sub tipe PPAR yang memiliki pola ekspresi yang berbeda dan berperan dalam regulasi homeostasis gula berdasarkan kebutuhan kebutuhan jaringan. PPAR- γ adalah bahan penting untuk diferensiasi adipose dan hipertrofi, serta memediasi aktivitas dari insulin (Tyagi et al., 2011). Penyembuhan DMT2 dimulai dengan mengkaji senyawa berbahan alam selain mudah didapatkan diharapkan bahan tersebut memiliki toksisitas yang rendah (Kesuma et al., 2018). Asam kafeat dari kopi memiliki potensi sebagai bahan alam yang dapat digunakan untuk terapi berbasis nutrigenomik. Nutrigenomik adalah kajian ilmu biologi mengkaji hubungan molekuler antara zat makanan terhadap respon gen, serta meramalkan potensi unsur-unsur tersebut yang memiliki pengaruh kesehatan manusia (Chávez and Muñoz de Chávez, 2003). Bare et al., (2018) dan

Bare and Fatchiyah (2018) terdapat perbedaan profil protein antara penderita DMT2 dan kondisi normal. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui potensi yang dimiliki oleh asam kafeat sebagai aktivator PPAR- γ , juga sebagai terapi genomic bagi penderita diabetes melitus.

2. Metode

Persiapan Ligan dan Protein

Protein model *Peroxisme proliferator-activated receptor gamma* (PPAR- γ) didapatkan dari database PDB pada alamat <http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>. (ID: 3CWD). Kemudian asam kafeat diperoleh dari database PubChem CID 689043. Asam kafeat didapatkan dengan cara mengkonstruksi ulang bentuk tiga dimensi menggunakan Canonical SMILES yang tersedia di database PubChem.

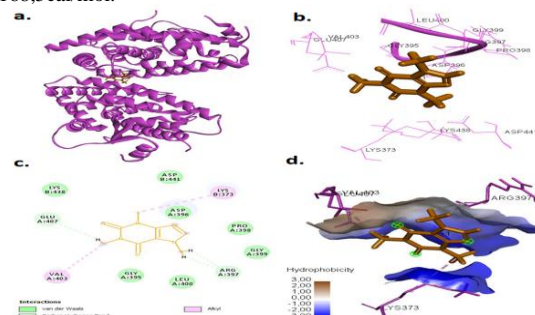
Minimalisir energi yang menghilangkan molekul air yang dimiliki Asam kafeat menggunakan perangkat lunak *PyRx virtual screening program Open Babel tool*. Dengan perangkat lunak PyRx digunakan untuk mengubah file SDF protein asam kafeat kedalam bentuk PDB format.

Moleculer Docking

Docking dilakukan dengan bantuan perangkat lunak *moleculer docking HEX 8.0*. Protein *Peroxisme proliferator-activated receptor gamma* (PPAR- γ) dan ligan Asam kafeat dimasukan kedalam perangkat lunak HEX 8.0 dan dijalankan perangkatnya. Hasilnya disimpan dalam bentuk file pdb. Hasil docking ligan dan protein dianalisis dan divisualisasikan dengan bantuan perangkat lunak *Discovery Studio* 4.1. Analisis yang dikaji adalah residu asam amino, ikatan hidrogen serta energi ikatan yang terbentuk antara ligan dan protein.

3. Hasil dan Pembahasan

Interaksi antar ligan-protein ditemukan terdapat 3 ikatan hidrogen yaitu pada residu asam amino GLU40 dan ARG397 (Gambar 1 dan Tabel 1). Selain itu ditemukan 11 residu asam amino yaitu ASP441, LYS373, ASP396, LYS438, GLU407, PRO398, GLY399, ARG397, LEU400, GLY395, VAL403 (Gambar 1). Terdapat ikatan hidropobik yang terbentuk pada residu asam amino LYS373 dan VAL403 (Gambar 2, Tabel 2). Energi yang terbentuk ikatan antara asam kafeat-*Peroxisme proliferator-activated receptor gamma* (PPAR- γ) sebesar -168,5cal/mol.



Gambar 1. Interaksi antara Asam Kafeatc dan *Peroxisme proliferator-activated receptor gamma* (PPAR- γ). a. Interaksi ligan dan Protein, b. Interaksi struktur 3D, c. Interaksi struktur 2D, d. Kompleks hydrophobicity.

Stimulasi PPAR- γ dalam pankreas menginduksi ekspresi GLUT2 dalam sel β (Lee et al., 2003). Selain itu sinyal α -adrenergik mengurangi transkripsi jalur protein kinase yang diaktifkan-mitogen, yang memiliki fungsi sebagai penekan

diferensiasi sel adiposa. Gen PPAR- γ memiliki fungsi metabolisme dengan mengkodekan fosfat gliserol dehidrogenase, GLUT2, GLUT4, dan FABP spesifik sel adiposa (aP2) (Lebovitz, 2001). Stimulasi PPAR- γ dalam pancreas karena aktivasi asam kafeat menginduksi ekspresi GLUT2 dalam sel β , mensekresi insulin utama serta mengurangi produksi glukosa hepatic dengan menghambat glukoneogenesis (Lee et al., 2003). Glukosa ditransfer ke dalam sel melalui GLUT2, GLUT2 memiliki K_m tinggi, dan afinitas rendah di alam sehingga mampu merasakan fluktuasi konsentrasi glukosa dalam darah manusia. Peningkatan ekspresi GLUT2 di hati akan meningkatkan glikolisis dan sintesis glikogen yang dapat diubah menjadi energi (Kim and Ahn, 2004)

Tabel 2. Interaksi antara Asam Kafeat dan protein *Peroxisome proliferator-activated receptor gamma* (PPAR- γ)

Int era ksi	Energi (cal/mol)	Nama	Jarak	Kategori	Ikatan Kimia	Kimi a	Ke Kimia
Ca ffei c aci d-PP A R- γ	-168,5	:LIG1:H - A:ARG39 7:O	2,415 73	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond	H-Donor	H-Acceptor
		:LIG1:H - A:ARG39 7:O	2,241 57	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond	H-Donor	H-Acceptor
		:LIG1:H - A:GLU40 7:OE2	2,623 09	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond	H-Donor	H-Acceptor
		:LIG1:C - B:LYS373	4,876 14	Hydrophobic	Alkyl	Alkyl	Alkyl
		:LIG1:C - A:VAL40 3	4,134 39	Hydrophobic	Alkyl	Alkyl	Alkyl

Interaksi asam kafeat pada DMT2 adalah aktivasi PPAR- γ dalam otok rangka berupa interaksi antara 11 residu asam amino dengan asam kafeat. Interaksi residu asam amino dan asam kafeat meningkatkan ekspresi GLUT4, meningkatkan kapitasi glukosa dari plasma serta menurunkan glikemia. Selain itu juga berfungsi mengurangi ekspresi gen piruvat dehidrogenase kinase-4, yang memfosforilasi dan menonaktifkan dehidrogenase piruvat. Ketika piruvat dehidrogenase kinase-4 diturunkan, kompleks dehidrogenase piruvat aktif dipertahankan, yang mendukung oksidasi glukosa (Carman et al., 2014; Lee et al., 2003). Armoni et al (2003) melaporkan secara in vitro gen PPAR- γ memiliki pengaruh terhadap regulasi transkripsi gen GLUT4 yaitu menekan aktivitas transkripsi dari promotor GLUT4 melalui pengikatan langsung dan spesifik dari heterodimer PPAR/RXR ke 66/163bp promotor GLUT4; dengan bantuan fosforilasi Ser¹² pada PPAR- γ selanjutnya gen yang diinduksi PPAR- γ diminimalisir oleh Rg, yang bertindak sebagai ligan *binding-domain*. Armoni et al., (2003) melaporkan implikasi klinis dan terapeutik yang penting, karena identifikasi promotor GLUT4 sebagai target PPAR- γ dan regulasi ekspresi gen GLUT4 akan memberikan terapi dan farmakologis yang lebih baik untuk pengobatan dan pencegahan diabetes melitus.

4. Simpulan

Asam kafeat diprediksi memiliki potensi sebagai anti-diabetes. Hal ini dengan adanya 11 residu asam amino (ASP441, LYS373, ASP396, LYS438, GLU407, PRO398, GLY399, ARG397, LEU400, GLY395, VAL403) yang mengikat asam klorogenat serta energinya -168,5cal/mol. Anti inflamasi ini diprediksi dapat mengaktifasi gen PPAR- γ , selanjutnya gen PPAR- γ menginduksi Gen GLUT2 dan GLUT4 untuk meningkatkan regulasi dan sintesis serta transportasi gula kedalam sel sehingga menjaga keseimbangan gula dalam darah.

Pustaka

Armoni, M., Kritz, N., Harel, C., Bar-Yoseph, F., Chen, H., Quon, M.J., Kamieli, E., 2003. Peroxisome Proliferator-activated Receptor- γ Represses *GLUT4* Promoter Activity in Primary Adipocytes, and Rosiglitazone Alleviates This Effect. *J. Biol. Chem.* 278, 30614–30623. <https://doi.org/10.1074/jbc.M304654200>

Aziz, T., 2009. Pengaruh Pelarut Heksana Dan Etanol, Volume Pelarut, Dan Waktu Ekstraksi Terhadap Hasil Ekstraksi Minyak Kopi 16, 8.

Bare, Y., Fatchiyah, F., 2018. Profil Protein pada Organ Tikus (*Rattus norvegicus*) Model Diabetes Melitus Tipe 2 (DMT2). *Biota* 11, 1–12. <https://doi.org/10.20414/jb.v11i1.95>

Bare, Y., Marhendra, A., Sasase, T., Fatchiyah, F., 2018. Differential Expression of IL-10 Gene and Protein in Target Tissues of *Rattus Norvegicus* Strain Wistar Model Type 2 Diabetes Mellitus (T2DM). *Acta Inform. Medica* 26, 87. <https://doi.org/10.5455/aim.2018.26.87-92>

Carman, A.J., Dacks, P.A., Lane, R.F., Shineman, D.W., Fillit, H.M., 2014. Current evidence for the use of coffee and caffeine to prevent age-related cognitive decline and Alzheimer's disease. *J. Nutr. Health Aging* 18, 383–392. <https://doi.org/10.1007/s12603-014-0021-7>

Chávez, A., Muñoz de Chávez, M., 2003. Nutrigenomics in public health nutrition: short-term perspectives. *Eur. J. Clin. Nutr.* 57, S97–S100. <https://doi.org/10.1038/sj.ejcn.1601809>

Farah, A., Carmen, M.D., 2006. Phenolic Coumpounds in Coffee. *Braz. J. Plant Physiol.* 18, 23–26.

Farhady, N., 2016. Tinjauan Kimia Dan Aspek Farmakologi Senyawa Asam Klorogenat Pada Biji Kopi: Review 14, 14. <https://doi.org/10.24198/jf.v14i1.10769>

Hall, S., Desbrow, B., Anoopkumar-Dukie, S., Davey, A.K., Arora, D., McDermott, C., Schubert, M.M., Perkins, A.V., Kiefel, M.J., Grant, G.D., 2015. A review of the bioactivity of coffee, caffeine and key coffee constituents on inflammatory responses linked to depression. *Food Res. Int.* 76, 626–636. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.07.027>

Hardjono, S., 2013. Sintesis dan Uji Aktivitas Antikanker Senyawa 1-(2-KLOROBENZOILOKSI) Urea dan 1-(4-KLOROBENZOILOKSI) Urea 6.

Higdon, J.V., Frei, B., 2006. Coffee and Health: A Review of Recent Human Research. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 46, 101–123. <https://doi.org/10.1080/10408390500400009>

Jensen, F., 2007. Introduction to Computational Chemistry, 2nd Ed. Odense, Denmark.

Kesuma, D., Siswandono, S., Purwanto, B.T., Hardjono, S., 2018. Uji in silico Aktivitas Sitotoksik dan Toksisitas Senyawa Turunan N-(Benzoil)-N'-feniltiourea Sebagai Calon Obat Antikanker. *JPSCR J. Pharm. Sci. Clin. Res.* 3, 1. <https://doi.org/10.20961/jpscr.v3i1.16266>

Kim, H. -i., Ahn, Y. -h., 2004. Role of Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- in the Glucose-Sensing Apparatus of Liver and -Cells. *Diabetes* 53, S60–S65. <https://doi.org/10.2337/diabetes.53.2007.S60>

Lebovitz, H.E., 2001. Insulin Resistance and Its Treatment by Thiazolidinediones. *Recent Prog. Horm. Res.* 56, 265–294. <https://doi.org/10.1210/rp.56.1.265>

Lee, C.-H., Olson, P., Evans, R.M., 2003. Minireview: Lipid Metabolism, Metabolic Diseases, and Peroxisome Proliferator-Activated Receptors. *Endocrinology* 144, 2201–2207. <https://doi.org/10.1210/en.2003-0288>

Moa, E., 2017. Setiap Bulan 20 Warga Kabupaten Sikka Terkena Stroke Artikel ini telah tayang di pos-kupang.com dengan judul Setiap Bulan 20 Warga Kabupaten Sikka Terkena Stroke. URL <https://kupang.tribunnews.com/2017/10/30/setiapbulan20wargakabupaten-sikkaterkenastroke?page=2> (accessed 7.22.19).

Prasetyo, B., Trisyanti, U., 2018. Revolusi Industri 4.0 Dan Tantangan Perubahan Sosial. *Pros. SEMATEKSOS 3* “Strategi Pembang. Nas. Menghadapi Revolusi Ind. 40.”

Risdiyanto, E., 2019. Analisis Pendidikan Indonesia Di Era Revolusi Industri 4.0 16.

Somporn, C., Kamtuo, A., Theerakulpisut, P., Siriamornpun, S., 2011. Effects of roasting degree on radical scavenging activity, phenolics and volatile compounds of Arabica coffee beans (*Coffea arabica* L. cv. Catimor): Roasting degree on radical-scavenging activity. *Int. J. Food Sci. Technol.* 46, 2287–2296. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2011.02748.x>

Syamsurizal, S., 2018. Type-2 Diabetes Mellitus of Degenerative Disease. *Bioscience* 2, 34. <https://doi.org/10.24036/02018219980-0-00>

Tyagi, S., Sharma, S., Gupta, P., Saini, A., Kaushal, C., 2011. The peroxisome proliferator-activated receptor: A family of nuclear receptors role in various diseases. *J. Adv. Pharm. Technol. Res.* 2, 236. <https://doi.org/10.4103/2231-4040.90879>

Yusianto, Nugroho, D., 2014. Physical and Flavor Profiles of Arabica Coffee as Affected by Cherry Storage Before Pulping. *Pelita Perkeb. Coffee Cocoa Res. J.* 30, 137–158. <https://doi.org/10.22302/iccri.jur.pelita.perkebunan.v30i2.7>