

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI GEN ANTOSIANIDIN SINTASE
(*OsANS*) SERTA PENENTUAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN PADA
MUTAN BERAS HITAM SIDENUK (*Oryza sativa* var. *sidenuk*)**

TESIS



**PROGRAM STUDI MAGISTER KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG
2025**

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI GEN ANTOSIANIDIN SINTASE
(*OsANS*) SERTA PENENTUAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN PADA
MUTAN BERAS HITAM SIDENUK (*Oryza sativa* var. *sidenuk*)**

TESIS



**PROGRAM STUDI MAGISTER KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG
2025**

HALAMAN PERSETUJUAN

Judul Tesis : ISOLASI DAN KARAKTERISASI GEN ANTOSIANIDIN SINTASE (*OsANS*) SERTA PENENTUAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN PADA MUTAN BERAS HITAM SIDENUK (*Oryza sativa* var. *sidenuk*)

Nama Mahasiswa : ADITYA NUGRAHA RESPATI

Nomor BP. : 2220412001

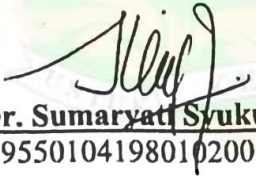
Program Studi : S2 Kimia

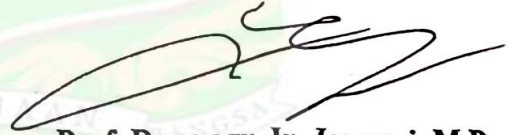
Tesis ini telah diuji dan dipertahankan di depan sidang panitia ujian akhir Magister pada Program Studi MAGISTER KIMIA, Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Andalas, dan dinyatakan lulus pada tanggal 20 Januari 2025.

Menyetujui

Pembimbing I

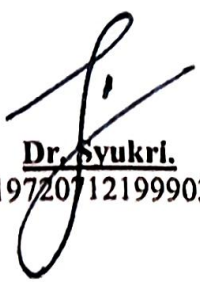
Pembimbing II



Prof. Dr. Sumaryati Syukur
NIP: 195501041980102001


Prof. Dr.sc.agr. Ir. Jamsari, M.P.
NIP: 196802021992031003

Ketua Departemen Kimia

Ketua Program Studi Magister Kimia


Dr. Syukri.
NIP: 197207121999031002


Prof. Dr. Zulhadjri
NIP: 197102051997021001

ISOLASI DAN KARAKTERISASI GEN ANTOSIANIDIN SINTASE (*OsANS*) SERTA PENENTUAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN PADA MUTAN BERAS HITAM SIDENUK (*Oryza sativa* var. *sidenuk*)

Oleh: Aditya Nugraha Respati (2220412001)

(Dibawah bimbingan: Prof. Dr. Sumaryati Syukur, MSc dan Prof. Dr. sc.agr. Ir. Jamsari, M.P.)

ABSTRAK

Mutan beras hitam Sidenuk merupakan pengembangan terbaru dari Beras Sidenuk yang telah diketahui unggul dalam produksi beras tinggi dan tahan terhadap hama. Telah diketahui bahwa warna hitam pada beras disebabkan oleh senyawa antosianin. Antosianidin sintase (*OsANS*; EC: 1.14.20.4) merupakan salah satu enzim kunci dalam jalur biosintesis antosianin pada tanaman padi. Penelitian mengenai gen penyandi antosianidin sintase (*OsANS*) pada mutan beras hitam Sidenuk belum pernah dilakukan. Oleh sebab itu, penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengkarakterisasi sekuens DNA gen antosianidin sintase (*OsANS*), serta menentukan aktivitas antioksidan pada mutan beras hitam Sidenuk. DNA genom diisolasi sesuai dengan prosedur dari GeneJET Genomic DNA Purification Kit. DNA gen antosianidin sintase (*OsANS*) mutan padi Sidenuk diamplifikasi menggunakan PCR dengan *primer* hasil rancangan penulis. Karakter gen antosianidin sintase (*OsANS*) diketahui dengan analisis sekuens DNA, pembuatan pohon filogenetik, pembuatan prediksi struktur protein, dan analisis daerah domain protein. Kandungan antosianin diketahui dengan metode total kandungan antosianin monomerik. Kandungan antioksidan diketahui dengan metode DPPH. Gen antosianidin sintase (*OsANS*) mutan beras hitam Sidenuk dengan panjang total 1582 bp telah berhasil diisolasi menggunakan metode PCR dengan tiga *primer* baru (*primer* 1, 3, dan 4) yang dirancang oleh tim penulis. Gen antosianidin sintase (*OsANS*) mutan beras hitam Sidenuk termasuk ke dalam antosianidin sintase tipe leucoantosianidin dioksigenase 1. Enzim antosianidin sintase mutan beras hitam Sidenuk memiliki kemiripan struktur protein sebesar 96,53% dengan template UniProt berkode Q93VC3 dan tergolong dalam family enzim oksigenase bergantung 2-oksoglutarat (2OG) and Fe(II). Mutan beras hitam dan putih Sidenuk sama-sama memiliki memiliki gen antosianidin sintase (*OsANS*), namun adanya perubahan (mutasi) basa G (GCT) menjadi C (CCT) pada basa ke-37 atau basa ke-75 sebelum start kodon (5'UTR), menyebabkan mutan beras hitam Sidenuk mengandung senyawa antosianin, tetapi tidak dengan beras putih. Namun, pernyataan tersebut perlu dibuktikan lebih lanjut. Sianidin 3-glukosida merupakan senyawa antosianin terbanyak pada mutan beras hitam Sidenuk, dengan kandungan antosianin total sebesar 1,074 mg/g. Aktivitas antioksidan mutan beras hitam Sidenuk tergolong sangat kuat dengan nilai IC50 sebesar 36,027 ppm.

Kata kunci: antioksidan, antosianidin sintase, antosianin, leucoantosianidin dioksigenase, mutan beras hitam Sidenuk

**ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF ANTHOCYANIDIN
SYNTHASE (OsANS) GENE AND DETERMINATION OF
ANTIOXIDANT ACTIVITY IN SIDENUK BLACK RICE MUTANTS
(*Oryza sativa* var. *sidenuk*)**

By: Aditya Nugraha Respati (2220412001)

(Supervised by: Prof. Dr. Sumaryati Syukur, MSc and Prof. Dr. sc.agr. Ir. Jamsari,
M.P.)

ABSTRACT

Sidenuk black rice mutant is the latest development of Sidenuk Rice which is known to be superior in high rice production and resistant to pests. It is known that the black color of rice is caused by anthocyanin compounds. Anthocyanidin synthase (OsANS; EC: 1.14.20.4) is one of the key enzymes in the anthocyanin biosynthesis pathway in rice plants. Research on the anthocyanidin synthase (OsANS) gene in Sidenuk black rice mutants has never been conducted. Therefore, this study aims to isolate and characterize the DNA *sequence* of the anthocyanidin synthase (OsANS) gene, as well as to determine the antioxidant activity in Sidenuk black rice mutants. Genomic DNA was isolated according to the procedure of the GeneJET Genomic DNA Purification Kit. The DNA of the anthocyanidin synthase (OsANS) gene of Sidenuk rice mutants was amplified using PCR with *primers* designed by the author. The character of the anthocyanidin synthase (OsANS) gene was known by DNA *sequence* analysis, phylogenetic tree construction, protein structure prediction, and protein domain region analysis. The anthocyanin content is known by the total monomeric anthocyanin content method. The antioxidant content is known by the DPPH method. The anthocyanidin synthase gene (OsANS) of the Sidenuk black rice mutant with a total length of 1582 bp has been successfully isolated using the PCR method with three new *primers* (*primers* 1, 3, and 4) designed by the author's team. The anthocyanidin synthase gene (OsANS) of Sidenuk black rice mutant belongs to the anthocyanidin synthase type leucoanthocyanidin dioxygenase 1. The anthocyanidin synthase enzyme of Sidenuk black rice mutant has a protein structure similarity of 96.53% with the UniProt template coded Q93VC3 and the like in the 2-oxoglutarate (2OG) and Fe(II) dependent oxygenase enzyme family. Sidenuk black and white rice mutants both have the anthocyanidin synthase gene (OsANS), but there is a change (mutation) of the G base (GCT) to C (CCT) at the 37th base or 75th base before the start codon (5' UTR), causing the Sidenuk black rice mutant to contain anthocyanin compounds, but not in white rice. However, this statement needs to be proven further. Cyanidin 3-glucoside is the most abundant anthocyanin compound in Sidenuk black rice mutants, with a total anthocyanin content of 1.074 mg/g. The antioxidant activity of Sidenuk black rice mutants is classified as very strong with an IC₅₀ value of 36.027 ppm.

Keywords: antioxidants, anthocyanidin synthase, anthocyanin, leucoanthocyanidin dioxygenase, Sidenuk black rice mutants