

**ANALISIS POTENSI ANTIOKSIDAN DAUN KETEPENG CINA
(*Senna alata* L.) TERHADAP KANKER PAYUDARA MELALUI
JALUR p53 DENGAN METODE *MOLECULAR DOCKING* DAN
UJI DPPH (*1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl*)**

SKRIPSI



Oleh:

EDYSTI
2208260153

**FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SUMATERA UTARA
MEDAN
2026**

**ANALISIS POTENSI ANTIOKSIDAN DAUN KETEPENG CINA
(*Senna alata* L.) TERHADAP KANKER PAYUDARA MELALUI
JALUR p53 DENGAN METODE *MOLECULAR DOCKING* DAN
UJI DPPH (*1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl*)**

*Skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh
kelulusan sarjana kedokteran*



Oleh :

EDYSTI

2208260127

**FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SUMATERA UTARA
MEDAN
2026**



HALAMAN PENGESAHAN

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Skripsi ini diajukan oleh

Nama : EDYSTI

NPM 2208260153

Judul : ANALISIS POTENSI ANTIOKSIDAN DAUN KETEPENG
CINA (*Senna alata* L.) TERHADAP KANKER PAYUDARA
MELALUI JALUR p53 DENGAN METODE MOLECULAR
DOCKING DAN UJI DPPH (1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl)

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara.

DEWAN PENGUJI

Pembimbing

(dr. Yenita, M.Biomed., Sp.KKLP.)

Penguji 1

(Dr. Emni Purwoningsih, S.Pd., M.Kes.)

Penguji 2

(dr. Qarina Hasyala Putri, M.Biomed.)

Mengetahui



Dekan FK UMSU

(dr. Siti Mashiana Siregar, Sp. THT-KL., Subsp.Rino(K))

NIDN : 0106098201

Ketua Program Studi
Pendidikan Dokter FK UMSU

(dr. Desi Isnayanti, M.Pd.Ked)

NIDN : 0112098605

Ditetapkan di : Medan

Tanggal : 2 September 2026

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Saya yang bertanda tangan dibawah ini menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk telah saya nyatakan benar.

Nama : EDYSTI

NPM : 2208260153

Judul Skripsi : ANALISIS POTENSI ANTIOKSIDAN DAUN KETEPENG CINA (*Senna alata L.*) TERHADAP KANKER PAYUDARA MELALUI JALUR p53 DENGAN METODE *MOLECULAR DOCKING* DAN UJI DPPH (*1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl*)

Demikian pernyataan ini saya buat, untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Medan, 8 September 2026



EDYSTI

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Puji dan syukur saya ucapkan kepada Allah Subhanahu Wata'ala karena atas izin, berkat, rahmat, dan karunia-Nya, saya dapat menyelesaikan penelitian berjudul “Analisis Potensi Antioksidan Daun Ketepeng Cina (*Senna alata* L.) Terhadap Kanker Payudara Melalui Jalur p53 Dengan Metode *Molecular Docking* Dan Uji DPPH (*1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl*)” sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran (S.Ked.) pada Program Studi S1 Pendidikan Dokter di Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara.

Shalawat beserta salam saya panjatkan kepada Rasulullah SAW yang telah menuntun kita dari zaman jahiliah menuju zaman Islam yang penuh dengan ilmu pengetahuan seperti sekarang ini. Dalam menyusun karya tulis ini, saya menyadari bahwa tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak, saya tidak akan mampu menyelesaikan penelitian ini. Oleh karena itu, saya mengucapkan terima kasih kepada seluruh pihak yang telah membantu dan membimbing saya dalam proses penelitian, antara lain:

1. dr. Siti Masliana Siregar, Sp.THT-KL., Subsp. Rhino(K), selaku Dekan Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara.
2. dr. Desi Isnayanti, M.Pd.Ked., selaku Ketua Program Studi Pendidikan Dokter Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara.
3. dr.H.Mistar Ritonga, Sp.FM(K).MH.Kes, selaku dosen pembimbing akademik saya yang selalu memberikan arahan dan bimbingan selama masa preklinik.
4. dr. Yenita, M.Biomed., Sp.KKLP., selaku dosen pembimbing skripsi saya yang telah memberikan waktu, ilmu, arahan, serta bimbingan dalam penyusunan skripsi ini dengan penuh kesabaran.
5. Dr. Emni Purwoningsih, S.Pd., M.Kes., selaku dosen penguji I saya yang telah memberikan ilmu, koreksi, kritik, serta saran yang membangun demi

penyempurnaan skripsi ini.

6. dr. Qarina Hasyala Putri, M.Biomed., selaku dosen penguji II saya yang telah memberikan ilmu, koreksi, kritik, serta saran yang membangun demi penyempurnaan skripsi ini.
7. Ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya saya sampaikan, teristimewa kepada surga saya, yaitu kedua orang tua tercinta, Ayah Temu dan Ibu Nur Haidah, yang telah memberikan seluruh kasih sayang, doa, dukungan, serta pengorbanan baik secara moral maupun material sejak saya lahir hingga saat ini. Terima kasih karena selalu mendoakan dan memberikan semangat dalam setiap proses pendidikan yang saya jalani sehingga saya dapat menyelesaikan skripsi ini.
8. Kepada abang dan kakak saya tercinta yang selalu memberikan doa, semangat, dukungan, serta motivasi kepada saya dalam setiap langkah selama menempuh pendidikan.
9. Kepada anak-anak saya tercinta, Kalif dan Kakak Aya, yang selalu menjadi penyemangat, penghibur, dan sumber kebahagiaan bagi saya selama proses penyusunan skripsi ini.
10. Kepada dr. Suhendra dan dr. Fathinia Masyulani, M.Biomed., yang telah memberikan ilmu, arahan, dukungan, serta motivasi kepada saya selama proses pendidikan dan penyusunan skripsi ini.
11. Sahabat tercinta saya yang tergabung dalam Seis Bijou, yaitu Janet, Sardip, Vina, Molet, dan Ade. Terima kasih telah menjadi bagian dari perjalanan hidup saya selama masa perkuliahan. Terutama kepada Janet yang telah menjadi sahabat saya selama tujuh tahun dan telah menemani saya tinggal satu rumah. Terima kasih karena selalu ada dalam suka maupun duka. Semoga persahabatan kita tetap terjalin hingga sama-sama menjadi dokter, dan semoga semua doa serta harapan yang pernah kita ucapkan bersama di Vario Geder dapat terwujud. Aamiin. Terima kasih juga kepada Sardip yang selalu menjadi "mami" bagi kami semua, Vina yang akan menjadi teman seperjuangan saya selama menjalani masa koas, Molet yang selalu membuat saya kesal namun juga menghadirkan tawa dan kebahagiaan, serta Ade yang

paling kalem di antara kami berenam dan selalu memberikan dukungan dalam setiap keadaan. Terima kasih atas kebersamaan, doa, semangat, perhatian, serta kenangan indah yang telah kita lalui bersama.

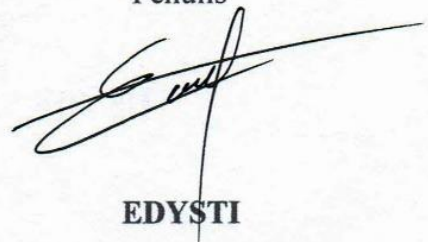
12. Terima kasih kepada sahabat saya Zahira, Tika, Wawa, dan Kia yang selalu memberikan dukungan, semangat, doa, serta menjadi teman berbagi suka dan duka selama perjalanan pendidikan ini.
13. Seluruh rekan-rekan seperjuangan, sejawat Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara angkatan 2022.
14. Kepada seluruh dosen pengajar dan staf pegawai Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara yang telah memberikan ilmu, bimbingan, serta membantu saya selama menjalani pendidikan hingga penyelesaian skripsi ini. Serta seluruh pihak lain yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu. Atas segala bentuk dukungan dan bantuan yang telah diberikan, penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya. Penulis berharap karya tulis ini dapat memberikan manfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan, almamater, serta bangsa dan negara, khususnya dalam bidang kedokteran.

Penulis menyadari bahwa karya tulis ini masih memiliki keterbatasan dan kekurangan dalam berbagai aspek. Oleh karena itu, penulis dengan penuh kerendahan hati mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun demi penyempurnaan karya tulis ini di masa yang akan datang.

Wassalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh.

Medan, 8 September 2026

Penulis



EDYSTI

**PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI SKRIPSI UNTUK
KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademis Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara,
saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : EDYSTI

NPM : 2208260153

Fakultas : Kedokteran dan Ilmu Kesehatan

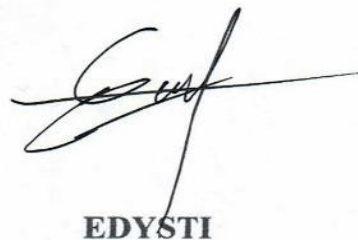
Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara Hak Bebas Royalti Noneksklusif atas skripsi saya yang berjudul “Analisis Potensi Antioksidan Daun Ketepeng Cina (*Senna alata* L.) Terhadap Kanker Payudara Melalui Jalur p53 Dengan Metode *Molecular Docking* Dan Uji DPPH (1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl)” Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara berhak menyimpan, mengalih media/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (databas), merawat dan mempublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Medan

Pada tanggal : 8 september 2026

Yang menyatakan,



EDYSTI

ABSTRAK

Latar Belakang: Kanker payudara merupakan salah satu penyebab utama kematian pada perempuan di dunia. Daun Ketepeng cina (*Senna alata* L.) mengandung senyawa *Chrysophanol* yang memiliki aktivitas antioksidan dan berpotensi sebagai agen antikanker melalui interaksi dengan protein p53. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun ketepeng cina menggunakan metode DPPH serta mengetahui potensi interaksi senyawa *Chrysophanol* terhadap protein p53 melalui metode *molecular docking*. **Metode:** Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik. Aktivitas antioksidan diuji menggunakan metode DPPH pada panjang gelombang 517 nm. Vitamin C digunakan sebagai kontrol positif dengan konsentrasi 10–40 ppm, sedangkan ekstrak etanol daun Ketepeng cina diuji pada konsentrasi 100–800 ppm. Analisis aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan uji *Mann–Whitney*. Analisis *molecular docking* dilakukan untuk mengetahui afinitas ikatan senyawa *Chrysophanol* terhadap protein p53 dengan *Docetaxel* sebagai senyawa pembanding. **Hasil:** Vitamin C menunjukkan aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak etanol daun Ketepeng cina. Aktivitas antioksidan tertinggi ekstrak etanol daun Ketepeng cina diperoleh pada konsentrasi 200 ppm. Hasil uji *Mann–Whitney* menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan pada konsentrasi perlakuan dengan nilai $p = 0,029$, sedangkan pada persen inhibisi tidak terdapat perbedaan yang signifikan dengan nilai $p = 0,686$. Hasil *molecular docking* menunjukkan bahwa *Chrysophanol* memiliki energi pengikatan sebesar $-4,77$ kcal/mol, konstanta inhibisi $319,05 \mu\text{M}$, dan RMSD $1,989 \text{ \AA}$, sedangkan *Docetaxel* memiliki energi pengikatan $-2,47$ kcal/mol, konstanta inhibisi $15.340 \mu\text{M}$, dan RMSD $2,597 \text{ \AA}$. **Kesimpulan:** Ekstrak etanol daun Ketepeng cina memiliki aktivitas antioksidan dan senyawa *Chrysophanol* menunjukkan afinitas ikatan yang lebih baik terhadap protein p53 dibandingkan *Docetaxel*, sehingga berpotensi dikembangkan sebagai kandidat agen antikanker berbasis bahan alam.

Kata kunci: *Senna alata* L., *Chrysophanol*, DPPH, *molecular docking*, p53.

ABSTRACT

Background: Breast cancer is one of the leading causes of death among women worldwide. Ketepeng cina leaves (*Senna alata* L.) contain Chrysophanol, a compound with antioxidant activity and potential anticancer effects through interaction with the p53 protein. **Objective:** This study aimed to determine the antioxidant activity of ethanol extract of Ketepeng cina leaves using the DPPH method and to investigate the potential interaction of Chrysophanol with the p53 protein through molecular docking. **Methods:** This study was a laboratory experimental study. Antioxidant activity was evaluated using the DPPH method at a wavelength of 517 nm. Vitamin C was used as a positive control at concentrations of 10–40 ppm, while the ethanol extract of Ketepeng cina leaves was tested at concentrations of 100–800 ppm. Antioxidant activity was analyzed using the Mann–Whitney test. Molecular docking analysis was performed to determine the binding affinity of Chrysophanol to the p53 protein, with Docetaxel used as a reference compound. **Results:** Vitamin C demonstrated higher antioxidant activity than the ethanol extract of Ketepeng cina leaves. The highest antioxidant activity of the ethanol extract was obtained at a concentration of 200 ppm. The Mann–Whitney test showed a significant difference in treatment concentrations ($p = 0.029$), whereas no significant difference was observed in the percentage of inhibition ($p = 0.686$). Molecular docking results showed that Chrysophanol had a binding energy of -4.77 kcal/mol, an inhibition constant of 319.05 μ M, and an RMSD of 1.989 Å, whereas Docetaxel had a binding energy of -2.47 kcal/mol, an inhibition constant of $15,340$ μ M, and an RMSD of 2.597 Å. **Conclusion:** The ethanol extract of Ketepeng cina leaves demonstrated antioxidant activity, and Chrysophanol showed better binding affinity to the p53 protein than Docetaxel, indicating its potential as a natural-product-based anticancer candidate.

Keywords: *Senna alata* L., Chrysophanol, DPPH, molecular docking, p53.

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR	i
PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI SKRISPSI UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS	v
ABSTRAK	vi
ABSTRACT	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	xxv
DAFTAR GAMBAR	xxvii
DAFTAR LAMPIRAN	xxviii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan umum.....	4
1.4 Tujuan khusus.....	4
1.5 Manfaat Penelitian	4
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Ketepeng Cina (<i>Senna alata L</i>)	6
2.1.1 Morfologi Tumbuhan.....	6
2.1.2 Taksonomi Tanaman Ketepeng Cina.....	7
2.1.3 Manfaat Daun Ketepeng Cina	7
2.1.4 Kandungan Daun Ketepeng Cina.....	7
2.2 Kanker Payudara	9
2.2.1 Definisi.....	9

2.2.2 Epidemiologi	9
2.2.3 Faktor Risiko	10
2.2.4 Klasifikasi Kanker Payudara	11
2.2.5 Patogenesis	12
2.3 Protein p53	13
2.4 Uji Aktivitas Antioksidan	15
2.5 <i>Molecular Docking</i>	17
2.6 Kerangka Teori	18
2.7 Kerangka Konsep	19
2.8 Hipotesis	19
BAB 3 METODE PENELITIAN	20
3.1 Definisi Operasional	20
3.2 Jenis Penelitian	20
3.3. Waktu penelitian	21
3.4. Tempat Penelitian	21
3.5. Populasi Penelitian.....	21
3.6. Sampel Penelitian	22
3.7. Metode Penelitian	22
3.7.1 Metode Uji DPPH.....	22
3.7.2 Metode In Silico (<i>Molecular Docking</i>)	25
3.8 Pengolahan dan Analisis Data	27
3.8.1 Pengumpulan dan Analisis Data DPPH	27
3.8.2 Pengolahan Data dan Analisis <i>Molecular Docking</i>	28
3.9 Alur penelitian <i>Molecular Docking</i> dan Uji DPPH	29

BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN	30
4.1 Hasil Penelitian	30
4.1.1 Hasil Ekstraksi Daun Ketepeng Cina dalam Pelarut Etanol	30
4.1.2 Absorbansi dan Persen Inhibisi.	30
4.1.3 Analisis Univariate	34
4.1.4 Analisa Bivariat	36
4.2 Hasil Analisis <i>Molecular Docking</i>	39
4.2.1 Hasil Pencarian Data Struktur Protein	39
4.2.2 Hasil Pencarian Data Senyawa Aktif	39
4.2.3 Hasil Analisis Interaksi Antara Protein dan Ligand	41
4.2.4 Hasil Visualisasi Ligand-Protein Complex	43
4.3 Pembahasan	44
BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN	49
5.1 Kesimpulan	49
5.2 Saran	50
DAFTAR PUSTAKA	51

DAFTAR TABEL

Tabel 3.1 Definisi operasional	20
Tabel 3.2 Waktu penelitian	21
Tabel 4.1 Hasil Ekstraksi daun ketepeng cina	30
Tabel 4.2 Nilai Absorbansi Dan Persentase Inhibisi Vitamin C	31
Tabel 4.3 Nilai Absorbansi Dan Persen Inhibisi Ekstrak Etanol Daun Ketepeng Cina (<i>Senna alata L.</i>)	31
Tabel 4.4 Statistik Deskriptif Konsentrasi	34
Tabel 4.5 Statistik Deskriptif persen inhibisi	35
Tabel 4.6 Distribusi Uji Normalitas Data	36
Tabel 4.7 Uji Homogenitas Varian (<i>Levene's Test</i>)	37
Tabel 4.8 Uji Mann-Whitney	38
Tabel 4.9 Validasi Grid box protein p53	42
Tabel 4.10 Hasil energi pengikatan (EP (kcal/mol)), konstanta penghambatan (KP (uM)), dan RMSD (Å) antara protein p53 terhadap ligan	42

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Tanaman ketepeng cina (<i>Senna alata</i> L.) ¹⁹	6
Gambar 2.2 Struktur senyawa <i>chrysophanol</i>	9
Gambar 2.3 Patogenesis	13
Gambar 2.4 Rumus bangun DPPH	16
Gambar 4.1 Perubahan Warna Larutan yang di reaksi dengan DPPH	30
Gambar 4.2 Grafik Hubungan Konsentrasi Vitamin C Terhadap Persen Inhibisi Radikal Bebas DPPH	33
Gambar 4.3 Grafik Hubungan Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Ketepeng Cina (<i>Senna alata</i> L.) Terhadap Persen Inhibisi Radikal Bebas DPPH	34
Gambar 4.4. Struktur protein p53 (7B4N)	39
Gambar 4.5 Struktur senyawa <i>Chrysophanol</i> ; A. 3 dimensi; B. 2 dimensi.	40
Gambar 4.6 Struktur senyawa <i>Docetaxel</i> 2 dimensi.	40
Gambar 4.7 Struktur senyawa QNN native ligand dari p53; A. 2 dimensi; B. keberadaan senyawa QNN sebagai native ligands dari p53 (kotak kuning)	41
Gambar 4.8 Visualisasi 3D dan 2D dari: A. P53- <i>Chrysophanol</i> ; B. P53- <i>Docetaxel</i>	43

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Surat <i>Etichal Clearance</i>	60
Lampiran 2 Surat Izin Penelitian.....	61
Lampiran 3 Surat Keterangan Selesai Penelitian	62
Lampiran 4 Perhitungan rata rata absorbansi dan persen inhibisi.....	63
Lampiran 5 Data SPSS.....	67
Lampiran 6 Dokumentasi.....	70

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kanker masih menjadi salah satu permasalahan kesehatan global yang berkontribusi besar terhadap angka kematian. Beban penyakit ini juga menunjukkan kecenderungan meningkat, yang ditandai dengan bertambahnya jumlah kasus dari tahun ke tahun.¹ Penyakit ini ditandai oleh pertumbuhan dan perkembangan sel maupun jaringan yang berlangsung cepat dan tidak terkendali. Kondisi tersebut dapat mengganggu berbagai proses metabolisme dalam tubuh serta memungkinkan terjadinya penyebaran sel kanker ke jaringan atau organ lain.^{2,3}

Perempuan memiliki risiko yang cukup tinggi terhadap kejadian kanker, terutama kanker payudara. Laporan *International Agency for Research on Cancer* (IARC) tahun 2024 mencatat sebanyak 209.748 kasus kanker payudara di Indonesia dalam periode lima tahun terakhir, dengan angka kematian mencapai 14,4%.⁴ Pada tahun 2022, kanker payudara tercatat menyebabkan sekitar 670.000 kematian di seluruh dunia. Sekitar setengah dari kasus tersebut ditemukan pada wanita yang tidak mempunyai faktor risiko tertentu selain usia dan jenis kelamin. Berdasarkan informasi dari *World Health Organization* (WHO), kanker payudara menjadi salah satu jenis kanker yang paling banyak dijumpai pada wanita di 157 dari 185 negara.⁵ Secara global, kanker payudara berada pada posisi kedua berdasarkan jumlah kasus, sedangkan di Indonesia, penyakit ini menempati urutan pertama sebagai jenis kanker dengan jumlah kasus terbanyak. Laporan *Global Cancer Observatory* (GLOBOCAN) tahun 2022 menunjukkan bahwa Indonesia berada di peringkat ke-8 berdasarkan jumlah kasus kanker payudara.^{6,7}

Kanker payudara (*carcinoma mammae*) merupakan keganasan yang berkembang pada jaringan payudara dan dapat berasal dari *epitel duktus* maupun *lobulus*. Terjadinya kanker berkaitan dengan hilangnya kemampuan sel dalam mempertahankan kontrol serta mekanisme normalnya, sehingga pertumbuhan sel berlangsung secara tidak normal, cepat, dan sulit dikendalikan.⁸ Sel yang mengalami perubahan abnormal pada jaringan payudara dapat terus mengalami pertumbuhan dan perkembangan hingga menghasilkan suatu massa atau benjolan

yang disebut tumor.⁹ Apabila benjolan tersebut tidak mendapatkan penatalaksanaan yang tepat atau pertumbuhannya tidak dapat dikendalikan, kondisi tersebut dapat berkembang menjadi kanker dan menyebar (*metastasis*) ke berbagai bagian tubuh lainnya serta berisiko menyebabkan kematian. Pada kanker payudara, penyebaran sel kanker dapat terjadi pada beberapa organ tubuh, dengan lokasi metastasis yang sering ditemukan meliputi paru dan pleura (15–20%), tulang (20–60%), hati (5–15%), otak (5–10%), serta metastasis lokal/regional (20–40%).^{10,11,12}

Salah satu jalur penting yang berperan penting dalam mengatur proses pertumbuhan dan kematian sel kanker adalah jalur p53. Protein p53 dikenal sebagai tumor suppressor atau protein penekan tumor yang berperan dalam pengendalian siklus sel, perbaikan kerusakan DNA, serta pemicu *apoptosis* (kematian sel terprogram) pada sel yang mengalami kerusakan genetik.¹¹ Namun, pada berbagai jenis kanker, termasuk kanker payudara, fungsi p53 dapat mengalami gangguan akibat perubahan atau mutasi pada gen TP53 serta gangguan interaksinya dengan molekul lain. Kondisi tersebut dapat menyebabkan sel dengan kerusakan genetik tetap bertahan dan terus berkembang melalui proliferasi yang tidak terkendali. Oleh karena itu, senyawa yang mampu mempertahankan stabilitas atau meningkatkan aktivitas p53 berpotensi digunakan untuk menghambat perkembangan sel kanker melalui pengaturan siklus sel dan penginduksian apoptosis, sehingga dapat dikembangkan sebagai kandidat agen antikanker.¹²

Antioksidan alami banyak dijumpai pada berbagai tanaman obat yang memiliki kandungan senyawa bioaktif, salah satunya yaitu tanaman Ketepeng cina (*Senna alata* L.) yang telah dimanfaatkan secara tradisional dalam bidang pengobatan. Daun Ketepeng cina diketahui mengandung berbagai jenis metabolit sekunder, salah satunya adalah *Chrysophanol* yang termasuk dalam kelompok senyawa antrakuinon. *Chrysophanol* atau *1,8-dihidroksi-3-metil-antrakuinon* (No. CAS: 481-74-3), yang juga dikenal sebagai *asam krisofanat*, termasuk senyawa *antrakuinon* yang berasal dari bahan alam. Senyawa tersebut diketahui mempunyai berbagai aktivitas biologis seperti efek farmakologis, termasuk antioksidan, antiinflamasi, dan antikanker.^{13,14} Selain itu, *Chrysophanol* diketahui memiliki berbagai aktivitas biologis lainnya, seperti *hepatoprotektif* (melindungi sel hati),

neuroprotektif (melindungi sel saraf), *antiulkus*, dan *antibakteri*.⁷ Berdasarkan berbagai aktivitas tersebut, khususnya aktivitas antikanker, *Chrysophanol* berpotensi dikembangkan sebagai salah satu kandidat senyawa antikanker yang berasal dari bahan alam, sedangkan protein p53 dapat dimanfaatkan sebagai salah satu target molekuler untuk mengevaluasi kemungkinan interaksi serta mekanisme kerja senyawa tersebut.⁹

Aktivitas antioksidan suatu senyawa dapat dievaluasi melalui metode DPPH (*1,1-Diphenyl-1-picrylhydrazyl*), pengujian ini banyak digunakan dalam menilai kemampuan suatu senyawa menangkap radikal bebas karena memiliki prosedur yang relatif mudah dilakukan dan memerlukan waktu yang singkat serta sensitivitas yang baik dalam mengukur kemampuan suatu senyawa untuk menangkap radikal bebas.¹³ Selain itu, metode *molecular docking* dapat digunakan untuk memprediksi hubungan interaksi senyawa aktif yaitu (*Chrysophanol*) terhadap protein p53 sebagai target pada tingkat molekuler, sehingga analisis tersebut dapat memberikan gambaran mengenai kemungkinan mekanisme kerja senyawa *Chrysophanol* dalam kaitannya dengan kanker payudara.¹⁴

Ekstrak etanol dari daun Ketepeng cina digunakan pada tingkatan konsentrasi 100, 200, 400, dan 800 ppm. Penentuan variasi konsentrasi ini didasarkan pada hasil uji pendahuluan serta penelitian terdahulu.¹⁵ Penggunaan beberapa tingkat konsentrasi bertujuan untuk mengetahui perubahan aktivitas antioksidan ekstrak sejalan dengan peningkatan konsentrasi serta memungkinkan dilakukannya perbandingan aktivitas antioksidan ekstrak dengan vitamin C sebagai pembanding positif. Aktivitas antioksidan yang dimiliki ekstrak tanaman umumnya lebih rendah daripada vitamin C, sehingga penggunaan konsentrasi ekstrak yang lebih tinggi diperlukan agar aktivitas antioksidannya dapat diamati secara lebih jelas.^{16,17}

Berdasarkan uraian diatas, penelitian ini mengombinasikan pendekatan in silico (*molecular docking*) dan in vitro (uji DPPH), penggabungan kedua metode tersebut diharapkan mampu menghasilkan informasi ilmiah yang lebih komperhensif mengenai potensi *Chrysophanol* berasal dari bahan alami daun Ketepeng cina (*Senna alata L.*) sebagai kandidat agen antikanker payudara melalui

jalur p53. Selain itu, temuan dari penelitian ini diharapkan dapat menjadi salah satu acuan bagi pengembangan obat berbahan alam dengan tingkat keamanan yang lebih baik, efektif, dan terjangkau.

1.2 Rumusan Masalah

Bagaimana potensi antioksidan daun Ketepeng cina (*Senna alata L.*) terhadap kanker payudara melalui jalur p53 berdasarkan uji DPPH dan analisis *molecular docking* ?

1.3 Tujuan umum

Penelitian ini dilakukan untuk mengkaji potensi antioksidan pada ekstrak tanaman Ketepeng cina (*Senna alata L.*) melalui senyawa aktifnya terhadap protein p53 pada kanker payudara menggunakan metode *molecular docking* dan uji DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*).

1.4 Tujuan khusus

1. Mengukur aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol dari daun Ketepeng cina (*Senna alata L.*) melalui metode DPPH berdasarkan nilai persentase penghambatan radikal bebas.
2. Menganalisis interaksi molekuler senyawa chrysophanol yang diperoleh dari tanaman Ketepeng cina (*Senna alata L.*) dan *docetaxel* sebagai senyawa pembanding terhadap protein target p53 menggunakan metode *molecular docking* berdasarkan nilai energi pengikatan dan konstanta penghambatan.

1.5 Manfaat Penelitian

1. Penelitian ini diharapkan mampu memberikan pengalaman secara langsung kepada peneliti dalam melakukan penelitian ilmiah, khususnya dalam penerapan metode *molecular docking* dan uji DPPH, serta menambah pengetahuan dan wawasan mengenai potensi antioksidan senyawa *Chrysophanol* terhadap kanker payudara melalui jalur p53.
2. Temuan dari penelitian ini diharapkan dapat dimanfaatkan sebagai bahan rujukan bagi peneliti lain yang akan melaksanakan penelitian sejenis, atau pengembangan lebih lanjut dalam bidang pencarian kandidat obat antikanker berbasis bahan
3. Penelitian ini diharapkan mampu menjadi bahan informasi dan

pembelajaran untuk masyarakat mengenai potensi senyawa alami, khususnya *Chrysophanol*, sebagai sumber antioksidan alami yang berpotensi mendukung pencegahan dan pengobatan kanker.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Ketepeng Cina (*Senna alata* L.).

2.1.1 Morfologi Tumbuhan

Ketepeng cina (*Senna alata* L.), tergolong sebagai tanaman yang umumnya tumbuh pada kawasan beriklim tropis dan subtropis seperti Asia, Amerika Latin, Afrika, serta Kepulauan Pasifik. Tanaman ini dapat tumbuh pada wilayah dengan ketinggian dari dataran rendah hingga mencapai sekitar 1.400 meter di atas permukaan laut.¹⁸ Ketepeng cina memiliki sistem perakaran tunggang dengan akar utama yang tumbuh lurus ke bawah dan bercabang menjadi akar-akar kecil. Tanaman ini tergolong tumbuhan berkayu dengan tinggi yang dapat mencapai ± 3 meter.¹⁹ Batangnya memiliki bentuk bulat dengan pola percabangan simpodial. Tanaman Ketepeng cina umumnya tumbuh secara liar di tanah yang subur, terutama di daerah lembap seperti kawasan hutan, tepi sungai, serta daerah yang mendapatkan curah hujan yang tinggi. Penyebaran tanaman ini terutama terjadi melalui biji yang terbawa angin.²⁰

Daun tanaman Ketepeng cina (*Senna alata* L.) memiliki karakteristik berupa ukuran panjang berkisar antara 5–15 cm dan lebar 2,5–9 cm. Bagian ujung daun memiliki bentuk tumpul, sedangkan pangkal daun berbentuk meruncing dengan tepi yang rata. Susunan tulang daun berbentuk menyirip dan didukung oleh tangkai daun yang berukuran relatif pendek, yaitu sekitar ± 2 cm. Daun Ketepeng cina umumnya berwarna hijau.



Gambar 2. 1 Tanaman Ketepeng cina (*Senna alata* L.)²⁰

2.1.2 Taksonomi Tanaman Ketepeng Cina

Secara rinci, taksonomi ketepeng cina (*Senna alata* L) adalah sebagai berikut.²¹

Divisio (Divisi) : *Angiospermae*
 Classis (Kelas) : *Dicotyledoneae*
 Ordo (Bangsa) : *Rosales*
 Family (Suku) : *Fabaceae*
 Genus (Marga) : *Cassia*
 Spesies (Jenis) : *Cassia alata* L.
 Kingdom (kerajaan): *Plantae*

2.1.3 Manfaat Daun Ketepeng Cina

Daun tanaman Ketepeng cina (*Senna alata* L.) diketahui memiliki berbagai aktivitas farmakologis yang memberikan manfaat bagi kesehatan. Kandungan senyawa bioaktif di dalamnya, seperti *antrakuinon*, *flavonoid*, dan senyawa *fenolik* berperan dalam memberikan aktivitas antioksidan.²¹ Aktivitas antioksidan tersebut berperan dalam membantu menjaga sel tubuh dari kerusakan akibat paparan radikal bebas, yang diketahui berperan dalam terjadinya berbagai penyakit degeneratif, termasuk kanker. Selain aktivitas antioksidan, tanaman Ketepeng cina juga dilaporkan mempunyai berbagai aktivitas biologis lainnya, antara lain sebagai *antiinflamasi*, *antiprolifatif*, *antidiabetes*, *antibakteri*, serta memberikan efek protektif terhadap organ tubuh.²² Berbagai aktivitas tersebut menunjukkan bahwa tanaman Ketepeng cina berpotensi untuk dikembangkan sebagai bahan alami yang dapat mendukung upaya pencegahan maupun penanganan berbagai penyakit.²³

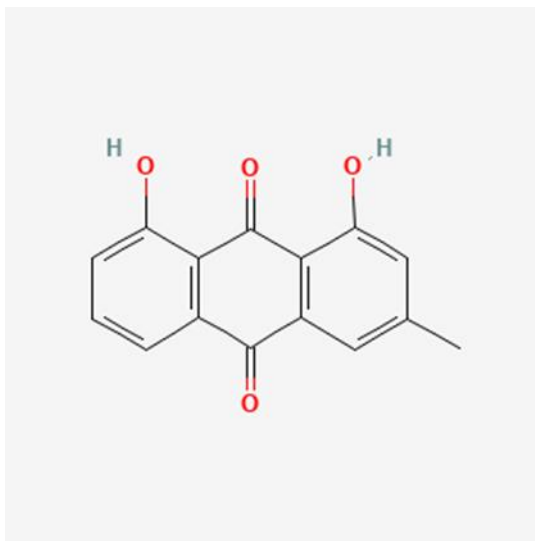
2.1.4 Kandungan Daun Ketepeng Cina

Tanaman Ketepeng cina (*Senna alata* L.) mengandung beragam senyawa fitokimia yang berperan dalam menghasilkan aktivitas biologis. Beberapa senyawa yang terdapat didalamnya meliputi *alkaloid*, *flavonoid*, *saponin*, *steroid*, *tanin*, *terpenoid*, serta senyawa *fenolik* dengan turunan berupa antrakuinon.²² Keberadaan senyawa tersebut diketahui berkontribusi terhadap berbagai *aktivitas farmakologis*, seperti *antioksidan*, *antiinflamasi*, *antiprolifatif*, dan antijamur. Hasil penelitian juga menunjukkan bahwa ekstrak dari daun Ketepeng cina pada konsentrasi 5%

mampu menghambat pertumbuhan dan membunuh jamur *Malassezia furfur*, yaitu mikroorganisme penyebab penyakit panu. Hal tersebut menunjukkan adanya potensi pemanfaatan daun Ketepeng cina sebagai salah satu bahan dalam pengobatan teradisional.²¹

Salah satu senyawa golongan antrakuinon yang terdapat pada daun Ketepeng cina adalah *chrysophanol* (1,8-dihidroksi-3-metil-antrakuinon). *Chrysophanol* merupakan senyawa *quinon aromatik trisiklik* yang banyak ditemukan pada berbagai jenis tanaman obat, termasuk tanaman dari genus *Cassia*, *Senna*, *Rheum*, dan *Polygonum*.²⁴ Senyawa ini diketahui mempunyai beragam aktivitas farmakologis, antara lain sebagai antioksidan, antikanker, antibakteri, antivirus, dan *neuroprotektif*. Secara molekuler, *chrysophanol* memiliki rumus molekul $C_{15}H_{10}O_4$ dengan massa molekul 254,2 g/mol. Karakter fisikokimia yang dimilikinya juga mendukung bioavailabilitas secara oral, sehingga senyawa ini berpotensi untuk dikembangkan sebagai kandidat senyawa aktif.²⁵

Secara kimia, *chrysophanol* (asam krisofanik) atau yang biasa dikenal sebagai asam krisofanik merupakan salah satu turunan antrasena yang memiliki dua gugus keton pada cincin *benzena* bagian tengah. Senyawa tersebut memiliki rumus molekul $C_{15}H_{10}O_4$ dengan massa molekul 254,2 g/mol, serta titik leleh 196°C.²⁶ *Chrysophanol* memiliki bentuk berupa kristal berwarna kuning keemasan hingga coklat dan memiliki kelarutan yang rendah dalam air. Senyawa ini menunjukkan puncak serapan UV pada rentang 225–428 nm. Berdasarkan karakteristik aturan Lipinski, senyawa ini memiliki sifat kimia yang mendukung bioavailabilitas oral, ditandai dengan keberadaan dua donor dan empat akseptor ikatan hidrogen serta logP sebesar 2,81. Nilai tersebut menunjukkan tingkat *lipofilisitas* yang relatif rendah dengan kemampuan absorpsi dan permeabilitas yang baik. Karakteristik tersebut menunjukkan bahwa *chrysophanol* memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai kandidat obat oral yang dapat diberikan secara oral.²⁷



Gambar 2. 2 Struktur senyawa *chrysophanol*

2.2 Kanker Payudara

2.2.1 Definisi

Kanker merupakan suatu kondisi yang ditandai dengan proses pertumbuhan dan pembelahan sel yang berlangsung secara abnormal serta tidak terkendali, sehingga dapat menyebabkan perubahan dan kerusakan pada struktur maupun fungsi jaringan normal.² Terjadinya kanker dapat berkaitan dengan perubahan atau mutasi pada gen. Kondisi tersebut dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor, seperti paparan sinar UV, faktor fisika, faktor kimia, kebiasaan merokok, maupun faktor lingkungan.²⁸

Kanker payudara dapat berkembang pada sejumlah struktur yang terdapat di dalam payudara. Secara umum, payudara tersusun atas tiga komponen utama, yaitu lobulus, saluran/duktus, dan jaringan ikat. Lobulus berfungsi sebagai penghasil air susu, sedangkan duktus berperan sebagai saluran yang mengalirkan air susu ke arah puting. Sementara itu, jaringan ikat yang terdiri dari jaringan fibrosa dan lemak berfungsi sebagai penunjang sekaligus pelindung struktur payudara secara keseluruhan.^{29,30}

2.2.2 Epidemiologi

Kanker merupakan salah satu masalah kesehatan yang memberikan kontribusi besar terhadap angka kematian secara global dan diperkirakan

menyebabkan sekitar 13% dari keseluruhan kasus kematian.⁵ Setiap tahun, sekitar 14 juta kasus kanker baru ditemukan di seluruh dunia, sedangkan sekitar 8,2 juta kasus berakhir dengan kematian. Apabila upaya pencegahan dan pengendalian tidak dilaksanakan secara optimal, jumlah penderita kanker diperkirakan akan terus bertambah. Pada tahun 2030, jumlah kasus kanker diperkirakan dapat mencapai 26 juta orang, dengan jumlah kematian diproyeksikan mencapai 17 juta jiwa. Peningkatan tersebut diperkirakan berlangsung lebih cepat di negara-negara miskin dan berkembang.³¹

Pada perempuan, kanker payudara menjadi salah satu jenis kanker dengan angka kejadian yang tinggi. Berdasarkan data *International Agency for Research on Cancer* (IARC) tahun 2024, Indonesia tercatat memiliki sekitar 209.748 kasus kanker payudara dalam periode lima tahun terakhir, dengan angka kematian mencapai 14,4%.³² Pada tahun 2022, kanker payudara diperkirakan menyebabkan sekitar 670.000 kematian di seluruh dunia. Sebagian besar kasus tersebut ditemukan pada perempuan yang tidak mempunyai faktor risiko tertentu selain usia dan jenis kelamin.³³ Menurut *World Health Organization* (WHO), kanker payudara menjadi jenis kanker yang paling sering ditemukan pada perempuan di 157 dari 185 negara. Meskipun prevalensinya lebih tinggi pada perempuan, kanker payudara juga dapat terjadi pada laki-laki dengan proporsi sekitar 0,5–1% dari seluruh kasus kanker payudara.

2.2.3 Faktor Risiko

Faktor yang dapat meningkatkan risiko terjadinya kanker payudara secara umum dapat dibedakan menjadi faktor internal dan faktor eksternal. Faktor internal merupakan faktor yang berasal dari dalam tubuh, salah satunya adalah usia. Risiko terjadinya kanker payudara umumnya mengalami peningkatan, terutama pada wanita yang berada pada rentang usia 50–60 tahun. Selain itu, adanya riwayat kanker dalam keluarga dapat menyebabkan peningkatan risiko hingga dua kali lipat. Faktor lainnya meliputi penggunaan hormon estrogen, pola hidup yang kurang sehat, kebiasaan makan yang tidak teratur, merokok, konsumsi alkohol, serta penggunaan kosmetik dan pil kontrasepsi dalam jangka panjang yang berpotensi memicu perubahan pada sel yang peka terhadap hormon.^{34,35}

Sementara itu, faktor eksternal berkaitan dengan kondisi lingkungan serta kebiasaan hidup seseorang. Beberapa di antaranya mencakup pola makan yang tinggi lemak jenuh dan rendah serat, kelebihan berat badan terutama setelah menopause yang dapat meningkatkan kadar estrogen, kurang aktivitas fisik, konsumsi alkohol dalam jumlah sedikit maupun berlebih, serta penggunaan obat atau zat tertentu, seperti terapi hormon dan kontrasepsi oral, yang dapat meningkatkan risiko kanker payudara. Risiko tersebut dapat ditekan melalui penerapan pola hidup sehat serta upaya mengendalikan berbagai faktor risiko yang masih dapat dimodifikasi.^{34,36}

2.2.4 Klasifikasi Kanker Payudara

Kanker payudara secara umum dapat diklasifikasikan ke dalam dua kelompok utama, yaitu tipe non-invasif dan tipe invasif. Kanker payudara non-invasif merupakan kondisi ketika sel kanker masih terlokalisasi di dalam saluran atau lobulus payudara dan belum menyebar ke jaringan di sekitarnya, seperti jaringan lemak atau ikat. Jenis kanker payudara non-invasif meliputi:

1. *Lobular Carcinoma in Situ (LCIS)*, yaitu keadaan ketika terjadi pertumbuhan sel abnormal yang masih terbatas di dalam lobulus sebagai bagian dari payudara yang berfungsi menghasilkan susu.
2. *Ductal Carcinoma in Situ (DCIS)*, yaitu jenis kanker payudara non-invasif yang paling banyak ditemukan dan berasal dari sel-sel yang berada di dalam saluran susu (duktus) payudara.³⁷

Kanker payudara invasif merupakan kondisi ketika sel kanker sudah menembus batas jaringan asal dan menyerang jaringan di sekitarnya, termasuk jaringan lemak dan jaringan ikat. Sel kanker tersebut juga memiliki kemampuan untuk menyebar ke kelenjar getah bening maupun jaringan lainnya, meskipun dalam beberapa kondisi metastasis belum terjadi. Jenis kanker payudara invasif meliputi:

1. *Invasive Lobular Carcinoma (ILC)*, yang berasal dari lobulus dan memiliki kemampuan menyebar ke bagian tubuh lain.
2. *Invasive Ductal Carcinoma (IDC)*, yang berasal dari saluran susu dan menginvasi jaringan di sekitarnya. IDC memiliki beberapa subtype, seperti

Kanker Payudara Inflamasi, bentuk yang jarang tetapi agresif, ditandai dengan payudara yang bengkak, merah, hangat, serta munculnya lesung pipit akibat sel kanker menghalangi pembuluh getah bening di kulit.^{39, 40}

2.2.5 Patogenesis

Kanker payudara berkembang melalui proses yang panjang dan bertahap. Awalnya, sel payudara normal mengalami kerusakan pada DNA akibat faktor genetik maupun lingkungan. Beberapa orang mewarisi mutasi gen tertentu seperti BRCA1, BRCA2, atau TP53 yang membuat sel lebih rentan menjadi kanker.⁴¹ Selain itu, paparan hormon estrogen dalam jangka panjang, gaya hidup tidak sehat, obesitas, konsumsi alkohol, dan paparan radiasi juga berperan mempercepat kerusakan DNA. Jika sistem perbaikan DNA dalam sel tidak berfungsi dengan baik, maka mutasi akan terus menumpuk sehingga sel mulai berubah sifat.⁴²

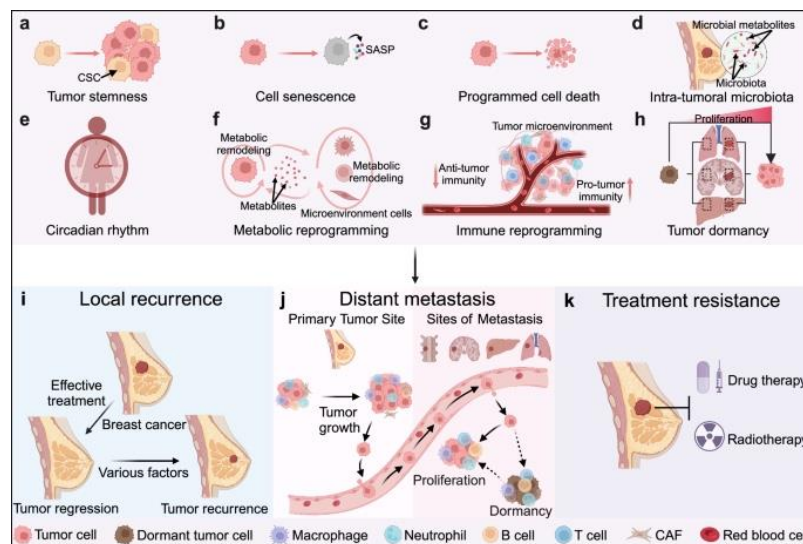
Seiring waktu, mutasi genetik ini menyebabkan beberapa gen menjadi terlalu aktif, misalnya HER2 atau PIK3CA, sehingga sel tumbuh cepat tanpa kendali. Sebaliknya, gen yang seharusnya menekan pertumbuhan kanker seperti TP53 atau BRCA1/2 kehilangan fungsinya, sehingga tubuh tidak lagi bisa menghentikan pertumbuhan sel abnormal. Selain perubahan gen, terdapat pula perubahan epigenetik seperti metilasi DNA atau pengaruh microRNA yang mengatur ekspresi gen. Hal ini semakin mendorong sel menjadi lebih agresif dan tahan terhadap kematian sel yang normalnya terjadi.⁴³

Sel kanker tidak berkembang sendirian, melainkan berinteraksi dengan lingkungan di sekitarnya yang disebut mikro-lingkungan tumor.⁴³ Di sini terdapat fibroblas, pembuluh darah, sel imun, dan jaringan ikat yang justru ikut membantu pertumbuhan tumor. Sel kanker mampu “meminta bantuan” agar terbentuk pembuluh darah baru (*angiogenesis*) untuk suplai nutrisi, sekaligus memodifikasi sel imun agar tidak menyerangnya. Akibatnya, tumor bisa terus tumbuh dan menghindari sistem pertahanan tubuh.⁴²

Pada tahap lebih lanjut, sebagian sel kanker mengalami perubahan yang disebut *epithelial-mesenchymal transition* (EMT). Proses ini membuat sel yang semula terikat rapat berubah menjadi lebih longgar, mudah bergerak, dan memiliki sifat mirip sel punca kanker. Sel semacam ini lebih sulit dibunuh oleh obat, lebih

tahan stres, dan memiliki kemampuan untuk menyebar ke tempat lain. Inilah awal mula terjadinya penyebaran kanker atau metastasis.⁴²

Metastasis terjadi ketika sel kanker masuk ke pembuluh darah atau sistem limfe, lalu berpindah ke organ lain. Organ yang sering menjadi tempat penyebaran adalah tulang, paru-paru, hati, dan otak. Menariknya, sebelum sel kanker sampai, organ-organ ini biasanya sudah “dipersiapkan” oleh faktor yang dilepas tumor, sehingga lebih mudah ditinggali sel kanker. Kondisi ini membuat kanker payudara berbahaya karena bukan hanya menyerang payudara, tetapi juga organ vital lainnya.^{1,44,45}



Gambar 2. 3 Patogenesis dan faktor kanker payudara.

Banyak faktor yang berkontribusi terhadap perkembangan kanker payudara, yang menyebabkan kekambuhan lokal (i), metastasis (j), dan resistensi terhadap pengobatan (k). Faktor-faktor tersebut meliputi sifat sel punca tumor (a), penuaan sel (cellular senescence) (b), jenis baru kematian sel terprogram (c), mikrobiota di dalam tumor (d), ritme sirkadian (e), pemrograman ulang metabolisme (f), pemrograman ulang sistem imun (g), serta dormansi tumor (h). CSC: cancer stem cell (sel punca kanker)⁴²

2.3 Protein p53

Gen penekan tumor p53 merupakan salah satu mekanisme pertahanan utama pertama tubuh dalam mencegah terjadinya transformasi neoplastik. Gen ini

memiliki peran penting dalam mempertahankan kestabilan stabilitas genom melalui keterlibatannya dalam berbagai fungsi seluler, seperti pengaturan siklus sel, penghentian siklus sel, penuaan sel (*senescence*), perbaikan DNA, apoptosis, autofagi, regulasi metabolisme sel, ferroptosis, regulasi sistem imun, pembentukan spesies oksigen reaktif (*reactive oxygen species/ROS*), fungsi mitokondria, serta mengendalikan ekspresi gen dan mikroRNA (miRNA).⁴

Berbagai fungsi biologis tersebut berkaitan erat dengan struktur serta karakteristik molekuler protein p53. Gen p53 mengkode suatu fosfoprotein nuklir dengan berat molekul sekitar 53 kDa. Gen yang dikenal dengan TP53 ini memiliki ukuran sekitar ± 20 kilobase (Kb), dengan susunan 11 ekson dan 10 intron serta terletak pada lengan pendek kromosom 17.⁴⁶ Protein p53 tersusun dari 393 residu asam amino dan memiliki sejumlah domain yang berperan secara struktural maupun fungsional. *Domain N-terminal* terdiri atas *amino-terminal transactivation domain* (residu 1–42) dan *proline-rich region* (residu 61–94).⁴⁷ Bagian inti protein terdiri atas *central core domain* (residu 102–292) yang berperan dalam pengikatan DNA. Sementara itu, *domain C-terminal* (residu 301–393) terdiri atas *oligomerization domain* (residu 324–355) dan *carboxyl-terminal regulatory domain* (residu 363–393), yang berperan dalam mengatur aktivitas dan mempertahankan kestabilan protein p53.⁴⁸

2.3.1 p53 dan Peranannya dalam Regulasi Sel

Gen p53 memiliki peran penting dalam mengatur berbagai proses melalui kemampuannya mengendalikan aktivasi maupun penekanan transkripsi sejumlah gen yang terlibat dalam respons sel terhadap kondisi stres. Respons tersebut dapat dipicu oleh berbagai jenis stres, antara lain faktor lingkungan, kondisi genotoksik seperti kerusakan DNA akibat paparan sinar ultraviolet, radiasi, karsinogen, obat kemoterapi yang bersifat sitotoksik, serta stres non-genotoksik seperti hipoksia, aktivasi onkogen, gangguan sintesis nukleotida, kerusakan mikrotubulus, dan hilangnya kontak antar sel.⁴⁹

Sebagian besar aktivitas biologis p53 berhubungan dengan kemampuan dalam menginduksi apoptosis, pengendalian serta penghentian siklus sel (*cell cycle arrest*), peran dalam mekanisme perbaikan DNA, serta penghambatan proses

angiogenesis. Aktivitas p53, baik secara kualitatif maupun kuantitatif, sangat bergantung pada integritas struktur protein tersebut, termasuk status mutasinya, tingkat ekspresi protein, modifikasi pascatranslasi spesifik sebagai respons terhadap stres lingkungan, serta interaksinya dengan berbagai kofaktor seluler.⁵⁰

Mutasi pada gen p53 dapat menyebabkan hilangnya fungsi gen tersebut sebagai penekan tumor. Kondisi ini terjadi akibat perubahan fungsi protein p53 sebagai faktor transkripsi yang berperan dalam mengatur berbagai mediator induksi apoptosis.⁵¹ Mutasi germline pada gen p53 dilaporkan ditemukan pada sekitar 25–30% kasus kanker payudara sporadis. Sebagian besar mutasi gen p53 terjadi pada daerah pengikatan DNA, dengan sekitar 90% diantaranya berupa mutasi missense point mutation. Hasil berbagai penelitian menunjukkan bahwa mutasi tersebut paling banyak ditemukan pada ekson 5 hingga 8, yaitu bagian yang memiliki peran penting dalam fungsi pengikatan DNA protein p53.⁵²

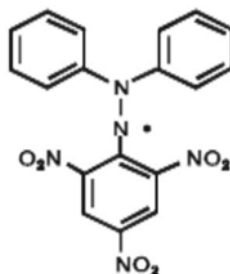
2.3.2 Mutasi p53 Pada Kanker Payudara

Mutasi p53 ditemukan pada sekitar 35% kasus kanker payudara. Mutasi tersebut lebih sering dijumpai pada tumor dengan karakteristik histopatologi yang agresif, seperti ukuran tumor yang besar (>20 mm), adanya keterlibatan kelenjar salifa, serta status *Estrogen Receptor* (ER) dan *Progesteron Receptor* (PR) yang negatif, kondisi ini berkaitan dengan tingkat proliferasi sel yang tinggi dan umumnya ditemukan pada *ductal carcinoma*.⁵³ Mutasi p53 juga berhubungan dengan peningkatan angka kematian pada pasien kanker payudara. Pasien dengan mutasi p53 cenderung memiliki angka survival yang lebih rendah jika dibandingkan dengan pasien tanpa mutasi p53.⁵⁴

2.4 Uji Aktivitas Antioksidan

Pengujian kapasitas antioksidan dapat dilakukan melalui berbagai metode, yaitu DPPH, ABTS (2,2-Azinobis 3-ethyl benzothiazoline 6-sulfonic acid), FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*), dan FIC (*Ferrous Ion Chelating*). Metode DPPH memanfaatkan senyawa yang bersifat sebagai radikal bebas stabil dan relatif tidak mudah membentuk dimer karena adanya penyebaran elektron bebas dalam struktur molekulnya.⁵⁵ Penyebaran elektron tersebut turut menyebabkan munculnya warna ungu pada larutan DPPH, sehingga perubahan aktivitas radikal dapat diamati

melalui pengukuran absorbansinya pada panjang gelombang tertentu..¹³



Gambar 2. 4 Rumus bangun DPPH

Pengujian aktivitas antioksidan dapat dilakukan melalui beberapa metode, yaitu DPPH, ABTS (*2,2-Azinobis 3-ethyl benzothiazoline 6-sulfonic acid*), FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*), dan FIC (*Ferrous Ion Chelating*). Metode DPPH merupakan pendekatan yang dapat digunakan untuk menilai kemampuan antioksidan dalam menetralkan radikal bebas. Pengujian dengan metode ini dilakukan secara kuantitatif melalui pengukuran absorbansi menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang maksimum 515 nm. Senyawa DPPH dapat dilarutkan dalam pelarut organik, seperti metanol dan etil asetat, yang juga dapat digunakan dalam analisis senyawa antioksidan yang bersifat polar.¹⁴

Efektivitas pengujian DPPH dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, meliputi intensitas cahaya, kondisi pH, jenis pelarut yang digunakan, waktu berlangsungnya reaksi, keberadaan ion organik dan garam, serta temperatur. Kemampuan antioksidan dalam meredam radikal DPPH dapat dievaluasi berdasarkan nilai IC_{50} (berasal dari inhibition concentration IC_{50a} atau bisa dinyatakan sebagai *efficiency concentration EC50*). Nilai tersebut menggambarkan konsentrasi senyawa antioksidan yang diperlukan untuk menghasilkan pengurangan radikal DPPH sebesar 50%. Dengan demikian, semakin rendah nilai IC_{50} , semakin kuat kemampuan sampel dalam memberikan aktivitas antioksidan. Penentuan nilai tersebut dilakukan berdasarkan nilai IC_{50} melalui *inhibition curve*.

56

Pada pengujian peredaman radikal menggunakan DPPH, aktivitas sampel ditentukan berdasarkan nilai IC_{50} , yaitu konsentrasi ekstrak yang diperlukan untuk

menghasilkan kemampuan peredaman sebesar 50% terhadap radikal DPPH. Kemampuan tersebut dapat diketahui secara visual melalui perubahan warna larutan. DPPH yang pada kondisi awal menunjukkan warna ungu pekat akan mengalami perubahan menjadi warna kekuningan setelah bereaksi dengan senyawa antioksidan. Nilai yang diperoleh kemudian dimasukkan ke dalam persamaan regresi, dengan konsentrasi sampel (ppm) ditempatkan sebagai absis (sumbu X) dan persentase aktivitas peredaman sebagai ordinat (sumbu Y).⁵⁷

2.5 *Molecular Docking*

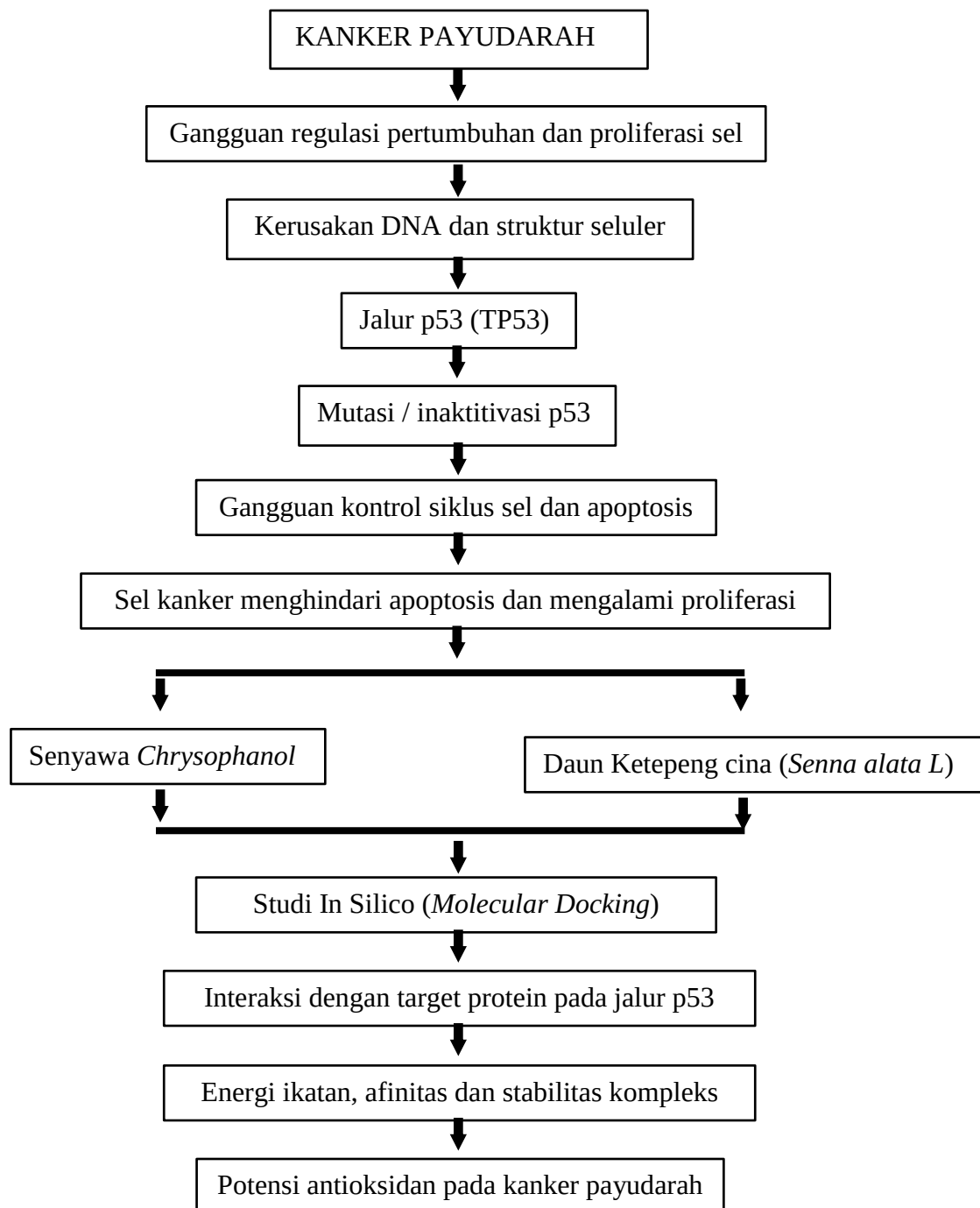
Molecular docking menjadi suatu pendekatan komputasi secara *in silico* yang banyak dimanfaatkan dalam proses identifikasi dan pengembangan kandidat senyawa yang berpotensi digunakan sebagai kandidat terapi. Pendekatan tersebut memungkinkan peneliti mempelajari hubungan interaksi antara molekul senyawa aktif terhadap protein sasaran pada tingkat molekuler, sehingga dapat memberikan gambaran mengenai kemungkinan keberhasilan interaksi tersebut sebelum dilakukan pengujian secara eksperimental. Selain selektif sederhana dan aman, penerapan metode ini juga membutuhkan biaya yang lebih rendah sehingga banyak dimanfaatkan pada kajian bidang biomedis serta pengembangan terapi.⁵⁸

Dasar dalam *molecular docking* diawali melalui penentuan struktur makromolekul yang akan digunakan sebagai molekul target, baik berupa protein, DNA, maupun RNA. Protein Data Bank menjadi salah satu basis data yang dapat dimanfaatkan untuk memperoleh informasi mengenai struktur tiga dimensi protein.⁹ Di sisi lain, struktur molekul aktif dapat diperoleh dari sejumlah basis data, di antaranya website ZINC dan PubChem. Pada kondisi saat ligan berikatan dengan makromolekul target pada posisi dan jarak yang sesuai, akan terbentuk suatu kompleks yang relatif stabil. Daerah tempat berlangsungnya interaksi antara ligan dan makromolekul tersebut dikenal sebagai situs aktif.

Penggunaan metode *molecular docking* telah memberikan kontribusi dalam pengembangan didalam kandidat terapi. Pendekatan ini telah dimanfaatkan dalam penelitian terkait pengembangan terapi untuk penyakit seperti diabetes, hipertensi, serta dalam upaya menemukan kandidat terapi terhadap *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2* (SARS-CoV 2). Seiring kemajuan teknologi komputasi

serta bioinformatika, metode *molecular docking* senantiasa mengalami perkembangan dan berpotensi mendukung penemuan kandidat obat yang lebih efektif pada masa mendatang.⁵⁹

2.6 Kerangka Teori



2.7 Kerangka Konsep



Keterangan:



Variabel Independent (bebas)



Variabel dependent (terikat)

2.8 Hipotesis

Hipotesis dalam penelitian ini adalah :

Ha: Ada hubungan interaksi Senyawa *Chrysophanol* daun Ketepeng cina dengan proteim Protein P53

H0: Tidak ada hubungan interaksi Senyawa *Chrysophanol* daun Ketepeng cina dengan Protein P53

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Definisi Operasional

Tabel 3 1 Definisi operasional

Variabel	Definisi Operasional	Cara Ukur	Skala Ukur	Hasil Ukur
Senyawa <i>chrysophanol</i> daun Ketepeng cina	Senyawa aktif golongan antrakuinon dengan struktur ligan dari basis data PubChem	Interaksi antara ligan dan protein (melalui metode <i>molecular docking</i>	Numerik	Semakin kecil energi ikatan (< 0 kcal / mol) dan kanstanta penghambat (< 100 μ M), maka semakin kuat interaksi antara ligan dan protein target.
Protein P53	Struktur protein target yang diperoleh dari Protein Data Bank (PDB) dengan nomor ID: 1 TUP	Interaksi antara ligan <i>chrysophanol</i> dan protein target (p53) melalui <i>molecular docking</i>	Numerik	Nilai energi ikatan menunjukkan kekuatan afinitas interaksi; semakin kecil nilainya maka interaksi semakin baik.
Aktivitas Antioksidan	Kemampuan ekstrak Ketepeng cina (<i>Senna alata</i> L.) dalam meredam radikal bebas DPPH	Pengukuran absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm	Numerik	Semangkin kecil nilai IC ₅₀ (ppm) maka semangkin kuat aktivitas antioksidannya

3.2 Jenis Penelitian

Penelitian ini menerapkan rancangan eksperimental laboratorik dengan pendekatan *in silico* melalui *molecular docking* antara protein p53 dan senyawa *chrysophanol*, serta pendekatan *in vitro* menggunakan uji DPPH untuk menganalisis aktivitas antioksidan terhadap kanker payudara.

3.3. Waktu penelitian

Tabel 3 2 Waktu penelitian

		Mei 2025	Juni 2025	Juli 2025	Maret 2026	April 2026	Mei 2026	Juni 2026	Juli 2026
1.	Kajian Pustaka, Konsultasi dan Penyusunan Rancangan Penelitian								
2.	Presentasi Proposal Penelitian								
3.	Pengurusan Izin Etik Penelitian								
4.	Penelitian								
5.	Pengelolaan serta evaluasi data								
6.	Persentase Hasil Penelitian								

3.4. Tempat Penelitian

Pelaksanaan penelitian dilakukan dalam 2 bulan dilakukan di Laboratorium Biokimia FK UMSU.

3.5. Populasi Penelitian

Populasi yang digunakan pada penelitian ini mencakup semua tanaman Ketepeng cina (*Senna alata L.*) yang terdapat di kawasan Sumatera Utara sebagai sumber senyawa aktif *chrysophanol*. Populasi penelitian juga mencakup seluruh potensi interaksi molekuler antara senyawa *chrysophanol* dan protein p53 yang dianalisis secara *in silico* melalui *molecular docking*, serta aktivitas antioksidan senyawa *chrysophanol* yang dianalisis secara *in vitro* melalui penerapan metode DPPH.

3.6. Sampel Penelitian

Sampel dalam penelitian ini terdiri atas protein target p53 sebagai protein penekan tumor yang berperan dalam regulasi apoptosis dan perbaikan DNA, serta senyawa uji *chrysophanol*, yaitu senyawa antrakuinon alami yang berasal dari daun ketepeng cina (*Senna alata* L.) yang diperoleh dari Desa Londut, Kabupaten Labuhanbatu Utara, Sumatera Utara. Daun diambil dari tanaman yang sehat dan tumbuh di daerah tropis pada dataran rendah dengan paparan sinar matahari yang cukup.

Kriteria inklusi:

- 1 Protein p53 dengan resolusi $< 3 \text{ \AA}$ (*Armstrong*).
- 2 Struktur protein diunduh dari database Protein Data Bankm (PDB) dengan tahun publikasi terbaru.
- 3 Tidak terdapat mutasi pada protein p53 (atau menggunakan model yang sesuai dengan urutan asam amino aslinya).

Kriteria eksklusi:

- 1 Struktur protein dengan resolusi $> 3 \text{ \AA}$.
- 2 Protein target yang mengalami mutasi atau tidak sesuai dengan sekuens referensi p53.

3.7. Metode Penelitian

3.7.1 Metode Uji DPPH

3.7.1.1 Bahan dan Alat

Pelaksanaan penelitian ini memerlukan beberapa bahan, meliputi aquades, daun ketepeng cina, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), etanol, dan vitamin C (*Sigma-Aldrich*). Alat yang digunakan meliputi timbangan analitik, blender, spektrofotometer UV-Vis, rotary evaporator, vortex mixer, tabung reaksi, beaker glass, mikropipet, batang pengaduk, dan saringan.

3.7.1.2 Prosedur kerja

3.7.1.2.1 Pengolahan Sampel

Daun ketepeng cina (*Senna alata* L.) dicuci hingga bersih untuk menghilangkan kotoran yang menempel pada permukaan daun. Selanjutnya, daun dikeringkan pada suhu ruang selama kurang lebih 7 hari dengan menghindari

paparan sinar matahari secara langsung. Proses pengeringan juga dapat dilakukan dengan menggunakan oven blower. Setelah daun benar-benar kering, bahan tersebut dihaluskan menggunakan blender hingga diperoleh serbuk daun yang halus. Serbuk daun yang telah diperoleh kemudian digunakan sebagai sampel pada tahap ekstraksi.

3.7.1.2.2 Ekstraksi Sampel

Proses ekstraksi sampel dilakukan melalui metode maserasi dengan etanol 96% sebagai pelarut, yang merupakan campuran etanol teknis pro analysis dan aquades. Sebanyak 300 gram serbuk daun ketepeng cina (*Senna alata L.*) ditempatkan dalam wadah kaca yang tertutup untuk menjalani proses ekstraksi. Selanjutnya, serbuk tersebut direndam menggunakan 1.500 mL etanol 96% hingga seluruh bagian serbuk terendam sempurna. Wadah kemudian ditutup rapat dan diletakkan pada tempat gelap yang terlindung dari paparan sinar matahari secara langsung selama 24 jam. Selama proses maserasi berlangsung, larutan diaduk secara berkala setiap 6–8 jam untuk membantu proses pelepasan dan pelarutan senyawa aktif.⁶⁰

Setelah proses maserasi selama 24 jam selesai, campuran disaring dengan menggunakan kain kasa atau kertas saring untuk memperoleh filtrat dan memisahkan ampas. Ampas yang diperoleh kemudian diekstraksi kembali dengan menambahkan 1.500 mL etanol 96% yang baru, dan proses maserasi dilakukan kembali selama 24 jam. Tahapan tersebut dilakukan sebanyak tiga kali sehingga total volume pelarut yang digunakan mencapai 4.500 mL. Seluruh filtrat hasil maserasi kemudian dikumpulkan dan digabungkan menjadi satu, setelah itu pelarut dihilangkan menggunakan rotary evaporator pada suhu 40–50°C hingga diperoleh ekstrak yang berbentuk kental. Ekstrak yang diperoleh selanjutnya ditimbang, ditempatkan dalam botol kaca yang tertutup rapat, kemudian disimpan dalam lemari pendingin pada suhu $\pm 4^{\circ}\text{C}$ untuk mempertahankan kestabilan senyawa bioaktif yang terkandung dalam ekstrak.⁶¹

3.7.1.2.3 Pembuatan larutan DPPH

Larutan DPPH disiapkan dengan menimbang serbuk DPPH sebanyak 15 mg, kemudian melarutkannya menggunakan etanol 96% hingga volume larutan mencapai 100 mL dalam labu ukur. Larutan yang telah dibuat diletakkan pada

kondisi suhu kamar serta dijaga agar tidak terkena cahaya secara langsung. Larutan tersebut selanjutnya digunakan segera dalam rangkaian pengujian.

3.7.1.2.4 Penetapan panjang gelombang (λ) maksimum DPPH

Penentuan panjang gelombang maksimum diawali dengan mengambil 1 mL larutan DPPH menggunakan pipet dan memasukkannya ke dalam vial. Selanjutnya, etanol 96% ditambahkan sampai volume akhir campuran menjadi 5 mL. Larutan kemudian dihomogenkan dan didiamkan selama 30 menit. Setelah waktu tersebut terpenuhi, absorbansi larutan ditentukan menggunakan spektrofotometer UV-Visibel pada panjang gelombang 517 nm. Berdasarkan hasil pengukuran tersebut, panjang gelombang maksimum larutan DPPH ditetapkan pada 517 nm.

3.7.1.2.5 Pengukuran aktivitas antioksidan ekstrak daun Ketepeng cina

Pengujian aktivitas antioksidan diawali dengan menimbang 100 mg ekstrak metanol daun ketepeng cina (*Senna alata*). Ekstrak tersebut kemudian dilarutkan menggunakan metanol hingga diperoleh volume akhir 100 mL, sehingga terbentuk larutan stok dengan konsentrasi 1000 ppm.

Larutan stok selanjutnya diambil masing-masing sebanyak 0,5 mL, 1 mL, 2 mL, dan 4 mL, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berbeda. Pada setiap tabung ditambahkan 1 mL larutan DPPH, kemudian volume campuran dicukupkan hingga 5 mL dengan etanol. Perlakuan tersebut menghasilkan larutan ekstrak dengan konsentrasi akhir masing-masing 100 ppm, 200 ppm, 400 ppm, dan 800 ppm.

Masing-masing campuran dihomogenkan dengan cara dikocok, kemudian didiamkan selama 30 menit pada suhu kamar dalam kondisi terlindung dari cahaya. Setelah proses tersebut selesai, absorbansi setiap larutan diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 517 nm. Pengukuran dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan (triplo) sehingga data yang diperoleh dapat memberikan hasil pengukuran yang lebih akurat dan konsisten.

3.7.1.2.6 Pengukuran aktivitas antioksidan vitamin C

Vitamin C merek Sigma-Aldrich ditimbang sebanyak 10 mg, kemudian dilarutkan dengan etanol p.a hingga volume mencapai 100 mL untuk menghasilkan larutan stok berkonsentrasi 100 ppm. Selanjutnya, larutan stok dipipet dengan

volume masing-masing 0,5 mL, 1 mL, 1,5 mL, dan 2 mL ke dalam tabung reaksi. Pada masing-masing tabung ditambahkan 1 mL larutan DPPH, kemudian volume campuran dicukupkan hingga 5 mL menggunakan etanol. Perlakuan tersebut menghasilkan larutan vitamin C dengan konsentrasi masing-masing 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, dan 40 ppm.

Masing-masing campuran dihomogenkan dengan cara dikocok, kemudian dibiarkan selama 30 menit pada suhu kamar dalam kondisi terlindung dari cahaya. Setelah proses tersebut selesai, nilai absorbansi setiap larutan ditentukan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 517 nm. Pengukuran dilakukan sebanyak tiga kali replikasi untuk memperoleh hasil pengujian yang lebih konsisten.

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

3.7.1.2.7 Pengukuran Serapan Blanko

Penentuan absorbansi blanko diawali dengan memasukkan 1 mL larutan DPPH ke dalam larutan etanol, kemudian volume campuran disesuaikan hingga 5 mL. Selanjutnya, campuran dihomogenkan melalui pengocokan dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar dengan kondisi terlindung dari cahaya. Setelah waktu inkubasi selesai, nilai absorbansi larutan ditetapkan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 517 nm.

3.7.2 Metode In Silico (*Molecular Docking*)

3.7.2.1 Bahan dan Alat

Peralatan penelitian dikelompokkan menjadi perangkat keras (*hardware*) dan perangkat lunak (*software*). Perangkat keras yang digunakan berupa laptop ASUS TUF Gaming F15 dengan spesifikasi RAM DDR4 8 GB, *prosesor Intel Core i7-10870H* dengan kecepatan 2,2 GHz, serta memori 16 GB dengan kapasitas maksimum 32 GB. Perangkat tersebut juga didukung oleh koneksi internet melalui jaringan Wi-Fi.

Sementara itu, perangkat lunak yang digunakan untuk menunjang proses

penelitian meliputi *AutoDock Tools*, *Marvin Sketch*, *PyMOL*, *LigandScout*, *Discovery Studio*, dan *Notepad++*.

3.7.2.2 Prosedur Kerja

3.7.2.2.1 Analisis *Molecular Docking*

Penelitian ini mencakup analisis komputasi melalui pendekatan *molecular docking* yang bertujuan untuk mengidentifikasi interaksi antara ligan dan protein target. Pelaksanaan analisis tersebut dilakukan melalui beberapa tahap sebagai berikut:

3.7.2.2.2 Pencarian Data Protein Target

Informasi mengenai protein target diperoleh melalui basis data *UniProt* dan Protein Data Bank (PDB) (<https://www.uniprot.org/> dan <https://www.rcsb.org/>). Data protein diunduh dalam format.pdb, kemudian dilakukan preparasi struktur menggunakan aplikasi *AutoDock Tools*, meliputi penghilangan molekul air, penambahan muatan, serta pembuangan pelarut.

3.7.2.2.3 Pencarian Data Senyawa Aktif *Chrysophanol*

Struktur dua dimensi (2D) senyawa *chrysophanol* diperoleh dari basis data PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>). Senyawa tersebut merupakan salah satu senyawa golongan antrakuinon yang terdapat pada *Senna alata* berdasarkan penelitian sebelumnya. Struktur senyawa yang diperoleh tersedia dalam format .sdf. Selanjutnya, struktur 2D tersebut diubah menjadi struktur tiga dimensi (3D) dengan format .pdb menggunakan aplikasi *MarvinSketch*, kemudian digunakan sebagai ligan dalam proses *molecular docking*.

3.7.2.2.4 Pemodelan Struktur 3D protein

Pembentukan struktur tiga dimensi (3D) protein target dilakukan dengan bantuan aplikasi *AutoDock Tools*. Setelah struktur 3D diperoleh, dilakukan proses validasi terhadap struktur protein tersebut menggunakan aplikasi yang sama, yaitu *AutoDock Tools*.

3.7.2.2.5 Docking dan Visualisasi *Ligand-Protein Complex*

Proses simulasi *molecular docking* dilakukan untuk menganalisis interaksi senyawa aktif *chrysophanol* terhadap protein target dengan menggunakan aplikasi

AutoDock Tools. Pelaksanaan *molecular docking* mencakup tiga tahapan utama, yaitu preparasi ligan dan protein, penentuan *box imajiner*, serta pelaksanaan proses *docking*. Setelah diperoleh *Ligand-Protein Complex*, hasil interaksi antara ligan dan protein kemudian divisualisasikan menggunakan aplikasi *Discovery Studio* dan *LigandScout*.

3.8 Pengolahan dan Analisis Data

3.8.1 Pengumpulan dan Analisis Data DPPH

Data penelitian diperoleh melalui pengukuran absorbansi ekstrak metanol pelepah kelapa dan vitamin C dengan bantuan spektrofotometer UV-Vis. Selanjutnya, persentase inhibisi ditentukan berdasarkan hasil perhitungan menggunakan rumus berikut:

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

Persentase inhibisi digunakan untuk menggambarkan kemampuan antioksidan dari sampel yang diuji. Data tersebut kemudian disajikan melalui tabel dan grafik sehingga pola perubahan aktivitas antioksidan pada setiap variasi konsentrasi dapat diamati. Seluruh data dianalisis menggunakan perangkat lunak IBM SPSS Statistics. Tahap analisis diawali dengan analisis deskriptif untuk memperoleh gambaran umum data, yang meliputi nilai rata-rata, standar deviasi, nilai minimum, dan nilai maksimum. Selanjutnya, distribusi data diperiksa melalui uji normalitas Shapiro–Wilk, yang dipilih karena jumlah sampel relatif kecil. Data dianggap berdistribusi normal apabila nilai signifikansi yang diperoleh lebih dari 0,05. Setelah itu, keseragaman varians antar kelompok diperiksa menggunakan Levene’s test. Pengujian tersebut dilakukan untuk mengetahui apakah varians pada kedua kelompok memiliki karakteristik yang homogen.

Hasil uji normalitas dan homogenitas selanjutnya menjadi pertimbangan dalam pemilihan metode analisis komparatif. Apabila data tidak memenuhi persyaratan analisis parametrik, terutama apabila varians menunjukkan kondisi tidak homogen atau jumlah sampel tergolong kecil, maka digunakan uji Mann–

Whitney U sebagai metode nonparametrik pengganti independent t-test. Pada analisis tersebut, nilai Exact Sig. (2-tailed) digunakan dalam pelaporan hasil pengujian karena memberikan hasil yang lebih tepat pada jumlah sampel yang kecil.

3.8.2 Pengolahan Data dan Analisis *Molecular Docking*

3.8.2.1 Pengolahan Data

Evaluasi hasil *molecular docking* dilakukan berdasarkan tiga parameter utama, yaitu energi pengikatan, konstanta penghambatan, dan residu asam amino yang terlibat dalam interaksi antara ligan dengan protein. Ketiga parameter tersebut digunakan untuk menggambarkan karakteristik interaksi yang terbentuk antara senyawa aktif dan protein target.

a. Energi Pengikatan dan Konstanta Penghambatan

Nilai energi pengikatan serta konstanta penghambatan diperoleh dari hasil simulasi *docking* yang dianalisis menggunakan aplikasi Notepad. Energi pengikatan dinyatakan dalam satuan kcal/mol, sedangkan konstanta penghambatan menggunakan satuan mM/uM/nM.

b. Asam Amino Residu

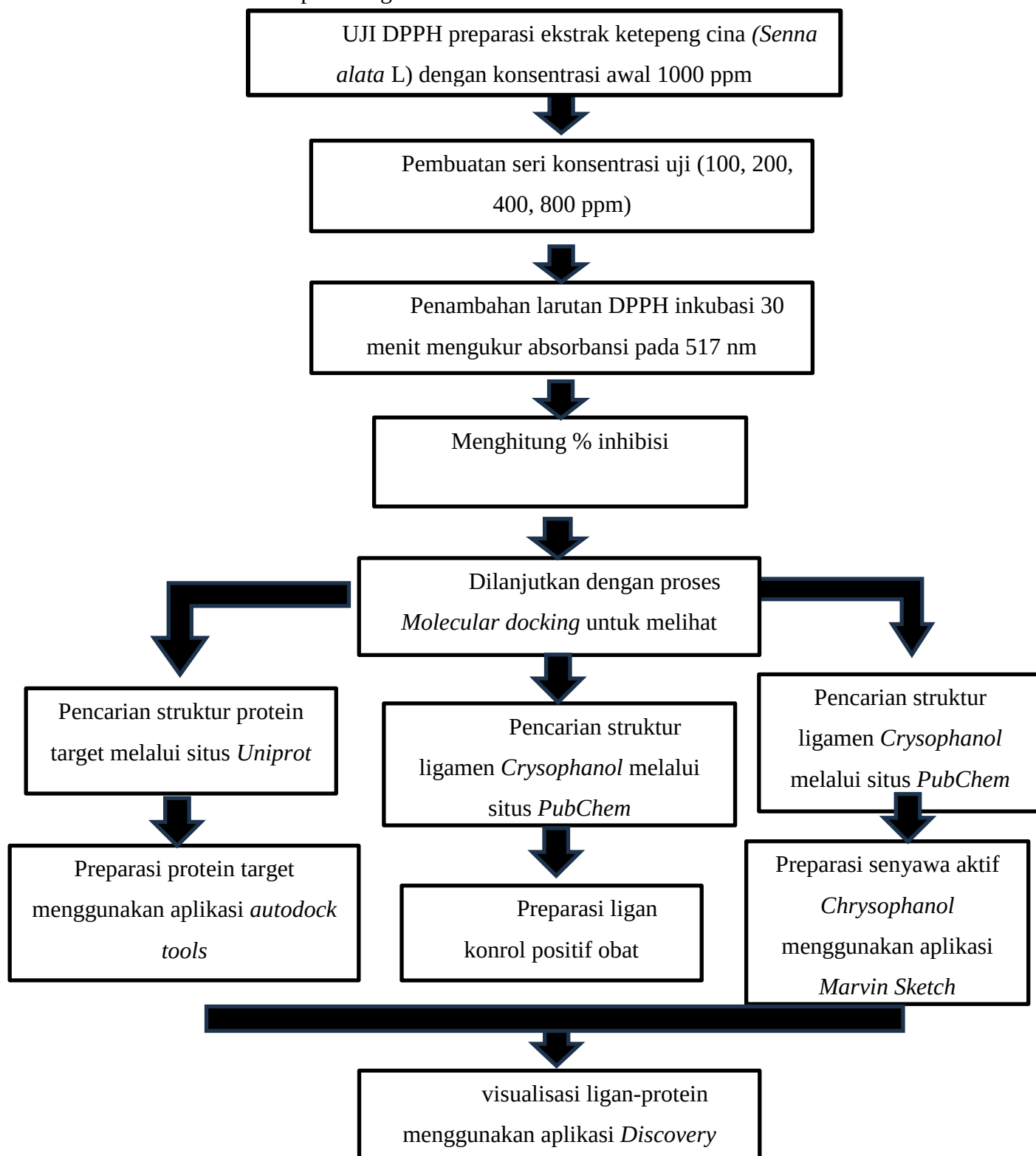
Identifikasi residu asam amino yang berinteraksi dengan ligan dilakukan melalui aplikasi *Discovery Studio*. Analisis dilakukan dengan mengamati visualisasi dua dimensi (2D) yang menggambarkan bentuk interaksi antara ligan dan protein target.

3.8.2.2 Analisis Data

Analisis terhadap hasil *molecular docking* dilakukan berdasarkan data yang diperoleh melalui aplikasi *AutoDock Tools*, terutama dengan menilai energi pengikatan serta konstanta penghambatan yang dihasilkan. Selanjutnya, kompleks *ligan-protein* divisualisasikan menggunakan *Discovery Studio* dan *LigandScout*. Visualisasi tersebut digunakan untuk mengidentifikasi bentuk interaksi yang terjadi, meliputi jumlah dan jenis ikatan hidrogen serta residu asam amino yang berinteraksi dengan ligan. Informasi mengenai interaksi tersebut kemudian digunakan untuk menentukan active site atau situs aktif pada kompleks ligand-protein

3.9 Alur penelitian *molecular docking* dan Uji DPPH

Alur penelitian metode *molecular docking* dan uji DPPH dapat dilihat pada diagram alur berikut.



BAB 4

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

4.1.1 Hasil Ekstraksi Daun Ketepeng Cina dalam Pelarut Etanol

Proses penyarian daun Ketepeng cina (*Senna alata L.*) menggunakan etanol 96% menghasilkan ekstrak yang mengandung berbagai metabolit sekunder. Ekstrak yang diperoleh selanjutnya dikentalkan, ditimbang, kemudian ditentukan nilai rendemennya, bisa dilihat pada Tabel 4.1.

Tabel 4. 1 Hasil Ekstraksi Daun Ketepeng Cina

Bobot Serbuk (gram)	Bobot Ekstrak Kental(gram)	Rendaman Ekstrak (%)
300 gram	43.03 gram	14.34%

4.1.2 Absorbansi dan Persen Inhibisi.

Hasil penyarian daun Ketepeng cina menggunakan pelarut etanol selanjutnya dilanjutkan dengan pengujian aktivitas antioksidan melalui metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). Sebelum dilakukan pengukuran, ekstrak terlebih dahulu diencerkan, kemudian dicampurkan dan dihomogenkan bersama larutan radikal DPPH. Campuran tersebut selanjutnya diinkubasi selama 30 menit dalam kondisi terlindung dari cahaya. Perubahan warna yang terjadi pada larutan uji setelah proses inkubasi selama 30 menit ditampilkan pada gambar 4.1.



Gambar 4. 1. Perubahan warna larutan yang di reaksi dengan DPPH

Keterangan: E= Kontrol Negatif, A- D = Larutan ekstrak (B) 100 ppm, (C) 200 ppm, (D) 400 ppm, CAN 800 ppm, F-I = Vitamin C (F) 10 ppm, (G) 20 ppm, (H) 30ppm, (I) 40 ppm.

Setelah proses inkubasi selesai, larutan uji menunjukkan adanya perubahan warna yang dapat diamati secara kualitatif. Larutan DPPH yang belum mengalami reaksi dengan komponen antioksidan tetap memperlihatkan warna ungu, sedangkan larutan yang mengandung senyawa antioksidan menunjukkan perubahan warna menuju kuning pucat sebagai akibat dari reduksi radikal DPPH. Selanjutnya, absorbansi masing-masing larutan ditentukan dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm. Data absorbansi yang diperoleh kemudian digunakan sebagai dasar perhitungan nilai persentase inhibisi atau kemampuan penghambatan terhadap radikal DPPH berdasarkan rumus berikut:

Hasil perhitungan lengkap dapat dilihat pada tabel berikut:

Tabel 4. 2 Nilai Absorbansi Dan Persentase Inhibisi Vitamin C

No	Konsentrasi	Absorbansi			Rerate	%
		1	2	3	Absorbansi	Inhibisi
1.	10 ppm	0.884	0.883	0.889	0.885	-34.498
2.	20 ppm	0.211	0.217	0.222	0.216	67.173
3.	30 ppm	0.102	0.103	0.104	0.103	84.346
4.	40 ppm	0.084	0.085	0.085	0.085	87.082

Hasil pengukuran absorbansi dan persentase inhibisi ekstrak etanol daun Ketepeng Cina pada berbagai konsentrasi disajikan pada Tabel 4.3.

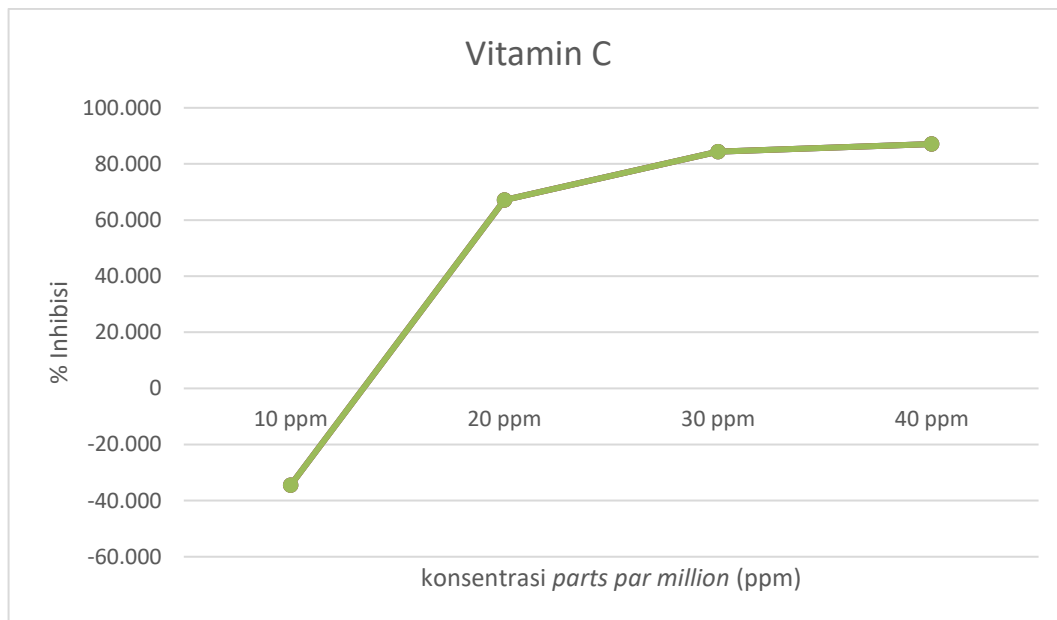
Tabel 4. 3 Nilai Absorbansi Dan Persen Inhibisi Ekstrak Etanol Daun Ketepeng Cina (*Senna alata L.*)

No	Konsentrasi	Absorbansi			Rerate	%
		1	2	3	Absorbansi	Inhibisi
1.	100 ppm	0.238	0.237	0.236	0.237	63.981
2.	200 ppm	0.167	0.167	0.167	0.167	74.620
3.	400 ppm	0.190	0.189	0.190	0.190	71.124
4.	800 ppm	0.272	0.270	0.269	0.270	58.966

Pada penelitian ini, vitamin C berperan sebagai kontrol positif dan digunakan pada konsentrasi 10, 20, 30, serta 40 ppm. Adapun ekstrak etanol daun Ketepeng Cina (*Senna alata L.*) dipersiapkan dalam empat variasi konsentrasi, yaitu 100, 200, 400, dan 800 ppm. Penentuan rentang konsentrasi yang berbeda pada kedua bahan uji mempertimbangkan karakteristik aktivitas antioksidan yang dimilikinya. Vitamin C diketahui dapat memberikan aktivitas antioksidan pada kadar yang relatif rendah, sedangkan ekstrak etanol daun Ketepeng Cina merupakan hasil penyarian yang mengandung beragam senyawa sehingga pengujiannya dilakukan pada tingkat konsentrasi yang lebih tinggi. Data berupa hasil pembacaan absorbansi dan persentase inhibisi terhadap radikal DPPH untuk kedua bahan uji tersebut disajikan pada Tabel 4.2 dan Tabel 4.3.

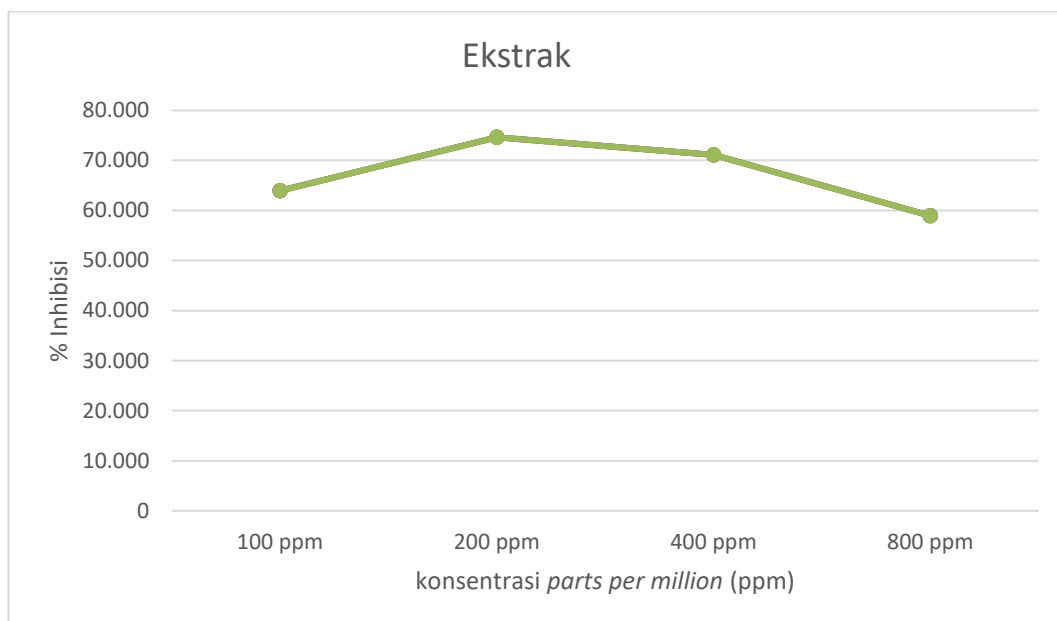
Hasil pengujian vitamin C pada Tabel 4.2 memperlihatkan adanya peningkatan kemampuan penghambatan sejalan dengan bertambahnya konsentrasi. Pada kadar 20 ppm, persentase inhibisi yang diperoleh adalah 67,173%. Nilai tersebut meningkat menjadi 84,346% pada 30 ppm dan selanjutnya mencapai 87,082% pada 40 ppm. Pada pengujian ekstrak etanol daun Ketepeng Cina yang ditampilkan dalam Tabel 4.3, konsentrasi 100 ppm menghasilkan inhibisi sebesar 63,981%. Peningkatan konsentrasi menjadi 200 ppm menyebabkan nilai tersebut bertambah hingga 74,620%. Akan tetapi, pada konsentrasi yang lebih tinggi, kemampuan penghambatan justru menunjukkan kecenderungan menurun. Nilai inhibisi pada 400 ppm tercatat sebesar 71,124%, sedangkan pada 800 ppm turun menjadi 58,966%. Dengan demikian, persentase inhibisi tertinggi pada ekstrak etanol daun Ketepeng Cina terdapat pada konsentrasi 200 ppm, dengan nilai sebesar 74,620%.

Hasil persen inhibisi berdasarkan konsentrasi larutan uji dapat terlihat pada grafik di bawah ini.



Gambar 4. 2 Grafik Hubungan Konsentrasi Vitamin C Terhadap Persen Inhibisi Radikal Bebas DPPH

Gambar 4.2 memperlihatkan bahwa penambahan konsentrasi vitamin C dari 10 ppm sampai 30 ppm menghasilkan kecenderungan kenaikan persentase inhibisi terhadap radikal DPPH. Nilai inhibisi paling besar tercatat pada konsentrasi 30 ppm. Namun, ketika konsentrasi dinaikkan menjadi 40 ppm, persentase inhibisi menunjukkan penurunan dalam jumlah kecil. Temuan ini menggambarkan bahwa kemampuan vitamin C dalam menghambat radikal DPPH mengalami peningkatan hingga konsentrasi 30 ppm sebagai titik optimum, kemudian sedikit berkurang pada konsentrasi 40 ppm.



Gambar 4. 3 Grafik Hubungan Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Ketepeng Cina (*Senna alata L.*) Terhadap Persen Inhibisi Radikal Bebas DPPH

Gambar 4.3, ekstrak etanol daun Ketepeng Cina memperlihatkan perubahan aktivitas penghambatan radikal DPPH pada setiap tingkat konsentrasi. Pada konsentrasi 100 ppm, nilai inhibisi mengalami peningkatan hingga mencapai nilai paling tinggi pada konsentrasi 200 ppm. Namun, ketika konsentrasi dinaikkan menjadi 400 ppm dan 800 ppm, nilai inhibisi justru menunjukkan kecenderungan menurun. Dengan demikian, konsentrasi 200 ppm merupakan kondisi dengan aktivitas antioksidan tertinggi, sementara pemberian ekstrak pada konsentrasi yang lebih besar tidak menghasilkan peningkatan aktivitas penghambatan terhadap radikal DPPH.

4.1.3 Analisis Univariate

4.1.3.1 Statistik Deskriptif Konsentrasi

Tabel 4. 4 Statistik Deskriptif Konsentrasi

Kelompok	N	Mean (ppm)	SD	Min	Max
Vitamin C	4	25,00	12,91	10	40
Ekstrak daun ketepeng	4	375,00	309,57	100	800

Tabel 4.4, hasil statistik deskriptif memperlihatkan jumlah pengamatan (N) sebanyak 4 data pada setiap kelompok. Nilai Mean menunjukkan besarnya konsentrasi rata-rata yang digunakan dalam masing-masing kelompok. Pada kelompok Vitamin C, diperoleh nilai rata-rata sebesar 25,00 ppm, sedangkan kelompok ekstrak daun ketepeng memiliki rata-rata konsentrasi sebesar 375,00 ppm. Nilai SD (*Standar Deviasi*) menggambarkan tingkat variasi atau penyebaran data terhadap nilai rata-ratanya. Kelompok Vitamin C memiliki nilai SD sebesar 12,91, sementara kelompok ekstrak daun ketepeng menunjukkan nilai SD sebesar 309,57. Hal ini menunjukkan bahwa rentang penyebaran konsentrasi pada ekstrak daun ketepeng lebih besar dibandingkan dengan Vitamin C.

Selanjutnya, nilai Min (*Minimum*) menunjukkan konsentrasi paling rendah, sedangkan Max (*Maximum*) menunjukkan konsentrasi paling tinggi yang digunakan dalam pengujian. Kelompok Vitamin C memiliki rentang konsentrasi 10–40 ppm, sementara ekstrak daun ketepeng berada pada rentang 100–800 ppm. Secara keseluruhan, perbedaan nilai statistik deskriptif tersebut menunjukkan adanya perbedaan rentang konsentrasi antara kedua bahan uji. Ekstrak daun ketepeng digunakan pada konsentrasi yang lebih tinggi daripada Vitamin C dalam pengujian aktivitas antioksidan.

4.1.3.2 Statistik Deskriptif persen inhibisi

Hasil analisis statistik deskriptif persen inhibisi pada kelompok vitamin C dan ekstrak daun Ketepeng cina disajikan pada tabel 4.5.

Tabel 4. 5 Statistik Deskriptif persen inhibisi

Kelompok	N	Mean (%)	SD	Min	Max
Vitamin C	4	51,03	57,69	-34,50	87,08
Ekstrak daun ketepeng	4	67,17	7,04	58,97	74,62

tabel 4.5, analisis deskriptif memperlihatkan bahwa masing-masing kelompok terdiri dari 4 data pengamatan (N = 4). Nilai Mean menggambarkan rata-rata persentase inhibisi yang diperoleh dari setiap kelompok. Rata-rata persentase inhibisi pada kelompok Vitamin C tercatat sebesar 51,03%, sedangkan kelompok

ekstrak daun ketepeng memperoleh nilai rata-rata sebesar 67,17%. Nilai SD (*Standar Deviasi*) digunakan untuk menggambarkan tingkat variasi data terhadap nilai rata-ratanya. Pada kelompok Vitamin C diperoleh nilai SD sebesar 57,69, sedangkan pada kelompok ekstrak daun ketepeng sebesar 7,04. Perbedaan tersebut menunjukkan bahwa data persentase inhibisi pada kelompok ekstrak daun ketepeng memiliki tingkat penyebaran yang lebih rendah dibandingkan dengan kelompok Vitamin C.

Selanjutnya, nilai Min (*Minimum*) menunjukkan persentase inhibisi paling rendah, sedangkan Max (*Maximum*) menunjukkan persentase inhibisi paling tinggi. Kelompok Vitamin C memiliki rentang nilai -34,50% hingga 87,08%, sementara kelompok ekstrak daun ketepeng berada pada rentang 58,97% hingga 74,62%. Secara keseluruhan, hasil analisis deskriptif menunjukkan bahwa nilai inhibisi ekstrak daun ketepeng memiliki variasi yang lebih kecil pada konsentrasi yang digunakan. Hal tersebut tercermin dari nilai standar deviasi ekstrak yang lebih rendah dibandingkan dengan Vitamin C, sehingga hasil penghambatan pada kelompok ekstrak menunjukkan penyebaran data yang relatif lebih sempit.

4.1.4 Analisa Bivariat

4.1.4.1 Uji Normalitas

Sebelum dilakukan Analisa bivariat, dilakukan uji normalitas terlebih dahulu terhadap data yang diperoleh. Hasil uji normalitas menentukan analisis bivariat yang akan digunakan. Hasil uji normalitas yang didapat pada penelitian adalah sebagai berikut:

Tabel 4.6 Distribusi Uji Normalitas Data

Variabel	Kelompok		Frekuensi (n)	Statistic	df	Sig.
Konsentrasi	Vitamin C		4	0,993	4	0,972
	Ekstrak	daun ketepeng	4	0,920	4	0,538
Persen inhibisi	% Vitamin C		4	0,748	4	0,037
	% Ekstrak	daun ketepeng	4	0,960	4	0,781

Tabel 4.6. Hasil uji normalitas Shapiro–Wilk menunjukkan adanya perbedaan distribusi data antara kedua kelompok yang dianalisis. Pada kelompok Vitamin C, diperoleh nilai signifikansi sebesar 0,037 ($p < 0,05$), sehingga data persen inhibisi dinyatakan tidak mengikuti distribusi normal. Berbeda dengan kelompok ekstrak daun ketepeng yang memperoleh nilai signifikansi sebesar 0,781 ($p > 0,05$), sehingga data pada kelompok tersebut memenuhi asumsi distribusi normal. Dengan adanya salah satu kelompok yang tidak memenuhi asumsi normalitas, perbandingan aktivitas antioksidan antara Vitamin C dan ekstrak daun ketepeng selanjutnya dianalisis menggunakan uji Mann–Whitney U.

4.1.4.2 Uji Homogenitas Varians (Levene's Test)

Tabel 4. 7 Uji Homogenitas Varian (Levene's Test)

Variabel	Kelompok	Frekuensi (n)	Levene Statistic (F)	Sig.
Konsentrasi (ppm)	Vitamin C	4	6,518	0,043
	Ekstrak daun ketepeng	4		
Persen inhibisi (%)	Vitamin C	4	6,128	0,048
	Ekstrak daun ketepeng	4		

Berdasarkan Tabel 4.7, Hasil analisis homogenitas varians menggunakan Levene's Test menunjukkan bahwa pada variabel konsentrasi diperoleh nilai Levene Statistic sebesar 6,518 dengan tingkat signifikansi 0,043 ($p < 0,05$). Berdasarkan hasil tersebut, varians konsentrasi antara kelompok Vitamin C dan ekstrak daun Ketepeng menunjukkan perbedaan, sehingga data kedua kelompok dikategorikan tidak homogen. Pada variabel persentase inhibisi, nilai Levene Statistic yang diperoleh sebesar 6,128 dengan nilai signifikansi 0,048 ($p < 0,05$). Hasil ini menunjukkan bahwa varians persentase inhibisi antara kelompok Vitamin C dan ekstrak daun Ketepeng juga tidak menunjukkan kesamaan varians. Hasil uji normalitas yang telah dilakukan pada tahap sebelumnya turut menunjukkan bahwa data persentase inhibisi pada kelompok Vitamin C tidak memenuhi asumsi

distribusi normal. Hal tersebut ditunjukkan melalui hasil uji Shapiro–Wilk dengan nilai $p = 0,037$ ($p < 0,05$).

4.1.4.3 Uji Mann-Whitney

Berdasarkan hasil pengujian prasyarat analisis, diketahui bahwa distribusi data pada kelompok yang dibandingkan tidak seluruhnya memenuhi asumsi normalitas. Selain itu, hasil pemeriksaan homogenitas dengan Levene's Test menunjukkan bahwa varians kedua kelompok tidak memiliki kesamaan dengan nilai signifikansi $p < 0,05$. Kondisi tersebut menunjukkan bahwa penggunaan uji parametrik independent t-test tidak sesuai dengan karakteristik data penelitian. Oleh karena itu, perbedaan antara kelompok Vitamin C dan ekstrak daun Ketepeng dianalisis menggunakan uji nonparametrik Mann–Whitney.

Tabel 4. 8 Uji *Mann-Whitney*

Variabel	Exact Sig. (2-tailed)	Keterangan
Konsentrasi	0.029	Signifikan ($p < 0,05$)
Persen Inhibisi	0.686	Tidak signifikan ($p > 0,05$)

Tabel 4.8 Berdasarkan hasil analisis menggunakan uji Mann–Whitney, variabel konsentrasi memperoleh nilai *Exact Sig. (2-tailed)* sebesar 0,029 ($p < 0,05$). Nilai tersebut menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antara konsentrasi vitamin C dan ekstrak etanol daun Ketepeng Cina (*Senna alata* L.). Perbedaan ini menggambarkan bahwa tingkat konsentrasi yang digunakan pada kedua kelompok memiliki rentang yang berbeda.

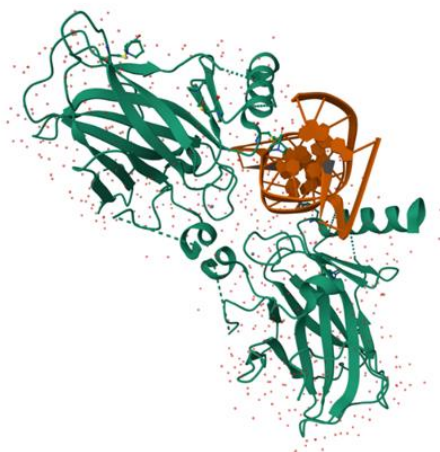
Sementara itu, pada variabel persentase inhibisi diperoleh nilai *Exact Sig. (2-tailed)* sebesar 0,686 ($p > 0,05$). Hasil tersebut menunjukkan bahwa perbedaan persentase inhibisi antara vitamin C dan ekstrak etanol daun Ketepeng Cina tidak bermakna secara statistik. Dengan demikian, meskipun kedua bahan uji diberikan pada konsentrasi yang berbeda secara signifikan, kemampuan keduanya dalam menghambat radikal bebas tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan berdasarkan kondisi pengujian yang dilakukan.

4.2 Hasil Analisis *Molecular Docking*

4.2.1 Hasil Pencarian Data Struktur Protein

Penetapan protein target p53 dilakukan melalui penelusuran basis data *UniProt* (<https://www.uniprot.org/>) dan database protein RSCB-PDB (<https://www.rcsb.org/>). Pemilihan struktur protein didasarkan pada beberapa pertimbangan, meliputi tahun publikasi, tingkat resolusi struktur, keberadaan mutasi, serta adanya *native ligand*.

Berdasarkan kriteria tersebut, struktur protein p53 yang digunakan dalam penelitian ini adalah PDB ID 7B4N (<https://www.rcsb.org/structure/7B4N>). Struktur tersebut dirilis pada tahun 2021 dengan resolusi sebesar 1,32 Å dan tidak menunjukkan adanya mutasi. Pada struktur tersebut juga ditemukan *native ligand* berupa (2~{S})-2-methyl-1-azabicyclo[2.2.2]octan-3-one) dengan kode QNN. (<https://www.rcsb.org/ligand-validation/7B4N/QNN>).

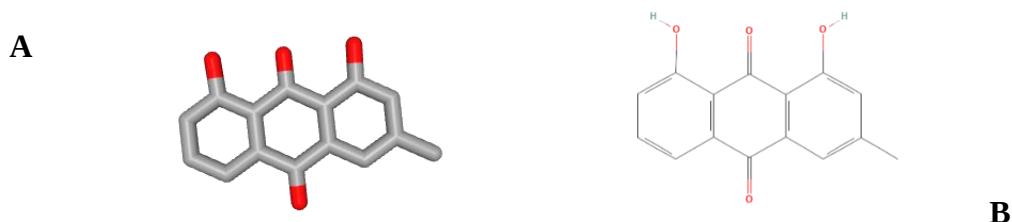


Gambar 4. 4. Struktur protein p53 (7B4N)

4.2.2 Hasil Pencarian Data Senyawa Aktif

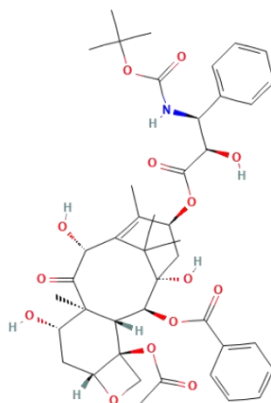
Struktur senyawa aktif *chrysophanol* ditelusuri melalui basis data *PubChem* dengan identitas *PubChem* CID 10208 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/10208>). Berdasarkan informasi yang tercantum pada basis data tersebut, *chrysophanol* memiliki formula molekul

$C_{15}H_{10}O_4$ dengan massa molekul sebesar 254,24 g/mol. Data tersebut digunakan sebagai acuan dalam memperoleh struktur senyawa chrysophanol yang selanjutnya digunakan pada tahapan penelitian.



Gambar 4. 5 Struktur senyawa *Chrysophanol*; A. 3 dimensi; B. 2 dimensi.

Struktur senyawa aktif *Docetaxel* ditelusuri melalui basis data *PubChem* dengan menggunakan identitas PubChem CID 148124. Berdasarkan informasi yang tercantum pada basis data tersebut, senyawa *Docetaxel* memiliki formula molekul $C_{43}H_{53}NO_{14}$ dan massa molekul sebesar 807,9 g/mol. Data senyawa yang tercatat dalam *PubChem* tersebut dibuat pada tahun 2005 dan selanjutnya digunakan sebagai acuan struktur senyawa dalam penelitian ini.

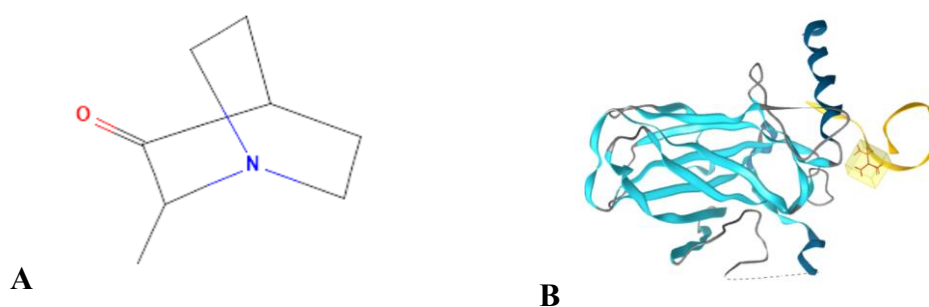


Gambar 4. 6 Struktur senyawa *Docetaxel* 2 dimensi.

Identifikasi native ligand yang berasosiasi dengan protein target p53 dilakukan berdasarkan struktur kompleks protein yang digunakan dalam penelitian. Ligan tersebut diidentifikasi sebagai senyawa (2~{S})-2-methyl-1-azabicyclo[2.2.2]octan-3-one) dengan kode QNN. Senyawa QNN selanjutnya

ditelusuri melalui basis data *PubChem* menggunakan nomor CID 459054628 sebagai informasi pendukung identitas senyawa. Struktur kompleks yang memuat ligan tersebut memiliki tahun rilis 2021.

Catatan: jika angka CID 459054628 merupakan data yang sudah Anda tetapkan dari sumber penelitian, tetap dapat dicantumkan. Namun, untuk penulisan skripsi sebaiknya nomor CID tersebut diverifikasi kembali pada halaman *PubChem* yang Anda gunakan, karena sumber struktur PDBJ/RCSB yang saya cek menampilkan identitas QNN dan informasi tahun rilis, tetapi tidak mengonfirmasi CID 459054628.



Gambar 4. 7 Struktur senyawa QNN native ligand dari p53; A. 2 dimensi; B. keberadaan senyawa QNN sebagai native ligands dari p53 (kotak kuning).

4.2.3 Hasil Analisis Interaksi Antara Protein dan Ligan

Hasil analisis *molecular docking* menghasilkan beberapa parameter yang digunakan dalam evaluasi interaksi antara ligan dan protein target, meliputi energi pengikatan (EP), konstanta penghambatan (KP), serta *Root Mean Square Deviation* (RMSD).

Validasi proses *docking* pada protein p53 dilakukan melalui proses redocking dengan menggunakan native ligand sebagai ligan pembanding. Tahapan validasi tersebut dilakukan dengan menguji beberapa ukuran grid box, 40x40x40, 50x50x50, dan 60x60x60, untuk memperoleh kondisi *docking* yang sesuai.

Tabel 4. 9 Validasi Grid box protein p53.

<i>Grid Box</i>	EP (kcal/mol)	RMSD (Å)
40x40x40	-2.15	2.65
50x50x50	-3.03	6.39
60x60x60	-3.03	6.41

Berdasarkan hasil *validasi redocking* pada protein p53 menggunakan native ligand dari masing-masing protein, konfigurasi *grid box* berukuran $40 \times 40 \times 40$ dipilih sebagai parameter yang digunakan pada tahap *docking* selanjutnya. Pemilihan tersebut didasarkan pada hasil pengujian yang menunjukkan nilai energi pengikatan yang rendah dan $\text{RMSD} < 2 \text{ \AA}$. Tahap validasi ini dilakukan untuk memastikan bahwa metode *docking* mampu menempatkan ligan pada lokasi pengikatan yang sesuai dengan situs aktif protein target.

Setelah konfigurasi *grid box* ditetapkan berdasarkan hasil validasi, proses *molecular docking* dilanjutkan dengan menguji interaksi senyawa aktif terhadap protein p53. Pengujian dilakukan menggunakan parameter *grid box* yang telah memenuhi kriteria validasi sebelumnya. Hasil analisis *molecular docking* antara senyawa aktif dan protein p53 selanjutnya diperoleh sebagai berikut:

Tabel 4. 10 Hasil energi pengikatan (EP (kcal/mol)), konstanta penghambatan (KP (uM)), dan RMSD (Å) antara protein p53 terhadap ligan.

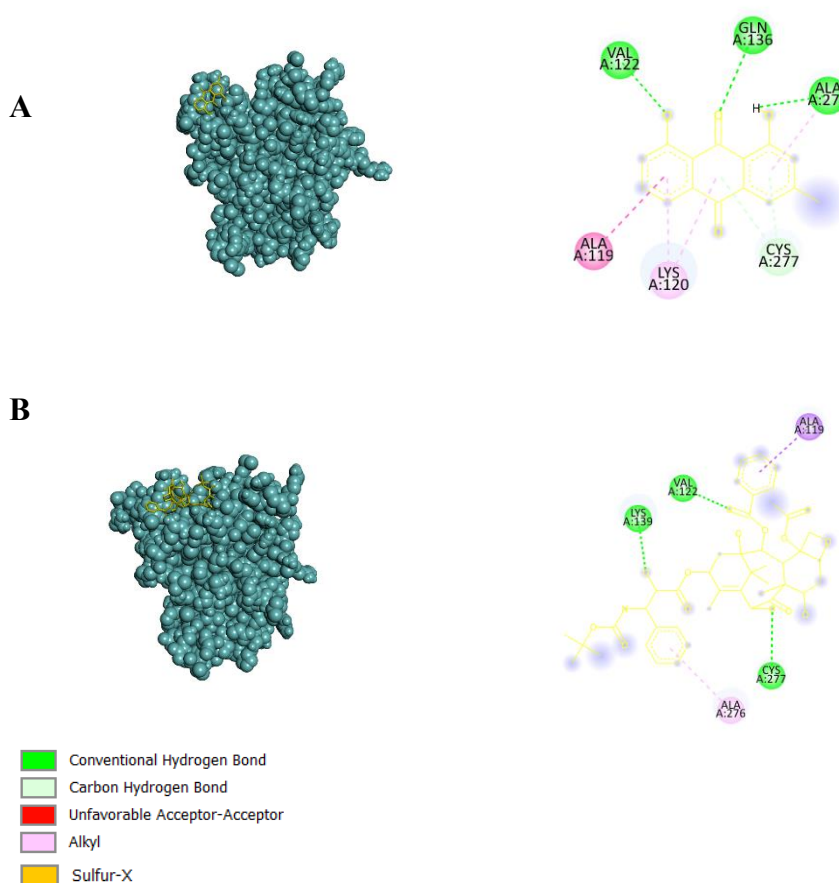
Komponen Bioaktif	BDNF		
	EP	KP	RMSD
<i>Chrysophanol</i>	-4.77	319.05	1.989
<i>Docetaxel</i>	-2.47	15340	2.597

Berdasarkan hasil simulasi *molecular docking* terhadap protein p53, diperoleh perbedaan nilai pada parameter energi pengikatan, konstanta penghambatan, dan RMSD antara senyawa *chrysophanol* dan *Docetaxel*. Senyawa *chrysophanol* menunjukkan energi pengikatan sebesar $-4,77 \text{ kcal/mol}$ dengan konstanta penghambatan $319,05 \text{ }\mu\text{M}$, sedangkan *Docetaxel* menghasilkan energi pengikatan sebesar $-2,47 \text{ kcal/mol}$ dan konstanta penghambatan sebesar $15340 \text{ }\mu\text{M}$.

Ditinjau dari nilai RMSD, konfigurasi *chrysophanol* menghasilkan nilai $\text{RMSD} < 2 \text{ \AA}$, sementara hasil *docking Docetaxel* menunjukkan nilai $\text{RMSD} > 2 \text{ \AA}$. Berdasarkan ketiga parameter tersebut, terdapat perbedaan hasil interaksi antara *chrysophanol* dan *Docetaxel* terhadap protein p53, yang selanjutnya dapat digunakan sebagai dasar dalam mengevaluasi kestabilan serta kemampuan pengikatan kedua senyawa terhadap protein target.

4.2.4 Hasil Visualisasi Ligand-Protein Complex

4.2.4.1 Visualisasi p53 Terhadap Senyawa Aktif *Chrysophanol* dan *Docetaxel*



Gambar 4. 8 Visualisasi 3D dan 2D dari: A. P53-*Chrysophanol*; B. P53-*Docetaxel*.

Hasil visualisasi menunjukkan adanya interaksi antara protein p53 dengan senyawa *chrysophanol* maupun *docetaxel* melalui pembentukan ikatan hidrogen pada residu *asam amino* tertentu. Pada kompleks *p53–chrysophanol*, teridentifikasi

empat ikatan hidrogen yang melibatkan *residu Valine* (VAL) 122, *Glutamine* (GLN) 136, *Alanine* (ALA) 276, serta *Cysteine* (CYS) 277. Adapun pada kompleks p53–*docetaxel*, ditemukan tiga ikatan hidrogen yang berinteraksi dengan residu *Lysine* (LYS) 139, VAL122, dan CYS277.

4.3 Pembahasan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun Ketepeng Cina (*Senna alata* L.) memiliki potensi sebagai antioksidan dalam menangkal radikal bebas DPPH. Aktivitas tersebut ditunjukkan melalui nilai persentase inhibisi pada setiap konsentrasi yang digunakan, yaitu 63,981% pada 100 ppm, 74,620% pada 200 ppm, 71,124% pada 400 ppm, dan 58,966% pada 800 ppm. Kemampuan tersebut menunjukkan bahwa komponen bioaktif dalam ekstrak etanol daun Ketepeng Cina mampu mereduksi radikal DPPH melalui mekanisme transfer atom hidrogen atau elektron, sehingga radikal bebas menjadi lebih stabil. Aktivitas antioksidan ini diduga berkaitan dengan keberadaan berbagai metabolit sekunder yang terdapat dalam daun Ketepeng Cina, seperti flavonoid, senyawa fenolik, serta kelompok antrakuinon, termasuk *chrysophanol*, yang berpotensi berperan dalam proses penangkapan radikal bebas.^{62,63}

Nilai inhibisi tertinggi diperoleh pada konsentrasi 200 ppm, sedangkan pada konsentrasi 400 ppm dan 800 ppm justru ditemukan penurunan persentase inhibisi. Kondisi tersebut memperlihatkan bahwa penambahan konsentrasi ekstrak tidak selalu menghasilkan peningkatan aktivitas antioksidan secara proporsional. Keadaan ini dapat berkaitan dengan kompleksitas komponen bioaktif yang terdapat dalam ekstrak etanol daun Ketepeng Cina.⁶⁴ Pada konsentrasi ekstrak yang semakin tinggi, kemungkinan terjadi interaksi antarkomponen yang bersifat antagonistik maupun perubahan karakteristik larutan, sehingga kemampuan dalam meredam radikal bebas tidak mengalami peningkatan secara linier. Selain faktor tersebut, peningkatan jumlah ekstrak dalam larutan dapat menyebabkan warna larutan menjadi semakin pekat, yang pada akhirnya berpotensi memengaruhi hasil pembacaan absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-Vis.^{65,66}

Vitamin C digunakan sebagai kontrol positif karena dikenal sebagai antioksidan alami yang memiliki kemampuan kuat dalam menangkal radikal bebas.

Dalam penelitian ini, aktivitas antioksidan vitamin C ditemukan lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak daun Ketepeng cina, dilihat dari jumlah persen inhibisi yang mana diperoleh pada konsentrasi yang lebih rendah. Hasil tersebut mengindikasikan bahwa vitamin C sebagai senyawa tunggal memiliki efektivitas antioksidan yang lebih tinggi yang lebih tinggi dari pada ekstrak etanol daun Ketepeng cina yang tersusun atas berbagai macam metabolik sekunder.^{67,68}

Berdasarkan hasil analisis statistik, terdapat perbedaan yang signifikan antara konsentrasi vitamin C dan ekstrak etanol daun Ketepeng cina (*Senna alata* L.) dengan nilai *Exact Sig.* sebesar 0,029 ($p < 0,05$). Sebaliknya, analisis terhadap persentase inhibisi yang menghasilkan nilai *Exact Sig.* sebesar 0,686 ($p > 0,05$), sehingga dapat dinyatakan bahwa kemampuan vitamin C dan ekstrak etanol daun Ketepeng cina dalam menghambat radikal bebas DPPH tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan. Temuan ini menunjukkan bahwa walaupun ekstrak daun Ketepeng cina membutuhkan konsentrasi yang lebih besar dari pada vitamin C untuk memberikan efek antioksidan, kemampuan keduanya dalam menghambat radikal bebas relatif setara. Hasil tersebut memperlihatkan bahwa ekstrak etanol daun Ketepeng cina berpotensi menjadi sumber antioksidan alami dengan kemampuan menangkap radikal bebas yang secara statistik tidak berbeda signifikan dari vitamin C dalam kondisi penelitian yang dilakukan.^{69,70}

Dalam penelitian ini, kandungan *chrysophanol* pada ekstrak etanol daun Ketepeng cina belum dapat dibuktikan secara langsung, sehingga hal tersebut menjadi salah satu keterbatasan penelitian. Walaupun demikian, pemanfaatan *chrysophanol* sebagai ligan dalam analisis *molecular docking* masih memiliki landasan ilmiah berdasarkan sejumlah penelitian sebelumnya yang melaporkan bahwa *chrysophanol* termasuk dalam kelompok senyawa antrakuinon yang terdapat pada daun Ketepeng cina (*Senna alata* L.).⁶⁷ dengan demikian, hasil yang diperoleh dapat memberikan informasi awal mengenai kemungkinan interaksi antara *chrysophanol* dengan protein target p53. Untuk meningkatkan validitas hasil penelitian, ditemukan studi lanjutan yang dapat mengonfirmasi keberadaan *chrysophanol* secara langsung dalam ekstrak melalui metode analisis yang lebih

spesifik, seperti High Performance *Liquid Chromatography* (HPLC) atau *Liquid Chromatography–Mass Spectrometry* (LC-MS/MS).^{71,72}

Protein p53 dengan kode PDB 7B4N digunakan sebagai target pada penelitian ini karena memiliki resolusi struktur sebesar 1,32 Å, berstatus *wild-type*, serta memiliki *native ligand* QNN. Ketiga karakter tersebut mengindikasikan bahwa protein memiliki kualitas struktur yang memadai sehingga dapat digunakan sebagai target dalam analisis *molecular docking*. Berdasarkan *native ligand* juga membantu proses validasi sekaligus mempermudah identifikasi sisi aktif protein sebelum tahapan *docking* dilakukan.⁷³

Chrysophanol dipilih sebagai ligan uji karena merupakan suatu senyawa aktif utama pada daun Ketepeng cina (*Senna alata* L.), sedangkan docetaxel digunakan sebagai ligan pembanding karena telah digunakan sebagai obat kemoterapi pada berbagai jenis kanker.⁷⁴ Berdasarkan data PubChem, *chrysophanol* memiliki berat molekul sebesar 254,24 g/mol, sedangkan docetaxel sebesar 807,88 g/mol. Perbedaan struktur kimia dan gugus fungsi kedua ligan diduga memengaruhi kemampuan interaksinya terhadap protein p53, sebagaimana terlihat dari perbedaan nilai *binding energy*, konstanta penghambatan (K_i), RMSD, dan pola interaksi yang diperoleh pada penelitian ini.⁷⁵

Sebelum dilakukan analisis terhadap ligan uji dan ligan pembanding, dilakukan validasi metode menggunakan *native ligand* QNN melalui proses *redocking*. Hasil validasi menunjukkan bahwa penggunaan *grid box* berukuran $40 \times 40 \times 40$ menghasilkan nilai RMSD sebesar 2,65 Å dengan *binding energy* sebesar -2,15 kcal/mol. Nilai RMSD tersebut berada di bawah 3 Å sehingga memperlihatkan bahwa parameter *docking* yang digunakan mampu mereproduksi posisi *native ligand* dengan baik. Dengan demikian, parameter yang digunakan dinilai valid untuk memprediksi interaksi *chrysophanol* dan docetaxel terhadap protein p53.

Analisis *molecular docking* menunjukkan bahwa *chrysophanol* menghasilkan nilai *binding energy* sebesar -4,77 kcal/mol, sementara docetaxel sebesar -2,47 kcal/mol. Selain itu, nilai konstanta penghambatan (K_i) *chrysophanol* sebesar 319,05 µM lebih rendah dibandingkan docetaxel sebesar 15.340 µM. Nilai

binding energy yang lebih negatif dan nilai *Ki* yang lebih rendah mengindikasikan bahwa *chrysophanol* memiliki afinitas pengikatan terhadap protein p53 dibandingkan docetaxel. Hasil tersebut mengindikasikan bahwa kompleks *chrysophanol*–protein p53 memiliki kestabilan yang lebih baik selama proses simulasi *docking*.⁷⁶

Hasil tersebut didukung oleh nilai RMSD, di mana kompleks protein p53–*chrysophanol* memiliki nilai RMSD sebesar 1,989 Å, sedangkan kompleks protein p53–docetaxel sebesar 2,597 Å. Kedua nilai tersebut masih memenuhi batas validasi *docking* (<3 Å), sehingga posisi kedua ligan masih dapat diterima. Nilai RMSD *chrysophanol* yang lebih rendah mengindikasikan bahwa orientasi pengikatannya lebih mendekati posisi referensi dibandingkan docetaxel. Konsistensi antara nilai *binding energy*, *Ki*, dan RMSD memperkuat dugaan bahwa *chrysophanol* membentuk interaksi yang lebih stabil dengan protein p53.⁷⁷

Hasil visualisasi interaksi dua dimensi (2D) juga mendukung temuan tersebut. *Chrysophanol* membentuk empat ikatan hidrogen, sedangkan docetaxel membentuk tiga ikatan hidrogen.⁷⁸ Adanya jumlah ikatan hidrogen yang lebih banyak pada kompleks *chrysophanol* memperlihatkan adanya interaksi yang lebih kuat dengan sisi aktif protein. Selain itu, adanya interaksi hidrofobik turut berkontribusi dalam mempertahankan kestabilan kompleks ligan–protein. Temuan ini sejalan dengan hasil *binding energy*, *Ki*, dan RMSD yang secara konsisten menunjukkan bahwa *chrysophanol* memiliki afinitas pengikatan yang lebih baik dibandingkan docetaxel.⁷⁹

Secara keseluruhan, seluruh parameter *molecular docking* dalam penelitian ini menunjukkan pola yang konsisten dan saling memperkuat. *Chrysophanol* menghasilkan nilai *binding energy* yang lebih rendah, nilai *Ki* yang lebih kecil, RMSD yang lebih rendah, serta jumlah ikatan hidrogen yang lebih banyak dibandingkan docetaxel.⁸⁰ Hasil tersebut menunjukkan bahwa *chrysophanol* memiliki kemampuan berikatan yang lebih baik dengan protein p53 sehingga berpotensi dikembangkan sebagai kandidat senyawa antikanker.⁵³ Temuan ini juga sejalan dengan beberapa penelitian terdahulu yang melaporkan bahwa

chrysophanol mampu membentuk interaksi yang stabil dengan berbagai protein target yang berperan dalam regulasi proliferasi sel dan apoptosis, meskipun nilai afinitas pengikatan yang diperoleh dapat berbeda bergantung pada protein target dan parameter *docking* yang digunakan.⁸¹

Meskipun demikian, hasil *molecular docking* pada penelitian ini masih merupakan prediksi secara *in silico* sehingga belum dapat menggambarkan aktivitas biologis secara langsung. Oleh karena itu, diperlukan penelitian lanjutan berupa simulasi *molecular dynamics* untuk mengevaluasi kestabilan kompleks ligan–protein, serta pengujian *in vitro* dan *in vivo* untuk mengonfirmasi aktivitas antikanker *chrysophanol* terhadap protein p53.⁸²

BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Mengacu pada temuan penelitian terkait aktivitas antioksidan ekstrak daun Ketepeng Cina (*Senna alata L.*) dan interaksi molekuler senyawa *Chrysophanol* terhadap protein p53, dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak etanol daun Ketepeng Cina (*Senna alata L.*) menunjukkan kemampuan dalam meredam radikal bebas berdasarkan pengujian menggunakan metode DPPH. Persentase penghambatan paling tinggi diperoleh sebesar 74,620%.
2. Senyawa *chrysophanol* memperlihatkan potensi interaksi dengan protein target p53 berdasarkan hasil analisis *molecular docking*. Potensi tersebut ditunjukkan melalui nilai energi pengikatan sebesar $-4,77$ kcal/mol dan konstanta inhibisi (K_i) sebesar $319,05 \mu\text{M}$. Jika dibandingkan dengan *docetaxel* sebagai kontrol positif, *chrysophanol* menunjukkan kecenderungan daya ikat yang lebih kuat terhadap protein p53. *Docetaxel* menghasilkan nilai energi pengikatan sebesar $-2,47$ kcal/mol dan konstanta inhibisi sebesar $15.340 \mu\text{M}$.

5.2 Saran

Saran yang dapat dirumuskan dari penelitian ini sebagai bahan pertimbangan dan dasar bagi penelitian berikutnya adalah sebagai berikut:

1. Penelitian berikutnya perlu melakukan identifikasi sekaligus penetapan kadar senyawa *chrysophanol* secara langsung pada ekstrak etanol daun Ketepeng Cina (*Senna alata L.*) melalui metode *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) atau *Liquid Chromatography–Mass Spectrometry* (LC-MS/MS). Langkah tersebut diperlukan untuk memberikan bukti ilmiah mengenai keberadaan serta kadar *chrysophanol* dalam ekstrak yang digunakan.

2. Pada penelitian selanjutnya, sebaiknya digunakan standar *chrysophanol* atau standar *antrakuinon* yang memiliki kondisi dan kelayakan penggunaan yang baik. Penggunaan standar yang sesuai diharapkan dapat mendukung proses identifikasi senyawa aktif secara lebih optimal sehingga data yang diperoleh memiliki tingkat ketepatan dan keakuratan yang lebih baik.
3. Penelitian selanjutnya dapat memperluas kajian dengan melibatkan beberapa protein target lain yang memiliki keterkaitan dengan kanker payudara. Penambahan variasi target tersebut diharapkan dapat memperluas informasi mengenai pola interaksi *chrysophanol* serta memberikan gambaran yang lebih menyeluruh mengenai kemungkinan mekanisme kerjanya pada berbagai jalur molekuler yang berhubungan dengan kanker payudara.
4. Kajian lanjutan berupa simulasi *molecular dynamics* perlu dipertimbangkan untuk menilai kestabilan kompleks yang terbentuk antara ligan dan protein target. Pendekatan tersebut dapat digunakan untuk melengkapi hasil *molecular docking* serta memberikan pemahaman yang lebih mendalam mengenai kestabilan dan karakteristik interaksi *chrysophanol* dengan protein target

DAFTAR PUSTAKA

1. Hero SK. Faktor Resiko Kanker Payudarah. *J Med Utama*. 2021;02(04):1175–80.
2. Ketut S sari LM karuni kartika. Kanker Payudara: Diagnostik, Faktor Risiko, Dan Stadium. *Ganesha Med*. 2022;2(1):42–8.
3. Alberts A, Moldoveanu E theodora, Niculescu A gabriela, Grumezescu AM. Vitamin C : A Comprehensive Review of Its Role in Health , Disease Prevention , and Therapeutic Potential. *Molecules* [Internet]. 2025;30(3):748. Available from: <https://doi.org/10.3390/molecules30030748>
4. Fauzi MF, Wutsqa YU, Rohmatika NA. Studi Bioavailabilitas Dan Molecular Docking Senyawa Fenolik *Ocimum sanctum* L. Sebagai Inhibitor Reseptor Estrogen Alfa Pada Sel Kanker Payudara. *Akfarindo*. 2024;9(1):49–56.
5. Fitriasih F, Isfaeni H, Jakarta UN, Malang U. Analisis Molecular Docking Senyawa Aktif Genistein Dari Tumbuhan Bunga Lili Terhadap Reseptor Esterogen Alpha Pada Kanker Payudara. 2025;1(1):37–46.
6. Ferlay J, Rebecca ME, Mph LS. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. 2024;(February):229–63.
7. Kaźmierczak-Barańska J, Boguszevska K, Adamus-Grabicka A, Karwowski BT. Two Faces of Vitamin C—Antioxidative and Pro-Oxidative Agent ,. *Nutrients* [Internet]. 2020;12(5). Available from: <https://doi.org/10.3390/nu12051501>
8. Silawati V, Ningsih NF, Soekmasari DE, Pratiwi A, Herawati E, Turasmiyati, et al. Breast Cancer Education and Self-Examination (SADARI) at Chiba Islamic Cultural Center Nishi Chiba Mosque (CICC) Japan. *Int J Engagem Empower* [Internet]. 2025;5(1):142–8. Available from: <https://doi.org/10.53067/ije2.v5i1>
9. He N, Zhang J, Liu M, Yin L. Elucidating the mechanism of plasticizers inducing breast cancer through network toxicology and molecular docking

- analysis. *Ecotoxicol Environ Saf* [Internet]. 2024;284(3). Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2024.116866>
10. Nurhayati N, Arifin Z, Hardono H. Kejadian Kanker Payudara (Studi Retrospektif) Di Lampung, Indonesia. *Holistik J Kesehat*. 2020;13(2):172–83.
 11. Qurrotaayun SF, Lestari DM, Fitrianto R, Simanjuntak SD, Ariyanto J. Peningkatan Kasus Kanker : Kontribusi Human Papilloma Virus (HPV) dan Gaya Hidup Galenical is licensed under a Creative Commons Attribution-ShareAlike. 2025;4(3):117–29.
 12. Fatmawati, Subhan A. Evaluasi Penggunaan Obat Kemoterapi Pada Pasien Kanker Payudara. 2024;4(1).
 13. Julizan N, Maemunah S, Dwiyantri D, Jamaludin Al A. Validasi Penentuan Aktifitas Antioksidan Dengan Metode Dpph. \. 2021;1(1):41–5.
 14. Hashary AR, Damayanti UP, Nurzak AN. Identifikasi Senyawa Antioksidan dari Ekstrak Etanol Daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifolius*) dengan Metode 2,2-Diphenyl-1-Picryl-Hydrazyl (DPPH). *Ris Kefarmasian Indones*. 2023;5(2).
 15. Gęgotek A, Skrzydlewska E. Antioxidative and Anti-Inflammatory Activity of Ascorbic Acid. *Antioxidants* [Internet]. 2022;11(10). Available from: <https://doi.org/10.3390/antiox11101993>
 16. Straaten HMO van, Man AMES de, Waard MC De. Vitamin C revisited. 2020;18(4):1–13. Available from: <https://doi.org/10.1186/s13054-014-0460-x>
 17. Naidu KA. Vitamin C in human health and disease is still a mystery? An overview. 2019;10:1–10. Available from: <https://doi.org/10.1186/1475-2891-2-7>
 18. Fatmawati S, Yuliana, Purnomo AS, Abu Bakar MF. Chemical constituents, usage and pharmacological activity of *Cassia alata*. *Heliyon* [Internet]. 2020;6(7):e04396. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04396>
 19. Edegbo E, Okolo M, Luther O, Adegoke AS, Omatola A, Idache BM,

- Abraham JO, et al. Phytochemical screening and antifungal activity of *Cassia alata* (Linn .) crude leaf extracts. 2023;17(August):176–83.
20. Fatmawati S, Yuliana, Purnomo AS ABM. Chemical constituents, usage and pharmacological activity of *Cassia alata*. *Heliyon*. 2020;8–29.
 21. Wibowo DP, Mariani R, Yusuf AF. Penapisan Fitokimia serta Aktivitas Antioksidan Daun dan Batang Ketepeng Cina (*Senna alata* (L.) Roxb.). 2024;8(354):592–6.
 22. Ismiyati R, Udin B, Kholifah E. Narrative Review : Analisis Fitokimia dan Manfaat Ekstrak Ketepeng Cina (*Cassia alata* L .) sebagai Antijamur. 2023;12(1):46–51.
 23. Khoirila N, Walid M. Uji Aktivitas Antikolesterol Ekstrak Daun Ketepeng Cina (*Cassia alata* L.) terhadap Penurunan Kadar Kolesterol Mencit Putih Jantan (*Mus musculus* L.). 2024;7(2):96–104.
 24. Al-Hamoud GA, Alam P, Fantoukh OI, Hawwal MF, Akhtar A. HPLC-UV Analysis of Chrysophanol in *Senna occidentalis* Extract Obtained by Using the RSM-Optimized Ultrasonic Extraction Process. *Processes*. 2023;11(8):1410.
 25. Ren LI, Li Z, Dai C, Zhao D, Wang Y, Ma C, et al. Chrysophanol inhibits proliferation and induces apoptosis through NF- κ B / cyclin D1 and NF- κ B / Bcl-2 signaling cascade in breast cancer cell lines. 2021;4376–82.
 26. Park, Dan-Bi, Park, Bong-Soo, Kang, Hae-Mi, Kim, Jung-Han, Kim IR. Chrysophanol-Induced Autophagy Disrupts Apoptosis via the Carcinoma Cells. *Medicina* (B Aires). 2023;59(1):42.
 27. Hsu P chih, Hsu C chen, Hsia Y jan, Kuo C yen. Chrysophanol Suppresses Cell Growth via mTOR / PPAR- α Regulation and ROS Accumulation in Cultured Human Tongue Squamous Carcinoma SAS Cells. *Curr Issues Mol Biol* [Internet]. 2022;44(1):1528–38. Available from: <https://doi.org/10.3390/cimb44040104>
 28. Cahyawati PN. Imunoterapi pada Kanker Payudara. *Wicaksana, J Lingkung Pembang*. 2020;2(1):52–5.

29. Effendi N, Saputri N airin, Purnomo H, Aminah. In Silico ADME-T dan Molekular Docking Analog Tamoxifen Sebagai Kandidat Agen Terapi Kanker Payudara. *Media Farm* [Internet]. 2023;19(1):10. Available from: <https://doi.org/10.32382/mf.v19i1.3305> ABSTRACT
30. Komalasari Y, Elysia A, Fitri R, Aziza KN, Lutfiah V. Analisis Faktor Reproduksi sebagai Faktor Risiko Kanker Payudara pada Wanita Asia Tenggara. 2023;4:1933–41.
31. Shang C, Xu D. Epidemiology of Breast Cancer. *Oncologie*. 2022;24(4):649–63.
32. Muh Farhan Irawan K, Syahril E, Chalid A, Irwan Gunawan M, Paulina Christina L. *FAKUMI MEDICAL JOURNAL* Evaluasi Kejadian Kanker Payudara di RS Ibnu Sina Kota Makassar Tahun 2024. 2025;05(01):14–21.
33. Kementrian Kesehatan RI. Rencana kanker nasional 2024-2034. Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. 2024.
34. Pingkan, W., Kaunang, J., Pakaya, T., Pasundung, J., & Vinza JE. *Buku Kanker Payudara (Issue December)*. 2024;(December).
35. Dewi GAT, Hendrati LY. Analisis Risiko Kanker Payudara Berdasar Riwayat Pemakaian Kontrasepsi Hormonal dan Usia Menarche. *J Berk Epidemiol*. 2019;3(1):12–23.
36. Nindito RA, Isnaeni E, Fauziah N, Anugraheni CY. Profil dan Karakteristik Pasien Kanker Payudara di RSUP dr . Soeradji Tirtonegoro Klaten. 2025;2(2):99–111.
37. Reiner AS, Sisti J, John EM, Lynch CF, Brooks JD, Mellemkjær L, et al. Breast Cancer FamilyHistory and Contralateral Breast Cancer Risk in Young Women: An Update From the Women’s Environmental Cancer and Radiation Epidemiology Study. *J Clin Oncol*. 2018;36(15):1513–20.
38. Rizka A, Akbar MK, Putri NA. Carcinoma Mammae Sinistra T4bN2M1 Metastasis Pleura. *Ugeskr Laeger*. 2022;110(27):788–90.
39. Rifda DZ, Shaluhayah Z, Surjoputro A. Studi Fenomenologi Pasien Kanker Payudara dalam Upaya Meningkatkan Kualitas Hidup : Literature Review. *Media Publ Promosi Kesehat Indones*. 2023;6(8):1495–500.

40. Indonesia KKR. Kanker Payudara. Vol. 17. 2020. 302 p.
41. Xiong X, Zheng LW, Ding Y, Chen YF, Cai YW, Wang LP, et al. Breast cancer: pathogenesis and treatments. *Signal Transduct Target Ther*. 2025;10(1).
42. Callaway MK, Santos CO dos. Gestational Breast Cancer – a Review of Outcomes, Pathophysiology, and Model Systems. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* [Internet]. 2023;28(1):1–15. Available from: <https://doi.org/10.1007/s10911-023-09546-w>
43. Li Z, Wei H, Li S, Mao X, Wu P. The role of progesterone receptors in meningioma. *Cancer Treat Res*. 2022;58(January):127–37.
44. Puspitasari CE, Hawarikatun B, Annisa J, Yasykurah MM. Perkembangan targeted therapy pada kanker payudara dengan pertimbangan luaran biaya dan kualitas hidup : narrative review. 2024;5(2).
45. Harahap ARKWA, Kurniawati Y. Hubungan Faktor Risiko dengan Jenis Sub-Tipe Molekular Kanker Payudara di Kota Padang. 2025;2(1):110–28. Available from: <https://manggalajournal.org/index.php/EMPIRIS>
46. Anderson SA, Bartow BB, Harada S, Siegal GP, Wei S, Dal VL. p53 protein expression patterns associated with TP53 mutations in breast carcinoma. *Breast Cancer Res Treat* [Internet]. 2024;207(1):213–22. Available from: <https://doi.org/10.1007/s10549-024-07357-z>
47. Yue X, Zhao Y, Xu Y, Zheng M, Feng Z, Hu W, et al. Mutant p53 in cancer: accumulation, gain-of-function and therapy. 2023;429(11):1595–606.
48. Schafer JM, Lee ES, Regan RMO, Yao K, Jordan VC, Lurie RH, et al. Rapid Development of Tamoxifen-stimulated Mutant p53 Breast Tumors (T47D) in Athymic Mice 1. 2021;6(November):4373–80.
49. Ahmadi SE, Rahimian E, Rahimi S, Zarandi B, Bahraini M, Soleymani M, et al. From regulation to deregulation of p53 in hematologic malignancies : implications for diagnosis , prognosis and therapy. *Biomark Res* [Internet]. 2024;1–60. Available from: <https://doi.org/10.1186/s40364-024-00676-9>
50. Qayoom H, Haq BU, Sofi S, Jan N, Jan A, Mir MA. Targeting mutant p53 :

- a key player in breast cancer pathogenesis and beyond. *Cell Commun Signal* [Internet]. 2024; Available from: <https://doi.org/10.1186/s12964-024-01863-9>
51. Xu B, Maimaitijiang A, Nuerbiyamu D, Su Z. The Multifaceted Role of p53 in Cancer Molecular Biology: Insights for Precision Diagnosis and Therapeutic Breakthroughs. 2025;1:1–36.
 52. Stracker TH. Regulation of p53 by the mitotic surveillance / stopwatch pathway: implications in neurodevelopment and cancer. 2024;(September):1–10.
 53. Alam YR. Gangguan Siklus Sel dan Mutasi Gen pada. 2020;40(10):786–9.
 54. Amalia H, Hm AM, Hala Y. Ekspresi Gen T P53 Pada Kanker Payudara: Implikasi Molekuler Terhadap Respon Terapi dan Pengembangan Pengobatan Presisi. 2025;6(2):148–64.
 55. Pratiwi A, Yunus M. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Pepaya (*Carica papaya* L.) dengan Metode DPPH. 2025;5.
 56. Devitria R, Utam NP. Antioxidant Activity Test of Methanol Extract on Dragon Fruit Skin (*Hylocereus polyrhizus*), Bengkoang (*Pachyrhizus erosus*), and Guava Seeds (*Syzygium malaccense* L) DPPH Method (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl). 2025;3(1):26–32.
 57. Pangondian A, Rambe R, Ritonga NR, Husein S, Athaillah, Khairunnisa NA, et al. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Tumbuhan Akar Balsem (*Polygala paniculata* L.) dengan Metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). *Forte Journak*. 2025;05(1):193–202.
 58. Fauziah A, Fatharani A, Nurawaliah CM, Rivianto FA, Sakina IV, Rahmawati M, et al. Molecular Docking Of Compound With Potential As Anti-breast Cancer: Literature Review. 2023;6(2):416–27.
 59. Borrego JG, Burgas MT. Evaluating ligand docking methods for drugging protein – protein interfaces: insights from AlphaFold2 and molecular dynamics refinement. 2025;
 60. Lahare RP, Bisen YK, Yadav HS, Dashahre AK, Shikshak UM, Tiger N, et al. Tlc Based Phytochemical Analysis And Antioxidant Activity Of Senna

- Alata. 2020;8(11):1099–103.
61. Ferdosi MFH, Javaid A, Samiullah M, Mutahir Z, Hussain T. Research Article Determination of Biologically Active Compounds in Methanolic Extract of Flowers of. 2024;
 62. Halim-Lim S, Ramli N., Fadzil FA, Abd Rahim MH. The antimicrobial and antioxidant properties of Cassia alata extraction under different temperature profiles. 2020;4.
 63. Rohmanna NA, Mulyawan R, Agus Z, Muchlis N, Azizah D. Journal of Applied Food Technology The Potential Source of Natural Antioxidant Agent of Cassia alata Microgreen. 2020;9(1):20–3.
 64. Banso A, Dachi S, Usman JI, Ajewole AE, Ali NS. Exploring the antioxidant performance and identification of bioactive phytochemicals of leaf extracts of Senna alata (L .) Roxb . 2024;5(2):70–7.
 65. Yagi S, Cetiz MV, Zengin G, Bakar K, Himidi AA, Mohamed A, et al. Novel Natural Candidates for Replacing Synthetic Additives in Nutraceutical and Pharmaceutical Areas : Two Senna. 2025;1–27.
 66. Dandekar MR, Dandekar P, Lote S. Advancing Knowledge with Ultraviolet-Spectroscopy: Recent Trends and Future Insights. 2024;18(3):2–7.
 67. Yusuf MA, Singh BN, Sudheer S, Fraceto LF, Dashora K, Gupta VK. Chrysophanol : A Natural Anthraquinone with Multifaceted Biotherapeutic Potential. 2019;1–24.
 68. Muadifah A, Tilarso DP, Putri AE, Sowe MS. Antioxidant Effectiveness of Kapok Leaves Extract Moisturizer (Ceiba pentandra (L .) Gaertn .) with DPPH Method. 2024;1–10.
 69. See XZ, Yeo WS, Saptoro A. A comprehensive review and recent advances of vitamin C: Overview, functions, sources, applications, market survey and processes. Chem Eng Res Des [Internet]. 2024;206(February):108–29. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.cherd.2024.04.048>
 70. Ali A, Riaz S, Khalid W, Fatima M, Mubeen U, Babar Q, et al. Potential of ascorbic acid in human health against different diseases : an updated

- narrative review. 2024;27(1):493–515. Available from: <https://doi.org/10.1080/10942912.2024.2327335>
71. Hussein J. Principles and Applications of High-Performance Liquid Chromatography (HPLC): A Review. 2025;18(June):1085–9.
 72. Gou X, Zhang W, Wang L, Tan C, Wei H, Wang X, et al. Chrysophanol promotes M2 polarization and inhibits M1 polarization through the NF- κ B signaling pathway to attenuate sepsis-associated acute kidney injury. 2025;(July):1–15.
 73. Boittier ED, Tang YY, Buckley ME, Schuurs ZP, Richard DJ, Gandhi NS. Assessing Molecular Docking Tools to Guide Targeted Drug Discovery of CD38 Inhibitors. 2020;1–19.
 74. Varlı M, Kim E, Oh S, Pulat S, Zhou R, Gamage CDB, et al. Chrysophanol inhibits of colorectal cancer cell motility and energy metabolism by targeting the KITENIN / ErbB4 oncogenic complex. *Cancer Cell Int* [Internet]. 2024;1–17. Available from: <https://doi.org/10.1186/s12935-024-03434-x>
 75. Hasan GM, Mohammad T, Zaidi S, Shamsi A, Hassan MI. Molecular docking and dynamics in protein serine / threonine kinase drug discovery : advances , challenges , and future perspectives. 2025;(October):1–18.
 76. Zhou S, Feng X, Bai J, Sun D, Yao B, Wang K. Synergistic Effects and Competitive Relationships Between DOC and DOX as acting on DNA Molecules : Studied with Confocal Raman Spectroscopy and Molecular Docking Technology. *Heliyon* [Internet]. 2024;10(9):1–15. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e30233>
 77. Hemalatha G, Sivakumari K, Rajesh S, K SD. In Silico Molecular Docking Studies of Muricin J, Muricin K and Muricin L Compound from *A. muricata* Against Apoptotic Proteins (Caspase-3, Caspase-9 and β -Actin). 2020;7(5):3–7.
 78. Li Y, Yi J, Li H, Li K, Kang F, Deng Y. Decoding the limits of deep learning in molecular docking for drug discovery. *Chem Sci*. 2025;16(August):17374–90.
 79. Nivatya HK, Singh A, Kumar N, Sonam, Sharma L, Singh V, et al. Assessing

- molecular docking tools : understanding drug discovery and design. 2025;
80. Martis EAF, Téletchéa S. Ten quick tips to perform meaningful and reproducible molecular docking calculations. 2025;1–18. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1013030>
 81. Mufidah S, Novitasari PR, Anggraini P, Sari K, Hidayati HB. In Silico Evaluation of Black Cumin Oil Constituents for Selective Anti-Inflammatory Inhibitor of COX-2 And 5-LOX. 2025;08(September):198–206.
 82. Ganapaty S, Thomas PS, Ramana K V, Vidyadhar K, Chakradhar V. A review of phytochemical studies of Cassia species. 2019;2:102–20.

Lampiran 1 Surat Etichal Clearance



KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN
HEALTH RESEARCH ETHICS COMMITTEE
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SUMATERA UTARA
FACULTY OF MEDICINE AND HELATH SCIENCES UNIVERSITY OF MUHAMMADIYAH SUMATERA UTARA

KETERANGAN LOLOS KAJI ETIK
DESCRIPTION OF ETHICAL APPROVAL
"ETHICAL APPROVAL"
No : 117/KEPK/FKUMSU/2026

Protokol penelitian yang diusulkan oleh :
The Research protocol proposed by

Peneliti Utama : Edysti
Principal in investigator

Nama Institusi : Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara
Name of the Institution Faculty of Medicine and Health Sciences University of Muhammadiyah Sumatera Utara

Dengan Judul
Title

"ANALISIS POTENSI ANTIOKSIDAN DAUN KETEPENG CINA (*Senna alata* L.) TERHADAP KANKER PAYUDAR MELALUI JALUR p53 DENGAN METODE DOKING MOLEKULAR DAN UJIDPPH (1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl)"

ANALYSIS OF ANTIOXIDANT POTENTIAL OF CHINESE KETEPENG LEAVES (*Senna alata* L.) AGAINST BREAST CANCER THROUGH THE p53 PATHWAY USING MOLECULAR DOKING METHOD AND DPPH (1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl) TEST"

Dinyatakan layak etik sesuai 7 (tujuh) Standar WHO 2011, yaitu 1) Nilai Sosial, 2) Nilai Ilmiah
 3) Pemerataan Beban dan Manfaat, 4) Resiko, 5) Bujukan / Eksploitasi, 6) Kerahasiaan dan Privacy, dan
 7) Persetujuan Setelah Penjelasan, yang merujuk pada Pedoman CIOMS 2016. Hal ini seperti yang ditunjukkan oleh terpenuhinya indikator setiap standar.

Declared to be ethically appropriate in accordance to 7 (seven) WHO 2011 Standards, 1) Social Values, 2) Scientific Values, 3) Equitable Assesment and Benefits, 4) Risks, 5) Persuasion / Exploitation, 6) Confidentiality and Privacy, and 7) Informed Consent, referring to the 2016 CIOMS Guadelines. This is as indicated by the fulfillment of the indicator of each standard

Pernyataan Laik Etik ini berlaku selama kurun waktu tanggal 27 Februari 2026 sampai dengan tanggal 27 Februari 2027
The declaration of ethics applies during the periode February 27, 2025 until February 27, 2027



Medan, 27 Februari 2026
 Ketua
 Assoc. Prof. Dr. dr. Nurfadly, MKT

Lampiran 2 Surat Izin Penelitian



MAJELIS PENDIDIKAN TINGGI PENELITIAN & PENGEMBANGAN PIMPINAN PUSAT MUHAMMADIYAH
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SUMATERA UTARA
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
 UMSU Terakreditasi Unggul Berdasarkan Keputusan Badan Akreditasi Nasional Perguruan Tinggi No. 174/SK/BAN-PT/Ak.Pp/PT/III/2024
 Jl. Gedung Arca No. 53 Medan, 20217 Telp. (061) - 7350163, 7333162, Fax. (061) - 7363488
<https://fk.umsu.ac.id> fk@umsu.ac.id [umsu](#) [umsu](#) [umsu](#) [umsu](#)

Nomor : 466/II.3.AU/UMSU-08/F/2026
 Lampiran : -
 Perihal : Peminjaman Tempat Penelitian

Medan, 14 Ramadhan 1447 H
 03 Maret 2025 M

Kepada Yth.
Kepala Bagian Lab Biokimia
Fakultas Kedokteran UMSU
 di-
 Tempat

Assalamu'alaikum warahmatullahi wabarakatuh

Sehubungan dengan surat permohonan peminjaman tempat untuk melakukan penelitian pada Laboratorium di Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara, yaitu:

Nama : EDYSTI
 NPM : 2208260153
 Judul Penelitian : Analisis Potensi Antioksidan Daun Ketepeng Cina (*Senna alata* L.) terhadap Kanker Payudar Melalui Jalur p53 Dengan Metode Doking Molekular Dan Uji dpph (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)"

maka kami memberikan izin kepada yang bersangkutan, untuk melakukan penelitian di Lab Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara. Selama proses pemakaian laboratorium, jika terdapat pemakaian alat yang rusak maka akan menjadi tanggungjawab peneliti dan pemakaian Bahan Habis Pakai (BHP) ditanggung oleh peneliti. Peneliti wajib mengikuti peraturan yang berlaku di Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara.

Demikian kami sampaikan, atas perhatian kami ucapkan terima kasih.
Wassalamu'alaikum warahmatullahi wabarakatuh



dr. Siti Masliana Siregar, Sp.THTBKL, Sub.sp. Rino(K)
 NIDN: 0106098201

Tembusan Yth :
 1. Ad hoc KTI Mahasiswa FK UMSU
 2. Peringgal



Lampiran 3 Surat Keterangan Selesai Penelitian



**MAJELIS PENDIDIKAN TINGGI MUHAMMADIYAH
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SUMATERA UTARA
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN**

Jalan Gedung Arca No. 53 Medan 20217 Telp. (061) 7350163 – 7333162 Ext. 20 Fax. (061) 7363488
Website : www.umsu.ac.id E-mail : fk.umsu@yahoo.com
Bankir : Bank Syariah Mandiri, Bank Bukopin, Bank Mandiri, Bank BNI 1946, Bank Sumut.

SURAT KETERANGAN SELESAI PENELITIAN

Nomor : 04 / Lab.Biokimia FKIK-UMSU / Khusus / 06 / 2026

Nama : **EDYSTI**
NPM : 2208260153
Program Studi : Pendidikan Dokter
Judul Proposal : Analisis Potensi Antioksidan Daun Ketepeng Cina (*Senna alata* L.) Terhadap Kanker Payudara Melalui Jalur p53 Dengan Metode Doking Molekular Dan Uji dpph (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)
Jenis Kegiatan : Maserasi, Ekstraksi Herbal, Uji Antioksidan

Menyatakan bahwa mahasiswa/i yang bersangkutan telah selesai melakukan penelitian di Laboratorium Biokimia FKIK UMSU pada tanggal 6 Mei 2026 s/d 20 Juni 2026 .

Medan, 29 Juni 2026
Kepala Bagian Lab Biokimia

dr. Qarina Hasyala Putri, M.Biomed

Lampiran 4 Perhitungan rata rata absorbansi dan persen inhibisi

1. Blanko / Kontrol

Mean abs

$$\text{Mean abs} = \frac{0.658}{1} = 0.658$$

2. Ekstrak (Sampel)

100 ppm

Mean abs

$$\begin{aligned} \text{Mean abs} &= \frac{\text{Abs R1} + \text{R2} + \text{R3}}{3} \rightarrow \text{Mean abs} = \frac{0.238 + 0.237 + 0.236}{3} \\ &= 0.237 \end{aligned}$$

Abs R1	Abs R2	Abs R3	Rata-rata abs
0.238	0.237	0.236	0.237

% Inhibisi

$$\% \text{Inhibisi} = \frac{\text{Abs. kontrol} - \text{Abs. sampel}}{\text{Abs. kontrol}} \times 100\%$$

$$\% \text{inhibisi} = \frac{0.658 - 0.237}{0.658} \times 100\% = 63.981\%$$

200 ppm

Mean abs

$$\begin{aligned} \text{Mean abs} &= \frac{\text{Abs R1} + \text{R2} + \text{R3}}{3} \rightarrow \text{Mean abs} = \frac{0.167 + 0.167 + 0.167}{3} \\ &= 0.167 \end{aligned}$$

Abs R1	Abs R2	Abs R3	Rata-rata abs

0.167	0.167	0.167	0.167
-------	-------	-------	-------

% Inhibisi

$$\%inhibisi = \frac{0.658 - 0.167}{0.658} \times 100\% = 74.620\%$$

400 ppm

Mean abs

$$\text{Mean abs} = \frac{\text{Abs R1} + \text{R2} + \text{R3}}{3} \rightarrow \text{Mean abs} = \frac{0.190 + 0.189 + 0.190}{3} = 0.190$$

Abs R1	Abs R2	Abs R3	Rata-rata abs
0.190	0.189	0.190	0.190

% Inhibisi

$$\%inhibisi = \frac{0.658 - 0.190}{0.658} \times 100\% = 71.124\%$$

800 ppm

Mean abs

$$\text{Mean abs} = \frac{\text{Abs R1} + \text{R2} + \text{R3}}{3} \rightarrow \text{Mean abs} = \frac{0.272 + 0.270 + 0.269}{3} = 0.270$$

Abs R1	Abs R2	Abs R3	Rata-rata abs
0.272	0.270	0.269	0.270

% Inhibisi

$$\%inhibisi = \frac{0.658 - 0.270}{0.658} \times 100\% = 58.966\%$$

3. Vitamin C (Kontrol Positif)

10 ppm

Mean abs

$$\text{Mean abs} = \frac{\text{Abs R1} + \text{R2} + \text{R3}}{3} \rightarrow \text{Mean abs} = \frac{0.884 + 0.883 + 0.889}{3} = 0.885$$

Abs R1	Abs R2	Abs R3	Rata-rata abs
0.884	0.883	0.889	0.885

% Inhibisi

$$\% \text{Inhibisi} = \frac{\text{Abs. kontrol} - \text{Abs. sampel}}{\text{Abs. kontrol}} \times 100\%$$

$$\% \text{inhibisi} = \frac{0.658 - 0.885}{0.658} \times 100\% = -34.498\%$$

20 ppm

Mean abs

$$\text{Mean abs} = \frac{\text{Abs R1} + \text{R2} + \text{R3}}{3} \rightarrow \text{Mean abs} = \frac{0.211 + 0.217 + 0.222}{3} = 0.216$$

Abs R1	Abs R2	Abs R3	Rata-rata abs
0.211	0.217	0.222	0.216

% Inhibisi

$$\% \text{inhibisi} = \frac{0.658 - 0.216}{0.658} \times 100\% = 67.173\%$$

30 ppm

Mean abs

$$\text{Mean abs} = \frac{\text{Abs R1} + \text{R2} + \text{R3}}{3} \rightarrow \text{Mean abs} = \frac{0.102 + 0.103 + 0.104}{3} = 0.103$$

Abs R1	Abs R2	Abs R3	Rata-rata abs
0.102	0.103	0.104	0.103

% Inhibisi

$$\% \text{inhibisi} = \frac{0.658 - 0.103}{0.658} \times 100\% = 84.346\%$$

40 ppm

Mean abs

$$\text{Mean abs} = \frac{\text{Abs R1} + \text{R2} + \text{R3}}{3} \rightarrow \text{Mean abs} = \frac{0.084 + 0.085 + 0.085}{3} = 0.085$$

Abs R1	Abs R2	Abs R3	Rata-rata abs
0.084	0.085	0.085	0.085

% Inhibisi

$$\% \text{inhibisi} = \frac{0.658 - 0.085}{0.658} \times 100\% = 87.082\%$$

Lampiran 5 Data SPSS

1. Statistik Deskriptik

Descriptive Statistics

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
konstras i	8	10.00	800.00	200.0000	275.93995
persen inhibisi	8	-34.50	87.08	59.0993	39.01538
Valid N (listwise)	8				

Group Statistics

	kelompok	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
konse ntrasi	vitamin c	4	25.0000	12.90994	6.45497
	ekstrak daun ketepeng	4	375.0000	309.56959	154.78480
perse n inhibisi	vitamin c	4	51.0258	57.69269	28.84634
	ekstrak daun ketepeng	4	67.1728	7.03827	3.51914

2. Uji Normalitas

Tests of Normality

Tests of Normality

	kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	Df	Sig.
persen inhibisi	vitamin c	.360	4	.	.748	4	.037
	ekstrak daun ketepeng	.213	4	.	.960	4	.781
konsentrasi	vitamin c	.151	4	.	.993	4	.972
	ekstrak daun ketepeng	.218	4	.	.920	4	.538

a. Lilliefors Significance Correction

3. Levene's Test

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
konsentrasi	Equal variances assumed	6.518	.043	-2.259	6	.065	-350.00000	154.91933	-729.07395	29.07395
	Equal variances not assumed			-2.259	3.010	.109	-350.00000	154.91933	-842.05710	142.05710
persen inhibisi	Equal variances assumed	6.128	.048	-.556	6	.599	-16.14700	29.06021	-87.25477	54.96077
	Equal variances not assumed			-.556	3.089	.616	-16.14700	29.06021	-107.13579	74.84179

4. Uji Non Parametrik Mann-Whitney U

Test Statistics^a

	konsentrasi	persen inhibisi
Mann-Whitney U	.000	6.000
Wilcoxon W	10.000	16.000
Z	-2.309	-.577

Asymp. Sig. (2-tailed)	.021	.564
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^b	.686 ^b

a. Grouping Variable: kelompok

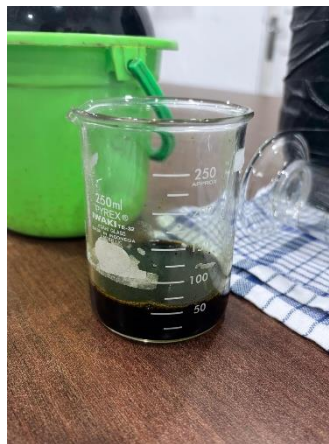
b. Not corrected for ties.

Lampiran 6 Dokumentasi



Pengeringan Daun ketepeng cina

Maserasi



Rotary

ekstrakHasil rotary

Pengentalan ekstrak



Hasil ekstrak kental



DPPH



Pencampuran senyawa dengan ekstrak



hasil Spektrofotometer UV-Vis

Lampiran 7: Artikel

ANALISIS POTENSI ANTIOKSIDAN DAUN KETEPENG CINA (*Senna alata* L.) TERHADAP KANKER PAYUDARA MELALUI JALUR p53 DENGAN METODE *MOLECULAR DOCKING* DAN UJI DPPH (1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl)

Edysti¹, Yenita²

Departemen Farmakologi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan

Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara

Email: edysti002@gmail.com

ABSTRAK

Latar Belakang: Kanker payudara merupakan salah satu penyebab utama kematian pada perempuan di dunia. Daun Ketepeng cina (*Senna alata* L.) mengandung senyawa *Chrysophanol* yang memiliki aktivitas antioksidan dan berpotensi sebagai agen antikanker melalui jalur protein p53. **Tujuan:** Mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun ketepeng cina menggunakan metode DPPH serta potensi interaksi senyawa *Chrysophanol* terhadap protein p53 menggunakan metode *molecular docking*. **Metode:** Penelitian eksperimental laboratorium dilakukan menggunakan metode DPPH pada panjang gelombang 517 nm dengan vitamin C (10–40 ppm) dan ekstrak etanol daun ketepeng cina (100–800 ppm). Data aktivitas antioksidan dianalisis menggunakan uji Mann–Whitney, sedangkan analisis *molecular docking* dilakukan untuk mengevaluasi afinitas ikatan *chrysophanol* terhadap protein p53 dengan pembandingan docetaxel. **Hasil:** Vitamin C menunjukkan aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak etanol daun Ketepeng cina. Ekstrak etanol daun Ketepeng cina menunjukkan aktivitas antioksidan tertinggi pada konsentrasi 200 ppm. Hasil uji Mann–Whitney menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan pada konsentrasi perlakuan ($p = 0,029$), sedangkan persen inhibisi tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p = 0,686$). Hasil *molecular docking* menunjukkan bahwa *Chrysophanol* memiliki energi pengikatan sebesar $-4,77$ kcal/mol, konstanta penghambatan $319,05$ μ M, dan RMSD $1,989$ Å, sedangkan Docetaxel memiliki energi pengikatan $-2,47$ kcal/mol, konstanta penghambatan 15.340 μ M, dan RMSD $2,597$ Å. **Kesimpulan:** Ekstrak etanol daun Ketepeng cina memiliki aktivitas antioksidan yang baik dan senyawa *Chrysophanol* menunjukkan afinitas ikatan yang lebih baik terhadap protein p53 dibandingkan Docetaxel sehingga berpotensi sebagai kandidat agen antikanker berbasis bahan alam.

Kata kunci: *Senna alata* L., *Chrysophanol*, DPPH, *molecular docking*, p53.

ABSTRACT

Background: Breast cancer is one of the leading causes of death among women worldwide. *Senna alata* L. leaves contain Chrysophanol, a bioactive compound with antioxidant activity and potential anticancer properties through the p53 signaling pathway. **Objective:** This study aimed to evaluate the antioxidant activity of *Senna alata* L. ethanol leaf extract using the DPPH method and to analyze the interaction potential of chrysophanol with the p53 protein using the molecular docking method. **Methods:** An experimental laboratory study was conducted using the DPPH assay at a wavelength of 517 nm with vitamin C (10–40 ppm) and *Senna alata* L. ethanol leaf extract (100–800 ppm). Antioxidant activity data were analyzed using the Mann–Whitney test, while molecular docking analysis was performed to evaluate the binding affinity of chrysophanol to the p53 protein using docetaxel as the positive control. **Results:** Vitamin C exhibited higher antioxidant activity than the *Senna alata* L. ethanol leaf extract. The extract showed the highest antioxidant activity at a concentration of 200 ppm. The Mann–Whitney test demonstrated a significant difference in treatment concentrations ($p = 0.029$), whereas no significant difference was observed in the percentage of inhibition ($p = 0.686$). Molecular docking analysis revealed that chrysophanol had a binding energy of -4.77 kcal/mol, an inhibition constant of 319.05 μ M, and an RMSD value of 1.989 Å, while docetaxel exhibited a binding energy of -2.47 kcal/mol, an inhibition constant of $15,340$ μ M, and an RMSD value of 2.597 Å. **Conclusion:** The ethanol extract of *Senna alata* L. leaves demonstrated good antioxidant activity, and chrysophanol showed a higher binding affinity toward the p53 protein than docetaxel, indicating its potential as a natural product-based anticancer candidate.

Keywords: *Senna alata* L., Chrysophanol, DPPH, molecular docking, p53.

PENDAHULUAN

Kanker merupakan salah satu penyebab utama kematian di dunia dan ditandai dengan pertumbuhan serta perkembangan sel yang tidak terkendali. Kanker payudara merupakan salah satu jenis kanker yang paling banyak ditemukan pada perempuan.¹ Berdasarkan data yang digunakan dalam penelitian, kanker payudara merupakan kanker dengan jumlah kasus tertinggi pada perempuan dan menjadi salah satu permasalahan kesehatan yang

memerlukan pengembangan strategi pencegahan maupun terapi.²

Salah satu mekanisme penting yang berperan dalam perkembangan kanker adalah gangguan fungsi protein p53. Protein p53 merupakan tumor suppressor yang berperan dalam mengontrol siklus sel, memperbaiki kerusakan DNA, dan menginduksi apoptosis pada sel yang mengalami kerusakan genetik. Gangguan fungsi p53 dapat menyebabkan hilangnya kontrol terhadap proliferasi sel sehingga

mendukung perkembangan kanker. Oleh karena itu, p53 menjadi salah satu target potensial dalam penelitian pengembangan agen antikanker.³

Pengembangan kandidat antikanker dari bahan alam menjadi salah satu pendekatan yang terus diteliti. Ketepeng cina (*Senna alata* L.) merupakan tanaman yang mengandung berbagai metabolit sekunder, termasuk flavonoid, senyawa fenolik, dan antrakuinon. Salah satu senyawa antrakuinon yang terdapat pada tanaman tersebut adalah *chrysophanol*.⁴ Senyawa yang telah dilaporkan memiliki berbagai aktivitas biologis, antara lain antioksidan, antiinflamasi, antibakteri, dan antikanker.⁵

Aktivitas antioksidan dapat dianalisis menggunakan metode DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*), yaitu metode yang digunakan untuk mengetahui kemampuan suatu senyawa dalam menangkap radikal bebas.⁶ Sementara itu, *molecular docking* dapat digunakan untuk memprediksi interaksi antara suatu senyawa aktif dengan protein target pada tingkat

molekuler. Penggunaan kedua pendekatan tersebut dapat memberikan gambaran mengenai aktivitas antioksidan ekstrak serta potensi interaksi *chrysophanol* terhadap protein p53.⁷

Vitamin C digunakan sebagai kontrol positif karena merupakan antioksidan yang banyak digunakan sebagai pembanding dalam pengujian DPPH. Pada penelitian ini digunakan konsentrasi vitamin C yang lebih rendah dibandingkan ekstrak karena aktivitas antioksidan vitamin C dapat diamati pada konsentrasi yang relatif rendah. Ekstrak daun ketepeng cina digunakan pada konsentrasi yang lebih tinggi untuk menggambarkan perubahan aktivitas antioksidan pada berbagai tingkat konsentrasi.^{8,9}

Berdasarkan hal tersebut, penelitian ini bertujuan untuk menganalisis aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun ketepeng cina menggunakan metode DPPH serta menganalisis interaksi molekuler *chrysophanol* dan protein p53 menggunakan *molecular docking* dengan docetaxel sebagai kontrol pembanding.¹⁰

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik dengan pendekatan *in vitro* dan *in silico* yang bertujuan untuk menganalisis aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun ketepeng cina (*Senna alata* L.) menggunakan metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) serta menganalisis interaksi molekuler senyawa *chrysophanol* terhadap protein p53 menggunakan metode molecular docking. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara.^{11,12}

Daun ketepeng cina (*Senna alata* L.) yang digunakan berasal dari Desa Londut, Kabupaten Labuhanbatu Utara, Sumatera Utara. Sampel daun dicuci hingga bersih, kemudian dikeringkan pada suhu ruang selama kurang lebih 7 hari tanpa paparan sinar matahari langsung dan selanjutnya dihaluskan menggunakan blender hingga diperoleh serbuk simplisia. Proses ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan etanol 96%. Sebanyak 300 gram serbuk daun

ketepeng cina direndam dalam 1.500 mL etanol 96% selama 24 jam dalam wadah tertutup dan terlindung dari cahaya, dengan pengadukan secara berkala setiap 6–8 jam. Setelah 24 jam, campuran disaring dan ampas kembali dimaserasi menggunakan 1.500 mL etanol 96% yang baru. Proses tersebut dilakukan sebanyak tiga kali, kemudian seluruh filtrat digabungkan dan diuapkan menggunakan rotary evaporator pada suhu 40–50°C hingga diperoleh ekstrak kental.^{13,14}

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan metode DPPH. Sebanyak 15 mg serbuk DPPH dilarutkan dalam 100 mL etanol 96% dan disimpan dalam kondisi terlindung dari cahaya. Panjang gelombang maksimum DPPH ditetapkan pada 517 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Ekstrak etanol daun ketepeng cina sebanyak 100 mg dilarutkan hingga volume 100 mL sehingga diperoleh larutan stok 1.000 ppm. Larutan stok kemudian dipipet sebanyak 0,5; 1; 2; dan 4 mL, ditambahkan 1 mL larutan DPPH dan etanol hingga volume akhir 5 mL

sehingga diperoleh konsentrasi ekstrak 100, 200, 400, dan 800 ppm. Sebagai kontrol positif, vitamin C sebanyak 10 mg dilarutkan dalam 100 mL etanol p.a. sehingga diperoleh larutan stok 100 ppm. Larutan tersebut dipipet sebanyak 0,5; 1; 1,5; dan 2 mL, kemudian ditambahkan 1 mL DPPH dan etanol hingga volume 5 mL sehingga diperoleh konsentrasi vitamin C 10, 20, 30, dan 40 ppm. Seluruh campuran dihomogenkan dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar dalam kondisi terlindung dari cahaya. Absorbansi kemudian diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm dengan tiga kali pengulangan.^{14,15}

Aktivitas antioksidan ditentukan berdasarkan persentase inhibisi radikal bebas DPPH yang dihitung dari nilai absorbansi kontrol dan sampel. Data hasil pengujian dianalisis menggunakan IBM SPSS Statistics. Analisis diawali dengan statistik deskriptif, kemudian dilakukan uji normalitas Shapiro–Wilk dan uji homogenitas varians menggunakan Levene’s test. Karena data tidak memenuhi asumsi

parametrik, perbandingan antara vitamin C dan ekstrak etanol daun ketepeng cina dilakukan menggunakan uji nonparametrik Mann–Whitney U dengan nilai Exact Sig. (2-tailed).¹⁶

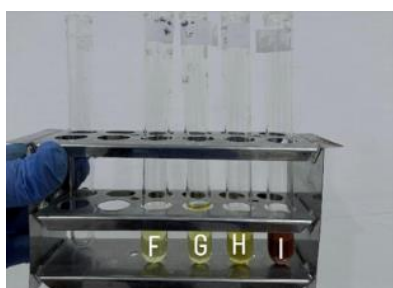
Analisis *molecular docking* dilakukan untuk mengetahui potensi interaksi senyawa *chrysophanol* terhadap protein p53. Struktur *chrysophanol* diperoleh dari basis data PubChem, sedangkan struktur protein target diperoleh melalui UniProt dan Protein Data Bank (PDB). Protein target dipreparasi menggunakan *AutoDock Tools* dengan menghilangkan molekul air dan pelarut serta menambahkan muatan. Struktur *chrysophanol* dalam format dua dimensi dikonversi menjadi struktur tiga dimensi menggunakan MarvinSketch.^{17,18,19}

Selanjutnya dilakukan *molecular docking* menggunakan *AutoDock Tools* melalui tahap persiapan ligan dan protein, penentuan grid box, dan proses docking. Docetaxel digunakan sebagai kontrol pembanding. Hasil divisualisasikan menggunakan

Discovery Studio dan LigandScout untuk menganalisis interaksi ligan-protein, termasuk binding energy, konstanta inhibisi, RMSD, ikatan hidrogen, dan residu asam amino yang berinteraksi dengan ligan.

HASIL

Hasil ekstraksi pelepah kelapa dari berat serbuk simplisia 300 gram menghasilkan ekstrak kental sebesar 43,03 gram, kemudian di uji aktivitas antioksidannya dengan metode DPPH, setelah diinkubasi terjadi secara kualitatif



Gambar 1 PerubahanWarna

Larutan yang di reaksiakan dengan DPPH Keterangan: E= Kontrol Negatif, A- D = Larutan ekstrak (B) 100 ppm, (C) 200 ppm, (D) 400 ppm, CAN 800 ppm, F-I =

Vitamin C (F) 10 ppm, (G) 20 ppm, (H) 30ppm, (I) 40 ppm.

Tahap selanjutnya dilakukan pengukuran absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-Vis dihitung nilai Persentase Inhibisi

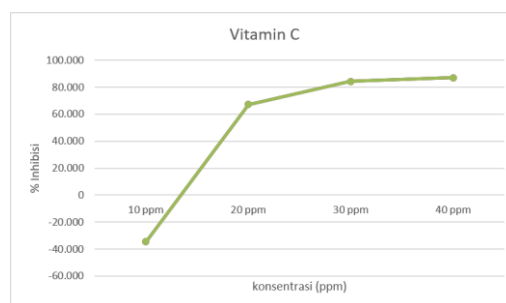
Tabel 1. Nilai Absorbansi Dan Persentase Inhibisi Vitamin C

No	Konsentrasi	Absorbansi			Rerate	% Inhibisi
		1	2	3	Absorbansi	
1.	10 ppm	0.884	0.883	0.889	0.885	-34.498
2.	20 ppm	0.211	0.217	0.222	0.216	67.173
3.	30 ppm	0.102	0.103	0.104	0.103	84.346
4.	40 ppm	0.084	0.085	0.085	0.085	87.082

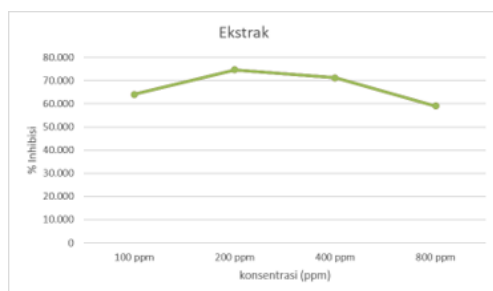
Tabel 2. Nilai Absorbansi Dan Persen Inhibisi Ekstrak Etanol Daun Ketepeng Cina (*Senna alata L.*)

No	Konsentrasi	Absorbansi			Rerate	% Inhibisi
		1	2	3	Absorbansi	
1.	100 ppm	0.238	0.237	0.236	0.237	63.981
2.	200 ppm	0.167	0.167	0.167	0.167	74.620
3.	400 ppm	0.190	0.189	0.190	0.190	71.124
4.	800 ppm	0.272	0.270	0.269	0.270	58.966

Berikut grafik persen inhibisi :



Gambar 9. grafik Hubungan Konsentrasi Vitamin C Terhadap Persen Inhibisi Radikal Bebas DPPH



Gambar 10. grafik Hubungan Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Ketepeng Cina (*Senna alata L.*) Terhadap Persen Inhibisi Radikal Bebas DPPH

Analisis Univariate

Tabel 3. Statistik Deskriptif Konsentrasi

Kelompok	N	Mean (ppm)	SD	Min	Max
Vitamin C	4	25,00	12,91	10	40
Ekstrak daun ketepeng	4	375,00	309,57	100	800

Berdasarkan tabel 3, rata-rata konsentrasi Vitamin C sebesar $25,00 \pm 12,91$ ppm dengan rentang 10–40 ppm, sedangkan ekstrak daun ketepeng sebesar $375,00 \pm 309,57$ ppm dengan rentang 100–800 ppm. Secara deskriptif, ekstrak daun ketepeng digunakan pada konsentrasi yang lebih tinggi dibandingkan Vitamin C.

Tabel 4. Statistik Deskriptif persen inhibisi

Kelompok	N	Mean (%)	SD	Min	Max
Vitamin C	4	51,03	57,69	-34,50	87,08
Ekstrak daun ketepeng	4	67,17	7,04	58,97	74,62

Berdasarkan tabel 4, rata-rata persen inhibisi Vitamin C sebesar

$51,03 \pm 57,69\%$, sedangkan ekstrak daun ketepeng sebesar $67,17 \pm 7,04\%$. Rentang persen inhibisi masing-masing kelompok adalah -34,50–87,08% pada Vitamin C dan 58,97–74,62% pada ekstrak daun ketepeng. Variasi persen inhibisi ekstrak daun ketepeng lebih rendah dibandingkan Vitamin C, ditunjukkan oleh nilai standar deviasi yang lebih kecil.

Analisa Bivariat

Tabel 5. Distribusi Uji Normalitas Data

Variabel	Kelompok	Frekuensi (n)	Statistik	df	Sig.
Konsentrasi	Vitamin C	4	0,993	4	0,972
	Ekstrak daun ketepeng	4	0,920	4	0,538
Persen inhibisi	% Vitamin C	4	0,748	4	0,037
	% Ekstrak daun ketepeng	4	0,960	4	0,781

Berdasarkan tabel 5. uji Shapiro–Wilk menunjukkan bahwa data konsentrasi pada kelompok Vitamin C dan ekstrak daun ketepeng berdistribusi normal ($p=0,972$ dan $p=0,538$). Pada persen inhibisi, kelompok Vitamin C tidak berdistribusi normal ($p=0,037$), sedangkan ekstrak daun ketepeng berdistribusi normal ($p=0,781$). Hasil ini menjadi dasar pemilihan uji nonparametrik untuk analisis perbedaan antarkelompok.

Tabel 6. Uji Homogenitas Varian (Levene's Test)

Variabel	Kelompok	Frekuensi (n)	Statistik	df	Sig.
Konsentrasi	Vitamin C	4	0,993	4	0,972
	Ekstrak daun ketepeng	4	0,920	4	0,538
Persen inhibisi	% Vitamin C	4	0,748	4	0,037
	% Ekstrak daun ketepeng	4	0,960	4	0,781

Berdasarkan Tabel 6. hasil uji Levene menunjukkan bahwa varians data konsentrasi ($p=0,043$) dan persen inhibisi ($p=0,048$) tidak homogen ($p<0,05$). Dengan mempertimbangkan hasil uji normalitas dan homogenitas, analisis perbedaan antarkelompok dilakukan menggunakan uji Mann–Whitney.

Tabel 7. Uji *Mann-Whitney*

Variabel	Exact Sig. (2-tailed)	Keterangan
Konsentrasi	0.029	Signifikan ($p < 0,05$)
Persen Inhibisi	0.686	Tidak signifikan ($p > 0,05$)

Berdasarkan tabel 7, terdapat perbedaan yang signifikan pada konsentrasi antara Vitamin C dan ekstrak daun ketepeng ($p=0,029$). Sebaliknya, tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada persen inhibisi kedua kelompok ($p=0,686$). Hasil ini menunjukkan bahwa persen inhibisi ekstrak daun ketepeng tidak berbeda

secara signifikan dibandingkan Vitamin C pada kondisi penelitian.

Hasil Analisis *Molecular Docking*

Hasil Pencarian Data Struktur Protein

Struktur dari protein p53 berasal dari website *Uniprot* (<https://www.uniprot.org/>) dan dipilih melalui database protein RSCB-PDB (<https://www.rcsb.org/>) ditentukan berdasarkan tahun penerbitan, resolusi, adanya mutasi dan *native ligands*. Berdasarkan penentuan pemilihan dari protein target, maka didapatkan protein p53 dengan kode 7B4N (<https://www.rcsb.org/structure/7B4N>) yang diterbitkan pada tahun 2021 dengan resolusi 1.32 Å, tidak terjadi mutasi dan terdapat *native ligands* berupa (2~{S})-2-methyl-1-azabicyclo[2.2.2]octan-3-one (QNN) (<https://www.rcsb.org/ligandvalidation/7B4N/QNN>).

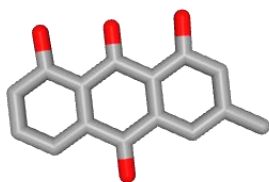


Gambar 4. Struktur protein p53 (7B4N)

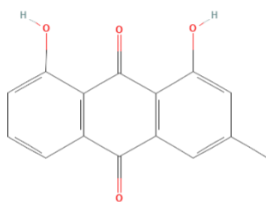
Hasil Pencarian Data Senyawa Aktif

Pencarian data struktur senyawa aktif *chrysophanol* dilakukan menggunakan database *PubChem* dengan *PubChem* CID: 10208(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/10208>) yang diterbitkan pada tahun 2004 dengan formula molekul $C_{15}H_{10}O_4$ dan berat molekul 254.24 g/mol.

A



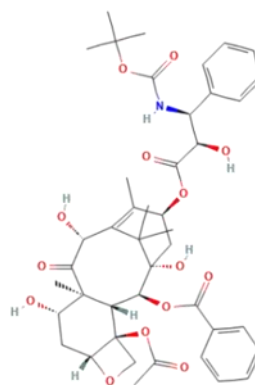
B



Gambar 11. Struktur senyawa *Chrysophanol*; A. 3 dimensi; B. 2 dimensi.

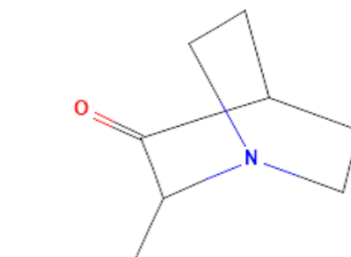
Pencarian data struktur senyawa aktif *Docetaxel* dilakukan menggunakan database *PubChem* dengan *PubChem* CID: 148124 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/c>

ompound/148124) yang diterbitkan pada tahun 2005 dengan formula molekul $C_{43}H_{53}NO_{14}$ dan berat molekul 807.9 g/mol.



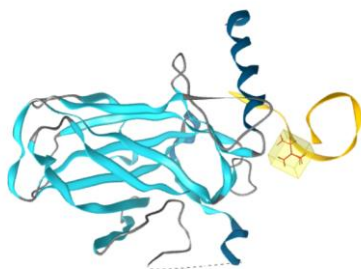
Gambar 12. Struktur senyawa *Docetaxel* 2 dimensi.

Native ligands pada protein target p53 yang merupakan senyawa aktif bernama (2~{S})-2-methyl-1-azabicyclo[2.2.2]octan-3-one (QNN) dengan nomor *PubChem* CID: 459054628(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/substance/459054628>) yang terbit pada tahun 2021.



A

B



Gambar 13. Struktur senyawa QNN native ligand dari p53; A. 2 dimensi; B. keberadaan senyawa QNN sebagai native ligands dari p53 (kotak kuning).

Hasil Analisis Interaksi Antara Protein dan Ligand

Dari hasil *molecular docking*, didapatkan hasil energi pengikatan (EP), konstanta penghambatan (KP), dan *Root Mean Standard Deviation* (RMSD).

Pada proses *molecular docking* dari protein p53 dilakukan *docking* ulang dengan menggunakan *native ligands* itu sendiri menggunakan validasi *grid box* 40x40x40, 50x50x50, dan 60x60x60.

Tabel 8. Validasi Grid box protein p53.

Grid Box	EP (kcal/mol)	RMSD (Å)
40x40x40	-2.15	2.65
50x50x50	-3.03	6.39
60x60x60	-3.03	6.41

Berdasarkan hasil *docking* ulang protein p53 terhadap *native ligand* masing masing protein, digunakan *grid box* 40x40x40 karena memiliki energi pengikatan yang kecil dan RMSD < 2 Å. Prosedur ini dilakukan untuk memastikan bahwa senyawa aktif berada pada situs aktif dari protein target.

Setelahnya, dilakukan *molecular docking* dari senyawa aktif terhadap protein p53 menggunakan validasi *grid box* yang telah dilakukan. Didapatkan hasil *molecular docking* sebagai berikut:

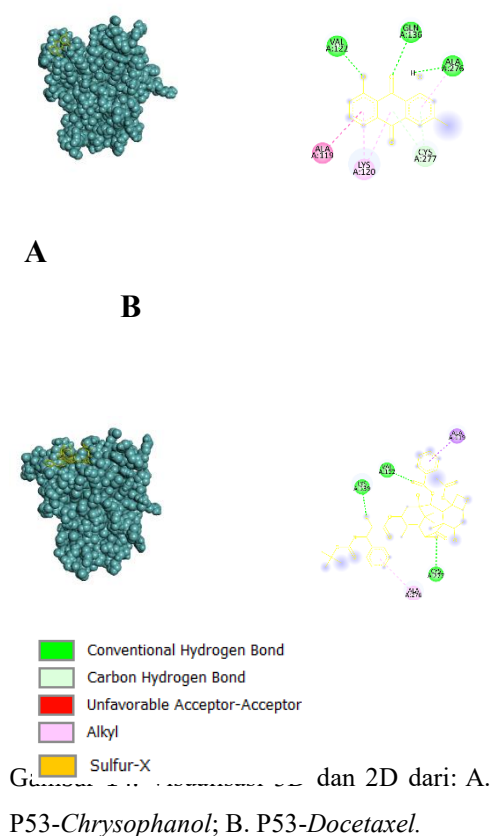
Tabel 9. Hasil energi pengikatan (EP (kcal/mol)), konstanta penghambatan (KP (uM)), dan RMSD (Å) antara protein p53 terhadap ligan.

Komponen Bioaktif	BDNF		
	EP	KP	RMSD
Chrysophanol	-4.77	319.05	1.989
Docetaxel	-2.47	15340	2.597

Berdasarkan data *molecular docking* yang dilakukan pada protein p53, didapatkan energi pengikatan dan konstanta penghambatan tertinggi adalah *chrysophanol* terhadap p53 dengan nilai -4.77 kcal/mol dan 319.05 uM, sedangkan energi pengikatan dan konstanta penghambatan terendah pada

Docetaxel dengan nilai -2.47 kcal/mol dan 15340 uM. Pada RMSD, senyawa *Chrysophanol* memiliki $\text{RMSD} < 2$, sedangkan pada senyawa *Docetaxel* memiliki nilai $\text{RMSD} > 2$.

Hasil Visualisasi Ligand-Protein Complexisualisasi p53 Terhadap Senyawa Aktif *Chrysophanol* dan *Docetaxel*



Dari hasil visualisasi p53 terhadap senyawa aktif *chrysophanol* dan *docetaxel* didapatkan bahwa

ikatan antara p53-*chrysophanol* memiliki 4 ikatan hidrogen pada sekuens asam amino *Valine* (VAL) 122, *Glutamine* (GLN) 136, *Alanine* (ALA) 276, dan *Cysteine* (CYS) 277; p53-*docetaxel* memiliki 3 ikatan hidrogen pada sekuens asam amino *Lysine* (LYS) 139, dan VAL122, dan CYS 277.

PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil penelitian, ekstrak etanol daun Ketepeng cina (*Senna alata* L.) menunjukkan aktivitas antioksidan terhadap radikal bebas DPPH. Persen inhibisi yang diperoleh pada konsentrasi 100, 200, 400, dan 800 ppm masing-masing sebesar 63,981%, 74,620%, 71,124%, dan 58,966%. Aktivitas tersebut diduga berkaitan dengan kandungan metabolit sekunder seperti flavonoid, senyawa fenolik, dan antrakuinon termasuk *chrysophanol* yang berperan dalam menangkap radikal bebas melalui donor atom hidrogen atau elektron.²⁰

Persen inhibisi tertinggi diperoleh pada konsentrasi 200 ppm, kemudian menurun pada konsentrasi 400 dan 800 ppm. Hal ini

menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak tidak selalu meningkatkan aktivitas antioksidan secara linier. Kondisi tersebut dapat dipengaruhi oleh interaksi antarsenyawa bioaktif serta karakteristik ekstrak pada konsentrasi tinggi. Selain itu, warna ekstrak yang semakin pekat dapat memengaruhi pembacaan absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-Vis.²¹

Vitamin C digunakan sebagai kontrol positif karena memiliki aktivitas antioksidan yang telah diketahui. Pada penelitian ini, Vitamin C menunjukkan aktivitas pada konsentrasi yang lebih rendah dibandingkan ekstrak daun ketepeng cina, yang dapat dikaitkan dengan sifatnya sebagai senyawa murni, sedangkan ekstrak masih terdiri atas berbagai senyawa metabolit sekunder.²²

Hasil uji Mann–Whitney menunjukkan adanya perbedaan signifikan pada konsentrasi antara Vitamin C dan ekstrak daun Ketepeng cina ($p=0,029$), tetapi tidak terdapat perbedaan signifikan pada persen inhibisi ($p=0,686$). Dengan demikian, meskipun ekstrak memerlukan

konsentrasi lebih tinggi dibandingkan Vitamin C, kemampuan penghambatan radikal bebasnya tidak berbeda secara signifikan pada kondisi penelitian ini. Hasil tersebut menunjukkan potensi ekstrak etanol daun Ketepeng cina sebagai sumber antioksidan alami.²³

Keberadaan *chrysophanol* dalam ekstrak belum dikonfirmasi secara langsung sehingga menjadi keterbatasan penelitian. Penggunaan *chrysophanol* sebagai ligan dalam *molecular docking* didasarkan pada laporan penelitian sebelumnya mengenai keberadaannya dalam daun Ketepeng cina. Oleh karena itu, penelitian lanjutan menggunakan metode analisis seperti HPLC atau LC-MS/MS diperlukan untuk mengonfirmasi keberadaan dan kadar *chrysophanol* dalam ekstrak.^{67,77,78}

Protein p53 dengan kode PDB 7B4N dipilih sebagai target karena memiliki resolusi struktur 1,32 Å, berstatus *wild-type*, dan memiliki *native ligand* QNN sehingga mendukung proses validasi dan penentuan sisi aktif protein. *Chrysophanol* dipilih sebagai ligan uji, sedangkan docetaxel digunakan

sebagai ligan pembanding. Perbedaan struktur dan gugus fungsi kedua ligan dapat memengaruhi karakteristik interaksinya dengan protein p53.²⁴

Validasi metode dilakukan melalui *redocking* native ligand QNN. Penggunaan *grid box* $40 \times 40 \times 40$ menghasilkan RMSD sebesar 2,65 Å dan *binding energy* -2,15 kcal/mol. Nilai RMSD <3 Å menunjukkan bahwa parameter *docking* dapat mereproduksi posisi native ligand dengan baik sehingga dinilai layak digunakan pada analisis ligan uji dan pembanding.²⁵

Hasil *molecular docking* menunjukkan bahwa *chrysophanol* memiliki *binding energy* -4,77 kcal/mol dan *Ki* 319,05 µM, sedangkan docetaxel masing-masing sebesar -2,47 kcal/mol dan 15.340 µM. Nilai tersebut menunjukkan afinitas pengikatan *chrysophanol* yang lebih baik terhadap protein p53 dibandingkan docetaxel.²⁶

Kompleks p53-*chrysophanol* juga memiliki RMSD lebih rendah (1,989 Å) dibandingkan p53-docetaxel (2,597 Å), dan keduanya masih berada dalam batas penerimaan

<3 Å. Selain itu, *chrysophanol* membentuk empat ikatan hidrogen, sedangkan *docetaxel* membentuk tiga ikatan hidrogen. Kombinasi nilai *binding energy*, *Ki*, RMSD, dan pola interaksi tersebut menunjukkan interaksi *chrysophanol* dengan protein p53 yang relatif lebih stabil.²⁷

Secara keseluruhan, hasil *molecular docking* menunjukkan bahwa *chrysophanol* memiliki afinitas pengikatan yang lebih baik terhadap protein p53 dibandingkan docetaxel dan berpotensi menjadi kandidat senyawa antikanker. Temuan ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang melaporkan kemampuan *chrysophanol* berinteraksi dengan berbagai protein target yang berperan dalam proliferasi dan apoptosis. Namun, hasil *docking* masih bersifat prediktif sehingga belum dapat menggambarkan aktivitas biologis secara langsung. Diperlukan penelitian lanjutan berupa *molecular dynamics* serta pengujian *in vitro* dan *in vivo* untuk mengonfirmasi aktivitas antikanker *chrysophanol*.^{28,19}

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian mengenai aktivitas antioksidan daun Ketepeng cina (*Senna alata* L.) dan interaksi molekuler senyawa *Chrysophanol* terhadap protein p53, dapat disimpulkan bahwa:

3. Ekstrak etanol daun Ketepeng cina (*Senna alata* L.) memiliki aktivitas antioksidan berdasarkan hasil pengujian menggunakan metode DPPH, yang menunjukkan kemampuan ekstrak dalam menangkal radikal bebas.
4. Senyawa *Chrysophanol* dari daun Ketepeng cina (*Senna alata* L.) menunjukkan interaksi dengan protein target p53 berdasarkan hasil molecular docking. Hasil tersebut menunjukkan adanya potensi interaksi *molecular* terhadap protein p53 yang dibandingkan dengan docetaxel sebagai kontrol positif.

SARAN

Adapun saran yang dapat diberikan dalam penelitian ini untuk menjadi sebuah penelitian acuan adalah:

5. Penelitian selanjutnya disarankan melakukan identifikasi dan kuantifikasi senyawa *chrysophanol* secara langsung pada ekstrak etanol daun Ketepeng cina (*Senna alata* L.) menggunakan metode *High Performance Liquid*

Chromatography (HPLC) atau *Liquid Chromatography–Mass Spectrometry* (LC-MS/MS) sehingga keberadaan senyawa tersebut dapat dibuktikan secara ilmiah.

6. Penelitian selanjutnya diharapkan menggunakan standar *chrysophanol* maupun standar antrakuinon yang masih layak digunakan sehingga proses identifikasi senyawa aktif dapat dilakukan dengan optimal dan menghasilkan data yang lebih akurat.
7. Perlu dilakukan penambahan variasi protein target yang berperan dalam kanker payudara guna memperkaya data serta meningkatkan pemahaman mengenai efektivitas interaksi senyawa *chrysophanol* terhadap berbagai jalur molekuler yang terlibat.
8. Disarankan dilakukan penelitian lanjutan berupa analisis *molecular dynamics* untuk mengevaluasi kestabilan interaksi antara ligan dan protein target sehingga hasil *molecular docking* dapat dikonfirmasi secara lebih komprehensif.

DAFTAR PUSTAKA

1. Komalasari Y, Elysia A, Fitri R, Aziza KN, Lutfiah V. Analisis Faktor Reproduksi sebagai Faktor Risiko Kanker Payudara pada Wanita Asia

- Tenggara. 2023;4:1933–41.
2. Harahap ARKWA, Kurniawati Y. Hubungan Faktor Risiko dengan Jenis Sub-Tipe Molekular Kanker Payudara di Kota Padang. 2025;2(1):110–28. Available from: <https://manggalajournal.org/index.php/EMPIRIS>
 3. Msph ANG, Sung H, Newman LA, Freedman RA, Smith RA, Star J, et al. Breast Cancer Statistics 2024. 2024;(July):477–95.
 4. Khoirila N, Walid M. Uji Aktivitas Antikolesterol Ekstrak Daun Ketepeng Cina (*Cassia alata* L.) terhadap Penurunan Kadar Kolesterol Mencit Putih Jantan (*Mus musculus* L.). 2024;7(2):96–104.
 5. Colin MN, Shelly N, Claudiana E, Kaffah AU, Hasanah AN. Review on *Cassia alata* Bioactive Compounds : In silico , in vitro , and in vivo Studies. 2024;(October):4427–47.
 6. Ernawati H, Hutami SR, Fathurrachman MM. Skrining Fitokimia dan Uji Kualitatif Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Ketepeng Cina (*Cassia Alata* L) dengan Metode DPPH Universitas Muhammadiyah Manado , Indonesia. 2025;3(2020).
 7. Wibowo DP, Mariani R, Yusuf AF. Penapisan Fitokimia serta Aktivitas Antioksidan Daun dan Batang Ketepeng Cina (*Senna alata* (L.) Roxb.). 2024;8(354):592–6.
 8. Gęgotek A, Skrzydlewska E. Antioxidative and Anti-Inflammatory Activity of Ascorbic Acid. *Antioxidants* [Internet]. 2022;11(10). Available from: <https://doi.org/10.3390/antiox11101993>
 9. Kaźmierczak-Barańska J, Boguszeńska K, Adamus-Grabicka A, Karwowski BT. Two Faces of Vitamin C—Antioxidative and Pro-Oxidative Agent ., *Nutrients*

- [Internet]. 2020;12(5). Available from: <https://doi.org/10.3390/nu12051501>
10. Alberts A, Moldoveanu E theodora, Niculescu A gabriela, Grumezescu AM. Vitamin C : A Comprehensive Review of Its Role in Health , Disease Prevention , and Therapeutic Potential. *Molecules* [Internet]. 2025;30(3):748. Available from: <https://doi.org/10.3390/molecules30030748>
 11. Torres PHM, Sodero ACR, Jofily P. Key Topics in Molecular Docking for Drug Design. 2019;1–29.
 12. Boittier ED, Tang YY, Buckley ME, Schuurs ZP, Richard DJ, Gandhi NS. Assessing Molecular Docking Tools to Guide Targeted Drug Discovery of CD38 Inhibitors. 2020;1–19.
 13. Susiloningrum D, Erliani D, Sari M. UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN PENETAPAN KADAR FLAVONOID TOTAL EKSTRAK TEMU MANGGA (Curcuma mangga Valetton & Zijp) DENGAN VARIASI KONSENTRASI PELARUT. 2021;5(2):117–27.
 14. Devitria R, Utam NP. Antioxidant Activity Test of Methanol Extract on Dragon Fruit Skin (Hylocereus polyrhizus), Bengkoang (Pachyrhizus erosus), and Guava Seeds (Syzygium malaccense L) DPPH Method (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl). 2025;3(1):26–32.
 15. Pangondian A, Rambe R, Ritonga NR, Husein S, Athaillah, Khairunnisa NA, et al. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Tumbuhan Akar Balsem (Polygala paniculata L.) dengan Metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). *Forte Journak*. 2025;05(1):193–202.
 16. Muadifah A, Tilarso DP, Putri

- AE, Sowe MS. Antioxidant Effectiveness of Kapok Leaves Extract Moisturizer (*Ceiba pentandra* (L .) Gaertn .) with DPPH Method. 2024;1–10.
17. Park, Dan-Bi, Park, Bong-Soo, Kang, Hae-Mi, Kim, Jung-Han, Kim IR. Chrysophanol-Induced Autophagy Disrupts Apoptosis via the Carcinoma Cells. *Medicina* (B Aires). 2023;59(1):42.
 18. Hasan GM, Mohammad T, Zaidi S, Shamsi A, Hassan MI. Molecular docking and dynamics in protein serine / threonine kinase drug discovery : advances , challenges , and future perspectives. 2025;(October):1–18.
 19. Nivatya HK, Singh A, Kumar N, Sonam, Sharma L, Singh V, et al. Assessing molecular docking tools : understanding drug discovery and design. 2025;
 20. Hashary AR, Damayanti UP, Nurzak AN. Identifikasi Senyawa Antioksidan dari Ekstrak Etanol Daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifolius*) dengan Metode 2,2-Diphenyl-1-Picryl-Hydrazyl (DPPH). *Ris Kefarmasian Indones*. 2023;5(2).
 21. Julizan N, Maemunah S, Dwiyantri D, Jamaludin Al A. Validasi Penentuan Aktifitas Antioksidan Dengan Metode Dpph. \. 2021;1(1):41–5.
 22. Dosed˘ M, Jirkovsk E, Kujovsk L, Javorsk L, Pourov J, Mercolini L, et al. Vitamin C—Sources, Physiological Role, Kinetics, Deficiency, Use, Toxicity, and Determination. 2021;13(2):1–34. Available from: <https://doi.org/10.3390/nu13020615>
 23. Straaten HMO van, Man AMES de, Waard MC De. Vitamin C revisited. 2020;18(4):1–13. Available from: <https://doi.org/10.1186/s13054>

- 014-0460-x
24. Mufidah S, Novitasari PR, Anggraini P, Sari K, Hidayati HB. In Silico Evaluation of Black Cumin Oil Constituents for Selective Anti-Inflammatory Inhibitor of COX-2 And 5-LOX. 2025;08(September):198–206.
 25. Li Y, Yi J, Li H, Li K, Kang F, Deng Y. Decoding the limits of deep learning in molecular docking for drug discovery. Chem Sci. 2025;16(August):17374–90.
 26. Martis EAF, Téletchéa S. Ten quick tips to perform meaningful and reproducible molecular docking calculations. 2025;1–18. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1013030>
 27. Gou X, Zhang W, Wang L, Tan C, Wei H, Wang X, et al. Chrysophanol promotes M2 polarization and inhibits M1 polarization through the NF- κ B signaling pathway to attenuate sepsis-associated acute kidney injury. 2025;(July):1–15.
 28. Hemalatha G, Sivakumari K, Rajesh S, K SD. In Silico Molecular Docking Studies of Muricin J, Muricin K and Muricin L Compound from *A. muricata* Against Apoptotic Proteins (Caspase-3, Caspase-9 and β -Actin). 2020;7(5):3–7.