

JURNAL METAMORFOSA
Journal of Biological Sciences

ISSN: 2302-5697

<http://ojs.unud.ac.id/index.php/metamorfosa>**Profil Metabolit Daun Kesambi (*Schleichera oleosa*) Berdasarkan Analisis Histokimia dan *In Silico****Metabolite Profiling of Schleichera oleosa Leaves Using Histochemical and In Silico Analysis***Tintrim Rahayu^{1*}, Radita Intan Aisyah Pratiwi², Nurul Jadid Mubarakati³**^{1,2,3}Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Malang, Jalan Mayjen Haryono No. 193, Dinoyo, Kec. Lowokwaru, Kota Malang, Jawa Timur, 65144*Email: tintrim.rahayu@unisma.ac.id**INTI SARI**

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui profil senyawa metabolit sekunder pada daun Kesambi (*Schleichera oleosa*) berdasarkan analisis histokimia dan *in silico*. Metode ini termasuk penelitian deskriptif eksperimental menggunakan sampel daun kesambi yang diambil dari Sumenep. Analisis *in silico* digunakan untuk mengetahui interaksi senyawa aktif dengan *receptor estrogen Alpha* (ER α) sebagai terapi kanker payudara melalui *molecular docking*. Analisis histokimia dilakukan dengan preparasi daun segar melalui sayatan bawah daun yang ditetesi reagen uji (CuSO₄, FeCl₃, Sudan III, AlCl₃, FeCl₃+NaCO₃), perubahan warna diamati secara mikroskopis. Analisis *in silico* meliputi pencarian senyawa aktif kesambi (KNAPSAck), mengunduh struktur senyawa aktif (PubChem) serta struktur protein target (PDB ID:3ERT) dengan *webserver* RCSB PDB yang dipreparasi menggunakan program *Discovery studio* dan terakhir menginteraksikan ligan dan reseptor dengan program PyRx yang divisualisasi dengan program PyMol. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa berdasarkan analisis histokimia daun kesambi mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu *terpenoid* dalam CuSO₄ 5% berwarna kuning kecoklatan, *flavonoid* dalam AlCl₃ 10% kuning, *alkaloid* reagen wagner merah kecoklatan, *tannin* dalam FeCl₃ 10% berwarna coklat tua, *lipofil* dalam Sudan III jingga dan *fenol* FeCl₃ 10 % berwarna hijau gelap. Turunan senyawa metabolit sekunder dikonfirmasi secara *in silico*, didapatkan senyawa aktif *scopoletin* turunan *fenol*. Senyawa *beta-sitosterol*, *betulin*, *betulinic acid*, *lupeol*, *lupeol asetat*, *schleicheol 1&2*, *schleicherastatin 1-7* turunan dari *terpenoid*. Hasil *molecular docking* terdapat interaksi senyawa aktif dengan protein 3ERT. Senyawa yang memberikan hasil paling efektif yaitu *lupeol asetat* dengan nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD) paling baik yaitu 1.b 1.588 Å dan u.b 2.219 Å, sehingga diprediksi dapat menghambat pertumbuhan sel kanker payudara.

Kata Kunci : Kesambi (*Schleichera oleosa*), histokimia, *molecular docking* dan ER α **ABSTRACT**

The purpose of this study was to determine the profile of secondary metabolite compounds in Kesambi (*Schleichera oleosa*) leaves based on histochemical and *in silico* analysis. This method is an experimental descriptive study using kesambi leaf samples taken from Sumenep. *In silico* analysis was used to determine the interaction of active compounds with *estrogen receptor Alpha* (ER α) as breast cancer therapy through *molecular docking*. Histochemical analysis was carried out by preparing fresh leaves through the lower incision of the leaves with the test reagent dropping (CuSO₄, FeCl₃, Sudan III, AlCl₃, FeCl₃+NaCO₃), the color change was observed microscopically. *In silico* analysis includes the search for active compounds in kesambi (KNAPSAck), downloading the active compound structure

(PubChem) and the structure of the target protein (PDB ID: 3ERT) with the RCSB PDB *webservice* prepared using the Discovery studio program and finally interacting with ligands and receptors with a visualized PyRx program. with the PyMol program. The results of this study indicate that based on histochemical analysis kesambi leaves contain secondary metabolites, namely terpenoids in CuSO₄ 5% brownish yellow, flavonoids in AlCl₃ 10% yellow, red brown wagner reagent alkaloids, tannin in FeCl₃ 10% dark brown, lipophils in Sudan III orange and phenol FeCl₃+NaCO₃ 10% are dark green. The derivatives of secondary metabolites were confirmed in silico, and the active compounds were phenol derivatives scopoletin. *Beta-sitosterol*, *betulin*, *betulinic acid*, *lupeol*, *lupeol acetate*, *schleicheol* 1&2, *schleicherastatin* 1-7 derivatives of terpenoids. The result of *molecular docking* is an interaction of active compounds with 3ERT protein. The compound that gave the most effective results was lupeol acetate with the best Root Mean Square Deviation (RMSD) values, namely l.b 1,588 Å and u.b 2,219 Å, so that it was predicted to inhibit the growth of breast cancer cells.

Keywords: Kesambi (*Schleichera oleosa*), histochemistry, *molecular docking* and ER α .

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara yang memiliki keanekaragaman hayati terbesar di dunia, memiliki sekitar 30 ribu jenis tumbuhan yang berpotensi untuk dijadikan obat, dimana sekitar tiga ratus diantaranya telah diracik menjadi jamu sejak zaman nenek moyang (Badan POM RI, 2004).

Kesambi (*Schleichera oleosa*) merupakan tumbuhan yang termasuk dalam familia Sapindaceae. Tumbuhan ini dapat ditemukan di daerah Madura. Jurnal hasil penelitian Situmeang dkk. (2016) menunjukkan bahwa hasil uji skrining fitokimia daun kesambi mengandung senyawa metabolit sekunder antara lain *alkaloid*, *flavonoid*, *steroid*, *fenolik* dan *tannin* (Situmeang dkk., 2016) Di bidang pengobatan tradisional, dikenal sebagai Macassar oil untuk pelembut rambut, menyembuhkan penyakit gatal, eksim, kudis, koreng, dan jerawat. Bubuk biji kesambi digunakan sebagai obat luka pada ternak dan daunnya dapat mengobati penyakit malaria (Hanum, 1997)

Menurut Salni dkk. (2011) yang disebut senyawa aktif adalah senyawa kimia tertentu yang terdapat dalam tumbuhan dan hewan sebagai bahan obat yang mempunyai efek fisiologis terhadap organisme lain, atau sering disebut sebagai senyawa bioaktif. Keberadaan senyawa aktif umumnya memberikan manfaat baik secara medis maupun secara ekonomis. Potensi medikal pada senyawa aktif dapat diketahui dengan melakukan

berbagai tahapan uji, uji awal yang bisa dilakukan adalah dengan *molecular docking*. *Molecular docking* adalah uji komputasi yang digunakan sebagai langkah awal untuk mengetahui potensi suatu senyawa sebagai obat dengan menginteraksikan senyawa aktif pada reseptor (Gao *et al.*, 2007). Potensi bidang farmakologis kesambi dapat digunakan sebagai antikanker, antioksidan dan antimikroba (Meshram *et al.*, 2015).

Kanker payudara menjadi pusat perhatian karena berbagai alasan. Pertama, jumlah kanker payudara yang dialami wanita terus meningkat. Berdasarkan diagnosa, lebih dari 1,1 juta wanita di seluruh dunia telah dilaporkan mengidap kanker payudara dan 410.000 di antaranya meninggal. Kedua, perlu peningkatan deteksi kanker payudara mulai dari usia dini. Ketiga, penyakit kanker payudara berhubungan dengan organ vitalnya sehingga dapat mempengaruhi identitas wanita (Montazeri, 2008).

Beberapa protein yang berpotensi menjadi target molekuler antikanker antara lain *Glomerular Filtration Rate* (EGFR), *Human Epidermal Growth Factor Receptor* (HER2), *Mammalian Target of Rapamycin* (mTOR) dan *Estrogen Receptor* (ER). *Estrogen reseptor* (ER) terdiri atas ER α dan ER β . Diketahui bahwa ER α merupakan *reseptor estrogen* yang paling banyak ditemukan dalam kasus kanker. *Reseptor estrogen Alpha* (ER α) merupakan reseptor yang lebih banyak ditemukan pada jaringan payudara dan memiliki kemampuan lebih kuat dalam mengikat *estrogen*

dibandingkan dengan ER β . *Estrogen* yang dihasilkan di jaringan payudara akan berikatan dengan ER α dan memicu proliferasi sel kanker (Pratama, 2016). Hasil penelitian George *et al.* (2000) menyatakan bahwa *schleicheol 1*, *schleicheol 2* dan *schleicherastatin 1-7* dapat menghambat pertumbuhan sel kanker. Sedangkan menurut Hanifah (2020) ekstrak daun kesambi (*Schleichera oleosa*) dapat mengoptimalkan proliferasi Sel Graulosa Kambing (*Caprus aegagrus hircus*) secara *in vitro*.

Berdasarkan latar belakang tersebut penulis bermaksud melakukan mengetahui profil metabolit sekunder pada daun kesambi melalui analisis histokimia dan prediksi daun kesambi sebagai kandidat obat antikanker payudara melalui pendekatan *in silico*.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode penelitian deskriptif eksperimental yang dianalisis secara kualitatif untuk mengetahui hasil dari analisis histokimia, dianalisa secara kuantitatif untuk mengetahui hasil dari uji *in silico*. Analisis histokimia dilakukan dengan menggunakan beberapa reagen dengan jenis dan kadar yang disesuaikan dengan jenis analisis histokimia. Analisis histokimia yang dilakukan meliputi: *terpenoid*, *flavonoid*, *alkaloid*, *fenol*, *lipofil* dan *tannin*. Uji *in silico* dilakukan dengan beberapa web server pendukung yaitu KNApSAcK, Pubchem, Pass Online, PDB ID dan beberapa software yaitu Discovery Studio Virtualzer, PyRx, PyMol dan Chimera 1.14.

CARA KERJA

1. Analisis Histokimia

Pengambilan sampel

Sampel daun kesambi (*Schleichera oleosa*) diambil dari daerah Dusun Baratan Desa Talang Kecamatan Saronggi Kabupaten Sumenep Jawa Timur. Sampel yang digunakan penelitian adalah daun Kesambi (*Schleichera oleosa*) bagian nodus ke-5 dari pucuk.

Preparasi sampel

Daun Kesambi yang diperoleh dicuci di

air mengalir untuk membersihkan daun dari kotoran yang melekat. Setelah dicuci kemudian bagian bawah daun disayat sejajar dengan permukaan untuk digunakan sebagai preparat analisis histokimia.

Pengamatan sampel

Hasil sayatan yang diperoleh dilihat di bawah mikroskop untuk mengamati perubahan warna setelah ditetesi reagen uji pada daun Kesambi (*Schleichera oleosa*). Analisis histokimia diberikan berbagai macam reagen yang sesuai untuk penunjuk metabolit sekunder tertentu, yaitu :

Analisis Senyawa *Terpenoid*

Pendeteksian senyawa *terpenoid* dilakukan dengan merendam sayatan sampel ke dalam larutan CuSO₄ 5% selama 24 jam kemudian ditetesi dengan gliserin dan diamati dengan mikroskop. Hasil positif ditandai dengan perubahan warna menjadi kuning kecoklatan (Andriya, 2016).

Analisis Senyawa *Flavonoid*

Senyawa *flavonoid* dideteksi dengan memberikan larutan AlCl₃ dalam etanol 85%. Perubahan warna menjadi kuning atau biru menunjukkan keberadaan senyawa *flavonoid* (Rupa, 2015).

Analisis Senyawa *Alkaloid*

Deteksi senyawa dilakukan dengan merendam sampel ke dalam reagen wagner selama 48 jam kemudian diamati menggunakan mikroskop. Adanya senyawa *alkaloid* ditunjukkan dengan warna merah kecoklatan (Andriya, 2016).

Analisis Senyawa *Tanin*

Analisis senyawa dilakukan dengan meneteskan larutan FeCl₃ 10% pada sayatan sampel. Perubahan warna menjadi coklat tua menunjukkan hasil positif adanya senyawa *tanin* (Rupa, 2015).

Analisis Senyawa *Lipofil*

Pendeteksian senyawa dilakukan dengan merendam sayatan sampel dengan alkohol 70% selama 60 detik, kemudian ditetesi dengan sudan III dan dipanaskan dengan waterbath 60°C selama ½ jam. Selanjutnya adalah mencuci sampel dengan alkohol 70% dan diamati dengan media gliserin. Keberadaan

senyawa lipofil ditunjukkan dengan perubahan warna menjadi merah, jingga atau orange (Rupa, 2015).

Analisis Senyawa Fenol

Sayatan sampel direndam dalam larutan FeCl₃ 10 % yang telah diberikan beberapa butir NaCO₃ dan didiamkan pada suhu kamar selama 15 menit. Kandungan fenol ditunjukkan dengan perubahan warna menjadi hijau gelap atau hitam (Andriya, 2016).

2. Analisis In Silico

Analisis pencarian senyawa aktif daun Kesambi (*Schleichera oleosa*)

Senyawa aktif yang terkandung dalam daun kesambi dapat diperoleh dari database web server KNApSACK (http://www.knapsackfamily.com/knapsack_core/top.php). Senyawa aktif tersebut merupakan ligan yang digunakan pada tahapan *molecular docking*.

Analisis struktur 3D

Struktur kimia dari senyawa aktif yang didapat dianalisis secara *in silico* melalui PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>). Kemudian struktur 3D-nya diunduh dalam format sdf.

Preparasi protein 3ERT

Protein *Reseptor estrogen* (PDB ID : 3ERT) diunduh melalui *Protein Data Bank* dengan situs (<http://www.rcsb.org/pdb>). Preparasi protein 3ERT diawali dengan memisahkan antara protein dengan ligan aslinya. Preparasi dilakukan dengan program *Discovery studio virtualizer* untuk dilanjutkan pada tahap validasi.

Preparasi senyawa aktif

Preparasi senyawa aktif (ligan) diunduh dari web server Pubchem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) dan dipreparasi menggunakan software Chimera1.14 dengan mengganti format sdf ke format pdb agar bias menyesuaikan dengan software saat didocking

Molecular docking analysis

Molecular docking analysis dilakukan

dengan menginteraksikan senyawa aktif kesambi pada protein target yang sudah dihilangkan ligan aslinya menggunakan program PyRx. Sebelumnya struktur 3D senyawa yang telah diunduh diganti formatnya dalam bentuk pdb untuk menyesuaikan dengan software yang akan digunakan. Hasil dari analisis *molecular docking* dinyatakan memenuhi jika memiliki nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD) $\leq 2\text{\AA}$ sehingga dapat dilakukan docking senyawa uji dengan protein target (Prasojo dkk., 2010).

Docking senyawa aktif dengan protein 3ERT

Senyawa aktif yang telah disiapkan dalam format PDB kemudian diinteraksikan dengan protein 3ERT tanpa *native ligand* dengan menggunakan program PyRx. Hasil analisis menunjukkan adanya interaksi antara reseptor dan ligan dengan nilai energi ikatan terendah untuk berikatan dengan protein target. Visualisasi interaksi struktur 3D dilakukan dengan program PyMol.

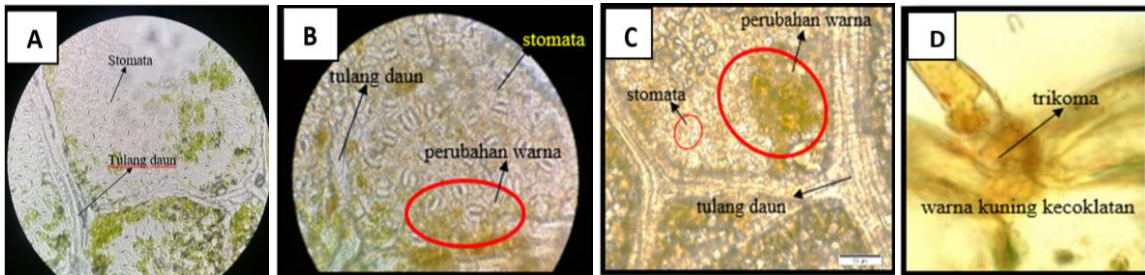
HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis histokimia merupakan metode untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder yang terdapat pada jaringan tumbuhan secara kualitatif. Pada penelitian ini sampel yang digunakan adalah daun Kesambi (*Schleichera oleosa*) yang diambil dari daerah Sumenep Madura. Daun yang digunakan diambil pada nodus ke-5 kemudian dibuat preparat segar dengan mengiris bagian abaksial daun yang ditambahkan dengan suatu reagen tertentu dan nantinya akan diperoleh warna yang spesifik dari hasil masing-masing preparat yang dideteksi (Maghfiroh dkk., 2018).

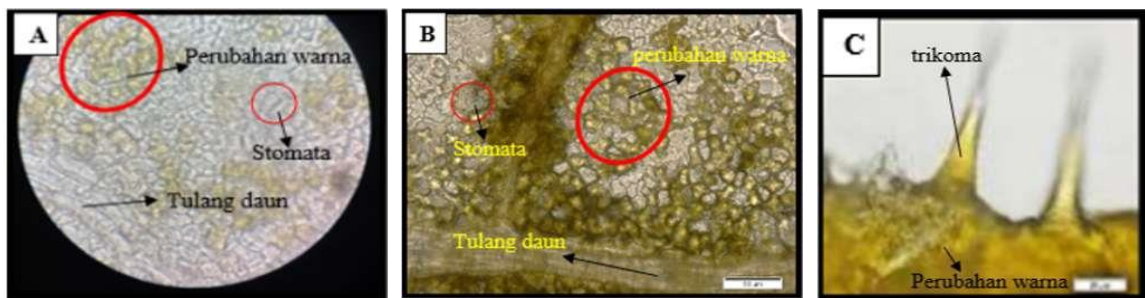
Hasil uji histokimia pada daun Kesambi terlihat pada jaringan epidermis daun yang menunjukkan bahwa daun kesambi mengalami perubahan warna setelah ditetesi berbagai macam reagen uji. Perubahan warna tersebut menunjukkan bahwa daun kesambi mengandung senyawa metabolit sekunder berupa *terpenoid*, *flavonoid*, *alkaloid*, *tanin*, *lipofil* dan *fenol* seperti pada Tabel 1 dan Gambar 1-6.

Tabel 1. Hasil Uji Histokimia Senyawa Metabolit Sekunder pada Daun Kesambi (*Schleichera oleosa*)

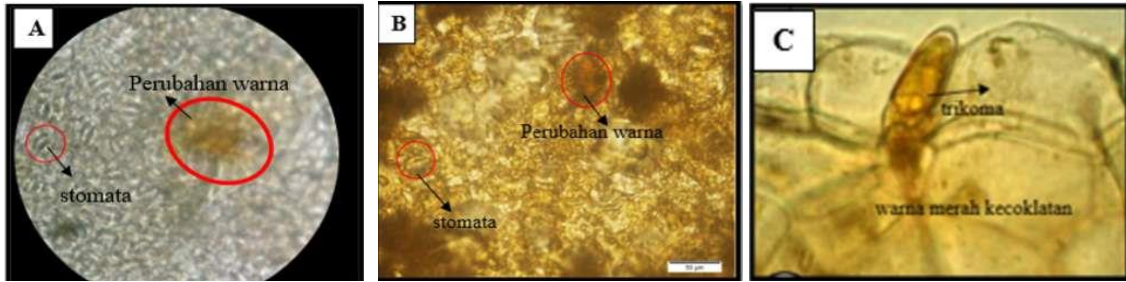
Senyawa Metabolit Sekunder	Reagen Pendeteksi	Perubahan Warna
Terpenoid	CuSO ₄ 5%	Kuning kecoklatan
Flavonoid	AlCl ₃ dalam etanol 85%	Kuning
Alkaloid	Reagen Wagner	Merah kecoklatan
Tannin	FeCl ₃ 10%	Coklat tua
Lipofil	Sudan III	Jingga
Fenol	FeCl ₃ 10 % + NaCO ₃	Hijau gelap



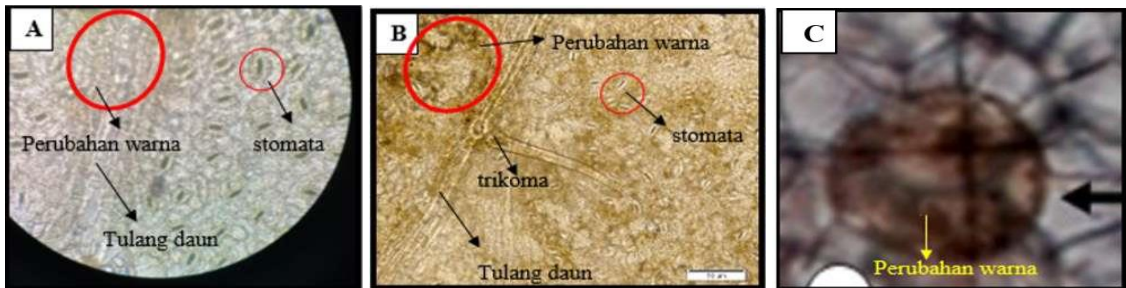
Gambar 1. Hasil uji senyawa *terpenoid* (A) Foto Mikrograf (Kontrol, Olympus CX 33 400x), (B) Foto Mikrograf (Olympus CX 33 400x), (C) Foto Mikrograf (Olympus DP73 400x dengan ukuran 5µm) (Dokumentasi Pribadi, 2020) dan (D) Foto Mikrograf senyawa *terpenoid* *Piper porphyrophyllum* (Rupa, 2015).



Gambar 2. Hasil uji senyawa *flavonoid* (A) Foto Mikrograf (Olympus CX 33 400x), (B) Foto Mikrograf (Olympus DP73 400x dengan ukuran 5µm) (Dokumentasi Pribadi, 2020) dan (C) Foto Mikrograf senyawa *flavonoid* daun tin (Anisa dkk., 2015).



Gambar 3. Hasil uji senyawa *alkaloid* (A) Foto Mikrograf (Olympus CX 33 400x), (B) Foto Mikrograf (Olympus DP73 400x dengan ukuran 5µm) (Dokumentasi Pribadi, 2020) dan (C) Foto Mikrograf senyawa *alkaloid* pada *Piper porphyrophyllum* (Rupa, 2015).



Gambar 4. Hasil uji senyawa *tanin* (A) Foto Mikrograf (Olympus CX 33 400x), (B) Foto Mikrograf (Olympus DP73 400x dengan ukuran 5µm) (Dokumentasi Pribadi, 2020) dan (C) Foto Mikrograf senyawa *tanin* pada *Curcuma aeruginosa* (Trimanto dkk., 2018).



Gambar 5. Hasil uji senyawa *lipofil* (A) Foto Mikrograf (Olympus CX 33 400x), (B) Foto Mikrograf (Olympus DP73 400x dengan ukuran 5µm) (Dokumentasi Pribadi, 2020) dan (C) Foto Mikrograf senyawa *lipofil* pada *Brugiera gymnirhiza* (Handayani, 2016).



Gambar 6. Hasil uji senyawa *fenol* (A) Foto Mikrograf (Olympus CX 33 400x), (B) Foto Mikrograf (Olympus DP73 400x dengan ukuran 5µm) (Dokumentasi Pribadi, 2020) dan (C) Foto Mikrograf senyawa *fenol* pada daun tin (Anisa dkk., 2015).

Berdasarkan hasil penelitian dari beberapa senyawa yang dideteksi masing-masing menunjukkan adanya perubahan warna pada jaringan daun. Analisis histokimia menunjukkan hasil positif pada semua senyawa yaitu pada analisis senyawa *terpenoid* ditandai dengan perubahan warna menjadi kuning kecoklatan, analisis senyawa *flavonoid* ditandai dengan perubahan warna menjadi kuning, analisis senyawa *alkaloid* ditandai dengan perubahan warna menjadi merah kecoklatan, analisis senyawa *tanin* ditandai dengan perubahan warna menjadi coklat tua, analisis senyawa *lipofil* ditandai dengan perubahan warna menjadi jingga dan analisis senyawa *fenol* ditandai dengan perubahan warna menjadi hijau gelap.

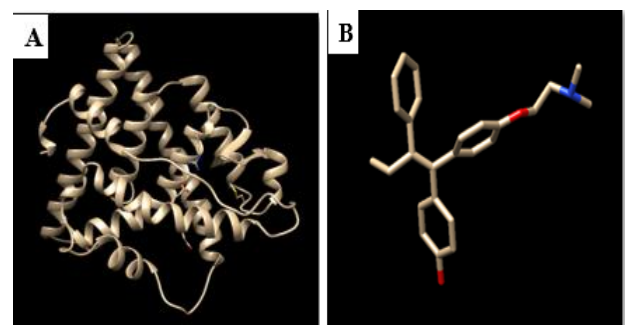
Hasil Penelusuran Senyawa Aktif dengan Program KNApSack

Setelah dilakukan analisis histokimia selanjutnya dianalisis untuk mengetahui turunan senyawanya. Turunan senyawa tersebut dapat dicari dengan menggunakan software KNApSack (<http://www.knapsackfamily.com/knapsackjsp/top.html>) dengan menuliskan nama spesies pada kotak pencarian. Senyawa pada tanaman kesambi yang didapat dari hasil penelusuran program KNApSack meliputi; *scopoletin* turunan dari *fenol*, (-)-*beta-sitosterol*, *betulin*, *betulinic acid*, *lupeol*, *lupeol asetat*, *schleicheol 1*, *schleicheol 2*, *schleicherastatin 1*, *schleicherastatin 2*, *schleicherastatin 3*, *schleicherastatin 4*, *schleicherastatin 5*, *schleicherastatin 6* dan *schleicherastatin 7* yang merupakan turunan dari *terpenoid*. Sedangkan untuk senyawa spesifik yang hanya terdapat pada daun kesambi saja yaitu *schleicheol 1*, *schleicheol 2*, *schleicherastatin 1*, *schleicherastatin 2*, *schleicherastatin 3*, *schleicherastatin 4*, *schleicherastatin 5*, *schleicherastatin 6* dan *schleicherastatin 7*. Hasil tersebut juga sejalan dengan literature Sipra (1986) yang menyatakan bahwa pada kulit batang dan daun kesambi (*Schleichera oleosa*) mengandung senyawa *scopoletin*, (-)-*beta-sitosterol*, *betulin*, *betulinic acid*, *lupeol*, *lupeol asetat*, *schleicheol 1*, *schleicheol 2*, *schleicherastatin 1*, *schleicherastatin 2*, *schleicherastatin 3*, *schleicherastatin 4*,

schleicherastatin 5, *schleicherastatin 6* dan *schleicherastatin 7*.

Senyawa yang telah diketahui kemudian dilihat bioaktifitasnya dan potensinya yang kemudian akan dilanjutkan pada proses *molecular docking* untuk mengetahui sejauh mana senyawa tersebut berikatan dengan protein uji. Bioaktifitas senyawa-senyawa tersebut dilihat dengan menggunakan software pass online yang salah satunya yaitu berpotensi sebagai antikanker. Selanjutnya dilakukan *molecular docking* bersama protein uji dengan kode PDB ID : 3ERT. Protein diunduh melalui software RCSB PDB dengan menggunakan format pdb untuk menyesuaikan dengan software yang akan dimasukkan setelahnya.

Protein target dengan Kode PDB:3ERT yang telah diunduh dipreparasi dengan menggunakan software Chimera 1.14 untuk memisahkan protein dengan native ligannya. Struktur protein 3ERT dan ligan asli yang sudah terpisah dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. (A) Struktur 3D *Reseptor estrogen* (PDB ID:3ERT) dan (B) ligan asli yang telah terpisah dari proteinnya (Dokumentasi Pribadi, 2020).

Ligan yang didocking dengan protein 3ERT yaitu 15 senyawa yang didapatkan dari data KNApSack dan diunduh dari program PubChem kemudian dipreparasi dengan menggunakan Chimera 1.14 untuk mengubah format dari bentuk sdf ke bentuk pdb agar bisa menyesuaikan dengan program yang digunakan. *Molecular docking* dilakukan dengan menggunakan software PyRx. Hasil yang diperoleh dari proses docking antara 15 senyawa dengan protein 3ERT berupa energi

ikatan dan nilai RMSD dan dapat dilihat pada Tabel 2.

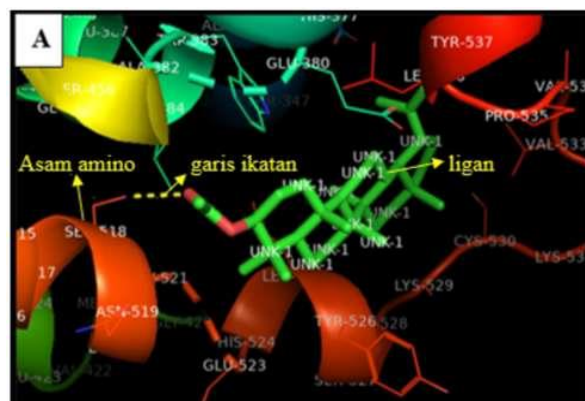
Tabel 2 Hasil Docking Senyawa Aktif Kesambi (*Schleichera oleosa*) dengan *Reseptor estrogen Alpha*

No	Nama Senyawa	RMSD l.b (Å)	RMSD l.b (Å)
1.	4 Hidroxytamoxifen (kontrol positif)	1.199	1.65
2.	Lupeol Acetat	1.588	2.219
3.	Schleicheol 1	1.603	2.234
4.	Betulinic acid	1.663	2.541
5.	Betulin	1.62	2.549
6.	Lupeol	1.663	2.705
7.	Scopoletin	2.254	2.709
8.	Schleicherastatin 3	2.196	3.078
9.	Schleicheol 2	2.126	3.207
10.	Beta-sitosterol	4.936	10.932
11.	Schleicherastatin 2	10.989	14.11
12.	Schleicherastatin 1	12.457	14.163
13.	Schleicherastatin 6	13.03	17.47
14.	Schleicherastatin 4	13.692	17.577
15.	Schleicherastatin 7	14.722	17.959
16.	Schleicherastatin 5	24.404	27.981

Nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD) adalah pengukuran dua pose dengan membandingkan posisi atom antara struktur eksperimental dengan struktur yang ditambatkan pada protein target. Semakin kecil nilai RMSD menunjukkan bahwa pose ligan semakin mendekati konformasi ligan asli. RMSD merupakan nilai penyimpangan antara satu konformasi ligan tambat dengan ligan x-ray. RMSD digunakan untuk menentukan apakah prediksi modus ikatan tersebut berhasil dan penting untuk validasi program docking. Batas atas RMSD (u.b) menyatakan kecocokan antara suatu atom pada salah satu konformasi dengan atom yang sama pada konformasi lainnya. Sedangkan batas bawah (l.b) menyatakan kecocokan antara suatu atom pada salah satu konformasi dengan atom dari unsur sejenis pada konformasi lainnya (Nauli, 2014).

Berdasarkan hasil docking dari 15 senyawa dengan protein 3ERT diperoleh *Root Mean Square Deviation* (RMSD) yang bermacam-macam. Diduga bahwa *lupeol asetat* adalah senyawa yang paling efektif diantara 15 senyawa sebagai kandidat obat kanker payudara dengan nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD) paling mendekati yaitu l.b 1.588 Å dan

u.b 2.219 Å. Nilai tersebut bisa dikatakan valid karena berada di bawah 2 Å (Prasojo dkk.,2010). Interaksi antara *lupeol asetat* dengan *reseptor estrogen Alpha* dapat dilihat seperti pada Gambar 8.



Gambar 8. Visualisasi Interaksi 3D antara *lupeol asetat* dengan Protein 3ERT (Dokumentasi Pribadi, 2020). Interaksi berupa ikatan hidrogen ditandai dengan warna kuning. *Lupeol asetat* (ligan) : hijau.

Adanya ikatan yang terjadi antara reseptor dengan ligan menunjukkan bahwa keduanya bisa menghasilkan suatu interaksi. Interaksi yang dihasilkan salah satunya berupa ikatan hidrogen dengan residu asam amino.

Kemampuan ligan berikatan dengan reseptor tersebut diharapkan dapat memberikan efek dalam menghambat proliferasi sel kanker. *Lupeol acetate* merupakan senyawa yang paling baik berdasarkan hasil docking. Akan tetapi *lupeol aasetat* masih lebih rendah jika dibandingkan dengan *4-hidroksitamoksifen* selaku salah satu terapi lini pertama untuk kanker payudara. Inhibisi pada ER α diketahui dapat memperlambat proliferasi sel kanker payudara.

Lupeol aasetat merupakan senyawa aktif turunan dari *triterpenoid* yang banyak terkandung dalam tumbuhan tingkat tinggi dan memiliki beberapa manfaat biologis antara lain sebagai anti kanker, anti virus, anti radang dan penghilang rasa sakit (Syafi'i, 2003).

KESIMPULAN

Profil histokimia yang diamati pada bagian abaksial daun kesambi (*Schleichera oleosa*) menunjukkan hasil positif adanya senyawa *terpenoid* (warna kuning kecoklatan dengan CuSO₄), *alkaloid* (warna merah kecoklatan dengan reagen wagner), *flavonoid* (warna kuning dengan AlCl₃), *fenol* (warna hijau gelap dengan FeCl₃+NaCO₃), *tanin* (warna coklat tua dengan FeCl₃) dan *lipofil* (warna jingga dengan Sudan III).

Berdasarkan *molecular docking analysis* menunjukkan bahwa *lupeol aasetat* adalah senyawa yang paling efektif karena dapat berikatan dengan *reseptor estrogen Alpha* dengan hasil nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD) paling baik yaitu l.b 1.588 Å dan u.b 2.219 Å. *Reseptor estrogen Alpha* merupakan reseptor yang berperan dalam penyakit kanker payudara. Sehingga kemampuan *lupeol aasetat* yang baik dalam mengikat ER α diharapkan mampu menghambat proliferasi sel kanker.

DAFTAR PUSTAKA

Andriya, N. 2016. Analisis Struktur Anatomi dan Histokimia Tiga Varietas Kumis kucing (*Orthosiphon aristatus* (Blume) Miq) (Skripsi), Bogor: Institut Pertanian Bogor.
Anisa K., T. Rahayu, dan A. Hayati. 2018. Profil metabolit sekunder daun Tin (*Ficus carica*) melalui analisis histokimia dan

deteksi flavonoid dengan metode kromatografi lapis tipis (KLT), E-Jurnal ilmiah SAINS ALAMI, 1(1): 104-110.

BPOM (Badan Pengawas Obat dan Makanan). 2004. Keputusan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Nomor. HK.00.05.4.2411 Tahun 2004 tentang Ketentuan Pokok Pengelompokan dan Penandaan Obat Bahan Alam Indonesia, Jakarta.

Gao H., J. Nishida, S. Saito, and J. Kawabata. 2007. "Effect of 5,6,7-Trihydroxyflavones on Tyrosinase". *Molecules* 12(1): 86-97.

George, R. P., A. Numata, G. M. Cragg, D. L. Herald, T. Takada, C. Iwamoto, R. Riesen, J. M. Schmidt, D. L. Doubek, and S. Goswami 2000. *Isolation and Structures of Schleicherastatins 1-7 and from the Teak Forest Medicinal Tree Schleichera oleosa*, *Journal of Natural Product*, 63(1): 72.

Handayani, S. 2016. Analisa histokimia dan kimia terhadap hipokotil *Bruguera gymnorhiza* (L) Lamk selama fase matang (mature), *Jurnal Rekapangan*, 11(2): 72-80.

Hanifah, L. 2020. Pengaruh Ekstrak Daun Kesambi (*Schleichera oleosa*) terhadap Proliferasi Sel Kambing Granulosa (*Caprus aegagrus Hircus*) secara *In Vitro*, Departemen Biota 2020. 6(2)

Hanum, I. F. 1997. *Plant Resources of South-East Asia*. [ed.] L.J.G. van der Maesen. Vol. 11. Leiden : Backhuys Publishers.

Maghfiroh, L., T. Rahayu, dan A. Hayati. 2018. Profil Histokimia dan Analisis *In Silico* Senyawa Metabolit Sekunder pada Daun Zaitun (*Olea europaea* L.), e-Jurnal Ilmiah SAINS ALAMI, 1(1): 74-78.

Meshram, N., M. Ojha, A. Singh, A. Alexander, and M. Sharma. 2015. *Significance and traditional medicinal properties of Schleichera oleosa*, *Asian Journal of Pharmaceutical Research*, 5(1): 61-64.

Montazeri, A. 2008. *Health-related quality of life in breast cancer patients: A bibliographic review of the literature from 1974 to 2007*, *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, 27(32): 1-31.

- Nauli, T. 2014. Penentuan sisi aktif selulase *Aspergillus niger* dengan docking ligan. *JKTI* 16.
- Novelina, S., A. S. Satyaningtjas, S. Agungpriyono, dan H. Setijanto¹, Koeswinarning Sigit. 2010. "Morfologi dan Histokimia Kelenjar Mandibularis Walet linchi (*Collocalia linchi*) Selama Satu Musim Berbiak dan Bersarang, *Jurnal Kedokteran Hewan*, 4(1):194-202.
- Prasojo S.L., F.A. Hartanto, N. Yuniarti, Z. Ikawati, dan E.P. Istyastono. 2010. *Docking of 1-Phenylsulfonamide-3Trifluoromethyl-5-parabromophenyl-phyrazol to cyclooxygenase-2 using PLANTS, Indonesian Journal of Chemistry*, 10(3):348-51.
- Pratama, M.R.F. 2016. Studi *Molecular docking* Senyawa Turunan Kuinolin terhadap *Reseptor estrogen- α* . Program Studi Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Palangkaraya : Kalimantan Tengah, *Jurnal Surya Medika*, 2(1).1-7
- Rupa, D. 2015. Identifikasi Struktur Sekretori dan Analisis Histokimia dan Uji Fitokimia Tumbuhan Obat Anti-infeksi di Kawasan Taman Nasional Bukit Dua belas Jambi (TESIS). Bogor: Institut Pertanian. Bogor.
- Salni, H. Marisa, dan R. W. Mukti. 2011. Isolasi Senyawa Antibakteri Dari Daun Jengkol (*Pithecolobium lobatum* Benth) dan Penentuan Nilai KHM-nya, *Jurnal Penelitian Sains, Universitas Sriwijaya*, 14(1): 38-41
- Situmeang, B., W. Nuraeni, A.M. Ibrahim, dan S.S. Silaban. 2016. *Analysis of secondary metabolite compounds from leaves extract kesambi (*Schleichera oleosa*) and antioxidant activity test*, *Jurnal Pendidikan Kimia*. 8(3): 164-168.
- Syafi'i, I. 2003. Studi Kemoselektivitas Oksidasi Lupeol oleh NaOCl (Skripsi) Surabaya: Jurusan Kimia Universitas Airlangga.
- Trimanto, D. Dini, dan I. Serafinah. 2018. Morfologi, Anatomi dan Uji Histokimia Rimpang *Curcuma aeruginosa* Roxb, *Curcuma Longa* L. dan *Curcuma heyneana* Valeton dan Zijp, *Jurnal Ilmu-Ilmu Hayati*, 17(2): 123-133.