

**ANALISIS AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAUN
MIRACLE FRUIT (*Synsepalum dulcificum*) SECARA IN-VITRO DAN IN-
SILICO**

TESIS

**Disusun:
Wike Adhi Anggono
NIM. 210602210001**



**PROGRAM STUDI MAGISTER BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2024**

HALAMAN JUDUL

**ANALISIS AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAUN
MIRACLE FRUIT (*Synsepalum dulcificum*) SECARA IN-VITRO DAN IN-
SILICO**

TESIS

**Disusun:
Wike Adhi Anggono
NIM. 210602210001**

**diajukan Kepada:
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam
Memperoleh Gelar Magister Sains (M.Si)**

**PROGRAM STUDI MAGISTER BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2024**

HALAMAN PERSETUJUAN

**ANALISIS AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAUN
MIRACLE FRUIT (*Synsepalum dulcificum*) SECARA IN-VITRO DAN IN-
SILICO**

TESIS

**Disusun oleh:
Wike Adhi Anggono
NIM. 210602210001**

**Telah diperiksa dan disetujui untuk diuji
tanggal:**

Pembimbing I

Prof. Dr. Retno Susilowati, M.Si
NIP. 19671113 199402 2 001

Pembimbing II

Dr. Akyunul Jannah, S.Si, M.P
NIP. 19750410 200501 2 009

Mengetahui
Kemahasiswaan program studi magister biologi



Prof. Dr. drh. H. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si
NIP. 19710910200003 2 001

HALAMAN PENGESAHAN
ANALISIS AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAUN
MIRACLE FRUIT (*Synsepalum dulcificum*) SECARA IN-VITRO DAN
IN-SILICO

TESIS

Disusun oleh:
Wike Adhi Anggono
NIM. 210602210001

telah dipertahankan
di depan dewan penguji tesis dan dinyatakan diterima sebagai salah satu
persyaratan untuk memperoleh gelar Magister Sains (M.Si.)
Tanggal: 21 Mei 2024

Penguji Utama : Prof., Dr. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si.
NIP. 19710910200003 2 001

(.....)

Ketua Penguji : Maharani Retna Duhita, Ph.D. Med.Sc.
NIP. 19880621202012 2 003

(.....)

Penguji : Prof. Dr. Retno Susilowati, M.Si.
NIP. 19671113 199402 2 001

(.....)

Sekretaris Penguji : Dr. Akyunul Jannah, S.Si, M.P.
NIP. 19750410 200501 2 009

(.....)

Mengesahkan

Ketua Program Studi Magister Biologi



(.....)

Prof. Dr. Arif, H. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si.
NIP. 19710910200003 2 001

MOTTO

Ingat Allah SWT sebagai penolongku

Ingat Rasulullah SAW sebagai panutanku

Ingat Guru sebagai inspirasiku

Ingat keluarga sebagai sumber energiku

HALAMAN PERSEMBAHAN

Puji Syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT, yang telah memberikan kesehatan, rahmat dan hidayah, sehingga penulis masih diberikan kesempatan untuk menyelesaikan tesis ini, sebagai salah satu syarat untuk mendapatkan gelar magister. Walaupun jauh dari kata sempurna, namun penulis bangga telah mencapai pada titik ini, yang akhirnya tesis ini bisa selesai di waktu yang tepat.

Tugas akhir ini saya persembahkan untuk:

1. Almarhum kedua orang tuaku yang mendidiku.
2. 3 saudaraku yang selalu mendukung mulai dari saya kecil.
3. Istri dan anak saya yang saya sayangi.
4. Dosen pembimbing yang selalu sabar dan memberi motivasi kepada saya.
5. Semua teman seperjuangan Magister Biologi UIN Maliki Malang.

HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Wike Adhi Anggono
NIM : 210602210001
Program Studi : Magister Biologi
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Penelitian : Analisis aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun *miracle fruit (Synsepalum dulcificum)* secara in-vitro dan in-silico

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa tesis yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan tesis ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi akademik maupun hukum atas perbuatan tersebut.

Malang, 21 Mei 2024
Yang membuat pernyataan,



Wike Adhi Anggono
NIM. 210602210001

PEDOMAN PENGGUNAAN TESIS

Tesis ini tidak dipublikasikan namun terbuka untuk umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada penulis. Daftar Pustaka diperkenankan untuk dicatat, tetapi pengutipan hanya dapat dilakukan seizin penulis dan harus disertai kebiasaan ilmiah untuk menyebutkannya.

ANALISIS AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAUN *MIRACLE FRUIT* (*Synsepalum dulcificum*) SECARA IN-VITRO DAN IN-SILICO

Wike Adhi Anggono, Retno Susilowati, Akyunul Jannah

Program Studi Magister Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi,
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang

ABSTRAK

Synsepalum dulcificum memiliki banyak senyawa bioaktif sebagai antioksidan. Selain buahnya, daun *Synsepalum dulcificum* juga memiliki aktivitas antioksidan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol daun *Synsepalum dulcificum* secara *in-vitro* dan *in-silico*. Uji aktivitas antioksidan secara *in vitro* dilakukan menggunakan metode DPPH, identifikasi senyawa bioaktif dilakukan menggunakan uji LC-MS, sedangkan uji *in silico* dilakukan dengan *docking molecular*. Hasil dari uji DPPH menunjukkan nilai IC₅₀ sebesar 11,4108 yang dikategorikan sangat kuat. Hasil uji LC-MS menunjukkan bahwa terdapat 14 senyawa yang teridentifikasi 9 dari golongan Flavonoid, dan 5 dari golongan saponin. Hasil prediksi *docking molecular* menunjukkan bahwa 3 senyawa aktif yang diuji memiliki residu asam amino yang mirip dengan standar ligan terhadap reseptor AR, Sementara itu pada reseptor COX-2 dan NOX hanya 2 senyawa yang memiliki kesamaan residu asam amino yang sama dengan standar ligan. Hal ini menunjukkan ekstrak etanol daun *Synsepalum dulcificum* memiliki potensi yang tinggi sebagai antioksidan. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun *Synsepalum dulcificum* memiliki aktivitas antioksidan yang kuat secara *in vitro* dan *in silico*.

Kata kunci: aktivitas antioksidan, daun *Synsepalum dulcificum*, *In-vitro*, *in-silico*, metode DPPH.

***ANALYSIS OF ANTIOXIDANT ACTIVITY OF MIRACLE FRUIT LEAF
EXTRACT (*Synsepalum dulcificum*) IN-VITRO AND IN-SILICO***

Wike Adhi Anggono, Retno Susilowati, Akyunul Jannah

Biology Master's Department, Faculty of Science and Technology,
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang

ABSTRACT

Synsepalum dulcificum has many bioactive compounds as antioxidants. Apart from the fruit, *Synsepalum dulcificum* leaves also have antioxidant activity. The aim of this research was to determine the antioxidant activity of the ethanol extract of *Synsepalum dulcificum* leaves in-vitro and in-silico. The in vitro antioxidant activity test was carried out using the DPPH method, identification of bioactive compounds was carried out using the LC-MS test, while the in silico test was carried out using molecular docking. The results of the DPPH test show an IC50 value of 11.4108 which is categorized as very strong. The LC-MS test results showed that there were 14 compounds identified, 9 from the flavonoid group, and 5 from the saponin group. The results of molecular docking predictions show that the 3 active compounds tested have amino acid residues that are similar to the standard ligands for the AR receptor. Meanwhile, for the COX-2 and NOX receptors, only 2 compounds have the same amino acid residues as the standard ligands. This shows that the ethanol extract of *Synsepalum dulcificum* leaves has high potential as an antioxidant. The conclusion of this research is that the ethanol extract of *Synsepalum dulcificum* leaves has strong antioxidant activity in vitro and in silico.

Keywords: antioxidant activity, *Synsepalum dulcificum* leaves, In-vitro, in-silico, DPPH method.

تحليل نشاط مضاد للأكسدة لمستخلص إيثانول أوراق الفاكهة العجبية (*Synsepalum dulcificum*)
بشكل in-vitro و in-silico.

Wike Adhi Anggono, Retno Susilowati, Akyunul Jannah

قسم ماجستير الأحياء بكلية العلوم والتكنولوجيا
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang

ملخص البحث

تحتوي *Synsepalum dulcificum* على العديد من المركبات النشطة بيولوجيًا كمضادات الأكسدة. بالإضافة إلى ثمارها، فإن أوراق *Synsepalum dulcificum* تظهر أيضًا نشاطًا مضادًا للأكسدة. هدف هذه الدراسة هو تحديد نشاط مضاد للأكسدة لمستخلص الإيثانول من أوراق *Synsepalum dulcificum* بشكل in-vitro و in-silico. تم إجراء اختبار نشاط مضاد للأكسدة in vitro باستخدام طريقة DPPH، وتم تحديد المركبات النشطة باستخدام اختبار LC-MS في حين تم إجراء اختبار in silico باستخدام التوصيل الجزيئي. أظهرت نتائج اختبار DPPH قيمة IC50 تبلغ 11.4108 والتي تصنف بأنها قوية للغاية. كشفت نتائج اختبار LC-MS وجود 14 مركبًا تم التعرف عليها، 9 منها من فصيلة الفلافونويد، و 5 من فصيلة الصابونين. أظهرت نتائج التنبؤ بالتوصيل الجزيئي أن 3 من المركبات النشطة المختبرة لديها بقايا من حمض أميني مشابهة لـ مركب المحدد كمعيار ليجان مقابل مستقبل AR، بينما لدى مستقبل COX-2 و NOX كانت هناك فقط 2 مركبات تظهر تشابهًا في بقايا الأحماض الأمينية مع المعيار ليجان. يشير ذلك إلى أن مستخلص الإيثانول من أوراق *Synsepalum dulcificum* لديه إمكانيات عالية كمضاد للأكسدة. يدل ذلك على أن مستخلص الإيثانول من أوراق *Synsepalum dulcificum* يظهر نشاطًا قويًا كمضاد للأكسدة بشكل in vitro و in silico.

الكلمات الدالة: النشاط المضاد للأكسدة، أوراق *Synsepalum dulcificum* في المختبر، في السيليكو، طريقة DPPH.

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr. Wb. Bismillahirrohmaanirrohiim, segala puji bagi Allah Tuhan semesta alam karena atas berkat dan rahmat-Nya penulis dapat menyelesaikan tesis yang berjudul "Analisis aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun *miracle fruit (Synsepalum dulcificum)* secara in-vitro dan in-silico". Shalawat dan salam semoga tercurahkan kepada junjungan Nabi Besar Muhammad SAW. yang telah menegakkan agama Islam hingga akhirul zaman, Aamiin.

Berkat bimbingan dan dorongan dari berbagai pihak maka penulis mengucapkan terima kasih yang tak terkira khususnya kepada:

1. Prof. Dr. H.M. Zainuddin, M.A selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. Sri Hariani, M.Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Prof., Dr., drh., Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si. selaku Ketua Program Studi Magister Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Prof., Dr. Retno Susilowati, M.Si dan Dr. Akyunul Jannah, S.Si, M.P selaku Pembimbing I dan II, yang telah membimbing penulis dengan penuh kesabaran dan keikhlasan sehingga tesis ini dapat terselesaikan.
5. Seluruh bapak/ibu dosen dan laboran di Program Studi Magister Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah memberikan ilmunya, dan juga memfasilitasi penulis dalam penelitian di laboratorium.
6. Almarhum kedua orang tua saya, 3 kakak kandung dan ipar saya, yang selalu menyayangi saya sejak lahir hingga sekarang.
7. Kepada istri saya tercinta yang selalu memberikan motivasi kepada saya.
8. Kepada anak-anak saya yang selalu membuat saya tertawa.
9. Teman-teman Program Studi Magister Biologi, yang telah berjuang bersama menyelesaikan studi Magister Biologi.

Semoga amal baik yang telah diberikan kepada penulis mendapat balasan dari Allah SWT. Akhirnya penulis berharap, semoga tesis ini bermanfaat bagi kita semua. Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Malang, 21 Mei 2024


Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
MOTTO	v
HALAMAN PERSEMBAHAN	vi
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	vii
PEDOMAN PENGGUNAAN TESIS	viii
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
ملخص ال بحث	xi
KATA PENGANTAR	xii
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
DAFTAR SINGKATAN	xviii
BAB I PENDAHULUAN	1
4.1. Latar belakang	1
4.2. Rumusan masalah	7
4.3. Tujuan penelitian	7
4.4. Manfaat penelitian	7
4.5. Batasan masalah	8
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	9
2.1. Penyakit dan obat menurut Islam	9
2.2. Radikal bebas	11
2.3. Antioksidan	14
2.4. Bentuk antioksidan	17
2.5. Mekanisme antioksidan	18
2.6. Senyawa-senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan	18
2.7. Sumber antioksidan	22
2.8. <i>Synsepalum dulcificum</i>	24
2.9. Potensi daun <i>Synsepalum dulcificum</i> sebagai antioksidan	27
2.10. Uji antioksidan dengan metode DPPH	29
2.11. Analisis senyawa dengan metode LC-MS	31
2.12. Analisa aktivitas antioksidan secara in-silico	33
2.12.2. Ligan	35
2.12.2. Reseptor	36
2.13. Kerangka konsep penelitian	38
BAB III METODE PENELITIAN	40
3.1. Waktu dan tempat penelitian	40
3.2. Alat dan bahan	40
3.3. Preparasi sampel	40

3.4. Ekstrak sampel	41
3.5. Prosedur analisa antioksidan metode DPPH	41
3.6. Prosedur analisis senyawa dengan LC-MS	43
3.6.1. Preparasi standar	43
3.6.2. Preparasi sampel	44
3.6.3. Pengukuran instrumen	44
3.6.4. Screening fisikokimia Lipinski	45
3.6.5. Interpretasi hasil	45
3.7. Prosedur analisa aktivitas antioksidan secara in-silico	46
3.7.1. Persiapan ligan	46
3.7.2. Prediksi dan persiapan reseptor	46
3.7.3. Docking molecular	47
3.8. Analisis data	48
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	49
4.1. Analisa aktivitas antioksidan metode DPPH	49
4.2. Analisa hasil LC-MS	51
4.3. Analisis senyawa aktif dengan intensitas tertinggi	53
4.4. Screening aktivitas antioksidan	55
4.5. Docking molecular	56
4.5.1. Screening dengan aturan lipinski	56
4.5.2. Ligan dan reseptor target	58
4.5.3. Prediksi protein target	60
4.5.4. Interaksi senyawa aktif dengan reseptor NOX	60
4.5.5. Interaksi senyawa aktif dengan reseptor COX-2	62
4.5.6. Interaksi senyawa aktif dengan reseptor AR	64
4.6. Identifikasi senyawa aktif terhadap reseptor	65
BAB V PENUTUP	67
5.1. Kesimpulan	67
5.2. Saran	67
DAFTAR PUSTAKA	68
LAMPIRAN	80

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1	Klasifikasi taksonomi tanaman miracle fruit (<i>Synsepalum dulcificum</i>)... 26
2.2	Phytochemical compositions of extracts of <i>Synsepalum dulcificum</i> leaf and stem 29
3.1	Kriteria kekuatan sampel untuk uji antioksidan ekstrak etanol daun <i>Synsepalum dulcificum</i> 43
4.1	Hasil analisa aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun <i>Synsepalum dulcificum</i> 47
4.2	Hasil analisis senyawa aktif dengan metode LC-MS 54
4.3	Data senyawa yang memiliki nilai intensitas tertinggi 56
4.4	Screening aktivitas antioksidan 52
4.5	Screening aktivitas sifat fisiko kimia dengan lipinski 58
4.6	Screening prediksi protein target 60
4.7	Hasil prediksi protein target 61
4.8	Docking molecular ligan dengan reseptor NOX 62
4.9	Docking molecular ligan dengan reseptor COX 2 64
4.10	Docking molecular ligan dengan reseptor AR 66
4.11	Identifikasi senyawa aktif terhadap reseptor 67

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1. Struktur kimia senyawa antioksidan	20
2.2. Tanaman <i>Synsepalum dulcificum</i>	24
2.3. Buah <i>Synsepalum dulcificum</i>	25
2.4. Daun <i>Synsepalum dulcificum</i>	25
2.5. Struktur kimia senyawa flavonoid dan polifenol	28
2.6. Struktur kimia DPPH	31
2.7. Visual konsep uji LC-MS	33
2.8. Interaksi ligan antara (a) Rutin dengan HPA; (b) Kaempferol-3-rutinoside dengan HPA	36
2.9. Kerangka konsep penelitian	39
4.1. Diagram persamaan regresi linear DPPH	51
4.2. Reaksi DPPH dengan senyawa antioksidan	52
4.3. a) BPI Plot ekstrak daun <i>Synsepalum dulcificum</i> dengan ESI mode positif [+H]; b) BPI Plot ekstrak daun <i>Synsepalum dulcificum</i> dengan ESI mode negatif [-H]	53
4.4. Component Plot: a) menggunakan ion positif (+); b) menggunakan ion negatif (-)	55
4.5. Jaringan antara protein target antioksidan dengan ligan	59
4.6. Struktur 2D interaksi senyawa aktif dengan reseptor NOX	62
4.7. Struktur 2D interaksi senyawa aktif dengan reseptor COX-2	64
4.8. Struktur 2D interaksi senyawa aktif dengan reseptor AR	66

DAFTAR LAMPIRAN

Gambar	Halaman
Lampiran 1 Uji DPPH	80
Lampiran 2 Analisa Data ANOVA	81
Lampiran 3 Plot LC-MS	82
Lampiran 4 Analisa Senyawa kimia dengan LC-MS	84
Lampiran 5 Prediksi target protein	94
Lampiran 6 Dokumentasi Penelitian	105
Lampiran 7 Lembar konsultasi pembimbing	106

DAFTAR SINGKATAN

Ala	Alanin
Arg	Arginin
Asn	Asparagine
Asp	Aspartat
Cys	Sistein
Gln	Glutamine
Glu	Glutamat
Gly	Glisin
His	Histidin
Ile	Isoleusin
Leu	Leusin
Lys	Lisin
Met	Metionin
Phe	Fenilalanin
Pro	Prolin
Gln	Glutamine
Ser	Serin
Thr	Treonin
Trp	Triptofan
Tyr	Tirosin
LCMS	Liquid Chromatography-Mass Spectrometry
ROS	Reactive Oxygen Species
RNS	Reactive Nitrogen Species
DPPH	2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
NOX	NADPH oxidase (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase)
PTK	Protein Tyrosine Kinase
SOD	Superoksida dismutase
COX-2	cyclooxygenase-2
AR	Aldose Reductase
PDB	Protein Data Bank

BAB I

PENDAHULUAN

4.1. Latar belakang

Penyakit dalam pandangan Islam dipandang sebagai ujian dan pengingat bagi umat manusia akan ketergantungannya kepada Allah SWT. Rasulullah SAW mengajarkan umatnya untuk mencari kesembuhan dengan menggunakan pengobatan seperti memanfaatkan ilmu kedokteran dan pengobatan herbal, sekaligus tetap berserah diri kepada Allah sebagai penentu kesembuhan akhir. Islam memberikan harapan bahwa kesembuhan dan pemulihan dari penyakit datang dari Allah, dan dengan keyakinan serta doa yang kuat, manusia dapat meraih kesembuhan dan kesehatan yang baik. Sesuai dengan sabda Nabi Muhammad SAW:

عن جابر بن عبد الله لِكُلِّ دَاءٍ دَوَاءٌ، فَإِذَا أَصَابَ الدَّوَاءُ الدَّاءَ، بَرَأَ بِإِذْنِ اللَّهِ عَزَّ وَجَلَّ
Artinya: Setiap penyakit pasti memiliki obat. Bila sebuah obat sesuai dengan penyakitnya maka dia akan sembuh dengan seizin Allah Subhanahu wa Ta'ala (HR. Muslim).

Hadits di atas mengisyaratkan diizinkannya seorang Muslim mengobati penyakit yang dideritanya, karena setiap penyakit pasti ada obatnya (Al-Kaheel, 2022). Jika obat yang digunakan tepat mengenai sumber penyakit, maka dengan izin Allah SWT penyakit tersebut akan hilang dan orang yang sakit akan mendapatkan kesembuhan (Ihsan, 2016).

Salah satu penyebab penyakit adalah radikal bebas yaitu molekul yang reaktif karena memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan (Husain & Kumar, 2012). Elektron yang tidak berpasangan menyebabkannya menjadi tidak stabil sehingga molekul ini dapat merusak sel dan jaringan tubuh melalui reaksi

kimia dengan senyawa lain, termasuk protein, asam nukleat, dan lipid (Phaniendra *et al.*, 2015).

Radikal bebas memiliki obat penangkal yang biasa disebut antioksidan. Antioksidan berperan penting sebagai penangkal radikal bebas dalam tubuh. Antioksidan bekerja dengan cara menghentikan reaksi berantai radikal bebas dan melindungi sel-sel tubuh dari kerusakan serta memperbaiki jaringan tubuh yang rusak. Menurut Mehta & Gowder (2015) antioksidan mampu menangkap dan menetralkan radikal bebas, sehingga mencegah kerusakan oksidatif yang dapat terjadi pada molekul biologis seperti protein, lipid, dan DNA.

Berdasarkan mekanismenya antioksidan diklasifikasikan menjadi 3 golongan yaitu primer, sekunder, dan tersier. Antioksidan pemecah rantai disebut antioksidan primer, yang bekerja dengan cara menangkap spesies radikal, mengubahnya menjadi radikal yang lebih stabil atau spesies non-radikal (Pisoschi *et al.*, 2021). Antioksidan sekunder memadamkan oksigen singlet, menguraikan peroksida, mengkelat ion logam prooksidatif, dan menghambat enzim oksidatif (Pisoschi & Pop, 2015), sedangkan antioksidan yang bekerja dengan mekanisme mengobati kerusakan akibat radikal bebas disebut antioksidan tersier (Mehta & Gowder, 2015).

Terdapat beberapa metode analisis yang umum digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan. Beberapa metode analisis antioksidan yang sering digunakan adalah DPPH, ABTS, FRAP, ORAC, dan TPC (Ma *et al.*, 2011). Dari sekian metode analisis tersebut metode yang sering digunakan adalah metode DPPH (Carmona-Jiménez *et al.*, 2014). Sebuah penelitian yang dilakukan oleh Karagöz *et al.* (2015) mengevaluasi aktivitas antioksidan dari berbagai jenis ekstrak

tumbuhan menggunakan metode DPPH menunjukkan bahwa metode DPPH efektif dalam mengidentifikasi aktivitas antioksidan dari ekstrak tumbuhan, dan memberikan data yang konsisten dengan aktivitas antioksidan.

Metode yang digunakan untuk mengetahui senyawa aktif yang terkandung dalam sampel, maka salah satu yang sering digunakan dalam penelitian adalah uji LC-MS. Uji LC-MS (*Liquid Chromatography-Mass Spectrometry*) adalah teknik analisis yang kuat dalam dunia kimia analitik dan biokimia. Teknik ini menggabungkan dua pendekatan analisis yang sangat sensitif dan selektif: kromatografi cair dan spektrometri massa (López-Fernández *et al.*, 2020). LC-MS memungkinkan pemisahan dan identifikasi senyawa dalam campuran kompleks dengan presisi tinggi (Blaženović *et al.*, 2018). Kelebihan teknik ini adalah kemampuannya untuk mengidentifikasi senyawa berdasarkan massa molekulnya, serta memberikan informasi mengenai struktur dan komposisi molekuler (Christianson *et al.*, 2013).

Analisa antioksidan juga dapat dilakukan dengan penerapan bioinformatika. Analisis aktivitas antioksidan secara bioinformatika adalah pendekatan yang menggunakan teknik komputasi dan analisis data untuk memprediksi, memodelkan, dan memahami aktivitas antioksidan senyawa secara *in silico* (Tu *et al.*, 2018). Metode ini melibatkan penggunaan perangkat lunak dan algoritma khusus untuk menganalisis struktur molekul dan berbagai parameter yang terkait dengan aktivitas antioksidan (Caccia *et al.*, 2013).

Docking molekuler adalah metode yang digunakan dalam bidang ilmu bioinformatika untuk memprediksi interaksi antara dua molekul, biasanya antara protein dan ligan (Li *et al.*, 2019). Protein didapatkan dari data base Protein Data

Bank (PDB), sedangkan ligan didapatkan dari data base PubChem. Proses docking memungkinkan para ilmuwan untuk memodelkan bagaimana molekul-molekul tersebut berinteraksi secara spasial dan kimiawi, membantu dalam pemahaman tentang mekanisme kerja obat dan pengembangan obat baru (Pinzi & Rastelli, 2019).

Beberapa protein target yang sering digunakan untuk docking molekuler untuk analisis antioksidan diantaranya adalah NADPH Oxidase (NOX) (Guzik & Harrison, 2006), COX-2 (cyclooxygenase-2) (Candelario-Jalil et al., 2003), AR (Aldose reductase) (Hao et al., 2017). Reseptor ini terlibat dalam respons seluler terhadap stres oksidatif melalui mekanisme antioksidan sekunder. Antioksidan sekunder bekerja melalui mekanisme pemadam oksigen tunggal, pengurai peroksida, pengkelat logam, penghambat enzim yang terlibat dalam stress oksidatif, atau penyerap radiasi UV (Pisoschi & Pop, 2015).

NADPH oxidase merupakan enzim yang mengkatalisis reduksi molekul oksigen menggunakan NADPH sebagai donor elektron, dan menghasilkan radikal superoksida (O_2^-). NADPH oxidase adalah sumber utama ROS (reactive oxygen species) (Guzik & Harrison, 2006). COX-2 adalah enzim yang sering dikaitkan dengan antiinflamasi, namun dalam konteks stres oksidatif atau kondisi patologis tertentu, aktivitas COX-2 dapat berkontribusi pada pembentukan radikal bebas atau meningkatkan stres oksidatif dalam sel-sel. COX-2 dapat menjadi lebih aktif atau terinduksi dalam kondisi stres oksidatif, di mana peningkatan kadar ROS dapat memodulasi aktivitas enzim. Aktivasi COX-2 dalam konteks inflamasi dapat menyebabkan peningkatan dalam produksi radikal bebas dan stres oksidatif (Candelario-Jalil *et al.*, 2003). Aldose reductase (AR) adalah enzim yang

mengkatalisis langkah pertama dalam jalur poliol, yang mengubah glukosa menjadi sorbitol. AR memainkan peran penting dalam jalur poliol, yang dapat menyebabkan komplikasi diabetes (Hao *et al.*, 2017).

Antioksidan banyak terdapat pada tanaman herbal (Saad *et al.*, 2015). Tanaman herbal telah digunakan sejak zaman dahulu sebagai pengobatan alternatif untuk berbagai penyakit (Syaputri *et al.*, 2021). Salah satu dari sekian banyak tanaman yang mengandung antioksidan adalah *Synsepalum dulcificum*. *Synsepalum dulcificum* yang lebih dikenal dengan nama buah ajaib atau *miracle fruit* dalam bahasa Inggris, adalah tumbuhan yang berasal dari Afrika Barat (Tchokponhoué *et al.*, 2021). Tanaman ini tumbuh di daerah tropis namun masih sangat jarang diketahui oleh masyarakat, sehingga memiliki potensi yang tinggi untuk dibudidayakan. Meskipun tergolong tanaman langka tanaman ini sudah mulai dibudidayakan di daerah Indonesia di provinsi seperti di Jawa Barat, Sumatera Utara, Nusa Tenggara Barat, Sulawesi Selatan (Karmila, 2016).

Tanaman *Synsepalum dulcificum* telah lama digunakan sebagai obat herbal untuk berbagai macam kondisi kesehatan (Shi *et al.*, 2016). Kandungan miraculin pada buah ini dapat mempengaruhi rasa asam dan pahit pada makanan dan minuman menjadi manis (Yang *et al.*, 2022). Hal ini membuat buah ajaib sering digunakan sebagai bahan alami dalam pengobatan diabetes, karena dapat menggantikan gula dalam makanan dan minuman yang dikonsumsi oleh penderita diabetes. Selain itu, buah ini juga mengandung vitamin C, serat, dan antioksidan, sehingga dapat membantu meningkatkan sistem kekebalan tubuh dan mencegah penyakit (He *et al.*, 2016).

Selain buahnya yang populer, daun *Synsepalum dulcificum* mengandung berbagai senyawa aktif. Penelitian oleh Onuminya *et al.* (2023) menerangkan bahwa daun *miracle fruit* diduga berpotensi memberikan antioksidan karena mengandung senyawa-senyawa aktif di antaranya adalah fenolik, flavonoid, terpenoid, alkaloid. Hasil dari penelitian ini juga menerangkan bahwa ekstrak daun sebagai agen anti-diabetes yang potensial dan membenarkan penggunaan *Synsepalum dulcificum* dalam pengelolaan diabetes mellitus di Nigeria. Namun penelitian ini masih sebatas analisa senyawa dari golongan besar saja, masih belum sampai ke senyawa bioaktif yang lebih spesifik, sehingga masih diperlukan penelitian lebih lanjut.

Penelitian tentang daun *Synsepalum dulcificum* menjadi perbincangan dan potensi yang unik pada akhir-akhir ini. Namun, pembahasan yang mendalam mengenai aktivitas antioksidan daun *Synsepalum dulcificum* masih belum optimal karena hanya sebatas studi literatur dari jurnal-jurnal terkait dan belum terdokumentasi dengan baik, serta senyawa bioaktif dari ekstrak daun *Synsepalum dulcificum* masih belum terungkap, sehingga perlu dilakukan analisis aktivitas antioksidan melalui penelitian secara *in-vitro* dan *in-silico*.

Analisis aktivitas antioksidan ekstrak daun *Synsepalum dulcificum* sangat penting dilakukan karena daun *Synsepalum dulcificum* memiliki potensi sebagai sumber antioksidan yang dapat melindungi tubuh dari kerusakan sel yang disebabkan oleh radikal bebas. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi lebih lanjut mengenai potensi daun *Synsepalum dulcificum* sebagai sumber senyawa antioksidan alami.

4.2. Rumusan masalah

1. Bagaimana aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun *Synsepalum dulcificum* secara in-vitro terhadap DPPH ?
2. Apa saja 5 senyawa dominan yang berperan sebagai antioksidan pada ekstrak etanol daun *Synsepalum dulcificum* melalui metode LC-MS ?
3. Bagaimana interaksi senyawa aktif terhadap reseptor sebagai target antioksidan?

4.3. Tujuan penelitian

1. Mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun *Synsepalum dulcificum* secara in-vitro terhadap DPPH.
2. Mengetahui 5 senyawa dominan yang berperan sebagai antioksidan pada ekstrak etanol daun *Synsepalum dulcificum* melalui metode LC-MS.
3. Mengetahui interaksi senyawa aktif terhadap reseptor sebagai target antioksidan.

4.4. Manfaat penelitian

1. Mendapatkan data potensi ekstrak etanol daun *Synsepalum dulcificum* sebagai antioksidan terhadap radikal bebas.
2. Mendapatkan informasi senyawa yang terkandung pada ekstrak etanol daun *Synsepalum dulcificum*.
3. Mendapatkan interaksi antar senyawa aktif dengan protein target sebagai kandidat antioksidan.

4.5. Batasan masalah

1. Daun *Synsepalum dulcificum* diperoleh dari hasil budidaya.
2. Kriteria daunnya yang digunakan adalah daun yang muda, yang memiliki warna yang lebih terang dengan panjang 1-5 cm dengan nomor urut 1 sampai dengan 7 jika dihitung dari ujung tanaman.
3. Senyawa yang dianalisis dari golongan Flavonoid, Tanin, dan Saponin.
4. Reseptor yang digunakan adalah diambil 3 terbaik.
5. Analisa potensi antioksidan secara in-silico menggunakan *software Passonline, Pyrx, PyMol, BIOVIA: Discovery Studio Visualizer*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Penyakit dan obat menurut Islam

Dalam Al-Qur'an, penyakit dipandang sebagai ujian dari Allah dan sebagai sisi dari kehidupan manusia yang harus dihadapi (Fawaid & Sholiha, 2022). Allah menyebutkan bahwa Dia lah yang menciptakan penyakit dan juga memberikan obat-obatan sebagai cara untuk menyembuhkan penyakit tersebut (Fahmi, 2021). Oleh karena itu, dalam Islam, penting untuk mencari pengobatan ketika seseorang sakit. Di dalam Al-Qur'an, juga disebutkan beberapa penyakit seperti lepra, demam, dan was-was (Murtanti, 2020). Penyakit ini sering disebut dalam konteks kisah-kisah nabi atau umat terdahulu yang sakit dan disembuhkan oleh Allah. Islam juga memberikan harapan bahwa kesembuhan dan pemulihan dari penyakit datang dari Allah, dan dengan keyakinan serta doa yang kuat, manusia dapat meraih kesembuhan dan kesehatan yang baik. Sesuai dengan sabda Nabi Muhammad SAW :

عن جابر بن عبد الله لِكُلِّ دَاءٍ دَوَاءٌ، فَإِذَا أَصَابَ الدَّوَاءُ الدَّاءَ، بَرَأَ بِإِذْنِ اللَّهِ عَزَّ وَجَلَّ

Artinya: Setiap penyakit pasti memiliki obat. Bila sebuah obat sesuai dengan penyakitnya maka dia akan sembuh dengan seizin Allah Subhanahu wa Ta'ala (HR. Muslim).

Hadits di atas mengisyaratkan diizinkan seorang Muslim mengobati penyakit yang dideritanya, karena setiap penyakit pasti ada obatnya (Al-Kaheel, 2022). Jika obat yang digunakan tepat mengenai sumber penyakit, maka dengan izin Allah SWT penyakit tersebut akan hilang dan orang yang sakit akan mendapatkan kesembuhan (Ihsan, 2016). Meski demikian, kesembumbuhan

kadang terjadi dalam waktu yang agak lama, jika penyebab penyakitnya belum diketahui atau obatnya belum ditemukan. Dalam ajaran Islam, Allah SWT. menganjurkan umatnya untuk selalu berikhtiar dan bertawakal, termasuk dalam hal kesembuhan atas suatu penyakit (Sulthan Adam, 2018).

Dalam Al-Qur'an, Allah SWT menekankan pentingnya menjaga lingkungan yang sehat untuk mencegah penyakit dan menjaga kesehatan manusia (Agustina, 2021). Allah SWT menciptakan bumi dengan segala isinya untuk dikelola dan dimanfaatkan oleh manusia serta menjaga keseimbangan alam dan menjaga kelestarian lingkungan (Mangunjaya & Abbas, 2009). Selain itu, Al-Qur'an juga mengajarkan manusia untuk memanfaatkan sumber daya alam dengan bijak dan berkelanjutan agar tidak merusak alam dan lingkungan sekitar (Mas'ari, 2017). Allah SWT juga menekankan pentingnya menjaga kebersihan diri dan menjaga pola makan yang sehat untuk mencegah penyakit. hal ini sesuai dengan ayat Al-Qur'an:

وَلَا تُفْسِدُوا فِي الْأَرْضِ بَعْدَ إِصْلَاحِهَا وَادْعُوهُ خَوْفًا وَطَمَعًا إِنَّ رَحْمَتَ اللَّهِ قَرِيبٌ مِّنَ الْمُحْسِنِينَ

Artinya: Dan janganlah kamu membuat kerusakan di muka bumi, sesudah (Allah) memperbaikinya dan berdoalah kepada-Nya dengan rasa takut (tidak akan diterima) dan harapan (akan dikabulkan). Sesungguhnya rahmat Allah amat dekat kepada orang-orang yang berbuat baik. (QS. Surat Al-A'raf Ayat 56)

Islam juga menjelaskan bahwa setiap penyakit pasti memiliki obat (Muflih, 2013), tak terkecuali radikal bebas. penangkal radikal bebas disebut antioksidan. Antioksidan adalah senyawa yang terdapat pada makanan dan minuman yang berfungsi untuk membantu melindungi sel-sel tubuh dari kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas (Rahmi, 2017). Oleh karena itu, penting untuk mengkonsumsi makanan yang kaya antioksidan dan menjaga gaya hidup sehat

untuk melindungi tubuh dari kerusakan radikal bebas dan mencegah terjadinya penyakit yang disebabkan oleh radikal bebas (Adiari *et al.*, 2017).

2.2. Radikal bebas

Radikal bebas dapat terbentuk secara alami dalam tubuh, seperti selama metabolisme oksidatif, dan dapat juga dihasilkan oleh faktor lingkungan seperti sinar ultraviolet, polusi udara, dan paparan bahan kimia berbahaya (Deny *et al.*, 2006). Radikal bebas yang terbentuk dari dalam tubuh dikenal sebagai radikal bebas endogen sedangkan radikal bebas yang terbentuk akibat faktor lingkungan dikenal sebagai radikal bebas eksogen (Zalukhu *et al.*, 2016).

Radikal bebas endogen adalah senyawa yang terbentuk sebagai hasil dari reaksi metabolisme normal dalam tubuh, seperti reaksi pembentukan energi dalam mitokondria dan proses detoksifikasi dalam hati (Irianti & Nuranto, 2021). Beberapa contoh radikal bebas endogen termasuk superoksida ($O_2^{\bullet-}$), hidrogen peroksida (H_2O_2), dan radikal hidroksil ($\bullet OH$) (Yuslianti, 2018). Radikal bebas endogen yang tidak dapat diatasi oleh sistem antioksidan tubuh dapat menyebabkan kerusakan sel dan jaringan, yang dapat menyebabkan penyakit dan penuaan yang tidak sehat (Safnowandi, 2022). Untuk menghindari kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas endogen, tubuh memiliki sistem antioksidan internal yang dapat menghilangkan radikal bebas tersebut (Maharani *et al.*, 2022). Sistem antioksidan ini terdiri dari enzim dan molekul antioksidan yang melindungi tubuh dari efek buruk radikal bebas endogen. Meskipun tubuh memiliki sistem antioksidan internal, terkadang tubuh perlu suplemen antioksidan eksternal untuk melawan kerusakan radikal bebas yang tidak dapat diatasi oleh sistem internal (Mutianingsih, 2022).

Radikal bebas eksogen terbentuk sebagai hasil dari paparan lingkungan seperti polusi udara, asap rokok, radiasi, dan bahan kimia berbahaya (Irianti & Nuranto, 2021). Beberapa contoh radikal bebas eksogen termasuk radikal nitrat ($\bullet\text{NO}_3$), radikal hidroksil ($\bullet\text{OH}$), dan peroksil ($\text{ROO}\bullet$) (Yuslianti, 2018). Paparan lingkungan yang terus-menerus dapat menyebabkan konsentrasi radikal bebas yang meningkat dalam tubuh, dan dapat menyebabkan kerusakan pada sel dan jaringan tubuh (Suryadinata, 2018). Paparan radikal bebas eksogen juga dapat menyebabkan stres oksidatif pada tubuh, yang dapat menyebabkan berbagai masalah kesehatan seperti kanker, penyakit jantung, dan penuaan yang tidak sehat (Maharani *et al.*, 2022). Untuk mengurangi efek buruk radikal bebas eksogen, penting untuk memperhatikan faktor lingkungan yang dapat menyebabkan paparan radikal bebas dan melakukan tindakan pencegahan, seperti menghindari paparan polusi udara dan asap rokok serta menggunakan bahan kimia dengan bijak. Selain itu, mengonsumsi makanan yang kaya akan antioksidan dapat membantu melindungi tubuh dari efek buruk radikal bebas eksogen (Hakim, 2012).

Berbagai penyakit seperti aterosklerosis, diabetes, kanker, penyakit saraf, masalah kardiovaskuler, dan kondisi lainnya telah dikaitkan dengan radikal bebas sebagai akibat dari stres oksidatif. Stres oksidatif terjadi saat produksi radikal bebas melebihi tingkat di mana mekanisme pertahanan antioksidan alami tubuh tidak bisa mengatasinya, sehingga Oksidasi seluler sekitarnya memicu oksidasi biomolekul esensial seperti DNA, protein, dan lipid yang mengarah ke perkembangan beberapa penyakit (Susilowati, 2023).

Pada metabolisme tubuh, ada dua bentuk umum dari radikal bebas dalam metabolisme tubuh yaitu ROS (*Reactive Oxygen Species*) dan RNS (*Reactive Nitrogen Species*). ROS dan RNS terbentuk dari metabolisme oksigen dan nitrogen dalam tubuh (Valko *et al.*, 2016). ROS terbentuk sebagai produk sampingan dari reaksi metabolisme oksigen yang terjadi dalam mitokondria sel, sementara RNS terbentuk dari reaksi antara oksigen dan nitrogen (Yuslianti, 2018). Beberapa reaksi yang menghasilkan ROS dan RNS meliputi respirasi seluler, metabolisme lemak, dan metabolisme karbohidrat (Firani, 2017).

Beberapa contoh dari ROS adalah superoksida (O_2^-), hidrogen peroksida (H_2O_2), dan radikal hidroksil (OH) (Susilowati, 2023). ROS terbentuk selama proses normal metabolisme sel, terutama di dalam mitokondria sel, yang merupakan tempat utama produksi energi di dalam tubuh (Suarjaya *et al.*, 2012). Sedangkan beberapa contoh dari RNS adalah Nitrogen monoksida (NO), Nitrogen dioksida (NO_2), Nitrit oksida (NO_2^-). RNS terbentuk melalui reaksi kimia antara nitrogen oksida (NO) dengan superoksida (O_2^-) atau hidrogen peroksida (H_2O_2), yang dihasilkan selama metabolisme dalam tubuh. ROS dan RNS juga dapat terbentuk sebagai respons tubuh terhadap stres oksidatif yang disebabkan oleh faktor eksternal seperti polusi udara, asap rokok, dan radiasi (Poljšak & Fink, 2014).

ROS berperan dalam proses penuaan dan penyakit yang berkaitan dengan penuaan seperti penyakit jantung, stroke, kanker, dan penyakit neurodegeneratif seperti Alzheimer dan Parkinson (Jabir *et al.*, 2015). Menurut penelitian Srinivas *et al.* (2019) mereka menyelidiki efek radikal bebas ROS pada kerusakan DNA dan menemukan bahwa kerusakan DNA yang disebabkan oleh ROS dapat

berkontribusi pada perkembangan kanker. Sementara RNS terlibat dalam penyakit yang berkaitan dengan sistem kekebalan tubuh, seperti penyakit autoimun, peradangan, kardiovaskuler, diabetes, neurodegeneratif, dan penyakit hati (Zhu *et al.*, 2012). Menurut penelitian Pérez-Torres *et al.* (2020), peran RNS dalam penyakit kardiovaskular dijelaskan, dimana peroxynitrit (ONOO-) terbukti dapat menyebabkan oksidasi lipid dan kerusakan endotel. Hal ini berkontribusi pada perkembangan aterosklerosis serta penyakit jantung (Gianazza *et al.*, 2019).

2.3. Antioksidan

Antioksidan adalah zat yang dapat memberikan radikal bebas sebuah elektron tanpa menjadi tidak stabil sendiri. Radikal bebas dibuat lebih stabil dan kurang reaktif sebagai hasilnya. Radikal bebas ditangkap oleh antioksidan, yang berfungsi dalam dua cara terpisah. Antioksidan enzimatik berfungsi dengan mengoksidasi ROS yang merusak untuk menghasilkan H₂O₂, yang kemudian diubah menjadi air. Dua anion superoksida diubah menjadi hidrogen peroksida dan oksigen oleh enzim secara oksida dismutase (SOD). Meskipun hidrogen peroksida juga merupakan spesies oksigen reaktif, anion superoksida secara signifikan lebih berbahaya bagi sel. Contoh antioksidan enzimatik lain adalah katalase, yaitu mengubah H₂O₂ menjadi air. Kemudian Antioksidan non enzimatik seperti glutathione, vitamin E, dan vitamin C bereaksi dengan radikal bebas secara langsung. Glutathione misalnya mempunyai gugus yang menjadi target serangan radikal. Radikal bebas lalu dipadamkan dan glutathione teroksidasi didaur ulang oleh enzim glutathione reduktase (Susilowati, 2023).

Antioksidan banyak terdapat pada tanaman herbal. Tanaman herbal telah digunakan sejak zaman dahulu sebagai pengobatan alternatif untuk berbagai

penyakit (Syaputri *et al.*, 2021). Salah satu keuntungan menggunakan tanaman herbal sebagai obat adalah karena banyak dari tanaman ini mengandung senyawa antioksidan alami yang dapat membantu melindungi tubuh dari kerusakan akibat stres oksidatif. Beberapa tanaman herbal yang kaya akan senyawa antioksidan meliputi kurma, teh hijau, daun zaitun, jahe, bawang putih, rosemary, kunyit, dan masih banyak lagi (Yuslianti, 2018).

Berdasarkan penelitian Indarti *et al.* (2019), dilakukan evaluasi terhadap aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol dan fraksi-fraksi yang berasal dari daun teh hijau (*Camellia sinensis* L.). Hasil analisis menunjukkan bahwa ekstrak etanol, fraksi etil asetat, dan fraksi air mengandung senyawa flavonoid dan fenolik. Nilai IC50 masing-masing adalah 9,017 $\mu\text{g/mL}$ untuk ekstrak etanol, 3,926 $\mu\text{g/mL}$ untuk fraksi etil asetat, dan 7,408 $\mu\text{g/mL}$ untuk fraksi air. Fraksi etil asetat menunjukkan aktivitas antioksidan yang lebih baik dibandingkan dengan asam askorbat, suatu standar yang umum digunakan dalam pengukuran aktivitas antioksidan, dengan nilai IC50 sebesar 4,855 $\mu\text{g/mL}$.

Senyawa antioksidan dalam tanaman herbal dapat membantu melindungi tubuh dari kerusakan sel dan jaringan yang disebabkan oleh radikal bebas, yang dihasilkan selama metabolisme dalam tubuh atau sebagai respons terhadap faktor stres oksidatif (Puspitasari *et al.*, 2016). Beberapa senyawa antioksidan alami yang ditemukan dalam tanaman herbal meliputi vitamin C, vitamin E, karotenoid, flavonoid, dan polifenol. Senyawa ini dapat membantu melindungi sel dan jaringan tubuh dengan cara menetralkan radikal bebas dan menghambat reaksi berbahaya dengan senyawa lain di dalam tubuh (Sari, 2016).

Vitamin merupakan senyawa yang sangat penting bagi kesehatan tubuh manusia. Vitamin E dan C adalah dua jenis vitamin yang sering dikaitkan dengan peran sebagai antioksidan (Andarina & Djauhari, 2017). Vitamin E terdapat pada makanan seperti minyak sayur, kacang-kacangan, dan biji-bijian, sedangkan vitamin C terdapat pada buah-buahan dan sayuran. Kedua jenis vitamin ini dapat membantu mengurangi kerusakan sel tubuh dan menjaga kesehatan tubuh manusia (Wulandari, 2018). Hasil penelitian dari Nour *et al.* (2017) yang meneliti tentang dua genotipe stroberi yakni 'Premial' dan 'Magic' dari *Fragaria* × *ananassa*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar asam askorbat, atau vitamin C, dalam varietas 'Premial' adalah 81,62 mg per 100 g, yang lebih tinggi secara signifikan daripada kadar yang ditemukan dalam varietas 'Magic', yaitu 42,15 mg per 100 g. Menurut penelitian dari Karakas *et al.* (2021) tentang kandungan vitamin E dari berbagai varietas biji gandum menjelaskan bahwa kadar vitamin E pada biji gandum einkorn sebesar α -TP, β -TP, α -TT, dan β -TT α -TP (16,460 $\mu\text{g/g dw}$), β -TP (1,018 $\mu\text{g/g dw}$), dan β -TT (63,800 $\mu\text{g/g dw}$). Penelitian ini menyoroti potensi tumbuhan di sekitar memiliki potensi sebagai sumber vitamin C dan vitamin E.

Selain vitamin terdapat senyawa yang sering ditemukan pada tanaman adalah Flavonoid. Flavonoid adalah senyawa yang ditemukan di banyak jenis tumbuhan dan merupakan salah satu jenis antioksidan alami yang sangat penting untuk kesehatan manusia (Neldawati, 2013). Flavonoid dapat membantu melindungi sel-sel tubuh dari kerusakan akibat radikal bebas (Puspitasari *et al.*, 2016), dan juga dapat membantu memperkuat sistem kekebalan tubuh (Kumar *et al.*, 2022). Senyawa ini ditemukan di banyak jenis makanan seperti buah-buahan dan sayuran. Flavonoid memiliki beberapa jenis, seperti quercetin, kaempferol,

dan apigenin, dan masing-masing jenis memiliki manfaat yang berbeda-beda untuk kesehatan tubuh manusia (Redha, 2013). Studi yang dilakukan oleh Bansode (2015) menganalisis kandungan flavonoid pada beberapa teh hijau. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa teh hijau *Parichaya Golden black tea infusion* memiliki kandungan flavonoid total sebesar (48.81 mg/g). Selain itu, jeruk bali (*Citrus sinensis*) juga memiliki kandungan flavonoid yang signifikan, yaitu sebesar $242,48 \pm 13,83$ mg QE/gram BK menggunakan pelarut etil asetat (Gulo *et al.*, 2021). Penelitian ini mengungkapkan potensi tumbuhan sekitar sebagai sumber flavonoid.

2.4. Bentuk antioksidan

Antioksidan dapat dibagi menjadi dua kategori utama: enzimatis dan non-enzimatis. Enzimatis adalah antioksidan yang diproduksi oleh tubuh dan bekerja secara khusus dalam melindungi sel-sel dari kerusakan oksidatif (Hakiman & Maziah, 2009). Beberapa enzimatis yang terlibat dalam sistem antioksidan tubuh antara lain superoksida dismutase (SOD), katalase (CAT), dan glutathion peroksidase (GPx) (Alfatin, 2021). Masing-masing enzim memiliki peran yang spesifik dalam membantu menetralkan radikal bebas dan menjaga keseimbangan ROS dalam tubuh.

Sementara itu, antioksidan non-enzimatis adalah antioksidan pertahanan preventif yang bekerja dengan cara memotong atau menangkap reaksi oksidasi berantai dari radikal bebas sehingga tidak akan bereaksi (Widyastuti *et al.*, 2018). Antioksidan non-enzimatis dapat diperoleh dari makanan atau suplemen. Beberapa contoh antioksidan non-enzimatis termasuk vitamin C, vitamin E, beta-karoten, flavonoid, asam lemak, dan glutathion (Dewi *et al.*, 2017). Antioksidan

non-enzimatis bekerja dengan cara berbeda dalam melindungi sel-sel tubuh dari kerusakan oksidatif, misalnya melindungi sel-sel dari radikal bebas dengan cara menangkap elektron yang terlepas.

2.5. Mekanisme antioksidan

Berdasarkan mekanisme kerjanya, antioksidan dibedakan menjadi 3 kelompok, yaitu primer, sekunder dan tersier (Mehta & Gowder, 2015).

1. Antioksidan primer merupakan antioksidan yang bekerja dalam mencegah terbentuknya radikal bebas baru serta mengubah radikal bebas menjadi molekul yang tidak radikal. Contohnya adalah ialah enzim superoksida dismutase (SOD), katalase, dan glutathion dimustase (Pisoschi *et al.*, 2021).
2. Antioksidan sekunder adalah pemadam oksigen tunggal, pengurai peroksida yang menghasilkan spesies non-radikal, pengkelat logam, penghambat enzim oksidatif (misalnya lipooksigenase) atau penyerap radiasi UV (Pisoschi & Pop, 2015).
3. Antioksidan Tersier atau repair enzim yaitu antioksidan yang berfungsi memperbaiki jaringan tubuh yang rusak oleh radikal bebas, antioksidan tersebut adalah enzim yang memperbaiki DNA pada inti sel adalah metionin sulfoksida reduktase (Wardani, 2023).

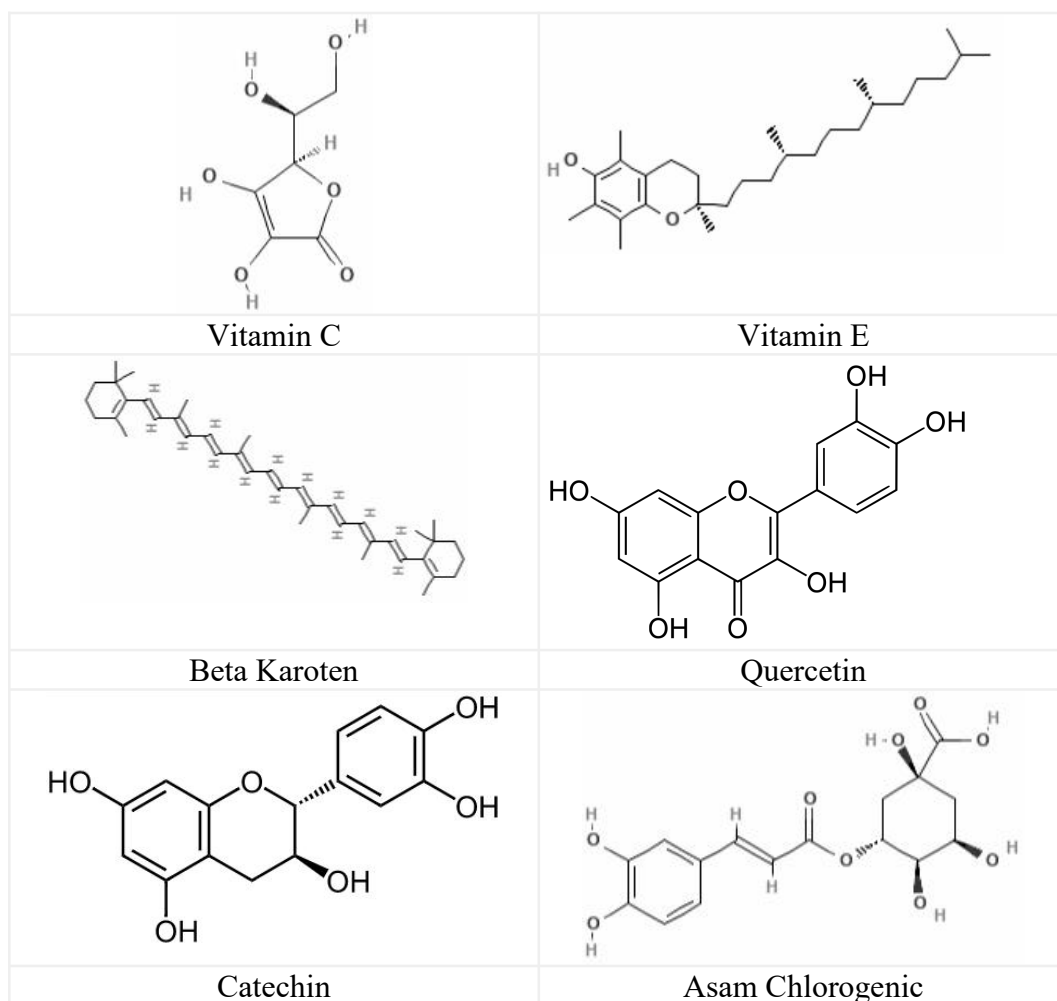
2.6. Senyawa-senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan

Senyawa-senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan dapat ditemukan dalam berbagai jenis makanan dan minuman yang kita konsumsi sehari-hari. Beberapa senyawa tersebut adalah vitamin C, vitamin E, beta-karoten, flavonoid, dan polifenol (Sari, 2016).

Vitamin C atau asam askorbat adalah salah satu senyawa antioksidan yang paling penting dalam tubuh manusia. Vitamin C dapat ditemukan dalam buah-buahan seperti jeruk, stroberi, dan kiwi, serta sayuran seperti paprika, kubis, dan brokoli. Vitamin C dapat membantu melindungi sel dan jaringan dari kerusakan oksidatif dan juga membantu memperkuat sistem kekebalan tubuh (Wulandari, 2018). Menurut penelitian Pehlivan (2017), mekanisme vitamin C melepaskan elektron kepada radikal bebas dan menjadikannya molekul stabil. Dengan cara ini, Vitamin C dapat menetralkan radikal bebas sebelum mereka dapat merusak sel dan jaringan tubuh. Studi oleh Hess (2017) menyelidiki mekanisme regenerasi vitamin E oleh vitamin C dalam sistem biologis. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa vitamin C memiliki kemampuan untuk mengubah vitamin E yang telah teroksidasi menjadi bentuk yang aktif kembali, sehingga vitamin E dapat terus berfungsi sebagai antioksidan.

Vitamin E atau tokoferol adalah senyawa antioksidan yang dapat ditemukan dalam biji-bijian, kacang-kacangan, dan minyak nabati seperti minyak kedelai dan minyak bunga matahari. Vitamin E dapat membantu melindungi sel dan jaringan dari kerusakan oksidatif dan juga membantu menjaga kesehatan kulit dan rambut (Wulandari, 2018). Menurut Traber dan Atkinson (2007) menerangkan bahwa vitamin E dapat menghentikan reaksi berantai yang disebabkan oleh radikal bebas dengan menghentikan aliran elektron dalam rantai reaksi oksidasi. Molekul vitamin E berinteraksi dengan radikal bebas, memberikan elektronnya untuk menetralkan radikal bebas tersebut, dan kemudian vitamin E menjadi radikal teroksidasi yang relatif stabil. Setelah menjalankan fungsinya sebagai antioksidan, tokoferol dapat teroksidasi menjadi tokoferil (tokoferol bentuk radikal) bentuk

radikal ini dapat direduksi kembali menjadi tokoferol oleh kerja sinergi dari antioksidan yang lain, misalnya vitamin C dan glutathion (Puspita, 2013; Liu *et al.*, 2022)



Gambar 2.1. Contoh struktur kimia senyawa antioksidan

Beta-karoten adalah senyawa antioksidan yang memberikan warna kuning atau oranye pada sayuran dan buah-buahan seperti wortel, ubi jalar, dan paprika (Satriyani, 2021). Beta-karoten dapat membantu melindungi sel dan jaringan dari kerusakan oksidatif dan juga dapat membantu menjaga kesehatan mata dan kulit (Parwata *et al.*, 2010). Berdasarkan studi Yi *et al.* (2015) Beta-karoten dapat membantu mempertahankan integritas membran sel dengan menangkap radikal

bebas yang menyerang membran sel. Beta-karoten juga dapat meningkatkan sistem kekebalan tubuh dengan meningkatkan aktivitas sel-sel kekebalan tubuh seperti limfosit dan makrofag (Mudroňová *et al.*, 2018). Beta-karoten juga dapat membantu memperbaiki kerusakan sel dan jaringan tubuh yang terjadi akibat stres oksidatif. Beta-karoten juga dapat membantu mencegah terjadinya kanker dengan menghambat pertumbuhan sel kanker dan meningkatkan apoptosis (kematian sel) pada sel kanker (Wahidah, 2012).

Selenium adalah mineral yang ditemukan dalam daging, ikan, dan kacang-kacangan. Selenium dapat membantu melindungi sel dan jaringan dari kerusakan oksidatif dan juga dapat membantu menjaga kesehatan sistem kekebalan tubuh (Novita, 2018). Berdasarkan studi Wiedosari & Sani (2022) tentang mekanisme antioksidan, selenium bekerja sebagai bagian dari enzim glutathione peroxidase yang dapat mengubah senyawa berbahaya seperti hidrogen peroksida dan lipid peroksida menjadi senyawa yang tidak berbahaya. Selenium juga dapat meningkatkan aktivitas antioksidan dalam tubuh dengan merangsang produksi glutathione, vitamin E, dan vitamin C (Shakeri *et al.*, 2020). Menurut studi Guo *et al.* (2020) Selenium dapat membantu menjaga kesehatan jantung dengan meningkatkan keseimbangan kolesterol dalam darah dan mengurangi tingkat oksidasi lemak dalam arteri.

Flavonoid dan polifenol adalah senyawa antioksidan yang dapat ditemukan dalam buah-buahan, sayuran, teh, dan anggur. Senyawa-senyawa ini dapat membantu melindungi sel dan jaringan dari kerusakan oksidatif dan juga dapat membantu mengurangi risiko penyakit jantung, kanker, dan penuaan dini (Simanjuntak, 2012). Flavonoid memiliki gugus hidroksil dan karboksil yang

dapat berikatan dengan radikal bebas dan membentuk senyawa yang stabil (Ipand *et al.*, 2016). Flavonoid dapat menghambat aktivitas enzim oksidatif, seperti xantin oksidase dan lipoxygenase, yang dapat memicu produksi radikal bebas dan juga dapat meningkatkan aktivitas enzim antioksidan dalam tubuh, seperti superoksida dismutase (SOD) dan glutathion peroksidase (GPx), yang dapat membantu melindungi sel-sel tubuh dari kerusakan akibat stres oksidatif (Simanjuntak, 2012). Flavonoid juga dapat mengurangi peradangan dalam tubuh, yang dapat memicu produksi radikal bebas. Flavonoid dapat menghambat produksi mediator peradangan, seperti prostaglandin dan leukotrien. Menurut studi Pratimasari (2009) Flavonoid dapat membantu mencegah terjadinya kanker dengan cara meningkatkan aktivitas sel-sel kekebalan tubuh dan menekan pertumbuhan sel kanker .

2.7. Sumber antioksidan

Antioksidan dapat diperoleh dari sumber endogen dan eksogen. Antioksidan endogen diproduksi oleh tubuh kita sendiri, seperti enzim seperti superoksida dismutase, katalase, dan glutathion peroksidase. Sementara itu, antioksidan eksogen diperoleh dari makanan yang kita konsumsi, seperti vitamin C, E, beta-karoten, flavonoid dan polifenol, banyak ditemukan pada buah dan sayuran (Maharani *et al.*, 2022).

Berikut adalah beberapa contoh sumber antioksidan yang dapat ditemukan dalam makanan:

1. Buah-buahan dan sayuran yang berwarna-warni seperti mangga, jeruk, stroberi, blueberry, dan sayuran hijau kaya akan senyawa antioksidan seperti vitamin C, vitamin E, dan karotenoid. Senyawa-senyawa ini bekerja dengan

cara menghambat reaksi berantai radikal bebas dan memperbaiki kerusakan sel dan jaringan (Rahmi, 2017).

2. Biji-bijian dan kacang-kacangan seperti almond, kacang merah, dan kacang kedelai mengandung vitamin E dan selenium, yang bekerja dengan cara menetralkan radikal bebas dalam tubuh. Selain itu, minyak nabati seperti minyak zaitun dan minyak kedelai juga mengandung senyawa antioksidan yang dapat melindungi sel dan jaringan dari kerusakan oksidatif (Diniyah & Lee, 2020).
3. Ikan dan daging juga merupakan sumber antioksidan, khususnya selenium dan vitamin E. Senyawa-senyawa ini dapat membantu melindungi sel dan jaringan dari kerusakan oksidatif serta meningkatkan sistem kekebalan tubuh (Barus, 2009).

Selain bersumber dari makanan, ada jenis antioksidan eksogen lain yang diperoleh secara sintetik atau disebut antioksidan sintetik. Antioksidan sintetik adalah senyawa antioksidan yang dibuat secara sintesis di laboratorium, dan tidak ditemukan secara alami di dalam makanan atau tubuh manusia (Packer, 2019). Contoh dari antioksidan sintetik yang sering digunakan dalam industri makanan dan minuman adalah BHT (butylated hydroxytoluene), BHA (butylated hydroxyanisole), dan TBHQ (tert-butylhydroquinone). Antioksidan sintetik ini digunakan untuk memperpanjang masa simpan produk makanan, dan mencegah terjadinya kerusakan akibat oksidasi pada produk makanan seperti minyak, mentega, daging, dan makanan olahan (Shonhaji, 2021).

2.8. *Synsepalum dulcificum*

Salah satu dari sekian banyak tanaman yang mengandung antioksidan adalah *Synsepalum dulcificum*. *Synsepalum dulcificum*, atau yang lebih dikenal dengan nama buah ajaib atau *miracle fruit*, adalah tumbuhan yang berasal dari Afrika Barat (Tchokponhoué *et al.*, 2021). Tanaman ini juga telah dibudidayakan di wilayah Indonesia seperti di Jawa Barat, Sumatra Utara, Nusa Tenggara Barat, Sulawesi Selatan (Karmila, 2016). Potensi budidaya tanaman *Synsepalum dulcificum* masih sangat besar di Indonesia, sehingga perlu terus dikembangkan dan diperluas ke daerah-daerah lainnya yang memiliki kondisi lingkungan yang sesuai untuk pertumbuhan tanaman ini.



Gambar 2.2. Tanaman *Synsepalum dulcificum*

Buah *Synsepalum dulcificum* juga bisa menjadi senyawa fitokimia yang melimpah, seperti halnya *blueberry*, *blackberry*, ceri, dan anggur (Werdhasari, 2014). Menurut He *et al.* (2016) pada penelitiannya menunjukkan bahwa buah *Synsepalum dulcificum* mengandung vitamin C dalam jumlah besar (40,1 mg/100g berat buah segar (FW)), kandungan fenolik (625,57 mg GAE/100 g FW),

kandungan gula total yang rendah (5,6 g/100 g FW), menunjukkan bahwa buah tersebut sehat untuk dikonsumsi manusia.



Gambar 2.3. Buah *Synsepalum dulcificum*
Sumber: (Ngo, 2017)

Bentuk daun *Synsepalum dulcificum* ini memiliki bentuk yang oval dengan panjang sekitar 5-10 cm dan lebar sekitar 3-5 cm (Doddawad *et al.*, 2022). Permukaan daunnya halus dengan warna hijau kegelapan dan tekstur yang agak kaku (Ee *et al.*, 2022). Daun *Synsepalum dulcificum* memiliki aroma yang ringan dan sedikit segar, mirip dengan buahnya yang terkenal dengan efek membalikkan rasa asam menjadi manis. Daun ini juga memiliki rasa yang agak pahit dan sedikit asam (Ee *et al.*, 2022).



Gambar 2.4. Daun *Synsepalum dulcificum*
Sumber: (Sam, 2020)

Klasifikasi taksonomi tanaman *Synsepalum dulcificum* disajikan pada Tabel 2.1. Database tanaman online, The Plant List, mencakup 164 ilmiah nama tanaman peringkat spesies untuk genus *Synsepalum*. Dari jumlah tersebut, 29 nama spesies diterima, termasuk *Synsepalum dulcificum*. *Synsepalum dulcificum* sebelumnya dikenal sebagai *Richardella dulcifica* dan sinonim lainnya (Akinmoladun *et al.*, 2020).

Tabel 2.1. Klasifikasi taksonomi tanaman *miracle fruit* (*Synsepalum dilcificum*)

Peringkat taksonomi	Nama
Kingdom	<i>Plantae</i>
Sub Kingdom	<i>Viridiplantae</i>
Infrakingdom	<i>Streptophyta</i>
Divisi	<i>Tracheophyta</i>
Infradevisi	<i>Angiosperms</i>
Kelas	<i>Magnoliopsida</i>
Superorder	<i>Asterana</i>
Order	<i>Ericales</i>
Family	<i>Sapotaceae</i>
Genus	<i>Synsepalum</i>
Spesies	<i>Synsepalum dulcificum</i>

Sumber: Akinmoladun *et al.* (2020)

Synsepalum dulcificum awalnya ditemukan di bagian tropis Afrika Tengah dan Barat tetapi kemudian diperkenalkan ke benua lain. *Synsepalum dulcificum* diproduksi dan dibudidayakan dalam jumlah besar di Taiwan dan Jepang karena karakteristik buah yang mengubah rasa yang unik (Xingwei *et al.*, 2016). di Indonesia sendiri juga sudah ada daerah yang membudidayakan tanaman ini, diantaranya Jawa Barat, Sumatra Utara, Nusa Tenggara Barat, Sulawesi Selatan (Karmila, 2016)

Habitat *Synsepalum dulcificum* terletak di dalam dan tumbuh secara ideal di lingkungan yang hangat dengan iklim yang bervariasi antara 30-40 C. Tanaman telah beradaptasi dengan tanah yang sedikit asam pH 4,5–5,8 dan menghasilkan

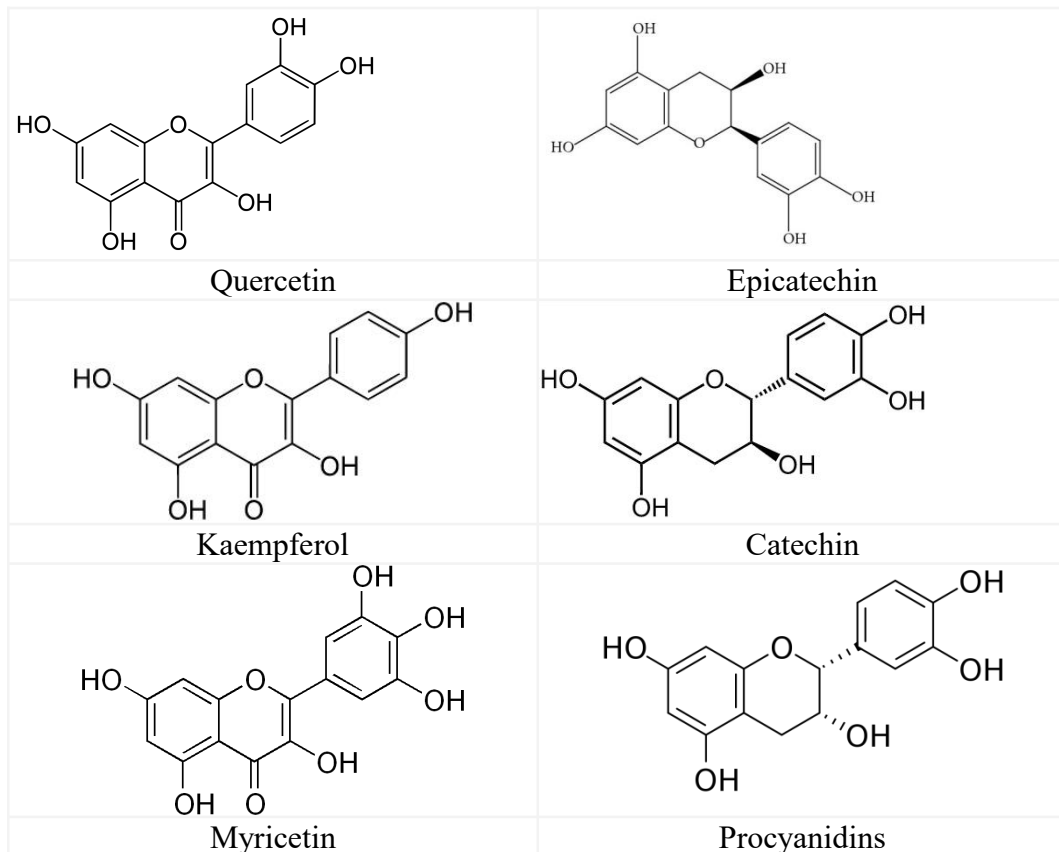
buah yang dapat dimakan setelah tiga hingga empat tahun penanaman (Yamamoto *et al.*, 2006). Tanaman tersebut kini diketahui telah diperbanyak oleh Departemen Pertanian Amerika Serikat, dan Stasiun Eksperimen Federal di Puerto Rico. Ini paling baik beradaptasi dengan Jamaika, AS bagian selatan (terbaik di Florida) atau Hawaii (Inglett & May, 1968). Buahnya tumbuh dalam satu musim mulai dari Mei hingga September, meskipun buah beri dihasilkan sepanjang tahun. Tanaman tumbuh perlahan dan akhirnya mencapai ketinggian enam hingga lima belas kaki saat dewasa penuh (Akinmoladun *et al.*, 2020).

2.9. Potensi daun *Synsepalum dulcificum* sebagai antioksidan

Selain buahnya, bagian lain dari tanaman *Synsepalum dulcificum* yang dapat dimanfaatkan adalah daunnya. Menurut Akinmoladun (2020), Daun *Synsepalum dulcificum* mengandung senyawa-senyawa aktif seperti flavonoid dan polifenol. Flavonoid dan polifenol adalah senyawa fitokimia yang ditemukan di dalam banyak tumbuhan, termasuk pada daun *Synsepalum dulcificum*. Senyawa-senyawa tersebut diketahui memiliki potensi sebagai antioksidan yang kuat (Obafemi *et al.*, 2017).

Flavonoid adalah senyawa fitokimia yang memiliki sifat antioksidan dan terbukti memiliki berbagai manfaat kesehatan bagi tubuh manusia (Choiriyah, 2020). Senyawa ini ditemukan pada berbagai jenis buah dan sayuran serta pada daun-daunan. Beberapa contoh flavonoid pada tanaman antara lain quercetin, kaempferol, dan myricetin (Widiasari, 2018). Sedangkan polifenol adalah senyawa fitokimia yang juga memiliki sifat antioksidan dan merupakan senyawa aktif utama dalam mencegah kerusakan sel yang disebabkan oleh radikal bebas. Senyawa ini ditemukan pada berbagai jenis buah-buahan, sayuran, biji-bijian, dan

juga pada daun-daunan. Beberapa contoh polifenol pada tanaman antara lain epicatechin, catechin, dan procyanidins (Wardiana, 2014).



Gambar 2.5. Struktur kimia senyawa flavonoid dan polifenol

Penelitian oleh Onuminya *et al.* (2023) menganalisis kandungan flavonoid, terpenoid, dan fenolik dalam daun *Synsepalum dulcificum*. Hasil dari penelitian ini juga menerangkan bahwa ekstrak daun sebagai agen anti-diabetes yang potensial dan membenarkan penggunaan *Synsepalum dulcificum* dalam pengelolaan diabetes mellitus di Nigeria. Hasil penelitian tersebut dapat dilihat pada tabel berikut ini:

Tabel 2.2. *Phytochemical compositions of extracts of Synsepalum dulcificum leaf and stem*

<i>Phytochemicals</i>	<i>Leaf</i>		<i>Stem</i>	
	<i>Aqueous</i>	<i>Ethanol</i>	<i>Aqueous</i>	<i>Ethanol</i>
<i>Flavonoids</i>	+	++	-	++
<i>Saponins</i>	++	-	-	-
<i>Terpenoids</i>	-	+	+	++
<i>Tannins</i>	++	++	-	+
<i>Phenols</i>	++	+	+	+
<i>Steroids</i>	++	+	++	++
<i>Cardiac glycosides</i>	++	++	+	++
<i>Alkaloids</i>	-	++	+	+

Keys: ++=very present, +=present, -=absent

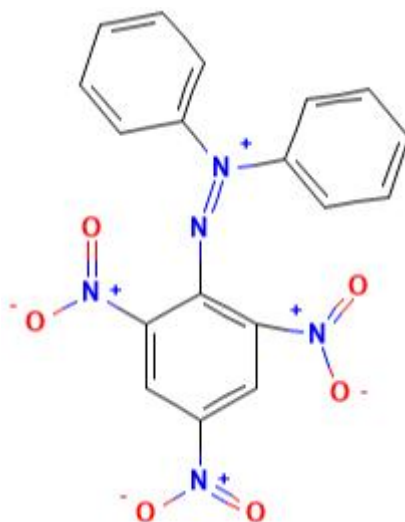
Sumber: Onuminya *et al.* (2023)

Berdasarkan tabel 2.2 , dapat dilihat bahwa komposisi fitokimia ekstrak daun dan batang *Synsepalum dulcificum* berbeda-beda. Flavonoid dan saponin terdapat dalam jumlah yang sangat banyak pada daun dan batang, baik dalam ekstrak etanol maupun ekstrak akuos. Tannin dan fenol terdapat dalam jumlah banyak pada daun dan batang dalam ekstrak etanol, sedangkan dalam ekstrak akuos hanya terdapat pada daun. Steroid terdapat dalam jumlah banyak pada daun dalam ekstrak etanol, sedangkan dalam ekstrak akuos hanya terdapat pada batang. Glikosida jantung terdapat dalam jumlah banyak pada batang dalam ekstrak etanol, sedangkan dalam ekstrak akuos hanya terdapat pada daun. Alkaloid terdapat dalam jumlah banyak pada daun dalam ekstrak etanol.

Data yang disajikan tabel 2.2 pada masih belum menggambarkan kadar serta senyawa yang teridentifikasi masih dari golongan besar atau belum mengarah ke senyawa spesifik, sehingga masih perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui senyawa bioaktif apa saja yang berperan dalam aktivitas antioksidan.

2.10. Uji antioksidan dengan metode DPPH

Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) adalah salah satu metode yang paling umum digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan pada berbagai sampel, termasuk ekstrak tumbuhan (Jami'ah *et al.*, 2018). Metode ini didasarkan pada reaksi antara senyawa DPPH dan senyawa antioksidan dalam sampel. Dalam reaksi ini, DPPH akan bereaksi dengan senyawa antioksidan dalam sampel dan membentuk senyawa yang stabil. Reaksi ini dapat diukur dengan spektrofotometri UV-Vis dan dihitung nilai IC₅₀, yaitu konsentrasi sampel yang diperlukan untuk menghambat 50% radikal bebas DPPH (Marjoni *et al.*, 2015). Sebuah penelitian yang dilakukan oleh Karagöz *et al.* (2015) mengevaluasi aktivitas antioksidan dari berbagai jenis ekstrak tumbuhan menggunakan metode DPPH. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa metode DPPH efektif dalam mengidentifikasi aktivitas antioksidan dari ekstrak tumbuhan, dan memberikan data yang konsisten dengan aktivitas antioksidan yang dilaporkan sebelumnya. Selain itu, penelitian oleh Aruoma *et al.* (2003) juga mengungkapkan keunggulan metode DPPH dalam mengukur aktivitas antioksidan dari makanan dan suplemen. Penelitian ini menyimpulkan bahwa metode DPPH memberikan hasil yang konsisten dengan metode lain yang lebih kompleks, seperti metode Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC) dan Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC).



Gambar 2.6. Struktur kimia DPPH
Sumber: (Pubchem, 2005)

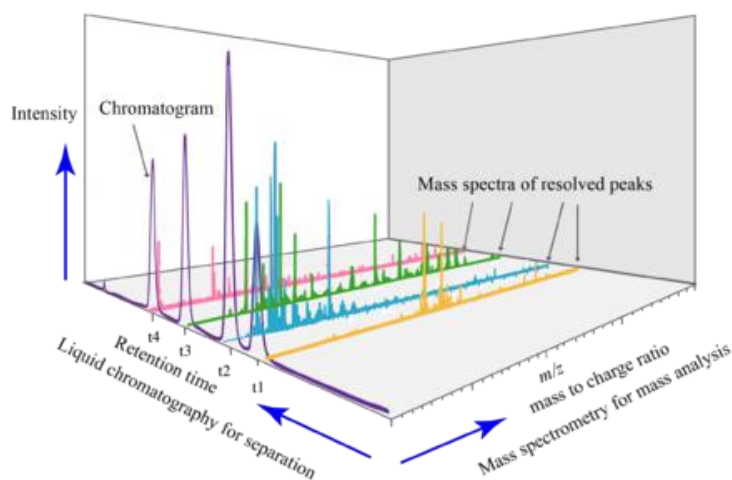
Metode DPPH juga memiliki sensitivitas yang baik dan memberikan hasil yang konsisten (Hudaya, 2011). Selain itu, metode ini dapat digunakan untuk menentukan konsentrasi optimal dari ekstrak tumbuhan yang digunakan sebagai sumber antioksidan. Hasil pengukuran dengan metode DPPH juga dapat digunakan untuk membandingkan aktivitas antioksidan pada berbagai sampel dan membantu dalam mengevaluasi efektivitas senyawa antioksidan dalam pangan dan minuman. Metode ini cukup sederhana dan cepat dilakukan sehingga dapat digunakan dalam penelitian skala besar (Fithriani *et al.*, 2015). Metode DPPH juga dapat mengukur aktivitas antioksidan dari berbagai senyawa, baik yang bersifat hidrofilik maupun lipofilik (Hardiningtyas *et al.*, 2014). Dalam pengujian antioksidan, metode DPPH merupakan salah satu metode yang paling sering digunakan dan dapat dijadikan acuan dalam penelitian ilmiah.

2.11. Analisis senyawa dengan metode LC-MS

Uji LC-MS (*Liquid Chromatography-Mass Spectrometry*) adalah teknik analisis yang kuat dalam dunia kimia analitik dan biokimia. Teknik ini

menggabungkan dua pendekatan analisis yang sangat sensitif dan selektif: kromatografi cair dan spektrometri massa (López-Fernández *et al.*, 2020). LC-MS memungkinkan pemisahan dan identifikasi senyawa dalam campuran kompleks dengan presisi tinggi (Blaženović *et al.*, 2018). Pada tahap kromatografi cair, senyawa-senyawa dielusi dari kolom berdasarkan perbedaan afinitasnya terhadap fase diam dan fase gerak cair. Selanjutnya, senyawa-senyawa ini masuk ke dalam spektrometri massa di mana mereka diionisasi dan dipecah menjadi ion-tertentu yang direkam berdasarkan perbandingan massa-ke-charge (m/z). Kelebihan teknik ini adalah kemampuannya untuk mengidentifikasi senyawa berdasarkan massa molekulnya, serta memberikan informasi mengenai struktur dan komposisi molekuler (Christianson *et al.*, 2013). LC-MS digunakan luas dalam berbagai aplikasi termasuk penelitian obat, analisis metabolomik, dan pengidentifikasian senyawa bioaktif dalam sumber daya alam. Dengan ketelitian dan kepekaan yang tinggi, teknik LC-MS membantu memahami kompleksitas sampel kimia dan biologis dengan mendalam (Theodoridis *et al.*, 2011).

Sebuah penelitian oleh Sut *et al.* (2019) telah melakukan menganalisis senyawa-senyawa aktif dalam ekstrak daun tanaman *Salvia officinalis* menggunakan metode LC-MS. Hasil analisis LC-MS mengungkapkan keberagaman senyawa, termasuk triterpenoid, flavonoid, dan asam fenolat. Beberapa senyawa yang sering dianalisis dengan LC-MS, seperti rosmarinic acid, quercetin, dan ursolic acid, dikenal memiliki potensi farmakologis yang relevan, termasuk sifat antiinflamasi dan antioksidan (Velamuri *et al.*, 2020).



Gambar 2.7. Chromatogram uji LC-MS

Penggunaan uji LC-MS (*Liquid Chromatography-Mass Spectrometry*) dalam analisis senyawa memiliki sejumlah keuntungan, yaitu ketelitian dan spesifisitas tinggi, identifikasi senyawa yang cepat, sensitivitas yang tinggi, pemisahan senyawa yang efisien. Kombinasi keunggulan-keunggulan ini membuat LC-MS menjadi alat yang sangat berharga dalam analisis senyawa, terutama ketika diperlukan sensitivitas tinggi, ketelitian, dan informasi struktural yang mendalam (Halim *et al.*, 2015).

2.12. Analisa aktivitas antioksidan secara *in-silico*

Analisis aktivitas antioksidan secara bioinformatika adalah pendekatan yang menggunakan teknik komputasi dan analisis data untuk memprediksi, memodelkan, dan memahami aktivitas antioksidan senyawa secara *in silico* (Tu *et al.*, 2018). Metode ini melibatkan penggunaan perangkat lunak dan algoritma khusus untuk menganalisis struktur molekul dan berbagai parameter yang terkait dengan aktivitas antioksidan (Caccia *et al.*, 2013).

Dalam analisis aktivitas antioksidan secara bioinformatika, langkah pertama adalah mendapatkan struktur molekul senyawa yang akan diuji. Struktur molekul ini dapat diperoleh dari berbagai sumber, termasuk database kimia dan literatur ilmiah. Kemudian, dilakukan analisis terhadap berbagai parameter fisiko-kimia dan struktur molekul, seperti polaritas, ukuran, ikatan kimia, dan kelarutan. Selain itu, dapat pula digunakan metode komputasi yang lebih kompleks seperti docking molekuler untuk memprediksi interaksi antara senyawa dengan target molekuler yang terlibat dalam mekanisme antioksidan (Liu *et al.*, 2016).

Dalam analisis bioinformatika, terdapat berbagai metode dan algoritma yang digunakan, seperti analisis deskriptif, pemodelan molekuler, dan analisis QSAR (*Quantitative Structure-Activity Relationship*) (Patel *et al.*, 2014). Metode ini memungkinkan untuk memperoleh informasi mengenai aktivitas antioksidan potensial suatu senyawa, identifikasi grup fungsional yang berperan penting dalam aktivitas antioksidan, serta pembuatan model prediktif untuk mengidentifikasi senyawa baru dengan aktivitas antioksidan yang diinginkan.

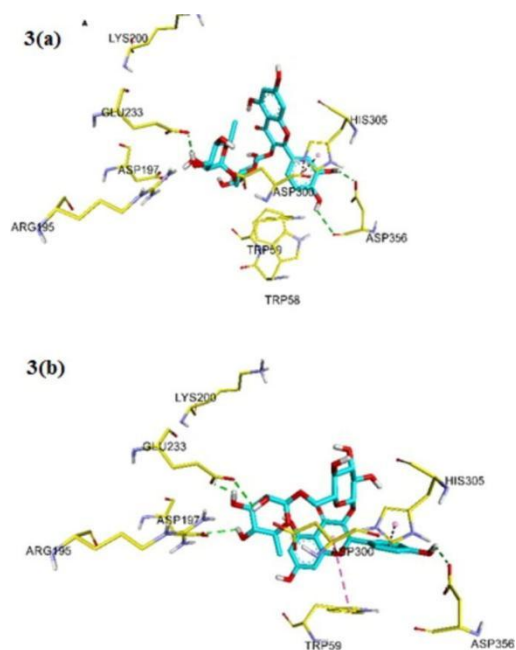
Pendekatan bioinformatika dalam analisis aktivitas antioksidan memiliki keuntungan dalam menghemat waktu dan biaya yang dibutuhkan dalam eksperimen *in vitro* dan *in vivo* (Jaiswal & Prakash, 2023). Selain itu, analisis bioinformatika dapat memberikan pemahaman yang lebih mendalam tentang mekanisme dan mengarah pada penemuan senyawa-senyawa baru dengan aktivitas molekul yang lebih baik (Baxevanis *et al.*, 2020).

Salah satu penelitian yang dilakukan oleh Xue *et al.* (2018) menggunakan pendekatan bioinformatika untuk mengidentifikasi senyawa-senyawa antioksidan potensial dari sumber daya alam. Mereka menggunakan metode molekuler

docking dengan PyRx dan virtual screening *Swiss Target Prediction* untuk mengamati interaksi antara senyawa-senyawa tersebut dengan target protein yang terlibat dalam stress oksidatif melalui mekanisme penghambatan enzim (antioksidan sekunder). Hasil penelitian ini mengungkapkan beberapa senyawa yang menunjukkan afinitas tinggi -9,6 pada senyawa quercetin dengan target protein Aldose Reductase (AKR1B1) dan berpotensi sebagai agen antioksidan sekunder.

Selain itu, penelitian oleh Koleva *et al.* (2002) menyajikan pendekatan bioinformatika yang berfokus pada pengembangan model prediksi aktivitas antioksidan. Mereka mengintegrasikan berbagai parameter molekuler dan deskriptor struktur dalam model prediksi yang dibangun menggunakan teknik machine learning. Penelitian ini menghasilkan model yang dapat memprediksi aktivitas antioksidan dengan tingkat akurasi yang tinggi, berdasarkan analisis data dari sejumlah senyawa antioksidan yang diketahui.

Pada artikel ilmiah Chigurupati *et al.* (2022) mempelajari interaksi pengikatan senyawa fenolik yang ditemukan dalam daun kelor terhadap alfa-amilase (HPA) untuk mengidentifikasi mekanisme penghambatannya secara bioinformatika.



Gambar 2.8. Interaksi ligan antara (a) Rutin dengan HPA; (b) Kaempferol-3-rutinoside dengan HPA

2.12.1. Ligan

Ligan adalah termasuk komponen penting dalam proses docking molekular. Dalam proses docking, ligand adalah molekul yang akan berinteraksi dengan protein target (reseptor). Ligan dapat berupa zat organik atau zat anorganik, seperti senyawa organik, senyawa anorganik, senyawa peptida, senyawa nukleotida, atau senyawa lainnya.

Senyawa ligand harus memiliki kemiripan konformasi dan kemiripan interaksi dengan protein tujuan untuk dapat berinteraksi stabil. Kemiripan konformasi dilakukan dengan menggunakan algoritma docking yang mengoptimalkan orientasi dan posisi ligan dalam keseluruhan proses docking. Kemiripan interaksi dilakukan dengan menggunakan algoritma scoring yang menghitung nilai energi stabilitas interaksi protein-ligand.

2.12.2. Reseptor

Reseptor merupakan protein yang berperan penting dalam sistem pertahanan tubuh terhadap radikal bebas. Molekul ini memiliki struktur khusus yang memungkinkan mereka untuk mengikat molekul antioksidan, seperti flavonoid, vitamin C, dan karotenoid. Docking molekular adalah teknik komputasi yang digunakan untuk memprediksi bagaimana molekul antioksidan berinteraksi dengan reseptor ini. Beberapa manfaat yang diperoleh diantara adalah sebagai memahami mekanisme kerja antioksidan, merancang obat baru, memprediksi toksisitas (Guedes *et al.*, 2014).

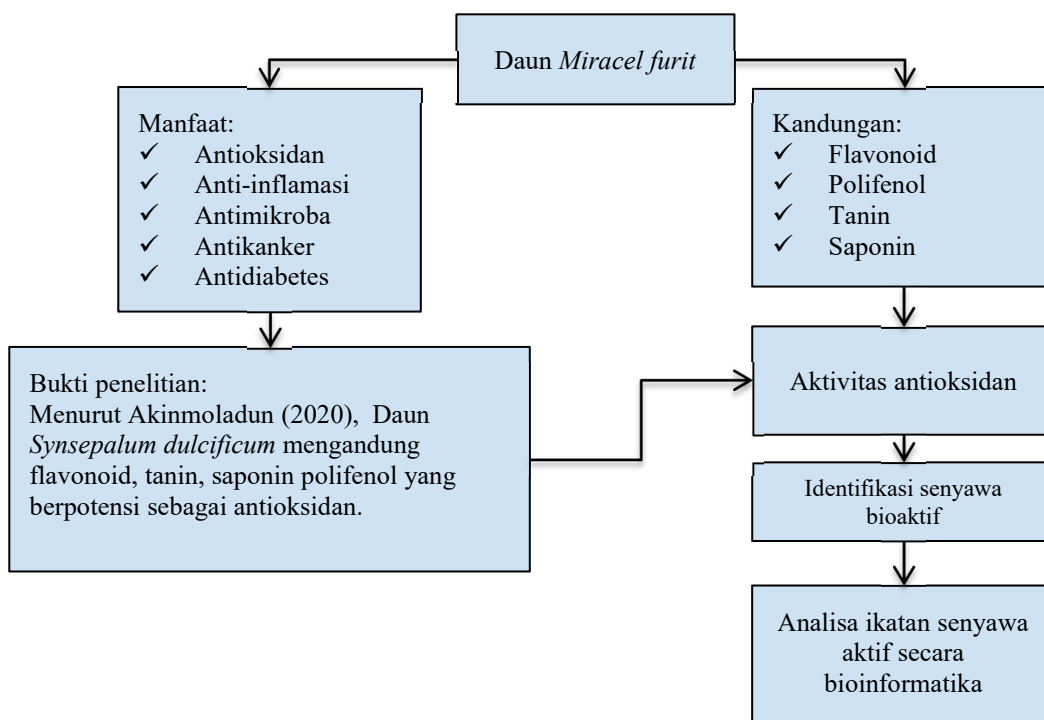
Beberapa protein target yang sering digunakan untuk docking molekuler untuk analisis antioksidan diantaranya adalah NADPH Oxidase (NOX) (Guzik & Harrison, 2006), COX-2 (cyclooxygenase-2) (Candelario-Jalil *et al.*, 2003), AR (Aldose reductase) (Hao *et al.*, 2017). Reseptor ini terlibat dalam respons seluler terhadap stres oksidatif melalui mekanisme antioksidan sekunder. Antioksidan sekunder bekerja melalui mekanisme pemadam oksigen tunggal, pengurai peroksida, pengkelat logam, penghambat enzim yang terlibat dalam stress oksidatif, atau penyerap radiasi UV (Pisoschi & Pop, 2015).

Alasan mengapa beberapa reseptor sering digunakan untuk target stress oksidatif pada docking molekuler.

1. NADPH Oxidase (NOX): NADPH oxidase merupakan enzim yang mengkatalisis reduksi molekul oksigen menggunakan NADPH sebagai donor elektron, dan menghasilkan radikal superoksida (O_2^-). NADPH oxidase adalah sumber utama ROS (reactive oxygen species) (Guzik & Harrison, 2006).

2. PTK (Protein Tyrosine Kinase): enzim yang memfosforilasi residu tirosin dalam substrat yang berbeda. PTK berperan penting dalam membantu pertumbuhan dan pembelahan sel. Berdasarkan strukturnya, PTK dapat dibagi menjadi tirosin kinase dan serine-threonine kinase. Mutasi pada PTK dapat menyebabkan pertumbuhan sel yang tidak terkendali dan berujung menjadi kanker (Hunter, 1998).
3. SOD: suatu antioksidan endogen yang bekerja dengan cara mengatur kadar ROS. Enzim kunci dalam sistem pertahanan antioksidan tubuh, yang menetralkan radikal superoksida. Flavonoid dapat meningkatkan aktivitas SOD, sehingga memperkuat pertahanan antioksidan tubuh (Aguilar *et al.*, 2016).
4. COX-2: Dalam konteks stres oksidatif atau kondisi patologis tertentu, aktivitas COX-2 dapat berkontribusi pada pembentukan radikal bebas atau meningkatkan stres oksidatif dalam sel-sel. COX-2 dapat menjadi lebih aktif atau terinduksi dalam kondisi stres oksidatif, di mana peningkatan kadar ROS dapat memodulasi aktivitas enzim. Aktivasi COX-2 dalam konteks inflamasi dapat menyebabkan peningkatan dalam produksi radikal bebas dan stres oksidatif (Candelario-Jalil *et al.*, 2003).
5. Aldose reductase (AR) adalah enzim yang mengkatalisis langkah pertama dalam jalur poliol, yang mengubah glukosa menjadi sorbitol. AR memainkan peran penting dalam jalur poliol, yang dapat menyebabkan komplikasi diabetes (Hao *et al.*, 2017).

2.13. Kerangka konsep penelitian



Gambar 2.9. Kerangka konsep penelitian

Dari gambar 2.11. tentang kerangka konsep tersebut dapat dirangkum bahwa daun *miracle fruit* memiliki kandungan senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan sehingga banyak yang menggunakan sebagai obat secara tradisional. Daun Miracle Fruit menyimpan potensi luar biasa sebagai sumber antioksidan alami. Berbagai penelitian telah menunjukkan bahwa daun Miracle Fruit kaya akan senyawa fitokimia, seperti flavonoid, tanin, saponin, dan polifenol, yang memiliki aktivitas antioksidan kuat. Senyawa-senyawa ini juga terbukti memiliki efek anti-inflamasi, antimikroba, antikanker, dan antidiabetes. Menurut Akinmoladun (2020), daun Miracle Fruit mengandung flavonoid, tanin, saponin, dan polifenol yang berpotensi sebagai antioksidan. Aktivitas antioksidan daun Miracle Fruit telah dibuktikan melalui berbagai penelitian. Senyawa fitokimia dalam daun Miracle Fruit mampu menetralkan radikal bebas, melindungi sel dari

kerusakan oksidatif, dan mengurangi peradangan. Hal ini menjadikan daun Miracle Fruit sebagai potensi sumber antioksidan alami yang menjanjikan. Identifikasi senyawa aktif dalam daun Miracle Fruit merupakan langkah penting untuk memahami mekanisme kerja antioksidannya. Berbagai metode kromatografi dan spektroskopi dapat digunakan untuk mengidentifikasi senyawa-senyawa aktif ini. Analisis ikatan senyawa aktif secara bioinformatika dapat membantu memprediksi interaksi antara senyawa fitokimia dengan radikal bebas. Hal ini dapat memberikan informasi penting tentang mekanisme kerja antioksidan daun Miracle Fruit.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan tempat penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Farmasi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang dan Lembaga Riset dan Penelitian “Ngelab Kampus Malang” pada bulan November 2023 sampai dengan bulan Februari tahun 2024.

3.2. Alat dan bahan

Dalam penelitian Alat yang diperlukan meliputi pipet volumetrik, tabung reaksi, gelas kimia, spektrofotometer UV-Vis, rotary evaporator, *Liquid Sample Mass Spectrometer* (LCMS), Laptop yang terpasang *software* PyRx, PyMoL, BIOVIA: *Discovery Studio Visualizer* (DSV). Bahan-bahan yang digunakan adalah daun *Synsepalum dulcificum* yang akan diekstraksi, bahan kimia DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) yang merupakan radikal bebas, etanol 70% sebagai pelarut. Selain itu, alat dan bahan standar laboratorium seperti neraca analitik, gelas ukur, erlenmeyer, spatula, pengaduk magnetik, dan lain sebagainya juga diperlukan untuk mendukung kelancaran percobaan ini. Dengan persiapan ini, peneliti siap untuk melakukan analisis yang diperlukan guna memahami aktivitas antioksidan dari ekstrak daun *Synsepalum dulcificum* terhadap radikal bebas.

3.3. Preparasi sampel

Daun *Synsepalum dulcificum* dicuci dan dikeringkan selama 5-7 hari dengan suhu kamar. Setelah daun kering, dilakukan penghancuran hingga menjadi serbuk halus menggunakan blender.

3.4. Ekstrak sampel

Serbuk daun sebanyak 10 gram diekstraksi dalam botol ekstraksi dengan 250 ml etanol 70%, lalu campuran tersebut diaduk secara merata dan dimaserasi 72 jam (3 hari). Setelah proses ekstraksi selesai, campuran dipisahkan dengan filtrasi menggunakan kertas saring. Cairan hasil filtrasi kemudian dipekatkan menggunakan rotary evaporator pada suhu 40°C hingga diperoleh ekstrak pekat. Hasil ekstrak dapat disimpan dalam wadah tertutup rapat pada suhu kamar, dijauhkan dari paparan sinar matahari langsung, untuk penyimpanan yang tepat. Sampel ekstrak etanol daun *Synsepalum dulcificum* siap digunakan untuk analisis lebih lanjut.

3.5. Prosedur analisa antioksidan metode DPPH

Siapkan serangkaian konsentrasi yang berbeda dari ekstrak yang akan diuji sesuai dengan perlakuan kontrol 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, 100 ppm, serta Blank DPPH. Selanjutnya, persiapkan larutan DPPH dengan mencampurkan 2-3 mg DPPH dalam 100 ml pelarut etanol, dan pastikan larutan DPPH disimpan dalam kondisi gelap dan dingin.

Dalam proses pengujian, ambil 1 ml sampel yang telah diencerkan sesuai perlakuan dan campurkan dengan 3 ml larutan DPPH. Aduk hingga merata, lalu biarkan reaksi berlangsung selama 30 menit dalam keadaan gelap. Setelah waktu reaksi, gunakan spektrofotometer untuk mengukur absorbansi cahaya larutan sampel-DPPH pada panjang gelombang 517 nm. Selanjutnya, hitung persentase pengurangan DPPH dalam larutan sampel menggunakan rumus :

$$\text{Persentase pengurangan DPPH (\%)} = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100\%$$

Keterangan:

A_0 = Absorbansi DPPH; A_1 = Absorbansi Sampel

Gunakan standar antioksidan untuk membandingkan aktivitas antioksidan sampel yang diuji. Hitung nilai IC_{50} (konsentrasi yang diperlukan untuk mengurangi DPPH sebesar 50%) dari kurva kalibrasi standar antioksidan. Semakin rendah nilai IC_{50} , semakin besar aktivitas antioksidan dalam sampel.

Penentuan nilai IC_{50} adalah dengan memplot konsentrasi sampel sebagai sumbu x dan persen inhibisi sebagai sumbu y pada persamaan $y=ax+b$. Kemudian didapatkan persamaan regresi linear yang dinyatakan sebesar 50, a = slope (kemiringan kurva), b = intercept (titik potong kurva dengan sumbu Y), dan selanjut menghitung nilai x. Nilai x yang diperoleh dihitung nilai antilog(x)nya dengan formula $EXP(x)$ menggunakan *software* WPS Office sehingga didapatkan nilai IC_{50} (ppm).

Tabel 3.1. Kriteria kekuatan sampel untuk uji antioksidan ekstrak etanol daun *Synsepalum dulcificum*

Kategori kekuatan sampel	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
Sangat kuat	< 50
Kuat	50 - 100
Sedang	101-250
Lemah	251-500
Sangat lemah	> 500

Sumber: (Marjoni & Zulfisa, 2017)

Kategori kekuatan sampel seperti tabel 3.1. di atas didasarkan pada nilai IC_{50} (konsentrasi yang menghasilkan 50% aktivitas penangkapan radikal bebas) yang dihasilkan dari uji antioksidan ekstrak etanol daun *Synsepalum dulcificum*. Sampel yang memiliki nilai IC_{50} yang lebih rendah menunjukkan kekuatan antioksidan yang lebih kuat, sementara sampel yang memiliki nilai IC_{50} yang lebih tinggi menunjukkan kekuatan antioksidan yang lebih lemah. Kategori kekuatan sampel ini dapat digunakan untuk mengevaluasi kekuatan antioksidan dari ekstrak

etanol daun *Synsepalum dulcificum* dan dapat membantu dalam memilih sampel yang paling efektif untuk penggunaan sebagai antioksidan.

3.6. Prosedur analisis senyawa dengan LC-MS

Dalam penelitian ini senyawa yang diidentifikasi terbatas pada flavonoid dan saponin. Sampel diinjeksikan ke dalam sistem LC-MS menggunakan injektor otomatis. Kolom LC yang telah dikondisikan sebelumnya digunakan untuk pemisahan senyawa. LC dijalankan pada kondisi operasional yang telah ditetapkan, termasuk parameter seperti fase gerak, laju alir, dan suhu kolom. Detektor massa yang terintegrasi dengan LC digunakan untuk merekam sinyal massa dari senyawa-senyawa yang terpisah. Analisis LC-MS menghasilkan kromatogram dan spektrum massa yang memberikan informasi tentang identitas dan kuantitas senyawa dalam ekstrak daun *Synsepalum dulcificum*.

3.6.1. Preparasi standar

Langkah pertama dalam preparasi standar adalah menyiapkan larutan biotin standar dengan konsentrasi 1 mg/L. Untuk melakukan ini, 25 μ L larutan standar biotin 1000 mg/L di pipet ke dalam labu ukur 25 mL. Air deionisasi kemudian ditambahkan ke labu ukur hingga mencapai garis batas 25 mL. Larutan kemudian dihomogenkan dengan cara menggoyangkan labu ukur dengan hati-hati. Langkah kedua dalam preparasi standar adalah menyiapkan larutan standar kloramfenikol dengan konsentrasi 1 ppm. Untuk melakukan ini, 25 μ L larutan standar kloramfenikol 1000 mg/L di pipet ke dalam labu ukur 25 mL. Air deionisasi kemudian ditambahkan ke labu ukur hingga mencapai garis batas 25 mL. Larutan kemudian dihomogenkan dengan cara menggoyangkan labu ukur dengan hati-hati (Qiao *et al.*, 2013).

3.6.2. Preparasi sampel

Langkah pertama dalam preparasi sampel adalah menimbang massa sampel yang akan dianalisis. Sampel kemudian ditambahkan ke dalam labu ukur 10 mL. Langkah kedua dalam preparasi sampel adalah menambahkan metanol atau pelarut yang sesuai ke dalam labu ukur 10 mL. Larutan kemudian dihomogenkan dengan cara menggoyangkan labu ukur dengan hati-hati. Langkah ketiga dalam preparasi sampel adalah impitkan larutan dengan metanol atau pelarut yang sesuai dan homogenkan. Larutan kemudian ditempatkan pada vortex mixer dan di-vortex selama 30 detik. Langkah keempat dalam preparasi sampel adalah saring larutan dengan membrane filter GHP/PT (Qiao *et al.*, 2013).

3.6.3. Pengukuran instrumen

Langkah pertama dalam pengukuran instrumen adalah mengatur kolom LC. Kolom LC dipilih berdasarkan sifat sampel yang akan dianalisis. Kolom LC kemudian dipasang ke dalam sistem LC. Langkah kedua dalam pengukuran instrumen adalah mengatur fase gerak. Fase gerak dipilih berdasarkan sifat sampel yang akan dianalisis. Fase gerak kemudian dituangkan ke dalam reservoir sistem LC. Langkah ketiga dalam pengukuran instrumen adalah mengatur pengaturan MS. Pengaturan MS dipilih berdasarkan jenis senyawa yang ingin diidentifikasi dan diukur. Langkah keempat dalam pengukuran instrumen adalah injeksi sampel. Sampel yang telah disiapkan diinjeksikan ke dalam sistem LC. Langkah kelima dalam pengukuran instrumen adalah analisis data. Data yang dihasilkan oleh sistem LCMS dianalisis untuk mengidentifikasi dan mengukur senyawa yang ada dalam sampel (Qiao *et al.*, 2013).

3.6.4. Screening fisikokimia Lipinski

Aturan Lipinski adalah seperangkat kriteria yang digunakan dalam penelitian obat untuk mengevaluasi kelayakan suatu senyawa kimia sebagai obat yang potensial berdasarkan sifat fisikokimia tertentu (B. Fernandes et al., 2016). Dalam konteks docking molekuler, aturan ini dapat menjadi panduan penting dalam memilih senyawa-senyawa yang akan diuji secara virtual untuk interaksi dengan target biologis tertentu. Aturan ini mempertimbangkan parameter seperti berat molekul, log P (koefisien partisi oktanol-air), jumlah atom donor dan akseptor Hidrogen, serta indeks rotasi kendali. Penggunaan aturan Lipinski dalam docking molekuler membantu menyaring kandidat-kandidat yang paling mungkin memiliki aktivitas biologis yang diinginkan, sehingga mempercepat dan memperbaiki proses desain obat. Beberapa aturan lipinski adalah Massa molekul kurang dari 500 Dalton, Lipofilisitas tinggi (dinyatakan sebagai LogP kurang dari 5), Kurang dari 5 donor ikatan hidrogen, Kurang dari 10 akseptor ikatan hidrogen, Refraktivitas molar harus antara 40-130 (Nuraini, 2021)

3.6.5. Interpretasi hasil

Proses screening zat aktif bahan alam menggunakan LC-MS/MS-QTOF dilakukan dengan perangkat lunak UNIFI yang didalamnya telah memiliki library spektrum massa zat aktif bahan alam dari database waters. Perangkat lunak UNIFI dapat melakukan identifikasi spektrum massa senyawa dalam sampel yang kemudian dicocokkan dengan spektrum massa yang ada pada library (Qiao *et al.*, 2013).

3.7. Prosedur analisa aktivitas antioksidan secara *in-silico*

Uji *in silico* diperlukan untuk memprediksi interaksi antara senyawa obat dengan protein target, seperti enzim atau biasa disebut reseptor. Untuk menentukan senyawa yang memiliki potensi aktivitas antioksidan diperlukan *software* *Pyrx*, *PyMoL*, dan *Discovery Studio Visualizer (DSV)*. Selain menggunakan *software* tersebut juga diperlukan aplikasi berbasis website yaitu *way2drug-passonline* (<https://www.way2drug.com/passonline/>), *Swiss Target prediction* (http://www.swissdock.ch/target_proteins), dan *STRING* (<https://string-db.org/>).

3.7.1. Persiapan ligan

Senyawa dari uji LC-MS diambil berdasarkan 5 senyawa yang memiliki intensitas tertinggi dan memiliki aktivitas antioksidan. Senyawa tersebut diidentifikasi kemudian diunduh struktur senyawanya dari data base *PubChem* (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) dengan format *.sdf. Untuk memastikan senyawa mampu menghambat reseptor maka diperlukan ligan standar yang mampu menghambat reseptor. Ligan standar ditentukan dengan studi literatur dari penelitian terkait.

3.7.2. Prediksi dan persiapan reseptor

untuk memprediksi protein target maka, gunakan situs web *Swiss Target Prediction* (<http://www.swisstargetprediction.ch/>) untuk mengetahui prediksi protein target dari senyawa aktif. Website ini menggunakan metode komputasi untuk memprediksi target protein berdasarkan struktur dan sifat senyawa aktif tersebut. Setelah mendapatkan data protein target, lakukan analisis lebih lanjut menggunakan situs web *STRING* (<https://string-db.org/>) dengan kata kunci

"*antioxidant*" dan "*inhibitor radical*". STRING adalah database interaksi protein-protein yang menyediakan informasi lengkap tentang interaksi protein, termasuk hubungan fungsional dan peran biologis potensial. Dengan memfilter data protein target menggunakan kata kunci, maka reseptor akan berfokus pada protein yang berperan dalam mekanisme antioksidan dan penangkal radikal bebas.

Hasil identifikasi reseptor yang telah diperoleh diunduh pada website RCSB Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org/>). Reseptor yang diambil merupakan klasifikasi enzim Oxidoreductase (XOR) dan dari organisme homo sapien. Setelah mengunduh reseptor dari PDB, maka tahap selanjutnya menentukan inhibitor yang sesuai terhadap reseptor dengan studi literatur yang akan digunakan sebagai standar ligan.

3.7.3. Docking molecular

Sebelum digunakan untuk proses *docking*, maka Reseptor terlebih dahulu dilakukan preparasi sampel dengan software *BIOVIA: Discovery Studio Visualizer*. Preparasi sampel dilakukan dengan menghilangkan water, dan ligan yang telah berikatan, sehingga reseptor yang digunakan adalah reseptor murni, kemudian disimpan dalam format *.pdb.

Docking molecular dilakukan menggunakan software PyRx. Hasil docking kemudian dianalisis ikatan residu serta energi *binding affinity* yang terjadi berdasarkan reaksinya. Kemudian tahap selanjutnya menjelaskan *Signaling Pathway* pada proses ikatan reseptornya menggunakan software PyMoL dan *BIOVIA: Discovery Studio Virtualization*.

3.8. Analisis data

Data uji in-vitro dianalisis menggunakan ANOVA (*Analysis of Variance*). Dalam analisis ini, pengukuran aktivitas antioksidan ekstrak daun *Synsepalum dulcificum* pada berbagai perlakuan, kemudian data absorbansi yang diperoleh diolah dengan menggunakan ANOVA untuk menguji perbedaan signifikan antara rata-rata kelompok yang dibandingkan dengan kepercayaan 5% dengan menggunakan *software SPSS*. Sedangkan uji in-silico dianalisis secara deskriptif dengan *software BIOVIA: Discovery Studio Virtualization* dengan menganalisa *Binding Affinity* dan residu yang terbentuk dianalisis kaitannya untuk dibandingkan dengan standar ligan.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Analisa aktivitas antioksidan metode DPPH

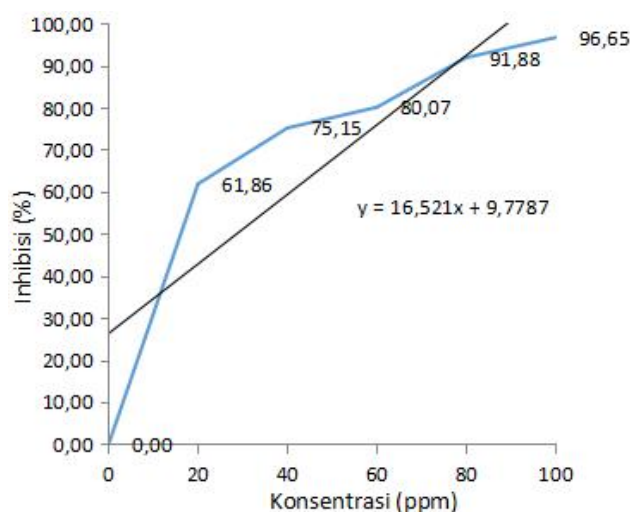
Analisis antioksidan dengan DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) bertujuan untuk mengukur kemampuan sampel dalam menetralkan radikal bebas DPPH (Sirivibulkovit *et al.*, 2018). Radikal bebas DPPH merupakan radikal stabil yang berwarna ungu tua. Ketika sampel dicampurkan dengan larutan DPPH, sampel dapat mendonorkan elektronnya untuk menetralkan radikal bebas DPPH, sehingga warna larutan berubah menjadi kuning pucat. Semakin besar kemampuan sampel dalam menetralkan radikal bebas DPPH, semakin banyak pula warna larutan yang berubah menjadi kuning pucat. Hasil analisa antioksidan dengan metode DPPH dapat dilihat pada tabel 4.1. dibawah ini :

Tabel 4.1. Hasil analisa aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun *Synsepalum dulcificum*

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Inhibisi
Blanko DPPH	1,016±0	0±0
20	0,39±0,009	61,61±0,84
40	0,25±0,010	75,39±0,98
60	0,2±0,010	80,31±0,98
80	0,08±0,006	92,13±0,57
100	0,03±0,006	97,05±0,57

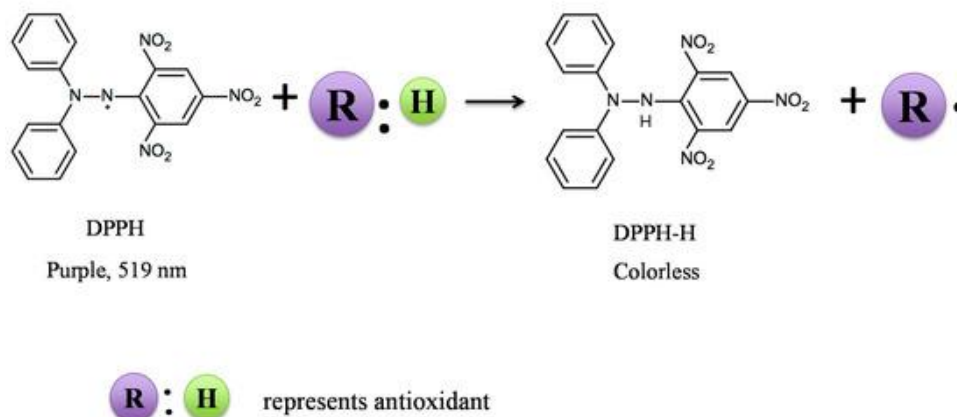
Berdasarkan hasil uji DPPH yang tertera pada tabel 4.1, dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun *Synsepalum dulcificum* memiliki aktivitas antioksidan. Hal ini dibuktikan dengan penurunan absorbansi larutan DPPH yang signifikan seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak etanol.

Pada konsentrasi 100 ppm, absorbansi larutan DPPH hanya 0,03, yang menunjukkan bahwa 96,65% radikal bebas DPPH telah dinetralkan. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun pepaya pada konsentrasi 100 ppm memiliki nilai IC_{50} yang lebih kecil dari 50 ppm yang berarti ekstrak etanol memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat (Marinova & Batchvarov, 2011).



Gambar 4.1. Aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun *Synsepalum dulcificum*

Gambar 4.1 menunjukkan bahwa terdapat hubungan linear positif antara konsentrasi ekstrak etanol daun *Synsepalum dulcificum* dengan persentase inhibisi DPPH. Hal ini berarti bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol daun *Synsepalum dulcificum*, semakin tinggi pula persentase inhibisi DPPH. Persamaan regresi linier yang diperoleh adalah $y = 16,521x + 9,7787$, di mana y adalah persentase inhibisi DPPH 50% sehingga nilai IC_{50} didapatkan dengan nilai $\text{antilog}(x)$ yaitu 11,4108. Menurut Sukweenadhi *et al.* (2020), nilai $IC_{50} < 50$ ppm diklasifikasikan memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat.



Gambar 4.2. Reaksi DPPH dengan senyawa antioksidan
Sumber: (Liang & Kitts, 2014)

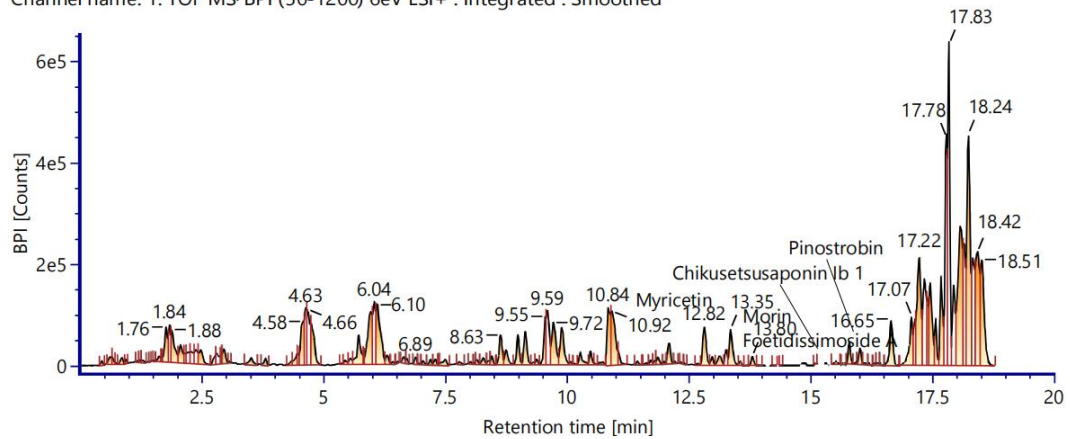
Mekanisme antioksidan terhadap DPPH dengan cara melepaskan unsur Hidrogen dan menempel pada DPPH (Gambar 4.2), sehingga menjadi lebih stabil. Menurut Mahmudatuss'adah *et al.* (2014) aktivitas penangkap radikal DPPH oleh suatu senyawa antioksidan dapat diketahui dari penyusunan absorbansi pada panjang gelombang 517 nm yang terjadi akibat reduksi radikal DPPH oleh antioksidan (AH). Semakin tinggi aktivitas antioksidan maka nilai absorbansinya semakin kecil (Topal *et al.*, 2016).

4.2. Analisa hasil LC-MS

Metode LC-MS menggunakan dua metode utama yaitu *Liquid Chromatography* (LC) dan *Mass Spectrometry* (MS). LC digunakan untuk memisahkan senyawa berdasarkan sifat-sifat kimia yang berbeda, seperti polaritas, ukuran, dan elektrisitas. MS digunakan untuk mengukur massa-massa senyawa yang dihasilkan oleh LC dan mengidentifikasi senyawa berdasarkan massa-massa tersebut (López-Fernández *et al.*, 2020). Hasil analisa uji LC-MS senyawa dari golongan flavonoid, saponin, dan tanin pada ekstrak daun *Synsepalum dulcificum* dapat dilihat pada tabel dan gambar berikut ini:

Item name: 240116_312 R 55_1_Pos

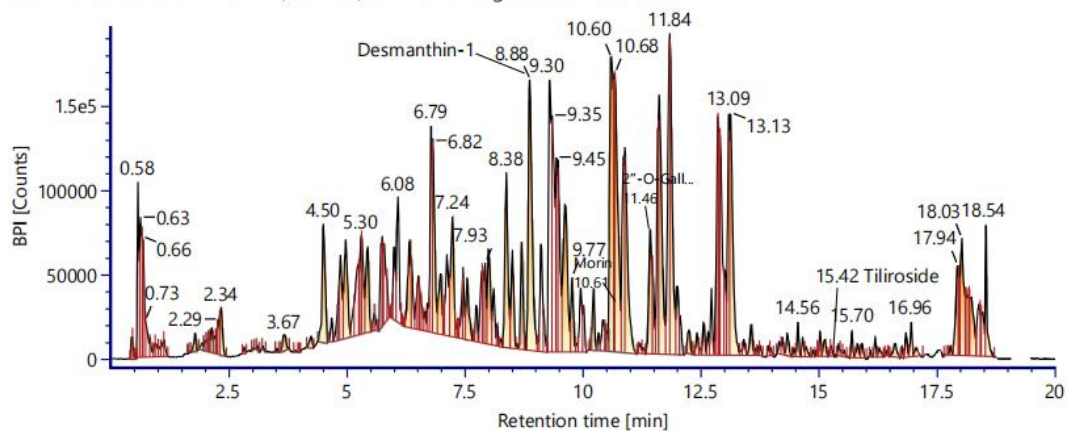
Channel name: 1: TOF MS⁺ BPI (50-1200) 6eV ESI+ : Integrated : Smoothed



(a)

Item name: 240116_312 R 55_1_Neg

Channel name: 1: TOF MS⁻ BPI (50-1200) 6eV ESI- : Integrated : Smoothed



(b)

Gambar 4.3. a) BPI Plot ekstrak daun *Synsepalum dulcificum* dengan ESI mode positif [+H]; b) BPI Plot ekstrak daun *Synsepalum dulcificum* dengan ESI mode negatif [-H]

Gambar tersebut menunjukkan plot BPI Sampel 1. Plot ini menggambarkan jumlah ion yang terdeteksi dalam sampel selama periode waktu tertentu. Sumbu X menunjukkan waktu retensi dalam menit. Sumbu Y menunjukkan jumlah ion yang terdeteksi (BPI) dalam hitungan. Tingginya nilai BPI menunjukkan bahwa sampel tersebut mengandung konsentrasi senyawa yang tinggi pada waktu retensi tersebut. Secara keseluruhan, plot BPI Sampel 1 menunjukkan bahwa sampel tersebut mengandung berbagai senyawa dengan konsentrasi yang bervariasi.

Tabel 4.2. Hasil analisis senyawa aktif dengan metode LC-MS

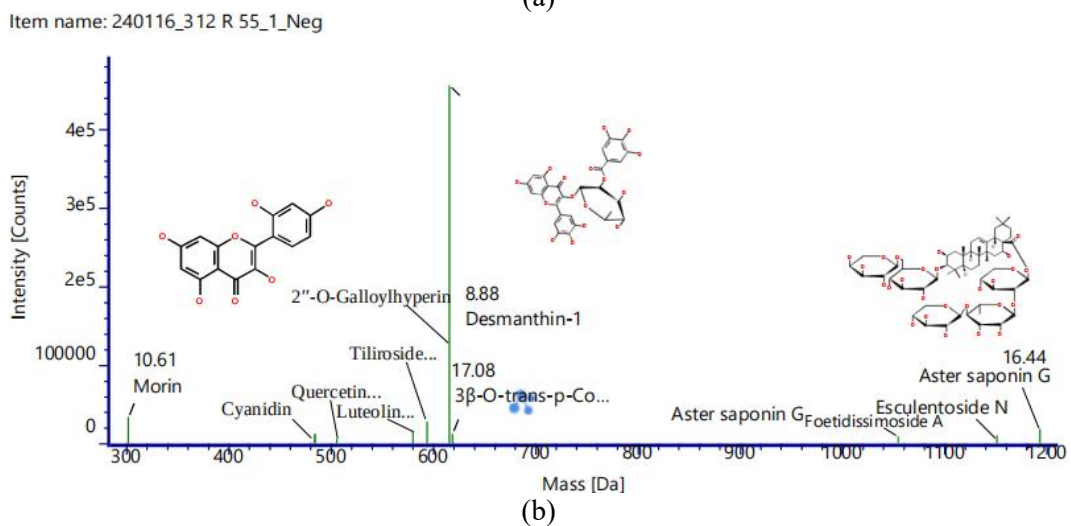
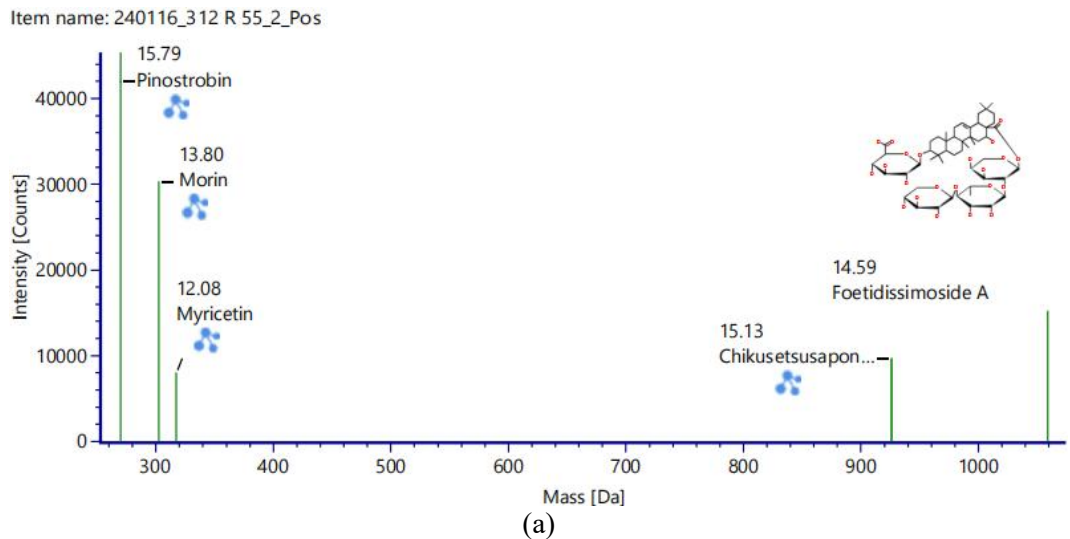
ESI mode	Golongan	Senyawa	Rumus molekul	Waktu Retensi	Berat molekul	
					Massa hitung	Massa terukur
(+)	Flavonoid	Morin	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	13,80	302.23	303,0498
(+)	Flavonoid	Myricetin	C ₁₅ H ₁₀ O ₈	12,09	318.23	319,0451
(+)	Flavonoid	Pinostrobin	C ₁₆ H ₁₄ O ₄	15,79	270.28	271,0956
(-)	Flavonoid	2''-O-Galloylhyperin	C ₂₈ H ₂₄ O ₁₆	11,47	616.5	615,0975
(-)	Flavonoid	Cyanidin 3-glucoside Chloride	C ₂₁ H ₂₁ ClO	10,71	484.8	483,0692
(-)	Flavonoid	Desmanthin-1	C ₂₈ H ₂₄ O ₁₆	8,88	616.5	615,0982
(-)	Flavonoid	Luteolin-7-O-[β-D-apiofuranosyl(1→6)]β-D-glucopyranoside	C ₂₆ H ₂₈ O ₁₅	9,71	580.5	579,1353
(-)	Flavonoid	Quercetin-3-O-(6''-O-acetyl)-β-D-glucopyranoside	C ₂₃ H ₂₂ O ₁₃	15,87	506.4	505,0971
(-)	Flavonoid	Tiliroside	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₃	15,42	594.5	593,1276
(+)	Saponin	Chikusetsusaponin Ib 1	C ₄₇ H ₇₄ O ₁₈	15,13	927.1	927,4934
(+)	Saponin	Foetidissimoside A / Aesculioside IIb	C ₅₂ H ₈₂ O ₂₂	14,60	1059.2	1059,5358
(-)	Saponin	3β-O-trans-p-Coumaroyl-2α-hydroxyolean-12-en-28-oic acid	C ₃₉ H ₅₄ O ₆	17,08	618.8	617,3852
(-)	Saponin	Aster saponin G	C ₅₇ H ₉₂ O ₂₆	16,44	1193.3	1191,5763
(-)	Saponin	Esculentoside N	C ₅₄ H ₈₆ O ₂₆	15,97	1151.2	1149,5253
(+)	Tanin	-	-	-	-	-
(-)	Tanin	-	-	-	-	-

Dari tabel 4.2 didapatkan 14 senyawa yang telah teridentifikasi yaitu 9 senyawa dari golongan flavonoid dan 5 dari golongan saponin. Sementara itu tidak ditemukan senyawa dari golongan tanin. Hal ini mungkin dikarenakan adanya interferensi yang mengakibatkan tumpang tindih dengan senyawa lain dalam sampel yang memiliki sinyal yang lebih kuat atau terletak pada waktu retensi yang sama dalam LC (*liquid chromatography*), sehingga membuatnya sulit untuk dideteksi secara terpisah (Sitnikov *et al.*, 2016).

4.3. Analisis senyawa aktif dengan intensitas tertinggi

Analisis ini bertujuan untuk mengidentifikasi jumlah senyawa yang terkandung pada ekstrak berdasarkan intensitas tertinggi. Component Plot

menggambarkan data kromatografi yang dihasilkan oleh LC-MS, yang menunjukkan retention time (waktu retensi) dan intensitas (intensitas) senyawa yang diangkut oleh chromatografi. Di samping itu, Component Plot juga menggambarkan data massa-massa ion yang dihasilkan oleh MS, yang menunjukkan massa-massa ion yang diukur oleh *mass analyzer*.



Gambar 4.4. *Component Plot*: a) menggunakan ion positif (+); b) menggunakan ion negatif (-)

Gambar 4.4 merupakan *Component Plot* spektrum massa, yang menunjukkan distribusi ion berdasarkan rasio massa pada sumbu x dan intensitas pada sumbu y. Setiap puncak spektrum mewakili fragmen ion dengan nilai

tertentu. Ketinggian puncak sesuai dengan kelimpahan (intensitas) fragmen ion tersebut. Dari gambar tersebut maka kita dapat menentukan 5 senyawa dengan intensitas tertinggi yang dapat dilihat pada tabel berikut:

Tabel 4.3. Data senyawa yang memiliki nilai intensitas tertinggi

No	Golongan	ESI Mode	Senyawa
1	Flavonoid	[-H]	Desmanthin-1
2	Flavonoid	[-H]	2''-O-Galloylhyperin
3	Flavonoid	[+H]	Pinostrobin
4	Flavonoid	[+H],[-H]	Morin
5	Flavonoid	[-H]	Tiliroside

Dari tabel 4.3 menunjukkan bahwa 5 senyawa dengan intensitas tertinggi didominasi oleh golongan flavonoid. Senyawa desmanthin-1 menempati urutan pertama dengan intensitas paling tinggi dengan menggunakan ESI Mode [-H]. Kemudian dari 5 senyawa yang diperoleh maka kita dapat melakukan docking molekular untuk menguji secara *in silico*.

4.4. *Screening* aktivitas antioksidan

Senyawa hasil identifikasi perlu diidentifikasi aktivitas antioksidannya dengan metode *screening*. *Screening* aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan aplikasi PassOnline berbasis website (<https://www.way2drug.com/passonline/>). Hasil validasi aktivitas senyawa aktif dapat dilihat pada tabel 4.4 berikut ini:

Senyawa yang memiliki probability active (pa) paling tinggi adalah senyawa Myricetin dengan nilai 0,924. Terdapat senyawa yang memiliki $pa < 0,7$ yang perlu dilakukan uji Laboratorium (Salgueiro *et al.*, 2016). Senyawa yang memiliki probability $pa < 0,7$ adalah Pinostrobin, Chikusetsusaponin Ib 1, Aesculioside Iib,

3 β -O-trans-p-Coumaroyl-2 α -hydroxyolean- 12-en-28-oic acid, Aster saponin G, Esculentoside N (Tabel 4.3.).

Tabel 4.4. Screening aktivitas antioksidan

NO	Senyawa	Aktivitas antioksidan	Pa	Pi
1	Morin	positif	0,850	0,003
2	Myricetin	positif	0,924	0,003
3	Pinostrobin	positif	0,684	0,004
4	2''-O-Galloylhyperin	positif	0,884	0,003
5	Cyanidin 3-glucoside	positif	0,775	0,004
6	Desmanthin-1	positif	0,900	0,003
7	Luteolin-7-O-[β -D-apiofuranosyl(1 \rightarrow 6)] β -D-glucopyranoside	positif	0,835	0,003
8	Quercetin-3-O-(6''-O-acetyl)- β -D- glucopyranoside	positif	0,881	0,003
9	Tiliroside	positif	0,910	0,003
10	Chikusetsusaponin Ib 1	positif	0,615	0,004
11	Aesculioside IIb	positif	0,524	0,006
12	3 β -O-trans-p-Coumaroyl-2 α -hydroxyolean- 12-en-28-oic acid	positif	0,466	0,008
13	Aster saponin G	positif	0,694	0,004
14	Esculentoside N	positif	0,601	0,005

4.5. Docking molecular

Penggunaan metode docking molekuler dalam penelitian Analisis Antioksidan memiliki peran yang krusial dalam memahami interaksi antara senyawa-senyawa aktif dan target reseptor. Dengan mengadopsi pendekatan komputasional ini, penelitian bertujuan untuk mengevaluasi potensi aktivitas antioksidan dari senyawa aktif melalui simulasi interaksi dengan berbagai target protein yang terlibat dalam proses antioksidan.

4.5.1. Screening dengan aturan lipinski

Aturan Lipinski adalah seperangkat kriteria yang digunakan dalam penelitian obat untuk mengevaluasi kelayakan suatu senyawa kimia sebagai obat

yang potensial berdasarkan sifat fisikokimia tertentu (B. Fernandes *et al.*, 2016). Dalam konteks docking molekuler, aturan ini dapat menjadi panduan penting dalam memilih senyawa-senyawa yang akan diuji secara virtual untuk interaksi dengan target biologis tertentu. Aturan ini mempertimbangkan parameter seperti berat molekul, log P (koefisien partisi oktanol-air), jumlah atom donor dan akseptor Hidrogen, serta indeks rotasi kendali. Penggunaan aturan Lipinski dalam docking molekuler membantu menyaring kandidat-kandidat yang paling mungkin memiliki aktivitas biologis yang diinginkan, sehingga mempercepat dan memperbaiki proses desain obat. Beberapa aturan lipinski adalah Massa molekul kurang dari 500 Dalton, Lipofilisitas tinggi (dinyatakan sebagai LogP kurang dari 5), Kurang dari 5 donor ikatan hidrogen, Kurang dari 10 akseptor ikatan hidrogen, Refraktivitas molar harus antara 40-130 (Nuraini, 2021)

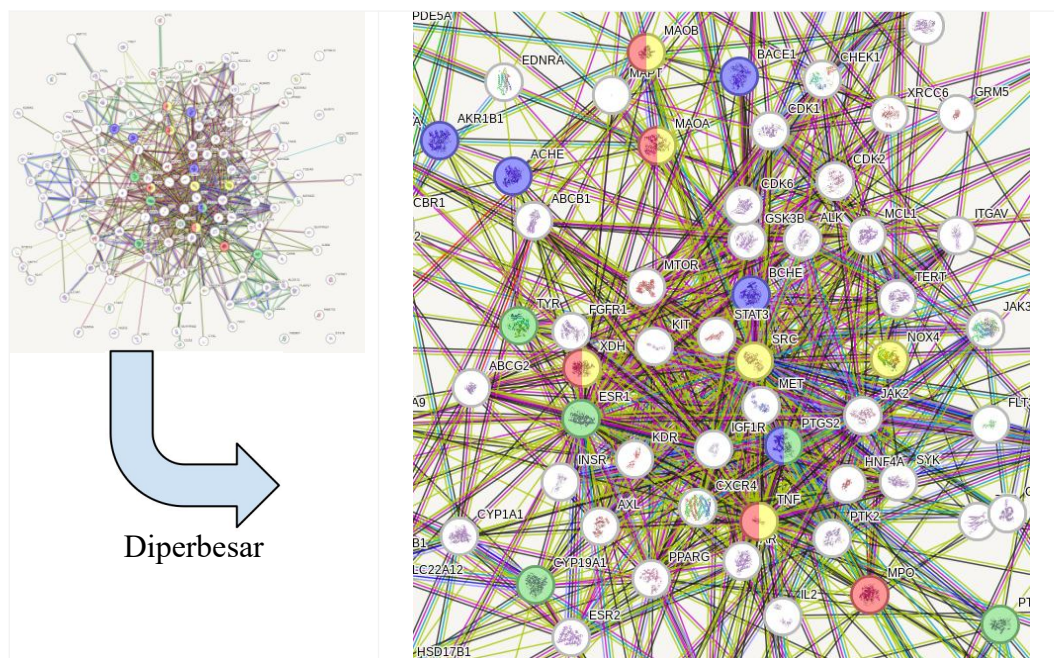
Tabel 4.5. Screening aktivitas sifat fisiko kimia dengan lipinski

NO Ligan	Mass	HBD	HBA	LogP	MR
1 Morin	302	5	7	2,010900	74,050476
2 Myricetin	318	6	8	1,716500	75,715279
3 Pinostrobin	270	1	4	3,107298	73,417282
4 2''-O-Galloylhyperin	616	10	16	0,250901	140,906982
5 Cyanidin 3-glucoside Chloride	449	8	11	0,191990	106,450348
6 Desmanthin-1	616	10	16	0,984100	141,159973
7 Luteolin-7-O-[[β -D-apiofuranosyl(1 \rightarrow 6)] β -D-glucopyranoside	580	11	15	-2,205899	131,912247
8 Quercetin-3-O-(6''-O-acetyl)- β -D-glucopyranoside	506	7	13	-0,159800	115,821037
9 Tiliroside	594	7	13	1,533700	145,623154
10 Chikusetsusaponin Ib 1	852	0	18	-2,423450	175,468048
11 Foetidissimoside A / Aesculioside IIb	976	0	22	-4,256071	193,591034
12 3β-O-trans-p-Coumaroyl-2α-hydroxyolean- 12-en-28-oic acid	312	5	6	-0,053101	77,145782
13 Aster saponin G	1.100	0	26	-5,268838	214,893982
14 Esculentoside N	1.064	0	26	-6,769628	209,919556

Dari tabel 4.5 dapat diketahui bahwa senyawa yang memiliki persyaratan sesuai dengan aturan lipinski adalah Morin, Pinostrobin, dan 3 β -O-trans-p-Coumaroyl-2 α -hydroxyolean- 12-en-28-oic acid. Senyawa yang telah memenuhi standar lipinski selanjutnya akan dilakukan uji docking molekuler untuk mengetahui aktivitas penghambat protein/enzim oksidatif.

4.5.2. Ligan dan reseptor target

PubChem adalah database senyawa kimia yang memberikan informasi tentang struktur, sifat, dan aktivitas biologisnya. Data senyawa aktif yang diperoleh kemudian diunduh pada website PubChem. Senyawa aktif dari PubChem memiliki ID 73201 (pinostrobin), ID 5281670 (Morin), dan 70680259 (3 β -O-trans-p-Coumaroyl-2 α -hydroxyolean- 12-en-28-oic acid).



Gambar 4.5. Jaringan antara protein target antioksidan

Setelah mendapatkan ligan dari PubChem, maka tahap selanjutnya adalah memprediksi senyawa aktif dengan memanfaatkan website Swiss Target Prediction. Hasil dari prediksi didapatkan 177 protein target yang memiliki

hubungan dengan senyawa aktif. Data protein target kemudian dianalisis menggunakan website STRING (gambar 4.5).

Jaringan berdasarkan data dari STRING, dideskripsikan memiliki 140 node dan 808 tepi, dengan derajat simpul rata-rata sebesar 11.5. Rata-rata koefisien pengelompokan lokal mencapai 0.555, menunjukkan adanya clusterisasi yang signifikan dalam jaringan tersebut. Melihat jumlah tepi yang diharapkan sebesar 332, kita melihat bahwa jaringan ini memiliki lebih banyak interaksi secara signifikan daripada yang diharapkan. Hal ini dinyatakan secara signifikan dengan nilai p pengayaan PPI yang sangat kecil, kurang dari $1.0e-16$. Ini menunjukkan bahwa jaringan tersebut memiliki pola interaksi yang lebih kompleks dan kaya daripada yang mungkin terjadi secara acak, mengindikasikan adanya struktur yang berarti dalam jaringan tersebut (Gambar 4.5).

Tabel 4.6. Screening prediksi target protein

No	Kode	Nama Target	ID PDB	Class	Interaksi ligan
1	AKR1B1	Aldose reductase	1ADS	Oxidoreductase	3
2	PTGS2	Cyclooxygenase-2 (COX-2)	1CX2	Oxidoreductase	3
3	NOX4	NADPH oksidase 4	1BKJ	Oxidoreductase	3
4	ACHE	Acetylcholinesterase	4M0E	Hydrolase	2
5	XDH	Xanthine dehydrogenase (Xantin oksidase)	3EUB	Oxidoreductase	2
6	BCHE	Butyrylcholinesterase	5DYW	Hydrolase	2
7	TNF	TNF-alpha	7ASY	Membrane Protein	2
8	ESR1	Estrogen receptor alpha	4AA6	Transcription/Dna	2
9	CYP19A1	Cytochrome P450 19A1	5JKV	Oxidoreductase	2
10	SRC	Tyrosine-protein kinase SRC	7A3D	Protein Binding	2
11	BACE1	BACE1	3R2F	Hydrolase	1
12	MAOA	Monoamine oxidase A	2BXR	Oxidoreductase	1
13	MAOB	Monoamine oxidase B	1OJD	Oxidoreductase	1
14	MPO	Myeloperoxidase	4DL1	Oxidoreductase	1
15	TYR	Tyrosinase	1WX2	Oxidoreductase	1
16	PTGS1	cyclooxygenase-1 (COX-1)	6Y3C	Oxidoreductase	1

4.5.3. Prediksi protein target

Protein target yang diperoleh dari prediksi Swiss Target Prediction dan STRING kemudian dipilih dengan ketentuan (1) Dari golongan klasifikasi reaksi oksidoreduktase, (2) Protein/enzim yang terlibat dalam reaksi Stress Oksidatif sehingga perlu adanya inhibitor untuk menghambat reaksi tersebut, (3) Jumlah ligan yang diprediksi mampu berikatan dengan protein target. Hasil identifikasi didapatkan 3 protein target yaitu NADPH Oxidase (NOX) ID PDB: 1BKJ, Cyclooxygenase-2 (COX-2/PTGS2) ID PDB: 1CX2, dan Aldose reductase (AR/AKR1B1) ID PDB: 1ADS (Tabel 4.5).

Tabel 4.7. Hasil prediksi protein target

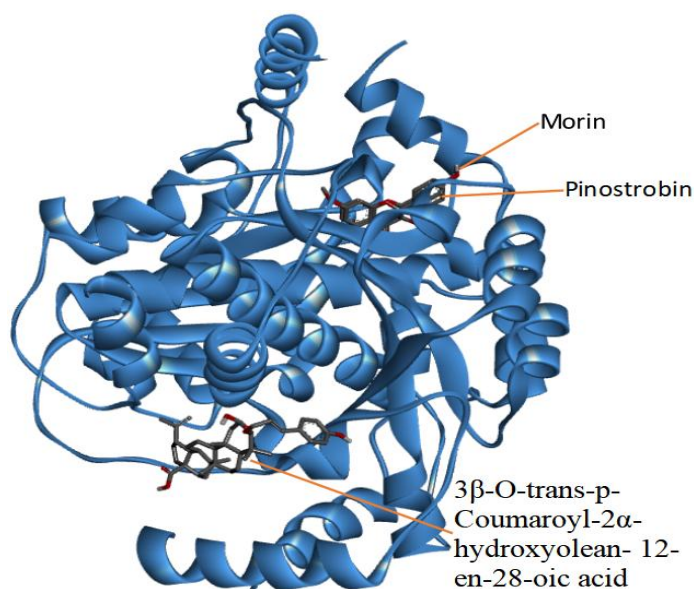
NO	Code	Nama Target	Klasifikasi	ID PDB
1	AKR1B1	Aldose reductase (AR/AKR1B1)	Oksidoreduktase	1ADS
2	PTGS2	Cyclooxygenase-2 (COX-2/PTGS2)	Oksidoreduktase	1CX2
3	NOX4	NADPH oksidase (NOX)	Oksidoreduktase	1BKJ

Untuk memastikan senyawa mampu menghambat reseptor maka diperlukan ligan standar yang mampu menghambat reseptor yang sudah teruji secara klinis. Hasil studi literatur diperoleh bahwa reseptor NOX dapat dihambat dengan ligan Apocynin ID: 2214 (Kumar Tiwari *et al.*, 2023), COX-2 dapat dihambat dengan ligan Etoricoxib ID: 123619 (Sadasivam *et al.*, 2020), dan AR dapat dihambat dengan ligan Sorbinil ID: 337359 (Huang *et al.*, 2019).

4.5.4. Interaksi senyawa aktif dengan reseptor NOX

Identifikasi interaksi senyawa aktif dengan reseptor NOX dilakukan untuk memprediksi apakah senyawa kimia memiliki aktivitas inhibisi NOX berdasarkan standar ligan Apocynin. Apocynin adalah senyawa fenolik bertindak sebagai inhibitor NADPH oxidase yang kuat dan selektif. Apocynin dapat menghambat

enzim oksidatif serta produksi spesies oksigen reaktif (Li *et al.*, 2015). Interaksi yang terjadi antara ligan dengan NOX diidentifikasi berdasarkan residu asam amino dari Apocynin. Hasil identifikasi senyawa aktif dengan protein target dapat dilihat pada gambar 4.6. berikut ini.



Gambar 4.6. Struktur 3D interaksi senyawa aktif dengan protein NOX

Tabel 4.8. Docking molecular ligan dengan reseptor NOX

Reseptor	Ligans	Binding, Affinity, (Kcal/mol)	Residu asam amino
NOX	Apocynin (Standar ligan)	-5,7	SER39, SER40, TYR128
	Pinostrobin	-8	SER39, SER40 , VAL106, ARG15, GLN67, TYR128 , PHE153
	Morin	-8	ARG15, TYR128 , SER38, SER39, SER40 , SER41, ASP107
	3β-O-trans-p-Coumaroyl-2α-hydroxyolean-12-en-28-oic acid	-8.4	ARG15, GLY130, MET196, TYR200, TRP212, VAL216

Keterangan: Font **bold** menunjukkan kesamaan letak residu asam amino

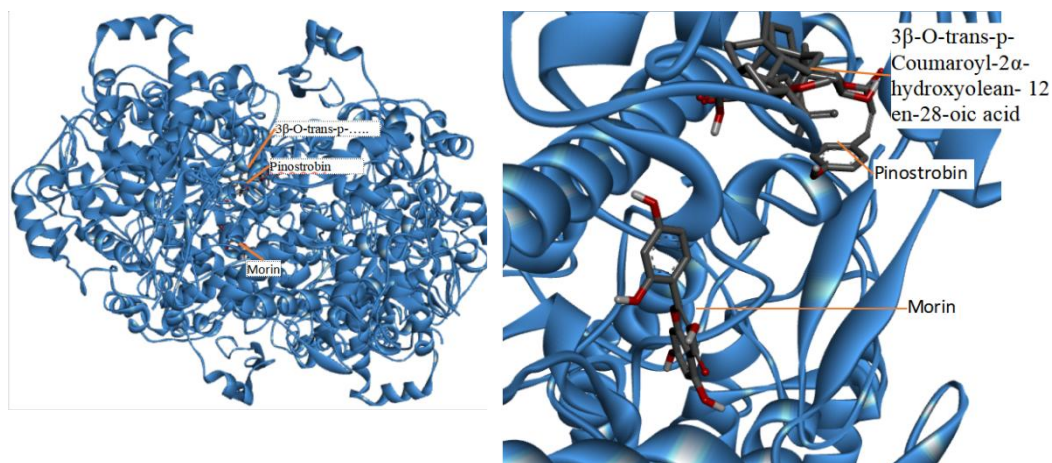
Dari hasil docking reaksi kimia 3 senyawa aktif dengan target protein NOX menghasilkan nilai *binding affinity* yang paling kuat terdapat pada senyawa 3 β -O-trans-p-Coumaroyl-2 α -hydroxyolean-12-en-28-oic acid sebesar -8,4 (Kcal/mol) sementara Apocynin hanya memiliki *binding affinity* -5,7 (tabel 4.8).

Tabel 4.8 Menjelaskan tentang nilai *binding affinity* serta residu yang berikatan ketika ligan bereaksi dengan reseptor NOX. Senyawa pinostrobin dan morin memiliki kemiripan residu asam amino dengan Apocynin terhadap NOX melalui jalur asam amino SER39, SER40, dan TYR128. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa pinostrobin dan morin memiliki potensi yang tinggi sebagai inhibitor NOX sehingga dapat dikatakan antioksidan melalui mekanisme sekunder.

4.5.5. Interaksi senyawa aktif dengan reseptor COX-2

Identifikasi interaksi senyawa aktif dengan reseptor COX-2 dilakukan untuk memprediksi, apakah senyawa kimia memiliki aktivitas inhibisi COX-2 berdasarkan standar ligan Etoricoxib. Etoricoxib merupakan inhibitor cyclooxygenase-2 (COX-2) yang poten, aktif secara oral, dan sangat selektif (Kirschneck *et al.*, 2018). Interaksi yang terjadi antara ligan dengan COX-2 diidentifikasi berdasarkan residu asam amino dari Etoricoxib. Hasil identifikasi menunjukkan bahwa senyawa kimia memiliki jalur interaksi yang mirip (gambar 4.7.).

Dari hasil docking reaksi kimia 3 senyawa aktif dengan target protein COX-2 menghasilkan nilai *binding affinity* yang paling kuat terdapat pada senyawa 3 β -O-trans-p-Coumaroyl-2 α -hydroxyolean-12-en-28-oic acid sebesar -8,7 (Kcal/mol), lebih kuat dari para standar ligan Etoricoxib (Tabel 4.9.).



Gambar 4.7. Komplek protein dan ligan pada posisi penuh dan diperbesar

Tabel 4.9. Docking molecular ligan dengan reseptor COX-2

<i>Reseptor</i>	<i>Ligands</i>	<i>Binding, Affinity, (Kcal/mol)</i>	<i>Residu asam amino</i>
COX-2	Etoricoxib (standar ligan)	-7,1	ARG311, ILE558, LYS243, LYS253
	Morin	-7,5	ARG109, LYS342, GLU346, LYS360, ASP362, GLN270
	Pinostrobin	-6,7	ILE315, ILE558 , ARG245, PHE247
	3β-O-trans-p-Coumaroyl-2α-hydroxyolean-12-en-28-oic acid	-8,7	ILE315, VAL554, LYS557, THR561, LYS243, LEU246, LYS253

Keterangan: Font **bold** menunjukkan kesamaan letak residu asam amino

Tabel 4.9 Menjelaskan tentang nilai *binding affinity* serta residu yang berikatan ketika ligan bereaksi dengan reseptor COX-2. Dari 3 senyawa uji yang ditemukan senyawa pinostrobin dan 3β-O-trans-p-Coumaroyl-2α-hydroxyolean-12-en-28-oic acid memiliki kemiripan jalur residu dengan Etoricoxib terhadap COX-2 melalui jalur asam amino ARG311, ILE558, LYS243, LYS253. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa pinostrobin dan 3β-O-trans-p-Coumaroyl-2α-

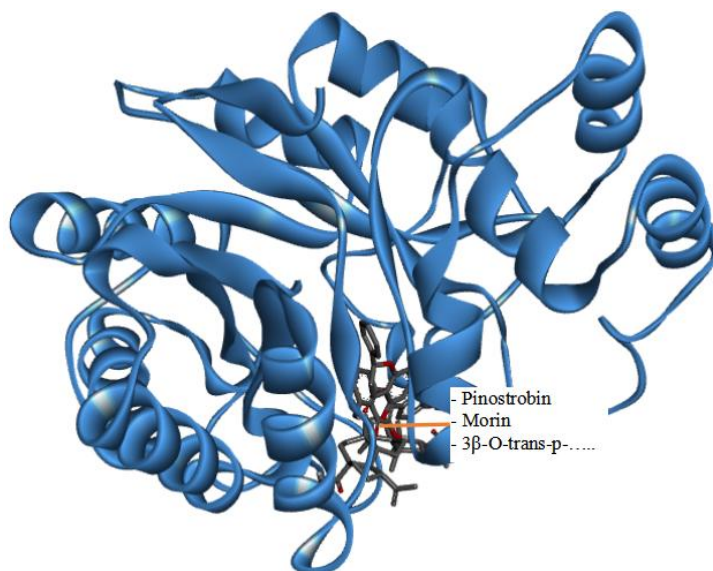
hydroxyolean-12-en-28-oic acid yang telah diuji memiliki potensi sebagai inhibitor COX-2 sehingga dapat dikatakan antioksidan melalui mekanisme sekunder.

4.5.6. Interaksi senyawa aktif dengan reseptor AR

Identifikasi interaksi senyawa aktif dengan reseptor AR dilakukan untuk memprediksi apakah senyawa kimia memiliki aktivitas inhibisi AR berdasarkan standar ligan Sorbinil. Sorbinil adalah inhibitor aldose reductase (AR) yang mencegah akumulasi sorbitol dalam sel atau hewan. Sorbinil telah terbukti menghambat aldose reductase dalam otak dan plasenta manusia dan lensa anak sapi dan tikus (Singh *et al.*, 2021). Interaksi yang terjadi antara ligan dengan AR diidentifikasi berdasarkan residu asam amino dari sorbinil. Hasil identifikasi menunjukkan bahwa 3 senyawa kimia memiliki interaksi yang mirip dengan standar ligan berdasarkan ikatan residu asam amino (gambar 4.8.)

Dari hasil docking reaksi kimia 3 senyawa aktif dengan target protein AR menghasilkan nilai *binding affinity* yang paling kuat sebesar -10,7 (Kcal/mol) pada senyawa Pinostrobin dan Morin, lebih kuat dibandingkan dengan sorbinil (tabel 4.10).

Tabel 4.10 Menjelaskan tentang nilai binding affinity serta residu yang berikatan ketika ligan bereaksi dengan reseptor AR. Ketiga senyawa aktif memiliki kemiripan residu asam amino dengan Sorbinil melalui jalur asam amino SER39, SER40, dan TYR128. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa aktif yang telah diuji memiliki potensi yang tinggi sebagai inhibitor AR sehingga dapat dikatakan antioksidan melalui mekanisme sekunder..



Gambar 4.8. Struktur 3D interaksi senyawa aktif dengan reseptor AR

Tabel 4.10. Docking molecular ligan dengan reseptor AR

Reseptor	Ligans	Binding, Affinity, (Kcal/mol)	Residu asam amino
AR	Sorbinil (Standar ligan)	-7,4	TRP20, TRP111, TRP219, CYS298, LEU300
	Pinostrobin	-10,4	TRP20, TYR48, TYR209, TRP219, CYS298, LEU300, LEU301
	Morin	-10,4	TRP20, TRP79, HIS110, TRP111, PHE122, TRP219, SER302
	3β-O-trans-p-Coumaroyl-2α-hydroxyolean-12-en-28-oic acid	-9,9	TRP20, LYS21, VAL47, GLN49, PHE122, PRO218, TRP219, ALA299, LEU300, LEU301

Keterangan: Font **bold** menunjukkan kesamaan letak residu asam amino

4.6. Identifikasi senyawa aktif terhadap reseptor

Identifikasi ikatan senyawa aktif terhadap reseptor diperlukan untuk mengetahui interaksi senyawa uji terhadap reseptor target. Interaksi 3 kandidat senyawa (ligan) dengan 3 reseptor, yaitu NOX, COX-2, dan AR dapat dilihat pada

tabel 4.8. Tabel ini menunjukkan apakah senyawa tersebut berinteraksi dengan reseptor (diberi tanda ✓) atau tidak.

Tabel 4.11. Identifikasi senyawa aktif terhadap reseptor

NO	Ligan	Reseptor		
		NOX	COX-2	AR
1	Pinostrobin	✓	✓	✓
2	Morin	✓	-	✓
3	3β-O-trans-p-Coumaroyl-2α-hydroxyolean-12-en-28-oic acid	-	✓	✓

Berdasarkan data dari tabel 4.8 hasil prediksi docking molecular terdapat kesamaan jalur asam amino terhadap standar ligand. Hasil prediksi docking molecular menunjukkan bahwa senyawa aktif yang diuji memiliki residu asam amino yang sama dengan standar ligan terhadap reseptor NOX dan AR. Sementara itu pada reseptor COX-2 hanya 2 senyawa yang memiliki kesamaan residu asam amino yang sama dengan standar ligan diantaranya Pinostrobin dan 3β-O-trans-p-Coumaroyl-2α-hydroxyolean-12-en-28-oic acid. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa aktif dari ekstrak etanol daun *Synsepalum dulcificum* memiliki potensi yang tinggi sebagai antioksidan.

BAB V

PENUTUP

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil analisa aktivitas antioksidan dengan uji DPPH diperoleh nilai IC_{50} sebesar 11,4108% yang termasuk dalam kategori sangat kuat. Berdasarkan uji LC-MS terdapat 14 senyawa aktif yang teridentifikasi dari golongan Flavonoid, 5 senyawa aktif dari golongan saponin. Hasil prediksi docking molecular menunjukkan bahwa 3 senyawa aktif yang diuji memiliki residu asam amino yang mirip dengan standar ligan terhadap reseptor AR. Sementara itu pada reseptor COX-2 dan NOX hanya 2 senyawa yang memiliki kesamaan residu asam amino yang sama dengan standar ligan. Hal ini menunjukkan ekstrak etanol daun *Synsepalum dulcificum* memiliki potensi yang tinggi sebagai antioksidan.

5.2. Saran

Diperlukan identifikasi kadar senyawa yang lebih spesifik serta diperlukan uji in-vivo untuk mengetahui pengaruh aktivitas antioksidan daun *Synsepalum dulcificum*.

DAFTAR PUSTAKA

- Adiari, N.W.L., Yogeswara, I.B.A. & Putra, I.M.W.A. 2017. Pengembangan pangan fungsional berbasis tepung okara dan tepung beras hitam (*Oryza sativa* L. *indica*) sebagai makanan selingan bagi remaja obesitas. *Jurnal Gizi Indonesia (The Indonesian Journal of Nutrition)*. 6(1):51–57.
- Aguilar, T.A.F., Navarro, B.C.H. & Pérez, J.A.M. 2016. Endogenous antioxidants: a review of their role in oxidative stress. *A master regulator of oxidative stress-the transcription factor nrf2*. 3–20.
- Agustina, A. 2021. Perspektif hadis nabi saw mengenai kebersihan lingkungan. *Jurnal Penelitian Ilmu Ushuluddin*. 1(2):96–104.
- Akinmoladun, A.C., Adetuyi, A.R., Komolafe, K. & Oguntibeju, O.O. 2020. Nutritional benefits, phytochemical constituents, ethnomedicinal uses and biological properties of Miracle fruit plant (*Synsepalum dulcificum* Shumach. & Thonn. Daniell). *Heliyon*. 6(12):e05837.
- Alfatin, A.S. 2021. Pengaruh pemberian suplemen ekstrak kecambah kacang hijau (*Phaseolus radiatus* L.) terhadap kadar glutathione peroksidase, katalase dan superoxide dismutase:(studi eksperimental pada tikus jantan galur wistar yang diinduksi herbisida paraquat). Universitas Islam Sultan Agung (Indonesia). (Master Thesis).
- Al-Kaheel, A.D. 2022. *Rahasia medis dalam Alquran dan Hadis: operasi tanpa luka*. Amzah.
- Andarina, R. & Djauhari, T. 2017. Antioksidan dalam dermatologi. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan: Publikasi Ilmiah Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya*. 4(1):39–48.
- Aruoma, O.I., Cuppett, S.L., Antolovich, M. & Özkan, G. 2003. Comparison of DPPH radical and ABTS assay methods for determining antioxidant potential of water-soluble and lipophilic antioxidants. *Food Chemistry*. 85(4):643–652.
- B. Fernandes, T., C. F. Segretti, M., C. Polli, M. & Parise-Filho, R. 2016. Analysis of the Applicability and Use of Lipinski's Rule for Central Nervous System Drugs. *Letters in Drug Design & Discovery*. 13(10):999–1006.
- Bansode, P.A. 2015. Total flavonoid content of commonly consumed teas in India. *World Journal of pharmaceutical research*. 4(1):874–881.
- Barus, P. 2009. Pemanfaatan bahan pengawet dan antioksidan alami pada industri bahan makanan.
- Baxevanis, A.D., Bader, G.D. & Wishart, D.S. 2020. *Bioinformatics*. John Wiley

& Sons.

- Blaženović, I., Kind, T., Ji, J. & Fiehn, O. 2018. Software tools and approaches for compound identification of LC-MS/MS data in metabolomics. *Metabolites*. 8(2):1–23.
- Caccia, D., Dugo, M., Callari, M. & Bongarzone, I. 2013. Bioinformatics tools for secretome analysis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics*. 1834(11):2442–2453.
- Candelario-Jalil, E., González-Falcón, A., García-Cabrera, M., Álvarez, D., Al-Dalain, S., ... Springer, J.E. 2003. Assessment of the relative contribution of COX-1 and COX-2 isoforms to ischemia-induced oxidative damage and neurodegeneration following transient global cerebral ischemia. *Journal of Neurochemistry*. 86(3):545–555.
- Carmona-Jiménez, Y., García-Moreno, M.V., Igartuburu, J.M. & Barroso, C.G. 2014. Simplification of the DPPH assay for estimating the antioxidant activity of wine and wine by-products. *Food chemistry*. 165:198–204.
- Chigurupati, S., Al-Murikhy, A., Almahmoud, S.A., Almoshari, Y., Ahmed, A.S., ... Palanimuthu, V.R. 2022. Molecular docking of phenolic compounds and screening of antioxidant and antidiabetic potential of *Moringa oleifera* ethanolic leaves extract from Qassim region, Saudi Arabia. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 29(2):854–859.
- Choiriyah, N.A. 2020. Kandungan antioksidan pada berbagai bunga edible di Indonesia. *AGRISAINTEFIKA: Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian*. 4(2):136–143.
- Christianson, C.C., Johnson, C.J. & Needham, S.R. 2013. The advantages of microflow LC–MS/MS compared with conventional HPLC–MS/MS for the analysis of methotrexate from human plasma. *Bioanalysis*. 5(11):1387–1396.
- Deny, F., Lestari, K. & Hakim, Z. 2006. Penggunaan vitamin E dan vitamin C topikal dalam bidang kosmetik. *Majalah Kedokteran Andalas*. 30(2):41–51.
- Dewi, Z.S., Zam, Z.Z. & Rakhman, K.A. 2017. Maserasi dan uji aktivitas IC50 antioksidan buah pinang (*Areca catechu*) secara spektrofotometri UV-Vis. *SAINTEFIKA@*. 1(1):14–19.
- Diniyah, N. & Lee, S.-H. 2020. Komposisi senyawa fenol dan potensi antioksidan dari kacang-kacangan. *Jurnal Agroteknologi*. 14(01):91–102.
- Doddawad, V.G., Shivananda, S., Vidya, C.S., Madhu, B. & Gurupadaya, B.M. 2022. Insight on *Synsepalum dulcificum*: a bioactive compound on taste modification and its biological properties. *International Journal of Nutrition, Pharmacology, Neurological Diseases*. 12(3):93.
- Ee, J.W., Velaga, A., Guad, R.M., Subramaniyan, V., Fuloria, N.K., ... Wu, Y.S. 2022. Deciphering *Synsepalum dulcificum* as an arising phytotherapy agent:

- background, phytochemical and pharmacological properties with associated molecular mechanisms. *Sains Malaysiana*. 51(1):199.
- Fahmi, M. 2021. Penggunaan manusia sebagai relawan dalam ujicoba obat baru: kajian Alquran, Hadis dan Kaedah Fiqih. *El-Usrah: Jurnal Hukum Keluarga*. 4(1):64–75.
- Fawaid, A. & Sholiha, D. 2022. Al-qur'an sebagai syifa'(obat) bagi wabah covid-19: analisis konten dakwah sosial media Adi Hidayat. *Al-Tadabbur: Jurnal Ilmu Al-Qur'an dan Tafsir*. 7(01):57–76.
- Firani, N.K. 2017. *Metabolisme karbohidrat: tinjauan biokimia dan patologis*. Universitas Brawijaya Press.
- Fithriani, D., Amini, S., Melanie, S. & Susilowati, R. 2015. Uji Fitokimia, kandungan total fenol dan aktivitas antioksidan Mikroalga Spirulina Sp., Chlorella Sp., dan Nannochloropsis Sp. *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan Dan Perikanan*. 10(2):101–109.
- Gianazza, E., Brioschi, M., Fernandez, A.M. & Banfi, C. 2019. Lipoxidation in cardiovascular diseases. *Redox biology*. 23:101119.
- Guedes, I.A., de Magalhães, C.S. & Dardenne, L.E. 2014. Receptor–ligand molecular docking. *Biophysical Reviews*. 6(1):75–87.
- Gulo, K.N., Suhartomi, Saragih, A.D., Raif, M.A. & Ikhtiari, R. 2021. Antioxidant activity of flavonoid compounds in ethanol and ethyl acetate extract from citrus sinensis. In: *2021 International Conference on Artificial Intelligence and Mechatronics Systems (AIMS)*. pp. 1–6.
- Guo, L., Xiao, J., Liu, H. & Liu, H. 2020. Selenium nanoparticles alleviate hyperlipidemia and vascular injury in ApoE-deficient mice by regulating cholesterol metabolism and reducing oxidative stress. *Metallomics*. 12(2):204–217.
- Guzik, T.J. & Harrison, D.G. 2006. Vascular NADPH oxidases as drug targets for novel antioxidant strategies. *Drug Discovery Today*. 11(11):524–533.
- Hakim, A.L. 2012. Potensi beberapa bentuk sediaan pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) terhadap gambaran histologis dan kadar antioksidan pankreas tikus putih (*Rattus norvegicus* (L.) yang diinduksi aloksan. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. (PhD Thesis).
- Hakiman, M. & Maziah, M. 2009. Non enzymatic and enzymatic antioxidant activities in aqueous extract of different *Ficus deltoidea* accessions. *Journal of Medicinal Plants Research*. 3(3):120–131.
- Halim, D.R., Putri, A.P. & Arumsari, A. 2015. Analisis residu hormon dietilstilbestrol dalam ikan lele (*Clarias* Sp.) dari pasar tradisional cihaurgeulis Kota Bandung dengan Metode LC-MS/MS. *Prosiding Farmasi*.

(0):292–296.

- Hao, X., Han, Z., Li, Y., Li, C., Wang, X., ... Zhu, C. 2017. Synthesis and structure–activity relationship studies of phenolic hydroxyl derivatives based on quinoxalinone as aldose reductase inhibitors with antioxidant activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 27(4):887–892.
- Hardiningtyas, S.D., Purwaningsih, S. & Handharyani, E. 2014. Aktivitas antioksidan dan efek hepatoprotektif daun bakau api-api putih. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 17(1):80–91.
- He, Z., Tan, J.S., Abbasiliasi, S., Lai, O.M., Tam, Y.J. & Ariff, A.B. 2016. Phytochemicals, nutritionals and antioxidant properties of miracle fruit *Synsepalum dulcificum*. *Industrial Crops and Products*. 86:87–94.
- Hess, J.L. 2017. Vitamin E, α -tocopherol. In: *Antioxidants in higher plants*. CRC press. pp. 111–134.
- Huang, Q., Liu, Q. & Ouyang, D. 2019. Sorbinil, an aldose reductase inhibitor, in fighting against diabetic complications. *Medicinal Chemistry*. 15(1):3–7.
- Hudaya, A. 2011. Uji antioksidan dan antibakteri ekstrak air bunga kecombrang (*edigera elatior*) sebagai pangan fungsional terhadap *staphylococcus aureus* dan *escherichia coli*.
- Hunter, T. 1998. THE CROONIAN LECTURE 1997. The phosphorylation of proteins on tyrosine: its role in cell growth and disease. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*. 353(1368):583–605.
- Husain, N. & Kumar, A. 2012. Reactive oxygen species and natural antioxidants: a review. *Advances in Bioreserach*. 3(4):164–175.
- Ihsan, M. 2016. Pengobatan ala Rasulullah SAW sebagai pendekatan antropologis dalam dakwah islamiah di Desa Rensing Kecamatan Sakra Barat. *PALAPA*. 4(2):152–210.
- Indarti, K., Apriani, E.F., Wibowo, A.E. & Simanjuntak, P. 2019. Antioxidant activity of ethanolic extract and various fractions from green tea (*Camellia sinensis* L.) leaves. *Pharmacognosy Journal*. 11(4):771–776.
- Inglett, G.E. & May, J.F. 1968. Tropical plants with unusual taste properties. *Economic Botany*. 22(4):326–331.
- Ipand, I., Triyasmono, L. & Prayitno, B. 2016. Penentuan kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun kajajahi (*Leucosyke capitellata* Wedd.). *Jurnal Pharmascience*. 3(1):93–100.
- Irianti, T.T. & Nuranto, S. 2021. *Antioksidan dan kesehatan*. Ugm Press.

- Jabir, N.R., Firoz, C.K., Baeesa, S.S., Ashraf, G.M., Akhtar, S., ... Tabrez, S. 2015. Synopsis on the linkage of Alzheimer's and Parkinson's disease with chronic diseases. *CNS neuroscience & therapeutics*. 21(1):1–7.
- Jaiswal, A.K. & Prakash, B. 2023. Bioinformatics approaches: elucidation of novel sites of action, toxicity prediction tool, and perception of bioactive compounds. In: *Green Products in Food Safety*. Elsevier. pp. 309–327. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-95590-4.00010-2>.
- Jami'ah, S.R., Ifaya, M., Pusmarani, J. & Nurhikma, E. 2018. Uji aktivitas antioksidan ekstrak metanol kulit pisang raja (*Musa paradisiaca sapientum*) dengan metode DPPH (2, 2-difenil-1-pikrilhidrazil). *Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia*. 4(1):33–38.
- Karagöz, A., Artun, F.T., Özcan, G., Melikoğlu, G., Anıl, S., ... Sütülpınar, N. 2015. In vitro evaluation of antioxidant activity of some plant methanol extracts. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*. 29(6):1184–1189.
- Karakas, F.P., Keskin, C.N., Agil, F. & Zencirci, N. 2021. Profiles of vitamin B and E in wheat grass and grain of einkorn (*Triticum monococcum* spp. *monococcum*), emmer (*Triticum dicoccum* ssp. *dicoccum* Schrank.), durum (*Triticum durum* Desf.), and bread wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars by LC-ESI-MS/MS analysis. *Journal of Cereal Science*. 98:103177.
- Karmila, R. 2016. Uji histokimia golongan senyawa metabolit sekunder tanaman miracle fruit (*Synsepalum dulcificum daniell*) [Histochemical test of the secondary metabolite compound group of the miracle fruit plant (*Synsepalum dulcificum daniell*)]. Universitas Gadjah Mada. <http://etd.repository.ugm.ac.id/penelitian/detail/95995> Date of access: 17 Mar. 2023.
- Kirschneck, C., Küchler, E.C., Wahlmann, U., Proff, P. & Schröder, A. 2018. Effects of the highly COX-2-selective analgesic NSAID etoricoxib on the rate of orthodontic tooth movement and cranial growth. *Annals of Anatomy - Anatomischer Anzeiger*. 220:21–28.
- Koleva, I.I., van Beek, T.A., Soffers, A.E., Dusemund, B. & de Waard, P. 2002. Review of recent developments in QSAR for predicting the activity of antioxidants and the interpretation of QSAR models. *Molecular Nutrition & Food Research*. 46(4):420–431.
- Kumar, U., Zoha, R., Kodali, M.V.R.M., Smriti, K., Patil, V., ... Singh, A. 2022. Peran diet flavonoid dalam mencegah infeksi covid-19 dan penyakit menular lainnya: ulasan mini. *European Journal of General Dentistry*. 11(03):158–165.
- Kumar Tiwari, A., Gandhi, V., Agarwal, S., Tyagi, V., Agarwal, V., ... Singh, M. 2023. In-silico validation of Apocynin and NADPH Oxidase (NOX) enzyme for inhibiting ROS injuries. *Materials Today: Proceedings*. 80:2375–2377.

- Li, J., Fu, A. & Zhang, L. 2019. An Overview of Scoring Functions Used for Protein–Ligand Interactions in Molecular Docking. *Interdisciplinary Sciences: Computational Life Sciences*. 11(2):320–328.
- Li, X., Lu, J., Shang, P., Bao, J. & Yue, Z. 2015. The selective NADPH oxidase inhibitor apocynin has potential prophylactic effects on melamine-related nephrolithiasis in vitro and in vivo. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 399(1):167–178.
- Liang, N. & Kitts, D.D. 2014. Antioxidant property of coffee components: assessment of methods that define mechanisms of action. *Molecules*. 19(11):19180–19208.
- Liu, Z., Guo, F., Wang, Y., Li, C., Zhang, X., ... Li, D. 2016. BATMAN-TCM: a bioinformatics analysis tool for molecular mechanism of traditional Chinese medicine. *Scientific reports*. 6(1):1–11.
- López-Fernández, O., Domínguez, R., Pateiro, M., Munekata, P.E.S., Rocchetti, G. & Lorenzo, J.M. 2020. Determination of polyphenols using liquid chromatography–tandem mass spectrometry technique (LC-MS/MS): a review. *Antioxidants*. 9(6):479.
- Ma, X., Wu, H., Liu, L., Yao, Q., Wang, S., ... Zhou, Y. 2011. Polyphenolic compounds and antioxidant properties in mango fruits. *Scientia Horticulturae*. 129(1):102–107.
- Maharani, A.I., Riskierdi, F., Febriani, I., Kurnia, K.A., Rahman, N.A., ... Farma, S.A. 2022. Peran antioksidan alami berbahan dasar pangan lokal dalam mencegah efek radikal bebas. In: Vol. 1. *Prosiding Seminar Nasional Biologi*. pp. 390–399.
- Mahmudatussa'adah, A., Fardiaz, D., Andarwulan, N. & Kusnandar, F. 2014. Karakteristik warna dan aktivitas antioksidan antosianin ubi jalar ungu. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. 25(2):176–176.
- Mangunjaya, F.M. & Abbas, A.S. 2009. *Khazanah alam: menggali tradisi Islam untuk konservasi*. Yayasan Pustaka Obor Indonesia.
- Marinova, G. & Batchvarov, V. 2011. Evaluation of the methods for determination of the free radical scavenging activity by DPPH. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*. 17(1):11–24.
- Marjoni, M.R. & Zulfisa, A. 2017. Antioxidant activity of methanol extract/fractions of senggani leaves (*Melastoma candidum* D. Don). *Pharmaceutica Analytica Acta*. 8(8):1–6.
- Marjoni, M.R., Afrinaldi, A. & Novita, A.D. 2015. Kandungan total fenol dan aktivitas antioksidan ekstrak air daun kersen (*Muntingia calabura* L.). *Jurnal Kedokteran YARSI*. 23(3):187–196.

- Mas'ari, A. 2017. Sustainable development perspektif Maqashid Al-Syari'ah. In: *Seminar Nasional Teknologi Informasi Komunikasi dan Industri*. pp. 716–721.
- Mehta, S.K. & Gowder, S.J.T. 2015. Members of antioxidant machinery and their functions. *Basic principles and clinical significance of oxidative stress*. 11:59–85.
- Mudroňová, D., Karaffová, V., Koščová, J., Bartkovský, M., Marcinčáková, D., ... Marcinčák, S. 2018. Effect of fungal gamma-linolenic acid and beta-carotene containing prefermented feed on immunity and gut of broiler chicken. *Poultry science*. 97(12):4211–4218.
- Muflih, A. 2013. Pengobatan dalam Islam. Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar. (masters). <http://repositori.uin-alauddin.ac.id/2899/> Date of access: 19 Mar. 2023.
- Murtanti, S.P. 2020. Relevansi ajaran tasawuf dengan suwuk tradisional bobok jowo sebagai terapi penyembuhan skizofrenia di pondok pesantren Darul Kailani Adhiya'ullami'tawangharjo Grobogan. IAIN KUDUS. (PhD Thesis).
- Mutianingsih, R. 2022. *Ekstrak daun kelor untuk mengatasi bahaya asap rokok pada kehamilan*. Penerbit NEM.
- Neldawati, N. 2013. Analisis nilai absorbansi dalam penentuan kadar flavonoid untuk berbagai jenis daun tanaman obat. *Pillar of Physics*. 2(1):76–83.
- Ngo, D.T. 2017. Miracle fruit on plant. *GAFollowers*. <https://www.gafollowers.com/flavor-tripping-on-miracle-fruit-in-sandy-springs/miracle-fruit-on-plant/> Date of access: 12 Dec. 2022.
- Nour, V., Trandafir, I. & Cosmulescu, S. 2017. Antioxidant Compounds, Nutritional Quality and Colour of Two Strawberry Genotypes from *Fragaria* × *Ananassa*. *Erwerbs-Obstbau*. 59(2):123–131.
- Novita, R. 2018. Konsumsi selenium untuk mencegah penderita toleransi glukosa terganggu menjadi diabetes mellitus tipe 2. *Media Gizi Mikro Indonesia*. 10(1):51–64.
- Nuraini, M. 2021. Studi In Silico Senyawa Galangin Lengkuas (*Alpinia galanga*) Sebagai Antikanker Terhadap Kanker Payudara. In: *Prosiding Seminar Nasional dan Penelitian Kesehatan 2018*. https://ejurnal.universitastbh.ac.id/index.php/P3M_PSNDPK/article/view/1330 Date of access: 26 Jun. 2024.
- Obafemi, T.O., Akinmoladun, A.C., Olaleye, M.T., Onasanya, A., Komolafe, K.C., ... Athayde, M.L. 2017. High performance liquid chromatography (HPLC) fingerprinting, mineral composition and in vitro antioxidant activity of methanol leaf extract of *Synsepalum dulcificum* (Sapotaceae). *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. <http://eprints.abuad.edu.ng/370/> Date of

access: 03 Mar. 2023.

- Onuminya, T.O., Asekunowo, A.K., Ifelaja, F.M. & Ogundipe, O.T. 2023. Phytochemical, proximate and hypoglycemic potential of for management of in Nigeria. *Annals of Science and Technology*. 8(1):1–9.
- Packer, L. 2019. *Handbook of synthetic antioxidants*. CRC Press.
- Parwata, I., Ratnayani, K. & Listya, A. 2010. Aktivitas antiradikal bebas serta kadar beta karoten pada madu randu (*Ceiba pentandra*) dan madu kelengkeng (*Nephelium longata* L.). *Jurnal Kimia*. 4(1):54–62.
- Patel, H.M., Noolvi, M.N., Sharma, P., Jaiswal, V., Bansal, S., ... Bhardwaj, V. 2014. Quantitative structure–activity relationship (QSAR) studies as strategic approach in drug discovery. *Medicinal Chemistry Research*. 23(12):4991–5007.
- Pehlivan, F.E. 2017. Vitamin C: An antioxidant agent. *Vitamin C*. 2:23–35.
- Pérez-Torres, I., Manzano-Pech, L., Rubio-Ruíz, M.E., Soto, M.E. & Guarner-Lans, V. 2020. Nitrosative stress and its association with cardiometabolic disorders. *Molecules*. 25(11):2555.
- Phaniendra, A., Jestadi, D.B. & Periyasamy, L. 2015. Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases. *Indian journal of clinical biochemistry*. 30:11–26.
- Pinzi, L. & Rastelli, G. 2019. Molecular Docking: Shifting Paradigms in Drug Discovery. *International Journal of Molecular Sciences*. 20(18):4331.
- Pisoschi, A.M. & Pop, A. 2015. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 97:55–74.
- Pisoschi, A.M., Pop, A., Iordache, F., Stanca, L., Predoi, G. & Serban, A.I. 2021. Oxidative stress mitigation by antioxidants-an overview on their chemistry and influences on health status. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 209:112891.
- Poljšak, B. & Fink, R. 2014. The protective role of antioxidants in the defence against ROS/RNS-mediated environmental pollution. *Oxidative medicine and cellular longevity*. 2014.
- Pratimasari, D. 2009. Uji aktivitas penangkap radikal buah *Carica papaya* L. dengan metode DPPH dan penetapan kadar fenolik serta flavonoid totalnya. Universitas Muhammadiyah Surakarta. (PhD Thesis).
- Pubchem. 2005. *DPPH radical*. *National Library of Medicine*. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/15911> Date of access: 09 Apr. 2023.

- Puspitasari, M.L., Wulansari, T.V., Widyaningsih, T.D., Maligan, J.M. & Nugrahini, N.I.P. 2016. Aktivitas antioksidan suplemen herbal daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.): kajian pustaka. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 4(1):283–290.
- Qiao, L., Lewis, R., Hooper, A., Morphet, J., Tan, X. & Yu, K. 2013. Using natural products application solution with UNIFI for the identification of chemical ingredients of green tea extract. *Report No. APNT134775221*, (Waters, 2013).
<https://www.waters.com/content/dam/waters/en/app-notes/2013/720004837/720004837-ko.pdf> Date of access: 23 Apr. 2024.
- Rahmi, H. 2017. Aktivitas antioksidan dari berbagai sumber buah-buahan di Indonesia. *Jurnal Agrotek Indonesia*. 2(1):34–38.
- Redha, A. 2013. Flavonoid: struktur, sifat antioksidatif dan peranannya dalam sistem biologis.
- Saad, R., Asmani, F., Saad, M., Hussain, M., Khan, J., ... Yusuf, E. 2015. A new approach for predicting antioxidant property of herbal extracts. *Int. J. Pharmacogn. Phytochem. Res.* 7(1):166–174.
- Sadasivam, K., Salgado Moran, G., Mendoza-Huizar, L.H., Cardona Villada, W., Gerli Candia, L., ... Cuesta Hoyos, S. 2020. Theoretical investigation of the molecular structure and molecular docking of etoricoxib. *Journal of the Chilean Chemical Society*. 65(2):4804–4806.
- Safnowandi, S. 2022. Pemanfaatan vitamin C alami sebagai antioksidan pada tubuh manusia. *Biocaster: Jurnal Kajian Biologi*. 2(1):6–13.
- Sari, A.N. 2016. Berbagai tanaman rempah sebagai sumber antioksidan alami. *Elkawnie: Journal of Islamic Science and Technology*. 2(2):203–212.
- Satriyani, D.P.P. 2021. Review artikel: Aktivitas antioksidan ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.). *Jurnal Farmasi Malahayati*. 4(1):31–43.
- Shakeri, M., Oskoueian, E., Le, H.H. & Shakeri, M. 2020. Strategies to combat heat stress in broiler chickens: Unveiling the roles of selenium, vitamin E and vitamin C. *Veterinary sciences*. 7(2):71.
- Shi, Y.-C., Lin, K.-S., Jhai, Y.-F., Lee, B.-H., Han, Y., ... Wu, S.-C. 2016. Miracle fruit (*Synsepalum dulcificum*) exhibits as a novel anti-hyperuricaemia agent. *Molecules*. 21(2):140.
- Shonhaji, A. 2021. Sintesis, karakterisasi dan aktivitas antioksidan senyawa nanopartikel perak menggunakan alga merah (*Eucheuma cottonii*) dengan metode ABTS. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. (Thesis).
- Simanjuntak, K. 2012. Peran antioksidan flavonoid dalam meningkatkan kesehatan. *Bina Widya*. 23(3):135–140.

- Singh, M., Kapoor, A. & Bhatnagar, A. 2021. Physiological and Pathological Roles of Aldose Reductase. *Metabolites*. 11(10):655.
- Sirivibulkovit, K., Nouanthavong, S. & Sameenoi, Y. 2018. Paper-based DPPH assay for antioxidant activity analysis. *Analytical Sciences*. 34(7):795–800.
- Sitnikov, D.G., Monnin, C.S. & Vuckovic, D. 2016. Systematic assessment of seven solvent and solid-phase extraction methods for metabolomics analysis of human plasma by LC-MS. *Scientific Reports*. 6(1):38885.
- Srinivas, U.S., Tan, B.W.Q., Vellayappan, B.A. & Jeyasekharan, A.D. 2019. ROS and the DNA damage response in cancer. *Redox Biology*. 25:101084.
- Suarjaya, I.P.P., Bisri, T., Wargahadibrata, H. & Intensif, T. 2012. Reaktiv oksigen spesies pada cedera otak traumatik reactive oxygen species in traumatic brain injury. *JNI*. 1(2):144–150.
- Sukweenadhi, J., Yunita, O., Setiawan, F., Kartini, Siagian, M.T., ... Avanti, C. 2020. Antioxidant activity screening of seven Indonesian herbal extract. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*. 21(5):2063–2067.
- Sulthan Adam, S.Q. 2018. *Ruqyah syariyyah: terapi mandiri penyakit hati dan gangguan jin*. Elex Media Komputindo.
- Suryadinata, R.V. 2018. Pengaruh radikal bebas terhadap proses inflamasi pada penyakit paru obstruktif kronis (PPOK). *Amerta Nutrition*. 2(4):317–324.
- Susilowati, R. 2023. *Anti-hiperlipidemia: kulit batang kayu manis dan umbi bawang dayak*. Edulitera (Anggota IKAPI - 29/JTI/2019).
- Sut, S., Zengin, G., Maggi, F., Malagoli, M. & Dall'Acqua, S. 2019. Triterpene acid and phenolics from ancient apples of friuli venezia giulia as nutraceutical ingredients: LC-MS study and in vitro activities. *Molecules*. 24(6):1109.
- Syaputri, E.R., Selaras, G.H. & Farma, S.A. 2021. Manfaat tanaman jahe (*Zingiber officinale*) sebagai obat-obatan tradisional (traditional medicine). In: Vol. 1. *Prosiding Seminar Nasional Biologi*. pp. 579–586.
- Tchokponhoué, D.A., Achigan-Dako, E.G., N'Danikou, S., Nyadanu, D., Kahane, R., ... Sibiya, J. 2021. Comparative analysis of management practices and end-users' desired breeding traits in the miracle plant [*Synsepalum dulcificum* (Schumacher & Thonn.) Daniell] across ecological zones and sociolinguistic groups in West Africa. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*. 17(1):41.
- Theodoridis, G., Gika, H.G. & Wilson, I.D. 2011. Mass spectrometry-based holistic analytical approaches for metabolite profiling in systems biology studies. *Mass Spectrometry Reviews*. 30(5):884–906.

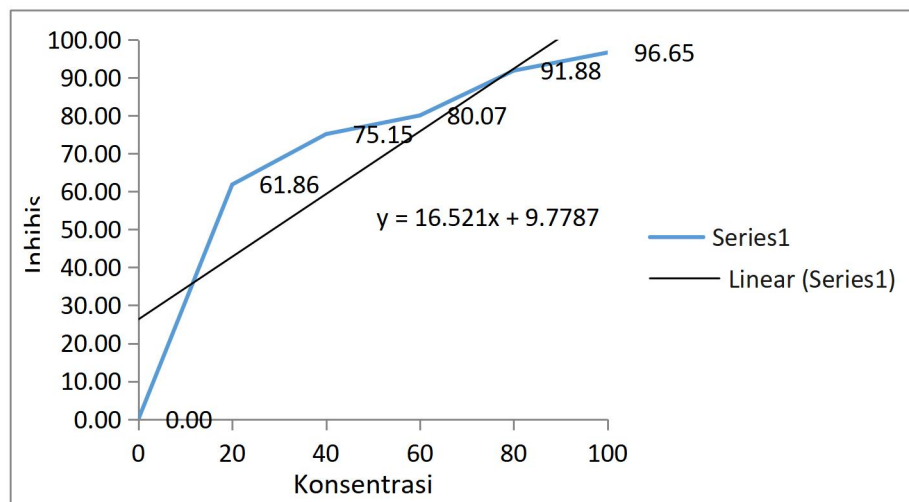
- Topal, F., Nar, M., Gocer, H., Kalin, P., Kocyigit, U.M., ... Alwasel, S.H. 2016. Antioxidant activity of taxifolin: an activity–structure relationship. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*. 31(4):674–683.
- Tu, M., Cheng, S., Lu, W. & Du, M. 2018. Advancement and prospects of bioinformatics analysis for studying bioactive peptides from food-derived protein: Sequence, structure, and functions. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 105:7–17.
- Valko, M., Jomova, K., Rhodes, C.J., Kuča, K. & Musílek, K. 2016. Redox-and non-redox-metal-induced formation of free radicals and their role in human disease. *Archives of toxicology*. 90:1–37.
- Velamuri, R., Sharma, Y., Fagan, J. & Schaefer, J. 2020. Application of UHPLC-ESI-QTOF-MS in phytochemical profiling of sage (*Salvia officinalis*) and rosemary (*Rosmarinus officinalis*). *Planta Medica International Open*. 07(4):e133–e144.
- Wahidah, S. 2012. Wortel sebagai makanan kesehatan dan kecantikan.
- Wardani, G. 2023. Signal transduksi nanopartikel fucoidan sebagai protektor pada aorta tikus (*rattus norvegicus*) hiperglikemia. Surabaya: Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya. (Doctoral dissertation).
- Wardiana, E. 2014. Faktor-faktor yang berpengaruh terhadap kandungan polifenol pada biji dan produk berbasis kakao.
- Werdhasari, A. 2014. Peran antioksidan bagi kesehatan. *Jurnal Biotek Medisiana Indonesia*. 3(2):59–68.
- Widiasari, S. 2018. Peran selenium dalam pengendalian kegagalan reproduksi pada sapi potong. *Collaborative Medical Journal (CMJ)*. 1(2):30–44.
- Widyastuti, E., Utomo, A.W. & Maharani, N. 2018. Pengaruh ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana* L) terhadap kadar sgot dan sgpt tikus yang diinduksi minyak jelantah. Faculty of Medicine. (other). <http://eprints.undip.ac.id/64146/> Date of access: 05 Apr. 2023.
- Wiedosari, E. & Sani, Y. 2022. Peran Selenium dalam Pengendalian Kegagalan Reproduksi pada Sapi Potong. *WARTAZOA*. 37.
- Wulandari, M.R. 2018. Hubungan asupan sumber antioksidan (vitamin C, vitamin E), magnesium dengan kadar gula darah pasien diabetes mellitus tipe II di ruang rawat inap RSUD Tugurejo Semarang. Muhammadiyah University Semarang. (undergraduate). <http://repository.unimus.ac.id/1795/> Date of access: 09 Mar. 2023.
- Xingwei, C., Abdullah, T.L., Taheri, S., Abdullah, N.A.P. & Hassan, S.A. 2016. Flower ontogenesis and fruit development of *Synsepalum dulcificum*. *HortScience*. 51(6):697–702.

- Xue, W., Warshawsky, A. & Zuo, Z. 2018. Effects of naturally occurring compounds on mitochondrial NADH: Ubiquinone oxidoreductase (complex I), and implications for anti-aging research. *Molecules*. 23(2):329–335.
- Yamamoto, C., Nagai, H., Takahashi, K., Nakagawa, S., Yamaguchi, M., ... Yamamoto, T. 2006. Cortical representation of taste-modifying action of miracle fruit in humans. *Neuroimage*. 33(4):1145–1151.
- Yang, Z., Liu, Z., Xu, H., Chen, Y., Du, P., ... Ding, Y. 2022. The chromosome-level genome of miracle fruit (*Synsepalum dulcificum*) provides new insights into the evolution and function of miraculin. *Frontiers in plant science*. 12:3061.
- Yi, J., Zhang, Y., Liang, R., Zhong, F. & Ma, J. 2015. Beta-carotene chemical stability in nanoemulsions was improved by stabilized with beta-lactoglobulin–catechin conjugates through free radical method. *Journal of agricultural and food chemistry*. 63(1):297–303.
- Yuslianti, E.R. 2018. *Pengantar radikal bebas dan antioksidan*. Deepublish.
- Zalukhu, M.L., Phyma, A.R. & Pinzon, R.T. 2016. Proses menua, stres oksidatif, dan peran antioksidan. *Cermin Dunia Kedokteran*. 43(10):733–736.
- Zhu, R., Wang, Y., Zhang, L. & Guo, Q. 2012. Oxidative stress and liver disease. *Hepatology Research*. 42(8):741–749.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Uji DPPH

Sampel	ppm	Rata2 Absorbansi	Rata2 Inhibisi (%) hitung	SD Ab	SD In
A0	0	1,016	0,00	0,000	0,000
A1	20	0,39	61,61	0,009	0,837
A2	40	0,25	75,39	0,010	0,984
A3	60	0,20	80,31	0,010	0,984
A4	80	0,08	92,13	0,006	0,568
A5	100	0,03	97,05	0,006	0,568



y	a	b
50	16,521	9,7787
nilai (x)	2,4346	
antlog(x)	11,4108	Sangat Kuat

Lampiran 2. Analisa Data ANOVA

Perlakuan (T)	Ulangan			Total	Rerata
	1	2	3		
A0	1	1	1	3,00	1,00
A1	0,39	0,381	0,373	1,14	0,38
A2	0,24	0,25	0,26	0,75	0,25
A3	0,21	0,19	0,2	0,60	0,20
A4	0,09	0,08	0,08	0,25	0,08
A5	0,04	0,03	0,03	0,10	0,03
Total	1,97	1,931	1,943	5,84	1,95

Analisis Ragam

SK	DB	JK	KT	F hitung		F tabel	
						5%	1%
Kelompok	2	0,0001	0,0001	1,2202	tn	4,10	7,56
Perlakuan	5	1,8706	0,3741	6864,4404	**	3,33	5,64
Galat	10	0,0005	0,0001				
Total	17	1,8712					

Keterangan :

* = Berbeda nyata

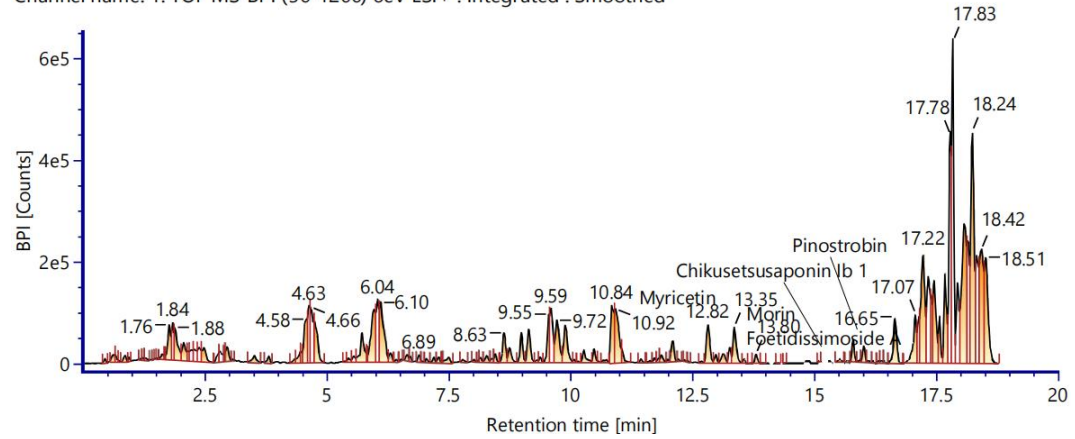
** = Berbeda sangat nyata

Lampiran 3. Plot LC-MS

[H+] The BPI Plot of Sampel 1

Item name: 240116_312 R 55_1_Pos

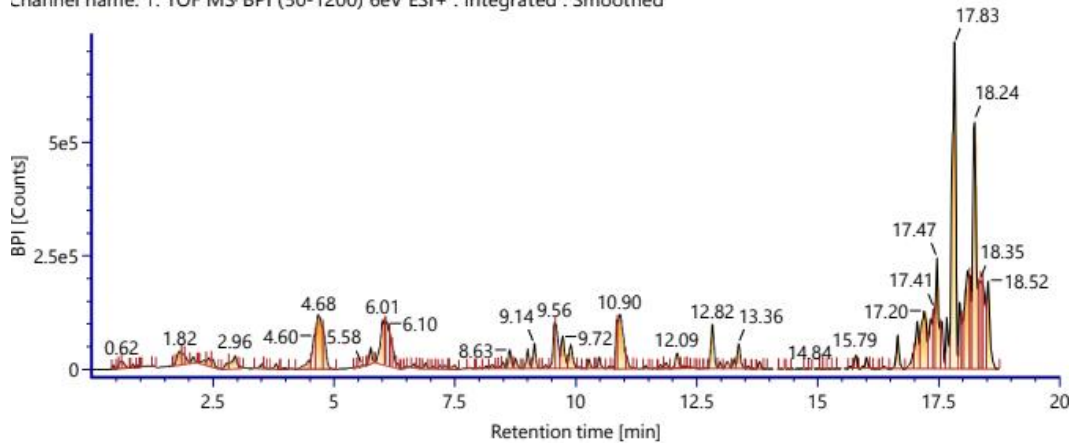
Channel name: 1: TOF MS^{BPI} (50-1200) 6eV ESI+ : Integrated : Smoothed



[H+] The BPI Plot of Sampel 2

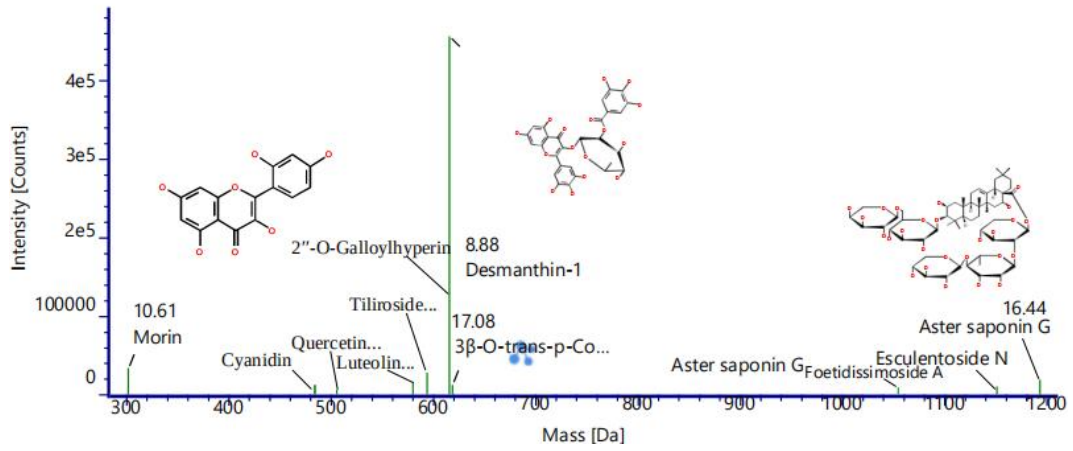
Item name: 240116_312 R 55_2_Pos

Channel name: 1: TOF MS^{BPI} (50-1200) 6eV ESI+ : Integrated : Smoothed

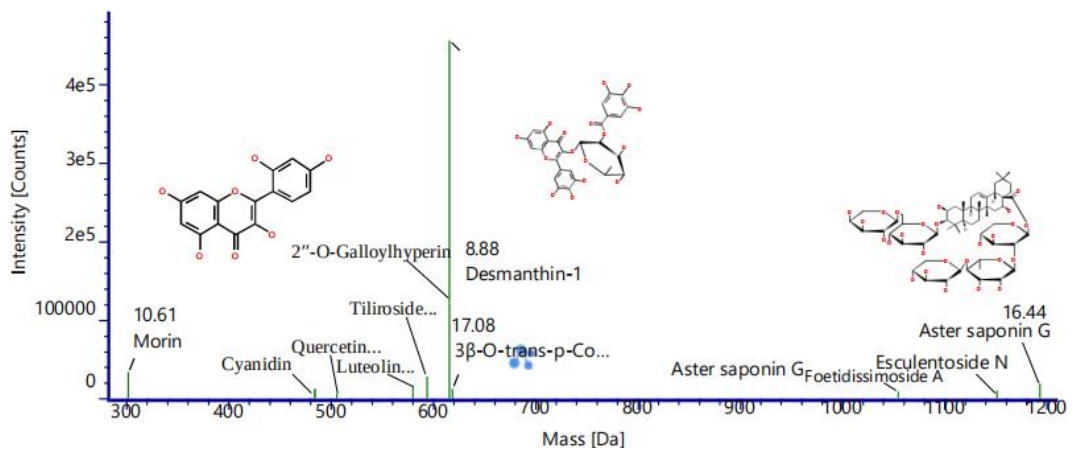


[H⁺] Componen Plot 1

Item name: 240116_312 R 55_1_Neg

**[H⁺] Componen Plot 2**

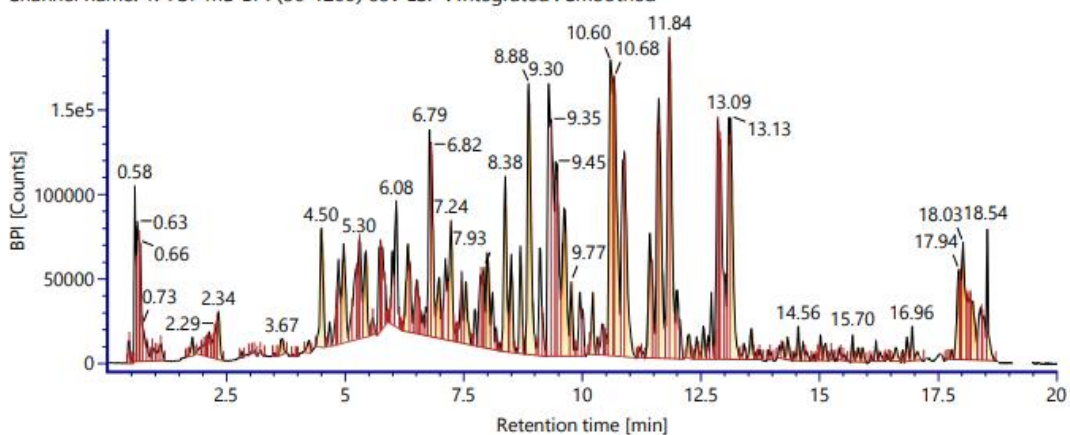
Item name: 240116_312 R 55_1_Neg



[H-] The BPI Plot of Sampel 1

Item name: 240116_312 R 55_1_Neg

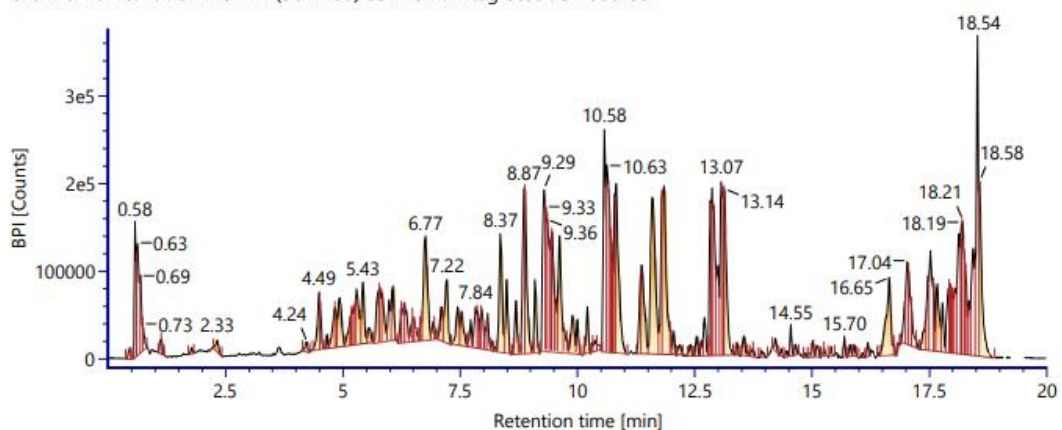
Channel name: 1: TOF MS² BPI (50-1200) 6eV ESI⁻ : Integrated : Smoothed



[H-] The BPI Plot of Sampel 2

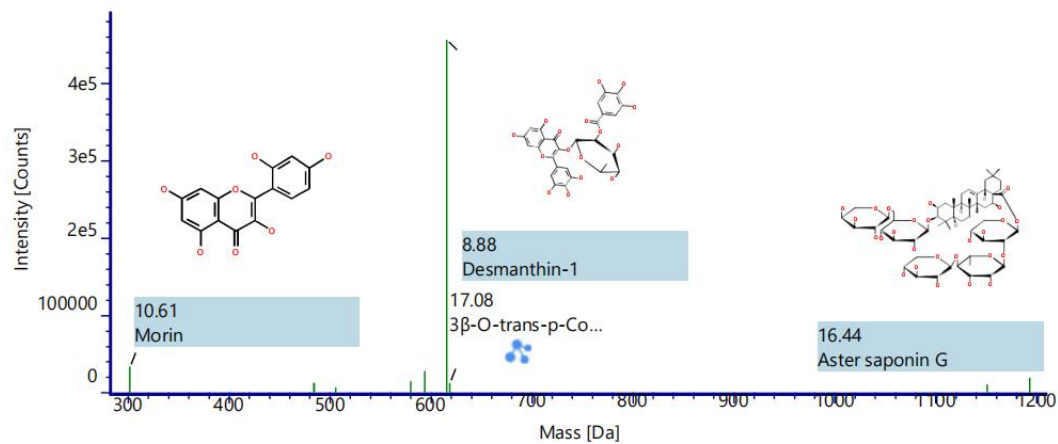
Item name: 240116_312 R 55_2_Neg

Channel name: 1: TOF MS² BPI (50-1200) 6eV ESI⁻ : Integrated : Smoothed



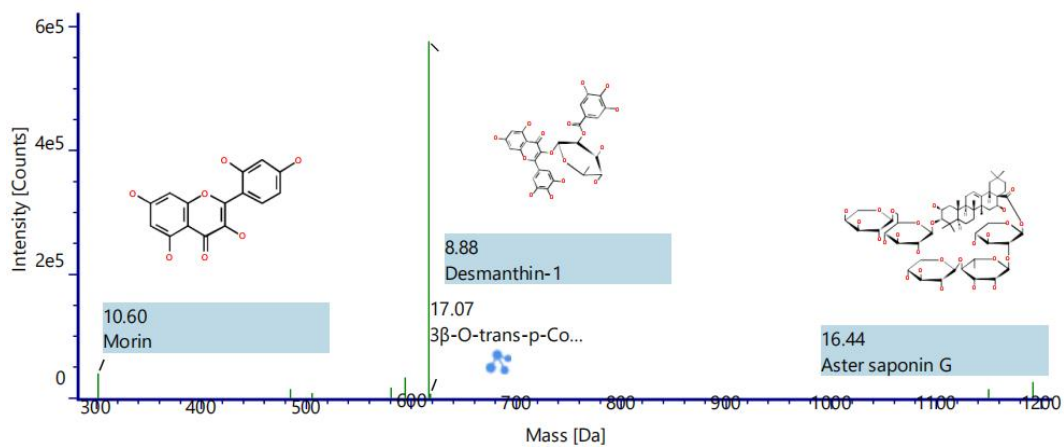
[H-] Compon Plot 1

Item name: 240116_312 R 55_1_Neg



[H-] Compon Plot 2

Item name: 240116_312 R 55_2_Neg

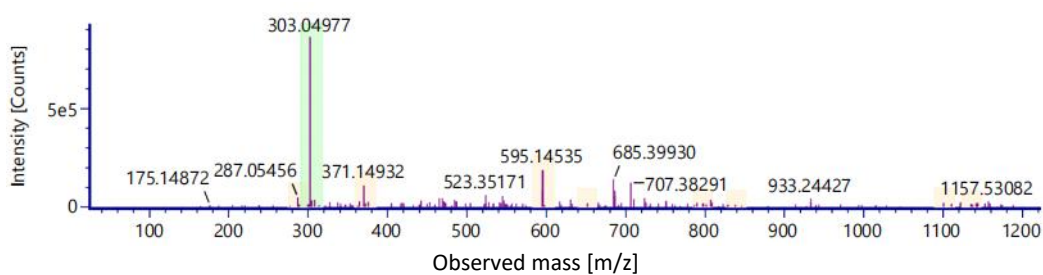
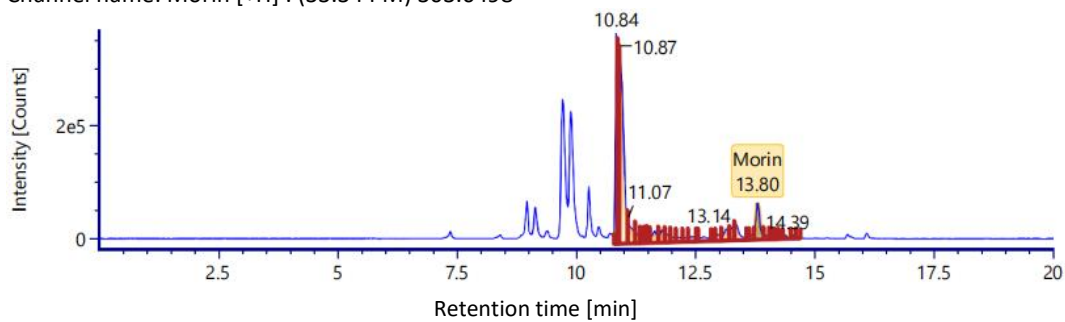


Lampiran 4. Analisa Senyawa kimia dengan LC-MS

Morin [H+]

Item name: 240116_312 R 55_1_Pos

Channel name: Morin [H+] : (33.3 PPM) 303.0498

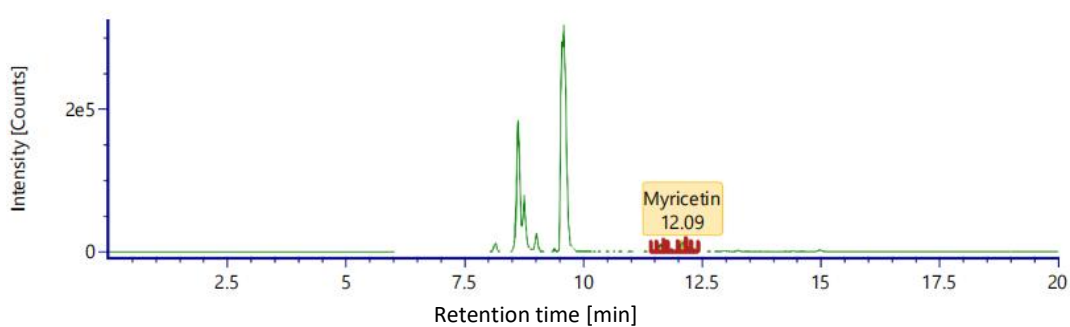


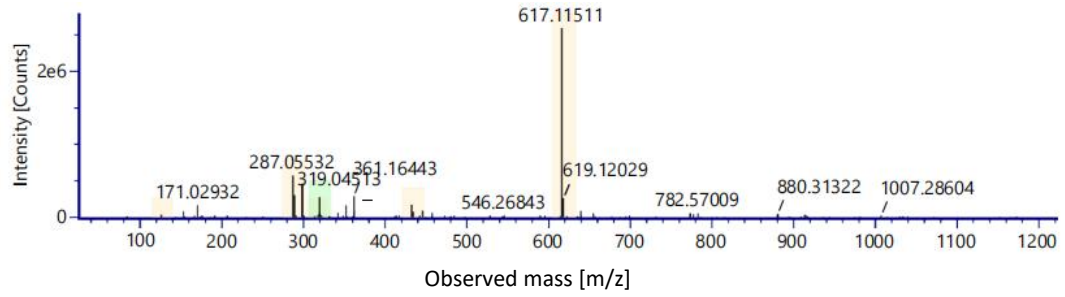
a) . Liquid chromatography for separation, b). Mass spectrometry for mass analysis
b)

Myricetin

Item name: 240116_312 R 55_1_Pos

Channel name: Myricetin [H+] : (33.3 PPM) 319.0451

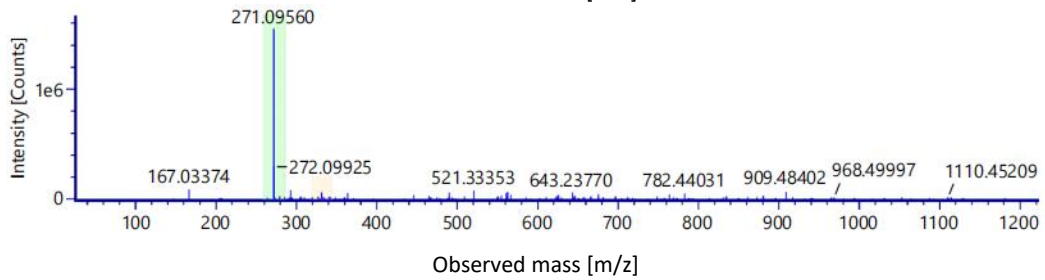
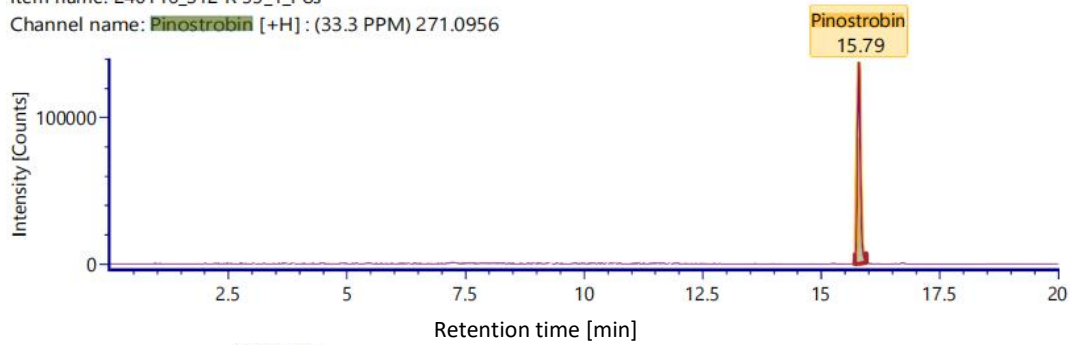




Pinostrobin

Item name: 240116_312 R 55_1_Pos

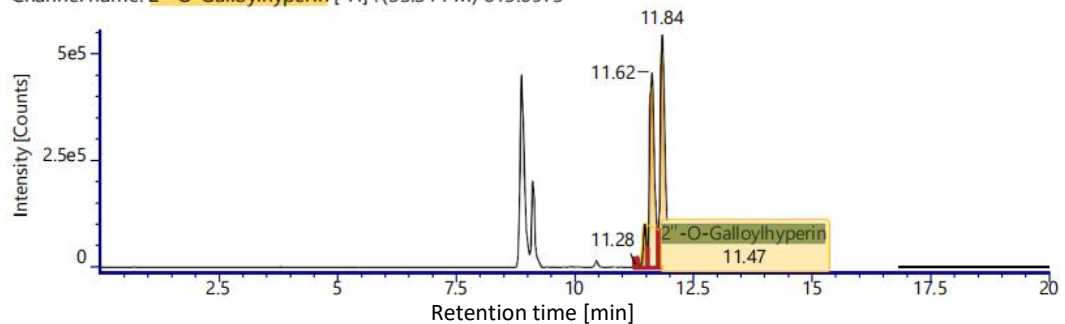
Channel name: Pinostrobin [+H] : (33.3 PPM) 271.0956



2''-O-Galloylhyperin

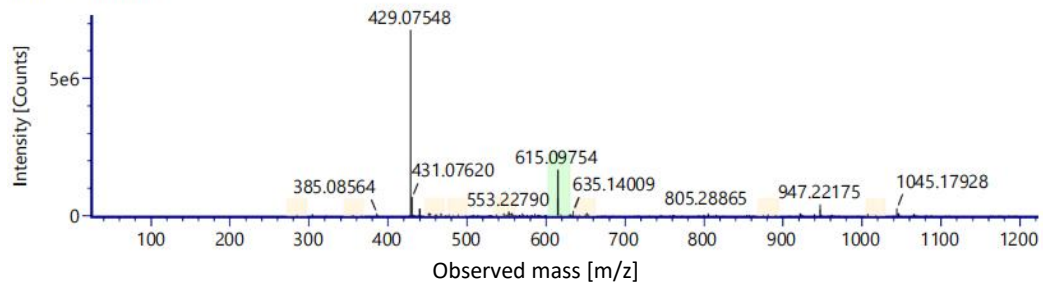
Item name: 240116_312 R 55_1_Neg

Channel name: 2''-O-Galloylhyperin [-H] : (33.3 PPM) 615.0975



Item name: 240116_312 R 55_1_Neg
Item description:

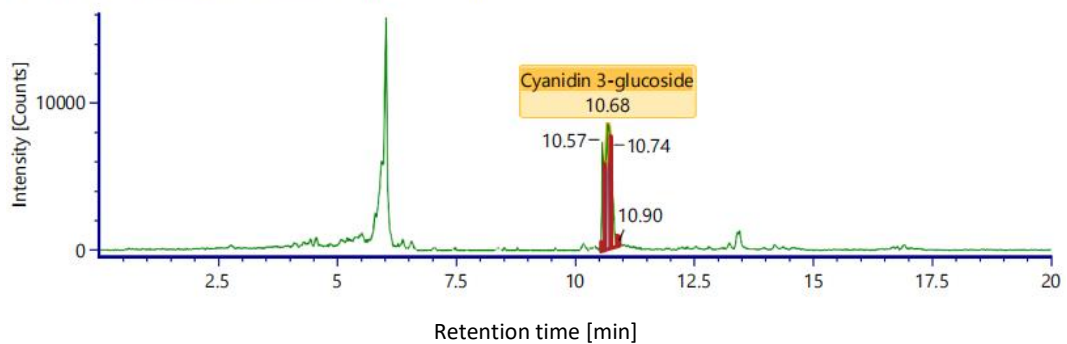
Component name: 2"-O-Galloylhyperin



Cyanidin 3-glucoside Chloride

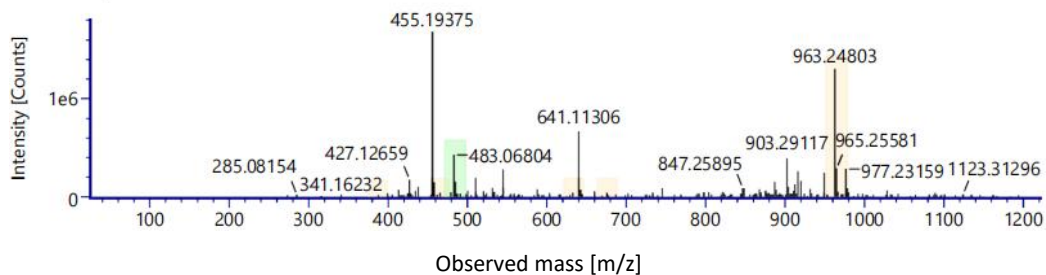
Item name: 240116_312 R 55_1_Neg

Channel name: Cyanidin 3-glucoside [-H] : (33.3 PPM) 483.0692



Item name: 240116_312 R 55_2_Neg
Item description:

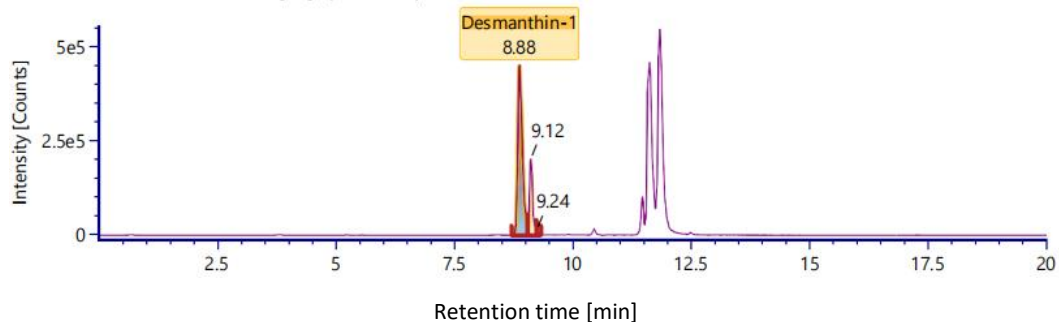
Component name: Cyanidin 3-glucoside



Desmanthin-1

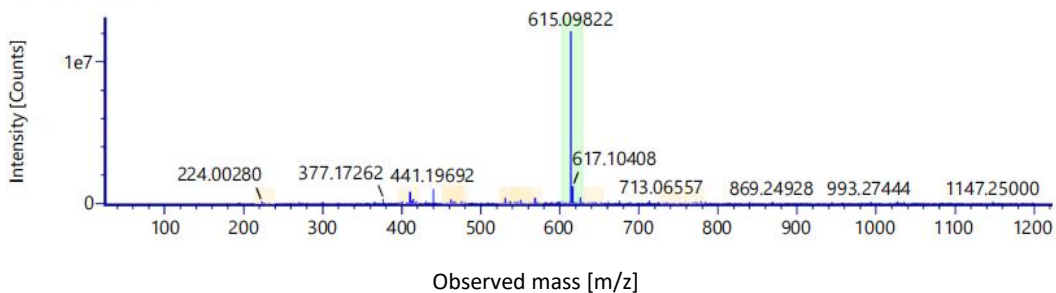
Item name: 240116_312 R 55_1_Neg

Channel name: Desmanthin-1 [-H] : (33.3 PPM) 615.0982



Item name: 240116_312 R 55_1_Neg
Item description:

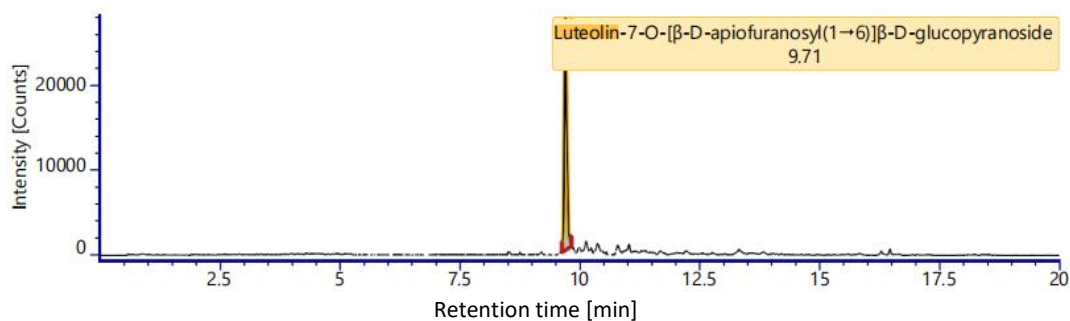
Component name: **Desmanthin-**



Luteolin-7-O-[β -D-apiofuranosyl(1 \rightarrow 6)] β -D-glucopyranoside

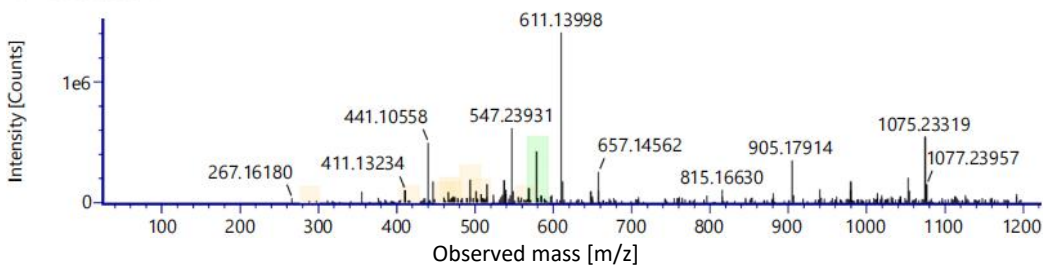
Item name: 240116_312 R 55_1_Neg

Channel name: **Luteolin**-7-O-[β -D-apiofuranosyl(1 \rightarrow 6)] β -D-glucopyranoside [-H] : (33.3 PPM) 579.1353



Item name: 240116_312 R 55_1_Neg
Item description:

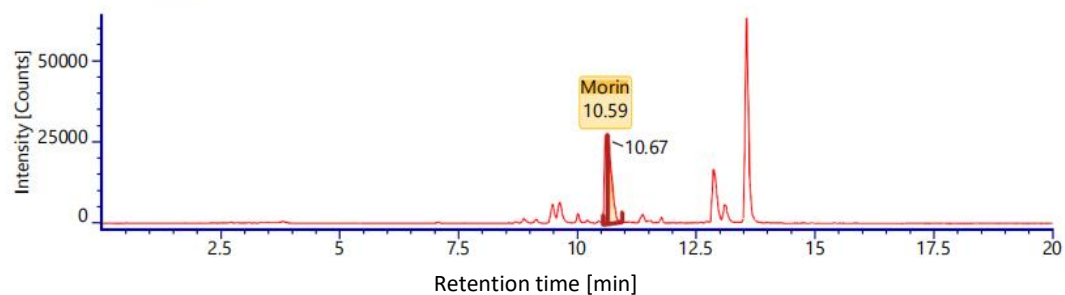
Component name: **Luteolin**-7-O-[β -D-apiofuranosyl(1 \rightarrow 6)] β -D-glucopyranoside



Morin [H-]

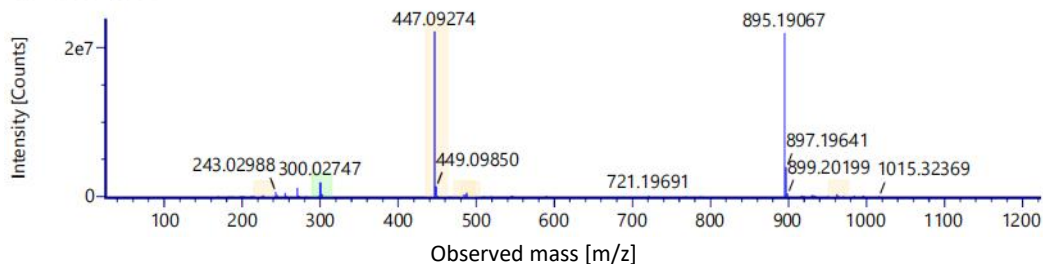
Item name: 240116_312 R 55_1_Neg

Channel name: **Morin** [-H] : (33.3 PPM) 301.0342



Item name: 240116_312 R 55_1_Neg
Item description:

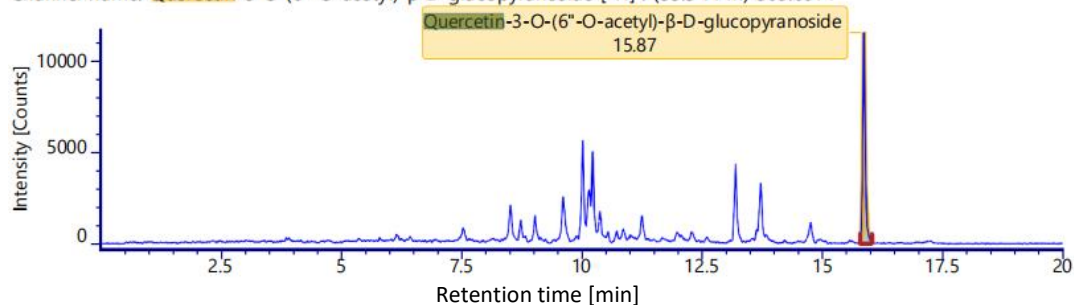
Component name: **Monn**



Quercetin-3-O-(6"-O-acetyl)- β -D-glucopyranoside

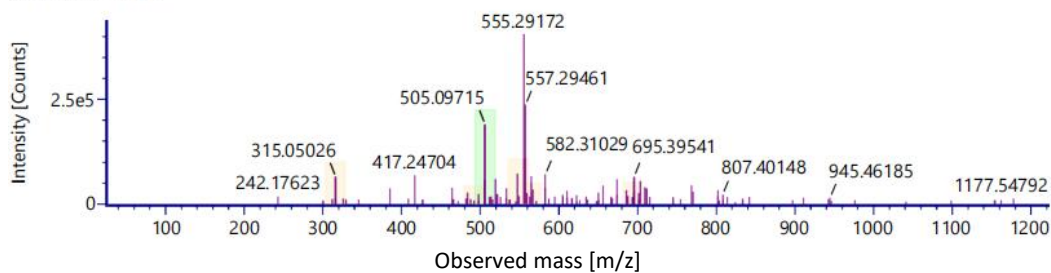
Item name: 240116_312 R 55_1_Neg

Channel name: **Quercetin**-3-O-(6"-O-acetyl)- β -D-glucopyranoside [-H] : (33.3 PPM) 505.0971



Item name: 240116_312 R 55_1_Neg
Item description:

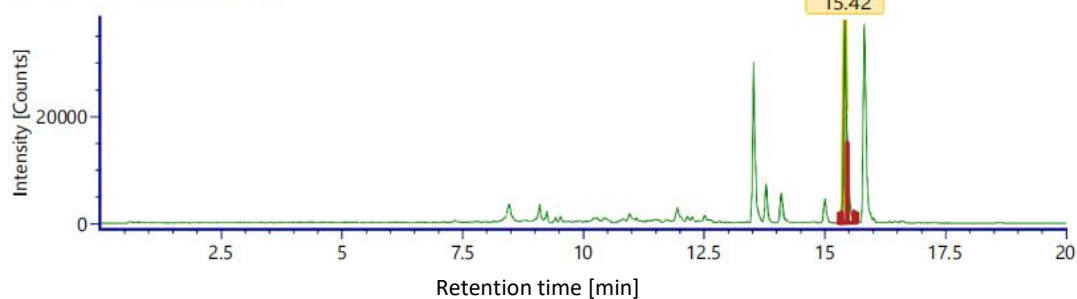
Component name: **Quercetin**-3-O-(6"-O-acetyl)- β -D-glucopyranoside



Tiliroside

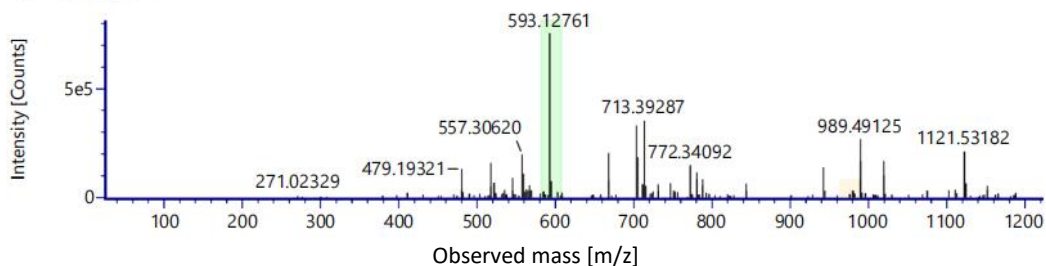
Item name: 240116_312 R 55_1_Neg

Channel name: **Tiliroside** [-H] : (33.3 PPM) 593.1276



Item name: 240116_312 R 55_1_Neg
Item description:

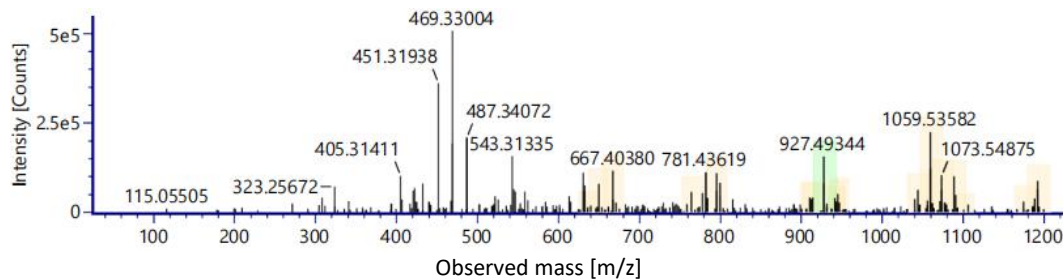
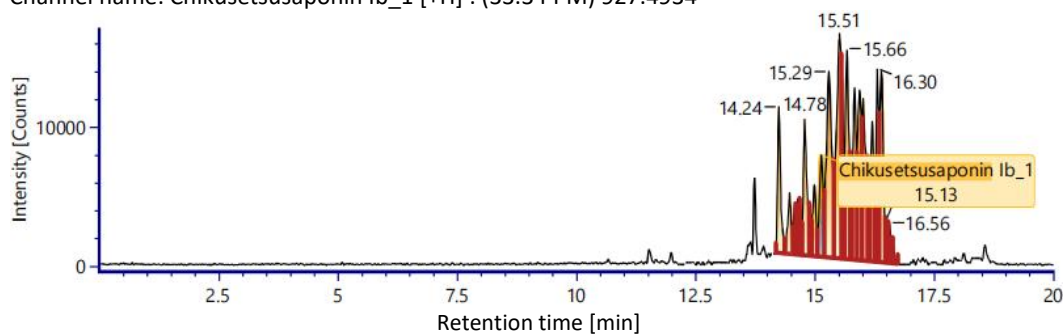
Component name: **Tiliroside**



Chikusetsusaponin Ib 1

Item name: 240116_312 R 55_1_Pos

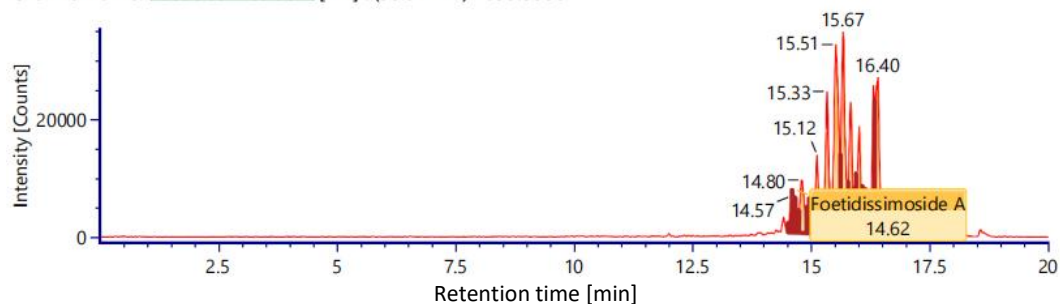
Channel name: Chikusetsusaponin Ib_1 [+H] : (33.3 PPM) 927.4934



Foetidissimoside A

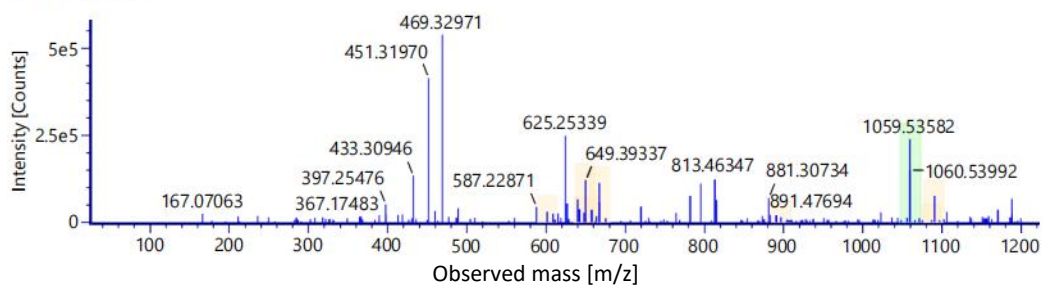
Item name: 240116_312 R 55_1_Pos

Channel name: **Foetidissimoside A** [+H] : (33.3 PPM) 1059.5358



Item name: 240116_312 R 55_1_Pos
Item description:

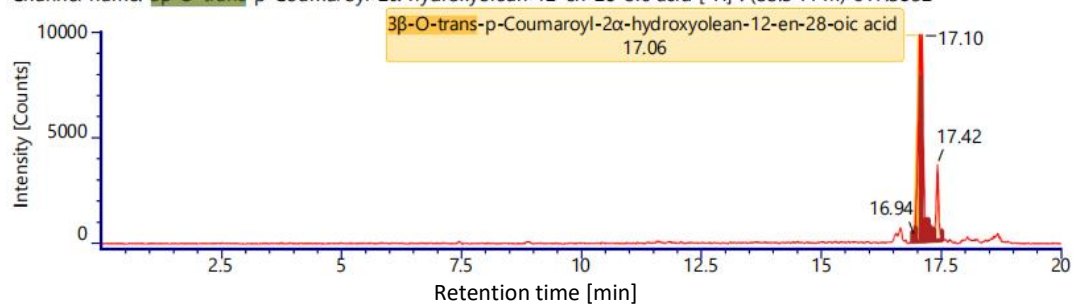
Component name: Foetidissimoside A



3 β -O-trans-p-Coumaroyl-2 α -hydroxyolean-12-en-28-oic acid

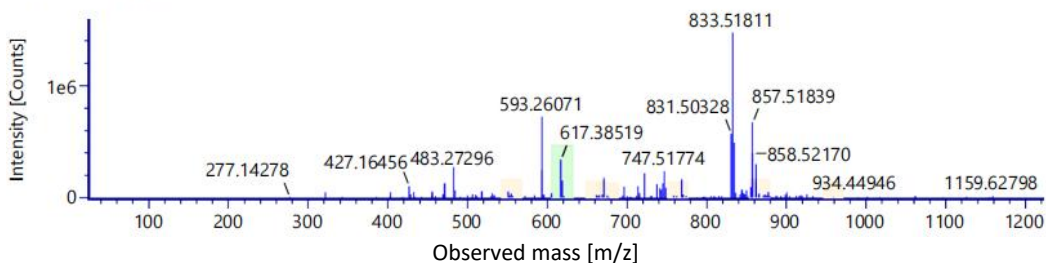
Item name: 240116_312 R 55_1_Neg

Channel name: 3 β -O-trans-p-Coumaroyl-2 α -hydroxyolean-12-en-28-oic acid [-H] : (33.3 PPM) 617.3852



Item name: 240116_312 R 55_1_Neg
Item description:

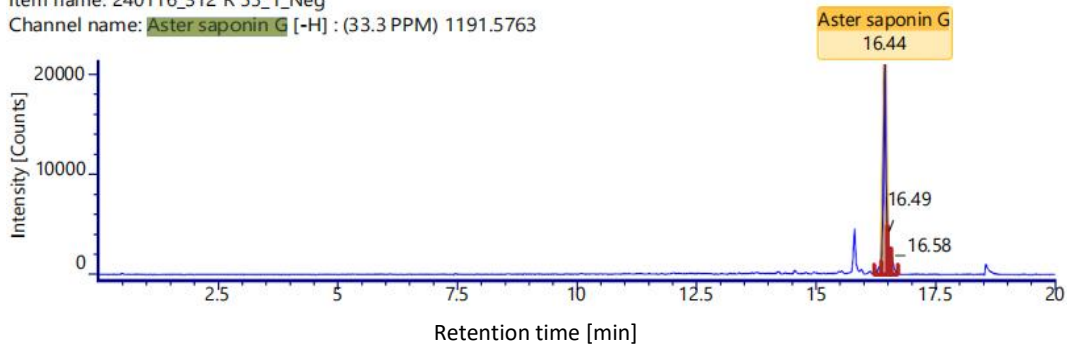
Component name: 3 β -O-trans-p-Coumaroyl-2 α -hydroxyolean-12-en-28-oic acid



Aster saponin G

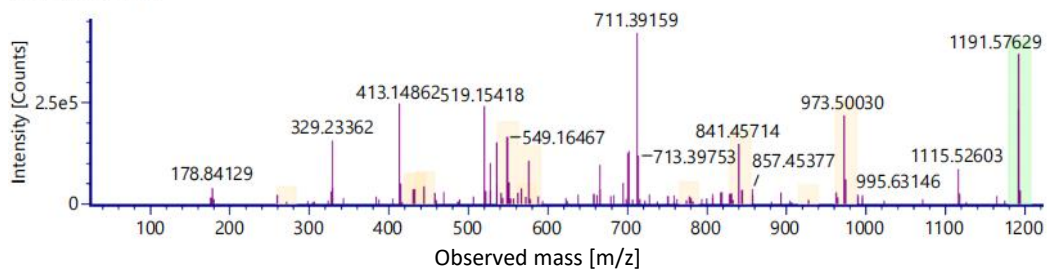
Item name: 240116_312 R 55_1_Neg

Channel name: Aster saponin G [-H] : (33.3 PPM) 1191.5763



Item name: 240116_312 R 55_1_Neg
Item description:

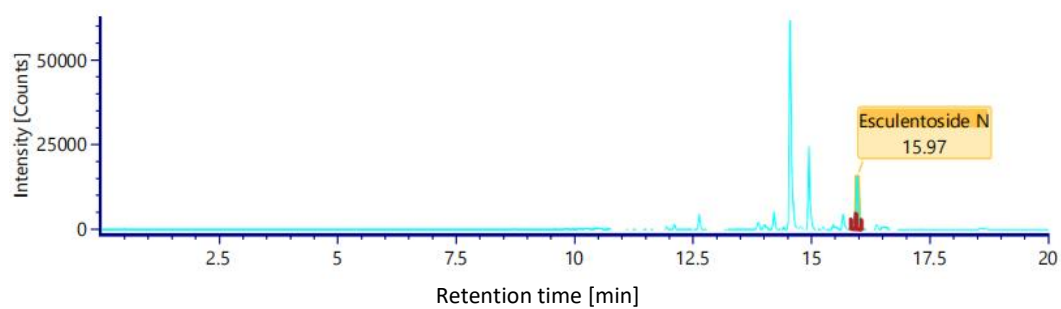
Component name: Aster saponin G



Esculentoside N

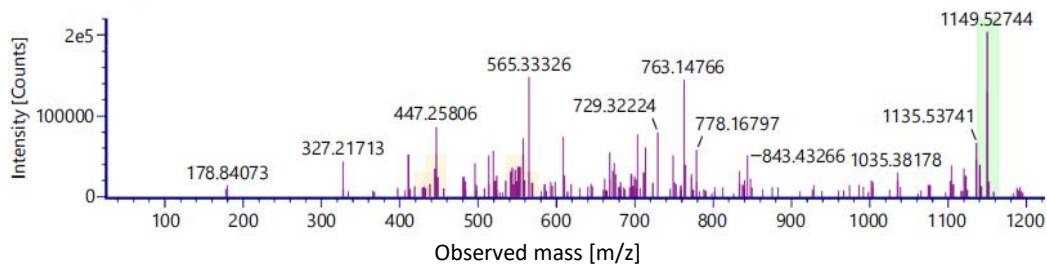
Item name: 240116_312 R 55_1_Neg

Channel name: Esculentoside N [-H] : (33.3 PPM) 1149.5274

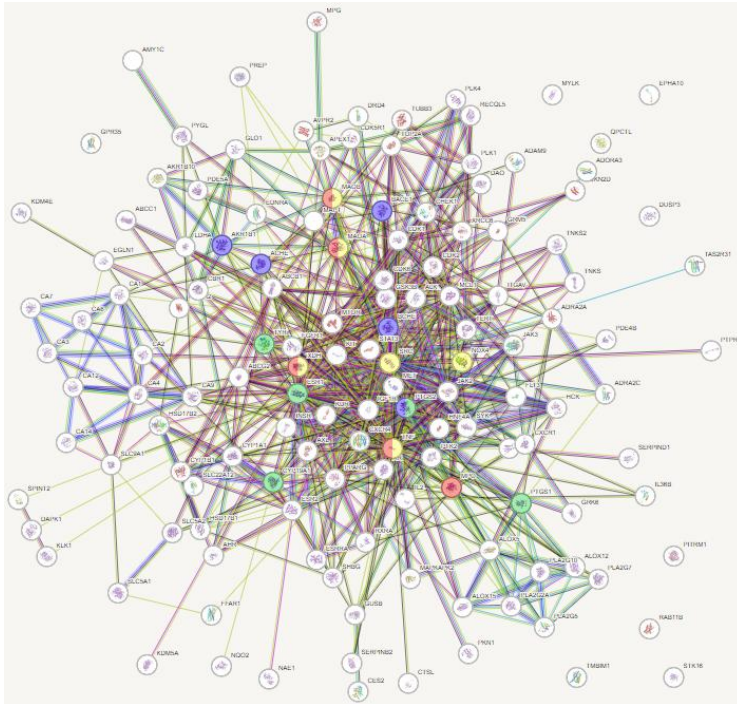


Item name: 240116_312 R 55_1_Neg
Item description:

Component name: Esculentoside N



Lampiran 5. Prediksi target protein



Jalur signal 5 senyawa kimia dengan protein target

- 1 Fiedor, J., & Burda, K. (2014). Potential role of carotenoids as antioxidants in human health and disease. *Nutrients*, 6(2), 466-488.
- 2 Choi, J. S., Islam, M. N., Ali, M. Y., Kim, E. J., Kim, Y. M., & Jung, H. A. (2014). Effects of C-glycosylation on anti-diabetic, anti-Alzheimer's disease and anti-inflammatory potential of apigenin. *Food and Chemical Toxicology*, 64, 27-33.
- 3 Selvaraj, J., Vishnupriya, V., Sardar, H., Balakrishna, J. P., Rex, J., Mohan, S. K., ... & Ponnulakshmi, R. (2020). Molecular docking analysis of COX-2 for potential inhibitors. *Bioinformation*, 16(10), 753.
- 4 Ismail, H. M., Scapoza, L., Ruegg, U. T., & Dorchie, O. M. (2014). Diapocynin, a dimer of the NADPH oxidase inhibitor apocynin, reduces ROS production and prevents force loss in eccentrically contracting dystrophic muscle. *PLoS one*, 9(10), e110708.

DAFTAR PROTEIN TARGET DARI 5 SENYAWA AKTIF

Target	Common name	Uniprot ID	ChEMBL ID	Target Class	Probability*	Known actives (3D/2D)	Ligan
5-lipoxygenase activating protein	ALOX5AP	P20292	CHEMBL4550	Other cytosolic protein	0	27 / 0	3-O-p-trans...
6-phosphofructo-2-kinase/fructose-2,6-bisphosphatase 3	PFKFB3	Q16875	CHEMBL2331053	Enzyme	0,12730257	0 / 2	Morin
Acetylcholinesterase	ACHE	P22303	CHEMBL220	Hydrolase	0,100578902	48 / 22	Pinostrobin
Acetylcholinesterase	ACHE	P22303	CHEMBL220	Hydrolase	0,166798772	0 / 27	Morin
Acyl coenzyme A:cholesterol acyltransferase	CES1	P23141	CHEMBL2265	Enzyme	0,100578902	31 / 1	Pinostrobin
Adenosine A1 receptor (by homology)	ADORA1	P30542	CHEMBL226	Family A G protein-coupled receptor	0,166798772	0 / 23	Morin
Adenosine A1 receptor (by homology)	ADORA1	P30542	CHEMBL226	Family A G protein-coupled receptor	0,33811031	306 / 3	Pinostrobin
Adenosine A2a receptor (by homology)	ADORA2A	P29274	CHEMBL251	Family A G protein-coupled receptor	0,166798772	0 / 11	Morin
Adenosine A3 receptor	ADORA3	P0DMS8	CHEMBL256	Family A G protein-coupled receptor	0,166798772	0 / 20	Morin
Adenosine A3 receptor	ADORA3	P0DMS8	CHEMBL256	Family A G protein-coupled receptor	0,288928252	115 / 2	Pinostrobin
Aldehyde reductase (by homology)	AKR1A1	P14550	CHEMBL2246	Enzyme	0,143102156	0 / 1	Morin
Aldo-keto reductase family 1 member B10	AKR1B10	O60218	CHEMBL5983	Enzyme	0,05564795	3 / 18	3-O-p-trans...
Aldo-keto reductase family 1 member B10	AKR1B10	O60218	CHEMBL5983	Enzyme	0,119403562	0 / 3	Morin
Aldo-keto reductase family 1 member C1 (by homology)	AKR1C1	Q04828	CHEMBL5905	Enzyme	0,143102156	0 / 1	Morin
Aldo-keto reductase family 1 member C2 (by homology)	AKR1C2	P52895	CHEMBL5847	Enzyme	0,143102156	0 / 1	Morin
Aldo-keto reductase family 1 member C4 (by homology)	AKR1C4	P17516	CHEMBL4999	Enzyme	0,143102156	0 / 1	Morin
Aldo-keto-reductase family 1 member C3	AKR1C3	P42330	CHEMBL4681	Enzyme	0,108770969	3 / 7	Pinostrobin
Aldo-keto-reductase family 1 member C3 (by homology)	AKR1C3	P42330	CHEMBL4681	Enzyme	0,143102156	0 / 1	Morin
Aldose reductase	AKR1B1	P15121	CHEMBL1900	Enzyme	0,05564795	0 / 23	3-O-p-trans...
Aldose reductase	AKR1B1	P15121	CHEMBL1900	Enzyme	0,100578902	95 / 47	Pinostrobin
Aldose reductase	AKR1B1	P15121	CHEMBL1900	Enzyme	0,12730257	1 / 71	Morin
ALK tyrosine kinase receptor	ALK	Q9UM73	CHEMBL4247	Kinase	0,143102156	0 / 4	Morin
Aminopeptidase N	ANPEP	P15144	CHEMBL1907	Protease	0	15 / 0	3-O-p-trans...
AMY1C	AMY1A	P04745	CHEMBL2478	Enzyme	0,119403562	0 / 1	Morin
Androgen Receptor	AR	P10275	CHEMBL1871	Nuclear receptor	0,111501865	0 / 16	Morin
Angiotensin-converting enzyme (by homology)	ACE	P12821	CHEMBL1808	Protease	0,05564795	4 / 0	3-O-p-trans...
Apoptosis regulator Bcl-2	BCL2	P10415	CHEMBL4860	Other ion channel	0	2 / 0	3-O-p-trans...
Arachidonate 12-lipoxygenase	ALOX12	P18054	CHEMBL3687	Enzyme	0,119403562	1 / 10	Morin
Arachidonate 15-lipoxygenase	ALOX15	P16050	CHEMBL2903	Enzyme	0,143102156	0 / 8	Morin

Arachidonate 5-lipoxygenase	ALOX5	P09917	CHEMBL215	Oxidoreductase	0,214178827	0 / 46	Morin
Arginase-1 (by homology)	ARG1	P05089	CHEMBL1075097	Enzyme	0,12730257	0 / 2	Morin
Aryl hydrocarbon receptor	AHR	P35869	CHEMBL3201	Transcription factor	0,214178827	0 / 1	Morin
ATP-binding cassette sub-family G member 2	ABCG2	Q9UNQ0	CHEMBL5393	Primary active transporter	0,214178827	0 / 48	Morin
ATP-binding cassette sub-family G member 2	ABCG2	Q9UNQ0	CHEMBL5393	Primary active transporter	0,936836965	58 / 7	Pinostrobin
Beta amyloid A4 protein	APP	P05067	CHEMBL2487	Membrane receptor	0,05564795	0 / 16	3-O-p-trans...
Beta-glucuronidase	GUSB	P08236	CHEMBL2728	Enzyme	0,100578902	15 / 0	Pinostrobin
Beta-secretase 1	BACE1	P56817	CHEMBL4822	Protease	0,05564795	8 / 4	3-O-p-trans...
Beta-secretase 1	BACE1	P56817	CHEMBL4822	Protease	0,100578902	330 / 14	Pinostrobin
Bile acid transporter	SLC10A1	Q14973	CHEMBL5287	Electrochemical transporter	0,05564795	3 / 0	3-O-p-trans...
Butyrylcholinesterase	BCHE	P06276	CHEMBL1914	Hydrolase	0,100578902	18 / 2	Pinostrobin
Butyrylcholinesterase	BCHE	P06276	CHEMBL1914	Hydrolase	0,166798772	0 / 5	Morin
CaM kinase II beta	CAMK2B	Q13554	CHEMBL4121	Kinase	0,143102156	0 / 2	Morin
Carbonic anhydrase I	CA1	P00915	CHEMBL261	Lyase	0,100578902	417 / 4	Pinostrobin
Carbonic anhydrase I	CA1	P00915	CHEMBL261	Lyase	0,111501865	1 / 5	Morin
Carbonic anhydrase II	CA2	P00918	CHEMBL205	Lyase	0,100578902	503 / 5	Pinostrobin
Carbonic anhydrase II	CA2	P00918	CHEMBL205	Lyase	0,12730257	1 / 13	Morin
Carbonic anhydrase III	CA3	P07451	CHEMBL2885	Lyase	0	0 / 2	3-O-p-trans...
Carbonic anhydrase III	CA3	P07451	CHEMBL2885	Lyase	0,143102156	0 / 1	Morin
Carbonic anhydrase IV	CA4	P22748	CHEMBL3729	Lyase	0	0 / 14	3-O-p-trans...
Carbonic anhydrase IV	CA4	P22748	CHEMBL3729	Lyase	0,119403562	1 / 11	Morin
Carbonic anhydrase IV	CA4	P22748	CHEMBL3729	Lyase	0,223449266	24 / 7	Pinostrobin
Carbonic anhydrase IX	CA9	Q16790	CHEMBL3594	Lyase	0,100578902	305 / 2	Pinostrobin
Carbonic anhydrase IX	CA9	Q16790	CHEMBL3594	Lyase	0,111501865	1 / 6	Morin
Carbonic anhydrase VA	CA5A	P35218	CHEMBL4789	Lyase	0	0 / 21	3-O-p-trans...
Carbonic anhydrase VB	CA5B	Q9Y2D0	CHEMBL3969	Lyase	0	0 / 16	3-O-p-trans...
Carbonic anhydrase VI	CA6	P23280	CHEMBL3025	Lyase	0	0 / 16	3-O-p-trans...
Carbonic anhydrase VI	CA6	P23280	CHEMBL3025	Lyase	0,111501865	1 / 1	Morin
Carbonic anhydrase VII	CA7	P43166	CHEMBL2326	Lyase	0	0 / 23	3-O-p-trans...
Carbonic anhydrase VII	CA7	P43166	CHEMBL2326	Lyase	0,12730257	1 / 12	Morin
Carbonic anhydrase VII	CA7	P43166	CHEMBL2326	Lyase	0,247942823	115 / 8	Pinostrobin
Carbonic anhydrase XII	CA12	O43570	CHEMBL3242	Lyase	0,12730257	1 / 16	Morin
Carbonic anhydrase XII	CA12	O43570	CHEMBL3242	Lyase	0,305318025	279 / 7	Pinostrobin

Carbonic anhydrase XIII	CA13	Q8N1Q1	CHEMBL3912	Lyase	0	0 / 17	3-O-p-trans...
Carbonic anhydrase XIV	CA14	Q9ULX7	CHEMBL3510	Lyase	0	0 / 23	3-O-p-trans...
Carbonic anhydrase XIV	CA14	Q9ULX7	CHEMBL3510	Lyase	0,111501865	1 / 1	Morin
Carbonyl reductase [NADPH] 1	CBR1	P16152	CHEMBL5586	Enzyme	0,111501865	0 / 2	Morin
Carbonyl reductase [NADPH] 1	CBR1	P16152	CHEMBL5586	Enzyme	0,25622784	0 / 1	Pinostrobin
Carboxylesterase 2	CES2	O00748	CHEMBL3180	Enzyme	0,108770969	7 / 1	Pinostrobin
Carboxypeptidase B2 isoform A	CPB2	Q96IY4	CHEMBL3419	Protease	0	10 / 0	3-O-p-trans...
Caspase-1	CASP1	P29466	CHEMBL4801	Protease	0	6 / 0	3-O-p-trans...
Cathepsin (B and K)	CTSB	P07858	CHEMBL4072	Protease	0,100578902	53 / 1	Pinostrobin
Cathepsin L	CTSL	P07711	CHEMBL3837	Protease	0,100578902	60 / 2	Pinostrobin
C-C chemokine receptor type 5	CCR5	P51681	CHEMBL274	Family A G protein-coupled receptor	0	18 / 0	3-O-p-trans...
Cholecystokinin B receptor	CCKBR	P32239	CHEMBL298	Family A G protein-coupled receptor	0	41 / 0	3-O-p-trans...
Chymase	CMA1	P23946	CHEMBL4068	Protease	0	3 / 0	3-O-p-trans...
CMP-N-acetylneuraminat-beta-galactosamide-alpha-2,3-sialyltransferase 1	ST3GAL1	Q11201	CHEMBL3596074	Transferase	0	1 / 0	3-O-p-trans...
Coagulation factor VII	F7	P08709	CHEMBL3991	Protease	0	7 / 0	3-O-p-trans...
Coagulation factor VII/tissue factor	F3 F7	P13726 P08709	CHEMBL2095194	Protease	0	7 / 0	3-O-p-trans...
Complement C1s	C1S	P09871	CHEMBL3913	Protease	0	2 / 0	3-O-p-trans...
C-X-C chemokine receptor type 4	CXCR4	P61073	CHEMBL2107	Family A G protein-coupled receptor	0,100578902	1 / 0	Pinostrobin
Cyclin-dependent kinase 1	CDK1	P06493	CHEMBL308	Kinase	0,100578902	111 / 0	Pinostrobin
Cyclin-dependent kinase 1	CDK1	P06493	CHEMBL308	Kinase	0,143102156	0 / 11	Morin
Cyclin-dependent kinase 1/cyclin B	CCNB3 CDK1 CCNB1 CCNB2	Q8WWL7 P06493 P14635 O95067	CHEMBL2094127	Other cytosolic protein	0,12730257	0 / 9	Morin
Cyclin-dependent kinase 2	CDK2	P24941	CHEMBL301	Kinase	0,100578902	239 / 0	Pinostrobin
Cyclin-dependent kinase 2	CDK2	P24941	CHEMBL301	Kinase	0,12730257	0 / 15	Morin
Cyclin-dependent kinase 2/cyclin E1	CCNE1 CDK2	P24864 P24941	CHEMBL1907605	Kinase	0,100578902	72 / 0	Pinostrobin
Cyclin-dependent kinase 4/cyclin D	CCND3 CCND1 CDK4 CCND2	P30281 P24385 P11802 P30279	CHEMBL2095942	Other cytosolic protein	0,100578902	11 / 0	Pinostrobin
Cyclin-dependent kinase 5/CDK5 activator 1	CDK5R1 CDK5	Q15078 Q00535	CHEMBL1907600	Kinase	0,12730257	0 / 18	Morin
Cyclin-dependent kinase 6	CDK6	Q00534	CHEMBL2508	Kinase	0,12730257	0 / 4	Morin
Cyclooxygenase-1	PTGS1	P23219	CHEMBL221	Oxidoreductase	0,149732594	23 / 14	Pinostrobin
Cyclooxygenase-2	PTGS2	P35354	CHEMBL230	Oxidoreductase	0,100578902	134 / 14	Pinostrobin
Cyclooxygenase-2	PTGS2	P35354	CHEMBL230	Oxidoreductase	0,119403562	0 / 20	Morin

Cysteinyl leukotriene receptor 1	CYSLTR1	Q9Y271	CHEMBL1798	Family A G protein-coupled receptor	0	7 / 0	3-O-p-trans...
Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator	CFTR	P13569	CHEMBL4051	Other ion channel	0,119403562	0 / 1	Morin
Cystinyl aminopeptidase	LNPEP	Q9UIQ6	CHEMBL2693	Protease	0	33 / 0	3-O-p-trans...
Cytochrome P450 19A1	CYP19A1	P11511	CHEMBL1978	Cytochrome P450	0,143102156	0 / 16	Morin
Cytochrome P450 19A1	CYP19A1	P11511	CHEMBL1978	Cytochrome P450	0,665850737	167 / 52	Pinostrobin
Cytochrome P450 1A1	CYP1A1	P04798	CHEMBL2231	Cytochrome P450	0,100578902	6 / 0	Pinostrobin
Cytochrome P450 1B1	CYP1B1	Q16678	CHEMBL4878	Cytochrome P450	0,214178827	0 / 46	Morin
Cytochrome P450 1B1	CYP1B1	Q16678	CHEMBL4878	Cytochrome P450	0,477439842	19 / 6	Pinostrobin
D-amino-acid oxidase	DAO	P14920	CHEMBL5485	Enzyme	0,100578902	22 / 0	Pinostrobin
Death-associated protein kinase 1	DAPK1	P53355	CHEMBL2558	Kinase	0,340526084	0 / 2	Morin
DNA polymerase beta	POLB	P06746	CHEMBL2392	Enzyme	0,065155937	5 / 4	3-O-p-trans...
DNA polymerase beta (by homology)	POLB	P06746	CHEMBL2392	Enzyme	0,100578902	0 / 2	Pinostrobin
DNA topoisomerase II alpha	TOP2A	P11388	CHEMBL1806	Isomerase	0,143102156	0 / 1	Morin
DNA-(apurinic or apyrimidinic site) lyase	APEX1	P27695	CHEMBL5619	Enzyme	0,143102156	0 / 1	Morin
DNA-3-methyladenine glycosylase	MPG	P29372	CHEMBL3396943	Enzyme	0,340526084	0 / 1	Morin
DNA-dependent protein kinase	PRKDC	P78527	CHEMBL3142	Kinase	0,100578902	119 / 0	Pinostrobin
Dopamine D4 receptor	DRD4	P21917	CHEMBL219	Family A G protein-coupled receptor	0,143102156	0 / 1	Morin
Dopamine transporter	SLC6A3	Q01959	CHEMBL238	Electrochemical transporter	0	0 / 27	3-O-p-trans...
Dual specificity protein phosphatase 3	DUSP3	P51452	CHEMBL2635	Phosphatase	0,100578902	13 / 0	Pinostrobin
Dual specificity tyrosine-phosphorylation-regulated kinase 1B	DYRK1B	Q9Y463	CHEMBL5543	Kinase	0,05564795	0 / 7	3-O-p-trans...
Dual specificity protein kinase CLK1	CLK1	P49759	CHEMBL4224	Kinase	0,05564795	0 / 3	3-O-p-trans...
Dual-specificity tyrosine-phosphorylation regulated kinase 1A	DYRK1A	Q13627	CHEMBL2292	Kinase	0,05564795	0 / 8	3-O-p-trans...
Egl nine homolog 1	EGLN1	Q9GZT9	CHEMBL5697	Oxidoreductase	0,100578902	8 / 0	Pinostrobin
Endothelin receptor ET-A	EDNRA	P25101	CHEMBL252	Family A G protein-coupled receptor	0,100578902	9 / 33	Pinostrobin
Endothelin receptor ET-A (by homology)	EDNRA	P25101	CHEMBL252	Family A G protein-coupled receptor	0,05564795	10 / 1	3-O-p-trans...
Ephrin receptor	EPHB4	P54760	CHEMBL5147	Kinase	0	2 / 0	3-O-p-trans...
Ephrin receptor	EPHB4	P54760	CHEMBL5147	Kinase	0,100578902	112 / 0	Pinostrobin
Ephrin receptor	EPHB6	O15197	CHEMBL5836	Unclassified protein	0	2 / 0	3-O-p-trans...
Ephrin type-A receptor 1	EPHA1	P21709	CHEMBL5810	Kinase	0	2 / 0	3-O-p-trans...
Ephrin type-A receptor 2	EPHA2	P29317	CHEMBL2068	Kinase	0,05564795	8 / 0	3-O-p-trans...
Ephrin type-A receptor 3	EPHA3	P29320	CHEMBL4954	Kinase	0	2 / 0	3-O-p-trans...
Ephrin type-A receptor 4	EPHA4	P54764	CHEMBL3988	Kinase	0	2 / 0	3-O-p-trans...

Ephrin type-A receptor 5	EPHA5	P54756	CHEMBL3987	Kinase	0	2 / 0	3-O-p-trans...
Ephrin type-A receptor 6	EPHA6	Q9UF33	CHEMBL4526	Kinase	0	2 / 0	3-O-p-trans...
Ephrin type-A receptor 7	EPHA7	Q15375	CHEMBL4602	Kinase	0	2 / 0	3-O-p-trans...
Ephrin type-A receptor 8	EPHA8	P29322	CHEMBL4134	Kinase	0	2 / 0	3-O-p-trans...
Ephrin type-B receptor 1	EPHB1	P54762	CHEMBL5072	Kinase	0	2 / 0	3-O-p-trans...
Ephrin type-B receptor 2	EPHB2	P29323	CHEMBL3290	Kinase	0	2 / 0	3-O-p-trans...
Ephrin type-B receptor 3	EPHB3	P54753	CHEMBL4901	Kinase	0	2 / 0	3-O-p-trans...
Epidermal growth factor receptor erbB1	EGFR	P00533	CHEMBL203	Kinase	0,111501865	1 / 28	Morin
Estradiol 17-beta-dehydrogenase 1	HSD17B1	P14061	CHEMBL3181	Enzyme	0,214178827	0 / 4	Morin
Estradiol 17-beta-dehydrogenase 1	HSD17B1	P14061	CHEMBL3181	Enzyme	0,247942823	44 / 2	Pinostrobin
Estradiol 17-beta-dehydrogenase 2	HSD17B2	P37059	CHEMBL2789	Enzyme	0,214178827	0 / 3	Morin
Estrogen receptor alpha	ESR1	P03372	CHEMBL206	Nuclear receptor	0,119403562	0 / 29	Morin
Estrogen receptor alpha	ESR1	P03372	CHEMBL206	Nuclear receptor	0,223449266	48 / 85	Pinostrobin
Estrogen receptor beta	ESR2	Q92731	CHEMBL242	Nuclear receptor	0,174270753	62 / 77	Pinostrobin
Estrogen receptor beta	ESR2	Q92731	CHEMBL242	Nuclear receptor	0,340526084	0 / 28	Morin
Estrogen-related receptor alpha	ESRRA	P11474	CHEMBL3429	Nuclear receptor	0,214178827	0 / 2	Morin
Fibroblast activation protein alpha (by homology)	FAP	Q12884	CHEMBL4683	Protease	0,100578902	46 / 0	Pinostrobin
Fibroblast growth factor receptor 1	FGFR1	P11362	CHEMBL3650	Kinase	0,100578902	43 / 3	Pinostrobin
Focal adhesion kinase 1	PTK2	Q05397	CHEMBL2695	Kinase	0,111501865	1 / 2	Morin
Free fatty acid receptor 1	FFAR1	O14842	CHEMBL4422	Family A G protein-coupled receptor	0,100578902	0 / 136	Pinostrobin
G protein-coupled receptor 44	PTGDR2	Q9Y5Y4	CHEMBL5071	Family A G protein-coupled receptor	0	1 / 0	3-O-p-trans...
G protein-coupled receptor kinase 6	GRK6	P43250	CHEMBL6144	Kinase	0,119403562	0 / 4	Morin
Gamma-amino-N-butyrate transaminase (by homology)	ABAT	P80404	CHEMBL2044	Transferase	0,100578902	5 / 0	Pinostrobin
Geranylgeranyl transferase type I	PGGT1B FNTA	P53609 P49354	CHEMBL2095164	Enzyme	0	4 / 0	3-O-p-trans...
Glutamate carboxypeptidase II	FOLH1	Q04609	CHEMBL1892	Protease	0	1 / 0	3-O-p-trans...
Glutaminyl-peptide cyclotransferase	QPCT	Q16769	CHEMBL4508	Enzyme	0,100578902	51 / 0	Pinostrobin
Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase liver	GAPDH	P04406	CHEMBL2284	Oxidoreductase	0,100578902	1 / 0	Pinostrobin
Glycogen synthase kinase-3 beta	GSK3B	P49841	CHEMBL262	Kinase	0,100578902	440 / 0	Pinostrobin
Glycogen synthase kinase-3 beta	GSK3B	P49841	CHEMBL262	Kinase	0,111501865	1 / 5	Morin
Glyoxalase I	GLO1	Q04760	CHEMBL2424	Enzyme	0,143102156	0 / 4	Morin
G-protein coupled bile acid receptor 1	GPBAR1	Q8TDU6	CHEMBL5409	Family A G protein-coupled receptor	0	4 / 0	3-O-p-trans...
G-protein coupled receptor 35	GPR35	Q9HC97	CHEMBL1293267	Family A G protein-coupled receptor	0,166798772	1 / 4	Morin
Group X secretory phospholipase A2	PLA2G10	O15496	CHEMBL4342	Enzyme	0,100578902	3 / 1	Pinostrobin

Hepatocyte growth factor receptor	MET	P08581	CHEMBL3717	Kinase	0	0 / 20	3-O-p-trans...
Hepatocyte growth factor receptor	MET	P08581	CHEMBL3717	Kinase	0,100578902	307 / 4	Pinostrobin
Hepatocyte nuclear factor 4-alpha	HNF4A	P41235	CHEMBL5398	Unclassified protein	0,100578902	0 / 6	Pinostrobin
Histone deacetylase 1	HDAC1	Q13547	CHEMBL325	Eraser	0	9 / 0	3-O-p-trans...
Histone deacetylase 3	HDAC3	O15379	CHEMBL1829	Eraser	0	3 / 0	3-O-p-trans...
Histone deacetylase 6	HDAC6	Q9UBN7	CHEMBL1865	Eraser	0	10 / 0	3-O-p-trans...
Histone deacetylase 8	HDAC8	Q9BY41	CHEMBL3192	Eraser	0	1 / 0	3-O-p-trans...
HLA class II histocompatibility antigen DRB3-1	HLA-DRB3	P79483	CHEMBL3460	Surface antigen	0	7 / 0	3-O-p-trans...
Ileal bile acid transporter	SLC10A2	Q12908	CHEMBL2778	Electrochemical transporter	0,05564795	18 / 0	3-O-p-trans...
Induced myeloid leukemia cell differentiation protein Mcl-1	MCL1	Q07820	CHEMBL4361	Other cytosolic protein	0,119403562	0 / 4	Morin
Inhibitor of apoptosis protein 3	XIAP	P98170	CHEMBL4198	Other cytosolic protein	0	12 / 0	3-O-p-trans...
Inhibitor of nuclear factor kappa B kinase beta subunit	IKBKB	O14920	CHEMBL1991	Kinase	0	3 / 5	3-O-p-trans...
Insulin receptor	INSR	P06213	CHEMBL1981	Kinase	0,111501865	1 / 1	Morin
Insulin-like growth factor I receptor	IGF1R	P08069	CHEMBL1957	Kinase	0,111501865	1 / 3	Morin
Integrin alpha-4	ITGA4	P13612	CHEMBL278	Membrane receptor	0	9 / 0	3-O-p-trans...
Integrin alpha-4/beta-1	ITGB1 ITGA4	P05556 P13612	CHEMBL1907599	Membrane receptor	0	9 / 0	3-O-p-trans...
Integrin alpha-IIb/beta-3	ITGA2B ITGB3	P08514 P05106	CHEMBL2093869	Membrane receptor	0	73 / 0	3-O-p-trans...
Integrin alpha-V/beta-3	ITGAV ITGB3	P06756 P05106	CHEMBL1907598	Membrane receptor	0	29 / 0	3-O-p-trans...
Interleukin-8 receptor A	CXCR1	P25024	CHEMBL4029	Family A G protein-coupled receptor	0,143102156	0 / 1	Morin
Interleukin-8 receptor B	CXCR2	P25025	CHEMBL2434	Family A G protein-coupled receptor	0,100578902	77 / 0	Pinostrobin
Kallikrein 1	KLK1	P06870	CHEMBL2319	Protease	0,100578902	0 / 1	Pinostrobin
Kallikrein 2	KLK2	P20151	CHEMBL2442	Protease	0,100578902	0 / 1	Pinostrobin
Kinesin-1 heavy chain/ Tyrosine-protein kinase receptor RET	RET	P07949	CHEMBL2041	Kinase	0,100578902	85 / 0	Pinostrobin
LDL-associated phospholipase A2	PLA2G7	Q13093	CHEMBL3514	Enzyme	0,100578902	24 / 0	Pinostrobin
Leukocyte elastase	ELANE	P08246	CHEMBL248	Protease	0,05564795	0 / 2	3-O-p-trans...
Leukotriene B4 receptor 1	LTB4R	Q15722	CHEMBL3911	Family A G protein-coupled receptor	0	22 / 0	3-O-p-trans...
Liver glycogen phosphorylase	PYGL	P06737	CHEMBL2568	Enzyme	0,05564795	0 / 1	3-O-p-trans...
Liver glycogen phosphorylase	PYGL	P06737	CHEMBL2568	Enzyme	0,143102156	0 / 1	Morin
L-lactate dehydrogenase A chain	LDHA	P00338	CHEMBL4835	Enzyme	0,100578902	5 / 0	Pinostrobin
Low molecular weight phosphotyrosine protein phosphatase	ACP1	P24666	CHEMBL4903	Phosphatase	0,05564795	0 / 1	3-O-p-trans...
Lysine-specific demethylase 4D-like	KDM4E	B2RXH2	CHEMBL1293226	Eraser	0,143102156	0 / 2	Morin
Lysine-specific demethylase 5A	KDM5A	P29375	CHEMBL2424504	Eraser	0,100578902	4 / 0	Pinostrobin

MAP kinase-activated protein kinase 2	MAPKAPK2	P49137	CHEMBL2208	Kinase	0,100578902	76 / 0	Pinostrobin
Matrix metalloproteinase 12	MMP12	P39900	CHEMBL4393	Protease	0,05564795	1 / 5	3-O-p-trans...
Matrix metalloproteinase 12	MMP12	P39900	CHEMBL4393	Protease	0,108770969	23 / 3	Pinostrobin
Matrix metalloproteinase 13	MMP13	P45452	CHEMBL280	Protease	0,05564795	2 / 3	3-O-p-trans...
Matrix metalloproteinase 13	MMP13	P45452	CHEMBL280	Protease	0,108770969	276 / 2	Pinostrobin
Matrix metalloproteinase 13	MMP13	P45452	CHEMBL280	Protease	0,143102156	0 / 1	Morin
Matrix metalloproteinase 2	MMP2	P08253	CHEMBL333	Protease	0,05564795	9 / 6	3-O-p-trans...
Matrix metalloproteinase 2	MMP2	P08253	CHEMBL333	Protease	0,143102156	0 / 2	Morin
Matrix metalloproteinase 3	MMP3	P08254	CHEMBL283	Protease	0,100578902	209 / 0	Pinostrobin
Matrix metalloproteinase 3	MMP3	P08254	CHEMBL283	Protease	0,143102156	0 / 1	Morin
Matrix metalloproteinase 9	MMP9	P14780	CHEMBL321	Protease	0,143102156	0 / 2	Morin
Metabotropic glutamate receptor 5	GRM5	P41594	CHEMBL3227	Family C G protein-coupled receptor	0,133337961	265 / 10	Pinostrobin
Microtubule-associated protein tau	MAPT	P10636	CHEMBL1293224	Unclassified protein	0,143102156	0 / 1	Morin
Monoamine oxidase A	MAOA	P21397	CHEMBL1951	Oxidoreductase	0,143102156	0 / 14	Morin
Monoamine oxidase B	MAOB	P27338	CHEMBL2039	Oxidoreductase	0,551053971	327 / 127	Pinostrobin
Monoglyceride lipase	MGLL	Q99685	CHEMBL4191	Enzyme	0,05564795	0 / 2	3-O-p-trans...
Multidrug resistance-associated protein 1	ABCC1	P33527	CHEMBL3004	Primary active transporter	0,19883376	9 / 2	Pinostrobin
Multidrug resistance-associated protein 1	ABCC1	P33527	CHEMBL3004	Primary active transporter	0,214178827	0 / 11	Morin
Myeloperoxidase	MPO	P05164	CHEMBL2439	Enzyme	0,143102156	0 / 1	Morin
Myosin light chain kinase, smooth muscle	MYLK	Q15746	CHEMBL2428	Kinase	0,143102156	0 / 1	Morin
NADPH oxidase 4	NOX4	Q9NPH5	CHEMBL1250375	Enzyme	0,214178827	0 / 8	Morin
NEED8-activating enzyme E1 regulatory subunit	NAE1	Q13564	CHEMBL2016431	Unclassified protein	0,119403562	0 / 1	Morin
Neurotensin receptor 1 (by homology)	NTSR1	P30989	CHEMBL4123	Family A G protein-coupled receptor	0	34 / 0	3-O-p-trans...
Neurotensin receptor 2	NTSR2	O95665	CHEMBL2514	Family A G protein-coupled receptor	0	5 / 0	3-O-p-trans...
p53-binding protein Mdm-2	MDM2	Q00987	CHEMBL5023	Other nuclear protein	0	4 / 0	3-O-p-trans...
Peroxisome proliferator-activated receptor gamma	PPARG	P37231	CHEMBL235	Nuclear receptor	0,108770969	14 / 148	Pinostrobin
P-glycoprotein 1	ABCB1	P08183	CHEMBL4302	Primary active transporter	0,05564795	0 / 57	3-O-p-trans...
P-glycoprotein 1	ABCB1	P08183	CHEMBL4302	Primary active transporter	0,100578902	38 / 209	Pinostrobin
P-glycoprotein 1	ABCB1	P08183	CHEMBL4302	Primary active transporter	0,214178827	0 / 47	Morin
Phosphodiesterase 1B	PDE1B	Q01064	CHEMBL4425	Phosphodiesterase	0,093779409	1 / 1	3-O-p-trans...
Phosphodiesterase 4B	PDE4B	Q07343	CHEMBL275	Phosphodiesterase	0,100578902	130 / 0	Pinostrobin
Phosphodiesterase 4D	PDE4D	Q08499	CHEMBL288	Phosphodiesterase	0,103119912	2 / 3	3-O-p-trans...

Phosphodiesterase 5A	PDE5A	O76074	CHEMBL1827	Phosphodiesterase	0,093779409	1 / 1	3-O-p-trans...
Phosphodiesterase 9A	PDE9A	O76083	CHEMBL3535	Phosphodiesterase	0,093779409	1 / 1	3-O-p-trans...
Phospholipase A2 group 1B	PLA2G1B	P04054	CHEMBL4426	Enzyme	0,108770969	0 / 1	Pinostrobin
Phospholipase A2 group 1B	PLA2G1B	P04054	CHEMBL4426	Enzyme	0,143102156	0 / 1	Morin
Phospholipase A2 group IIA	PLA2G2A	P14555	CHEMBL3474	Enzyme	0,100578902	15 / 8	Pinostrobin
Phospholipase A2 group V	PLA2G5	P39877	CHEMBL4323	Enzyme	0,100578902	0 / 3	Pinostrobin
PI3-kinase p110-alpha subunit	PIK3CA	P42336	CHEMBL4005	Enzyme	0,100578902	384 / 0	Pinostrobin
PI3-kinase p110-beta subunit	PIK3CB	P42338	CHEMBL3145	Enzyme	0,100578902	176 / 0	Pinostrobin
PI3-kinase p110-delta subunit	PIK3CD	O00329	CHEMBL3130	Enzyme	0,100578902	256 / 0	Pinostrobin
PI3-kinase p110-gamma subunit	PIK3CG	P48736	CHEMBL3267	Enzyme	0,100578902	242 / 0	Pinostrobin
PI3-kinase p110-gamma subunit	PIK3CG	P48736	CHEMBL3267	Enzyme	0,143102156	0 / 1	Morin
PI3-kinase p85-alpha subunit	PIK3R1	P27986	CHEMBL2506	Enzyme	0,143102156	0 / 1	Morin
PI4-kinase beta subunit	PI4KB	Q9UBF8	CHEMBL3268	Enzyme	0,100578902	51 / 0	Pinostrobin
Plasminogen	PLG	P00747	CHEMBL1801	Protease	0	1 / 0	3-O-p-trans...
Plasminogen activator inhibitor-1	SERPINE1	P05121	CHEMBL3475	Secreted protein	0	5 / 0	3-O-p-trans...
Plasminogen activator inhibitor-1	SERPINE1	P05121	CHEMBL3475	Secreted protein	0,100578902	4 / 3	Pinostrobin
Presequence protease, mitochondrial	PITRM1	Q5JRX3	CHEMBL3124731	Enzyme	0,100578902	2 / 0	Pinostrobin
Prolyl endopeptidase	PREP	P48147	CHEMBL3202	Protease	0,100578902	27 / 0	Pinostrobin
Prostanoid DP receptor	PTGDR	Q13258	CHEMBL4427	Family A G protein-coupled receptor	0	8 / 0	3-O-p-trans...
Prostanoid EP4 receptor	PTGER4	P35408	CHEMBL1836	Family A G protein-coupled receptor	0	5 / 0	3-O-p-trans...
Protein kinase C alpha	PRKCA	P17252	CHEMBL299	Kinase	0	1 / 201	3-O-p-trans...
Protein kinase C delta	PRKCD	Q05655	CHEMBL2996	Kinase	0,05564795	0 / 28	3-O-p-trans...
Protein kinase N1	PKN1	Q16512	CHEMBL3384	Kinase	0,143102156	0 / 3	Morin
Protein-tyrosine phosphatase 1B	PTPN1	P18031	CHEMBL335	Phosphatase	0,05564795	74 / 20	3-O-p-trans...
Protein-tyrosine phosphatase 1C	PTPN6	P29350	CHEMBL3166	Phosphatase	0	3 / 0	3-O-p-trans...
Purinergic receptor P2Y12	P2RY12	Q9H244	CHEMBL2001	Family A G protein-coupled receptor	0	13 / 0	3-O-p-trans...
Receptor-type tyrosine-protein phosphatase S	PTPRS	Q13332	CHEMBL2396508	Phosphatase	0,340526084	0 / 8	Morin
Retinoid X receptor alpha	RXRA	P19793	CHEMBL2061	Nuclear receptor	0,100578902	0 / 16	Pinostrobin
Serine/threonine protein phosphatase 2A, catalytic subunit, alpha isoform	PPP2CA	P67775	CHEMBL4703	Phosphatase	0	2 / 0	3-O-p-trans...
Serine/threonine-protein kinase Aurora-B	AURKB	Q96GD4	CHEMBL2185	Kinase	0,111501865	1 / 4	Morin
Serine/threonine-protein kinase Chk1	CHEK1	O14757	CHEMBL4630	Kinase	0,100578902	148 / 0	Pinostrobin
Serine/threonine-protein kinase mTOR	MTOR	P42345	CHEMBL2842	Kinase	0,100578902	262 / 0	Pinostrobin

Serine/threonine-protein kinase NEK2	NEK2	P51955	CHEMBL3835	Kinase	0,143102156	0 / 2	Morin
Serine/threonine-protein kinase NEK6	NEK6	Q9HC98	CHEMBL4309	Kinase	0,143102156	0 / 2	Morin
Serine/threonine-protein kinase PIM1	PIM1	P11309	CHEMBL2147	Kinase	0,143102156	0 / 7	Morin
Serine/threonine-protein kinase PLK1	PLK1	P53350	CHEMBL3024	Kinase	0,100578902	90 / 0	Pinostrobin
Serine/threonine-protein kinase PLK1	PLK1	P53350	CHEMBL3024	Kinase	0,111501865	1 / 3	Morin
Serine/threonine-protein kinase PLK4	PLK4	O00444	CHEMBL3788	Kinase	0,100578902	21 / 0	Pinostrobin
Serine/threonine-protein kinase/endoribonuclease IRE1	ERN1	O75460	CHEMBL1163101	Enzyme	0,100578902	82 / 0	Pinostrobin
Signal transducer and activator of transcription 3	STAT3	P40763	CHEMBL4026	Transcription factor	0	5 / 0	3-O-p-trans...
Signal transducer and activator of transcription 3	STAT3	P40763	CHEMBL4026	Transcription factor	0,100578902	36 / 0	Pinostrobin
Sodium/glucose cotransporter 2	SLC5A2	P31639	CHEMBL3884	Electrochemical transporter	0,100578902	5 / 7	Pinostrobin
Sodium/hydrogen exchanger 1	SLC9A1	P19634	CHEMBL2781	Electrochemical transporter	0,100578902	60 / 0	Pinostrobin
Solute carrier family 22 member 12	SLC22A12	Q96S37	CHEMBL6120	Electrochemical transporter	0,340526084	0 / 1	Morin
Sphingosine 1-phosphate receptor Edg-5	S1PR2	O95136	CHEMBL2955	Family A G protein-coupled receptor	0	9 / 0	3-O-p-trans...
Stem cell growth factor receptor	KIT	P10721	CHEMBL1936	Kinase	0,100578902	52 / 3	Pinostrobin
Tankyrase-1	TNKS	O95271	CHEMBL6164	Enzyme	0,100578902	34 / 0	Pinostrobin
Tankyrase-1	TNKS	O95271	CHEMBL6164	Enzyme	0,119403562	0 / 28	Morin
Tankyrase-2	TNKS2	Q9H2K2	CHEMBL6154	Enzyme	0,100578902	34 / 0	Pinostrobin
Tankyrase-2	TNKS2	Q9H2K2	CHEMBL6154	Enzyme	0,119403562	0 / 12	Morin
Taste receptor type 2 member 31	TAS2R31	P59538	CHEMBL2034804	Taste family G protein-coupled receptor	0,313572767	0 / 3	Pinostrobin
T-cell protein-tyrosine phosphatase	PTPN2	P17706	CHEMBL3807	Phosphatase	0	34 / 9	3-O-p-trans...
Telomerase reverse transcriptase	TERT	O14746	CHEMBL2916	Enzyme	0,111501865	0 / 22	Morin
Testis-specific androgen-binding protein	SHBG	P04278	CHEMBL3305	Secreted protein	0,387283728	5 / 2	Pinostrobin
Thrombin	F2	P00734	CHEMBL204	Protease	0,119403562	1 / 3	Morin
Thromboxane-A synthase	TBXAS1	P24557	CHEMBL1835	Cytochrome P450	0	6 / 0	3-O-p-trans...
Thyroid hormone receptor alpha	THRA	P10827	CHEMBL1860	Nuclear receptor	0	4 / 0	3-O-p-trans...
Thyroid hormone receptor beta-1	THRB	P10828	CHEMBL1947	Nuclear receptor	0	5 / 0	3-O-p-trans...
Transthyretin	TTR	P02766	CHEMBL3194	Secreted protein	0,119403562	0 / 2	Morin
Tubulin beta-3 chain	TUBB3	Q13509	CHEMBL2597	Structural protein	0,100578902	3 / 0	Pinostrobin
Type-1 angiotensin II receptor (by homology)	AGTR1	P30556	CHEMBL227	Family A G protein-coupled receptor	0	15 / 0	3-O-p-trans...
Tyrosinase	TYR	P14679	CHEMBL1973	Oxidoreductase	0	1 / 0	3-O-p-trans...
Tyrosinase	TYR	P14679	CHEMBL1973	Oxidoreductase	0,214178827	0 / 3	Morin
Tyrosine-protein kinase ABL	ABL1	P00519	CHEMBL1862	Kinase	0,100578902	171 / 0	Pinostrobin

Tyrosine-protein kinase HCK	HCK	P08631	CHEMBL3234	Kinase	0,100578902	90 / 0	Pinostrobin
Tyrosine-protein kinase JAK2	JAK2	O60674	CHEMBL2971	Kinase	0,100578902	269 / 0	Pinostrobin
Tyrosine-protein kinase JAK3	JAK3	P52333	CHEMBL2148	Kinase	0,100578902	179 / 0	Pinostrobin
Tyrosine-protein kinase receptor FLT3	FLT3	P36888	CHEMBL1974	Kinase	0,214178827	0 / 7	Morin
Tyrosine-protein kinase receptor UFO	AXL	P30530	CHEMBL4895	Kinase	0,143102156	0 / 4	Morin
Tyrosine-protein kinase SRC	SRC	P12931	CHEMBL267	Kinase	0,100578902	217 / 3	Pinostrobin
Tyrosine-protein kinase SRC	SRC	P12931	CHEMBL267	Kinase	0,111501865	1 / 10	Morin
Tyrosine-protein kinase SYK	SYK	P43405	CHEMBL2599	Kinase	0,100578902	156 / 0	Pinostrobin
Tyrosine-protein kinase SYK	SYK	P43405	CHEMBL2599	Kinase	0,143102156	0 / 3	Morin
Ubiquitin-like domain-containing CTD phosphatase 1	UBLCP1	Q8WVY7	CHEMBL3317333	Enzyme	0	1 / 0	3-O-p-trans...
Vascular endothelial growth factor receptor 2	KDR	P35968	CHEMBL279	Kinase	0,100578902	474 / 4	Pinostrobin
Vascular endothelial growth factor receptor 2	KDR	P35968	CHEMBL279	Kinase	0,111501865	1 / 3	Morin
Vasopressin V2 receptor	AVPR2	P30518	CHEMBL1790	Family A G protein-coupled receptor	0,143102156	0 / 1	Morin
Vitamin D receptor	VDR	P11473	CHEMBL1977	Nuclear receptor	0,05564795	10 / 0	3-O-p-trans...
Xanthine dehydrogenase	XDH	P47989	CHEMBL1929	Oxidoreductase	0,214178827	0 / 20	Morin

Lampiran 6. Dokumentasi Penelitian





Kementerian Agama
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
Fakultas Sains dan Teknologi
Program studi magister biologi
Jl. Gajayan, No. 50, Malang, Kode Pos: 65144

LEMBAR KONSULTASI TESIS

Nama	:	Wike Adhi Anggono
NIM	:	210602210001
Fakultas/Jurusan	:	Sains dan Teknologi / Magister Biologi
Judul Tesis	:	Analisis aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun miracle fruit (<i>Synsepalum dulcificum</i>) secara in-vitro dan in-silico
Pembimbing 1	:	Prof. Dr. Hj. Retno Susilowati, M.Si.

No	Tanggal	Keterangan	Tanda Tangan Pembimbing	
1	10 Februari 2023	Tinjauan Pustaka: Konsultasi untuk menentukan literatur utama dan konsep yang relevan dengan topik tesis.	1	
2	12 Maret 2023	Perumusan Masalah dan Tujuan Penelitian: Diskusi untuk mengklarifikasi masalah yang akan dipecahkan dan tujuan penelitian yang ingin dicapai.		2
3	15 April 2023	Metode Penelitian: Konsultasi tentang pemilihan metode penelitian yang sesuai dengan tujuan dan hipotesis penelitian.	3	
4	24 Agustus 2023	Ujian Seminar Proposal		4
5	5 Februari 2024	Analisis dan Interpretasi Data: Diskusi untuk membantu dalam analisis data dan interpretasi hasil penelitian.	5	
6	15 Maret 2024	Penulisan Bab-Bab Tesis: Konsultasi untuk memperbaiki struktur dan gaya penulisan tesis.		6
7	21 Maret 2024	Kesimpulan dan Saran: Konsultasi untuk menyusun kesimpulan berdasarkan temuan penelitian dan memberikan saran untuk penelitian lanjutan.	7	



Kementerian Agama
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
Fakultas Sains dan Teknologi
Program studi magister biologi
Jl. Gajayan, No. 50, Malang, Kode Pos: 65144

8	15 April 2024	Review dan Koreksi Akhir: Diskusi untuk meninjau tesis secara keseluruhan dan melakukan koreksi terakhir sebelum penyerahan final.		8
9	21 Mei 2024	Ujian Tesis	9	
10	10 Juni 2024	Revisi Ujian		10

Malang, 20 Mei 2024

Ketua Program Studi Magister Biologi



Prof. Dr. Drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si.
NIP. 19710910200003 2 001



Kementerian Agama
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
Fakultas Sains dan Teknologi
Program studi magister biologi
Jl. Gajayan, No. 50, Malang, Kode Pos: 65144




LEMBAR KONSULTASI TESIS

Nama	:	Wike Adhi Anggono
NIM	:	210602210001
Fakultas/Jurusan	:	Sains dan Teknologi / Magister Biologi
Judul Tesis	:	Analisis aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun miracle fruit (<i>Synsepalum dulcificum</i>) secara in-vitro dan in-silico
Pembimbing 2	:	Dr. Akyunul Jannah, S.Si, M.P

No	Tanggal	Keterangan	Tanda Tangan Pembimbing
1	10 Februari 2023	Tinjauan Pustaka: Konsultasi untuk menentukan literatur utama dan konsep yang relevan dengan topik tesis.	1
2	12 Maret 2023	Perumusan Masalah dan Tujuan Penelitian: Diskusi untuk mengklarifikasi masalah yang akan dipecahkan dan tujuan penelitian yang ingin dicapai.	2
3	15 April 2023	Metode Penelitian: Konsultasi tentang pemilihan metode penelitian yang sesuai dengan tujuan dan hipotesis penelitian.	3
4	24 Agustus 2023	Ujian Seminar Proposal	4
5	5 Februari 2024	Analisis dan Interpretasi Data: Diskusi untuk membantu dalam analisis data dan interpretasi hasil penelitian.	5
6	15 Maret 2024	Penulisan Bab-Bab Tesis: Konsultasi untuk memperbaiki struktur dan gaya penulisan tesis.	6
7	21 Maret 2024	Kesimpulan dan Saran: Konsultasi untuk menyusun kesimpulan berdasarkan temuan penelitian dan memberikan saran untuk penelitian lanjutan.	7



Kementerian Agama
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
Fakultas Sains dan Teknologi
Program studi magister biologi
Jl. Gajayan, No. 50, Malang, Kode Pos: 65144

8	15 April 2024	Review dan Koreksi Akhir: Diskusi untuk meninjau tesis secara keseluruhan dan melakukan koreksi terakhir sebelum penyerahan final.	8 
9	21 Mei 2024	Ujian Tesis	9 
10	10 Juni 2024	Revisi Ujian	10 

Malang, 20 Mei 2024

Ketua Program Studi Magister Biologi



Prof. Dr. Drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si.
NIP. 19710910200003 2 001