

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tanaman bandotan *Ageratum conyzoides* merupakan tanaman dari keluarga Asteraceae yang dapat tumbuh hingga setinggi 100 cm dan ditandai dengan tumbuhnya bunga di ujung batang. Batang dan daunnya ditutupi dengan bulu-bulu halus berwarna putih, daunnya berbentuk kerucut dan tumbuh hingga 7,5 cm, bunganya terkadang berwarna ungu-biru atau putih (Kusman et al., 2023). *Ageratum conyzoides* adalah tanaman herba tahunan yang berasal dari Amerika Utara dan Tengah serta negara-negara lain di wilayah sub tropis dan tropis seperti di Indonesia (Olowofolahan et al., 2022). Tanaman ini memiliki banyak efek positif dalam pengobatan dan dapat digunakan untuk mencari obat-obatan herbal baru (Wardhani et al., 2023). *Ageratum conyzoides* digunakan dalam pengobatan tradisional untuk mengobati demam, radang paru-paru, pilek, rematik, kejang, sakit kepala dan penyembuhan luka (Larbie et al., 2019). Di Indonesia, *Ageratum conyzoides* L. (bandotan) adalah tanaman liar yang lebih dikenal sebagai gulma di kebun dan ladang, daun dan akarnya digunakan sebagai obat (Hyne, 1987; Arifin et al., 2019). *Ageratum conyzoides* juga dikenal memiliki khasiat penyembuhan untuk malaria, tumor, pendarahan rahim, kram, luka bakar, kanker, peradangan (Adelya et al., 2022). Daun dan akar *Ageratum conyzoides* diketahui mengandung alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, glikosida dan antrakuinon, mineral, vitamin, dan senyawa lain yang memiliki efek farmakologis. Alkaloid, flavonoid dan tanin adalah senyawa fitokimia utama dalam daun. Flavonoid adalah senyawa fenolik alami yang dapat bertindak sebagai antioksidan dan memiliki bioaktivitas obat. Selain itu, flavonoid bertindak sebagai antioksidan dalam tubuh manusia dan untuk itu baik untuk pencegahan kanker (Wardhani et al., 2023).

Kanker adalah penyakit yang menyerang banyak orang di berbagai belahan dunia. Menurut *World Health Organization* (WHO), kanker adalah penyebab utama kematian di seluruh dunia dan akan bertanggung jawab atas hampir 10 juta kematian pada tahun 2020, atau hampir satu dari enam kematian. Di Indonesia, jumlah kasus kanker cukup tinggi, yaitu 2.294.114 kasus kanker pada tahun 2020 (Rahmawati et al., 2024). Kanker atau karsinoma adalah suatu kondisi di mana sel-sel dalam tubuh tumbuh dan membelah secara tidak terkendali (abnormal) (Risdayanti & Herlina, 2020). Kanker terjadi karena adanya perubahan atau mutasi pada DNA (asam deoksiribonukleat) dalam sel, yang mengubah sifat sel normal menjadi sel yang tidak terkendali dan tidak dapat mati dengan normal (Triansyah et al., 2023). Sel-sel kanker dapat menyerang jaringan dan organ di sekitarnya dan menyebar melalui aliran darah atau sistem limfatik ke bagian tubuh lainnya (Handayani, 2021). Penyebab kanker itu sendiri adalah faktor genetik, faktor kimia, radiasi, virus, hormon, iritasi kronis) dan faktor perilaku atau gaya hidup, pola makan yang tidak sehat, alkohol, dan kurang berolahraga). Gaya hidup dan pola makan menyumbang lebih dari 30 persen kematian nasuk indeks massa tubuh yang tinggi, kurangnya konsumsi buah dan sayur, merokok dan konsumsi minuman beralkohol. Untuk mencegah kanker untuk mengurangi angka kematian (Rahayuwati et al., 2020).



Antikanker merupakan obat untuk mencegah dan mengobati pertumbuhan sel-sel jaringan tubuh yang tidak normal. Sekarang ini telah banyak masyarakat yang memanfaatkan tumbuhan obat tradisional sebagai obat antikanker (Manningkas et al., 2019). Sementara itu, senyawa tanaman alami memiliki telah menunjukkan efek yang berhasil dalam mengobati berbagai penyakit terutama kanker. Sejumlah penelitian telah menunjukkan bahwa senyawa seperti asam fenolat, flavonoid dan seskuiterpen bertindak sebagai agen antikanker dengan menghambat beberapa mekanisme molekuler yang terkait dengan kanker. Seskuiterpen lakton (STL) adalah sekelompok senyawa alami yang termasuk dalam subkelas seskuiterpen dan ditemukan di seluruh kerajaan tumbuhan, terutama di keluarga Asteraceae, di mana lebih dari 5.000 STL telah diidentifikasi (Babaei et al., 2021). Tanaman obat adalah reservoir yang berharga untuk berbagai obat kanker yang digunakan dalam kemoterapi. Senyawa bioaktif, yang dikenal sebagai fitokimia, memainkan peran penting dalam pengobatan kanker (Yuan et al., 2022). Sumber-sumber ini aman, tidak berbahaya, murah dan mudah diakses dan berkisar dari daerah pedesaan hingga perkotaan dan dari negara terbelakang hingga negara maju (Irianti et al., 2020).

Berdasarkan penelitian Adelya et al (2022) menyatakan bahwa berbagai senyawa fitokimia teridentifikasi dalam herba bandotan, yaitu flavonoid, chromene, terpenoid, alkaloid, minyak atsiri, kumarin, sterol, glikosida, tanin dan saponin memiliki mekanisme dan target pada sel kanker. Untuk itu, Herba bandotan *Ageratum conyzoides* adalah salah satu bahan alam yang dinyatakan efektif sebagai agen antikanker. Ekstrak etanol daun bandotan terbukti dapat digunakan sebagai agen kemopreventif untuk pencegahan kanker secara *in vitro*. Namun, penelitian tersebut belum mencatumkan uji sitotoksik dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) sebagai uji awal bioaktivitas dan uji awal antikanker.

Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) merupakan suatu metode yang dilakukan untuk memeriksa aktivitas sitotoksik ekstrak tumbuhan dengan menggunakan larva udang *Artemia salina* Leach sebagai bahan uji (Salempa et al., 2023). Metode BSLT dipilih karena memiliki tingkat sensitivitas yang tinggi terhadap senyawa organik, memerlukan jumlah sampel yang relatif sedikit, serta mampu memberikan gambaran awal mengenai potensi toksisitas suatu senyawa terhadap organisme hidup (Lerrick et al., 2023). Selain itu, metode ini juga sederhana, cepat, murah, mudah, dapat diandalkan, dan hasilnya representatif. Uji toksisitas menggunakan BSLT dapat diketahui dari jumlah kematian larva udang *Artemia salina* Leach akibat pengaruh ekstrak atau senyawa bahan alam (Mastura et al., 2022).

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas sitotoksik ekstrak daun bandotan *Ageratum conyzoides*. Penelitian ini dilakukan dengan metode *in vitro* dan didukung dengan metode *in silico* melalui *molecular docking*. Berdasarkan uraian latar



aka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai “Eksplorasi Ekstrak Daun Bandotan *Ageratum conyzoides* sebagai Uji Awal Target Molekular: Pendekatan Kombinasi BSLT dan

n

dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Menganalisis aktivitas kandungan ekstrak daun bandotan *Ageratum conyzoides*.
2. Menganalisis peranan senyawa tersebut sebagai kandidat antikanker

1.3 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada masyarakat tentang kandungan antikanker ekstrak daun bandotan *Ageratum conyzoides*.

1.4 Teori

1.4.1 Morfologi dan Klasifikasi Tanaman Daun Bandotan *Ageratum conyzoides*

Ageratum conyzoides adalah tumbuhan herbal tahunan dari famili Asteraceae tersebar luas di dunia. Tanaman ini memiliki nama yang berbeda sesuai dengan bahasa seperti *Goat weed* (Inggris), *Visadodi* (India), *Visamustih* (Sansekerta), *Mejorana* (Spanyol), *Mentraso* (Portugis), *Bhedaa Jhaar* (Nepal), *Igbo* (Afrika Barat) dan *Uralgidda* (Kannada) (Kissmann dan Groth, 1993; Paul et al., 2022). Nama "*Ageratum*" berasal dari bahasa Yunani "*a geras*", yang artinya "tidak menua", karena tanaman ini bisa hidup lama. Karena bentuknya mirip dengan tanaman lain bernama *Inula helenium* (yang dalam bahasa Yunani disebut *kónyz*), maka diberi nama tambahan "*conyzoides*" (Chauhan dan Rijhwani, 2015; Ming, 1999; Chahal et al., 2021). Tanaman ini juga dikenal sebagai "ramuan kambing" karena baunya yang unik dan agak mirip bau kambing jantan dari Australia. *Ageratum conyzoides* banyak tumbuh di daerah tropis, seperti Florida, Karibia, Afrika Barat, Asia Tenggara, termasuk India, Cina, dan Australia (Chahal et al., 2021). Di berbagai daerah di Indonesia, *Ageratum conyzoides* dikenal dengan beragam nama lokal yang mencerminkan kekayaan budaya dan bahasa setempat, misalnya rumput tahi babi (Jambi); rumput Belanda (Bengkulu); jukut bau, ki bau (Sunda); wedusan, tempuyak (Jawa); dus bedusan (Madura); mbora (Kalimantan Timur); buyuk-buyuk (Manado); tada-tada (Sulawesi Tengah); siangur (Batak); dan sibaubau (Batak Toba) (Silalahi, 2018; Hilaliyah, 2021).

Dalam wilayah geografis asalnya, *Ageratum conyzoides* umumnya hanya dianggap sebagai gulma pertanian. Namun, di daerah yang telah terinvasi, tanaman semak ini dapat ditemukan di berbagai jenis lahan seperti area pertanian, padang rumput, lahan terlantar, hutan alami, lahan basah, perkebunan, kebun sayur, kebun buah, perkebunan teh, sepanjang saluran air, serta di lokasi-lokasi terganggu seperti daerah yang baru mengalami longsor. *Ageratum conyzoides* memiliki kemampuan adaptasi yang tinggi terhadap berbagai kondisi suhu, kelembapan, tekstur tanah, serta variasi ketinggian tempat tumbuh. Pertumbuhan optimal tanaman ini terjadi pada kisaran suhu 20–25°C, namun masih mampu bertahan dan tumbuh dengan baik pada rentang suhu 15–30°C (Kaur et al., 2023).

Tanaman *Ageratum conyzoides* memiliki warna akar kecoklatan, bentuk lonjong,



, pangkal akar membulat, leher akar langsung menyangga batang, dan permukaan akar bersisik (berbulu). *Ageratum conyzoides* tumbuhan geotropik, panjang batang 30-90 cm, bentuk batang warna hijau saat muda dan coklat saat tua, diameter batang ± tubuh berbulu jarang, warna hijau, arah tumbuhnya terdapat ruas, ≥1 bunga majemuk. Daun berwarna hijau, bentuk bulat telur, ujung pangkal daun membulat, tepi bergerigi, tulang daun menyirip, lebar 30,2

mm, panjang 45,6 mm, memiliki daun tunggal dengan kedudukan berseling, permukaan berbulu dan termasuk dalam jenis daun tunggal. Tanaman *Ageratum conyzoides* mempunyai ukuran bunga karang ± 6 mm, tangkai berbulu, kelopak berbulu, mahkota berbentuk lonceng, tipe bunga majemuk ($>3-4$ kuntum) dan letak kuntum terdapat pada setiap ujung tangkai (Hujjatusnaini dkk., 2024). Bunganya berwarna ungu, kebiruan, atau putih dengan 60-75 bunga berbentuk tabung dan lebar 5 mm dan tinggi 4-6 mm, tumbuh pada tangkai sepanjang 50-150 mm. Buahnya terdiri dari buah achene hitam bergaris atau bersudut yang panjangnya 1,25-2 mm, berbulu dan dengan pappus yang terdiri dari 5 hingga 6 bulu (Baral et al., 2022). Pada seluruh permukaan batang dan daun diselimuti bulu halus pendek berwarna putih yang disebut trikoma. Trikoma non glandular terdapat di bagian batang sedangkan pada daun memiliki trikoma glanduler (Ulum et al., 2023)



Gambar 1. *Ageratum conyzoides*

Sumber: Warsinah dan Baroroh, (2020)

Sistematika tumbuhan Bandotan menurut Tjitrosoepomo (2005) sebagai berikut:

Regnum	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Asterales
Famili	: Asteraceae
Genus	: <i>Ageratum</i>
Spesies	: <i>Ageratum conyzoides</i>

1.4.2 Kandungan Senyawa dan Manfaat Tanaman Daun Bandotan *Ageratum conyzoides*

Bandotan *Ageratum conyzoides* adalah sejenis rumput liar yang sering ditemukan tumbuh di area perkebunan atau lahan terbuka dan berpotensi menjadi gulma (Hasma dan Suryanita, 2025). Berdasarkan hasil analisis fitokimia kuantitatif ekstrak daun bandotan mengandung metabolit dalam jumlah tinggi. Kandungan karbohidratnya sekitar



protein sekitar 1059 μ g BSA, fenolik sekitar 634 mg GAE/g, flavonoid flavonol sekitar 780 mg EQ/g, dan tanin sekitar 353 mg TAE/g (Ara an bandotan mengandung berbagai senyawa aktif, terutama di erti saponin, alkaloid, tanin, flavonoid, polifenol. monoterpenoid, iterpenoid, kumarin, benzofuran, terpenoid, chromenes terol (Rumape et al., 2023). Selain itu, juga terdapat senyawa asam

amino, minyak atsiri, kumarin, dan β -sitosterol (Almira et al., 2021). Menurut Adelya et al (2022), teridentifikasi beragam senyawa fitokimia dalam herba bandotan, seperti flavonoid, terpenoid, alkaloid, minyak atsiri, tanin, dan saponin, yang diketahui memiliki mekanisme dan aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker.

Indonesia memiliki keanekaragaman hayati yang sangat berlimpah, salah satunya adalah tanaman obat. Salah satu tanaman obat yang cukup dikenal oleh masyarakat adalah Bandotan *Ageratum conyzoides*. Tanaman ini dikenal luas sebagai obat tradisional yang digunakan untuk mencegah dan mengobati berbagai penyakit (Harefa et al., 2022). Obat-obat yang bersumber dari alam dapat menghasilkan efek yang cukup baik serta memiliki efek samping yang relatif rendah (Dwitiyanti et al, 2020). Bandotan selain bersifat sebagai gulma dapat pula bermanfaat bagi kehidupan manusia di bidang pertanian dan kesehatan. Tanaman ini telah dimanfaatkan dalam pengobatan tradisional di sejumlah wilayah di Afrika, Asia, dan Amerika Selatan. Di Nigeria, daun tanaman ini kerap digosokkan ke dada penderita untuk mengobati radang paru-paru. Sementara itu, di Nepal, ekstrak dan pasta daun tanaman ini dioleskan pada luka bakar, luka sayat, bisul, serta nyeri otot. Di Kamerun, tanaman ini dikenal sebagai pengobatan lokal untuk radang usus, sedangkan di Kamerun dan Kongo, tanaman ini juga digunakan untuk menangani demam, rematik, dan kolik (Baral et al., 2022).

Ageratum conyzoides merupakan tanaman yang memiliki beragam manfaat, salah satunya adalah kemampuannya dalam mengatasi diabetes. Tanaman ini diketahui memiliki berbagai sifat antidiabetes, seperti meningkatkan sekresi insulin, meningkatkan sensitivitas terhadap insulin, dan menurunkan proses gluconeogenesis. Tanaman ini juga menunjukkan efek hipolipidemik, seperti menurunkan kolesterol total, trigliserida, serta meningkatkan HDL. Selain itu, tanaman ini berpotensi mencegah pembentukan plak aterosklerotik, sehingga dapat mengurangi risiko penyakit jantung dan stroke. Sifat antioksidannya juga membantu menangkal radikal bebas penyebab stres oksidatif (Bizimana, 2024). *Ageratum conyzoides* dapat membantu meredakan gejala depresi berkat kandungan fraksi etilasetatnya, terutama senyawa quercetin yang berfungsi sebagai antidepresan. Selain itu, tanaman *Ageratum conyzoides* juga memiliki berbagai manfaat lainnya, seperti sebagai antikonvulsan, bronkodilator, antimikroba, antiinflamasi, dan antikanker (Pratama et al., 2024).

Dalam bidang pertanian, tanaman bandotan *Ageratum conyzoides* memiliki sejumlah manfaat, terutama dalam pengendalian gulma dan hama. Kandungan kimia dalam daun bandotan mampu bertindak sebagai biopestisida alami. Beberapa senyawa yang terdapat di dalamnya antara lain alkaloid, flavonoid, kumarin, saponin, polifenol, dan minyak atsiri, yang dikenal efektif sebagai agen pengendali hama (Rosa dan Aidawati, 2024). Ekstrak bandotan berperan kuat sebagai bioherbisida karena senyawa alelopatinya mampu menekan pertumbuhan gulma (Nainggolan et al., 2022). Alelopati



di mana tumbuhan memproduksi senyawa-senyawa tertentu yang atau memacu pertumbuhan tanaman lain yang bersaing dengan et al., 2023). Bandotan memiliki potensi sebagai sumber fungisida. Bandotan ini juga mampu mengendalikan penyakit bercak daun disebabkan oleh jamur *Fusarium solani* pada tanaman terung. Bandotan terbukti lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan. Aktivitas antifungi dari ekstrak metanol daun bandotan berkaitan

dengan keberadaan senyawa metabolit sekundernya (Febia et al., 2020). Kandungan tanin dalam ekstrak daun bandotan menunjukkan potensi sebagai pengawet alami yang dapat dimanfaatkan dalam pengawetan telur ayam ras (Rahmawati et al., 2019). Selain itu, bandotan juga dapat dimanfaatkan sebagai bahan pembuatan pupuk organik cair (POC), karena mengandung unsur hara penting seperti nitrogen, fosfor, dan kalium (Murtalaksono et al., 2020).

1.4.3 Antikanker

Kanker merupakan penyakit ganas yang menyerang jaringan tubuh, ditandai dengan pertumbuhan sel-sel abnormal yang tidak terkendali dan tidak terkoordinasi. Oleh karena itu, kanker menjadi salah satu permasalahan kesehatan utama dengan angka kematian tertinggi secara global (Agustin, 2020). Data dari Badan Kesehatan Dunia (WHO) melalui GLOBOCAN 2020 mencatat 9,6 juta kematian akibat kanker dari total 18,1 juta kasus pada tahun 2018 (Kamila et al., 2025). Prevalensi kanker di Indonesia menunjukkan adanya peningkatan dari tahun 2013 sebesar 1,4 per 100 penduduk menjadi 1,79 per 1000 penduduk di tahun 2018 (Agustin, 2020). Pada pria, jenis kanker yang sering dijumpai antara lain kanker paru-paru, prostat, kolorektal, hati, dan ginjal. Sementara pada wanita, kanker yang umum meliputi kanker payudara, leher rahim, kolorektal, ovarium, dan tiroid. Penyebab kanker dapat berasal dari faktor genetik, paparan karsinogen (seperti zat kimia dan radiasi), serta gaya hidup tidak sehat seperti merokok, pola makan, konsumsi alkohol, dan kurang beraktivitas fisik (Rahayuwati et al., 2020). Penanganan kanker umumnya dilakukan melalui kemoterapi, radioterapi, dan pembedahan. Namun, kemoterapi memiliki sejumlah keterbatasan, seperti efek samping yang signifikan, resistensi obat, dan efektivitas yang belum optimal (Ulfa et al., 2021). Sebagai alternatif, senyawa aktif dari tanaman herbal mulai banyak diteliti karena diyakini memiliki efek samping yang lebih ringan. Antikanker dari tanaman ini bisa berupa ekstrak utuh maupun senyawa tunggal hasil isolasi (Zafrial dan Amalia, 2018).

Antikanker merupakan obat untuk mencegah dan mengobati pertumbuhan sel-sel jaringan tubuh yang tidak normal (Maningkas et al., 2019). Senyawa antikanker, yang juga dikenal sebagai agen sitotoksik, sitostatik, atau antineoplasma, merupakan obat yang dirancang untuk menghancurkan sel-sel tumor secara selektif tanpa merusak sel normal di sekitarnya. Tujuan utama kemoterapi adalah menghambat proliferasi sel kanker melalui mekanisme yang menargetkan proses pembelahan atau metabolisme sel tumor. Berdasarkan mekanisme kerjanya, senyawa antikanker diklasifikasikan ke dalam lima kelompok utama, yaitu (Huspa, 2009):

a) Senyawa Pengalkilasi

Senyawa ini bekerja dengan menambahkan gugus alkil pada DNA, yang menyebabkan kerusakan pada struktur heliks ganda DNA. Hal ini menghambat transkripsi sel, sehingga memicu kematian sel kanker. Contoh: amide, Ifosfamide, Cisplatin.



Senyawa yang menghambat jalur metabolik yang penting untuk reproduksi sel kanker, melalui penghambatan folat, purin, asam amino serta jalur nukleosida, yang diperlukan untuk sintesis: Methotrexate, 5-Fluorouracil (5-FU), Cytarabine.

- c) Antikanker produk alam
Merupakan senyawa yang dihasilkan dari produk alam dan berkhasiat sebagai antikanker. Antikanker produk alam dibagi menjadi 3 kelompok yaitu antibiotika antikanker, antikanker produk tanaman, dan antikanker produk hewan.
- d) Imunomodulator
Zat – zat ini juga dinamakan Biological Response Modifiers (BRM) yang memiliki kemampuan untuk memengaruhi secara positif reaksi biologis dari tubuh terhadap sel tumor. Fungsi sistem imun dapat distimulasi dengan baik (imunostimulator) maupun disupresi olehnya (imunosupresor). Contoh: interferon α -2a, interferon α -2b, antineoplaston, dan avaron.
- e) Hormon
Agen ini digunakan untuk kanker yang dipengaruhi oleh hormon, seperti kanker payudara dan prostat. Mekanisme kerja hormon terhadap sel kanker adalah dengan mengikat secara khas reseptor-reseptor pada sitoplasma dan mengubah struktur suatu reseptor. Bentuk kompleks hormon-reseptor ini kemudian menuju inti, berinteraksi dengan sisi akseptor dan memengaruhi proses transkripsi.

1.4.4 Metode Ekstraksi

Ekstraksi merupakan metode pemisahan senyawa dari bahan padat atau cair dengan bantuan pelarut selektif, yang hanya melarutkan komponen target tanpa melarutkan zat lainnya (Dulanlebit dan Hernani, 2023). Tujuan ekstraksi yaitu untuk menarik atau memisahkan senyawa dari simplisia atau campurannya (Syamsul et al., 2020). Metode ekstraksi didasarkan pada prinsip kelarutan “like dissolves like”, yaitu pelarut polar akan melarutkan senyawa polar, sedangkan pelarut non-polar akan melarutkan senyawa non-polar. Ekstraksi pelarut merupakan metode yang paling umum digunakan dalam isolasi senyawa aktif dari bahan alam. Berbagai jenis pelarut seperti air, etanol, metanol, kloroform, dan etil asetat sering digunakan sesuai dengan karakteristik kimia senyawa yang akan diekstrak (Patel et al., 2021). Pemilihan metode ekstraksi sangat bergantung pada karakteristik bahan alam serta sifat senyawa yang akan diisolasi. Bahan yang memiliki kestabilan terhadap suhu tinggi umumnya diekstraksi menggunakan metode modern, sedangkan bahan yang sensitif terhadap panas lebih cocok diekstraksi dengan metode konvensional. Pemilihan teknik ekstraksi yang tepat akan memengaruhi kualitas dan kuantitas hasil ekstraksi yang diperoleh (Firdiyansyah et al., 2024).

Pengambilan bahan aktif dari suatu tanaman, dapat dilakukan dengan proses ekstraksi. Pemisahan senyawa tersebut dari bahan padat maupun cair dapat dilakukan dengan bantuan pelarut melalui proses ekstraksi (Mahardika et al., 2021). Terdapat dua



ekstrak oleoresin (zat aktif) dari bahan alam, yaitu melalui ekstraksi langsung atau tidak langsung. Perbedaan utama antara distilasi dan ekstraksi. Pada metode ekstraksi langsung, menggunakan pelarut yang mudah menguap, yang dikenal juga sebagai pelarut volatil. Beberapa faktor yang memengaruhi kecepatan proses ekstraksi adalah: persiapan bahan sebelum ekstraksi, ukuran partikel bahan, jenis pelarut, suhu ekstraksi, metode ekstraksi yang dipilih, suhu, durasi proses, serta tahap pengeringan bahan ekstrak yang dihasilkan. Metode ekstraksi terbagi menjadi dua

jenis, yaitu ekstraksi dengan cara dingin dan ekstraksi dengan cara panas. Ekstraksi dengan cara dingin digunakan untuk mengekstrak senyawa yang bersifat termolabil, yaitu senyawa yang tidak tahan terhadap suhu tinggi. Contoh metode ekstraksi dingin meliputi maserasi, maserasi kinetik, dan perkolasi. Sementara itu, ekstraksi dengan cara panas melibatkan penggunaan suhu tinggi dan diterapkan pada senyawa yang stabil terhadap panas. Contoh metode ekstraksi panas adalah refluks, sokletasi, digesti, infus, dan dekokta (Huda et al., 2022).

Maserasi merupakan metode ekstraksi yang sederhana, di mana bahan baku yang telah dihaluskan atau dipotong kasar direndam dalam pelarut pilihan pada suhu ruang selama minimal tiga hari, disertai pengadukan sesekali. Setelah proses ekstraksi selesai, campuran disaring menggunakan saringan atau alat penyaring dengan pori-pori kecil. Agar pelarut tidak mudah menguap, maserasi sebaiknya dilakukan dalam wadah yang tertutup rapat (Bitwell et al., 2023). Proses ini memungkinkan senyawa aktif larut dan tersebar ke dalam pelarut, sehingga tujuan ekstraksi tercapai. Teknik ini ideal digunakan untuk bahan alami yang sensitif terhadap panas serta mengandung banyak pati, lendir, getah, atau pektin (Zhang et al., 2023). Kelebihan metode maserasi adalah biayanya yang relatif rendah dan kemampuannya dalam menjaga stabilitas senyawa-senyawa termolabil dalam tanaman. Namun, metode ini memiliki beberapa kekurangan, seperti waktu ekstraksi yang cukup lama, penggunaan pelarut dalam jumlah besar, serta potensi hilangnya sebagian senyawa. Selain itu, ada kemungkinan beberapa senyawa tidak dapat terekstraksi secara optimal pada suhu ruang (Badaring et al., 2020).

1.4.5 GC-MS

Gas kromatografi-spektrometri massa (GC-MS) merupakan teknik analisis terpadu yang digunakan untuk mendeteksi dan mengidentifikasi senyawa dalam sampel tanaman. GC-MS memiliki peran penting dalam analisis fitokimia serta penelitian kemotaksonomi pada tanaman obat yang mengandung senyawa aktif secara biologis (Olivia et al., 2021). Kromatografi gas memisahkan senyawa berdasarkan kemudahannya menguap, sedangkan spektrometri massa menentukan massa dan struktur molekul. Kombinasi kedua teknik ini dalam GC-MS menghasilkan metode analisis yang memiliki sensitivitas dan selektivitas tinggi, sehingga mampu memisahkan senyawa dalam campuran kompleks serta mendeteksi komponen pada kadar yang sangat rendah. GC-MS mampu mendeteksi konsentrasi senyawa obat hingga di bawah 1 µg/L dengan waktu analisis yang relatif singkat. Analisis menggunakan GC-MS mensyaratkan bahwa senyawa yang diuji memiliki karakteristik mudah menguap. Untuk senyawa yang kurang volatil, diperlukan proses derivatisasi terlebih dahulu untuk meningkatkan stabilitasnya agar dapat dianalisis secara efektif melalui teknik analisis GC-MS (Nuriah et al., 2023).



afi (GC) bekerja berdasarkan prinsip pemisahan campuran menjadi melalui pemanasan. Uap dari campuran tersebut dibawa melewati oleh gas inert, seperti helium. Ketika masing-masing komponen direka diarahkan ke spektrometer massa (MS). Spektrometri massa tifikasi senyawa berdasarkan massa molekul dari analit yang (et al., 2022). Spektrum massa merupakan representasi grafik ng menunjukkan kelimpahan relatif ion sebagai fungsi dari rasio

massa terhadap muatan (m/z). Spektrum ini berperan sebagai “sidik jari” molekuler yang memungkinkan identifikasi senyawa yang diwakili oleh puncak-puncak pada kromatogram, dan merupakan dimensi data utama dalam analisis spektrometri massa (Rao et al., 2023). GC-MS memiliki keunggulan berupa efisiensi tinggi, resolusi baik, analisis cepat, tidak merusak sampel, serta sensitivitas tinggi sehingga mampu mendeteksi senyawa dalam kadar rendah. Namun, metode ini terbatas pada analisis senyawa yang mudah menguap dan kurang efektif untuk campuran dalam jumlah besar (Surani et al., 2023).

1.4.6 Uji Sitotoksik Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Uji toksisitas merupakan tahap awal dalam menilai keamanan suatu obat sebelum digunakan pada manusia (Jabbar et al., 2019). Tanaman obat baru perlu melalui proses standardisasi, pengujian aktivitas biologis, serta evaluasi toksisitas. Penilaian toksisitas eksperimental menjadi acuan dalam studi keamanan dan efikasi (Pitakpawasutthi et al., 2021). Salah satu metode yang umum digunakan adalah *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT), yang efektif untuk mendeteksi potensi toksisitas senyawa alami (Saragih et al., 2020). Uji *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) merupakan metode awal untuk mengevaluasi aktivitas biologis suatu senyawa atau ekstrak melalui pengujian toksisitas akut. Metode ini memiliki hubungan yang baik dengan efek sitotoksik dari senyawa-senyawa antikanker, sehingga kerap digunakan sebagai langkah awal dalam menyaring senyawa yang berpotensi memiliki aktivitas antikanker (Okvianingsih et al., 2023). Senyawa sitotoksik merupakan zat yang mampu merusak atau menghancurkan sel, baik sel normal maupun sel kanker, serta menghambat proliferasi sel tumor ganas (Tanan et al., 2022).

Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) merupakan salah satu metode yang digunakan untuk menguji efek sitotoksik ekstrak tumbuhan terhadap larva *Artemia salina* Leach. Larva dari spesies udang primitif ini dimanfaatkan sebagai organisme uji dalam penilaian toksisitas senyawa alami menggunakan metode BSLT (Tanan et al., 2022). Prinsip dari metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) didasarkan pada persentase kematian larva *Artemia salina* Leach selama 24 jam setelah dipaparkan dengan ekstrak yang diuji (Okvianingsih et al., 2023). Suatu senyawa dikategorikan bersifat toksik berdasarkan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) apabila nilai LC_{50} (Lethal Concentration) yang diperoleh dari pengujian ekstrak tumbuhan berada di bawah 1000 $\mu\text{g/mL}$. Senyawa dengan karakteristik tersebut memiliki potensi untuk dikembangkan lebih lanjut sebagai kandidat obat alternatif antikanker (Sari et al., 2020). Kelebihan BSLT yaitu lebih cepat, biaya yang sedikit dan sederhana (Manopo et al., 2023).

Data uji toksisitas dianalisis menggunakan metode probit, di mana nilai probit diperoleh dengan mengonversi persentase kematian larva pada setiap konsentrasi (Mastura et al., 2022). Persentase kematian dihitung menggunakan rumus (Zakaria et al., 2024):



$$\text{Persentase Kematian} = \frac{(\text{Jumlah larva uji yang mati} - \text{Jumlah larva kontrol yang mati})}{\text{Jumlah larva uji}} \times 100\%$$

Persentase kematian, nilai probit ditentukan menggunakan tabel probit. Untuk membuat grafik yang menunjukkan hubungan antara log konsentrasi

ekstrak dan nilai probit. Dari grafik tersebut diperoleh persamaan regresi linier yang digunakan untuk menentukan nilai LC_{50} (Prasticha dan Surahmida, 2024). Perhitungan LC_{50} menggunakan persamaan regresi linier yaitu (Pratiwi et al., 2024):

$$y = ax + b$$

$$LC_{50} = \text{antilog } x$$

Keterangan:

y = nilai probit y = 5,00 (kematain 50%)

x = konsentrasi ekstrak lalu di antilog

x antilog merupakan nilai LC_{50} pada ekstrak

1.4.7 Molecular Docking

Pendekatan *in silico*, yang memanfaatkan pemodelan dan simulasi berbasis komputer, dianggap cukup efisien dalam proses penemuan obat baru. Proses ini membutuhkan prosedur yang telah tervalidasi untuk mengevaluasi potensi interaksi antara senyawa ligan dan reseptornya. Selain itu, studi *in silico* juga bermanfaat dalam mengidentifikasi senyawa dari bahan alam yang memiliki kemungkinan berinteraksi dengan protein target (Wulandari et al., 2023). Pendekatan *in silico* dalam penemuan obat memungkinkan dilakukannya skrining virtual terhadap jutaan senyawa dalam waktu yang relatif singkat, sehingga dapat menekan biaya awal dalam tahap identifikasi dan meningkatkan peluang menemukan senyawa bioaktif dalam proses pengembangan obat. Saat ini, terdapat berbagai metode pemodelan molekuler yang tersedia untuk menunjang proses penemuan obat, yang umumnya dibedakan menjadi dua pendekatan utama: berbasis struktur dan berbasis ligan (Widiasti et al., 2022). Pengujian *in silico* dapat dilakukan dengan menggunakan *molecular docking*, yang berperan dalam memprediksi aktivitas suatu senyawa terhadap sel targetnya (Amrulloh et al., 2023).

Studi *molecular docking* merupakan proses komputasi yang bertujuan untuk menemukan ligan yang paling sesuai secara geometris dan energi dengan situs pengikatan suatu protein. Metode ini digunakan untuk meniru interaksi antara ligan dan protein target seperti yang terjadi pada uji *in vitro*, namun dilakukan melalui simulasi berbasis komputer. *Molecular docking* sering dimanfaatkan untuk memprediksi orientasi ikatan senyawa kecil calon obat terhadap protein targetnya, guna memperkirakan afinitas serta aktivitas biologis dari senyawa tersebut (Prasetiawati et al., 2021). Semakin kecil nilai energi ikatan, semakin kuat interaksi yang terbentuk. Kekuatan interaksi antara ligan dan reseptor yang tinggi umumnya menunjukkan bahwa senyawa tersebut memiliki potensi aktivitas biologis yang lebih besar (Amrulloh et al., 2023). Beberapa perangkat lunak *docking* yang paling sering digunakan dalam studi *in silico* antara lain AutoDock Vina, Discovery Studio, Surflex, Glide, MCDock, MOE-Dock, FlexX, DOCK, LeDock, 3R, LigandFit, FRED, dan UCSF Dock (Agu et al., 2023).



BAB II METODE PENELITIAN

2.1 Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan April 2025 hingga Juni 2025. Ekstraksi dengan metode maserasi di Laboratorium Botani, Departemen Biologi dan uji sitotoksik metode BSLT di Laboratorium Biokimia, Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin, Makassar. Untuk analisis GC-MS dilaksanakan pada Laboratorium Teknik Kimia Politeknik Negeri Ujung Pandang (PNUP).

2.2 Alat dan Bahan

2.2.1 Alat

Adapun alat yang digunakan dalam penelitian yaitu GCMS, rotary evaporation, timbangan, blender, aerator, lampu pijar, wadah penetasan, toples, gelas kimia, tabung reaksi (9 buah), corong kaca, tempat sampel, pipet tetes, rak tabung, spatula. Sedangkan uji in silico laptop, Autodoct tools, Autodoct vina, BIOVIA Discovery studio.

2.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu: daun bandotan *Ageratum conyzoides*, larva *Artemia salina*, NaOCl, air laut, aluminium foil dan kertas saring. Bahan yang digunakan dalam *molecular docking* senyawa yang terkandung dalam ekstrak etanol daun bandotan *Ageratum conyzoides* yang diperoleh dari hasil GC-MS. Senyawa tersebut bertindak sebagai ligand dan reseptor bertindak sebagai protein target.

2.3 Prosedur Kerja

2.3.1 Pengambilan dan Preparasi Sampel

Sampel yang digunakan yaitu daun bandotan *Ageratum conyzoides* yang diambil di Perum Yayasan Gubernur, Pacerakkang, Kota Makassar, Prov. Sulawesi Selatan. Selanjutnya daun tersebut dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan tanpa terkena sinar matahari langsung. Daun yang telah kering dihaluskan sehingga diperoleh serbuk daun. Serbuk daun merupakan sampel penelitian yang kemudian diuji kandungan bioaktifnya.

2.3.2 Ekstraksi Daun Bandotan *Ageratum conyzoides*

Sebanyak 1000 gr bubuk daun bandotan dimaserasi menggunakan 12000 ml pelarut selama 3x24 jam serta dilakukan pengadukan secara berkala. Tutup rapat dan hindari cahaya matahari langsung. Hasil maserasi kemudian dipekatkan menggunakan rotary evaporation sehingga didapatkan ekstrak kental daun bandotan.

2.3.3 Metode GCMS

Sampel sebanyak 1 µl diinjeksikan ke GC-MS menggunakan kolom kapiler DB-5-sis dengan Shimadzu GC-MS QP-2010. Temperatur oven awal 80 menit kemudian suhu dinaikkan 10 °C/menit sampai suhu 200 °C nit. Suhu dinaikkan menjadi 10 °C/menit sampai suhu 320 ditahan



Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Uji toksisitas dilakukan dengan dimasukkan 10 ekor larva udang berusia 2 hari dimasukkan ke dalam masing-masing wadah pengujian (tabung reaksi) dan ditambah ekstrak dengan konsentrasi 1 ppm (0,0001 mL), 10 ppm (0,001 mL) dan 100 ppm (0,01 mL). Kemudian diinkubasi dilakukan pada suhu kamar dibawah sinar lampu pijar selama 24 jam, dilakukan pengamatan terhadap jumlah larva yang mati. kontrol dilakukan dengan prosedur yang sama tanpa penambahan ekstrak (Fitriyanti dkk., 2024). Kriteria standar untuk menilai kematian larva udang adalah bila larva udang tidak menunjukkan pergerakan selama beberapa detik observasi. Cara manual yaitu dengan mengamati larva di dalam tabung reaksi dengan bantuan lup, kemudian diamati dalam kaca arloji dengan bantuan cahaya. Efek toksik diperoleh dari pengamatan dengan menghitung % kematian (mortalitas) larva *Artemia salina* Leach pada tiap konsentrasi dalam 24 jam. Persen kematian diperoleh dari hasil perkalian rasio dengan 100%, yaitu larva yang mati dibagi jumlah larva awal dikali 100% untuk tiap replikasi. Lalu dibandingkan dengan kontrol dan dilakukan analisis hasil dengan analisis probit sehingga diperoleh harga LC_{50} (Kurniawan dan Ropiqa, 2021).

2.3.5 Molecular Docking

2.3.5.1 Validasi Metode dan Penambatan *Molecular Docking*

Dalam melakukan proses penambatan *molecular docking* menggunakan aplikasi AutoDock Tools (Autodock 4 dan Autogrid 4). Parameter hasil validasi yang dilihat yaitu nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD). Pengujian dinyatakan valid dan dapat diterima ketika hasil $RMSD \leq 2 \text{ \AA}$ (Pitaloka et al., 2023). Tahap selanjutnya memulai proses docking dengan menggunakan software Autodock Tools dengan mengatur grid sisi aktif reseptor yang selanjutnya di running. Hasil *molecular docking* berupa nilai binding affinity.

2.3.5.2 Visualisasi Hasil *Docking*

Hasil penambatan *molecular docking* dapat divisualisasikan dalam bentuk 2D maupun 3D dengan menggunakan software BIOVIA Discovery Studio. Hasil visualisasi *docking* tersebut menggambarkan interaksi ikatan yang terjadi antara ligan dan reseptor.

2.3.5.6 Prediksi sifat Fisikokimia Lipinski's Rule of Five

Analisis fisikokimia merupakan tahap awal dalam seleksi kandidat obat oral yang dilakukan sebelum sintesis senyawa sebagai calon obat baru. Analisis fisikokimia dapat dilakukan dengan pengujian Lipinski's Rule of five dengan menggunakan server SwissADME (<https://www.swissadme.ch/index.php>). Aturan Lipinski adalah aturan untuk memprediksi potensi senyawa bioaktif sebagai ligan untuk memenuhi kesesuaian dengan keserupaan obat di dalam tubuh, dengan mempertimbangkan ADME (Adsorpsi, Distribusi, Metabolisme. dan Ekskresi. Aturan Lipinski suatu senyawa memiliki penyerapan yang buruk jika jumlah donor proton ikatan hidrogen > 5 , jumlah akseptor $\pi > 10$, berat molekul $> 500 \text{ gram/mol}$, $\log P > 5$, dan *molar* Koban et al., 2022). Lipinski menyatakan obat aktif secara oral tidak garan dari kriteria Lipinski's Rule of Five (Kelutur et al. 2020).

