

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan salah satu negara dengan keanekaragaman hayati yang sangat besar, bahkan disebutkan bahwa hutan tropis Indonesia memiliki tingkat keanekaragaman hayati tertinggi setelah Brazil (Dwiyahreni et al., 2021). Salah satu keanekaragaman hayati tersebut adalah tumbuhan obat dengan potensi yang cukup besar di Indonesia. Berdasarkan data total tumbuhan obat di dunia, terdapat 40.000 spesies, 30.000 di antaranya ditemukan di Indonesia. Artinya, Indonesia menyumbang 90% tumbuhan obat di kawasan Asia (Firmani & Aprilya, 2023).

Tumbuhan obat merupakan jenis tumbuhan yang sebagian atau seluruh tumbuhan digunakan sebagai obat, bahan atau ramuan obat-obatan (Chaachouay and Zidane, 2024). Tumbuhan diketahui sebagai sumber senyawa bioaktif yang merupakan hasil aktivitas metabolit sekunder. Senyawa bioaktif pada tumbuhan diketahui memiliki manfaat dalam menyembuhkan berbagai penyakit, adanya kandungan senyawa tertentu pada tumbuhan menjadikan tumbuhan tersebut banyak dimanfaatkan sebagai bahan obat-obatan (Sarkar et al., 2025).

Penelitian terkait potensi senyawa bioaktif telah banyak dilakukan, khususnya pada tumbuhan obat tradisional karena mengandung metabolit sekunder dengan aktivitas biologis penting (Ramakrishna et al. 2021). Salah satu tumbuhan obat yang memiliki potensi yaitu benalu yang termasuk ke dalam tanaman semiparasit dari anggota family Lorantaceae. Secara etnofarmakologis, masyarakat Indonesia telah memanfaatkan benalu sebagai obat tradisional untuk berbagai penyakit karena memiliki kandungan senyawa bioaktif dari golongan flavonoid, fenol, saponin, tannin, dan alkaloid (Borkar et al. 2023). Kandungan senyawa bioaktif seperti phytol dengan potensinya sebagai antioksidan dan antikanker menjadikan benalu sebagai kandidat potensial dalam pengembangan obat herbal (Alharits et al. 2019).

Salah satu spesies benalu yang sering digunakan dalam penelitian fitokimia adalah *Dendrophoe pentandra* terutama yang tumbuh pada pohon jati *Tectona grandis* (Awang et al. 2023). Penelitian menunjukkan bahwa benalu yang tumbuh pada pohon jati mengandung total senyawa fenolik dan flavonoid tertinggi dibandingkan dengan inang lainnya seperti kopi dan sengon. Hal ini disebabkan oleh komposisi metabolit dan asam amino esensial pada jati yang mampu meningkatkan aktivitas metabolik dan pertumbuhan benalu (Pozdnyakov et al. 2023). Selain itu, penelitian yang lain menerangkan bahwa ekstrak daun benalu jati memiliki toksisitas yang tinggi dengan nilai LC_{50} 44,91 ppm sehingga berpotensi untuk dilakukan pengujian lebih lanjut dalam penemuan kandidat antikanker.

Kanker masih menjadi masalah kesehatan global dengan insidensi dan

mortalitas yang terus meningkat, (Li, Z *et al.* 2023). Pengobatan penyakit kanker yang umum digunakan pada bidang Kesehatan seperti kemoterapi dan radioterapi memiliki efek samping yang dapat menimbulkan resistensi sel kanker, sehingga diperlukan alternative lain yang berbasis bahan alam yang sifatnya lebih aman (Brooke *et al.* 2024). Berdasarkan hal tersebut banyak dilakukan penelitian terkait potensi senyawa bioaktif pada tanaman sebagai kandidat antikanker misalnya penelitian yang dilakukan oleh (Chandra *et al.* 2023) mengenai lima puluh tanaman dengan potensinya sebagai senyawa antikanker. Penelitian tersebut menunjukkan bahwa kandungan fitokimia tanaman dapat melawan berbagai jenis kanker. Hal tersebut sejalan dengan yang dilakukan oleh (Szurpnicka *et al.* 2020) terkait aktivitas biologis pada benalu *Dendrophoe pentandra* dengan potensinya sebagai sumber terapi komplementer baru yang mendukung pengobatan berbagai penyakit khususnya penyakit kanker.

Dalam pengembangan kandidat antikanker evaluasi toksisitas bertahap perlu dilakukam untuk menilai kelayakan suatu ekstrak sebagai kandidat antikanker, mulai dari uji toksisitas awal hingga uji viabilitas sel kanker yang lebih spesifik. Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) banyak digunakan sebagai uji pendahuluan untuk memprediksi potensi sitotoksik ekstrak tanaman, menunjukkan nilai LC_{50} yang rendah diketahui berkorelasi dengan kemungkinan adanya aktivitas antikanker pada pengujian lanjutan. Dalam penemuan dan pengembangan kandidat obat tidak hanya dengan pengujian biologis namun diperlukan evaluasi dini mengenai efektivitas dan potensi toksisitasnya yang dapat difasilitasi oleh teknik bioinformatika komputasional seperti analisis *in silico* (Shas *et al.* 2024). Metode *in silico* dapat membantu dalam mengetahui interaksi antar reseptor dan ligan dengan energy yang sesuai. pendekatan *in silico* seperti molecular docking semakin banyak digunakan untuk melengkapi data *in vitro*, karena mampu memprediksi interaksi senyawa aktif dengan protein target yang berperan dalam jalur karsinogenesis Dengan demikian diperlukan penelitian terkait potensi senyawa bioaktif pada benalu *Dendrophoe pentandra* L. yang bertujuan untuk menganalisis potensi senyawa bioaktif ekstrak n-heksana daun benalu *Dendrophoe pentandra* L. Miq yang berasal dari pohon Jati sebagai kandidat antikanker melalui pendekatan *in vitro* dalam hal ini uji toksisitas pada larva *Arthemiasalina* Leach dan secara *in silico* dengan metode molecular docking menggunakan SIRT1 sebagai protein target.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana toksisitas ekstrak n-Heksan daun benalu *Dendrophoe pentandra* (L.) Miq.?
2. Bagaimana profil senyawa metabolit daun benalu *Dendrophoe pentandra* (L.) Miq.?
3. Bagaimana potensi senyawa bioaktif daun benalu *Dendrophoe pentandra* (L.) Miq. sebagai kandidat antikanker melalui pendekatan bioinformatika.

1.3 Tujuan Penelitian

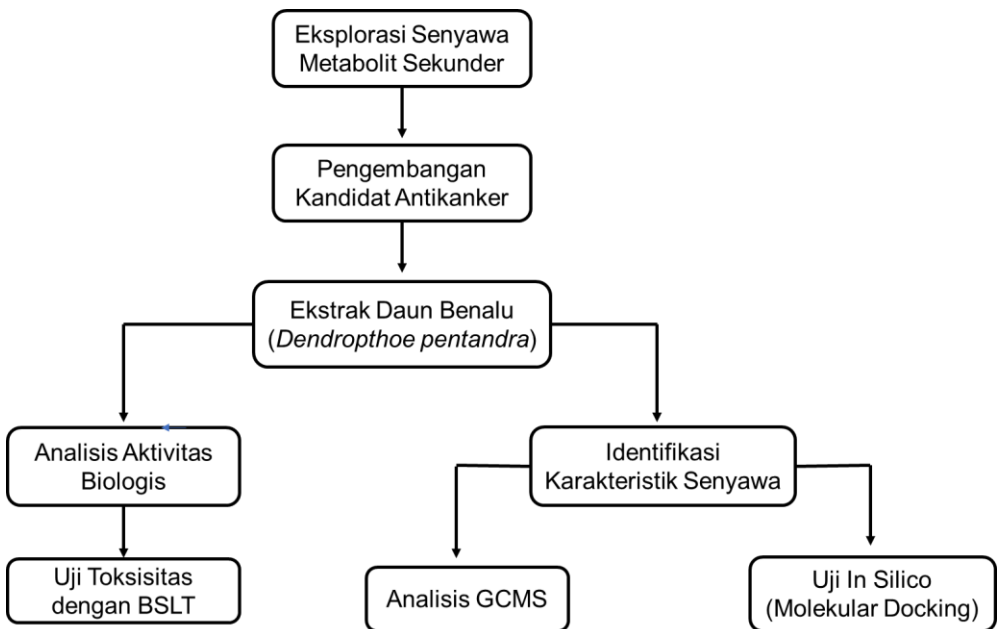
1. Menganalisis toksisitas ekstrak n-Heksan daun benalu *Dendrophoe pentandra* (L.) Miq. secara in vitro
2. Menganalisa profil senyawa metabolit daun benalu *Dendrophoe pentandra* (L.) Miq.
3. Menganalisis potensi senyawa bioaktif daun benalu *Dendrophoe pentandra* (L.) Miq. sebagai kandidat antikanker melalui pendekatan bioinformatika.

1.4 Manfaat Penelliaan

Adapun manfaat peneltian ini yaitu sebagai bahan informasi terkait potensi dan karakteristik senyawa bioaktif yang diperoleh dari daun benalu *Dendrophoe pentandra* (L.) Miq sebagai kandidat anti kanker. Dengan demikian diharapkan dapat digunakan sebagai bahan acuan dalam proses pengkajian mengenai potensii senyawa bioaktif dari bahan alam sebagai kandidat obat antikanker.

1.5 Kerangka Berpikir

Benalu *Dendrophoe pentandra* (L.) Miq merupakan salah satu tanaman yang dimanfaatkan sebagai obat karna mengandung senyawa bioaktif seperti flavonoid, terpen, serta komponen fenol (lektin, asam lemak, tanin). Beberapa komponen bioaktif ini berfungsi untuk memelihara kesehatan tubuh dan berpotensi sebagai antioksidan, antihipertensi, hepatoprotektor, antitumor dan antikanker Kanker merupakan penyakit mematikan nomor dua di dunia setelah penyakit jantung. Menurut data WHO sebanyak 70-80% masyarakat dunia saat ini menggunakan herbal sebagai healthcare karena meminimalisir efek samping. Pengenmbangan kandidat obat herbal dari esktrak tanaman diperlukan pengujian aktivitas biologis yaitu uji toksisitas kemudian dilanjutkan dengan analisis potensi senyawa dengan pendekatan bioinformatika dalam ha ini uji *in silico* yaitu dengan molecular docking dengan tujuan mengetahui intekasi antara ligan dan protein dengan energi yang sesuai.



BAB II

METODE PENELITIAN

2.1 Jenis dan Pendekatan Penelitian

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental yakni menganalisa potensi senyawa bioaktif ekstrak daun benalu *Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq. sebagai kandidat antikanker secara *in vitro* dan *in silico*. *In vitro* meliputi uji toksisitas *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dilanjutkan dengan profiling senyawa bioaktif menggunakan *Gas Chromatography and Mass Spectrometry* (GC-MS). Uji *in silico* dengan molecular docking untuk mengetahui interaksi antara ligan dan protein target.

2.2 Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Mei-September 2025. Pengambilan sampel dilakukan di Dusun Sumalaya, Desa Lembanna, Kecamatan Kajang, Kabupaten Bulukumba, Sulawesi Selatan (5°02'45"S 119° 31'32"E). Ekstraksi dilakukan di Laboratorium Botani, Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin. Uji toksisitas awal dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dilaksanakan di Laboratorium Biokimia Departemen Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin. analisis kromatografi *Gas Chromatography and Mass Spectrometry* (GC-MS) senyawa bioaktif dilaksanakan di Laboratorium Jurusan Teknik Kimia, Politeknik Negeri Ujung Pandang.

2.3 Alat Penelitian

Alat yang digunakan pada Proses ekstraksi yaitu penelitian ini yaitu timbangan Analitik, Rotary evaporator, gelas erlenmeyer, corong kaca, batang pengaduk, kertas saring, gelas beaker. Alat yang digunakan pada uji toksisitas *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) adalah wadah/inkubator penetasan *Artemia salina*, aerator, mikroskop stereo, pipet tetes, *micropipette*, tabung uji, gelas *beaker*, dan timbangan analitik. Alat yang digunakan pada saat Analisis kromatografi *Gas Chromatography and Mass Spectrometry* (GC-MS) adalah instrument GCMS Shimadzu. Uji *in silico* menggunakan perangkat lunak computer (Biovia Discovery, Autodoc Vina, autodock tools).

2.4 Bahan Penelitian

Bahan utaman yang digunakan dalam penelitian ini yaitu daun Benalu dari pohon jati. Pada tahapan maserasi dan ekstraksi bahan yang digunakan adalah pelarut n-Heksana PA, aluminium foil, alkohol 70%. Bahan yang digunakan pada pengujian toksisitas BSLT adalah *crude extract* dari daun benalu *Dendrophthoe*

pentandra (L.) Miq. Sebanyak 3 ml, telur kista udang *Artemia salina* yang diretaskan menjadi larva, air laut buatan (larutan (NaCl), aquades dan media tanpa sampel sebagai kontrol negative. Bahan yang digunakan pada Analisis kromatografi *Gas Chromatography and Mass Spectrometry* (GC-MS) adalah *crude ekstrak* dari daun benalu *Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq. Sebanyak 2 ml. Untuk uji *in silico* dengan molecular docking menggunakan senyawa hasil analisis kromatografi *Gas Chromatography and Mass Spectrometry* (GC-MS) sebagai ligan dan protein sirtuin1 (SIRT1) sebagai protein target.

2.5 Prosedur Penelitian

2.5.1 Sampling

Sampel daun Benalu dari pohon jati diperoleh dari Dusun Sumalaya, Desa Lembanna, Kecamatan Kajang, Kabupaten Bulukumba, Sulawesi Selatan (5°02'45"S 119° 31'32"E). Daun benalu yang diambil adalah daun yang masih dalam proses pertumbuhan.

2.5.2 Preparasi Sampel

Daun benalu yang digunakan sebanyak 1000gram yang telah dikeringanginkan. Serbuk daun benalu kering dimaserasi menggunakan pelarut n-Heksana PA selama 3x24 jam. Hasil maserasi diperoleh filtrat yang kemudian diuapkan dengan menggunakan rotary evaporator hingga diperoleh ekstrak kental n-heksana sebanyak 15 gram.

2.5.3 Uji Toksisitas (BSLT)

Uji dilakukan terhadap larva *Artemia salina* Leach dengan konsentrasi ekstrak 1, 10, 100 µg/ml berdasarkan standar protokol Meyer *et al.* 1982 dalam (Aini *et al.* 2025). Pada setiap konsentrasi dilakukan 3 kali pengulangan. Setiap pengulangan menggunakan 10 ekor larva sehingga total larva yang digunakan pada setiap konsentrasi adalah 30 ekor. Pengamatan dilakukan selama 24 jam mortalitas larva dihitung untuk menentukan nilai LC₅₀ menggunakan analisis probit. Data hasil penelitian akan diolah dan disajikan dalam bentuk tabel serta grafik untuk memudahkan interpretasi. Analisis toksisitas dilakukan menggunakan metode statistik probit analysis. Jumlah larva *Artemia salina* yang mati pada masing-masing konsentrasi ekstrak dihitung, kemudian dikonversikan menjadi persentase kematian menggunakan rumus yang ditunjukkan pada persamaan berikut (Prasticha and Surahmaida, 2024):

$$\% \text{ Kematian larva} = \frac{\sum \text{Larva uji yang mati}}{\sum \text{larva uji}} \times 100\%$$

Selanjutnya, Nilai LC₅₀ (*Lethal Concentration* 50%) dihitung berdasarkan titik pada kurva regresi yang menghasilkan persentase kematian sebesar 50%. Nilai yang diperoleh digunakan untuk menentukan potensi toksik dan prospek ekstrak sebagai kandidat antikanker. Menurut (Susanty *et al.*, 2023), sebaran toksisitas berdasarkan nilai LC50 dapat dikategorikan yaitu < 20 ppm sangat toksik, 20-100

ppm toksik, 100-500 ppm toksisitas sedang, dan > 1000 ppm tidak toksik

2.5.4 Analisis GC-MS

Crude Ekstrak daun Benalu *Dendrophthoe pentandra* diuji menggunakan instrument GCMS (Gas Chromatography Mass- Spectrometry) dengan suhu injektor 250°C dan kolom 70-250°C. Identifikasi senyawa dilakukan berdasarkan library NIST 2020 dan Wiley 9.

2.5.5 Uji *In Silico* (Molekuler Docking)

2.5.5.1 Preparasi Ligan dan Protein

Sruktur protein reseptor pada penelitian ini diunduh dari situs *protein data bank* (PDB) (<https://www.rscb.org/pdb>). Reseptor ini dipreparasi dalam format pdb, kemudian dipisahkan dari molekul lain yang tidak diperlukan seperti seperti air pada perangkat lunak Biovia discovery. Ligan diperoleh dari hasil Analisa GC-MS senyawa bioaktif ekstrak n-heksan daun benalu jati kemudian dibuka database PubChem untuk melihat struktur dan Canonical SMILES. Canonical SMILES yang diperoleh dari database PubChem diunduh dengan format SDF, selanjutnya canonical SMILES diambil untuk mengonversinya ke format PDB menggunakan canonical SMILES yang dikonversi oleh generator file struktur National Cancer Institute (<https://cactus.nci.nih.gov/translate/>).

2.5.5.2 Penambatan Molekuler Docking

Ligand yang digunakan adalah senyawa hasil analisis GCMS, yaitu terdapat tiga senyawa utama yang berpotensi sebagai kandidat antikanker, termasuk fitol (C₂₀H₄₀O) (5280435), asam oktadekanoat (C₁₆H₃₆O₂) (5281), asam n-heksadekanoat (C₁₆H₃₂O₂) (985). Yang bertindak sebagai reseptor adalah SIRT1 dengan kode ID PDB 4ZZI. Dan yang bertindak sebagai ligan asli adalah 4-(4-{2-[(metilsulfonyl)amino]etil}piperidin-1-il)tieno[3,2-d]pirimidin-6karboksamida]. Resveratrol sebagai inhibitor referensi yang aktivitasnya terhadap SIRT1 telah diketahui.

Validasi metode molecular docking dilakukan dengan men-*docking*-kan kembali *native ligand* pada protein target yang sudah dihilangkan *native ligand*-nya menggunakan program Autodock tools 1.5.6. Parameter validasi yang digunakan adalah nilai RMSD (*Root Mean Square Distance*) < 3 Å, nilai tersebut menunjukkan protokol diterima dan docking dapat dilanjutkan (Dewi et al. 2019). Tahap selanjutnya memulai proses docking dengan menggunakan software Autodock vina dengan mengatur grid sisi aktif reseptor. Proses penambatan molekuler dijalankan melalui *Command prompt* (cmd). Parameter yang ditentukan dapat diamati dengan membuka file log.txt melalui notepad. Hasil penambatan berupa nilai binding affinity.

2.5.5.3 Visualisasi Hasil Docking

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