

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Hasil Penelitian Terdahulu

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Tyagi dan Agarwal (2017), tumbuhan eceng gondok yang diekstraksi menggunakan sokhletasi dengan penyari etanol, kemudian dianalisis menggunakan GC-MS menghasilkan beberapa komponen senyawa, seperti *n-hexadecanoic acid*; *E-11-hexadecanoic acid ethyl ester*; *palmitic acid, ethyl ester*; *phytol*; *9,12-octadecanoic acid, ethyl ester*; *linolenic acid, ethyl ester*; *stearic acid, ethyl ester*; *hexadecanoic acid,2-hydroxy-1-(hydroxymethyl) ethyl ester*; *α-glyceryl linolenate*; *1-monolinoleoylglycerol trimethylsilyl ether*; dan *stigmaterol*. Senyawa tersebut memiliki aktivitas seperti, antioksidan, antitumor, antibakteri, antikanker, diuretik, antidiabetes, dan lain-lain. Aktivitas senyawa tersebut bersumber dari *Dr. Duke's Pythochemical and Ethnobotanical Database* (Tyagi dan Agarwal, 2017).

Selain itu, penelitian yang telah dilakukan oleh Aboul-Enein (2011) menyatakan bahwa komponen senyawa yang terdapat dalam ekstrak kasar eceng gondok adalah alkaloid, *phthalate derivatives*, propanoid, dan *phenyl derivatives*. Berdasarkan data sekuensial menunjukkan bahwa aktivitas yang memiliki potensi tinggi adalah sebagai antibakteri, antijamur, antioksidan dan antikanker.

Persamaan antara penelitian sebelumnya dengan penelitian yang akan dilakukan adalah metode penyarian dengan menggunakan sokhletasi dan analisis kandungan kimia menggunakan GC-MS. Perbedaan antara penelitian sebelumnya dengan penelitian yang akan dilakukan adalah kandungan senyawa kimia yang akan dianalisis dalam bentuk fraksi sedangkan pada penelitian sebelumnya dalam bentuk ekstrak kasar. Selain itu, untuk melihat interaksi antara kandungan senyawa kimia yang terdapat dalam fraksi n-heksana dan kloroform dengan reseptor enzim DNA topoisomerase, penelitian ini digunakan metode doking molekuler.

B. Landasan Teori

1. Kanker

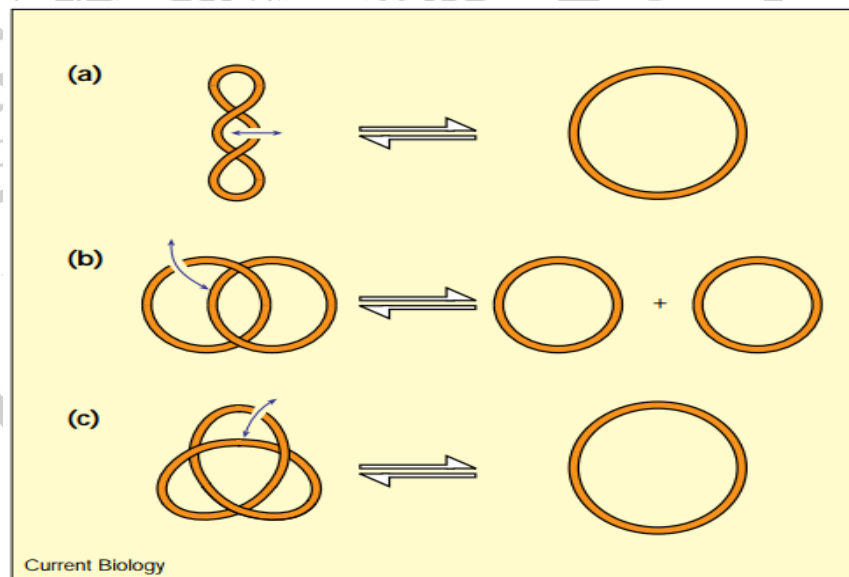
Penyakit kanker adalah penyakit yang timbul akibat pertumbuhan sel pada jaringan tubuh yang tidak normal. Pengobatan kanker dapat dilakukan dengan cara pembedahan, radiasi, kemoterapi, endokrinoterapi, dan imunoterapi (Siswandono, 2008).

Berdasarkan pusat data dan informasi Kementerian Kesehatan RI tahun 2015, penyakit kanker merupakan salah satu penyebab kematian utama di seluruh dunia. Pada tahun 2012, sekitar 8,2 juta kematian disebabkan oleh kanker. Kanker paru, hati, perut, kolorektal, dan kanker payudara adalah penyebab terbesar kematian akibat kanker setiap tahunnya. Lebih dari 30% dari kematian akibat kanker disebabkan oleh lima faktor risiko perilaku dan pola makan, yaitu indeks massa tubuh tinggi, kurang konsumsi buah dan sayur, kurang aktivitas fisik, penggunaan rokok, dan konsumsi alkohol berlebihan. Merokok merupakan faktor risiko utama kanker yang menyebabkan terjadinya lebih dari 20% kematian akibat kanker di dunia dan sekitar 70% kematian akibat kanker paru di seluruh dunia. Lebih dari 60% kasus baru dan sekitar 70% kematian akibat kanker di dunia setiap tahunnya terjadi di Afrika, Asia, Amerika Tengah dan Selatan. Diperkirakan kasus kanker tahunan akan meningkat dari 14 juta pada 2012 menjadi 22 juta dalam dua dekade berikutnya (Kemenkes, 2015).

Saat ini telah banyak dikembangkan obat-obat antikanker. Pada umumnya, kerja antikanker berdasarkan atas gangguan pada salah satu proses yang esensial. Karena tidak ada perbedaan kualitatif antara sel kanker dengan sel normal maka semua antikanker bersifat mengganggu sel normal dan bersifat sitotoksik. Ditinjau dari siklus sel, obat dapat digolongkan dalam 2 golongan, yang pertama ialah yang memperlihatkan toksisitas selektif terhadap fase-fase tertentu dari siklus sel dan disebut zat *cell cycle-specific* (CCS), misalnya vinkristin, vinblastin, merkaptopurin, hidroksiurea, metotreksat dan asparaginase. Golongan kedua ialah zat *cell cycle-nonspecific* (CCNS), misalnya zat alkilator, antibiotik, antikanker, dan nitrosourea (Gunawan *et al.*, 2012).

Enzim DNA topoisomerase adalah enzim yang berperan dalam mengkatalisis berbagai bentuk perubahan topologi pada DNA, termasuk relaksasi dan superkoil, *knotted/ unknotted*, dan lingkaran DNA yang terhubung dan tak terhubung, seperti dalam Gambar 2.1. Enzim ini dikelompokkan menjadi dua jenis yaitu, enzim tipe I mengkatalisis reaksi yang melibatkan pemecahan untai tunggal transien dalam DNA, dan enzim tipe II mengkatalisis reaksi yang melibatkan pemecahan untai dua sementara (Bates *et al*, 1997). Enzim DNA topoisomerase II memegang peranan penting dalam proses replikasi, transkripsi, dan penguraian atau pembentukan kromosom (Setiawan, 2015).

Enzim DNA topoisomerase II ini mempunyai tingkat ekspresi yang tinggi terhadap semua sel-sel kanker terutama pada kanker hati dan kanker payudara. Peningkatan level ekspresi dari enzim DNA topoisomerase II menjadi observasi awal untuk penyakit kanker (Setiawan, 2015).



The reactions carried out by type II topoisomerases: (a) supercoiling/relaxation; (b) catenation/decatenation; (c) knotting/unknotting. All these transformations can be performed by the passage of one double-stranded DNA segment through another (double-headed arrows).

Gambar 2.1. Reaksi oleh enzim DNA Topoisomerase tipe II.

2. Eceng gondok (*Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms)

Eceng gondok (*Euchhornia crassipes*) yang merupakan famili dari Pontederaceae banyak tumbuh di Indonesia yang banyak ditemukan di

daerah rawa, danau, waduk, dan sungai. Menurut sejarahnya, eceng gondok di Indonesia dibawa oleh seorang ahli botani dari Amerika ke kebun Raya Bogor. Tanaman ini biasanya hidup di daerah tropis maupun subtropis dengan suhu berkisar antara 21,1 °C sampai 27,2 °C dan di pH berkisar 5,0 sampai 7,5 (Lei dan Bo, 2004).

Eceng gondok dewasa terdiri atas akar, bakal tunas, tunas atau stolon, daun, tangkai, dan bunga (Gambar 2.2). Karakteristik dari eceng gondok ini adalah daun-daun eceng gondok berwarna hijau terang berbentuk telur yang melebar atau hampir bulat dengan garis tengah sampai 15 cm. Pada bagian tangkai daun terdapat masa yang menggelembung yang berisi serat seperti karet busa. Kelopak bunga berwarna ungu muda agak kebiruan. Setiap kepala putik dapat menghasilkan sekitar 500 bakal biji atau 5000 biji setiap tangkai bunga, sehingga eceng gondok dapat berkembang biak dengan dua cara yaitu dengan tunas dan biji (Putera, 2012).



Gambar 2.2. Tumbuhan Eceng Gondok

Eceng gondok sering disebut sebagai gulma yang merusak ekosistem air karena tanaman yang biasanya hidup di air tawar ini cepat dan mudah sekali menyebar. Efek ekonomi dari eceng gondok bersifat *multi-faceted* yaitu tergantung pada tingkat invasi. Begitu dimasukkan ke dalam air eceng gondok sulit untuk dimusnahkan. Pengendalian eceng gondok dengan metode fisik, manual dan mekanik, kimia, biologi atau hibrida tetap tidak efektif. Akan tetapi pengendalian akan berhasil dengan menjaga infestasi gulma dengan biaya yang sangat besar (Malik, 2007).

Oleh karena itu, tujuan dari sebagian besar upaya pengelolaan adalah meminimalkan biaya ekonomi dan kerusakan ekologi (Villamagna dan Murphy, 2010).

Eceng gondok yang biasanya dimanfaatkan sebagai kerajinan tangan, pupuk, bahan bakar biogas, dan pakan ternak juga dapat dimanfaatkan sebagai penyerap logam berat di dalam air, seperti kadmium, merkuri, dan nikel. Selain pemanfaatan di atas eceng gondok juga dapat dimanfaatkan sebagai pengobatan alternatif karena mengandung metabolit sekunder yang memiliki peran utama dalam pertahanan diri terhadap mikroorganisme. Beberapa metabolit sekunder yang terdapat dalam eceng gondok, antara lain alkaloid, tanin, antrakuinon, antosianin, flavonoid, dan lain-lain (Lata dan Dubey, 2010).

Alkaloid adalah senyawa indol heterosiklik yang memiliki sifat farmakologis. Flavonoid dan tanin adalah senyawa fenolik dan fenolat yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan dan penangkap radikal bebas. Selain itu, flavonoid juga mempunyai aktifitas antimikroba, anti-inflamasi, antialergi, dan antikanker. Sedangkan antosianin berperan penting dalam tindakan kemoterapi (Farnsworth, 1996). Secara kimia semua antosianin merupakan turunan suatu struktur aromatik tunggal, yaitu sianidin dan semuanya terbentuk dari pigmen sianidin ini dengan penambahan atau pengurangan gugus hidroksil atau dengan metilasi atau glikosilasi. Antosianin secara umum terdapat dalam tumbuhan berpembuluh (antosianin telah dideteksi dalam beberapa lumut, dalam daun muda paku, begitu pula dalam angiospermae dan gymnospermae), tetapi dalam salah satu ordo tumbuhan tinggi, yaitu Centrospermae, antosianin diganti oleh segolongan pigmen yang secara sepintas tampaknya serupa, yaitu betasianin (Harbone, 1996). Antrakuinon adalah senyawa turunan kuinon yang mempunyai aktivitas sebagai antioksidan, penghambatan agregasi platelet, dan antikanker (Akhtar *et al*, 2013).

3. Ekstraksi

Ekstraksi merupakan salah satu proses yang digunakan untuk melakukan pemisahan zat aktif dari suatu simplisia dengan menggunakan pelarut yang cocok. Peran ekstraksi dalam fitokimia sangatlah penting

karena digunakan untuk memisahkan senyawa dari campurannya, termasuk juga proses fraksinasi dan pemurnian. Ada berbagai macam ekstraksi yang dapat digunakan dalam mendapatkan senyawa yang diinginkan, tergantung dari jenis, sifat fisik, dan sifat kimia kandungan senyawa yang akan diekstraksi. Pelarut yang digunakan juga tergantung dari kepolaran senyawa yang akan disari mulai dari yang bersifat nonpolar hingga polar, yang biasa disebut sebagai ekstraksi bertingkat (Hanani, 2015).

Beberapa metode ekstraksi yang umum digunakan antara lain maserasi, perkolasi, refluks, sokhletasi, infusa, dekok, destilasi (penyulingan, lawan arah (*counter current*), ultrasonik, gelombang mikro, (*microwave assisted extraction*, MAE), ekstraksi gas superkritis (*supercritical gas extraction*, SGE). Sokhletasi merupakan salah satu cara ekstraksi menggunakan pelarut yang organik pada suhu didih dengan alat sokhlet. Pada sokhletasi, simplisia dan ekstrak berada pada labu berbeda. Pemanasan yang digunakan akan mengakibatkan pelarut menguap, dan uap akan masuk ke dalam labu pendingin. Hasil kondensasi jatuh pada bagian simplisia sehingga ekstraksi akan berlangsung terus-menerus dengan jumlah pelarut relatif konstan (Hanani, 2015).

Dari hasil ekstraksi maka akan diperoleh suatu ekstrak, dimana ekstrak adalah sediaan cair, kental atau kering yang merupakan hasil proses ekstraksi atau penyarian suatu matriks atau simplisia menurut cara yang sesuai. Ekstrak cair yang diperoleh dari proses ekstraksi masih mengandung sebagian besar cairan penyari, ekstrak kental didapatkan dengan cara melakukan proses penguapan, sedangkan ekstrak kering yang diperoleh dari proses ekstraksi sudah tidak mengandung cairan penyari (Hanani 2015).

Untuk menelaah suatu profil fitokimia lengkap dari suatu tanaman, maka sebelumnya dilakukan fraksinasi pada ekstrak kasar untuk memperoleh golongan utama kandungan senyawa kimia dari golongan lainnya. Prinsip dari fraksinasi adalah berdasarkan perbedaan kepolaran. Jumlah dan jenis senyawa yang dapat dipisahkan menjadi fraksi yang berbeda sudah tentu berbeda, bergantung pada jenis tanaman. Selain itu,

prosedur tersebut harus dimodifikasi apabila akan menelaah senyawa yang labil (Harborne, 1996).

Pemisahan atau pemurnian dapat dilakukan dengan beberapa teknik yang umum digunakan, antara lain ekstraksi cair-cair, kromatografi kertas, kromatografi lapis tipis (KLT), kromatografi lapis tipis densitometri, kromatografi kolom, kromatografi gas-cair, kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT). Ekstraksi cair-cair umumnya digunakan pada pemisahan tahap awal, sedangkan untuk kromatografi gas dan KCKT memerlukan peralatan yang lebih rumit dan umumnya metode dengan resolusi tinggi, serta bahan uji yang diperlukan dalam jumlah μg (Hanani, 2015).

4. *Gas Chromatography-Mass Spectrophotometer (GC-MS)*

Gas Chromatography-Mass Spectrophotometer (GC-MS) merupakan metode pemisahan senyawa organik yang menggunakan dua metode analisis senyawa yaitu GC dan MS. GC digunakan untuk menganalisis suatu senyawa secara kuantitatif, sedangkan MS digunakan untuk menganalisis struktur molekul dari senyawa analit (Pavia *et al*, 2006).

Gas chromatography (GC) atau kromatografi gas merupakan metode yang dinamis untuk pemisahan dan deteksi senyawa-senyawa yang mudah menguap dalam suatu campuran. Kegunaan umum GC adalah untuk melakukan pemisahan dinamis dan identifikasi semua jenis senyawa organik yang mudah menguap dan juga untuk melakukan analisis kualitatif dan kuantitatif senyawa dalam suatu campuran. GC dapat bersifat destruksi dan dapat bersifat non destruksi tergantung pada detektor yang digunakan (Gandjar dan Rohman, 2013).

Mass Spectrophotometer (MS) adalah suatu teknik analisis dengan prinsip dasar membuat suatu molekul netral menjadi bermuatan sehingga bisa dideteksi. Tujuan utama dari spektroskopi massa adalah mengetahui berat molekul. Informasi yang diperoleh dari spektrum MS adalah berat ion, yakni massa molekul isolat ditambah atau dikurangi sumber ion. Berat ion biasanya disajikan dalam $[M+H]^+$ atau $[M+OH]^+$ atau dalam bentuk radikal $[M^*]^+$. Berat molekul sesungguhnya diperkirakan bertambah satu

atau berkurang satu angka yang mendekati. Adakalanya ionisasi melalui penambahan berat molekul air (Saifudin, 2014).

5. Doking Molekuler

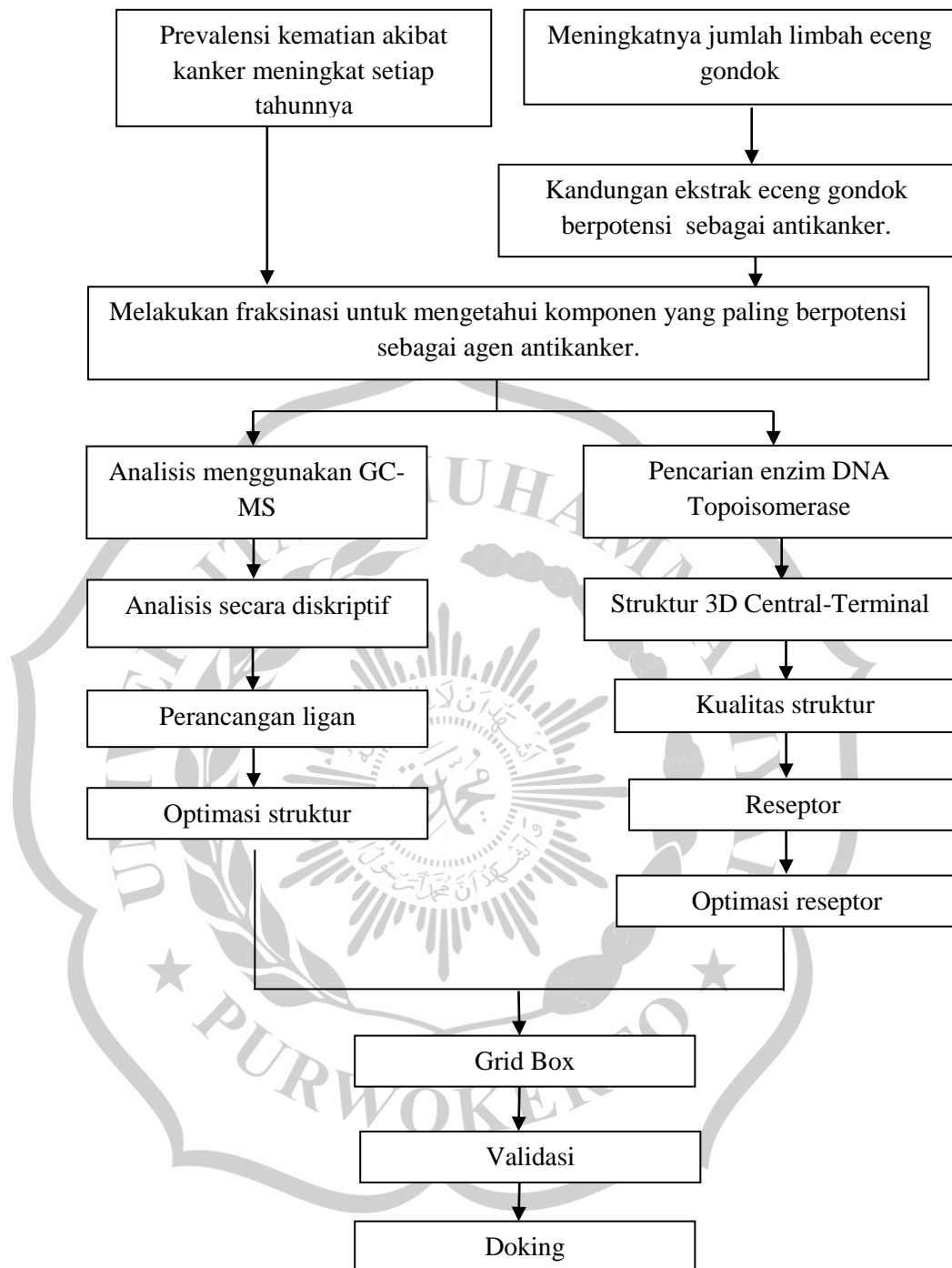
Doking Molekuler banyak digunakan untuk memprediksi kompleks biomolekuler dalam analisis struktur atau fungsi dan desain molekul. Berbagai metode yang tersedia, menggabungkan berbagai *trade-off* dalam representasi molekul, evaluasi energi, dan sampling konformasional untuk memberikan prediksi dengan upaya komputasi (Morris *et al.*, 2009).

Metode doking molekuler adalah salah satu teknik *in silico* untuk mencari posisi penambatan dari struktur target (reseptor) dengan menggunakan bahasa pemrograman dari perangkat lunak. Dalam pemodelan molekuler, proses doking molekuler (*molecular docking*) merupakan metode untuk memprediksi interaksi, konfigurasi ikatan, dan memprediksi pengikatan kompleks yang terbentuk antara ligan (*flexible*) dengan reseptor (*rigid*) (Yeturu dan Nagasuma, 2008).

Validasi metode doking bertujuan untuk mengkalibrasi dan memvalidasi parameter doking molekuler yang menggunakan *software* Autodock. Parameter dikatakan valid jika parameter doking yang didesain dapat menambatkan ligan alami atau kompleks ligan bawaan ke posisi semula (Setiawan, 2015).

AutoDock menggabungkan medan gaya energi empiris dengan Algoritma Genetika Lamarckian, memberikan kecepatan yang cepat, prediksi konformasi yang terikat dengan perkiraan energi bebas asosiasi (Morris *et al.*, 1998). AutoDock telah terbukti efektif dalam memperkirakan setengah dari kompleks yang telah diteliti. Setengah sisanya menunjukkan pergerakan reseptor yang signifikan saat mengikat, dan karenanya memerlukan model gerakan yang lebih canggih dalam reseptor, yang biasanya dilakukan di luar AutoDock (Morris *et al.*, 2009).

C. Kerangka Konsep



D. Hipotesis

Eceng gondok di dalam penelitian Aboul-Enein (2011) menyebutkan bahwa eceng gondok mempunyai potensi sebagai antikanker. Maka dapat ditarik hipotesis bahwa, dalam fraksi n-heksana dan fraksi kloroform eceng gondok terdapat kandungan senyawa kimia yang mempunyai interaksi dengan enzim DNA topoisomerase.