

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Bandotan (*Ageratum conyzoides* L.)

Berdasarkan *Natural Resources Conservative Service* (Kartesz, 2012)

herba bandotan diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Subkingdom	: <i>Tracheobionta</i>
Superdivisi	: <i>Spermatophyta</i>
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i>
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i>
Subkelas	: <i>Asteridae</i>
Orde	: <i>Asterales</i>
Family	: <i>Asteraceae</i>
Genus	: <i>Ageratum</i> Linn
Spesies	: <i>Ageratum conyzoides</i> Linn

Ageratum conyzoides L. di Sumatera dikenal dengan nama daun tombak, rumput tahi ayam atau siangit sedangkan di Jawa dikenal dengan nama babandotan, bandotan, dus wedusan, tempuyak dan berokan, untuk masyarakat Sulawesi mengenal tumbuhan ini dengan nama dawet, lawet, rukut manoe dan sopi (Dalimartha, 2006).

Bandotan merupakan sejenis tanaman pengganggu yang banyak ditemukan di pinggir jalan, hutan, ladang dan tanah terbuka. Tanaman ini berasal dari Asia Tenggara, Amerika Tengah, Amerika Selatan, Karibia, Florida, China Selatan dan

Australia. Tanaman ini dikenal sebagai tanaman hias dari Amerika dan banyak ditemukan di Pasifik Selatan serta negara beriklim hangat lainnya (Prasad, 2011). Bandotan merupakan tanaman liar di Indonesia dan lebih dikenal sebagai tumbuhan pengganggu (gulma) di kebun dan ladang (Retno, 2009).



Gambar 1. Bandotan (*Ageratum conyzoides* L.)

Bandotan memiliki ketinggian mencapai 1 meter dengan ciri daun yang mempunyai bulu berwarna putih halus. Bunga berukuran kecil, berwarna putih keunguan pucat, berbentuk seperti bunga matahari dengan diameter 5-8 mm. Batang dan daun ditutup oleh bulu halus berwarna putih dan daunnya mencapai panjang 7.5 cm. Buahnya mudah tersebar sedangkan bijinya ringan dan mudah terhembus angin (Prasad, 2011).

Bandotan telah digunakan di Afrika sebagai tanaman obat untuk berbagai macam penyakit. Daun bandotan biasanya digunakan untuk pengobatan luka, selain itu juga sebagai antiinflamasi, analgesik dan antipiretik (Adebayo, *et al.*, 2010). Kandungan fitokimia pada tanaman bandotan menunjukkan adanya

senyawa sebagai berikut : steroid, terpenoid, fenol, saponin, asam lemak dan alkaloid (Kamboj dan Saluja, 2010). Studi fitokimia lain yang dilakukan oleh Dash dan Murthy (2011), ekstrak bandotan menunjukkan beberapa kandungan antara lain steroid, sterol, triterpenoid, alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, fenolik, karbohidrat dan protein.

1. Alkaloid

Alkaloid merupakan golongan zat metabolit sekunder yang terdapat dalam tumbuhan, mengandung satu atau lebih atom nitrogen yang bersifat basa dan sebagian besar atom nitrogen merupakan bagian dari cincin heterosiklik (Doble dan Prabhakar, 2008). Alkaloid merupakan amin yang memberikan efek farmakologis, fisiologis dan psikologis. Alkaloid dapat ditemukan dibagian tumbuhan seperti biji, daun, ranting dan kulit batang.

2. Triterpenoid

Lebih dari 4000 jenis triterpenoid telah diisolasi dengan lebih dari 40 jenis kerangka dasar yang sudah dikenal dan pada prinsipnya merupakan siklisasi dari skualen. Triterpenoid terdiri dari kerangka dengan 3 dan 6 siklik yang bergabung dengan siklik 5 atau berupa 4 siklik dan 6 siklik yang mempunyai gugus fungsi pada siklik tertentu (Lenny, 2006).

3. Steroid

Steroid merupakan triterpenoid yang mengandung siklopentana perhidrofenantren yaitu 3 cincin sikloheksana dan sebuah cincin siklopentana. Steroid dapat ditemukan pada jaringan tumbuhan.

4. Flavonoid

Flavonoid termasuk senyawa fenol terbesar yang ditemukan di alam. Senyawa ini merupakan zat warna ungu dan biru serta sebagian warna kuning yang ditemukan dalam tumbuh-tumbuhan. Flavonoid mempunyai kerangka dasar karbon yang terdiri dari 15 atom karbon, 2 cincin benzene (C6) terikat pada suatu rantai propan (C3) sehingga membentuk susunan C6-C3-C6 (Okunade, 2002).

5. Tanin

Tanin disebut sebagai polifenol tanaman, yang mempunyai peran dalam pengikatan protein, pembentukan pigmen sebagai ion metal dan mempunyai susunan molekul yang besar serta sebagai aktivitas antioksidan. Tanin memiliki rumus molekul $C_{75}H_{52}O_{46}$, ada yang tidak berwarna tetapi ada juga yang berwarna kuning atau coklat (Okuda dan Ito, 2011). Dua kelas besar tanin dikenal berdasarkan reaksi hidrolitik dan asal fenoliknya. Kelas pertama disebut sebagai tanin *hydrolysable* dan yang lain disebut tanin terkondensasi, disebut sebagai tanin *hydrolysable* karena mudah larut dalam asam mineral atau enzim seperti *tannase*, strukturnya berupa asam galat, *hexahydrodiphenic* atau *allagic acid*. Sedangkan tanin terkondensasi tidak dapat larut dalam asam mineral dan enzim sehingga disebut juga tannin *nonhydrolysable* (Rangari, 2007).

6. Saponin

Saponin merupakan glikosida dengan berat molekul yang tinggi, dikarakteristikan strukturnya mengandung steroid dengan satu atau lebih

rantai gula. Saponin menunjukkan spektrum luas dalam aktivitas biologis dan digunakan dalam obat-obatan herbal (Laufer, 2005). Beberapa saponin menunjukkan antibakteri, antifungal dan dapat meningkatkan sistem imun (Kerem, *et al.*, 2005).

B. Kanker Payudara (Carsinoma Mammae)

Kanker atau neoplasma merupakan pertumbuhan sel yang terjadi di dalam tubuh, baik bentuk dan sifatnya berbeda dari sel normal. Perusakan bentuk dan fungsi sel pada organ dikarenakan sel yang tumbuh terlepas dari sistem kendali pertumbuhan sel yang normal. Neoplasma berasal dari bahasa Yunani *neos* memiliki arti baru dan *plasein* memiliki arti bentukan, yaitu berarti berupa sel baru yang berbeda dari sel normalnya. Neoplasma terjadi karena ada transformasi atau mutasi sel normal akibat kerusakan gen yang mengatur diferensiasi dan pertumbuhan sel (Sukardja, 2000).

Terjadinya neoplasma melalui 3 tahap transformasi sel yaitu inisiasi, promosi dan progresi, hal ini berdasarkan percobaan pada binatang :

1. Inisiasi

Pada tahap ini sel normal berubah menjadi sel yang berpotensi untuk menjadi sel neoplastik. Karsinogen sebagai inisiator cenderung berubah secara langsung maupun secara metabolik menjadi gugus yang bereaksi dengan DNA, hal ini mengakibatkan DNA pecah dan mengalami metilasi yaitu berupa hambatan perbaikan pada kerusakan DNA (Pringgoutomo, *et al.*, 2002).

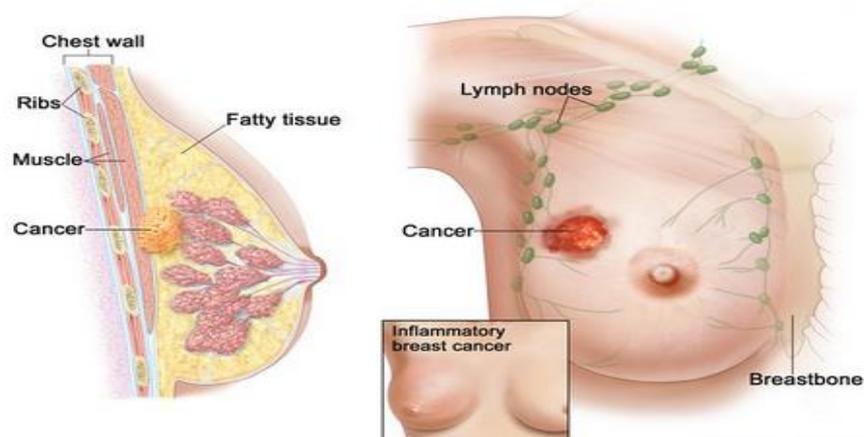
2. Promosi

Promotor merupakan bahan kimia yang merangsang transformasi neoplastik pada sel yang terinisiasi tetapi tidak menyebabkan transformasi neoplastik oleh dirinya sendiri. Promotor bekerja mengubah ekspresi informasi genetik sel dan merangsang proliferasi klonal dan mengubah cara diferensiasi serta maturasi (Pringgoutomo, *et al.*, 2002).

3. Progresi

Pada tahap progresi, percepatan mitosis dan pertumbuhan terjadi pada gen pertumbuhan yang telah diaktivasi oleh kerusakan DNA (Tjay dan Rahardja, 2002).

Kanker payudara terjadi karena ada pertumbuhan sel yang tidak normal, keganasan ini bermula dari sel-sel payudara, tumbuh di dalam kelenjar *mammae*, saluran *mammae* dan jaringan lemak. Pertumbuhan kanker payudara mengalami pertumbuhan yang lebih lambat dibandingkan dengan kanker lainnya. Kanker payudara menyebar melalui sistem getah bening dengan cara memasuki pembuluh limfe dan tumbuh di kelenjar tersebut. Pembengkakan pada kelenjar getah bening di ketiak dapat terjadi apabila sel kanker payudara telah masuk ke aliran darah dan mencapai pembuluh getah bening di ketiak, hal ini menunjukkan bahwa kemungkinan besar sel kanker telah menyebar ke organ lainnya. (Soebachman, 2011).



Gambar 2. Kanker Payudara (Supardjo, 2016)

Penyebab kanker payudara belum diketahui secara pasti. Namun, ada beberapa faktor resiko yang dapat meningkatkan kemungkinan terjadinya kanker payudara, beberapa diantaranya sebagai berikut :

1. Faktor umur

Kanker payudara lebih besar terjadi pada wanita berusia 30 tahun.

2. Riwayat hormon

Faktor hormon merupakan faktor yang banyak berpengaruh pada timbulnya kanker payudara, seperti mendapat menstruasi pertama sebelum umur 10 tahun, *menopause* setelah umur 55 tahun, tidak menikah atau tidak melahirkan anak, melahirkan anak pertama setelah umur 35 tahun dan tidak pernah menyusui anak.

3. Riwayat keluarga

Beberapa riwayat keluarga yang dianjurkan untuk melakukan pemeriksaan dini yaitu ibu atau saudara perempuan terkena kanker payudara atau kanker lainnya.

4. Pernah mengalami infeksi, trauma atau benturan, operasi payudara akibat tumor jinak (kelainan *fibrokistik* dan *fibroadenoma*).
5. Pernah menggunakan obat hormonal yang lama, seperti *hormonal replacement therapy* (HRT) dan pengobatan kemandulan (infertilitas).
6. Peningkatan berat badan yang signifikan pada usia dewasa.
7. Pemakaian kontrasepsi oral pada penderita tumor payudara jinak.
8. Pernah mendapat radiasi sebelumnya pada payudara atau dinding dada, misalnya untuk pengobatan keloid.

Pada tahap dini kanker payudara pada umumnya tidak menimbulkan keluhan. Penderita merasa sehat, tidak merasakan nyeri dan aktivitas tidak terganggu. Tanda yang mungkin dirasakan yaitu teraba benjolan pada payudara dengan ukuran dan bentuk payudara berbeda dari sebelumnya serta terjadi luka pada payudara yang sudah lama tidak sembuh walaupun diobati.

C. Ekstraksi dan Fraksinasi

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dari simplisia hewan atau tumbuh-tumbuhan dengan cara mengekstraksi zat aktif yang terkandung dengan pelarut yang sesuai. Kemudian pelarut diuapkan dan serbuk yang tersisa harus memenuhi standar baku yang telah ditetapkan (Depkes RI, 1995).

Ekstrak cair merupakan sediaan cair yang berasal dari simplisia tumbuhan dengan menggunakan etanol atau aquades sebagai pelarutnya. Ekstrak cair akan membentuk endapan dan bagian bening yang dihasilkan dapat diperoleh dengan cara disaring atau diendapkan, sehingga diperoleh bagian bening yang memenuhi standar farmakope (Depkes RI, 1995). Dalam proses ekstraksi ada

beberapa tahap yang harus dilalui yaitu klasifikasi simplisia, pelarut, pemisahan dan pemurnian, penguapan dan pemekatan serta pengeringan (Depkes RI, 2000).

Fraksinasi merupakan metode pemisahan zat cair berdasarkan kepolarannya yaitu non polar, semi polar dan polar. Senyawa yang bersifat polar akan larut dalam pelarut yang bersifat polar begitupun dengan senyawa yang bersifat semi polar dan non polar akan larut dalam pelarutnya masing-masing (Harborne, 1997). Metode yang digunakan dalam fraksinasi yaitu corong pisah dan kromatografi kolom. Corong pisah merupakan metode yang menggunakan peralatan laboratorium dengan cara memisahkan campuran dua fase pelarut yang berbeda karena perbedaan massa jenis. Sedangkan pada kromatografi kolom menggunakan kolom dalam pemisahan senyawanya. Ekstrak hasil ekstraksi akan dimasukkan ke dalam corong pisah lalu ditambahkan pelarut yang berbeda kepolarannya, corong akan dikocok dan membentuk dua lapisan. Pada lapisan bawah merupakan pelarut yang memiliki massa jenis yang lebih tinggi dan bagian atas merupakan pelarut yang memiliki massa jenis yang lebih kecil. Senyawa akan terpisah dan tertarik ke dalam pelarut yang memiliki kepolaran yang sama dengan senyawa.

D. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) adalah metode pemisahan fisikokimia, pada prinsipnya KLT melibatkan 2 fase yaitu fase diam dan fase gerak. Fase diam berfungsi sebagai penyerap dan yang paling sering digunakan ialah silika gel, alumunium oksida dan selulosa, silika gel menghasilkan perbedaan dalam efek pemisahan dan bersifat sedikit asam sehingga baik digunakan untuk pemisahan

asam sebaliknya aluminium oksida bersifat basa sehingga sering digunakan untuk pemisahan basa. Fase gerak adalah medium angkut dan terdiri dari 1 atau beberapa pelarut yang bergerak pada fase diam (Sastroamidjojo, 2002). Perkiraan identifikasi hasil diperoleh dengan pengamatan nilai R_f dari bercak. R_f adalah perbandingan jarak perambatan suatu zat dengan jarak perambatan fase bergerak dihitung dari titik penotolan larutan zat.

$$R_f = \frac{\text{Jarak titik pusat bercak dari titik awal}}{\text{Jarak garis depan dari titik awal}}$$

Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi noda dalam KLT sehingga dapat mempengaruhi nilai R_f menurut Depkes RI (1979) adalah :

1. Struktur kimia dari senyawa yang sedang dipisahkan.
2. Sifat dari penyerap dan derajat aktivitasnya.
3. Tebal dari lapisan penyerap
4. Pelarut dan derajat kemurnian fase gerak
5. Derajat kejenuhan dari uap dalam bejana yang digunakan
6. Teknik percobaan
7. Jumlah cuplikan yang digunakan
8. Suhu dan kesetimbangan

Kelebihan KLT yaitu tidak membutuhkan biaya besar dalam pengerjaannya, menggunakan waktu yang singkat untuk menyelesaikan analisis dan membutuhkan jumlah totolan yang sangat sedikit. KLT dapat digunakan untuk memisahkan senyawa seperti ion-ion organik, senyawa organik dan

nonorganik yang bersifat kompleks baik yang terdapat di alam maupun yang disintesis (Stahl, 1985).

E. Uji Antioksidan Metode DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil)

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menunda, memperlambat dan mencegah proses reaksi oksidasi radikal bebas. Terdapat dua kategori antioksidan yaitu antioksidan alami dan antioksidan sintetik. Antioksidan alami dapat berupa senyawa fenolik (tokoferol dan flavonoid), senyawa nitrogen (alkaloid, turunan klorofil, asam amino dan amina) atau karotenoid seperti asam askorbat (Apak, *et al.*, 2007).

Metode DPPH merupakan metode yang mudah, cepat dan sensitif untuk pengujian aktivitas antioksidan senyawa tertentu atau ekstrak tanaman (Koleva, 2002). Elektron yang tidak berpasangan menyebabkan DPPH memberikan serapan kuat pada panjang gelombang 517 nm. Ketika elektronnya menjadi berpasangan oleh keberadaan penangkap radikal bebas, maka absorbansinya menurun sesuai stokiometri sesuai jumlah elektron yang diambil. Keberadaan senyawa antioksidan dapat mengubah warna larutan DPPH dari ungu menjadi kuning (Dehpour, *et al.*, 2009). Dalam menentukan nilai IC_{50} suatu sampel dioptimasi dengan penentuan OT (*Operating Time*) dan panjang maksimum. Nilai IC_{50} yang dihasilkan dapat digolongkan untuk menentukan kekuatan aktivitas antioksidan suatu senyawa dengan metode DPPH (Armala, 2009).

F. Uji Sitotoksik (MTT assay)

Uji sitotoksik adalah uji yang menggunakan kultur sel secara *in vitro* dan digunakan untuk mengevaluasi kosmetik, peptisida, zat tambahan pada makanan,

keamanan obat dan aktivitas antineoplastik dari suatu senyawa (Freshney, 1992). Uji sitotoksik menggunakan IC_{50} sebagai parameter, nilai IC_{50} merupakan suatu konsentrasi yang dapat menghambat pertumbuhan sel 50% dari populasi. Nilai IC_{50} dapat merupakan suatu potensi pada senyawa sebagai sitotoksik, semakin kecil nilai IC_{50} maka senyawa tersebut semakin toksik (Heti, 2008).

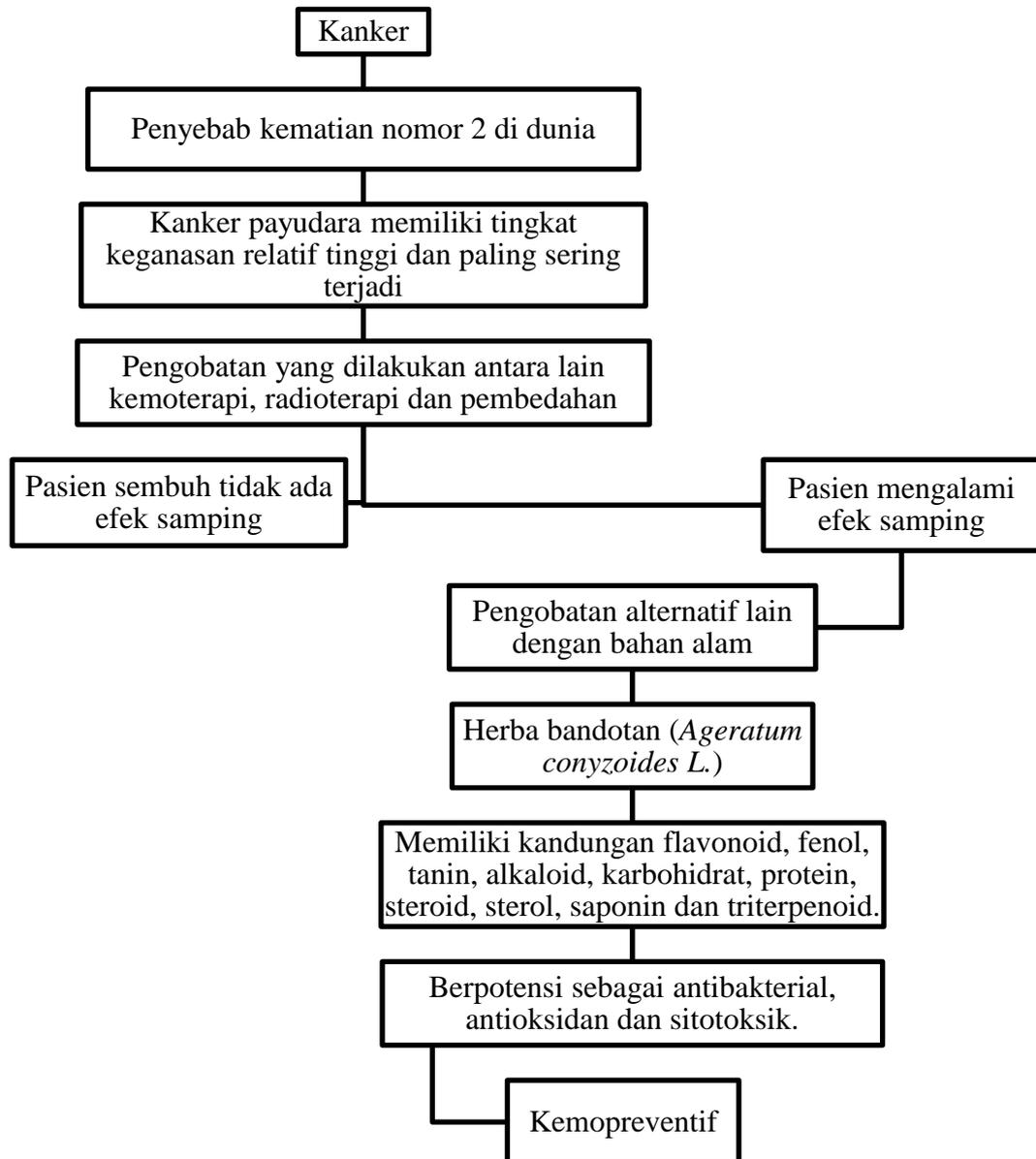
MTT *assay* adalah metode yang umumnya sering digunakan, metode ini menggunakan MTT [3-(4,5-dimetil tiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolium bromida] atau garam tetrazolium yang berwarna kuning dan akan dimetabolisme oleh enzim *suksinat dehydrogenase* pada mitokondria sel dan membentuk kristal *formazan* yang berwarna ungu (Freshney, 1992). MTT selanjutnya dilarutkan ke dalam *Phosphate Buffer Saline* (PBS), tingkatan warna yang terbentuk berbanding lurus dengan jumlah sel yang aktif dan melakukan metabolisme (Zakaria, 2011).

G. Docking Molekuler

Docking molekuler adalah metode secara komputasi yang digunakan untuk meniru peristiwa protein target dan interaksi ligan (Motiejunas dan Wade, 2006). Dalam penambatan molekul, ligan akan ditambatkan pada situs tambat atau situs aktif dari suatu protein yang tidak bergerak (statik), dengan menyertakan molekul ko-faktor dan H_2O di dalamnya atau tidak. Hasil data yang diperoleh adalah posisi dan orientasi ligan-ligan di dalam situs tambat atau situs aktif. Hasil akhir data dapat disimpulkan gugus-gugus fungsional pada ligan yang penting untuk interaksinya, dan tidak boleh dihilangkan serta gugus-gugus tersebut dapat ditingkatkan kekuatan interaksinya. Informasi yang diperoleh merupakan petunjuk untuk modifikasi ligan dan uji *In Vitro* untuk turunan-turunannya dan berlangsung

efisien. Interaksi protein dan ligan dapat terjadi apabila terdapat kecocokan (*fit*) volume dan bentuk di antara situsambat atau situs aktif protein dan molekul ligan tersebut (Motiejunas dan Wade, 2006). Selain itu, perbedaan posisi asam-asam amino pada gugus-gugus fungsional pada molekul ligan yang menjadi pasangannya pada situsambat atau situs aktif harus memadai (Schneider dan Baringhaus, 2008). Kecocokan di antara situsambat atau situs aktif protein dan molekul ligan begitu spesifik, dan diibaratkan seperti lubang kunci dengan anak kuncinya (*lock-and-key*) (Motiejunas dan Wade, 2006). Untuk mendapatkan kecocokan tersebut, situsambat atau situs aktif menginduksi perubahan pada konformasi ligan (Foloppe dan Chen, 2009; Motiejunas dan Wade, 2006). Ketika kecocokan tersebut tercapai maka konformasi oleh molekul ligan disebut konformasi bioaktif (Schneider dan Baringhaus, 2008). Pada rangkaian posisi penting yang terdapat di gugus fungsionalnya dari ligan pada konformasi bioaktif disebut farmakofor (Alvarez dan Shoichet, 2005).

H. Kerangka Konsep



Gambar 3. Skema Kerangka Konsep

I. Hipotesis

1. Fraksi n-heksan herba bandotan (*Ageratum conyzoides L.*) mengandung senyawa golongan flavonoid, alkaloid, tanin dan steroid.
2. Fraksi n-heksan herba bandotan (*Ageratum conyzoides L.*) memiliki efek antioksidan yang potensial.
3. Fraksi n-heksan herba bandotan (*Ageratum conyzoides L.*) memiliki efek sitotoksik yang potensial terhadap sel kanker payudara MCF-7.
4. Berdasarkan analisis *Docking* molekuler, senyawa ageratokromen pada herba bandotan (*Ageratum conyzoides L.*) memiliki afinitas yang tinggi untuk menghambat ekspresi protein HER-2.