

**METABOLITE PROFILING EKSTRAK DAUN BUNGA
MATAHARI (*Helianthus annuus* L.) DENGAN METODE UPLC-
MS/MS SERTA PENENTUAN MEKANISME MOLEKULER
PADA KANKER KOLON**

SKRIPSI

**oleh
M. RIF'AL MAULANA ILHAM
NIM. 210703110078**



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK
IBRAHIM
MALANG
2024**

***METABOLITE PROFILING* EKSTRAK DAUN BUNGA
MATAHARI (*Helianthus annuus* L.) DENGAN METODE UPLC-
MS/MS SERTA PENENTUAN MEKANISME MOLEKULER
PADA KANKER KOLON**

SKRIPSI

**oleh
M. RIF'AL MAULANA ILHAM
NIM. 210703110078**

**Diajukan Kepada:
Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan
Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam Memperoleh Gelar Sarjana
Farmasi (S.Farm)**

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK
IBRAHIM
MALANG
2024**

**METABOLITE PROFILING EKSTRAK DAUN BUNGA
MATAHARI (*Helianthus annuus* L.) DENGAN METODE UPLC-
MS/MS SERTA PENENTUAN MEKANISME MOLEKULER
PADA KANKER KOLON**

SKRIPSI

oleh
M. RIF'AL MAULANA ILHAM
NIM. 210703110078

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji:
Tanggal: 12 Desember 2024

Pembimbing 1



Prof. Dr. apt. Roihatul Muti'ah, SF., M. Kes.
NIP. 19800203 200912 2 003

Pembimbing 2



drg. Arief Suryadinata, Sp.Ort
NIP. 19850720 200912 1 003

Mengetahui,
Ketua Program Studi Farmasi



apt. Abdul Hakim, M.P.I., M.Farm
NIP. 19761214 200912 1002

**METABOLITE PROFILING EKSTRAK DAUN BUNGA
MATAHARI (*Helianthus annuus* L.) DENGAN METODE UPLC-
MS/MS SERTA PENENTUAN MEKANISME MOLEKULER
PADA KANKER KOLON**

SKRIPSI

oleh
M. RIF'AL MAULANA ILHAM
NIM. 210703110078

**Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi (S.Farm)
Tanggal: 12 Desember 2024**

Ketua Penguji : drg. Arief Suryadinata, Sp.Ort
NIP. 19850720 200912 1 003

Anggota Penguji : 1. Prof. Dr. apt. Roihatul Muti'ah, SF., M. Kes
NIP. 19800203 200912 2 003

2. Dr. apt. Burhan Ma'arif ZA., M.Farm.
NIP. 19900221 201801 1 001

3. Mellina Ratna Dianti, S.Kep., NS., M.Kep
NIP. 19820523 200912 2 001

(.....)

(.....)

(.....)

(.....)

(.....)

Mengetahui,

Ketua Program Studi Farmasi



apt. Abdul Hakim, M.P.I., M.Farm
NIP. 19761214 200912 1002

HALAMAN PERSEMBAHAN

Alhamdulillahirobbil'alamin. Puji syukur tidak henti-hentinya saya ucapkan kepada Allah SWT dan Rasulullah SAW atas kehadiran dan rahmatnya sehingga skripsi ini dapat terselesaikan. Dengan rasa hormat dan syukur yang teramat dalam, karya tulisan ini penulis persembahkan kepada :

1. Ayah dan Ibu tercinta, yang telah menemani serta memberikan motivasi juga doa yang teramat tulus sehingga saya dapat terus bertahan dan berjuang hingga memperoleh gelar sarjana ini. Sebesar apapun rasa kecewaku padamu, pada dasarnya sampai kapanpun aku tetap membutuhkanmu. Tunggu anakmu ini akan mengangkat derajatmu dan akan ku pastikan bahwa tidak akan ada seorangpun yang merendahkanmu, mungkin kata maaf dan ucapan terimakasih tidak dapat membayar semua lelah dan letih kalian saat membesarkan saya. Semoga sehat selalu malaikat tak bersayap.
2. Seluruh keluarga, yang turut memberikan dukungan dan segala bentuk motivasi serta doa yang teramat berarti untuk penulis.
3. Prof. Dr. Roihatul Muti'ah., M.Kes., dan drg. Arief Suryadinata., Sp. Ort, atas dukungannya berupa moril dan materiil serta bimbingannya sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.
4. Teman-teman farmasi angkatan 2021, yang turut membersamai penulis baik suka maupun duka, dari awal semester hingga sampai di titik ini. Semoga kita dipertemukan kembali dalam versi terbaik pada diri kita masing-masing. *See u on top Heteropeeps!*
5. Saudara-saudara seasuhan saya di Persaudaraan Setia Hati Winongo Tunas Muda, terutama kepada saudara tua dan saudara seasuhan di ranting Dau, yang telah memberikan ajaran keselamatan di dunia dan di akhirat. Serta saya ucapkan terimakasih banyak atas jasa kalian mendidik saya hingga saat ini.
6. Kepada seseorang yang tak kalah penting kehadirannya, Candra kusuma dewi. Terima kasih telah menjadi bagian dari perjalanan hidup saya. Berkontribusi banyak dalam penulisan karya tulis ini, baik tenaga, waktu, maupun materi kepada saya. Telah menjadi rumah pendamping dalam segala hal yang menemani, mendukung ataupun menghibur dalam kesedihan, mendengar keluh kesah, serta memberi semangat untuk pantang menyerah. Terima kasih telah menjadi bagian tak tergantikan dalam perjalanan ini. Skripsi ini adalah langkah kecil dari perjalanan besar, dan setiap halaman ini menyimpan jejak suka duka kita. Semoga keberhasilan ini menjadi awal dari mimpi-mimpi yang lebih besar untuk kita, dan semoga Allah SWT selalu memberi keberkahan dalam segala hal yang kita lalui.
7. M. Rif'al Maulana Ilham, ya! diri saya sendiri. Apresiasi sebesar-besarnya karena telah bertanggung jawab untuk menyelesaikan apa yang telah

dimulai. Terima kasih karena terus berusaha dan tidak menyerah, serta senantiasa menikmati setiap prosesnya yang terbilang tidak mudah.

Terima kasih kepada semua pihak yang telah memberi banyak bantuan berupa moril maupun materiil. semoga Allah SWT membalas segala kebaikan yang telah diberikan. *Aamiin*. Semoga Karya Tulis Ilmiah ini dapat menambahkan wawasan dan bermanfaat baik bagi penulis dan pembaca.

MOTTO

إِنَّ مَسَافَةَ النَّجَاحِ تَتَرَاوَحُ بَيْنَ الْجَبِينِ وَالسَّجَادَةِ

“Sesungguhnya jarak kesuksesan itu berkisar antara kening dan sajadah”

رِضَا اللَّهِ فِي رِضَا الْوَالِدَيْنِ

“Ridha Allah SWT ada pada ridha kedua orang tua”

لَا يُكَلِّفُ اللَّهُ نَفْسًا إِلَّا وُسْعَهَا

“Allah SWT tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya (Qs. Al-Baqarah: 286)”

“Kemuliaan seorang pemuda terletak pada cita-citanya”

- Prof. Dr. KH. Asep Syaifuddin Chalim M.A.

HET GEWOONTE IS DE TWEDE NATUUR

“Kebiasaan adalah takdir kedua, ketika kita membiasakan baik maka Allah SWT juga akan mentakdirkan baik”

- H.R. Djimat Hendro Soewarno

“Jadilah cahaya yang bisa memberi penerangan di sekitar tempat tinggal saudara”

- H.R. Agus Wiyono Santoso, S.Sos.

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : M. Rif'al Maulana Ilham
NIM : 210703110078
Program Studi : Farmasi
Fakultas : Kedokteran dan Ilmu Kesehatan
Judul Penelitian : *Metabolite Profiling* Ekstrak Daun Bunga Matahari
(*Helianthus annuus* L.) Dengan Metode UPLC-MS/MS
Serta Penentuan Mekanisme Molekuler Pada Kanker Kolon

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi 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 skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 12 Desember 2024
Yang membuat pernyataan,



M. Rif'al Maulana Ilham
NIM. 210703110078

KATA PENGANTAR

Assalamu 'alaikum Wr. Wb.

Syukur alhamdulillah, segala puji penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT atas limpahan rahmat, kasih sayang, dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul "**Metabolite Profiling Ekstrak Daun Bunga Matahari (*Helianthus annuus* L.) Dengan Metode UPLC-MS/MS Serta Penentuan Mekanisme Molekuler Pada Kanker Kolon**" dengan baik. Tak lupa, sholawat dan salam senantiasa tercurah kepada Nabi Muhammad SAW, Nabi junjungan kita yang telah membawa umat dari kegelapan menuju cahaya terang, yaitu Islam dan Iman.

Dalam kesempatan ini, dengan penuh kerendahan hati, penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada berbagai pihak yang telah memberikan dukungan, baik secara langsung maupun tidak langsung, dalam proses penyusunan skripsi ini. Atas segala bantuan, doa, dan semangat yang diberikan, penulis mengucapkan terima kasih yang tulus kepada semua pihak yang telah mendukung hingga skripsi ini dapat diselesaikan dengan baik. Ucapan terima kasih ini penulis sampaikan kepada:

1. Prof. Dr. M. Zainuddin, MA. selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah menyediakan fasilitas dan kesempatan untuk menempuh studi di UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Prof. Dr. dr. Yuyun Yueniwati P.W, M.Kes, Sp.Rad(K), selaku Dekan Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. apt. Abdul Hakim, M.P.I., M.Farm., selaku Ketua Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Prof. Dr. apt. Roihatul Mutiah, S.F., M.Kes. dan drg. Arief Suryadinata, Sp.Ort. selaku dosen pembimbing skripsi yang selalu memberikan bimbingan, ilmu, nasihat, dan waktu serta tenaga untuk membantu penulis sehingga naskah skripsi ini dapat ditulis sebagaimana mestinya.
5. Dr. apt. Burhan Ma'arif ZA., M.Farm. dan Meilina Ratna Dianti, S.Kep., NS., M.Kep selaku dosen penguji utama dan dosen penguji agama yang senantiasa memberikan masukan, saran, dan arahan sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.
6. apt. Fathia Faza Rahmadanita M.Farm.Klin. dan apt. Abdul Hakim, M.P.I., M.Farm., selaku dosen wali penulis yang senantiasa memberikan dorongan, arahan, dan bimbingan kepada penulis dari awal semester sampai penulis dapat menyelesaikan naskah skripsi ini.
7. Seluruh dosen pengajar di Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang

atas segala ilmu, nasehat, dan bimbingan selama penulis menempuh pendidikan di Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

8. Kedua orang tua penulis, yakni Ayah (Musleh S.E) dan Ibu (Yulya Agustina), serta seluruh keluarga penulis yang senantiasa mendoakan penulis dan sebagai sponsor utama saat menjalani perkuliahan serta telah memberikan dukungan dalam segala hal khususnya pada tahap penyelesaian skripsi ini.
9. Semua pihak yang ikut serta membantu dalam menyelesaikan skripsi ini baik berupa materiil maupun moril.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini masih terdapat kekurangan dan penulis berharap semoga skripsi ini bisa memberikan manfaat kepada para pembaca khususnya bagi penulis secara pribadi, *Amin Ya Rabbal Alamin*.

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Malang, Desember 2024

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	i
MOTTO	i
HALAMAN PERNYATAAN	i
KATA PENGANTAR.....	i
DAFTAR ISI.....	iii
DAFTAR GAMBAR.....	vii
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
DAFTAR LAMBANG DAN SINGKATAN	x
ABSTRAK	xii
ABSTRACT	xiii
مستخلص البحث	xiv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	8
1.3 Tujuan Penelitian.....	8
1.4 Manfaat Penelitian.....	9
1.5 Batasan Masalah.....	9
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	11
2.1 Pemanfaatan Tanaman Untuk Pengobatan Menurut Pandangan Islam	11
2.2 Etnomedisin.....	15
2.3 Bunga Matahari (<i>Helianthus annuus</i> L.).....	17
2.3.1 Klasifikasi	17
2.3.2 Deskripsi Tanaman.....	17
2.3.3 Kandungan Senyawa dan Manfaat.....	19
2.4 Metabolite Sekunder	21
2.4.1 Pengertian.....	21

2.4.2 Fungsi.....	25
2.4.3 Unsur-unsur Yang Berpengaruh	27
2.5 Ekstraksi	28
2.5.1 Definisi.....	28
2.5.2 Prinsip Ekstraksi	29
2.5.3 Faktor-Faktor Yang Memengaruhi Hasil Ekstraksi	31
2.6 Metode Ekstraksi Ultrasonic Assisted Extraction (UAE).....	32
2.7 Pelarut.....	36
2.8 Pemrofilan Metabolit	41
2.9 UPLC-MS/ MS	47
2.10 Prediksi Sifat Fisikokimia dan Toksisitas Senyawa	58
2.10.1 PubChem.....	58
2.10.2 Prediksi Sifat Fisikokimia Senyawa	59
2.10.3 <i>pkCSM</i>	60
2.10.4 Penilaian Toksisitas Senyawa	61
2.10.5 <i>Protox</i>	62
2.11 Uji Prediction of Activity Spectra for Substance (PASS).....	62
2.12 Network Farmakologi	64
2.12.1 Definisi.....	64
2.12.2 Perangkat Lunak dan Database Pendukung	66
2.13 Kanker Kolon.....	70
2.13.1 Definisi.....	70
2.13.2 Anatomi Usus.....	71
2.13.3 Epidemiologi	73
2.13.4 Etiologi.....	74
2.13.5 Patogenesis.....	75
2.13.6 Jenis Patologi dan Metastasis.....	76
2.13.7 Manifestasi Klinis	78
2.13.8 Tatalaksana Terapi	79
2.13.9 Pencegahan dan Prognosis	80
BAB III KERANGKA KONSEPTUAL.....	83
3.1 Alur Kerangka Konseptual.....	83

3.2 Uraian Kerangka Konseptual	84
3.3 Hipotesis.....	86
BAB IV METODE PENELITIAN	87
4.1 Kategori dan Rancangan Penelitian	87
4.2 Waktu dan Tempat	88
4.3 Populasi /Sampel.....	88
4.3.1 Sampel.....	88
4.4 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional	88
4.4.1 Variabel Penelitian	88
4.4.2 Definisi Operasional.....	89
4.5 Instrumen dan Bahan Penelitian.....	92
4.5.1 Instrumen	92
4.5.2 Bahan	93
4.6 Prosedur Penelitian.....	94
4.6.1 Skema Penelitian.....	94
4.6.2 Preparasi Sampel	95
4.6.3 Analisis Kadar Air.....	96
4.6.4 Ekstraksi.....	96
4.6.5 <i>Metabolite Profiling</i> menggunakan UPLC-MS/MS	97
4.6.6 Prediksi Parameter Fisikokimia dan Toksisitas Senyawa.....	98
4.6.7 Prediksi Bioktivitas Senyawa Menggunakan <i>PASS Server</i>	99
4.6.8 Network Farmakologi	99
4.6.9 Analisa Data	100
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN	101
5.1 Determinasi Tanaman <i>Helianthus annuus</i> L.....	101
5.2 Preparasi Simplisia Daun <i>Helianthus annuus</i> L.....	101
5.3 Analisis Kadar Air Serbuk Daun <i>Helianthus annuus</i> L.	103
5.4 Ekstraksi Daun <i>Helianthus annuus</i> L.....	105
5.5 <i>Metabolite Profiling</i> Menggunakan UPLC-QToF-MS/MS	109
5.6 Pengujian Karakteristik Fisikokimia Senyawa	121
5.7 Pengujian Toksisitas Senyawa	124
5.8 Prediksi Aktivitas Antikanker Melalui <i>PASS Online</i>	126

5.9 Network Farmakologi	132
5.9.1 Hasil Identifikasi Gen Target Senyawa dengan <i>GeneCards</i>	132
5.9.2 Hasil Identifikasi Gen Target Kanker Kolon dengan <i>DisGeNet</i>	134
5.9.3 Hasil Analisis Keterkaitan Gen Target Senyawa dan Gen Target	135
Penyakit dengan Diagram venn	135
5.9.5 Penyusunan Jejaring Interaksi Protein-Protein (<i>PPI Network</i>).....	141
5.9.6 Analisis <i>Gene Ontology</i> menggunakan <i>STRING</i>	144
5.9.7 Analisis Jalur Persinyalan Kanker Kolon dengan <i>KEGG pathway</i> ...	150
5.10 Integrasi Hasil Penelitian dalam Kerangka Perspektif Islam	157
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN.....	161
6.1 Kesimpulan	161
6.2 Saran.....	162
DAFTAR PUSTAKA	163
LAMPIRAN.....	177

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Bunga matahari (Ramadhan dkk, 2022).	19
Gambar 2.2 Koneksi antara jalur utama biosintesis metabolit sekunder dan metabolisme primer (Setyorini dan Yusnawan, 2016).....	24
Gambar 2.3 Mekanisme ekstraksi dengan ultrasonikasi (Nugroho, 2017).....	35
Gambar 2.4 Struktur kimia etanol (Wusnah dkk, 2020).....	40
Gambar 2.5 Prinsip ionisasi menggunakan metode ESI (Harmita dkk, 2019)....	55
Gambar 2.6 Diagram skema UPLC MS/MS QtoF (Harmita dkk, 2019)	57
Gambar 2.7 Anatomi, suplai darah, dan drainase kelenjar getah bening di usus besar (Liu, 2019)	71
Gambar 3.1 Alur kerangka konseptual.....	83
Gambar 4.1 Skema penelitian profil metabolit daun bunga matahari	94
Gambar 4.2 Skema penelitian network farmakologi	95
Gambar 5.1 Daun <i>Helianthus annuus</i> L.	102
Gambar 5.2 Prosedur pengeringan daun <i>Helianthus annuus</i> L.	103
Gambar 5.3 Produk pasta hasil ekstraksi daun <i>Helianthus annuus</i> L.	108
Gambar 5.4 Kromatogram sampel daun <i>Helianthus annuus</i> L.	113
Gambar 5.5 Diagram venn yang menunjukkan keterkaitan antara gen target tanaman dan gen target pada penyakit kanker kolon	135
Gambar 5.6 Visualisasi <i>network pharmacology</i> melalui <i>Cytoscape</i> . Keterangan: tanaman (hexagonal hijau), senyawa metabolit sekunder <i>Helianthus annuus</i> L. (simbol “V” biru), gen target (oval pink), dan penyakit (kotak ungu).....	137
Gambar 5.7 Jejaring interaksi protein-protein antar gen (30 <i>nodes</i> , 482 <i>edges</i> , <i>enrichment p-value</i> : < 1.0e-16)	142
Gambar 5.8 <i>Colorectal Cancer Pathway</i> (hsa01520)	151

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Jalur terbentuknya metabolit sekunder dan ragam senyawa yang dihasilkan	23
Tabel 2.2 Perbandingan metode analisis yang biasa digunakan dalam metabolomik	44
Tabel 2.3 Perbedaan uji HPLC dan UPLC	49
Tabel 4.1 Perbandingan pemanfaatan pelarut dalam metode eluasi gradien.....	97
Tabel 5.1 Hasil replikasi ukuran kadar air simplisia daun bunga matahari.....	105
Tabel 5.2 Rincian hasil ekstraksi daun bunga matahari	109
Tabel 5.3 Interpretasi hasil profil metabolit sekunder daun <i>Helianthus annuus</i> L.	115
Tabel 5.4 Hasil pengujian fisikokimia senyawa daun <i>Helianthus annuus</i> L.	122
Tabel 5.5 Hasil pengujian toksisitas daun <i>Helianthus annuus</i> L.	125
Tabel 5.6 Prediksi aktivitas antikanker senyawa dalam daun <i>Helianthus annuus</i> L. dengan <i>PASS online</i>	128
Tabel 5.7 Hasil identifikasi gen target senyawa dengan <i>GeneCards</i>	133
Tabel 5.8 Gen target <i>Helianthus annuus</i> L. yang beririsan dengan kanker kolon	135
Tabel 5.9 Analisis hasil pemetaan visual dengan <i>Cytoscape</i>	138
Tabel 5.10 Proses biologi gen target <i>Helianthus annuus</i> L. dan kanker kolon..	145
Tabel 5.11 Fungsi molekul gen target <i>Helianthus annuus</i> L. dan kanker kolon	147
Tabel 5.12 Komponen seluler gen target <i>Helianthus annuus</i> L. dan kanker kolon.....	148
Tabel 5.13 <i>KEEG Pathway</i> gen target <i>Helianthus annuus</i> L. dan kanker kolon	149

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil determinasi tumbuhan <i>Helianthus annuus</i> L.....	177
Lampiran 2. Sertifikat mutu pengujian sampel daun bunga matahari.....	178
Lampiran 3. Perhitungan rendemen ekstrak etanol 96% daun bunga matahari	179
Lampiran 4. Dokumentasi penelitian	180

DAFTAR LAMBANG DAN SINGKATAN

>	: Lebih dari
<	: Kurang dari
%	: Persen
Å	: Angstrom
BM	: Bobot Molekul
ErbB	: <i>Eritroblastik Onkogen B</i>
g	: gram
GLOBOCAN	: <i>Global Cancer Observatory</i>
HBA	: <i>Hydrogen Bond Acceptors</i>
HBD	: <i>Hydrogen Bond Donor</i>
IARC	: <i>International Agency for Research on Cancer</i>
KEGG	: <i>Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes</i>
KKR	: Kanker kolorektal
LD ₅₀	: <i>Lethal Dose-50</i>
MAPK	: <i>Mitogen-Activated Protein Kinase</i>
mg	: miligram
µl	: mikroliter
mTOR	: <i>Mammalian/Mechanistic Target of Rapamycin</i>
Pa	: <i>Probability Activity</i>
PASS	: <i>Prediction of Activity Spectra for Substances</i>
PI3K-Akt	: <i>Phosphatidylinositol 3-Kinase (PI3K)/Protein Kinase B(Akt)</i>
PkCSM	: <i>Predicting Small-Molecule Pharmacokinetic and Toxicity Properties Using Graph-Based Signatures</i>
PPI	: <i>Protein-Protein Interaction</i>
PSA	: <i>Polar Surface Area</i>
QToF	: <i>Quadrupole Time-of-Flight</i>
RISKESDAS	: Riset Kesehatan Dasar
SMILES	: <i>Simplified Molecular Input Line Entry System</i>
TNM	: Tumor Nodus Metastasis
UAE	: <i>Ultrasonic Assisted Extraction</i>

UPLCMS/MS : *Ultra Performance Liquid Chromatography-Mass Spectrometry/*
Mass Spectrometry

WHO : *World Health Organization*

Persamaan Van Deemter,

$$H = A + \frac{B}{v} \times Cv$$

Dimana H merujuk pada tinggi kolom/ HETP yang menunjukkan efisiensi suatu kolom. A, B, dan C adalah konstanta dan v sebagai flow rate yang menunjukkan kecepatan linier dari gas pembawa. Nilai A menunjukkan difusi pusaran, Nilai B menunjukkan difusi aksial yang berbanding terbalik dengan nilai flow rate (v). Sedangkan nilai C menunjukkan resistensi kinetik yang dibutuhkan guna keseimbangan saat proses pemisahan berlangsung.

Rumus perhitungan % Rendemen,

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{Bobot ekstrak}}{\text{Bobot sampel}} \times 100\%$$

Dimana % rendemen yang dimaksud dalam persamaan ini adalah suatu besaran yang menunjukkan rasio dari bobot ekstrak yang dihasilkan dengan bobot bahan awal. Persen rendemen menunjukkan keberhasilan dari ekstraksi yang dilakukan dimana semakin tinggi persen rendemen, maka semakin banyak zat atau senyawa yang terpisahkan dari bahan. Persen rendemen diperoleh dengan membandingkan berat dari ekstrak dengan berat awal bahan, karena ditunjukkan dengan satuan persen maka hasil perbandingan dikalikan dengan 100%

ABSTRAK

Ilham, M. R. M. 2024. *Metabolite Profiling* Ekstrak Daun Bunga Matahari (*Helianthus annuus* L.) Dengan Metode UPLCMS/MS Serta Penentuan Mekanisme Molekuler Pada Kanker Kolon. Skripsi. Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing I: Prof. Dr. apt. Roihatul Muti'ah, S.F., M.Kes; Pembimbing II: drg. Arief Suryadinata, Sp., Ort.

Kanker kolon merupakan jenis kanker yang muncul dari jaringan usus besar, mencakup kolon dan/atau rektum yang menjadi penyebab kematian akibat kanker terbanyak kedua di dunia, dengan tatalaksana yang dinilai kurang efektif dan menimbulkan efek samping merugikan. Pengobatan herbal menjadi alternatif untuk meningkatkan kualitas hidup dan mengurangi efek samping kemoterapi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui profil metabolit, toksisitas, gen target, dan jalur persinyalan dari ekstrak daun bunga matahari (*Helianthus annuus* L.) terhadap kanker kolon. Daun bunga matahari diekstraksi menggunakan etanol 96% dengan metode UAE, dilanjutkan penguapan pelarut untuk mendapatkan ekstrak pekat. Sebanyak 10 mg ekstrak pekat dilarutkan dalam 10 ml metanol, diinjeksikan 5 µl ke dalam UPLC-QToF-MS/MS, dan dianalisis menggunakan software *Masslynx 4.1* dan *Pubchem*. Sebanyak 19 senyawa dari ekstrak daun bunga matahari dianalisis sifat fisikokimianya berdasarkan hukum lima lipinski melalui *pkCSM*, toksisitas melalui *Protox*, dan bioaktivitas melalui *PASS*. Dari hasil ini, 10 senyawa memenuhi kriteria untuk pendekatan network farmakologi. Pendekatan ini menggunakan *Cytoscape 3.9.1*, *GeneCards*, *Disgenet*, *STRING*, dan *KEGG pathway*. Analisis menghasilkan 40 gen target potensial yang tumpang tindih antara gen target senyawa dan gen target kanker kolon, dengan enam jalur potensial yakni *ErbB signaling pathway*, *mTOR signaling pathway*, *p53 signaling pathway*, *MAPK signaling pathway*, *PI3K-Akt signaling pathway*, dan *apoptosis*. Jalur ini melibatkan 9 gen target potensial, yaitu AKT1, MAPK1, EGFR, PIK3CA, BCL2, CASP3, MTOR, MAPK3, dan BAX. Penelitian ini menunjukkan potensi ekstrak daun bunga matahari sebagai kandidat antikanker kolon dengan mekanisme kerja pada jalur-jalur persinyalan yang sesuai.

Kata Kunci: Ekstrak daun bunga matahari (*Helianthus annuus* L.), kanker kolon, profil metabolit, network farmakologi, jalur persinyalan

ABSTRACT

Ilham, M. R. M. 2024. Metabolite Profiling of Sunflower Leaf Extract (*Helianthus annuus* L.) Using UPLC-MS/MS Method and Determination of Molecular Mechanism in Colon Cancer. Thesis. Department of Pharmacy, Faculty of Medicine and Health Sciences, Maulana Malik Ibrahim State Islamic University of Malang. Supervisor I: Prof. Dr. apt. Roihatul Muti'ah, S.F., M.Kes; Supervisor II: drg. Arief Suryadinata, Sp.Ort.

Colon cancer is a type of cancer originating from the large intestine tissue, encompassing the colon and/or rectum, and is the second leading cause of cancer-related deaths worldwide. Its management is considered less effective and often causes detrimental side effects. Herbal medicine serves as an alternative to improve quality of life and reduce chemotherapy side effects. This study aims to determine the metabolite profile, toxicity, target genes, and signaling pathways of sunflower leaf extract (*Helianthus annuus* L.) against colon cancer. Sunflower leaves were extracted using 96% ethanol with the UAE method, followed by solvent evaporation to obtain a concentrated extract. A total of 10 mg of concentrated extract was dissolved in 10 ml of methanol, injected with 5 μ l into UPLC-QToF-MS/MS, and analyzed using Masslynx 4.1 and Pubchem software. A total of 19 compounds from the sunflower leaf extract were analyzed for their physicochemical properties based on Lipinski's rule of five using pkCSM, toxicity through Protox, and bioactivity through PASS. From these results, 10 compounds met the criteria for the pharmacological network approach. This approach utilized Cytoscape 3.9.1, GeneCards, Disgenet, STRING, and KEGG pathway. The analysis identified 40 potential target genes overlapping between compound target genes and colon cancer target genes, with six potential pathways, namely ErbB signaling pathway, mTOR signaling pathway, p53 signaling pathway, MAPK signaling pathway, PI3K-Akt signaling pathway, and apoptosis. These pathways involve nine potential target genes: AKT1, MAPK1, EGFR, PIK3CA, BCL2, CASP3, MTOR, MAPK3, and BAX. This study highlights the potential of sunflower leaf extract as a candidate for colon cancer treatment by targeting appropriate signaling pathways.

Keywords: Sunflower leaf extract (*Helianthus annuus* L.), colon cancer, metabolite profile, network pharmacology, signaling pathways.

مستخلص البحث

إلهام، م. ر. م. ٢٠٢٤. تحليل المستقلبات لاستخلاص أوراق زهرة عباد الشمس (*Helianthus annuus L.*) باستخدام طريقة UPLCMS/MS وتحديد الآليات الجزيئية في سرطان القولون. أطروحة. برنامج دراسة الصيدلة، كلية الطب والعلوم الصحية، جامعة إسلام نيجيري مولانا مالك إبراهيم مالانج. المشرف الأول: الأستاذة الدكتورة الصيدلانية روحية المطيعة، صيدلانية، ماجستير في العلوم الصحية. المشرف الثاني: الدكتور طبيب الأسنان عريف سوريا ديناتا، اختصاصي تقويم الأسنان.

سرطان القولون هو نوع من السرطان الذي ينشأ من أنسجة الأمعاء الغليظة، بما في ذلك القولون و/أو المستقيم، ويُعدّ السبب الثاني الأكثر شيوعاً للوفاة بسبب السرطان في العالم. ومع ذلك، تُعتبر الطرق العلاجية الحالية غير فعّالة وتسبب آثاراً جانبية ضارة. يُعتبر العلاج بالأعشاب بديلاً لتحسين جودة الحياة وتقليل الآثار الجانبية للعلاج الكيميائي. تهدف هذه الدراسة إلى تحديد خصائص المستقلبات، السمية، الأهداف الجينية، ومسارات الإشارة لاستخراج أوراق زهرة عباد الشمس (*Helianthus annuus L.*) ضد سرطان القولون. تم استخراج أوراق عباد الشمس باستخدام الإيثانول بتركيز 96% باستخدام طريقة الاستخلاص بالموجات فوق الصوتية (UAE)، ثم تم تبخير المذيب للحصول على مستخلص مركز. تم إذابة 10 ملغ من المستخلص المركز في 10 مل من الميثانول، وحقن 5 ميكرو لتر منه في جهاز UPLC-QToF-MS/MS، وتم تحليلها باستخدام برنامج Masslynx 4.1 و Pubchem. تم تحليل 19 مركباً من مستخلص أوراق عباد الشمس من حيث الخصائص الفيزيائية والكيميائية وفقاً لقاعدة ليبينسكي الخامسة باستخدام *pkCSM*، السمية باستخدام *Protox*، والنشاط الحيوي باستخدام *PASS*. أظهرت النتائج أن 10 مركبات تستوفي المعايير للتحليل باستخدام منهجية شبكة الفارماكولوجيا. استخدمت المنهجية برامج مثل *Cytoscape 3.9.1*، *GeneCards*، *Disgenet*، *STRING*، و *KEGG pathway* وأظهرت التحليلات 40 جيناً هدفاً محتملاً تتداخل بين أهداف المركبات وأهداف سرطان القولون، مع ستة مسارات رئيسية وهي: مسار إشارات *ErbB*، مسار إشارات *mTOR*، مسار إشارات *p53*، مسار إشارات *MAPK*، مسار إشارات *PI3K*، *Akt*، والابوتوزيس. وتشمل المسارات 9 جينات مستهدفة رئيسية *AKT1*، *MAPK1*، *MAPK3*، *MTOR*، *CASP3*، *BCL2*، *PIK3CA*، *EGFR*، و *BAX*. تُظهر هذه الدراسة أن مستخلص أوراق عباد الشمس لديه إمكانات كمرشح لعلاج سرطان القولون بآليات فعّالة تعمل على مسارات الإشارات المحددة.

الكلمات المفتاحية: مستخلص أوراق زهرة عباد الشمس (*Helianthus annuus L.*)، سرطان القولون، تحليل المستقلبات، الشبكة الصيدلانية، مسارات الإشارة.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kanker merupakan suatu penyakit tidak menular yang masih menjadi perhatian serius bagi para profesional kesehatan di Indonesia dan di seluruh dunia. Menurut data yang dirilis oleh Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) pada tahun 2020, tercatat sekitar 19,3 juta kasus kanker di seluruh dunia, dengan angka kematian mencapai sekitar 10 juta jiwa. *International Agency for Research on Cancer* (IARC) memproyeksikan bahwa jumlah kasus kanker akan terus meningkat hingga mencapai 30,2 juta pada tahun 2040 (Haryati dkk, 2023). Berdasarkan data dari *Global Cancer Observatory* pada tahun 2018, Indonesia berada di peringkat kedelapan di Asia Tenggara dan peringkat kedua puluh tiga di Asia terkait jumlah kasus kanker. Selain itu, menurut Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) tahun 2018, angka kejadian kanker di Indonesia telah meningkat dari 1,4 kejadian per 1.000 orang pada tahun 2003 menjadi 1,79 kejadian per 1.000 orang pada tahun 2018 (Rosita dkk, 2021).

Kanker kolon adalah jenis kanker yang muncul dari jaringan usus besar, mencakup kolon dan/atau rektum, yang sering disebut sebagai kanker kolorektal (KKR). KKR telah menjadi jenis kanker yang lazim di negara-negara Barat (Puspitasari dan Waluyo, 2021). Menurut data *World Health Organization* (WHO), kanker usus besar merupakan penyebab kematian akibat kanker terbanyak kedua di seluruh dunia. Diperkirakan terdapat lebih dari 1,9 juta kasus baru kanker kolorektal dan lebih dari 930.000 kematian akibat kanker kolorektal di seluruh dunia pada tahun 2020 (WHO, 2023). Menurut

data dari *American Cancer Society*, KKR menempati peringkat ketiga sebagai penyebab kematian terbanyak baik pada pria maupun wanita di Amerika Serikat. Di Indonesia, pada tahun 2018, kanker kolorektal menempati peringkat keempat dengan jumlah kasus sebanyak 30.017, yang menyumbang 8,6% dari keseluruhan kasus kanker di Indonesia (Padang dan Rotty, 2020).

Pengobatan kanker kolon bergantung pada stadium penyakitnya yang dapat diklasifikasikan melalui sistem Tumor Nodus Metastasis (TNM). Terapi untuk kanker kolon meliputi berbagai metode seperti pembedahan, radioterapi, imunoterapi, terapi target biologis, ablasi radiofrekuensi, dan kemoterapi (Hunafa dkk, 2023). Namun, sebagian besar obat antikanker saat ini tidak dapat secara spesifik mengidentifikasi sel-sel neoplastik, melainkan memengaruhi pertumbuhan sel secara umum, termasuk sel normal dan abnormal. Oleh karena itu, hampir semua obat kemoterapi memiliki efek samping toksik. Salah satu efek samping yang umum adalah toksisitas hematologi, seperti trombositopenia, yang dapat terjadi akibat pemberian obat kemoterapi (Yusmaidi dkk, 2020). Karena itu, mengembangkan ilmu pengetahuan guna mencari pilihan terapi yang lebih aman dengan risiko efek samping yang rendah sangatlah penting.

Allah SWT menciptakan berbagai penyakit dalam tubuh manusia, namun juga memberikan penawar atau obat untuk mengatasi penyakit tersebut. Perkara ini sesuai dengan perkataan Rasulullah SAW yang disampaikan oleh Abu Dawud R.A, yang berbunyi:

إِنَّ اللَّهَ تَعَالَى أَنْزَلَ الدَّاءَ وَالِدَوَاءَ وَجَعَلَ لِكُلِّ دَاءٍ دَوَاءً فَتَدَاوُوا وَلَا تَدَاوُوا بِالْحَرَامِ

Artinya: “Allah telah menciptakan penyakit dan juga obat, serta menyediakan penawar untuk setiap jenis penyakit. Oleh karena itu, berobatlah dengan cara

yang benar dan hindarilah penggunaan benda-benda yang haram dalam proses penyembuhan.” (HR. Abu Dawud).

Berdasarkan hadis tersebut, kita memahami bahwa setiap penyakit yang menimpa manusia, kesembuhannya bergantung pada izin Allah SWT. Allah SWT telah menganugerahkan manusia kecerdasan untuk mengembangkan obat-obatan sebagai bentuk pengobatan. Sebagai umat muslim, sangat penting bagi kita untuk memahami dan mempelajari Al-Qur'an sebagai panduan hidup dan sumber pengetahuan. Terutama bagi tenaga kesehatan, yang seharusnya lebih mendalami pengetahuan yang terdapat dalam Al-Qur'an, karena semua ilmu, termasuk ilmu kedokteran, berasal dari Al-Qur'an dan Hadis (Budiyanto dan Akbar, 2020). Sebagai seorang yang terlibat dalam bidang pengobatan, apoteker memiliki tanggung jawab dalam pengembangan dan penemuan obat baru, mengingat perkembangan penyakit seiring dengan waktu. Selain itu, Allah juga memberi petunjuk pada manusia untuk mengambil manfaat dari bumi ini yang kaya akan berbagai bahan alami yang bisa kita manfaatkan sehari-hari. Perkara ini sesuai dengan firman Allah yang terdapat pada Surah Asy-Syu'ara ayat 7:

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿٧﴾

Artinya: “*Tidakkah mereka memperhatikan bumi dan berapa banyak tumbuhan yang baik yang telah Kami tumbuhkan di bumi ini?*” (Q.S. Asy-Syu'ara [26] : 7)

Ayat diatas menerangkan bahwasanya Allah SWT menumbuhkan beraneka ragam tanaman bukan tanpa alasan, namun agar bisa diambil kebermanfaatannya oleh manusia untuk melangsungkan kehidupan salah satunya kebermanfaatan dalam penggunaannya sebagai bahan dasar

pengobatan alternatif. Ayat tersebut menegaskan adanya potensi aktivitas senyawa tumbuhan yang bisa digunakan untuk pengobatan terhadap berbagai jenis penyakit. Oleh karena itu, salah satu upaya manusia untuk menyikapi hal tersebut adalah dengan melakukan analisis mendalam terkait kebermanfaatan dan potensi di muka bumi ini yang mencakup bahan alam khususnya tumbuh-tumbuhan agar bisa dimanfaatkan semaksimal mungkin untuk kelangsungan hidup manusia.

Adapun contoh dari jenis tumbuh-tumbuhan yang berpotensi bermanfaat untuk obat herbal adalah bunga matahari. Tanaman bunga matahari, yang berasal dari Amerika, memiliki nama ilmiah *Helianthus annuus* L. dan termasuk dalam keluarga Asteraceae. Tinggi tanaman ini dapat mencapai 1-3 meter tergantung pada spesies dan genusnya (Ulfa dkk, 2021). Beberapa bagian dari tanaman ini telah terbukti memiliki manfaat sebagai obat herbal, salah satunya adalah daunnya. Kandungan obat atau zat yang diperlukan dalam pengobatan lebih banyak terdapat dalam daun, yang juga memiliki struktur lembut sehingga lebih mudah diolah dibandingkan dengan bagian tumbuhan lainnya. Selain itu, daun tersedia secara terus-menerus dan sering digunakan oleh masyarakat dalam praktik pengobatan tradisional yang diwariskan secara turun-temurun. Hal ini juga didukung oleh analisis yang dilakukan oleh Fauziyah dkk (2021), yang menunjukkan bahwa prevalensi penggunaan daun tanaman sebagai bahan obat tradisional mencapai 67,5%. Angka ini cukup signifikan jika dibandingkan dengan pemanfaatan bagian tanaman lainnya, seperti buah (15,5%), rimpang (11,4%), umbi (4,5%), dan batang (3,2%) dalam pengobatan tradisional.

Daun tanaman bunga matahari mengandung senyawa-senyawa seperti alkaloid, flavonoid, dan fenol (Hakim dkk, 2018), yang dikenal memiliki aktivitas antioksidan, antiinflamasi, antipiretik, dan antimikroba, serta dapat menghambat pertumbuhan dan membunuh sel kanker (Nuraini dkk, 2015). Seperti yang dilaporkan pada penelitian Hafidloh (2014) yang membuktikan bahwa ekstrak diklorometana dan methanol daun bunga matahari mengandung senyawa sesquiterpenoid, triterpenoid dan steroid melalui uji reagen dan uji KLT yang telah divalidasi memiliki aktivitas sebagai antikanker. Selain itu, pada penelitian Amrulloh (2018) membuktikan ekstrak etanol 96% daun bunga matahari mengandung senyawa terpenoid setelah dilakukan uji KLT. Serta pada penelitian Maslakhah (2018) melaporkan bahwa ekstrak etanol 96% daun bunga matahari terbukti mengandung senyawa sesquiterpenoid setelah dilakukan analisis profil metabolit menggunakan UPLCMS/MS. Kandungan sesquiterpenoid pada daun bunga matahari (*Helianthus annuus* L.) juga telah diuji oleh Muti'ah dkk (2013), bahwa senyawa ini memiliki aktivitas sebagai antimalaria. Diduga senyawa sesquiterpenoid yang terdapat dalam daun bunga matahari memiliki potensi sitotoksik dan antitumor (Laurella *et al*, 2022).

Pemanfaatan tanaman obat herbal digunakan karena mengandung senyawa kimia yang memiliki efek farmakologis spesifik, yang umumnya dihasilkan sebagai metabolit sekunder tanaman (Hakim dkk, 2018). Hingga saat ini, penelitian yang telah dilakukan sering menggunakan teknik skrining fitokimia, namun hasilnya cenderung bersifat kualitatif, hanya mengidentifikasi golongan senyawa tanpa mengetahui kadar dan spesifisitasnya. Kurangnya penelitian lanjutan juga menjadi faktor yang

membatasi pemanfaatan optimal daun bunga matahari di bidang kesehatan. Aktivitas biologis suatu tanaman tidak hanya disebabkan oleh satu komponen, melainkan dapat berasal dari beberapa senyawa yang bekerja secara sinergis. Komposisi serta jumlah senyawa aktif, khususnya metabolit sekunder, dalam suatu tanaman akan mempengaruhi kualitas dan khasiat yang dimiliki oleh tanaman tersebut (Rafi dkk, 2018).

Untuk mengidentifikasi jumlah dan jenis senyawa kimia serta profil metabolit sekunder dalam suatu tanaman, analisis profil metabolit dapat dilakukan. Penggunaan profil metabolit ini dapat memberikan pemahaman yang komprehensif mengenai fungsi gen dan proses regulasi yang kompleks. Selain itu, profil metabolit juga dapat langsung memengaruhi fenotipe tanaman dan mengungkap kandungan kimianya secara rinci (Hakim dkk, 2018).

Salah satu metode analisis yang bisa dimanfaatkan adalah analisis profil metabolit menggunakan instrumen *Ultra Performance Liquid Chromatography-Mass Spectrophotometer* (UPLC-MS). UPLC-MS adalah perkembangan dari metode LC-MS yang memungkinkan untuk memeriksa profil metabolit dari suatu sampel. Penggunaan UPLC meningkatkan sensitivitas, selektivitas, dan resolusi pemisahan senyawa, serta mempersingkat durasi analisis dengan menggunakan *flowrate* yang tinggi. Selain itu, teknik ini dapat memisahkan senyawa yang lebih kecil dan mengurangi jumlah sampel yang diperlukan. Kemampuan *double MS* dalam memberikan pengukuran massa monoisotop yang lebih akurat dan spektra dengan resolusi tinggi memungkinkan konfirmasi senyawa target maupun

senyawa tidak diketahui, serta memberikan hasil yang lebih cepat tanpa mengorbankan resolusi massa (Ma'arif dkk, 2019).

Senyawa-senyawa hasil analisis *metabolite profiling* tersebut selanjutnya dilakukan penentuan mekanisme molekulernya dengan network farmakologi menggunakan *software* dan *database* pendukung, seperti *Cytoscape* untuk visualisasi jaringan, *GeneCards* untuk mengetahui gen target senyawa, *DisGeNet* untuk mengetahui gen target penyakit, *STRING* untuk mengetahui interaksi antar protein, serta *KEGG Pathway* dan *Gene Ontology* yang berfungsi untuk mengetahui jalur persinyalan yang sesuai dengan penyakit. Tujuan network farmakologi adalah untuk memberikan gambaran mekanisme, efek farmakologi, dan visualisasi jalur molekuler antara obat dan target secara efisien. Dengan demikian, dapat diketahui mekanisme hubungan antara penyakit, protein target, dan senyawa kimia dalam tanaman (Liu *et al*, 2018; Liang *et al*, 2020).

Berdasarkan penjelasan latar belakang yang disebutkan, penelitian yang akan dilakukan adalah "*Metabolite Profiling* Ekstrak Daun Bunga Matahari (*Helianthus annuus* L.) dengan Metode UPLC-MS/MS serta Penentuan Mekanisme Molekuler Pada Kanker Kolon". Alasan pemilihan daun sebagai organ yang akan diteliti adalah karena telah diketahui bahwa daun bunga matahari mengandung senyawa yang diduga memiliki aktivitas antikanker. Penelitian mengenai aktivitas antikanker dari tanaman bunga matahari masih terbatas, sehingga pemanfaatan potensial dari beberapa bagian tanaman ini belum maksimal. Oleh karena itu, penelitian ini dianggap penting dilakukan dan menjadi peluang besar bagi peneliti, dengan harapan hasilnya

dapat menjadi dasar untuk penelitian lebih lanjut dan aplikasi praktis dalam meningkatkan pemanfaatan daun bunga matahari sebagai bahan dasar obat tradisional yang telah teruji secara ilmiah.

1.2 Rumusan Masalah

Berikut rumusan masalah dalam penelitian ini:

1. Bagaimana profil metabolit pada ekstrak daun bunga matahari (*Helianthus annuus* L.) dengan menggunakan UPLCMS/MS?
2. Apakah senyawa metabolit dari ekstrak daun bunga matahari (*Helianthus annuus* L.) memenuhi uji *Prediction of Activity Spectra for Substances* (PASS) terhadap kanker kolon berdasarkan nilai *Probable activity* (Pa)?
3. Apa saja gen target dari senyawa metabolit ekstrak daun bunga matahari (*Helianthus annuus* L.) yang berhubungan dengan penyakit kanker kolon?
4. Apa saja jalur persinyalan (*pathway*) dari senyawa metabolit ekstrak daun bunga matahari (*Helianthus annuus* L.) yang berhubungan dengan penyakit kanker kolon?

1.3 Tujuan Penelitian

Berikut tujuan yang ingin didapatkan dalam penelitian ini:

1. Mengetahui profil metabolit ekstrak daun bunga matahari (*Helianthus annuus* L.) dengan menggunakan UPLCMS/MS.
2. Mengetahui apakah senyawa metabolit dari ekstrak daun bunga matahari (*Helianthus annuus* L.) memenuhi uji *Prediction of Activity Spectra for Substances* (PASS) terhadap kanker kolon berdasarkan nilai *Probable activity* (Pa).

3. Mengetahui gen target apa saja yang berhubungan dengan penyakit kanker kolon.
4. Mengetahui jalur persinyalan (*pathway*) dari senyawa metabolit ekstrak daun bunga matahari yang berhubungan dengan penyakit kanker kolon.

1.4 Manfaat Penelitian

Berikut manfaat yang ingin didapatkan dalam penelitian ini:

1. Memperoleh validasi data terkait adanya kandungan dan struktur kimia metabolit sekunder serta khasiat yang terkandung didalam ekstrak daun bunga matahari sehingga bisa dimanfaatkan untuk studi lebih lanjut.
2. Mengembangkan potensi kebermanfaatan daun bunga matahari sebagai obat tradisional yang mengandung berbagai macam senyawa bioaktif.
3. Meningkatkan sumber daya dan kekayaan intelektual untuk para akademisi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

1.5 Batasan Masalah

1. Ekstrak daun bunga matahari (*Helianthus annuus* L.) sebagai sampel yang digunakan dalam penelitian ini.
2. Metode ultrasonik digunakan untuk perlakuan proses ekstraksi sampel dengan pelarut etanol 96%.
3. Analisis profil metabolit ekstrak daun bunga matahari (*Helianthus annuus* L.) menggunakan UPLC-MS/MS.
4. Senyawa yang dilakukan pendekatan network farmakologi adalah senyawa metabolit ekstrak daun bunga matahari (*Helianthus annuus* L.) yang memenuhi hukum lima lipinski, uji toksisitas, dan uji PASS.
5. Penyakit yang menjadi tujuan penelitian adalah kanker kolon secara umum.

6. Aktivitas antikanker yang dimaksud meliputi *antineoplastic*, *chemopreventif*, apoptosis agonis, dan *antineoplastic (colon cancer)*.
7. Software yang digunakan dalam pendekatan network farmakologi adalah *Cytoscape*.
8. Database yang digunakan dalam penelitian ini antara lain *Pubchem*, *PASS Server*, *pkCSM*, *Protox Online Tools*, *GeneCards*, *DisGeNet*, *STRING*, *KEGG Pathway*, dan *Gene Ontology*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pemanfaatan Tanaman Untuk Pengobatan Menurut Pandangan Islam

Pada hakikatnya, alam semesta ini adalah suatu sistem yang beroperasi berdasarkan Ketetapan-ketetapan yang telah diatur oleh Tuhan Yang Maha Kuasa. Manusia, atas perintah-Nya, diberikan tantangan untuk mengeksplorasi, mengidentifikasi, dan memahami berbagai hukum alam yang telah diberikan, dengan tujuan agar bisa diambil manfaatnya secara positif. Oleh sebab itu, bumi yang diciptakan oleh Allah SWT bukanlah suatu entitas yang sudah lengkap dan siap digunakan, melainkan manusia sebagai utusan-Nya memiliki tanggung jawab untuk mempelajari, mengembangkan, dan merawat alam semesta agar menjadi lebih baik. Manusia merupakan ciptaan yang ditunjuk oleh Allah untuk menjalankan peran sebagai khalifah di dunia, yang bertugas untuk menjaga dan merawat kelestarian alam semesta (Rizal, 2020).

Dalam beberapa ayat, Al-Qur'an menyarankan manusia agar menjelajahi dunia ini, mengamati dan merenungkan tanda-tanda keagungan Allah yang terlihat di sekeliling kita. Al-Qur'an mengajak manusia agar mengenali dan memikirkan lingkungan sekitar serta makhluk-makhluk yang hidup di dalamnya. Hal ini dengan jelas menunjukkan bahwa Al-Qur'an mengajak manusia agar belajar, baik melalui observasi langsung dalam kehidupan setiap hari maupun lewat peristiwa yang terjadi di alam (Rizal, 2020).

Berbagai jenis dan bentuk tumbuhan di dunia ini diciptakan oleh Allah SWT. Seperti yang disebutkan dalam Al-Qur'an surat Al-An'am ayat 99:

وَهُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ فَأَخْرَجْنَا مِنْهُ خَضِرًا نُخْرِجُ مِنْهُ حَبًّا مُتَرَاكِبًا وَمِنَ النَّخْلِ مِنَ النَّخْلِ مِنْ طَلْعِهَا قِنْوَانٌ دَانِيَةٌ وَجَنَّاتٍ مِنْ أَعْنَابٍ وَالزَّيْتُونَ وَالرُّمَّانَ مُشْتَبِهًا وَغَيْرَ مُتَشَابِهٍ ۚ انظُرُوا إِلَى ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَيَنْعِهِ ۚ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَاتٍ لِقَوْمٍ يُؤْمِنُونَ ﴿٩٩﴾

Artinya: “Dan Dia adalah yang menurunkan hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan segala macam tumbuhan dengan air itu, dan Kami hasilkan dari tumbuhan itu tanaman yang hijau. Kami hasilkan dari tanaman hijau itu butiran yang banyak; dan dari pohon kurma mengurai tangkai-tangkai yang menjulang, serta kebun anggur, zaitun, dan delima yang berbeda-beda. Perhatikanlah buahnya saat pohonnya berbuah dan kematangannya. Sungguh, dalam hal ini terdapat tanda-tanda kekuasaan Allah bagi orang-orang yang beriman” (Q.S. Al-An'am [6] : 99)

Berdasarkan ayat diatas, Allah SWT memperlihatkan keagungan dan kekuasaan-Nya melalui ilmu-Nya, hikmah-Nya, kasih sayang-Nya, dan belas kasihan-Nya terhadap makhluk-Nya, sebagai bukti bagi manusia agar berada di jalan kebenaran. Keberadaan tumbuhan sebagai sumber makanan manusia adalah tanda-tanda kehadiran-Nya yang mengatur alam dengan begitu teratur dan rapi. Setiap kejadian pada flora di dunia ini memiliki peran yang telah ditentukan sesuai dengan ciptaan Allah SWT. Setiap tanaman diciptakan dengan keunikan dan manfaatnya sendiri bagi umat manusia. Tanpa tumbuhan, kehidupan di bumi tidak akan dapat berlangsung. Manusia sangat bergantung pada tumbuhan untuk memenuhi kebutuhan dasarnya seperti makanan, pakaian, tempat tinggal, dan obat-obatan. Dengan peningkatan populasi dunia, pendapatan, dan perkembangan kota, kebutuhan akan tumbuhan semakin

meningkat. Kehadiran tumbuhan di muka bumi menjadi salah satu tanda kekuasaan Allah SWT yang harus dipelajari dan diambil pelajaran darinya (Zaini dan Mohd, 2022).

Al-Qur'an mengidentifikasi beberapa jenis tanaman, termasuk yang dapat dikonsumsi dan yang memiliki potensi sebagai bahan dasar obat. Tanaman memiliki potensi sebagai sumber bahan obat, baik dari akarnya, batang, kulit, daun, hingga bunganya, yang dieksploitasi untuk kesejahteraan makhluk hidup di bumi ini. Contoh yang baik adalah jahe yang sering digunakan untuk mengatasi batuk, delima yang berguna dalam mengobati radang usus, serta pisang yang dimanfaatkan untuk mengatasi diare, bersama dengan berbagai tanaman lainnya. Kreativitas para ahli kesehatan, terutama ahli biofarmasi, teknologi farmasi, dan farmakognosi, terpicu untuk mengembangkan formulasi dari sampel tanaman untuk studi lebih lanjut mengenai senyawa-senyawa yang memiliki potensi dalam bidang pengobatan. Mereka dituntun untuk melakukan penelitian mendalam terhadap khasiat pengobatan dari senyawa bioaktif dalam berbagai tanaman yang memiliki potensi sebagai alternatif pengobatan (Faradisa dan Fakhruddin, 2021).

Peran tumbuhan bagi bumi ini sangat penting. Manusia sangat membutuhkan tumbuhan, baik untuk kebutuhan makanan dan minuman sehari-hari maupun sebagai bahan obat tradisional. Data dari penelitian WHO pada tahun 2003 menunjukkan bahwa sebanyak 74% tumbuhan digunakan untuk obat-obatan, 18% dari jamur, 5% dari bakteri, dan 3% dari vertebrata. Tumbuhan juga merupakan sumber sayuran, buah, dan biji yang memiliki manfaat kesehatan yang besar dalam pengobatan alternatif (Faradisa dan

Fakhruddin, 2021). Penggunaan obat tradisional masih diwariskan secara turun-temurun dan dipercaya di Indonesia (Rizal, 2020).

Al-Qur'an adalah sumber referensi terbaik yang menekankan pentingnya tanaman sebagai obat untuk berbagai penyakit yang disebutkan dalam berbagai surah. Islam mengajarkan tentang pengobatan penyakit dengan menggunakan ramuan dari tumbuhan dan hewan. Mulai dari zaman Nabi Adam AS hingga zaman Nabi Muhammad SAW, identifikasi senyawa bioaktif dari tanaman yang berpotensi sebagai obat alternatif terus berkembang di seluruh dunia hingga saat ini. Penelitian ilmiah menunjukkan bahwa identifikasi tanaman menghasilkan senyawa bioaktif yang bermanfaat dalam bidang klinis, seperti agen antiinflamasi, antioksidan, antimikroba, dan antikanker. Hampir semua herbal aman digunakan jika digunakan dengan benar. Selain itu, obat herbal memiliki risiko yang lebih rendah dibandingkan dengan bahan sintetis, sehingga banyak dipilih oleh masyarakat untuk pengobatan jangka pendek maupun jangka panjang (Faradisa dan Fakhruddin, 2021).

Dengan kebesaran dan kuasa-Nya, Allah Subhanahu Wata'ala menciptakan tumbuhan sebagai bagian penting dari kehidupan manusia, dengan tujuan agar hamba-Nya dapat memanfaatkannya dan mengambil pelajaran darinya. Allah menginginkan agar manusia bersyukur atas berkah yang telah diberikan-Nya. Sebagai bentuk rasa syukur atas berkah tersebut, manusia seharusnya menjaga dan memanfaatkan tumbuhan dengan bijaksana. Salah satu cara manusia memanfaatkan tumbuhan dengan baik dan mengurangi efek samping yang tidak diinginkan adalah melalui penelitian terkait kandungan senyawa potensial yang bisa dimanfaatkan sebagai bahan dasar obat

dengan izin Allah SWT. Salah satu tanaman yang berpotensi untuk dimanfaatkan sebagai bahan dasar pengobatan alternatif dan sedang dalam tahap produksi secara industrial adalah tumbuhan bunga matahari (Andarwulan dkk, 2023).

2.2 Etnomedisin

Pengobatan tradisional merupakan bagian penting dari warisan budaya berbagai suku bangsa di Indonesia. Oleh sebab itu, pengobatan tradisional harus terus dijelajahi, diteliti, dan dikembangkan agar dapat diterapkan secara medis dengan bertanggung jawab. Meskipun ada banyak jenis pengobatan tradisional, hanya beberapa yang memiliki sistem terkodifikasi dan diakui secara resmi. Contohnya adalah pengobatan tradisional Tiongkok, pengobatan tradisional India, serta kedokteran Arab atau Yunani. Sikap Indonesia yang telah terbuka terhadap pengaruh budaya asing selama berabad-abad, juga memiliki pengobatan tradisional yang unik. Jika dijelajahi, berbagai metode pengobatan tradisional di Indonesia memiliki asal-usul yang berkaitan dengan ketiga aliran pengobatan tersebut (Kristiyanto dkk, 2020).

Etnomedisin merupakan gabungan dari kata *ethno* yang berarti etnis dan kata *medicine* yang merujuk pada obat (Silalahi, 2016). Etnomedisin merupakan salah satu bidang dalam antropologi medis yang mempelajari awal mula penyakit, sebab-sebabnya, serta pengobatannya berdasarkan kelompok masyarakat tertentu. Istilah ini sering digunakan untuk menggambarkan pengobatan tradisional atau pengobatan asli, namun lebih netral dalam konteks etnomedisin (Kristiyanto dkk, 2020). Etnomedisin juga merupakan bagian dari bidang tumbuhan (etnobotani) yang berfokus pada pengetahuan masyarakat

tentang menjaga kesehatan. Dengan adanya beragam tumbuhan obat di sekitar mereka, kelompok masyarakat dapat memanfaatkannya sebagai obat tradisional. Proses pemerolehan bahan pengobatan ini dipengaruhi oleh lingkungan, manusia, bangunan, ide generasi muda, dan revitalisasi (Arrozi dkk, 2020). Salah satu cabang dari etnomedisin adalah etnofarmasi yang sekaligus dapat menjadi solusi untuk mengatasi berbagai problematika yang terkait dengan etnomedisin.

Etnofarmasi adalah disiplin ilmu farmasi yang mempelajari cara penggunaan obat dan metode pengobatan khusus yang dilakukan oleh suku atau etnis tertentu. Ruang lingkup etnofarmasi mencakup penggunaan obat-obatan alami dan cara pengobatannya. Setiap komunitas etnik memiliki Budaya dan kebijaksanaan lokal yang unik sesuai dengan wilayahnya, yang berdampak pada pengetahuan mereka tentang obat dan pengobatan tradisional (Roudotuljannah dan Azizah, 2019). Lingkup etnofarmasi juga mencakup penggunaan tanaman obat dan cara pemanfaatannya. Etnofarmasi merupakan sebuah aspek dari pengobatan tradisional masyarakat yang sering kali terbukti melalui pengalaman dan telah divalidasi secara ilmiah, yang dapat dimanfaatkan untuk penemuan atau dikembangkan sebagai senyawa obat yang baru (Siska dan Kustiawan, 2022).

Pemanfaatan data mengenai tanaman obat tradisional yang diperoleh dari penelitian etnomedisin adalah cara yang efisien untuk menemukan senyawa kimia baru yang berguna dalam bidang pengobatan, terutama dalam hal waktu dan biaya. Saat ini, penelitian etnomedisin sedang difokuskan pada penemuan senyawa kimia baru yang dapat dimanfaatkan dalam pembuatan

obat-obatan modern untuk penyakit serius, seperti kanker. Banyak obat kanker yang digunakan sekarang masih berasal dari ekstraksi tanaman karena belum dapat disintesis atau biaya produksinya lebih besar daripada ekstraksi langsung dari tanaman. Selain untuk mengatasi penyakit yang sedang marak, fungsi lainnya dari penelitian etnomedisin yaitu menemukan senyawa baru yang mempunyai efek samping minimal, mencegah resistensi terhadap obat yang telah ada, dan juga mengantisipasi kemunculan penyakit baru (Silalahi, 2016).

2.3 Bunga Matahari (*Helianthus annuus* L.)

2.3.1 Klasifikasi

Berikut ini adalah klasifikasi (taksonomi) tumbuhan bunga matahari menurut (Bashir *et al*, 2021):

Kingdom : Plantae

Divisi : Angiospermae

Subdivisi : Eudicots

Kelas : Asteroideae

Ordo : Asterales

Famili : Asteraceae

Subfamili : Helianthoideae

Spesies : *Helianthus annuus* L.

2.3.2 Deskripsi Tanaman

Tanaman bunga matahari dikenal dengan sebutan *sunflower* dalam bahasa Inggris, *mirasol* di Filipina, *himawari* dan *koijitsuki* di Jepang, serta *xiang ri kui* dalam bahasa Cina. Tanaman ini mempunyai nama ilmiah *Helianthus annuus* L.. Istilah "Heli" merujuk pada matahari sedangkan

"annuus" berarti semusim. Tanaman ini asalnya dari Meksiko dan Peru, di Amerika Tengah. Tanaman ini mulai dibudidayakan di berbagai negara di benua Amerika pada abad ke-18. Tanaman ini dikenalkan di Indonesia oleh seorang pakar pertanian asal Belanda pada tahun 1907 (Ramadhani dkk, 2019). 1. Tanaman *Helianthus annuus* L. mampu hidup pada suhu antara 6 hingga 28 derajat celsius dan juga dapat bertahan pada suhu minimum hingga -2 derajat celsius. Struktur fisik tanaman ini memiliki kulit yang tebal dan kuat, serta pertumbuhannya mengikuti arah sinar matahari (Ulfa dkk, 2021).

Kepala bunga matahari memiliki ukuran bunga yang besar, memiliki diameter 40 cm yang mempunyai mahkota seperti pita di sepanjang tepi cawan, Ukuran melintang berkisar 10-15 cm, berwarna keemasan dan terdapat beberapa bunga kecil seperti tabung berwarna coklat di bagian tengah cawan bunga matahari. Bunga matahari adalah tanaman musiman yang tumbuh tinggi. Saat berbunga, bunga matahari budidaya bisa tumbuh hingga ketinggian 1,5-2,5 m dan memiliki akar utama yang kokoh. Terdapat satu bunga majemuk yang memiliki 20-30 helai daun. Daunnya lebar, berwarna hijau kegelapan, dan berbentuk seperti hati. Bunganya memiliki diameter mencapai 15-30 cm, dengan mayoritas bunga berwarna kuning. Bunga matahari adalah tanaman yang melakukan penyerbukan silang. Selain itu, bunga matahari juga memiliki nilai ekonomi yang penting sebagai tanaman hias. Minyak yang dihasilkan oleh bunga matahari menyumbang sekitar 9% dari seluruh kebutuhan minyak global (Saragih dan Sinta, 2018).



Gambar 2.1 Bunga matahari (Ramadhan dkk, 2022)

Bunga matahari memiliki nilai ekonomi yang penting sebagai tanaman hias. Produktivitas bijinya bisa mencapai 1000 biji dengan berat 40-60 gram untuk bunga matahari penghasil minyak, sementara bunga matahari non-minyak memiliki berat 100 gram. Selain kegunaannya sebagai sumber minyak, bunga matahari juga memiliki mahkota yang indah sehingga sering digunakan sebagai tanaman hias. Sebagai tanaman hias, bunga matahari dapat ditanam dalam pot atau dijadikan bunga potong dalam rangkaian buket bunga. Pemuliaan bunga matahari sangat penting untuk menghasilkan varietas unggul. Keragaman genetik merupakan modal dasar dalam pemuliaan, dan salah satu sumber keragaman tersebut adalah melalui mutasi. Meskipun pemuliaan konvensional melalui persilangan memungkinkan pada bunga matahari, namun mutasi dipilih untuk mengubah satu atau dua gen saja pada tanaman, sementara persilangan menggabungkan 2 karakter dari tetua (Saragih dan Sinta, 2018).

2.3.3 Kandungan Senyawa dan Manfaat

Semua bagian dari tanaman bunga matahari memiliki potensi manfaat yang besar, mulai dari biji, daun, akar, hingga bunganya. Bagian bunga mengandung berbagai senyawa seperti quercimeritrin (flavon glikosida), sianidin monoglukosida (antosian glikosida), xantofil, kholina, betaina,

sapogenin, helianthoside A, B, C, asam oleanolic, dan asam echinocystic (Masuara dkk, 2016). Sementara itu, biji bunga matahari kaya akan nutrisi, termasuk lemak tak jenuh yang baik, protein, senyawa anorganik, vitamin E, senyawa fitokimia, dan kandungan zat fenolik tinggi, terutama asam klorogenik (CGA) yang sering terikat dengan protein. Senyawa polifenol seperti asam klorogenik, caffeic, dan asam ferulik yang terkandung dalam biji bunga matahari memiliki potensi antioksidan yang tinggi (Putri, 2020). Penelitian yang dilakukan oleh Putri (2020) menunjukkan bahwa biji bunga matahari memiliki aktivitas antioksidan yang kuat, dengan nilai IC₅₀ sebesar 88,372 µg/mL setelah diolah menjadi minyak. Berdasarkan penelitian Lantana (2023) ekstrak etanol dari biji bunga matahari juga mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin, seperti yang dilaporkan oleh penelitian sebelumnya. Kandungan kimia lainnya dalam tanaman ini mencakup alkaloid, terpenoid, flavonoid, steroid, tanin, dan saponin, menurut penelitian lainnya (Ulfa dkk, 2021).

Tanaman ini umumnya dimanfaatkan untuk mengobati berbagai penyakit, termasuk sebagai penurun tekanan darah, pengurang nyeri, antidisentri, serta merangsang pengeluaran cairan tubuh seperti hormon dan enzim, serta campak. Selain itu, juga diketahui memiliki sifat peluruh air seni, merangsang energi vital, menghilangkan rasa nyeri saat buang air kemih, meredakan batuk, serta memiliki efek anti malaria dan anti radang (Masuara dkk, 2016). Beberapa penelitian juga mencatat bahwa tanaman ini memiliki berbagai aktivitas farmakologis seperti antioksidan, antikanker, anti-inflamasi, antihipertensi, perlindungan kulit, penurun kolesterol, analgesik,

serta efek antibakteri, antidiabetik, dan menenangkan pada saraf, otot, dan pembuluh darah. Selain itu, juga digunakan dalam mengatasi masalah konstipasi, disentri, dan gangguan kandung kemih (Ulfa dkk, 2021).

2.4 Metabolite Sekunder

2.4.1 Pengertian

Sebagai bentuk adaptasi, tumbuhan menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang bersifat toksik untuk melindungi diri dari ancaman lingkungan. Vakuola, rongga trikoma, dan lingkungan ekstraseluler merupakan tempat umum bagi tumbuhan untuk menyimpan senyawa metabolit sekunder beracun. Proses glikosilasi berperan penting dalam memodifikasi struktur senyawa-senyawa tersebut. Metabolit alami tumbuhan sangat beragam dan dapat dikelompokkan menjadi terpenoid, alkaloid, fenilpropanoid, serta senyawa fenolik antioksidan berdasarkan proses pembentukannya (Setyorini dan Yusnawan, 2016).

Produk metabolisme tumbuhan dapat dibedakan menjadi dua jenis utama: primer dan sekunder. Metabolit primer adalah senyawa yang sangat penting bagi tumbuhan untuk tumbuh dan bertahan hidup. Berbeda dengan metabolit primer, metabolit sekunder lebih banyak diproduksi saat tumbuhan berada dalam kondisi sulit, seperti kekeringan atau serangan hama. Senyawa ini tidak secara langsung berperan dalam pertumbuhan tumbuhan. Tumbuhan menghasilkan zat khusus yang disebut metabolit sekunder. Zat ini berfungsi seperti tameng yang melindungi tumbuhan dari serangan serangga atau penyakit. Selain itu, metabolit sekunder juga memiliki banyak manfaat bagi manusia, misalnya sebagai bahan pewarna alami, obat-obatan, atau bahan

penyedap makanan. Beberapa contoh zat yang dihasilkan tumbuhan adalah flavonoid, alkaloid, terpenoid, saponin triterpenoid, dan steroid (Sholekah, 2017).

Setiap tipe senyawa metabolit sekunder mempunyai fungsi yang tidak sama. Meskipun tidak esensial bagi keberlanjutan hidup tanaman, senyawa-senyawa ini memberikan sejumlah manfaat. Metabolit sekunder berperan sebagai agen pertahanan untuk tanaman terhadap stres biotik dan abiotik. Selain itu, senyawa ini dapat berfungsi sebagai atraktan. Beberapa senyawa metabolit sekunder dapat digunakan manusia sebagai antioksidan atau bahan baku obat-obatan. Metabolit sekunder memiliki beragam fungsi. Selain sebagai pertahanan diri, senyawa ini juga berperan dalam interaksi tumbuhan dengan lingkungannya. Beberapa contoh metabolit sekunder yang memiliki aktivitas biologis yang luas adalah antibiotik, pigmen, toksin, zat pengatur pertumbuhan, dan zat yang dapat memodulasi sistem imun. Senyawa-senyawa ini memiliki potensi besar dalam berbagai bidang, seperti farmasi, pertanian, dan industri makanan, serta penggerak pertumbuhan bagi hewan dan tanaman (Setyorini dan Yusnawan, 2016).

Metabolit sekunder memiliki distribusi yang lebih terbatas dibandingkan dengan metabolit primer. Jika metabolit primer seperti asam amino dan gula ditemukan hampir di semua organisme hidup, metabolit sekunder cenderung unik untuk spesies atau kelompok tumbuhan tertentu. Senyawa-senyawa ini seringkali merupakan hasil sampingan dari jalur metabolisme primer dan memiliki struktur kimia yang lebih kompleks. Berdasarkan kerangka karbonnya, metabolit sekunder dapat dikelompokkan

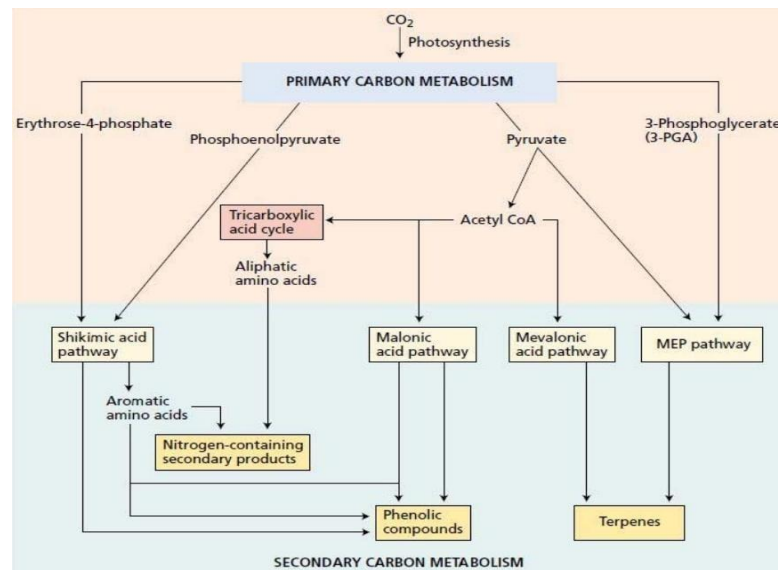
menjadi tiga kelompok utama: terpenoid, senyawa fenolik, dan senyawa nitrogen (Setyorini dan Yusnawan, 2016). Pengelompokan ini didasarkan pada jalur pembentukan masing-masing senyawa.

Tabel 2.1 Jalur terbentuknya metabolit sekunder dan ragam senyawa yang dihasilkan (Setyorini dan Yusnawan, 2016).

Jalur pembentukan metabolit sekunder	Senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan
Jalur asam malonat	Asam lemak (laurat, miristat, palmitat, stearat, oleat, linoleat, linolenic), fosfolipida, poliasetilen, gliserida, dan glikolipida
Jalur asam mevalonat	Essential oil, korosinoid, squalent, monoterpenoid, streoid, terpenoid, sapogenin, menthol, geraniol, ABA, dan ga3
Jalur asam sikhimat	Asam sinamat, fenol asam benzoic, koumarin, tanin, lignin, asam amino benzoic dan quinon

Mariska (2013) dalam Setyorini dan Yusnawan (2016) menjelaskan bahwa produksi metabolit sekunder berlangsung secara berbeda dengan metabolit primer. Metabolit sekunder terbentuk melalui jalur yang berbeda dari biosintesis karbohidrat dan protein. Proses pembentukan metabolit sekunder melibatkan tiga jalur utama, yaitu jalur asam malonat, asam mevalonat, dan asam shikimat. Berikut ini adalah jalur-jalur utama yang terlibat dalam

biosintesis metabolit sekunder dan memiliki hubungan dengan metabolit primer.



Gambar 2.2 Koneksi antara jalur utama biosintesis metabolit sekunder dan metabolisme primer (Setyorini dan Yusnawan, 2016)

Pengembangan potensi bahan alam Indonesia yang melimpah ini sebagai calon obat-obatan herbal yang didasarkan pada adanya senyawa kimia dengan efek farmakologis tertentu layak untuk dilakukan sebagai bentuk rasa syukur kita kepada Allah SWT. Oleh karena itu, untuk mendukung penelitian terkait potensi senyawa yang terdapat dalam daun bunga matahari, diperlukan teknik analisis kandungan metabolitnya. Salah satu metode penelitian yang tepat untuk diterapkan dalam penelitian ini adalah analisis profil metabolit. Dengan melihat profil metabolit, kita bisa membandingkan bagaimana gen-gen dalam suatu organisme bekerja. Metabolite profil juga berpotensi memberikan pemahaman mendalam tentang mekanisme regulasi yang kompleks dan menentukan fenotipe secara langsung (Hakim dkk, 2018).

2.4.2 Fungsi

Senyawa metabolit sekunder pada tanaman memiliki berbagai fungsi yang penting. Salah satunya adalah sebagai atraktan untuk menarik serangga penyerbuk. Selain itu, senyawa metabolit sekunder juga berperan dalam melindungi tanaman dari stress lingkungan dan serangan hama/penyakit dengan menjadi fitoaleksin. Senyawa ini juga berfungsi sebagai pelindung dari sinar ultra violet serta sebagai zat pengatur tumbuh dan untuk bersaing dengan tanaman lain melalui alelopati. Metabolit sekunder terutama berperan dalam meningkatkan ketahanan tanaman terhadap predator dan patogen, sehingga membantu tanaman dalam mempertahankan hidupnya dari infeksi bakteri, fungi, insekta, dan hewan melalui produksi antibiotik. Selain itu, senyawa metabolit sekunder juga berperan dalam memperbaiki kehidupan mikroba penghasil metabolit saat berkompetisi dengan spesies lain (Setyorini dan Yusnawan, 2016).

Senyawa alkaloid berperan dalam melindungi tanaman dari serangan hewan herbivora yang berbeda. Tidak hanya itu, tanin, lignin, flavonoid, dan senyawa fenolik lainnya juga berperan penting dalam mekanisme pertahanan tanaman. Lignin memberikan kekuatan struktural pada dinding sel, sedangkan flavonoid berperan sebagai pigmen yang menarik penyerbuk. Selain itu, beberapa senyawa fenolik memiliki sifat alelopati, yaitu kemampuan untuk menghambat pertumbuhan tanaman lain di sekitarnya. Meskipun beberapa asam lemak seperti palmitat dan stearat juga dapat menunjukkan sifat alelopati, senyawa alelopati umumnya dikategorikan sebagai metabolit sekunder. Potensi tanaman yang kaya akan metabolit sekunder sebagai sumber gen resisten

terhadap hama dan penyakit, serta sebagai bahan baku pestisida nabati, telah menjadi fokus penelitian yang intensif (Setyorini dan Yusnawan, 2016).

Selain itu, metabolit sekunder juga memiliki peran penting dalam meningkatkan kelangsungan hidup mikroba yang menghasilkan metabolit sekunder ketika bersaing dengan spesies lain. Terdapat lima alasan yang mendukung hal ini, di antaranya (Nofiani, 2008):

1. Organisme yang tidak memiliki sistem imun yang kuat akan menghasilkan berbagai macam metabolit sekunder sebagai mekanisme pertahanan alternatif.
2. Struktur dan mekanisme kerja metabolit sekunder sangat kompleks dan membutuhkan energi yang besar.
3. Metabolit sekunder akan aktif jika terjadi kompetisi dengan mikroba, tanaman, atau binatang.
4. Sebuah kelompok gen biosintesis bertanggung jawab dalam produksi metabolit sekunder.
5. Produksi metabolite sekunder yang memiliki sifat antibiotik biasanya terjadi bersama dengan sporulasi pada sel mikroba yang rentan terhadap mikroba, tanaman, atau hewan.

Senyawa metabolit sekunder tertentu tidak hanya memberikan manfaat bagi tanaman, tetapi juga bagi manusia. Pemanfaatannya bervariasi tergantung jenis zat-zat yang telah ada. Senyawa fenilpropanoid memberikan kontribusi signifikan pada rasa dan aroma berbagai jenis tanaman, seperti cabai, lada, dan kayu manis. Selain memberikan cita rasa, senyawa-senyawa ini juga memiliki aktivitas biologis yang beragam, termasuk sifat anti-inflamasi dan antimikroba.

Flavonoid, sebagai salah satu kelompok metabolit sekunder yang paling banyak diteliti, memiliki aktivitas antioksidan yang kuat. Senyawa ini mampu menetralkan radikal bebas yang dapat merusak sel dan jaringan tubuh. Selain itu, flavonoid juga memiliki potensi dalam pencegahan berbagai penyakit degeneratif, seperti penyakit jantung, kanker, dan osteoporosis. Beberapa metabolit sekunder lainnya, seperti camptothecin dan paclitaxel, telah terbukti memiliki aktivitas antikanker yang signifikan dan telah digunakan dalam pengembangan obat-obatan antikanker (Setyorini dan Yusnawan, 2016).

2.4.3 Unsur-unsur Yang Berpengaruh

Metabolite sekunder dihasilkan melalui reaksi sekunder dari metabolit primer. Sebagian besar tumbuhan yang menghasilkan metabolit primer juga memiliki metabolit sekunder. Produksi metabolit ini dipengaruhi oleh asupan nutrisi, perlambatan pertumbuhan, induksi dan ketidakaktifan enzim, serta kontrol umpan balik. Kebutuhan akan nutrisi dan perlambatan pertumbuhan menyebabkan munculnya sinyal yang menginduksi diferensiasi dalam hal kimia dan morfologi. Sinyal ini berfungsi sebagai kontrol negatif yang mencegah terjadinya diferensiasi dalam kondisi normal, yaitu saat nutrisi mencukupi dan pertumbuhan cepat (Nofiani, 2008).

Dalam produksi metabolit sekunder, tanaman dipengaruhi oleh faktor internal dan eksternal. Faktor internal yang berperan adalah gen, sedangkan faktor eksternal berasal dari lingkungan tempat tumbuh. Suhu, cahaya, kelembaban, pH, dan ketinggian tempat tumbuh sangat memengaruhi metabolit sekunder yang dihasilkan (Katuuk dkk, 2019). Selain itu, menurut Laily (2012) dalam Katuuk (2019), ketinggian tempat juga memengaruhi

pertumbuhan tanaman. Oleh karena itu, perbedaan ketinggian tempat dapat memengaruhi pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Hal ini dapat mengganggu serangkaian proses metabolisme pada tanaman sehingga senyawa yang dihasilkan akan berbeda pada setiap ketinggian tempat (Katuuk dkk, 2019).

2.5 Ekstraksi

2.5.1 Definisi

Proses ekstraksi melibatkan penarikan kandungan kimia yang dapat larut dari bahan yang tidak larut menggunakan pelarut cair. Dalam melakukan ekstraksi, penting untuk mengetahui senyawa aktif yang terkandung dalam simplisia agar dapat memilih pelarut dan metode ekstraksi yang tepat (Fajarullah dkk, 2014). Ekstraksi dilakukan untuk memisahkan senyawa bioaktif dari biomassa, ampas, atau unsur lain yang tidak memberikan kontribusi signifikan baik dalam efektivitas maupun penampilan ekstrak senyawa tersebut. Pemilihan metode ekstraksi didasarkan pada sifat sampel yang digunakan, stabilitas metabolit sekunder, rendemen, kualitas ekstrak yang diinginkan, serta efisiensi biaya dan waktu (Nugroho, 2017).

Tujuan dari ekstraksi adalah untuk memperoleh ekstrak dari bahan tumbuhan mentah. Ekstrak merupakan sediaan kental yang dihasilkan dari proses ekstraksi campuran bahan tumbuhan mentah dan zat aktif yang terkandung di dalamnya. Proses ini melibatkan penggunaan pelarut seperti air, etanol, atau kombinasi keduanya. Setelah itu, pelarut dievaporasi untuk menghasilkan massa kental yang kemudian diberi perlakuan tertentu hingga memenuhi standar mutu yang diinginkan. Sebagian besar ekstraksi dipakatkan

dengan cara penurunan tekanan untuk mengurangi paparan zat aktif terhadap uap, yang dapat memengaruhi kualitas dan kuantitas ekstrak yang dihasilkan. Teknik ini umumnya disebut sebagai destilasi (Depkes RI, 2020).

Sebelum memilih teknik ekstraksi yang akan digunakan, penting untuk mempertimbangkan stabilitas dan karakteristik senyawa target yang akan diisolasi. Pertimbangan ini akan memengaruhi perubahan fisik dan struktural dari ekstrak. Pengaruh ini disebabkan oleh kompleksitas proses ekstraksi yang melibatkan banyak komponen dan unsur yang harus dianalisis secara mendalam untuk memastikan keberhasilannya. Keberhasilan proses ekstraksi sangat tergantung pada kesesuaian antara pelarut dan teknik ekstraksi yang digunakan. Oleh karena itu, penting untuk menyesuaikan sifat kepolaran fraksi yang akan dipisahkan selama proses tersebut. Sifat sampel dan senyawa yang akan diisolasi juga menjadi faktor penentu dalam pemilihan teknik ekstraksi agar dapat mengidentifikasi dan mengekstraksi senyawa target yang diinginkan serta mengurangi kemungkinan tercampurnya dengan unsur lain (Mukhriani, 2014).

2.5.2 Prinsip Ekstraksi

Prinsip terjadinya ekstraksi dimulai dengan membuka jaringan atau lapisan dinding sel melalui perlakuan panas, kemudian dilanjutkan dengan prosedur penguraian senyawa menggunakan pelarut organik berdasarkan prinsip korelasi karakteristik polaritas senyawa dengan pelarut yang cocok. Dalam penelitian ini, digunakan metode ekstraksi padatan-cairan (*solid liquid extraction*). Ekstraksi ini melibatkan proses pengambilan atau penguraian senyawa bioaktif dari sampel yang berbentuk bahan padat, baik dalam bentuk

potongan maupun keseluruhan sampel, menggunakan pelarut yang sesuai (Nugroho, 2017).

Ekstraksi dengan pelarut adalah metode yang umum digunakan untuk memisahkan senyawa-senyawa bermanfaat dari bahan alam, terutama tumbuhan. Ada dua jenis utama ekstraksi pelarut yakni ekstraksi padat-cair dan ekstraksi cair-cair. Ekstraksi padat-cair melibatkan penghancuran bahan tumbuhan menjadi potongan-potongan kecil, lalu merendamnya dalam pelarut organik atau air untuk melarutkan senyawa metabolit yang diinginkan. Pelarut yang dipilih harus memiliki kemampuan melarutkan senyawa target yang baik, tetapi tidak merusak komponen lain dalam bahan tumbuhan. Ekstraksi cair-cair digunakan ketika senyawa target sudah terlarut dalam suatu pelarut. Pelarut kedua yang tidak dapat bercampur dengan pelarut pertama, tetapi memiliki afinitas yang lebih tinggi terhadap senyawa target, ditambahkan ke dalam campuran. Senyawa target kemudian akan berpindah ke pelarut kedua. Metode ini sering digunakan untuk memurnikan ekstrak kasar yang diperoleh dari ekstraksi padat-cair (Nugroho, 2017).

Ketika ekstraksi sedang berlangsung, sampel yang akan diekstrak akan langsung bersentuhan dengan pelarut. Pada saat ini, terjadi proses dinamis yang umumnya dibagi menjadi 3 fase, yaitu pelarut menghancurkan dinding sel dan jaringan bahan, kemudian pelarut menembus ke dalam sel dan melarutkan metabolit, dan akhirnya terjadi penguraian pelarut bersama senyawa metabolit dari sampel. Oleh karena itu, proses penggilingan, pengecilan ukuran sampel, dan peningkatan suhu memengaruhi efisiensi waktu dan kualitas hasil ekstraksi. Setelah proses selesai, pelarut dan senyawa metabolit yang terlarut

harus dipisahkan melalui proses penguapan untuk menghasilkan ekstrak kasar, baik berupa massa kental maupun padatan (Nugroho, 2017).

2.5.3 Faktor-Faktor Yang Memengaruhi Hasil Ekstraksi

Beberapa faktor yang perlu untuk diperhatikan karena memengaruhi hasil ekstraksi antara lain (Maslukhah dkk, 2016):

1. Ukuran bahan

Semakin kecil kita potong atau haluskan suatu bahan, semakin banyak bagian bahan itu yang bersentuhan dengan cairan pelarut. Hal ini membuat zat yang ingin kita ambil lebih mudah larut dan kita bisa mendapatkan hasil ekstraksi yang lebih baik.

2. Waktu ekstraksi

Waktu ekstraksi merupakan salah satu parameter penting dalam proses ekstraksi. Peningkatan waktu kontak antara pelarut dan bahan akan meningkatkan driving force untuk transfer massa senyawa dari fase padat ke fase cair. Namun, waktu ekstraksi yang terlalu lama dapat menyebabkan degradasi senyawa target, terutama senyawa yang sensitif terhadap oksidasi. Selain itu, berdasarkan hukum kedua difusi, sistem ekstraksi akan mencapai kesetimbangan setelah waktu tertentu. Setelah mencapai kesetimbangan, perpanjangan waktu ekstraksi tidak akan memberikan peningkatan yang signifikan pada rendemen ekstrak.

3. Suhu ekstraksi

Jika kita melakukan ekstraksi pada suhu yang lebih tinggi, zat yang ingin kita ambil akan lebih mudah larut dan keluar dari bahan tanaman. Ini karena suhu tinggi membuat dinding sel tanaman lebih mudah ditembus.

Namun, suhu yang terlalu tinggi bisa merusak beberapa zat yang bermanfaat, seperti antioksidan.

4. Jenis dan jumlah pelarut

Dalam proses ekstraksi, pemilihan pelarut sangat krusial. Prinsip "like dissolves like" menyatakan bahwa pelarut polar akan lebih efektif melarutkan senyawa polar, begitu pula sebaliknya. Selain daya larut, aspek keamanan pelarut juga harus diperhatikan. Pelarut polar dan semi-polar seperti air, etanol, metanol, aseton, dan etil asetat umumnya digunakan untuk mengekstrak senyawa polifenol dari bahan tumbuhan. Penggunaan kombinasi pelarut dapat meningkatkan efisiensi ekstraksi karena dapat melarutkan berbagai jenis senyawa yang memiliki polaritas yang berbeda.

Ada berbagai teknik ekstraksi yang dapat digunakan berdasarkan prinsip kerja dan peralatan yang digunakan. Pemilihan metode ekstraksi sangat bergantung pada sifat bahan alam, senyawa target, dan tujuan ekstraksi. Faktor-faktor seperti rendemen, kecepatan ekstraksi, dan biaya perlu dipertimbangkan secara cermat. Beberapa metode ekstraksi yang umum digunakan meliputi maserasi, perkolasi, ekstraksi soxhlet, ekstraksi ultrasonik, ekstraksi bertekanan, dan ekstraksi microwave. Setiap metode memiliki kelebihan dan kekurangan masing-masing, sehingga pemilihan metode yang tepat akan sangat mempengaruhi kualitas dan kuantitas ekstrak yang dihasilkan. (Nugroho, 2017).

2.6 Metode Ekstraksi Ultrasonic Assisted Extraction (UAE)

Ekstraksi ultrasonik memanfaatkan gelombang suara berfrekuensi tinggi untuk mempercepat proses pengambilan senyawa dari bahan alam.

Gelombang suara ini menciptakan gelembung-gelembung kecil dalam cairan yang kemudian meledak dengan sangat cepat. Ledakan gelembung ini menghasilkan energi yang cukup kuat untuk menembus dinding sel tanaman, sehingga senyawa yang kita inginkan dapat lebih mudah diekstrak. Proses kavitasi yang dihasilkan oleh gelombang ultrasonik (>20.000 Hz) menyebabkan terbentuknya rongga-rongga kecil di dalam cairan. Ketika rongga ini runtuh, terjadi ledakan mini yang menghasilkan tekanan dan suhu yang sangat tinggi secara lokal. Kondisi ekstrem ini menyebabkan erosi pada dinding sel tanaman, sehingga pelarut dapat dengan mudah menembus dan melarutkan senyawa target (Sari dan Triyasmono, 2017). Ultrasonik adalah metode ekstraksi non-termal yang dapat meningkatkan laju transfer massa dan merusak dinding sel dengan *microcavity* yang banyak, sehingga mempercepat proses dan mengoptimalkan penggunaan pelarut (Handaratri dan Yuniati, 2019).

Salah satu hal yang dapat memengaruhi proses ekstraksi menggunakan metode UAE adalah waktu ekstraksi. Penggunaan waktu yang terlalu lama dalam metode UAE dapat meningkatkan suhu larutan, yang pada akhirnya akan mempercepat oksidasi antioksidan dan menghasilkan ekstrak yang kualitasnya rendah. Proses ekstraksi UAE dengan waktu ekstraksi yang melebihi batas optimal dapat mengakibatkan senyawa bioaktif mengalami perubahan struktur kimia karena proses oksidasi, sehingga ekstrak yang dihasilkan menjadi kurang berkualitas. Di sisi lain, waktu ekstraksi yang terlalu singkat dapat menyebabkan tidak semua senyawa bioaktif dapat diekstrak sepenuhnya dari bahan (Kristina dkk, 2022). Selain itu, hasil ekstraksi juga dipengaruhi oleh

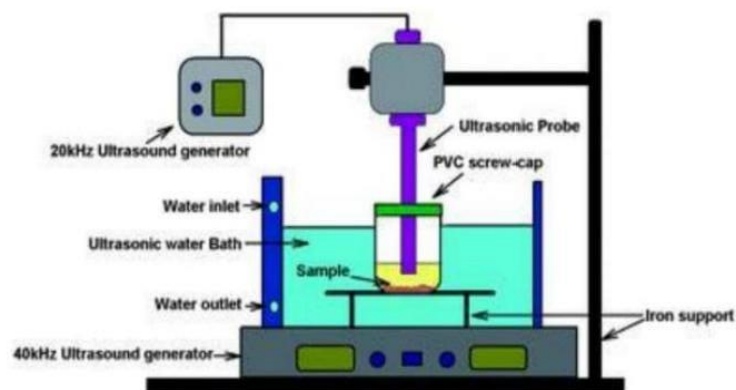
frekuensi getaran, kapasitas alat, dan durasi proses ultrasonikasi (Sari dan Triyasmono, 2017).

Metode ekstraksi ultrasonik (UAE) memiliki beberapa keunggulan dibandingkan dengan metode maserasi konvensional. UAE dapat meningkatkan laju penetrasi pelarut ke dalam matriks sampel, sehingga mempercepat proses ekstraksi. Selain itu, UAE juga dapat dilakukan pada suhu yang lebih rendah, sehingga meminimalkan risiko degradasi senyawa termolabil. Penggunaan pelarut pada UAE umumnya lebih sedikit dibandingkan dengan maserasi, sehingga lebih efisien dan ramah lingkungan (Kristina dkk, 2022). Cara ekstraksi ultrasonik ini punya kelebihan lain, yaitu bisa mengeluarkan zat yang kita inginkan dari tanaman tanpa merusak zat itu sendiri. Selain itu, cara ini juga bisa dilakukan pada suhu yang rendah, sehingga zat-zat yang mudah menguap tidak akan hilang (Handaratri dan Yuniati, 2019). Penggunaan metode UAE ini telah menarik perhatian para peneliti sebelumnya untuk meningkatkan kualitas rendemen dan efisiensi waktu selama proses ekstraksi (Sholihah dkk, 2017).

Prinsip kerja ekstraksi dengan menggunakan gelombang ultrasonik ini adalah dengan mengirimkan gelombang suara melalui medium. Ketika gelombang ultrasonik ini mencapai dinding sel, gelombang tersebut akan menyebabkan getaran pada medium yang dilaluinya. Getaran ini akan menghasilkan gerakan yang konstan dalam mencampurkan bahan selama proses ekstraksi berlangsung. Gerakan ini memungkinkan terjadinya kontak fisik antara *solute* dan *solvent*, sehingga meningkatkan laju osmosis di antara

keduanya dan memaksimalkan efisiensi alat selama proses ekstraksi (Guna dkk, 2020).

Langkah pertama dalam prosedur ekstraksi dengan bantuan ultrasonik adalah memasukkan sampel beserta pelarut ke dalam beaker glass. Kemudian, beaker glass tersebut ditutup rapat menggunakan aluminium foil untuk mencegah penguapan pelarut. Beaker diletakkan pada alat ultrasonik yang memiliki penangas air di bawahnya, di mana terdapat media untuk menghasilkan gelombang ultrasonik. Selama proses, dilakukan pengadukan sesekali dengan menggunakan batang pengaduk untuk memperbaiki kontak fisik antara pelarut dan sampel serta untuk meningkatkan homogenitas. Gelombang ultrasonik memperantarai getaran yang menghasilkan frekuensi tinggi pada sampel dan menimbulkan tekanan mekanis yang memengaruhi sel dan jaringan. Proses ini dapat mengakibatkan pecahnya lapisan luar dinding sel dan terjadinya difusi senyawa metabolit ke dalam pelarut. Dengan destruksi sel yang terjadi, homogenitas antara senyawa metabolit ditingkatkan, yang pada gilirannya dapat mempercepat perolehan rendemen dari ekstrak yang dihasilkan (Nugroho, 2017).



Gambar 2.3 Mekanisme ekstraksi dengan ultrasonikasi (Nugroho, 2017)

Alat ultrasonik ini memiliki kontrol suhu yang dapat disesuaikan. Suhu operasinya dapat ditingkatkan hingga mencapai 60°C. Penggunaan suhu tinggi dalam proses operasi dapat meningkatkan efisiensi ekstraksi. Faktor-faktor seperti frekuensi sonikasi, suhu operasional, jenis pelarut yang digunakan, serta perbandingan sampel dan pelarut akan memengaruhi efektivitas selama proses ekstraksi berlangsung. Karena kompleksitas peralatan yang diperlukan, metode ini jarang digunakan untuk ekstraksi dalam skala besar. Namun, kelebihan dari metode ini adalah efektif dan efisien dalam mengekstrak senyawa yang kurang stabil pada suhu tinggi (Nugroho, 2017).

2.7 Pelarut

Pemilihan pelarut untuk proses ekstraksi sangat penting untuk mendapatkan ekstrak yang kaya akan senyawa-senyawa dengan aktivitas farmakologi yang diinginkan. Pelarut yang ideal adalah alkohol atau campurannya dengan air karena umumnya merupakan pelarut terbaik untuk mengekstraksi hampir semua senyawa dengan berat molekul rendah seperti saponin dan flavonoid. Jenis pelarut yang digunakan juga berpengaruh pada jumlah senyawa aktif yang terdapat dalam ekstrak, sejalan dengan prinsip "*like dissolve like*", dimana senyawa polar larut dalam pelarut polar dan senyawa non-polar larut dalam pelarut non-polar (Arifianti dkk, 2014). Perbedaan jenis dan konsentrasi pelarut dapat memengaruhi efisiensi ekstraksi. Penting untuk memilih pelarut yang memiliki tingkat kepolaran yang sesuai dengan senyawa yang ingin diekstraksi. Sebagai contoh, pelarut etanol, yang memiliki sifat polar, sering digunakan untuk mengekstraksi senyawa flavonoid (Guna dkk, 2020).

Penggunaan jenis pelarut ketika melakukan proses ekstraksi harus memperhatikan persentase kadar polaritas yang sesuai dengan senyawa yang ingin diekstraksi. Selain itu, kemampuan pelarut dalam merusak dinding sel dan jaringan juga harus dipertimbangkan untuk memastikan efisiensi waktu ekstraksi. Jika tujuan ekstraksi adalah untuk menangkap beragam metabolit dalam sampel tumbuhan dengan spektrum yang luas, maka pelarut yang ideal adalah yang bersifat universal. Etanol adalah salah satu contoh pelarut netral yang ekonomis dan mudah didapatkan. Pelarut yang ideal untuk ekstraksi harus memenuhi kriteria-kriteria berikut (Perina dkk, 2017):

1. Memiliki selektivitas yang tinggi, yang mampu melarutkan solut dengan tingkat kemurnian yang optimal.
2. Stabilitas yang tinggi dan bersifat inert sehingga tidak mudah bereaksi dengan komponen lain.
3. Tidak bersifat toksik dan sulit terbakar.
4. Semakin rendah suhu penguapan, semakin mudah jika diuapkan, sehingga dapat menjamin kestabilan struktur senyawa yang diisolasi.
5. Ekonomis dan memberikan hasil yang memuaskan.

Pelarut minyak atau lemak yang sering digunakan dalam proses ekstraksi meliputi (Susanti dkk, 2012):

a. Etanol

Etanol merupakan pelarut yang umum digunakan di laboratorium karena memiliki daya larut yang tinggi dan bersifat inert terhadap banyak senyawa. Titik didih etanol yang rendah memungkinkan pemisahan senyawa non-polar seperti minyak dengan cara distilasi yang sederhana

b. n-Heksana

Salah satu pelarut yang efektif dalam ekstraksi minyak dari biji-bijian dengan titik didih 65-70 derajat Celcius. Pelarut ini memiliki volatilitas tinggi yang memungkinkannya mudah menguap dan terpisah dari minyak selama proses refluks.

c. Isopropanol

Isopropanol merupakan pelarut polar dengan densitas 0,789 g/ml. Sama seperti etanol, isopropanol memiliki daya larut yang tinggi dan titik didih yang relatif rendah, yaitu sekitar 81-82 derajat Celcius.

d. Etil asetat

Pelarut semi-polar dengan titik didih 77 °C ini sangat cocok untuk proses ekstraksi minyak. Titik didihnya yang rendah memungkinkan pemisahan minyak dari pelarut secara efisien melalui proses distilasi.

e. Aseton

Aseton merupakan pelarut organik yang memiliki kelarutan yang sangat baik dalam berbagai pelarut polar dan non-polar, termasuk air, etanol, dan dietil eter. Karena sifatnya yang serba bisa, aseton banyak diaplikasikan dalam berbagai industri, mulai dari produksi plastik hingga sintesis senyawa kimia.

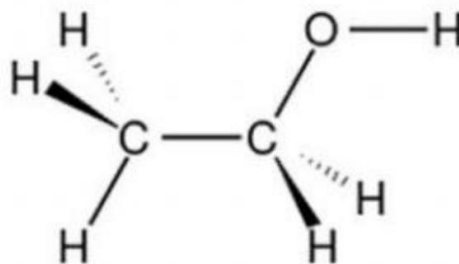
f. Metanol

Cairan pelarut yang umum dipakai dalam proses memisahkan dan memurnikan senyawa kimia yang berasal dari alam.

Dalam penelitian ini, digunakan pelarut polar yang disebut etanol 96%. Etanol adalah senyawa turunan hidroksil dengan rumus kimia C_2H_5OH dan

rumus empiris C_2H_6O . Umumnya dikenal sebagai alkohol, etanol sering digunakan dalam berbagai aplikasi. Sifat-sifat etanol meliputi kelarutan dalam air, volatilitas, tidak berwarna, dan mudah menguap. Dengan berat molekul sebesar 46.1, titik didih etanol adalah $60-78^{\circ}C$, sedangkan titik beku $-117,3^{\circ}C$. Kerapatan etanol pada suhu $20^{\circ}C$ adalah 0,789, dengan nilai kalori sekitar 7077 kalori per gram, dan memiliki angka oktan antara 91-105 (Febriana dkk, 2019).

Ada beberapa alasan penggunaan pelarut etanol 96%. Pertama, pelarut ini lebih selektif dalam menarik zat berkhasiat yang diinginkan. Selain itu, absorpsinya juga baik dan kapang serta khamir sulit tumbuh di dalamnya. Selain itu, pelarut etanol 96% juga mudah menguap dan dapat menghasilkan ekstrak kental lebih cepat dibandingkan dengan pelarut etanol 70%. Etanol 96%, dengan sifat polaritasnya, mampu berinteraksi dengan berbagai jenis senyawa, termasuk flavonoid yang bersifat polar. Hal ini memungkinkan etanol 96% untuk secara efektif menarik dan melarutkan flavonoid dari matriks tanaman. Selain itu, etanol 96% memenuhi kriteria sebagai pelarut yang ideal, yaitu selektif, ekonomis, ramah lingkungan, dan aman. Sifat volatilitas tinggi etanol 96% memudahkan proses pemisahan pelarut dari ekstrak, sedangkan sifat antimikrobanya membantu menjaga stabilitas ekstrak selama proses ekstraksi (Serlahwaty dan Sevian, 2016).



Gambar 2.4 Struktur kimia etanol (Wusnah dkk, 2020)

Etanol adalah senyawa polar yang dapat digunakan untuk melarutkan berbagai senyawa organik yang larut dalam air (Saputri dkk, 2021). Etanol sering digunakan sebagai pelarut organik dalam proses ekstraksi dan telah banyak dilaporkan dalam artikel penelitian. Etanol memiliki sejumlah keunggulan yang membuatnya menjadi pelarut yang banyak digunakan. Toksisitasnya yang relatif rendah dibandingkan pelarut organik lainnya, seperti aseton dan metanol, menjadikannya pilihan yang lebih aman. Selain itu, biaya produksi etanol yang relatif murah dan ketersediaannya yang luas membuatnya ekonomis. Etanol juga serbaguna, dapat digunakan dalam berbagai metode ekstraksi, dan memiliki tingkat ekstraksi yang tinggi. Profil keamanannya yang baik memungkinkan penggunaannya dalam industri farmasi dan makanan. Terakhir, etanol juga ramah lingkungan, sehingga meminimalkan dampak negatif terhadap lingkungan (Hakim dan Saputri, 2020).

Konsentrasi etanol dalam pelarut ekstraksi merupakan faktor kritis yang mempengaruhi proses ekstraksi. Etanol dan air memiliki polaritas yang berbeda, sehingga kombinasi keduanya menghasilkan pelarut dengan polaritas yang bervariasi. Polaritas pelarut ini akan menentukan jenis senyawa yang dapat dilarutkan. Senyawa yang memiliki polaritas yang mirip dengan pelarut akan lebih mudah larut. Oleh karena itu, dengan mengatur konsentrasi etanol, kita dapat mengontrol jenis senyawa yang ingin kita ekstrak. Selain itu, peningkatan konsentrasi etanol juga dapat meningkatkan laju disolusi dan ekstraksi karena kemampuan etanol untuk memecah dinding sel tumbuhan dan melarutkan senyawa target (Hakim dan Saputri, 2020). Karena sifatnya yang

amfifilik (bagiannya ada yang suka air dan ada yang tidak), campuran etanol dan air mampu melarutkan berbagai jenis senyawa, mulai dari senyawa polar seperti gula hingga senyawa non-polar seperti minyak (Hakim dkk, 2018).

2.8 Pemrofilan Metabolit

Metabolit sekunder adalah senyawa kimia yang tidak terlibat langsung dalam pertumbuhan atau perkembangan makhluk hidup, namun memiliki fungsi ekologis yang penting dalam interaksi organisme dengan lingkungannya. Pada tanaman, metabolit sekunder berperan sebagai mekanisme pertahanan terhadap serangan herbivora (vertebrata dan serangga), mikroba (bakteri, jamur, dan virus), serta kompetisi untuk bertahan hidup. Konsentrasi dan komposisi metabolit sekunder dipengaruhi oleh faktor internal seperti genetik, kondisi kesehatan tanaman, dan usia tanaman, serta faktor eksternal seperti lingkungan dan penggunaan obat-obatan. Metabolit sekunder juga memiliki peran dalam mendukung keberadaan organisme di lingkungan, seperti detoksifikasi metabolit primer, sinyal intraorganisme, komunikasi antar organisme, dan menjaga keseimbangan ekologi (Hanwar dkk, 2015).

Salah satu teknik analisis metabolit yang penting adalah *metabolite profiling*. *Metabolite profiling* merupakan suatu proses yang bertujuan untuk mengidentifikasi dan mengukur senyawa metabolit yang penting, yang sering berhubungan dengan jalur metabolit tertentu. Profil metabolit merupakan suatu pendekatan analisis yang digunakan untuk memperoleh gambaran menyeluruh tentang profil metabolik suatu sampel. Metode ini mensyaratkan teknik analisis yang mampu mendeteksi berbagai jenis metabolit secara simultan dengan sensitivitas dan kecepatan yang tinggi. Selain itu, metode ini juga harus dapat

diotomatisasi untuk meningkatkan efisiensi analisis dan reproduktibilitas data. Metode ini dianggap lebih efisien, responsif, serta merupakan sistem yang telah terbukti dan mampu mengidentifikasi berbagai jenis metabolit. Penggunaan profil metabolit dapat memberikan gambaran perbandingan fungsi gen. Profil metabolit memiliki potensi untuk memberikan wawasan lebih dalam tidak hanya dalam proses regulasi yang kompleks, tetapi juga dalam menentukan fenotipe secara langsung (Hanwar dkk, 2015).

Identifikasi profil metabolit sangat penting dalam penelitian aktivitas farmakologis tumbuhan sebagai bahan dasar obat herbal. Tujuan dari pengidentifikasian profil metabolik ini adalah untuk memahami jalur sistem biologis dalam tumbuhan dan sebagai biomarker potensial untuk pengembangan obat dan terapi baru bagi manusia. Metabolomik adalah studi mengenai metabolit yang mencerminkan status fisiologis organisme yang dipengaruhi oleh genetik dan lingkungan (Simamora dan Wening, 2021).

Metabolomik adalah sebuah disiplin ilmu yang melibatkan pengukuran metabolit secara menyeluruh dan merupakan studi yang menggabungkan ilmu biologi, kimia analitik, dan bioinformatik. Keunggulan metabolomik terletak pada pengumpulan data analitik yang memperhitungkan semua metabolit dalam sistem seluler, serta ekstraksi elemen data yang paling berperan dalam sampel menggunakan berbagai jenis analisis data dengan pendekatan statistik. Bidang metabolomik terus berkembang pesat dalam dekade terakhir dan terbukti sebagai teknologi yang sangat kuat dalam memprediksi dan menjelaskan fenotip kompleks dalam berbagai sistem biologis (Putri dkk, 2017).

Biasanya, dalam melakukan analisis metabolomik yang kompleks ini, terdapat empat metode yang digunakan, yaitu profil metabolit, sidik jari metabolit, target metabolit, dan sidik jari metabolit. Secara umum, profil metabolit adalah analisis metabolit yang berfokus pada satu atau lebih kelompok senyawa yang terkait dengan jalur sintesis metabolit tertentu atau korelasinya dengan senyawa lain. Analisis sidik jari metabolit, atau sering disebut sebagai analisis sidik jari metabolit, adalah pendekatan analisis berbasis senyawa tanpa target yang mengklasifikasikan hasil deteksi ke dalam kelompok-kelompok senyawa tanpa melakukan identifikasi lebih lanjut. Biasanya, analisis sidik jari metabolit digunakan ketika peneliti ingin membandingkan perbedaan atau persamaan pola metabolit antara dua atau lebih sampel, sehingga diperlukan sidik jari yang menunjukkan karakteristik tertentu. Analisis metabolit target adalah metode identifikasi dan kuantifikasi metabolit tertentu untuk jalur sintesis tertentu sesuai dengan senyawa target yang ingin diidentifikasi oleh peneliti. Sedangkan analisis sidik jari metabolit adalah metode yang digunakan untuk mengidentifikasi metabolit yang disekresikan atau tidak dimanfaatkan oleh sel atau jaringan (Simamora dan Wening, 2021).

Umumnya terdapat langkah-langkah yang terlibat dalam analisis metabolomik antara lain (Krastanov, 2010):

- a. *Profiling*, juga dikenal sebagai analisis ekspresi diferensial, melibatkan pencarian metabolit yang diinginkan dengan variasi kelimpahan yang signifikan secara statistik dalam serangkaian sampel eksperimental dan kontrol.

- b. Identifikasi, merupakan tahap lanjutan dari profil metabolit yang bertujuan untuk menentukan struktur kimia spesifik dari metabolit yang telah terdeteksi.
- c. Validasi, melibatkan penggunaan jumlah sampel yang jauh lebih besar untuk memperhitungkan pengaruh variasi alami atau biologis guna memvalidasi metabolit yang telah diidentifikasi sebelumnya. Proses ini bersifat kuantitatif dan memerlukan standar analitis.
- d. Interpretasi, sebagai langkah terakhir dalam alur kerja, bertujuan untuk menghubungkan metabolit yang teridentifikasi dengan proses biologis atau kondisi fisiologis yang terjadi pada organisme.

Metabolomik memungkinkan identifikasi komposisi dan konsentrasi senyawa dalam sampel. Berbagai platform analisis yang digunakan dalam metabolomik antara lain *Gas Chromatography-Mass Spectroscopy* (GC-MS), *Liquid Chromatography-Mass Spectroscopy* (LC-MS), detektor *Nuclear Magnetic Resonance* (NMR), dan *Fourier Transform-Infrared Spectroscopy* (FTIR). Setiap teknik tersebut memiliki kelebihan dan kekurangan ketika digunakan untuk menganalisis sampel (Warsito, 2018).

Tabel 4.2 Perbandingan metode analisis yang biasa digunakan dalam metabolomik (Warsito, 2018).

Metode	Keunggulan	Kelemahan
GC-MS	1. Cukup sedikit sampel saja yang dibutuhkan (hanya 0,1-0,2 mililiter). 2. Sangat sensitif, bisa mendeteksi zat yang sangat	1. Analisis ini akan "merusak" sampel sehingga sampel asli tidak dapat digunakan lagi untuk pengujian lain.

	sedikit (sampai 0,5 mikroliter). 3. Sudah ada banyak data dan perangkat lunak yang siap pakai. 4. Mampu memisahkan berbagai jenis senyawa dengan baik. 5. Hasilnya selalu konsisten dan bisa diulang.	2. Perlu dilakukan derivatisasi untuk analisis senyawa tertentu 3. Metode ini tidak cocok untuk senyawa yang mudah rusak pada suhu tinggi. 4. Setiap sampel memerlukan waktu antara 10 hingga 40 menit untuk dianalisis.
LC-MS	1. Kemampuannya dalam mendeteksi zat dalam jumlah yang sangat kecil membuatnya sangat akurat. 2. Metode ini sangat fleksibel dan dapat digunakan untuk menganalisis berbagai jenis zat, baik zat organik (seperti protein, karbohidrat, lemak) maupun beberapa jenis zat anorganik (seperti logam).	1. Analisis ini akan "merusak" sampel sehingga sampel asli tidak dapat digunakan lagi untuk pengujian lain. 2. Setiap sampel memerlukan waktu antara 15 hingga 40 menit untuk dianalisis.
NMR	1. Hasil analisis bisa diperoleh dengan cepat. 2. Sampel tetap utuh setelah proses analisis. 3. Sampel yang dibutuhkan sangat sedikit (10-100 μL) 4. Proses persiapan sampel sangat sederhana.	1. Sulit mendeteksi senyawa yang konsentrasinya sangat rendah. 2. Tidak dapat digunakan untuk mengidentifikasi mineral atau garam. 3. Volume sampel 0.1-0.5 mL
FTIR	1. Waktu yang dibutuhkan untuk mendapatkan hasil sangat singkat.	1. Spektra kompleks 2. Lebih dari satu puncak perkomponen

	2. Membuat profil kimia lengkap dari suatu sampel. 3. Proses persiapan sampel sangat sederhana.	3. Sangat sulit untuk mengetahui secara spesifik jenis-jenis metabolit yang terkandung dalam sampel. 4. Sebelum dilakukan analisis, sampel harus dikeringkan terlebih dahulu.
--	--	--

Diagram prosedur pemetaan metabolit melibatkan tiga tahap utama, yaitu persiapan sampel, pengambilan data, dan pengolahan data. Untuk memastikan pemetaan metabolit yang efektif, diperlukan spesifikasi tertentu seperti kecepatan, sensitivitas yang tinggi, otomatisasi, keandalan, dan kemampuan analisis metabolit dalam jumlah besar (Hanwar dkk, 2015). Oleh karena itu, diperlukan alat analisis statistik yang memadai untuk menemukan metabolit secara signifikan, database untuk identifikasi metabolit, dan perangkat lunak untuk memvisualisasikan interaksi jaringan secara molekuler (Krastanov, 2010). GC/MS dan LC/MS adalah instrumen yang paling umum digunakan dalam proses ini. Spektrometri massa (MS) adalah teknik analisis yang sangat kuat. Alat ini bisa digunakan untuk mengidentifikasi jenis suatu zat (kualitatif) dan mengukur jumlahnya (kuantitatif) secara akurat dan cepat. Di antara kombinasi MS dengan kromatografi, LC-MS (Liquid Chromatography-Mass Spectrometry) memiliki keunggulan lebih tinggi. LC-MS lebih sensitif dibandingkan GC-MS (*Gas Chromatography-Mass Spectrometry*) sehingga bisa mendeteksi zat dalam jumlah yang lebih sedikit. Selain itu, LC-MS juga cocok untuk menganalisis zat yang mudah rusak oleh panas, karena tidak melibatkan pemanasan seperti pada GC-MS. Persiapan

sampel untuk LC-MS juga lebih sederhana. LC-MS dapat mendeteksi berbagai molekul, mulai dari molekul polar seperti gula hingga senyawa non-polar (Warsito, 2018).

2.9 UPLC-MS/ MS

Ultra Performance Liquid Chromatograph-Mass Spectrometer (UPLC-MS) adalah salah satu alat yang digunakan untuk menganalisis profil metabolit dari tanaman. UPLC merupakan teknologi terkini dalam memisahkan senyawa dalam sampel biologis yang kompleks, seperti tumbuhan. UPLC menawarkan beberapa keunggulan dibandingkan metode tradisional, termasuk sensitivitas dan resolusi yang tinggi, pemisahan yang memuaskan, dan deteksi yang cepat. Kemampuan analisisnya berasal dari pemisahan oleh *Liquid Chromatography* dan kemampuan analisa massa dari sistem *Quadrupole Time of Flight* dari spektrometri massa yang menghasilkan akurasi massa dan resolusi yang tinggi. Kombinasi UPLC-MS dengan *Quadrupole Time-of-Flight Mass Spectrometry* (QToF-MS) meningkatkan keandalan UPLC-MS dalam menghasilkan profil metabolit yang lengkap. Penggunaan UPLC bersama dengan double MS menghasilkan data yang memiliki tingkat positif palsu yang sangat rendah, lebih akurat, dan instrumen ini memiliki waktu analisis yang lebih cepat daripada instrumen lainnya (Madala *et al*, 2016). Sistem UPLC-QToF-MS/MS memiliki peran penting dalam karakterisasi senyawa fenolik karena kemampuannya dalam memberikan akurasi massa dan distribusi spektrum isotop melalui spektrometri massa MS atau MS/MS. Walaupun instrumen ini memiliki performa yang baik, terdapat batasan terkait umur pakai komponennya. Penggunaan tekanan yang

terlalu tinggi dapat memperpendek usia pakai kolom. Untuk menjaga umur kolom, tekanan yang digunakan biasanya lebih rendah daripada kapasitas maksimum yang dimiliki instrumen (Tzima *et al*, 2018).

Melalui penggunaan analisis profil metabolik dengan UPLC-MS, dapat dihasilkan data kualitatif dan kuantitatif. Data kualitatif diperoleh dari deteksi senyawa pada tiap puncak kromatografi, sedangkan data kuantitatif didapatkan dari persentase konsentrasi masing-masing senyawa berdasarkan luas puncak kromatografi. UPLC-MS adalah metode analisis yang merupakan perkembangan dari LC-MS dan berguna untuk mengidentifikasi profil metabolit dalam sampel. Teknik analisis ini memiliki keunggulan, seperti resolusi yang tinggi, hasil kromatografi yang kuat dan konsisten, pengukuran massa dan informasi struktur yang akurat, serta kemampuan deteksi banyak metabolit dari sampel tanaman (Hakim dkk, 2018).

Prinsip kerja UPLC yakni pemisahan kandungan beragam senyawa berdasarkan variasi polaritasnya dan membentuk fragmen ion bermuatan yang akan terdeteksi massanya oleh spektrometri massa dari data spektrum massa yang terekam (Ariyanti dkk, 2021). Prinsip dasar kerja UPLC berdasarkan pada efisiensi suatu analisis, seperti yang dijelaskan dalam persamaan Van Deemter, sangat dipengaruhi oleh seberapa cepat sampel mengalir melalui kolom (laju alir) dan seberapa baik kolom tersebut memisahkan komponen-komponen dalam sampel (tinggi plat). UPLC merupakan perkembangan dari HPLC yang bertujuan untuk meningkatkan resolusi dengan mengurangi kolom kemasan, ukuran partikel, dan efisiensi. Saat ukuran partikel < 2 mikrometer, kualitas hasil analisis meningkat pesat dan tidak mengalami penurunan dengan

meningkatnya kecepatan aliran. Dengan menggunakan partikel yang lebih kecil, analisis dapat dilakukan dengan lebih cepat dan kapasitas puncak dapat ditingkatkan hingga mencapai nilai maksimum. Hal ini menjadikan UPLC lebih superior daripada metode HPLC (Reddy *et al*, 2012).

Tabel 4.3 Perbedaan uji HPLC dan UPLC (Sheliya and Shah, 2013)

Karakteristik	HPLC	UPLC
Kolom	150x3.2 mm	150x2.1 mm
Ukuran partikel	3 to 5 μm	Kurang dari 2 μm
<i>Flow rate</i>	3.0 ml/min	0.6 ml/min.
Cuci jarum	Methanol	Methanol
Volume injeksi	5 μL (std. in 100% MeOH)	2 μL (std. in 100% MeOH)
Suhu kolom	30°C	65°C
Maksimum tekanan balik	5-40 Mpa	103.5Mpa
Gradien (menit) ACN:H ₂ O	T0 (25:75), T6.5(25:75), T7.5(95:5), T9(25:75), T10(25:75)	T0 (36:64), T1.1(95:5) T1.3(36:64)
Total <i>run time</i>	10 min.	1.5 min.
Total konsumsi pelarut	Asetonitril : 10.5ml Air : 21.0 ml	Asetonitril : 0.53 ml Air : 0.66 ml
Plate count	2000	7500
Resolusi USP	3.2	3.4
Volume tunda	750 μl	110 μl

UPLC telah menjadi platform standar HPLC yang treni karena memiliki potensi throughput kromatografi pengambilan sampel yang akumulatif, sensitivitas yang tinggi, dan waktu proses yang lebih singkat. UPLC mampu menangani tekanan hingga 15.000 psi, menjadikannya teknologi terbaru dalam analisis kromatografi cair. Pada dasarnya, UPLC adalah bentuk kromatografi cair kinerja tinggi yang ditingkatkan dengan penggunaan tekanan tinggi, dan memberikan resolusi puncak dan sensitivitas yang luar biasa. UPLC berkontribusi pada peningkatan kecepatan, resolusi kromatografi, dan sensitivitas analisis dalam 3 bidang. Metode UPLC menggunakan partikel halus dengan ukuran kurang dari 2,5 μm , sehingga mengurangi panjang kolom. Selain itu, penggunaan pelarut juga berkurang, menghemat waktu. UPLC bekerja berdasarkan prinsip kromatografi dengan melibatkann kolom yang diisi dengan partikel lebih kecil dan laju alir yang lebih kencang untuk menjalankan partisi. Partikel yang lebih kecil memungkinkan peningkatan kecepatan dan kapasitas puncak hingga batas baru. Prinsip yang diterapkan dalam mekanisme pemisahan ini adalah persamaan Van Deemter (Gupta *et al*, 2022):

$$H = A + \frac{B}{V} + Cv$$

H = Menggambarkan tinggi kolom (HETP) yang menafsirkan efisiensi suatu kolom.

A = Konstanta unsur difusi putaran dari arus tidak dipengaruhi oleh nilai kecepatan linier dan keberadaannya tidak berpengaruh (v)

B = Difusi aksial memiliki hubungan terbalik dengan nilai kecepatan linier (v).

C = Resistensi kinetik digunakan sebagai indikator untuk mengukur tingkat keseimbangan selama proses penguraian berlangsung. Resistensi ini mengacu pada periode waktu di mana terjadi perpindahan timbal balik antara fase gerak dan fase diam.

v = Arus kecepatan linier dari gas pembawa

UPLC adalah metode analisis yang memiliki kecepatan, resolusi, dan sensitivitas yang superior. Keunggulan ini terwujud melalui penggunaan teknologi instrumentasi yang canggih dan desain sistem yang terintegrasi dengan baik. Beberapa komponen yang terdapat dalam instrumen UPLC meliputi (Harmita dkk, 2019):

1. *Reservoir* : Tempat penampung fase gerak sebelum dialirkan oleh pompa ke dalam kolom beserta sampelnya.
2. *Pompa* : Menyalurkan fase gerak dari reservoir secara stabil dan terus-menerus menuju sistem. Pompa harus dapat mencapai tekanan antara 500 hingga 15000 psi dan memastikan pengiriman fase gerak berjalan dengan akurat, dapat direproduksi, konsisten, dan bebas dari gangguan.
3. *Sample manager* : *Sample manager* memiliki area penyimpanan vial sampel dan jarum suntik digunakan untuk memasukkan sampel ke dalam kolom. Suhu di dalam ruang penyimpanan sampel dapat diatur sesuai dengan jenis sampel yang dianalisis.
4. *Injector* : (*Autosampler*) yang secara otomatis memasukkan sampel ke dalam kolom menggunakan sebuah alat suntik khusus yang disebut loop-katup. Alat suntik ini merupakan jenis yang paling sering digunakan. Saat memasukkan sampel, jumlah sampel yang dimasukkan sedikit lebih

banyak dari ukuran ruang penampung sampel (*loop*), namun tidak boleh terlalu banyak. Setelah itu, alat suntik akan secara otomatis memindahkan sampel ke dalam kolom. Sistem ini biasanya menggunakan gaya hisap untuk menarik sampel ke dalam loop, bukan mendorongnya. Selain itu, sistem ini juga dilengkapi dengan cara khusus untuk membersihkan alat suntik agar sampel yang tertinggal tidak mencemari sampel berikutnya.

5. Kolom : digunakan dalam analisis LCMS/MS yang memiliki peran penting dalam memisahkan berbagai komponen yang ada dalam sampel. Karena harus mampu menahan tekanan yang sangat tinggi, kolom biasanya terbuat dari bahan yang sangat kuat seperti stainless steel atau campuran logam dan kaca. Sambungan antar bagian kolom harus sangat rapat agar tidak ada kebocoran. Isi di dalam kolom harus terdistribusi merata dan tidak mudah berubah. Ukuran partikel yang mengisi kolom sangat kecil, sekitar 2 mikrometer, dan tekanan yang dihasilkan oleh sistem ini bisa mencapai 15.000 psi. Panjang kolom biasanya antara 5 sampai 15 cm.

Sementara itu, terdapat beberapa komponen dalam *Mass Spectrometer* (MS) antara lain (Harmita dkk, 2019):

1. *Ion Source* : Ada banyak cara untuk mengubah suatu zat menjadi partikel bermuatan (ion) sebelum dianalisis menggunakan spektrometri massa. Pemilihan metode yang tepat sangat bergantung pada energi yang dihasilkan selama proses pengionan dan sifat-sifat zat yang akan kita teliti. Beberapa metode yang populer saat ini adalah *Electrospray Ionization* (ESI), *Atmospheric Pressure Chemical Ionization* (APCI), *Atmospheric*

Pressure Photo-Ionization (APPI), dan Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization (MALDI).

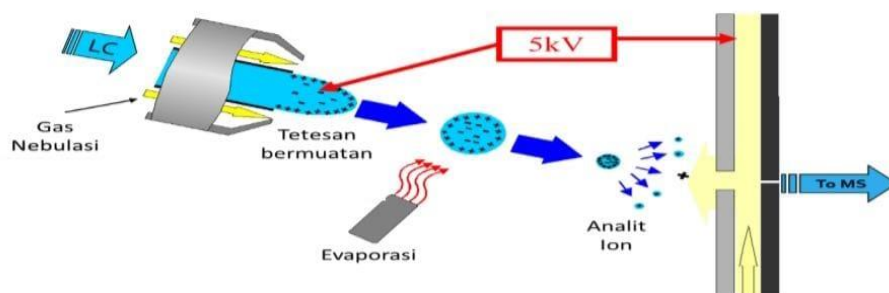
2. *Mass Analyzer* : Setelah sampel diubah menjadi partikel bermuatan (ion) dalam bentuk gas, ion-ion ini kemudian dipisahkan berdasarkan beratnya masing-masing. Alat yang digunakan untuk memisahkan ion ini disebut mass analyzer. Mass analyzer mengukur perbandingan antara berat ion (massa) dengan jumlah muatannya (m/z). Jadi, jika sebuah ion memiliki muatan lebih dari satu, maka nilai yang diukur oleh mass analyzer akan lebih kecil dari berat sebenarnya dari ion tersebut. Beberapa jenis mass analyzer yang umum digunakan adalah *quadrupole*, *ion trap*, *time-of-flight (TOF)*.
3. Detektor : Alat ini dapat mengenali sampel di dalam kolom dengan menghitung kadar yang ditampilkan dalam bentuk angka di komputer. Hal ini sangat membantu dalam menganalisis komponen senyawa sebagai data kuantitatif.
4. Komputer : Alat yang mengatur sistem operasi instrumen dan menangkap sinyal detektor kemudian diolah menjadi data kuantitatif sebagai sumber informasi parameter dari analisis komponen senyawa.

Prosedur elusi yang dapat digunakan oleh UPLC terdiri dari dua sistem, yaitu elusi isokratik dan gradien. Elusi adalah proses di mana senyawa terlarut dipisahkan oleh fase gerak. Sistem ini umumnya digunakan untuk mengatur fase gerak dalam instrumen pemisahan (Husna dan Mita, 2020). Teknik elusi terbagi menjadi dua, yaitu elusi isokratik dan elusi gradien. Pada metode elusi isokratik, campuran pelarut yang digunakan untuk memisahkan komponen-

komponen dalam sampel tidak diubah selama proses pemisahan. Sebaliknya, pada metode elusi gradien, komposisi campuran pelarut secara bertahap diubah selama proses pemisahan (Muldianah dkk, 2022). Penelitian ini menggunakan prosedur elusi gradien, yang lebih efektif daripada elusi isokratik karena menghasilkan pemisahan yang lebih optimal. Fase gerak yang digunakan adalah campuran air dan asam format dengan perbandingan (99,9 : 0,1,) serta campuran asetonitril dan asam format dengan perbandingan (99,9 : 0,1). Campuran ini dipilih karena efektif dalam pemisahan dan membutuhkan waktu yang lebih efisien, yaitu 10-15 menit (Hakim dkk, 2018).

Sumber ionisasi merupakan komponen dari spektrometer massa yang bertugas mengionisasi sampel yang akan dianalisis. Sumber ion yang digunakan oleh tipe MS ini adalah *Electrospray Ionization* (ESI). Proses ionisasi *Electrospray Ionization* (ESI) mengubah sampel menjadi partikel bermuatan (ion) dalam tiga tahap utama, yaitu pembentukan tetesan bermuatan, pengurangan ukuran tetesan bermuatan, dan pembentukan ion dalam fase gas. Pertama, larutan sampel yang keluar dari kromatografi cair disemprotkan menjadi tetesan-tetesan kecil yang bermuatan listrik. Proses penyemprotan ini terjadi di dalam sebuah kapiler yang memiliki ujung runcing (*Taylor cone*). Di dalam kapiler ini terdapat elektroda positif dan negatif yang berfungsi untuk memberikan muatan pada tetesan-tetesan tersebut sehingga saling tolak-menolak dan tidak bergabung kembali menjadi tetesan yang lebih besar. Muatan pada tetesan ini berasal dari interaksi antara molekul sampel dengan pelarut di bawah pengaruh medan listrik yang kuat (Harmita dkk, 2019).

Pada tahap kedua, tetesan yang mengandung muatan akan mengalami penurunan ukuran karena pelarutnya menguap. Karena tetesan-tetesan yang terbentuk semakin kecil, muatan listrik di permukaannya menjadi semakin padat. Hal ini menyebabkan tetesan tersebut menjadi tidak stabil dan pecah menjadi tetesan yang lebih kecil lagi. Proses pemecahan ini terus berulang hingga akhirnya hanya tersisa ion-ion dari sampel yang kita uji. Ada beberapa jenis tetesan yang bisa terbentuk selama proses ini, yaitu: a. Tetesan analit dengan satu muatan dan beberapa muatan (analit ion), b. Tetesan satu analit bersama solven yang diliputi muatan positif, c. Tetesan beberapa analit bersama beberapa *solvent* yang diliputi beberapa analit. Pada tahap terakhir, setelah terbentuk ion-ion, ion-ion tersebut akan masuk ke dalam sebuah area yang disebut "cone" atau kerucut. Di sekitar kerucut ini terdapat aliran gas nitrogen. Gas nitrogen berfungsi seperti perisai, melindungi ion-ion sampel agar tidak bereaksi dengan oksigen di udara dan tetap stabil. Setelah melewati kerucut, ion-ion sampel kemudian akan dibawa ke alat yang disebut "penganalisis massa" untuk dipisahkan dan diidentifikasi (Harmita dkk, 2019).



Gambar 2.5 Prinsip ionisasi menggunakan metode ESI (Harmita dkk, 2019)

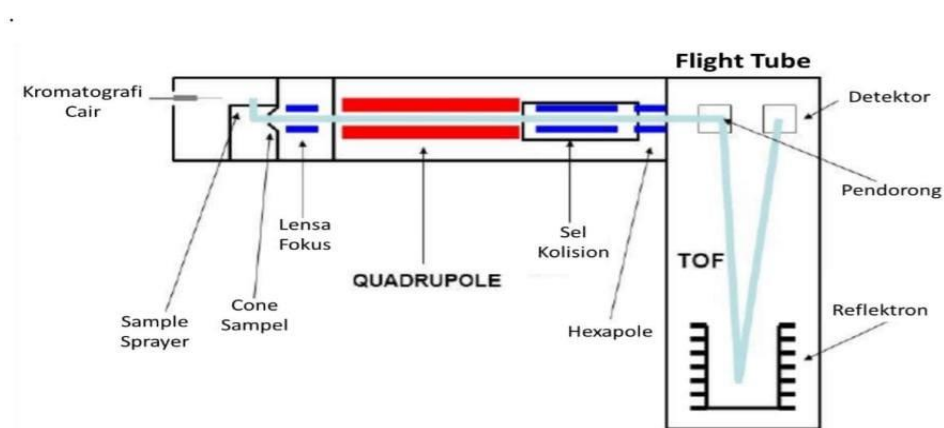
Spektrometer massa bisa digabungkan dengan spektrometer massa lain, baik yang sama jenisnya maupun yang berbeda jenis. Spektrometer massa

tandem pada umumnya menggabungkan dua penganalisis spektrometri massa dengan menggunakan ruang tumbukan. Pada dasarnya, spektrometer massa tandem dapat dipahami dengan dua cara, yaitu tandem ruang dan tandem waktu. Contoh spektrometer massa tandem ruang yang umum digunakan adalah *triple quadrupole* dan *quadrupole-TOF* (Harmita dkk, 2019).

Spektrometer massa QToF digunakan untuk mengidentifikasi molekul dengan sangat akurat. Alat ini bekerja dalam dua tahap utama. Pertama, ion-ion yang dihasilkan dari sampel akan melewati quadrupole, yang berfungsi seperti filter untuk memisahkan ion-ion berdasarkan perbandingan massa terhadap muatannya. Ion-ion yang lolos kemudian dipercepat dan diterbangkan melalui tabung penerbangan. Waktu yang dibutuhkan oleh setiap ion untuk mencapai detektor berbeda-beda, tergantung pada massanya. Dengan mengukur waktu tempuh ini, kita dapat menentukan massa dan struktur molekul. Pada penganalisis massa *quadrupole*, Ion-ion yang telah diidentifikasi berdasarkan perbandingan massa terhadap muatannya (m/z) kemudian dipecah menjadi fragmen-fragmen yang lebih kecil melalui proses tabrakan. Fragmen-fragmen ini kemudian dipercepat dan diterbangkan melalui sebuah tabung vakum. Waktu yang dibutuhkan oleh setiap fragmen untuk mencapai detektor bergantung pada perbandingan massa terhadap muatannya, sehingga memungkinkan identifikasi jenis fragmen dan molekul asal. Waktu yang dibutuhkan oleh setiap fragmen ion untuk mencapai detektor bergantung pada perbandingan massa terhadap muatannya (m/z). Dengan mengatur detektor untuk hanya menangkap fragmen dengan perbandingan massa terhadap muatan tertentu, kita dapat menganalisis pola fragmentasi secara lebih

spesifik. Hal ini memungkinkan kita untuk mengidentifikasi molekul asal dengan tingkat akurasi yang tinggi (Harmita dkk, 2019).

Keunggulan TOF adalah kemampuannya untuk memungkinkan analisis simultan terhadap semua ion dalam sampel, sehingga efisiensi analisis meningkat. Selain itu, QTOF-MS mampu memberikan informasi yang sangat detail tentang massa ion induk dan fragmennya, sehingga identifikasi senyawa menjadi lebih akurat. Kemampuan analisis massa QToF adalah kemampuannya yang mampu menentukan massa molekul dengan akurasi hingga empat angka di belakang koma, memungkinkan identifikasi senyawa secara presisi berdasarkan rumus empirisnya. Kombinasi dengan kromatografi cair meningkatkan kemampuan analisis untuk senyawa-senyawa biomolekul seperti protein, peptida, asam nukleat, dan metabolit. (Harmita dkk, 2019).



Gambar 2.6 Diagram skema UPLC- QToF-MS/MS (Harmita dkk, 2019)

Metode Ultra Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry (UPLC-MS/MS) menggunakan partikel pengisi kolom dengan ukuran kurang dari 2,0 μm dan tekanan hingga 15.000 psi. Efisiensi pemisahan sampel pada kolom dapat ditingkatkan dengan cara ini. Sensitivitas juga

meningkat dengan penggunaan partikel pengisi kolom yang lebih kecil dan spektrometri massa. Selain itu, durasi yang diperlukan untuk analisis juga lebih cepat (Harmita dkk, 2019). Oleh karena itu, pemakaian UPLC-QToF-MS/MS dimaksudkan untuk memperoleh data profil metabolit daun bunga matahari yang lebih komprehensif dan tepat.

2.10 Prediksi Sifat Fisikokimia dan Toksisitas Senyawa

2.10.1 PubChem

PubChem adalah sebuah situs web yang digunakan untuk mencari bahan kimia berdasarkan nama, rumus molekul, struktur, dan pengidentifikasi lainnya. Situs ini juga mengumpulkan Canonical SMILE dari setiap senyawa melalui web (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) (Ruriasri dkk, 2021). *PubChem* dikelola oleh Pusat Informasi Bioteknologi Nasional (NCBI) di Institut Kesehatan Nasional (NIH) dengan tujuan menyediakan struktur ligan yang digunakan dalam proses penambatan molekul. Kualitas molekul yang terlibat dalam penambatan ini ditentukan oleh resolusi, di mana semakin rendah nilai resolusi menunjukkan kualitas resolusi yang lebih baik. Situs web ini menyajikan informasi mengenai zat kimia serta aktivitas biologis dari suatu senyawa. *PubChem* terorganisir dalam tiga basis data utama: substansi, senyawa, dan *bioassay*. Masing-masing basis data menyimpan informasi spesifik tentang zat kimia, mulai dari data umum hingga data bioaktivitas. *PubChem* telah menjadi sumber data kimia yang sangat penting dalam berbagai bidang penelitian, termasuk kimia komputasi, biologi kimia, dan farmasi. Data yang tersedia di *PubChem* juga banyak digunakan dalam pengembangan model pembelajaran mesin untuk berbagai tujuan, seperti prediksi aktivitas biologis

senyawa, identifikasi kembali obat yang sudah ada, dan penilaian risiko toksisitas (Kim *et al*, 2021).

2.10.2 Prediksi Sifat Fisikokimia Senyawa

Pengujian ini dimaksudkan untuk memverifikasi keberadaan sifat fisikokimia senyawa berdasarkan hukum lima lipinski. Biasanya, kandidat obat baru dievaluasi terlebih dahulu dengan menganalisis kesamaan karakteristik dengan obat yang sudah ada. Evaluasi sifat yang mirip dengan obat juga didasarkan pada hukum lima lipinski. Hukum lima lipinski berlaku untuk obat yang akan diberikan melalui mulut dan memberikan informasi tentang sifat fisikokimia senyawa (Nusantoro dan Fadlan, 2020). Untuk memodifikasi struktur secara lebih efisien dan efektif, upaya harus dilakukan sebelum sintesis senyawa untuk memverifikasi sifat fisikokimia molekul senyawa tersebut. Parameter-parameter tersebut akan mempengaruhi kinetika paparan obat ke jaringan dan pengikatan obat ke tempat kerja untuk mencapai efek yang diinginkan (Nursanti, 2019; Dwi dkk, 2020).

Langkah pertama dalam menentukan bioavailabilitas oral obat dalam hubungannya dengan kelarutan dan permeabilitas senyawa dalam saluran pencernaan adalah dengan menggunakan parameter hukum lima lipinski. Senyawa yang diuji harus memenuhi atau paling tidak tidak memenuhi satu parameter. Parameter yang harus dipenuhi meliputi $\log P \leq 5$, berat molekul ≤ 500 g/mol, *Hydrogen Bond Donors* ≤ 5 , *Hydrogen Bond Acceptors* ≤ 10 , *Torsion* ≤ 10 , dan *Polar Surface Area* ≤ 140 (Apriali dkk, 2022). Hukum lima lipinski disebut demikian karena setiap nilai dari aturan tersebut merupakan kelipatan lima, yang dapat menunjukkan apakah senyawa tersebut bersifat

hidrofobik atau hidrofilik dalam membran sel melalui difusi pasif. Nilai log P menunjukkan tingkat kelarutan suatu senyawa dalam lemak dibandingkan dengan air. Semakin tinggi nilai log P, semakin hidrofobik (tidak suka air) senyawa tersebut, sehingga lebih mudah berinteraksi dengan lingkungan lipid seperti membran sel

Molekul yang sangat hidrofobik cenderung mempunyai toksisitas yang lebih tinggi karena mereka cenderung terakumulasi dalam membran lipid dan berinteraksi secara non-spesifik dengan berbagai target biologi. Sebaliknya, molekul yang terlalu hidrofilik sulit menembus membran sel. Selain itu, berat molekul yang terlalu besar juga dapat membatasi kemampuan molekul untuk berdifusi melintasi membran. Kemampuan suatu senyawa membentuk ikatan hidrogen akan mempengaruhi kelarutannya. Semakin banyak ikatan hidrogen, semakin sulit senyawa tersebut larut dalam pelarut non-polar seperti lipid membran sel. Aturan lima lipinski digunakan sebagai acuan awal untuk memprediksi kemampuan senyawa dalam menembus membran sel melalui difusi pasif (Syahputra dkk, 2014).

2.10.3 *pkCSM*

pkCSM merupakan sebuah situs web yang digunakan untuk memverifikasi karakteristik fisikokimia senyawa berdasarkan aturan lima lipinski. Prediksi profil fisikokimia senyawa meliputi berat molekul (BM) senyawa, logaritma koefisien partisi oktanol/air (Log P); *Hydrogen Bond Acceptors* (HBA), dan *Hydrogen Bond Donors* (HBD). Database ini dapat diakses secara gratis melalui situs web

(<http://biosig.unimelb.edu.au/pkcsim/prediction>) (Nursanti, 2019; Kesuma dkk, 2018).

2.10.4 Penilaian Toksisitas Senyawa

Uji toksisitas senyawa dilakukan untuk menguji aktivitas farmakologis dari suatu senyawa yang terbentuk dengan cepat setelah terpapar atau diberikan pada dosis tertentu. Tujuan dari uji ini adalah untuk memperoleh informasi tentang tingkat toksisitas suatu senyawa. Prinsip yang digunakan dalam uji ini adalah bahwa pada dosis yang tinggi, komponen bioaktif selalu memiliki sifat toksik, sedangkan pada dosis yang rendah memiliki efek terapeutik. Toksik sendiri adalah senyawa beracun yang dapat menyebabkan efek negatif dan merugikan bagi manusia, bahkan dapat menyebabkan kematian. Memprediksi toksisitas senyawa merupakan bagian penting dalam pengembangan obat baru. Namun, uji kombinasi sintesis dan aktivitas obat sangat kompleks dan memakan waktu yang lama. Oleh karena itu, para peneliti sedang mencari cara yang lebih efisien dan efektif untuk menemukan senyawa-senyawa yang berpotensi sebagai obat baru (Nursanti, 2019).

Salah satu upaya yang banyak dilakukan adalah menggunakan metode kimia komputasi. Metode ini tidak hanya lebih cepat daripada uji toksisitas pada hewan, tetapi juga dapat membantu mengurangi jumlah penelitian pada hewan coba. Satuan yang dipakai untuk mengukur tingkat toksisitas yakni *Lethal Dose 50* (LD_{50}). LD_{50} merupakan jumlah dosis yang diukur dalam miligram per kilogram bobot hewan percobaan, yang dapat mengakibatkan 50 persen kematian pada hewan tersebut dalam jangka waktu tertentu. Semakin

kecil angka LD₅₀, semakin toksik suatu senyawa, sedangkan semakin besar angka LD₅₀, semakin aman senyawa tersebut (Nursanti, 2019).

Klasifikasi toksisitas senyawa terbagi ke dalam beberapa kategori. (Nursanti, 2019):

- A. Kelas I : Fatal jika tertelan ($LD_{50} \leq 5$)
- B. Kelas II : Fatal jika tertelan ($5 < LD_{50} \leq 50$)
- C. Kelas III : Beracun jika tertelan ($50 < LD_{50} \leq 300$)
- D. Kelas IV : Berbahaya jika tertelan ($300 < LD_{50} \leq 2000$)
- E. Kelas V : Mungkin berbahaya jika tertelan ($2000 < LD_{50} \leq 5000$)
- F. Kelas VI : Tidak beracun ($LD_{50} > 5000$)

2.10.5 Protox

Protox adalah sebuah platform yang dirancang untuk memprediksi tingkat *oral toxicity* (LD₅₀) pada hewan laboratorium dan mengklasifikasikan tingkat toksisitas senyawa berdasarkan Global Harmonized System (GHS) (Kesuma *et al*, 2018). Protox juga merupakan sebuah perangkat lunak yang dapat memastikan adanya toksisitas pada senyawa yang sangat kecil. Pengguna dapat mengakses Protox melalui situs web (<http://tox.charite.de>) yang dirancang khusus untuk memprediksi tingkat toksisitas molekul kecil. Proses ini melibatkan penggunaan berbagai format input untuk bahan kimia, seperti nama umum, struktur kimia, atau formula kimia, yang kemudian dapat diklasifikasikan berdasarkan database referensi program (Nursanti, 2019).

2.11 Uji Prediction of Activity Spectra for Substance (PASS)

Perlunya validasi terhadap potensi kandungan dan aktivitas bioaktif dalam senyawa metabolit sekunder daun bunga matahari sangat penting. Oleh

karena itu, dilakukan analisis dengan menggunakan perangkat lunak PASS. Evaluasi kemungkinan aktivitas biologis dari senyawa utama yang teridentifikasi dilakukan dengan bantuan program komputer *Prediction of Activity Spectra for Substances* (PASS) (Adnan *et al*, 2019). PASS adalah sebuah program komputer yang dapat memprediksi aktivitas biologis suatu senyawa berdasarkan struktur kimianya. Program ini menggunakan data dari ratusan ribu zat yang sudah diketahui aktivitasnya untuk membuat prediksi. Prinsip kerja PASS adalah bahwa aktivitas biologis suatu senyawa dapat diprediksi berdasarkan kesamaan strukturnya. Dengan hanya menggunakan rumus struktur/molekul, PASS dapat memprediksi profil aktivitas biologis yang diharapkan dari suatu senyawa, bahkan untuk struktur virtual yang belum disintesis dan mampu meramalkan lebih dari 4.000 jenis aktivitas biologis suatu senyawa. Mulai dari efek pengobatan, efek samping, interaksi dengan enzim di dalam tubuh, hingga mekanisme kerja molekulernya, dan lain sebagainya (Basha *et al*, 2018).

Alat ini dapat memprediksi hingga 3750 sifat biologis suatu senyawa, terkait dengan analisis struktur kimianya. Prediksi PASS menunjukkan spektrum aktivitas yang diprediksi berdasarkan nilai *probable activity* (Pa) dan *probable inactivity* (Pi). Senyawa yang memiliki nilai Pa yang lebih besar dari Pi memiliki potensi sebagai senyawa yang berkualitas. Hasil dari uji PASS dengan nilai $Pa > 0.7$ berarti senyawa tersebut sangat aktif secara biologis dan hasilnya tidak berbeda nyata dengan uji pada skala laboratorium. Apabila nilai Pa diantara 0.5 - 0.7, maka senyawa tersebut kemungkinan aktivitasnya moderat, serta apabila $Pa < 0,5$ maka senyawa tersebut kemungkinan

aktivitasnya sangat rendah (Fakih dkk, 2022; Yasmin dkk, 2022). Berdasarkan pengumpulan data terbesar di dunia yang terdiri dari aktivitas biologis senyawa kimia dan strukturnya. *PASS online* memberikan kesempatan kepada penggunaanya untuk mengidentifikasi dan mendokumentasikan potensi struktur timbal dari berbagai zat kimia, yang pada gilirannya dapat mempersingkat proses inovasi obat atau molekul tertentu. Ini sangat membantu dalam penyelidikan untuk penelitian dan analisis. *PASS online* adalah salah satu program yang paling sukses dalam memberikan indikasi awal tentang senyawa yang mungkin bermanfaat (Basha *et al*, 2018).

Dalam penelitian ini, uji *PASS* dimaksudkan untuk memprediksi potensi aktivitas senyawa untuk mencegah, menghambat, menekan pertumbuhan dan penyebaran sel kanker berdasarkan sifat farmakologis dan biologisnya (Fakih dkk, 2022; Yasmin dkk, 2022). Data dari Canonical SMILE yang diperoleh dari *PubChem* kemudian dimanfaatkan untuk memprediksi bioaktivitas melalui uji *PASS*. Akses ke database uji *PASS* ini bisa dijangkau melalui tautan (<http://www.way2drug.com/passonline/predict.php>)

2.12 Network Farmakologi

2.12.1 Definisi

Kemajuan teknologi dan bioinformatika yang pesat telah mendorong penelitian yang semakin banyak dilakukan secara komputasi dengan memanfaatkan perangkat lunak. Proses sintesis bahan aktif seringkali kompleks dan memakan waktu yang lama sebelum zat aktif dapat digunakan. Hal ini menantang para peneliti untuk menemukan cara yang lebih efisien dan efektif dalam menemukan senyawa sebagai kandidat obat baru. Salah satu

solusinya adalah dengan menggunakan metode kimia komputasi, di mana komputer digunakan untuk mengoptimalkan aktivitas, geometri, dan reaktivitas sebelum melakukan percobaan sintesis senyawa. Tujuan dari langkah ini adalah untuk menghindari proses sintesis yang memakan waktu dan biaya tinggi, namun menghasilkan senyawa baru tanpa aktivitas yang diharapkan (Nursanti, 2019).

Salah satu bidang baru dalam pengembangan obat baru dengan bahan alam adalah network farmakologi yang menggunakan *software cytoscape* dan database pendukung. Network farmakologi digunakan untuk menentukan apakah suatu senyawa dapat memberikan efek sinergis yang bermanfaat dalam mengetahui interaksi antar senyawa obat. Dengan demikian, dapat diketahui mekanisme hubungan antara penyakit, protein target, dan senyawa kimia dalam tanaman. Network farmakologi dapat memberikan gambaran mekanisme, efek farmakologi, dan visualisasi jalur molekuler antara obat dan target secara efisien. Hal ini tidak hanya berfokus pada satu target, tetapi juga melibatkan banyak bahan aktif yang berinteraksi dengan gen target atau protein target. Dengan demikian, dapat ditunjukkan bahwa terdapat hubungan interaksi antara obat, target, dan penyakit (Liu *et al*, 2018; Liang *et al*, 2020).

Metode ini digunakan untuk mengidentifikasi senyawa yang memberikan efek sinergis yang bermanfaat dalam mengetahui interaksi antar senyawa obat sehingga dapat dipahami mekanisme hubungan antara penyakit, protein target, tanaman, dan senyawa kimia (Adelina, 2022). Pendekatan farmakologi jaringan telah menunjukkan potensi untuk memahami formula herbal tradisional, mengidentifikasi obat atau target baru yang mungkin, dan

memberikan wawasan baru tentang mekanisme kerja obat. Selain itu, pendekatan ini juga dapat mengeksplorasi ruang target potensial dengan memungkinkan pemeriksaan yang tidak bias terhadap molekul obat yang saat ini digunakan dalam berbagai kondisi terapeutik. Hal ini menjelaskan kemungkinan mekanisme aksi fitokimia/senyawa bioaktif melalui analisis dataset besar dan menentukan efek sinergis dalam pengobatan penyakit kompleks (Wadhawan *et al*, 2021).

2.12.2 Perangkat Lunak dan Database Pendukung

2.12.2.1 GeneCards

GeneCards adalah platform database online yang memberikan informasi lengkap tentang gen manusia yang telah diannotasi dan diprediksi. Data dikumpulkan dari berbagai sumber dan disajikan dalam format yang mudah dibaca dan diakses. Database ini secara otomatis menggabungkan data gen dari lebih dari 125 sumber yang berbeda, mencakup informasi genomik, proteomik, transkriptomik, genetika, klinis, dan fungsional. *GeneCards* mengelompokkan gen dengan nama yang berbeda dan dari berbagai sumber berdasarkan lokasi dan anotasi referensi silang (Stelzer *et al*, 2016). Dalam menentukan gen target dengan menggunakan pendekatan jaringan farmakologi, database ini tersedia untuk diakses melalui (<https://www.genecards.org/>).

2.12.2.2 DisGeNET

Disease Gene Network (DisGeNET) merupakan sebuah basis data yang memberikan informasi mengenai keterkaitan antara gen dan penyakit. *DisGeNET* menggabungkan data dari berbagai sumber, termasuk literatur ilmiah, basis data genetika, dan sumber daya biomedis lainnya. Fokus utama

DisGeNET adalah untuk memahami peran gen dalam penyakit manusia dan menyajikan informasi ini secara terstruktur dan mudah diakses. Basis data ini memberikan informasi mengenai gen yang terkait dengan lebih dari 30.000 penyakit, termasuk penyakit kompleks, penyakit monogenik, dan kondisi medis lainnya. Informasi yang tersedia dalam *DisGeNET* mencakup hubungan gen-penyakit, bukti dari berbagai sumber, tingkat kepercayaan, dan deskripsi peran gen dalam penyakit tersebut. *DisGeNET* juga menyediakan informasi tentang lokasi kromosom, produk protein yang dihasilkan, dan jalur biologis yang terlibat (Piñero *et al*, 2017). Untuk melakukan analisis keterkaitan antara gen target dan penyakit target, basis data ini dapat diakses melalui (<https://www.disgenet.org/>).

2.12.2.3 Cytoscape

Cytoscape digunakan untuk menggali lebih dalam hubungan antara senyawa dan target yang terkait dengan efek hepatotoksik. Melalui plot jaringan Compound-Target, kita dapat mengakses informasi yang relevan melalui (<http://www.Cytoscape.org/>). Cytoscape adalah perangkat lunak yang berguna dalam membangun struktur jaringan. Dengan menggunakan Cytoscape, kita dapat membuat peta topologi dua dimensi dari setiap node dengan tepi, dan kemudian menganalisis dasar farmakologi dan mekanisme tanaman obat secara ringkas dan jelas. Kekuatan hubungan antara setiap jenis node (protein, senyawa, dan penyakit) dapat diedit dan dianalisis secara terpisah. Selain itu, Cytoscape juga dapat terhubung langsung ke database publik eksternal dan menyediakan berbagai plugin untuk memenuhi kebutuhan analisis yang beragam (Yi *et al*, 2018).

2.12.2.4 *STRING*

STRING adalah salah satu database online yang sangat berguna dalam jaringan asosiasi protein di seluruh organisme. Keunggulan dari database ini terletak pada jenis bukti interaksi yang terintegrasi, cakupan organisme, dan fitur-fitur web yang dimilikinya. Tujuan utama dari *STRING* adalah memberikan fokus pada cakupan yang luas, yang mencakup ribuan organisme yang diurutkan, serta kekompletan sumber bukti, termasuk penambahan teks otomatis. Pengguna dapat melakukan login dan melakukan pencarian yang persisten, serta memanfaatkan fasilitas online untuk memeriksa bukti yang mendukung setiap interaksi protein-protein (Szklarczyk *et al*, 2021). Untuk mengakses database ini, pengguna dapat mengunjungi (<https://STRING-db.org/>).

2.12.2.5 *KEGG Pathway*

Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes Pathway (KEGG Pathway) adalah sebuah sumber informasi yang menyajikan berbagai jalur biologis yang terlibat dalam proses biologis. *KEGG Pathway* merupakan bagian dari proyek *KEGG* yang bertujuan untuk memahami fungsi sistem biologis secara komprehensif melalui integrasi data genetik dan molekuler. Database ini memberikan informasi tentang berbagai jalur biologis, termasuk jalur metabolisme, jalur sinyal, dan jalur penyakit. Setiap jalur biologis di *KEGG Pathway* diilustrasikan dengan grafik yang menunjukkan interaksi antara molekul-molekul yang terlibat, seperti gen, protein, molekul kecil, dan reaksi biokimia. Informasi yang disajikan mencakup deskripsi jalur biologis, komponen molekuler yang terlibat, interaksi antara komponen molekuler, serta

keterangan mengenai fungsi dan regulasi jalur tersebut. Selain itu, *KEGG Pathway* juga menyediakan informasi tentang penyakit terkait dengan jalur tersebut, serta data genetik dan molekuler yang terkait (Kanehisa *et al*, 2017). Dalam mengetahui proses dan jalur biologis atau pathway penyakit yang terkait, database ini dapat diakses melalui (<http://www.kegg.jp/> atau <http://www.genome.jp/kegg/>).

2.12.2.6 Gen Ontology

Gene Ontology (GO) adalah sebuah sistem klasifikasi yang digunakan untuk menggambarkan atribut dan fungsi gen dan produk genetik dalam konteks biologi. GO merupakan salah satu standar dalam bioinformatika yang memungkinkan para peneliti untuk menggambarkan secara sistematis peran dan hubungan gen dalam berbagai aspek biologis. GO terdiri dari tiga komponen utama, yaitu (Akhmad, 2020):

1. *Biological Process* (Proses Biologis): Kategori ini menggambarkan aktivitas biologis yang melibatkan satu atau lebih gen. Contoh kategori dalam *Biological Process* termasuk "proliferasi sel", "respons imun", dan "metabolisme karbohidrat".
2. *Cellular Component* (Komponen Seluler): Kategori ini menggambarkan lokasi fisik atau struktural di dalam sel dimana gen atau produk genetik berfungsi. Contoh kategori dalam *Cellular Component* termasuk "nukleus", "mitokondria", dan "membran plasma".
3. *Molecular Function* (Fungsi Molekuler): Kategori ini menggambarkan aktivitas molekuler yang dijalankan oleh gen atau produk genetik. Contoh

kategori dalam Molecular Function termasuk "aktivitas enzim", "ikatan protein", dan "transkripsi DNA".

Database ini dapat diakses melalui platform (<http://geneontology.org/>).

2.13 Kanker Kolon

2.13.1 Definisi

Kanker adalah penyakit yang terjadi ketika sel-sel dalam tubuh mengalami perubahan genetik yang menyebabkan mereka tumbuh dan berkembang biak secara tidak normal. Sel-sel kanker ini kemudian dapat menyerang dan merusak jaringan sehat di sekitarnya. Jumlah penderita kanker di Indonesia meningkat dari 1,4% menjadi 1,8% antara tahun 2013 dan 2018. Pada tahun 2018, kanker kolorektal menjadi penyakit kanker keempat terbanyak di Indonesia dengan total 30.017 kasus, atau sekitar 8,6% dari keseluruhan kasus kanker (Padang dan Rotty, 2020). Kanker usus besar terjadi ketika DNA dalam sel-sel usus besar mengalami kerusakan, menyebabkan sel-sel tersebut tumbuh secara tidak terkendali. Salah satu metode pengobatan kanker adalah melalui kemoterapi, terapi radiasi, imunoterapi, dan hormon, namun metode ini memiliki efek samping yang berbahaya dan merugikan. Sebagai alternatif, pengobatan kanker juga dapat dilakukan dengan memakai bahan alami dari berbagai tanaman obat yang mempunyai efek samping yang lebih minimal (Puspitasari dkk, 2021).

Kanker kolon merupakan kanker usus yang kebanyakan terjadi dan menjadi penyebab kematian ketiga yang umum pada wanita dan pria. Kanker kolorektal memiliki risiko yang sangat tinggi, sehingga pasien dengan kanker kolorektal yang mengalami perforasi memiliki kemungkinan yang lebih besar

2.13.2 Anatomi Usus

Arteri kolik kanan

Arteri kolik tengah

Arteri kolik kiri

Arteri mesenterika superior

Arteri mesenterika inferior

Arteri ileokolik

Arteri sigmoid

Arteri rektal superior

Usus besar

211, 212, 213, 221, 222, 223, 231, 232, 233, 241, 242, 243, 251, 252, 253

Dubur

saluran anus

Tabel nomor kelenjar getah bening

Rektosigmoid	Funksi	Angka
0	Batang arteri ileokolik	1
1	Batang arteri kolon kanan	
2	Batang arteri kolon tengah	2
3	Batang arteri kolon kiri	
4	Batang arteri kolon sigmoid	
5	Arteri mesenterika inferior dan batang arteri kolika superior	3

Daerah anatomi

Pembuluh darah

Kelenjar getah bening

71

Wilayah anatomi, tiga bagian utama (kolon, rektum, dan saluran anus) yang relevan dengan kanker kolorektal diberi label. Untuk suplai darah, hanya suplai arteri yang disekresikan. Bentuk oval melambangkan wilayah kelompok kelenjar getah bening atau stasiun kelenjar getah bening. Biasanya stasiun kelenjar getah bening di usus besar ditandai dengan angka tiga digit di tahun 200an. Penjelasan paling sederhana untuk memahami angka-angka, dari kiri ke kanan, adalah sebagai berikut: digit pertama, 2, mewakili kelompok anatomi (dalam hal ini, usus besar – ratusan dalam tabel) digit tengah kedua mewakili suplai darah (dalam hal ini, arteri – puluhan dalam tabel) dan digit ketiga mewakili kelompok kelenjar getah bening (bentuk oval digit dalam tabel) (Liu, 2019).

Fungsi utama usus besar yakni untuk menyerap air dan beberapa nutrisi, sedangkan fungsi utama usus besar kiri adalah untuk menyimpan dan mengeluarkan feses. Khususnya, usus besar mengeluarkan hormon gastrointestinal dan zat lendir basa. Rektum bergabung dengan kolon sigmoid, dan ujung bawahnya bergabung dengan saluran anus pada garis dentate. Suplai darah rektal terutama berasal dari arteri rektum superior dan inferior. Refluks vena terutama mengalir dari vena rektal superior ke hati. Kelenjar getah bening regional rektum termasuk kelenjar getah bening pararektal, kelenjar getah bening arteri rektal superior dan inferior, dll. Rektum dipersarafi oleh saraf otonom, fungsi fisiologis utamanya adalah buang air besar. Selain itu, ia juga menyerap sejumlah kecil air, garam, glukosa, dan beberapa obat (Liu, 2019).

2.13.3 Epidemiologi

Kanker kolon adalah jenis kanker yang berasal dari jaringan usus besar, yang meliputi kolon dan/atau rektum sehingga sering disebut sebagai kanker kolorektal (KKR) (Puspitasari dan Waluyo, 2021). Kanker kolorektal (KKR) merupakan kanker ketiga yang paling banyak didiagnosis di seluruh dunia, dimana laki-laki menduduki peringkat ketiga dan perempuan menempati peringkat kedua. KKR adalah penyebab kematian terkait kanker kedua yang paling umum di seluruh dunia. Di Tiongkok, kejadian KKR pada seluruh populasi menempati urutan kedua di antara semua tumor, dan kejadian berdasarkan usia adalah 23,7 per 100.000, di mana pasien pria dan wanita menempati urutan ketiga, dan kejadian berdasarkan usia adalah 28,1 per 100.000 dan 19,4 per 100.000 orang, masing-masing. Korelasi antara migrasi, faktor agama, dan KKR menunjukkan bahwa kejadian KKR sangat terkait dengan faktor lingkungan, gaya hidup, dan pola makan, namun tidak memiliki hubungan yang jelas dengan etnis. Insiden KKR berbeda-beda di setiap wilayah, dengan insiden tertinggi dilaporkan di Amerika Utara, Eropa Barat, dan Oseania, dan insiden terendah di Afrika, Asia, dan Amerika Selatan (Liu, 2019).

Risiko KKR meningkat seiring bertambahnya usia. Insiden dan mortalitas KKR rendah hingga usia 45 tahun dan meningkat secara signifikan setelahnya, mencapai puncaknya pada kelompok usia di atas 80 tahun, namun sejumlah besar kasus masih terjadi pada remaja. Khususnya, morbiditas dan mortalitas KKR telah berubah seiring berjalannya waktu. Perubahannya berbeda-beda di setiap wilayah. Laju kenaikan di wilayah dengan insiden tinggi

melambat atau menurun, sedangkan di wilayah dengan insiden rendah menunjukkan tren peningkatan. Hal ini mungkin terkait dengan populasi yang menua, perubahan gaya hidup, dan perubahan lingkungan. Di wilayah yang ekonominya maju, lokasi tersering kanker usus besar telah berubah dari rektum ke usus besar, dan proporsi kanker usus besar sebelah kanan telah meningkat secara signifikan (Liu, 2019).

2.13.4 Etiologi

Kanker kolorektal merupakan penyakit multifaktorial. Etiologi KKR masih belum jelas, namun mungkin terkait dengan faktor-faktor berikut (Liu, 2019):

1. Faktor genetik: Sekitar 20% kasus KKR berhubungan dengan faktor genetik, dan penelitian menunjukkan peningkatan risiko kanker tiga kali lipat pada kerabat generasi pertama pasien KKR. *Familial Adenomatous Polyposis* (FAP) telah diidentifikasi sebagai sindrom genetik yang merupakan predisposisi KKR, dan *Mismatch Repair Gene* (MMR) juga telah dikaitkan dengan KKR yang diturunkan.
2. Faktor pola makan: Saat ini diyakini bahwa tinggi lemak, tinggi protein hewani, dan rendahnya pola makan selulosa berhubungan dengan kejadian KKR. Asupan lemak yang berlebihan akan meningkatkan sekresi empedu, dekomposisi asam empedu, peningkatan karsinogen usus, dan aktivitas bakteri anaerob usus
3. Penyakit non-kanker: Penyakit non-kanker seperti polip kolorektal, adenoma kolorektal, kolitis ulseratif dan penyakit Crohn, dll. dapat berkontribusi terhadap KKR. Penelitian menunjukkan bahwa sekitar 3-5%

pasien kolitis ulserativa akan mengalami KKR, dan kejadian transformasi ganas lebih besar dari 10% pada pasien dengan kolitis ulserativa yang berlangsung lebih dari 20 tahun. Sekitar 15–40% kanker usus besar berasal dari polip kolon, dengan perjalanan prakanker selama 2–5 tahun. Adenoma yang berdiameter kurang dari 1 cm memiliki peluang kurang dari 2% untuk menjadi kanker, sedangkan adenoma yang berukuran lebih dari 3 cm memiliki peluang lebih dari 40% untuk menjadi kanker

4. Faktor lain: Paparan karsinogenik dan gaya hidup, seperti kurang gerak dan kelebihan berat badan, merupakan faktor risiko KKR, dan kejadian kanker sigmoid dan rektum lebih tinggi pada pasien yang menjalani terapi radiasi panggul

2.13.5 Patogenesis

Sebagian besar kanker kolon adalah adenokarsinoma yang muncul dari kelenjar penyusun kolon. Umumnya disebabkan oleh mutasi sporadik dan beberapa mutasi tertentu dalam keluarga penderita. Pada mutasi tertentu terdapat gen *Adenomatous Polyposis Coli* (APC) Gen yang bekerja sebagai gen penekan tumor dengan cara melaksanakan apoptosis. Namun, pada kanker kolon APC bekerja sebaliknya yaitu dengan tidak melaksanakan apoptosis pada sel tumor sehingga akan terjadi pembelahan tidak terkontrol. Hal tersebut akan menyebabkan terjadinya akumulasi polip dan akan mencetuskan gen-gen penekan tumor yang bermutasi lainnya. Seiring dengan berjalannya waktu mutasi gen-gen penekan tumor akan berkembang menjadi suatu keganasan sel yang dapat menyerang sel-sel lainnya. Selain itu, mutasi pada DNA repair juga

dapat menyebabkan pembelahan sel tidak terkendali sehingga berkembang menjadi adenokarsinoma (Mármol *et al*, 2017).

Sel-sel epitel pada lapisan mukosa kolorektal dapat mengalami pertumbuhan yang berlebihan, pertumbuhan yang tidak normal (ringan, sedang, parah) dan pembentukan adenoma, yang pada akhirnya dapat berubah menjadi karsinoma. Proses ini biasanya diawali oleh faktor karsinogenik, menyebabkan perubahan struktural pada DNA, yang menyebabkan transformasi sel menjadi ganas menjadi kanker. Morfologi meliputi hiperplasia epitel, hiperplasia atipikal, pembentukan adenoma, karsinoma in situ, dan karsinoma invasif. Dengan berkembangnya penelitian, tiga mekanisme molekuler terkait dengan terjadinya dan perkembangan KKR telah dikonfirmasi: (i) ketidakstabilan kromosom yang terutama terjadi pada FAP; (ii) mutasi genetik seperti pada sindrom Lynch dan mutasi MMR sporadis lainnya; dan (iii) hipermetilasi pulau CPG di wilayah promotor gen tertentu. Proses ini sering dikaitkan dengan perubahan abnormal pada beberapa gen seperti gen terkait APC, DCC, P53, K-ras, c-MYC, MCC, dan MMR (hMLH1, hMLH3, hMSH2, hMSH3, hMSH6, hPMS1, dan hPMS2) (Liu, 2019).

2.13.6 Jenis Patologi dan Metastasis

Pada tahap awal, KKR terbatas pada mukosa usus dan submukosa. Metastasis limfatik biasanya tidak terjadi pada KKR awal. Ketika tumor menembus submukosa, metastasis limfatik terjadi pada sekitar 10% pasien. Tipe kasar KKR terutama mencakup pengangkatan, ulserasi, dan infiltrasi. Tipe histologis patologis terutama mencakup adenokarsinoma papiler, adenokarsinoma tubular, adenokarsinoma musinosa, karsinoma sel cincin

meterai, karsinoma tidak berdiferensiasi, karsinoma adenoskuamosa, karsinoma sel skuamosa, dan karsinoid karsinoid. Adenokarsinoma memiliki kejadiannya, terhitung lebih dari 90% (kanker usus besar). Analisis data klinis dari 1.092 pasien KKR primer dan ditemukan bahwa adenokarsinoma menyumbang 93,4%, adenokarsinoma musinosa dan karsinoma sel cincin stempel masing-masing menyumbang 3,9% dan 0,6%, dan karsinoid menyumbang 0,2% (Liu, 2019).

KKR menyebar dan bermetastasis terutama melalui empat jalur berikut (Liu, 2019):

1. Invasi lokal: Tumor menyusup ke area lokal lesi primer dan struktur di sekitarnya.
2. Metastasis limfatik: Sel-sel neoplastik menggunakan sistem limfatik intramukosa untuk mencapai kelenjar getah bening regional, yang pada ujungnya mengakibatkan metastasis kelenjar getah bening jauh; sekitar 60% metastasis KKR terjadi melalui jalur ini
3. Metastasis hematogen: Sel kanker menyebar melalui pembuluh darah. Organ target KKR yang paling umum melalui metastasis hematogen adalah hati dan paru-paru; sekitar 30% KKR ditransfer melalui rute ini
4. Implantasi dan metastasis: Setelah sel kanker terlepas, sel tersebut ditanamkan di perut dan peritoneum panggul untuk membentuk fokus metastasis

2.13.7 Manifestasi Klinis

Kebanyakan pasien KKR tidak memiliki gejala klinis yang jelas pada tahap awal, sehingga tingkat diagnosis dininya rendah. Seiring berkembangnya penyakit, gejala-gejala berikut umumnya akan muncul (Liu, 2019):

1. *Hematochezia*: Pada *hematochezia* dalam jumlah kecil, tinja secara umum tidak menunjukkan perubahan yang terlihat, tetapi tes okultasi tinja bisa positif; tinja berdarah, tinja berdarah, lendir, atau tinja seperti selai dapat muncul jika terdapat banyak darah di tinja
2. Obstruksi usus: Seringkali merupakan ciri dari KKR stadium lanjut; sakit perut, perut kembung, mual, muntah, kelelahan, dan buang air besar akan terjadi bila obstruksi usus disebabkan oleh pembesaran massa
3. Massa perut: Biasanya terjadi pada kanker usus besar kanan; gejala ini berupa pembesaran massa sampai batas tertentu, teraba massa perut.
4. Gejala sistemik: KKR umumnya menunjukkan gejala yang tidak jelas pada tahap pertama, sehingga perjalanan penyakitnya relatif lama, menyebabkan proliferasi tumor, *cachexia*, anemia, kekurangan, dan gejala lainnya

Karena perbedaan fungsi anatomi dan fisiologis usus besar dan rektum, manifestasi klinis tumor di lokasi anatomi yang berbeda juga berbeda. Umumnya massa perut dan gejala sistemik kebanyakan terjadi pada kanker usus besar kanan, tinja berdarah dan sumbatan kebanyakan terjadi pada kanker kolon kiri, dan perubahan frekuensi buang air besar seringkali terjadi pada penderita kanker rektum (Liu, 2019).

2.13.8 Tatalaksana Terapi

Prinsip pengobatan KKR adalah pengobatan komprehensif individual berdasarkan pembedahan, dilengkapi dengan kemoterapi, radioterapi, terapi target molekuler, imunoterapi, dan program lainnya. Penelitian telah membuktikan bahwa tingkat kelangsungan hidup pasien selama 5 tahun dengan KKR dini, yang menerima pengobatan berbasis pembedahan, lebih dari 90%. Oleh karena itu, pembedahan tetap menjadi landasan pengobatan KKR. Untuk pasien KKR yang awalnya tidak dapat dioperasi, dan beberapa pasien KKR dengan metastasis, kelayakan pembedahan harus dievaluasi setelah terapi neoadjuvan untuk mendapatkan peluang perawatan bedah. Metode bedah terutama mencakup bedah radikal dan bedah paliatif (Liu, 2019).

Kemoterapi KKR terutama mencakup kemoterapi neoadjuvan, kemoterapi adjuvan setelah operasi radikal, dan kemoterapi paliatif. Kemoterapi neoadjuvan sering digunakan dalam kombinasi dengan radioterapi, yang dapat mengurangi stadium klinis tumor, mengupayakan peluang pembedahan, dan meningkatkan kualitas hidup pasien, dan mengurangi kekambuhan pasca operasi. Kemoterapi adjuvan dapat menghilangkan sisa sel tumor setelah operasi radikal dan semakin mengkonsolidasikan efek operasi radikal. Tujuan kemoterapi paliatif adalah untuk meningkatkan mutu hidup dan memperpanjang umur pasien dengan KKR stadium lanjut. Obat kemoterapi yang umum digunakan antara lain fluorouracil, irinotecan, oxaliplatin, dan raltitrexed. Obat kemoterapi di atas sering digunakan dalam kombinasi, dan rejimen kemoterapi kombinasi yang

umum digunakan termasuk FOLFOX, FOLFIRI, CAPEOX, FOLFOXIRI, dll (Liu, 2019).

Penerapan obat yang ditargetkan secara molekuler telah membawa manfaat yang signifikan bagi pasien KKR. Saat ini, obat bertarget molekuler yang digunakan dalam pengobatan klinis KKR terutama mencakup dua jenis, satu adalah obat anti-angiogenesis yang diwakili oleh bevacizumab dan yang lainnya adalah obat faktor pertumbuhan antiepidermal yang diwakili oleh cetuximab. Secara klinis, obat bertarget molekuler direkomendasikan untuk digunakan dalam kombinasi dengan obat kemoterapi, karena merupakan obat non-sitotoksik dan memiliki efek samping yang relatif ringan, yang umumnya tidak meningkatkan efek samping kemoterapi secara signifikan (Liu, 2019).

Radioterapi terutama digunakan untuk pasien kanker rektal, yang dapat meningkatkan tingkat pengendalian lokal, meningkatkan kualitas hidup, dan memperpanjang kelangsungan hidup. Skema radioterapi untuk kanker rektal terutama mencakup radioterapi pra operasi, kemoradioterapi bersamaan sebelum operasi, dan kemoradioterapi bersamaan pasca operasi yang dikombinasikan dengan kemoterapi adjuvan. Penelitian terbaru menunjukkan bahwa imunoterapi dapat memperpanjang kelangsungan hidup pasien KKR. Perawatan lain termasuk hipertermia yang dikombinasikan dengan kemoterapi atau radioterapi, bioterapi, pengobatan tradisional Tiongkok, cryotherapy lokal, terapi frekuensi radio, dan perawatan paliatif (Liu, 2019).

2.13.9 Pencegahan dan Prognosis

Menurut faktor patogenik KKR, metode pencegahan KKR meliputi (Liu, 2019):

- a. Pola makan: asupan sayuran segar, buah-buahan, makanan berserat kasar, mineral dan elemen yang sesuai seperti kalsium, magnesium, dan vitamin D;
- b. Manajemen gaya hidup: berhenti merokok, membatasi konsumsi alkohol, olahraga yang benar, dan pengendalian berat badan;
- c. Pengobatan aktif penyakit kolorektal jinak, seperti polip, adenoma, kolitis ulserativa, dan penyakit *Crohn*;
- d. Skrining rutin: skrining dini untuk mencegah KKR sangat penting

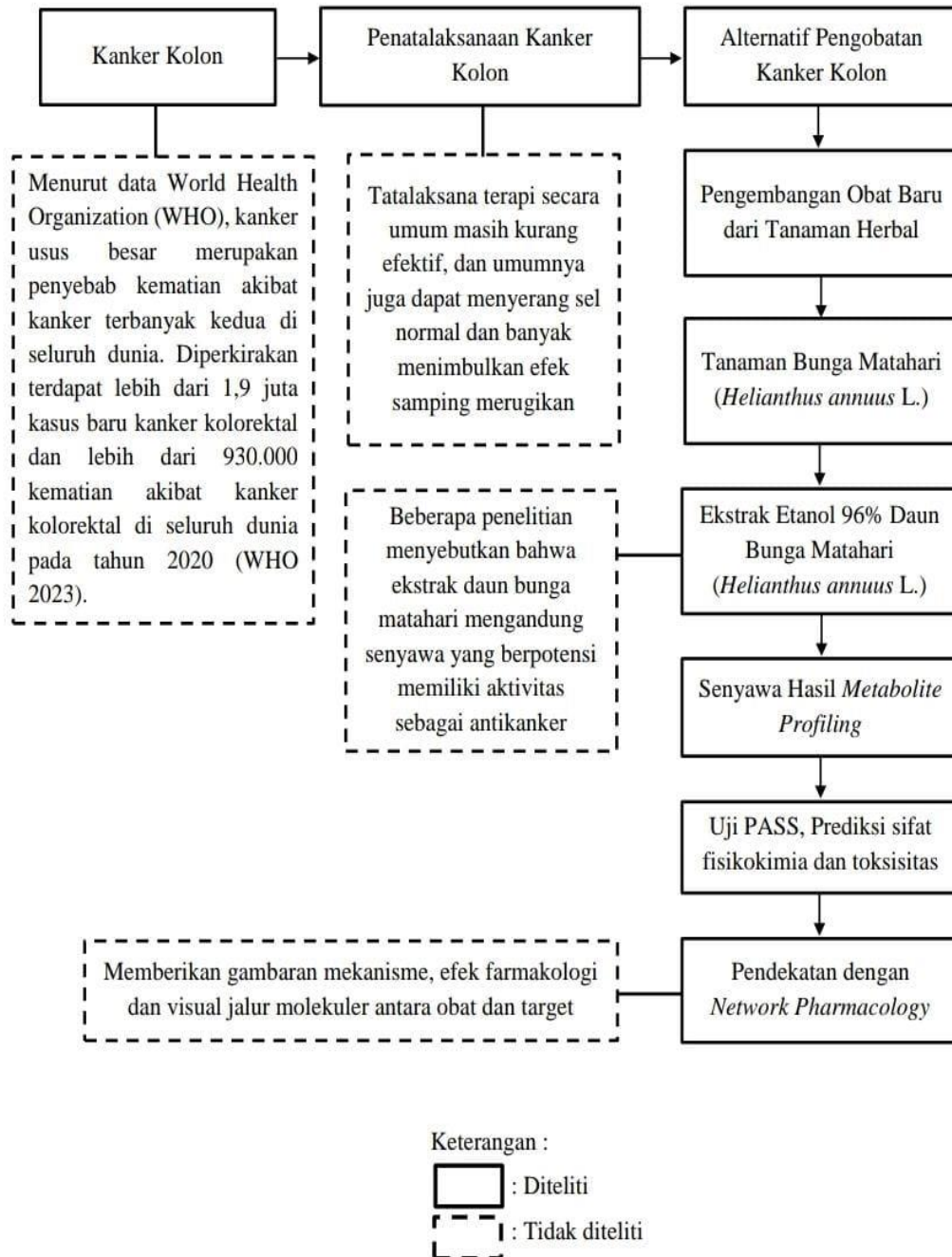
Dalam literatur, pencegahan primer dilaporkan berperan sebesar 35% dalam menurunkan angka kematian KKR, pencegahan sekunder melalui skrining dini KKR dilaporkan berperan sebesar 53%, dan pengobatan preskriptif pada pasien yang didiagnosis menderita KKR telah dilaporkan untuk memainkan peran 12%. Stadium penyakit pada diagnosis awal merupakan indikator prognosis KKR yang paling penting. Telah dilaporkan bahwa tingkat kelangsungan hidup 5 tahun pasien dengan KKR lokal, yang dapat direseksi melalui pembedahan, adalah sekitar 90%, sedangkan tingkat kelangsungan hidup 5 tahun pasien KKR stadium lanjut yang kehilangan kesempatan untuk menjalani perawatan bedah berkurang menjadi sekitar 10%. Perjalanan alami dari sel epitel kolorektal normal menjadi lesi jinak seperti adenoma dan akhirnya menjadi kanker umumnya memakan waktu 5-10 tahun. Proses ini sering kali melibatkan perubahan abnormal pada beberapa gen, seperti APC, Gen terkait DCC, P53, K-RAS, C-MYC, BRAF, MCC, dan MMR. Skrining dini untuk mendeteksi lesi stadium terbatas saat ini jendela dan

intervensi klinis sangat penting untuk meningkatkan prognosis pasien KKR (Liu, 2019).

BAB III

KERANGKA KONSEPTUAL

3.1 Alur Kerangka Konseptual



Gambar 3.1 Alur kerangka konseptual

3.2 Uraian Kerangka Konseptual

Kanker usus besar adalah pertumbuhan sel yang tidak terkendali di dalam usus besar yang dapat merusak jaringan di sekitarnya dan menyebar ke bagian tubuh lainnya, ditandai dengan proliferasi sel yang tidak terkontrol dan invasi jaringan sekitarnya (Puspitasari dan Waluyo, 2021). Pengobatan kanker kolon bergantung pada stadium penyakitnya yang dapat diklasifikasikan melalui sistem Tumor Nodus Metastasis (TNM). Terapi untuk kanker kolon meliputi berbagai metode seperti pembedahan, radioterapi, imunoterapi, terapi target biologis, ablasi radiofrekuensi, dan kemoterapi (Hunafa dkk, 2023). Namun, sebagian besar obat antikanker saat ini tidak dapat secara spesifik mengidentifikasi sel-sel neoplastik, melainkan memengaruhi pertumbuhan sel secara umum, termasuk sel normal dan abnormal. Oleh karena itu, hampir semua obat kemoterapi menimbulkan efek samping toksik, termasuk efek samping yang umum adalah toksisitas hematologi, seperti trombositopenia, yang dapat terjadi akibat pemberian obat kemoterapi (Yusmaidi dkk, 2020). Karena itu, pengembangan alternatif pengobatan kanker yang memiliki profil keamanan lebih baik menjadi sangat krusial.

Salah satu tanaman obat yang berpotensi sebagai bahan dasar obat tradisional adalah bunga matahari (*Helianthus annuus* L.). Bunga matahari dikenal karena keindahan bentuknya dan sering digunakan sebagai tanaman hias. Namun, meskipun bunganya yang indah, bagian lain dari tanaman bunga matahari, seperti daunnya, kurang dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai bahan konsumsi atau pengembangan obat tradisional. Namun, penelitian oleh Hafidloh (2014) menunjukkan bahwa daun bunga matahari mengandung

senyawa sesquiterpenoid, triterpenoid, dan steroid yang memiliki aktivitas sebagai antikanker. Untuk memisahkan senyawa-senyawa berdasarkan kepolarannya, telah digunakan metode maserasi berturut-turut dengan pelarut n-heksana (nonpolar), diklorometan (semi polar), dan metanol (polar).

Oleh karena itu, tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengembangkan obat baru dari bahan alam, yaitu tanaman bunga matahari (*Helianthus annuus* L.), yang diduga mempunyai aktivitas antikanker. Bagian tanaman yang digunakan adalah daun. Pemanfaatan suatu tanaman sebagai obat herbal bergantung pada kandungan senyawa kimia yang dapat menghasilkan efek farmakologis tertentu, yang umumnya dihasilkan oleh tanaman dalam bentuk metabolit sekunder (Hakim dkk, 2018). Untuk memvalidasi kandungan dan efek farmakologis dari daun bunga matahari, diperlukan penelitian ilmiah yang mendukungnya. Namun, hingga saat ini, belum ada penelitian ilmiah yang menyeluruh tentang metabolit dan kuantifikasi setiap senyawa atau golongan metabolit sekunder di dalam daun bunga matahari. Oleh karena itu, diperlukan suatu teknik yang mampu mengidentifikasi secara menyeluruh kandungan metabolit sekunder dalam daun bunga matahari. Metode *metabolite profiling* dipilih karena sesuai dengan tujuan penelitian ini, yang mampu mengidentifikasi dan mengkuantifikasi kandungan senyawa metabolit sekunder dalam daun bunga matahari secara menyeluruh.

Ekstrak etanol 96% dari daun bunga matahari kemudian dianalisis dengan UPLC-MS/MS untuk mendapatkan profil metabolit sekunder. Hasil analisis menunjukkan identifikasi senyawa-senyawa metabolit sekunder dari

daun bunga matahari. Dalam data tersebut, terdapat senyawa mayor yang berperan sebagai penanda dalam ekstrak sampel. Meskipun beberapa penelitian telah menunjukkan aktivitas antikanker dari daun bunga matahari (*Helianthus annuus* L.), namun penelitian yang fokus pada pemahaman mekanisme molekuler dan gen target senyawa tanaman dalam proses penyembuhan kanker kolon masih terbatas. Oleh karena itu, peneliti melakukan uji coba *network pharmacology* untuk memahami mekanisme molekuler daun bunga matahari (*Helianthus annuus* L.) dalam pengobatan kanker kolon.

Selanjutnya dilakukan uji *PASS* pada senyawa hasil *metabolite profiling* dari ekstrak etanol 96% daun bunga matahari untuk memprediksi adanya bioaktivitas yang terkait dengan kanker kolon. Kemudian dilakukan prediksi sifat fisikokimia dan toksisitas senyawa menggunakan web *pkCSM* dan *Protox*. Pendekatan melalui *network farmakologi* juga dilakukan untuk memberikan gambaran mekanisme, efek farmakologi, dan visual jalur molekuler antara obat dengan target yang berhubungan dengan pathway penyakit kanker, sehingga senyawa tersebut memiliki potensi sebagai antikanker.

3.3 Hipotesis

Hipotesis yang dapat dirumuskan adalah senyawa metabolit dari ekstrak daun bunga matahari (*Helianthus annuus* L.) memenuhi uji *PASS* terhadap kanker kolon berdasarkan kriteria nilai *Probable activity* (Pa).

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Kategori dan Rancangan Penelitian

Penelitian mengenai “*Metabolite Profiling* Ekstrak Daun Bunga Matahari (*Helianthus annuus* L.) dengan Metode UPLC-MS/MS Serta Penentuan Mekanisme Molekuler Pada Kanker Kolon” ini termasuk dalam kategori penelitian deskriptif experimental dan pre-experimental design menggunakan komputer, tujuannya adalah untuk mengidentifikasi dan menjelaskan profil metabolit dari ekstrak etanol 96% daun bunga matahari (*Helianthus annuus* L.) melalui serangkaian analisis menggunakan UPLC-MS/MS. Kemudian hasil senyawa *metabolite profiling* ekstrak etanol 96% daun bunga matahari (*Helianthus annuus* L.) tersebut dibuat canonical SMILE masing-masing senyawa melalui *PubChem* dan dilakukan prediksi sifat fisikokimia dan toksisitas menggunakan web *pkCSM* dan *Protox*. Senyawa yang lolos uji fisikokimia dan toksisitas kemudian dilakukan prediksi bioaktivitas senyawa melalui *PASS server* mengenai kanker kolon. Setelah itu dilakukan pendekatan melalui network farmakologi dimulai dengan penentuan gen target senyawa melalui *GeneCards*, penentuan gen target penyakit melalui *DisGeNet* dan dilakukan analisis hubungan dengan diagram ven. Selanjutnya dilakukan visualisasi jaringan melalui *Cytoscape*, dan dilakukan analisis *Protein-protein Interaction* (PPI) menggunakan *STRING*, kemudian dilakukan analisis *pathway* melalui *KEGG Pathway* dan *Gene Ontology* serta dilakukan analisis data.

4.2 Waktu dan Tempat

Research ini dimulai pada bulan Oktober sampai November tahun 2024 di Laboratorium Botani dan Laboratorium Riset, program studi Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Maulana Malik Ibrahim Malang, serta di pusat Laboratorium Forensik, Badan Reserse Kriminal Polri, Sentul, Bogor.

4.3 Populasi /Sampel

4.3.1 Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun bunga matahari (*Helianthus annuus* L.) yang diambil dari kebun di Kecamatan Bumiaji, Kota Batu.

4.4 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

4.4.1 Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

Ekstrak etanol 96% dari daun bunga matahari (*Helianthus annuus* L.) dan senyawa hasil metabolit yang terkandung di dalamnya sebagai variabel bebas dalam penelitian.

2. Variabel Terikat

Potensi aktivitas antikanker pada setiap senyawa metabolit sekunder daun bunga matahari, nilai *Probability activity* (Pa), berat molekul (BM), logaritma koefisien partisi oktanol/air (Log P), *Hydrogen Bond Acceptors* (HBA), *Hydrogen Bond Donor* (HBD) nilai LD₅₀ kelas toksisitas dan hasil network farmakologi berperan sebagai variabel terikat.

3. Variabel Kontrol

Software *cystoscape* dan database seperti web *PASS*, *pkCSM*, *protox*, *GeneCards*, *DisGenet*, *STRING*, *KEGG Pathway*, dan *Gene Ontology* sebagai variabel kontrol.

4.4.2 Definisi Operasional

1. Ekstrak etanol 96% daun bunga matahari (*Helianthus annuus* L.) : Hasil ekstraksi fitokimia dari bagian daun tanaman bunga matahari dengan menggunakan pelarut etanol dengan kadar 96%.
2. Sampel : Ekstrak etanol 96% dari daun bunga matahari (*Helianthus annuus* L.).
3. Waktu retensi : Periode waktu yang diperlukan bagi senyawa untuk berpindah dari kolom ke detektor.
4. *Measured mass* : Satuan berat dari senyawa yang sedang dianalisis.
5. *Calculated mass* : Massa tepat yang didapatkan dari perhitungan berdasarkan suatu rumus formula.
6. Profil metabolit ekstrak etanol 96% daun bunga matahari (*Helianthus annuus* L.) : Profil senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak etanol 96% daun bunga matahari (*Helianthus annuus* L.) yang diperoleh setelah menganalisis data spektra UPLC-MS/MS.
7. *Metabolite profiling* ekstrak etanol 96% daun bunga matahari (*Helianthus annuus* L.) : Sebuah metode analisis untuk mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak etanol 96% daun *Helianthus annuus* L.

8. *Antineoplastic* : Sebuah terapi yang menggunakan senyawa atau obat baru yang dirancang khusus untuk mengatasi kanker.
9. *Chemopreventif* : Agen yang bertugas sebagai pencegah kanker.
10. Apoptosis agonis : Jalur yang memperantarai munculnya mekanisme sistem kematian bagi sel kanker.
11. *Antineoplastic (colon cancer)* : Sebuah terapi yang menggunakan senyawa atau obat baru yang dirancang khusus untuk mengatasi kanker kolon.
12. *Uji Prediction of Activity Spectra for Substances (PASS)* : Uji ini dilakukan untuk mengidentifikasi aktivitas antikanker yakni *antineoplastic*, *chemopreventif*, apoptosis agonis, dan *antineoplastic (colon cancer)*. Parameter yang digunakan dalam uji ini adalah nilai P_a , dimana senyawa dengan nilai P_a lebih besar dari P_i memiliki potensi sebagai senyawa yang efektif. Hasil dari uji PASS dengan nilai $P_a > 0.7$ menunjukkan bahwa senyawa tersebut sangat aktif secara biologis. Jika nilai P_a diantara 0.5 - 0.7 maka kemungkinan aktivitas senyawa tersebut moderat, sedangkan jika $P_a < 0.5$, maka kemungkinan aktivitas senyawa tersebut tidak memiliki efek yang kuat (Fakih dkk, 2022; Yasmin dkk, 2022).
13. *PubChem* : Database yang digunakan untuk mencari bahan kimia berdasarkan nama, rumus molekul, struktur, dan pengidentifikasi lainnya serta mengumpulkan Canonical SMILE pada setiap senyawa.
14. Prediksi sifat fisik dan kimia : Suatu metode yang dilakukan untuk memprediksi sifat fisik dan kimia senyawa berdasarkan hukum lima

lipinski. Dalam metode ini, digunakan alat online *pkCSM*. Parameter yang harus dipenuhi dalam metode ini adalah $\log P \leq 5$, berat molekul ≤ 500 g/mol, *Hydrogen Bond Donors* ≤ 5 , *Hydrogen Bond Acceptors* ≤ 10 , *Torsion* ≤ 10 , *Polar Surface Area* ≤ 140 (Apriali dkk, 2022).

15. Uji Toksisitas : Suatu pengujian menggunakan *Protox online tool* yang dimaksudkan untuk mengetahui tingkat toksisitas suatu senyawa. Parameter uji toksisitas yaitu nilai LD₅₀. Dalam penelitian ini, dikatakan memenuhi uji toksisitas dengan parameter yang digunakan adalah kelas toksisitas ≥ 5 .
16. LD₅₀ : Nilai hasil dari pemberian hewan coba dengan suatu senyawa yang dapat menyebabkan kematian sebesar 50%.
17. *pkCSM* : Alat online yang digunakan untuk memprediksi sifat fisikokimia dari suatu senyawa.
18. *Protox* : Alat online yang digunakan untuk menentukan uji toksisitas suatu senyawa berdasarkan nilai LD₅₀.
19. *Cytocape* : Sebuah perangkat lunak yang dipakai dalam visualisasi data dari network farmakologi untuk lebih memahami keterkaitan antara senyawa dan target yang terhubung dengan efek hepatotoksik, yaitu plot jaringan *Compound-Target*.
20. *GeneCards* : Database yang digunakan untuk menentukan gen target.
21. *DiGeNet* : Database yang digunakan untuk menganalisis adanya hubungan antara gen target dan penyakit.
22. Diagram ven : Diagram yang berfungsi untuk mengelompokkan himpunan data berdasarkan relasi, baik dalam bentuk himpunan

gabungan maupun irisan yang dikembangkan dalam beberapa riset (Dwitiyanti dkk, 2022).

23. *STRING* : Database yang digunakan untuk mengidentifikasi interaksi antara protein-protein dalam memverifikasi keberadaan gen target yang saling berhubungan.

24. *KEGG Pathway* : Database yang digunakan untuk menganalisis jalur persinyalan pathway KEGG.

25. *Gene Ontology* : Database yang digunakan untuk menyediakan sumber informasi pengetahuan mengenai fungsi dari suatu gen.

26. Variabel bebas : Variabel yang dapat diubah-ubah dan mempengaruhi variabel terikat (Independent/x).

27. Variabel terikat : Variabel yang dipengaruhi oleh variabel bebas (Dependent/y).

28. Variabel kontrol : Variabel yang dikendalikan / dibuat konstan untuk meminimalkan pengaruh hal lain yang mempengaruhi variabel bebas dan terikat.

4.5 Instrumen dan Bahan Penelitian

4.5.1 Instrumen

Beberapa instrument yang dibutuhkan selama pelaksanaan penelitian ini antara lain : timbangan analitik, instrumen UAE, gelas ukur, pipet tetes, rotary evaporator, oven, gelas erlenmeyer, kertas saring, corong gelas, batang pengaduk, cawan porselen, tabung appendorf, microsyringe, gelas arloji, spatula, sendok tanduk, alat pengukur kadar air, instrumen UPLC-MS/MS serta perangkat keras berupa laptop. Website yang digunakan yaitu *PubChem*

(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) untuk mendapatkan canonical SMILE dari senyawa, uji PASS melalui web (<http://www.way2drug.com/passonline/predict.php>), prediksi sifat fisikokimia dan uji toksisitas senyawa menggunakan *pkCSM online tool* (<http://biosig.unimelb.edu.au/pkcsml/prediction>) dan *protox online tool* (<http://tox.charite.de/tox/>). Untuk pendekatan melalui network farmakologi digunakan perangkat lunak yaitu *Cytoscape* dan database *Genecards* (<https://www.genecards.org/>), *DisGenet* (<https://www.disgenet.org/>), *STRING* (<https://STRING-db.org/>), *KEGG Pathway* (<https://www.genome.jp/kegg/pathway.html>) dan *Gene Ontology* (<http://geneontology.org/>).

4.5.2 Bahan

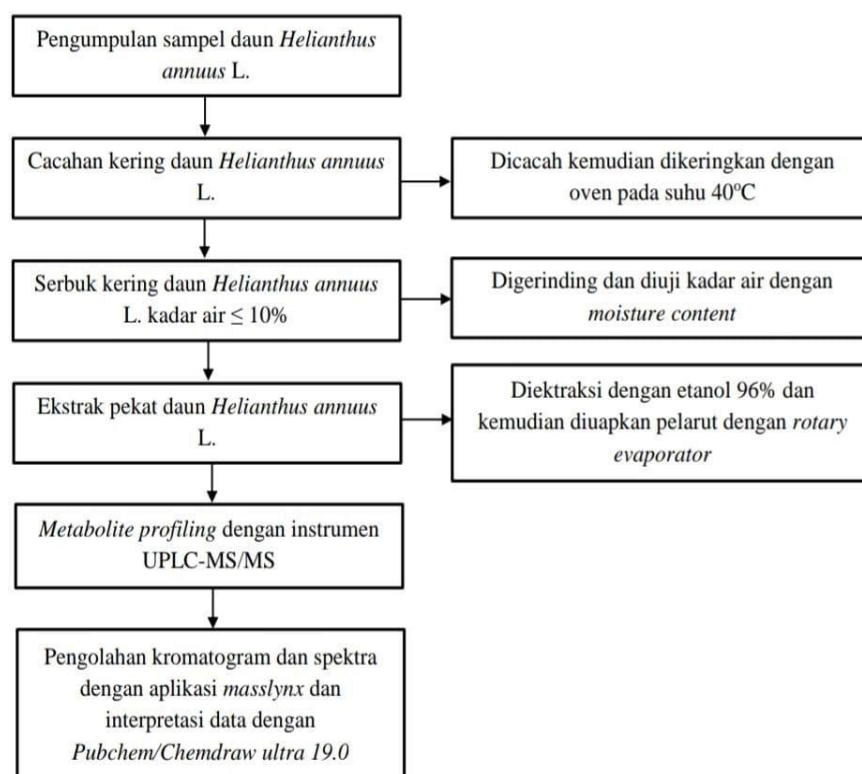
Beberapa bahan yang dibutuhkan selama pelaksanaan *research* ini antara lain pelarut etanol teknis 96%, daun bunga matahari (*Helianthus annuus* L.), Eluen untuk UPLCMS/MS yang terdiri dari campuran air dan asam format dengan perbandingan (99.9 : 0.1) dan campuran asetonitril dan asam format dengan perbandingan (99,9 : 0,1).

4.6 Prosedur Penelitian

Dalam pelaksanaannya, *research* ini melewati urutan tahapan antara lain :

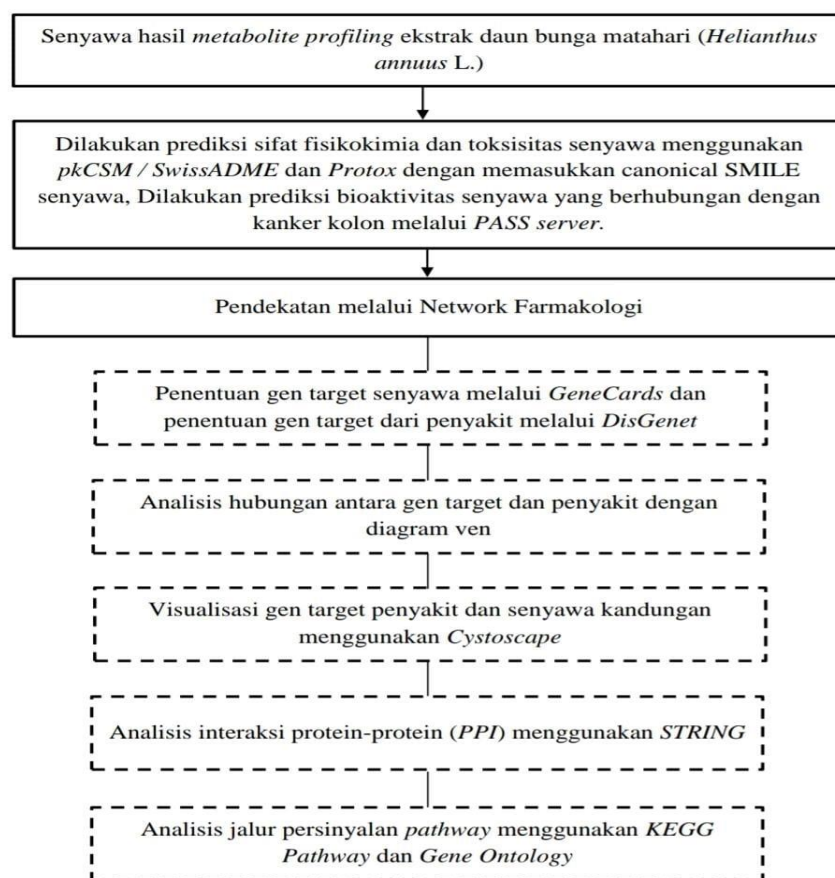
4.6.1 Skema Penelitian

a. Profil metabolit daun bunga matahari (*Helianthus annuus* L.)



Gambar 4.1 Skema penelitian profil metabolit daun bunga matahari

b. Penentuan mekanisme molekuler dengan pendekatan jaringan farmakologi



Gambar 4.2 Skema penelitian network farmakologi

4.6.2 Preparasi Sampel

Tanaman bunga matahari (*Helianthus annuus* L.) yang diperoleh, dideterminasikan untuk memastikan bahwa tumbuhan yang disiapkan sesuai dengan yang diperlukan sebagai sampel penelitian. Setelah itu, daun dipilah dan dipilih yang terlihat segar, kemudian dibilas dengan air mengalir untuk menghilangkan kontaminan fisik pada daun bunga matahari tersebut. Daun yang telah dibersihkan, diiris dan dihilangkan kadar airnya dengan oven pada suhu 60°C hingga diperoleh daun bunga matahari kering dengan bobot konstan. Irisan kering tersebut kemudian digiling lebih halus untuk menghasilkan

serbuk simplisia dengan tingkat kehalusan yang sesuai. Serbuk kemudian disaring dengan mesh 90, sehingga serbuk yang lolos dari ayakan diambil sebagai sampel untuk diekstraksi, sementara yang tidak lolos akan digiling kembali.

4.6.3 Analisis Kadar Air

Serbuk simplisia yang diperoleh kemudian diuji kadar airnya menggunakan instrument *moisture content analyzer*. Instrument dihidupkan, sesaat setelah itu *analyzer* menunjuk pada sample pan handler. Selanjutnya, gagang penutup wadah sampel diturunkan sehingga instrument menunjukkan 0,000 pada layar yang menandakan bahwa alat sedang dikalibrasi. Setelah itu, sekitar $\pm 0,500$ gram sampel ditempatkan di penangan sampel dan ditutup. Kemudian alat secara otomatis mulai melakukan pengukuran hingga layar menampilkan hasil pengukuran berupa persentase kadar air simplisia. Pengukuran ini diulang sebanyak 3 kali dan hasil dari ketiga pengukuran tersebut dirata-ratakan.

4.6.4 Ekstraksi

Ekstraksi pada daun bunga matahari (*Helianthus annuus* L.) dijalankan dengan metode ultrasonik. Metode ultrasonik dipilih karena waktu dan jumlah pelarut yang digunakan lebih efektif dan efisien, sehingga menghasilkan ekstrak yang optimal. Serbuk daun bunga matahari diekstraksi dengan menggunakan pelarut etanol 96% dalam perbandingan (1:10). Proses ekstraksi dilakukan menggunakan alat UAE selama 20 menit dengan suhu optimal 40°C, frekuensi 25 kHz, amplitudo 65%, pulse on/pulse off selama 10 detik (Sadiah dkk, 2022). Setelah itu, ekstrak daun bunga matahari yang didapatkan difiltrasi,

dan filtrat yang diperoleh kemudian dikonsentrasikan menggunakan alat *rotary evaporator* hingga pelarut menguap dan tersisa ekstrak pekat daun bunga matahari. Ekstrak pekat tersebut kemudian ditampung dalam cawan petri dan dikeringkan dalam oven pada suhu 40°C hingga diperoleh ekstrak kering. Selanjutnya, dilakukan perhitungan rendemen dari ekstrak kering yang dihasilkan. Rendemen merupakan perbandingan antara bobot kering produk dengan bobot kering bahan baku. Rendemen dapat dihitung menggunakan rumus yang telah ditentukan (Fajarullah dkk, 2014) :

$$\text{Rendemen Ekstrak} = \frac{\text{Berat Ekstrak}}{\text{Berat Sampel}} \times 100\%$$

Kemudian, 10 mg ekstrak kering ditampung dengan dimasukkan ke dalam tabung appendorf untuk keperluan analisis berikutnya.

4.6.5 Metabolite Profiling menggunakan UPLC-MS/MS

Langkah awal dilakukan dengan menyiapkan sampel kemudian sampel tersebut diinjeksikan ke dalam UPLC/MS. Sebanyak 10 mg ekstrak kering daun bunga matahari dilarutkan dalam 10 ml metanol. Penelitian ini memerlukan 5 µl filtrat yang telah diperoleh sebelumnya yang akan diolah dengan cara diinjeksikan ke dalam alat UPLC/MS menggunakan bantuan *microsyringe*. Pentingnya optimalisasi penggunaan eluen untuk prosedur eluasi dalam penelitian ini agar diperoleh hasil pemisahan yang optimal. Berikut adalah penggunaan sistem eluasi tipe gradient dengan spesifikasi yang akan dijelaskan dalam tabel berikut.

Tabel 4.1 Perbandingan pemanfaatan pelarut dalam metode eluasi gradien

Waktu (menit)	Persentase Eluen A	Persentase Eluen B
0,00	95,00	5,0
2,00	75,0	25,0
3,00	75,0	25,0
14,00	0,0	100,0
15,00	0,0	100,0
19,00	95,0	5,0
23,00	95,0	5,0

Kromatogram dan spektra sampel yang telah dipisahkan oleh alat ini diolah menggunakan aplikasi *Masslynx* untuk mendapatkan informasi mengenai luas puncak, *measured mass*, waktu retensi, rumus puncak, dan *calculated mass* yang terdeteksi. Identitas senyawa yang ditemukan ditentukan dengan menginterpretasikan data melalui situs web *Chemspider/Pubchem*, sehingga profil metabolit dari ekstrak etanol 96% daun bunga matahari (*Helianthus annuus* L.) dapat diperoleh.

4.6.6 Prediksi Parameter Fisikokimia dan Toksisitas Senyawa

Prediksi sifat fisik dan kimia senyawa yang berpotensi sebagai obat kanker kolon dilakukan dengan menggunakan *pkCSM*. Kode SMILE dari setiap senyawa yang terdeteksi diperoleh dari situs web *Pubchem*. Dilakukan pengujian dengan meng-copy canonical SMILE-nya dan diuji menggunakan web *pkCSM* (<http://biosig.unimelb.edu.au/pkcsml/prediction>) Untuk menguji toksisitas (LD_{50}), digunakan web protox (<http://tox.charite.de/tox/>). Parameter yang diuji dalam toksisitas adalah nilai LD_{50} . Terdapat beberapa kelas dalam memprediksi toksisitas senyawa (Nursanti, 2019):

A. Kelas I : Fatal jika tertelan ($LD_{50} \leq 5$)

- B. Kelas II : Fatal jika tertelan ($5 < LD_{50} \leq 50$)
- C. Kelas III : Beracun jika tertelan ($50 < LD_{50} \leq 300$)
- D. Kelas IV : Berbahaya jika tertelan ($300 < LD_{50} \leq 2000$)
- E. Kelas V : Mungkin berbahaya jika tertelan ($2000 < LD_{50} \leq 5000$)
- F. Kelas VI : Tidak beracun ($LD_{50} > 5000$)

4.6.7 Prediksi Bioktivitas Senyawa Menggunakan *PASS Server*

Senyawa yang lolos uji fisikokimia dan uji toksisitas, diprediksi aktivitas farmakologisnya melalui penggunaan web *PASS Server* pada laman (<http://www.way2drug.com/passonline/index.php>). Dilakukan pengujian dengan meng-copy canonical SMILE-nya. Kemudian, pilih opsi "*Go For Predict*" dan lanjutkan ke opsi "*Predict New Compound*". Tempelkan kode SMILE senyawa yang akan diprediksi aktivitasnya pada kolom yang tersedia, lalu tekan opsi "*Get Prediction*" untuk memulai proses prediksi. Dengan demikian, akan diperoleh hasil prediksi aktivitas dari senyawa tersebut.

4.6.8 Network Farmakologi

Pendekatan melalui network farmakologi dilakukan dengan menentukan gen target senyawa melalui *GeneCards* (<https://www.genecards.org/>), menentukan gen target penyakit melalui *DisGeNet* (<https://www.disgenet.org/>) dan melakukan analisis hubungan dengan diagram ven. Kemudian dilakukan visualisasi antara gen target penyakit dan senyawa kandungan menggunakan *Cytoscape*. Untuk memastikan adanya gen target dan target penyakit yang saling berhubungan dilakukan analisis *Protein-Protein Interaction* (PPI) menggunakan *STRING* (<https://STRING-db.org/>) dan analisis jalur persinyalan *pathway* menggunakan

KEGG Pathway (<https://www.genome.jp/kegg/pathway.html>) dan Gen Ontology (<http://geneontology.org/>).

4.6.9 Analisa Data

Hasil analisis hasil dari uji PASS pada senyawa menggunakan parameter uji berdasarkan nilai Pa, dimana senyawa dengan nilai $Pa > 0.7$ berarti senyawa tersebut mempunyai potensi biologis yang sangat tinggi. Jika nilai Pa $0.5 < Pa < 0.7$, maka kemungkinan aktivitas senyawa tersebut rendah. Sedangkan jika nilai $Pa < 0.5$ maka kemungkinan efek farmakologis tersebut sangat kecil.

Selanjutnya, hasil uji prediksi sifat fisikokimia dari senyawa yang diuji menunjukkan bahwa senyawa harus memenuhi hukum lima lipinski dengan parameter berikut: $\log P \leq 5$, berat molekul ≤ 500 g/mol, *Hydrogen Bond Donors* ≤ 5 , *Hydrogen Bond Acceptors* ≤ 10 , *Torsion* ≤ 10 , *Polar Surface Area* ≤ 140 . Selain itu, prediksi toksisitas senyawa juga dilakukan untuk mengetahui tingkat toksisitasnya berdasarkan nilai LD_{50} dan kelas toksisitas. Dalam penelitian ini, parameter yang digunakan adalah kelas toksisitas ≥ 3 .

Pendekatan dengan menggunakan network farmakologi dapat membantu dalam memahami hubungan antara protein target, senyawa kimia dalam tanaman, dan penyakit. Dengan demikian, dapat diketahui gen target dari senyawa yang terkait dengan penyakit serta jalur persinyalannya.

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Determinasi Tanaman *Helianthus annuus* L.

Sampel daun bunga matahari (*Helianthus annuus* L.) dilakukan determinasi di UPT Materia Medica Batu untuk memastikan keasliannya. Kunci determinasi merupakan suatu alat pengidentifikasi serta pengklasifikasi kedudukan segala macam benda hidup baik tumbuhan maupun hewan (Ardiyanti, 2016). Diperoleh hasil kunci determinasi sampel daun *Helianthus annuus* L. yakni Ib-2b-3b-4b-6b-7b-9b-106-116-126-13b-14a-15a-1096-1196-120-121a- 122a.

Berdasarkan surat keterangan determinasi, dibenarkan bahwa sampel yang digunakan merupakan tanaman bunga matahari yang merupakan tanaman pohon yang tingginya mencapai 3-5 meter dengan morfologi batang yang ditumbuhi rambut, tegak, dan jarang bercabang. Daun yang tunggal, lebar dan berwarna hijau. Bunganya majemuk dan terdapat dua tipe bunga, pertama bunga tepi atau bunga lidah yang membawa satu kelopak besar berwarna kuning cerah dan steril. Bunga kedua yakni bunga tabung yang fertil dan menghasilkan biji yang jumlahnya bisa mencapai 2000 kuntum dalam satu tandan bunga. Buahnya yakni buah kurung (*achene*), buah kering berdinding agak keras dan tak terlalu tebal ini sering disangka ‘biji’ bunga. Bijinya yang sesungguhnya terletak di dalam, terlindung oleh buah yang serupa tempurung. Akarnya tunggang dan berwarna putih kotor. Lembar determinasi yang dimaksud terlampir pada lampiran I.

5.2 Preparasi Simplisia Daun *Helianthus annuus* L.

Bahan penelitian yang digunakan adalah simplisia daun *Helianthus annuus* L. yang telah melalui proses verifikasi dan diperoleh dari lokasi spesifik Bumiaji, Kota Batu. Sampel simplisia tersebut kemudian menjalani proses pencucian menggunakan air mengalir untuk meminimalkan kontaminasi dari partikel asing. Tujuan dari proses ini adalah untuk memperoleh simplisia dengan derajat kemurnian tinggi sehingga data penelitian yang dihasilkan memiliki validitas yang baik. (Panaungi dan Saka, 2022).



Gambar 5.1 Daun *Helianthus annuus* L.

Sampel simplisia dilakukan pencucian dengan menggunakan air mengalir untuk menghilangkan kontaminan permukaan. Setelah itu, sampel mengalami proses pengeringan pada suhu terkontrol 50°C hingga mencapai kadar air kurang dari 10%. Tujuan utama dari proses pengeringan adalah untuk mencegah pertumbuhan mikroorganisme seperti jamur, serta menghentikan aktivitas enzimatis. Dengan demikian, stabilitas dan umur simpan simplisia dapat diperpanjang (Dharma dkk, 2020). Proses dehidrasi sampel dilakukan dalam waktu yang optimal untuk menghindari degradasi komponen seluler dan senyawa aktif akibat paparan suhu tinggi. Hal ini sejalan dengan temuan Syafrida dkk (2018) yang menunjukkan adanya korelasi negatif antara suhu pengeringan dengan kandungan senyawa dalam sampel. Metode pengeringan

menggunakan oven dipilih karena mampu mencapai berat kering konstan dalam waktu yang relatif singkat, sekaligus meminimalkan kerusakan *termal* pada komponen bioaktif. Dibandingkan dengan metode konvensional lainnya, pengeringan menggunakan oven dianggap lebih efisien dan selektif dalam menjaga integritas sampel (Ariani dkk, 2022).



Gambar 5.2 Prosedur pengeringan daun *Helianthus annuus* L.

Sampel simplisia yang telah memenuhi kriteria kualitas selanjutnya menjalani proses reduksi ukuran hingga diperoleh partikel berukuran seragam. Tujuan utama dari proses komminusi ini adalah untuk meningkatkan luas permukaan spesifik simplisia, sehingga memaksimalkan interaksi antara matriks simplisia dengan pelarut selama proses ekstraksi. Hal ini sejalan temuan Asworo dan Widwastuti (2023) dengan prinsip dasar ekstraksi yang menyatakan bahwa semakin kecil ukuran partikel, semakin efisien proses transfer massa dari fase padat ke fase cair. Serbuk simplisia daun *Helianthus annuus* L. kemudian disimpan dalam wadah kedap udara yang dilengkapi dengan silica gel untuk menjaga stabilitas dan mencegah degradasi akibat paparan kelembaban. Simplisia ini memiliki karakteristik fisik berupa warna hijau kecoklatan dan aroma khas.

5.3 Analisis Kadar Air Serbuk Daun *Helianthus annuus* L.

Kandungan air dalam simplisia merupakan parameter kritis yang secara signifikan mempengaruhi stabilitas dan kualitas produk akhir. Analisis kadar air dilakukan untuk menentukan persentase massa air yang masih tertinggal dalam sampel setelah proses pengeringan. Tujuan utama dari analisis ini adalah untuk memastikan bahwa kadar air berada di bawah ambang batas yang telah ditetapkan, sehingga dapat meminimalkan risiko degradasi akibat pertumbuhan mikroba seperti jamur dan kapang (Sinaga dkk, 2024). Proses pengukuran kadar air pada simplisia daun *Helianthus annuus* L. dilakukan menggunakan instrumen *moisture content analyzer* “Mettler Toledo HC103”.

Analisis kadar air pada penelitian ini menggunakan metode termogravimetri dengan instrumen *moisture content analyzer*. Prinsip kerja metode ini didasarkan pada perubahan massa sampel akibat penguapan air saat dipanaskan. Sampel akan mengalami pemanasan melalui radiasi inframerah yang dipancarkan oleh lampu halogen, menyebabkan molekul air menguap dan terukur sebagai penurunan massa (Pradita dkk, 2021). Metode termogravimetri ini dipilih karena memiliki beberapa keunggulan, yaitu akurasi tinggi, waktu analisis singkat, operasional yang sederhana, dan tidak memerlukan reagen kimia berbahaya. Selain itu, instrumen yang digunakan juga relatif terjangkau (Nurhidayati dan Warmiati, 2021).

Analisis kadar air pada serbuk simplisia daun *Helianthus annuus* L. dilakukan menggunakan metode termogravimetri dengan instrumen *moisture content analyzer*. Sebanyak 0,5 gram sampel ditempatkan pada cawan sampel dan dipanaskan pada suhu konstan 105°C hingga tercapai berat konstan. Proses pengukuran dilakukan secara replikasi sebanyak tiga kali untuk meningkatkan

keandalan data. Hasil analisis yang diperoleh kemudian dirata-rata untuk mendapatkan nilai kadar air yang representatif. Hasil replikasi kadar air dalam sampel daun bunga matahari sebagai berikut.

Tabel 5.1 Hasil replikasi ukuran kadar air simplisia daun bunga matahari

Sampel	Replikasi	Kadar Air (%)	Rata-rata (%)
Serbuk Simplisia daun <i>Helianthus annuus</i> L.	1	8.46	8.58
	2	8.72	
	3	8.58	

Hasil rata-rata kadar air setelah dilakukan replikasi menunjukkan angka sebesar 8,58%. Persentase kadar air yang ideal pada simplisia adalah $\leq 10\%$, untuk mencegah pertumbuhan bakteri dan jamur selama penyimpanan, serta menghindari terjadinya proses enzimatik yang dapat merusak senyawa kimia oleh mikroba, yang pada gilirannya dapat mempengaruhi efek farmakologis simplisia tersebut seiring dengan waktu penyimpanannya yang lama. Dengan demikian, salah satu indikator yang memengaruhi kualitas dan mutu simplisia adalah kandungan air di dalamnya. Proses pengeringan juga memiliki pengaruh yang signifikan dalam hal ini. Pengeringan yang baik dan optimal akan mengurangi kadar air dalam simplisia secara efektif (Dharma dkk, 2020). Kadar air yang terdapat dalam simplisia daun bunga matahari ini tergolong baik dan memenuhi standar yang ditetapkan.

5.4 Ekstraksi Daun *Helianthus annuus* L.

Ekstraksi merupakan proses pemisahan senyawa target dari matriks sampel menggunakan pelarut yang sesuai berdasarkan prinsip kelarutan *like dissolves like*. Dalam penelitian ini, metode ekstraksi ultrasonik (UAE) dipilih untuk mengekstrak senyawa aktif dari daun *Helianthus annuus* L. UAE

merupakan teknik ekstraksi modern yang memanfaatkan energi gelombang ultrasonik untuk mempercepat proses ekstraksi. Dibandingkan dengan metode konvensional, UAE menawarkan beberapa keunggulan, yaitu waktu ekstraksi yang lebih singkat, efisiensi ekstraksi yang tinggi, dan selektivitas yang lebih baik. Selain itu, penggunaan suhu rendah pada metode ini dapat meminimalkan degradasi senyawa termolabil, sehingga menghasilkan rendemen ekstrak yang lebih tinggi (Djoko dkk, 2020).

Bath ultrasonik bekerja dengan memancarkan gelombang akustik ke dalam media pelarut. Interaksi antara gelombang akustik dengan media ini menghasilkan fenomena kavitasi akustik, yaitu terbentuknya gelembung-gelembung vakum di dalam cairan. Ketika gelembung-gelembung ini runtuh secara tiba-tiba, terjadi peningkatan tekanan dan suhu lokal yang sangat tinggi. Kondisi ekstrem ini menyebabkan disrupsi sel dan meningkatkan permeabilitas membran sel, sehingga senyawa target dapat lebih mudah diekstraksi oleh pelarut. Selain itu, penggunaan ultrasonik juga memungkinkan dilakukannya ekstraksi pada suhu yang lebih rendah, sehingga cocok untuk senyawa-senyawa yang sensitif terhadap panas (Wardaniati dan Yanti, 2018).

Proses ekstraksi senyawa aktif dari serbuk daun *Helianthus annuus* L. dilakukan menggunakan etanol 96% sebagai pelarut. Perbandingan antara massa sampel dan volume pelarut yang digunakan adalah 1:10 (b/v). Artinya, setiap 1 gram sampel dilarutkan dalam 10 ml etanol. Sebanyak 100 gram serbuk daun bunga matahari dilarutkan dalam 1.000 ml etanol 96%. Pemilihan etanol sebagai pelarut didasarkan pada polaritas etanol yang bersifat intermediet, sehingga mampu melarutkan berbagai jenis senyawa, baik yang

bersifat polar maupun nonpolar. Hal ini membuat etanol menjadi pelarut yang umum digunakan dalam ekstraksi fitokimia (Perina dkk, 2017). Ada beberapa alasan penggunaan pelarut etanol 96%. Pertama, pelarut ini lebih selektif dalam menarik zat berkhasiat yang diinginkan. Selain itu, absorpsinya juga baik dan kapang serta khamir sulit tumbuh di dalamnya. Selain itu, pelarut etanol 96% juga mudah menguap dan dapat menghasilkan ekstrak kental lebih cepat dibandingkan dengan pelarut etanol 70%. Etanol 96%, dengan sifat polaritasnya, mampu berinteraksi dengan berbagai jenis senyawa, termasuk flavonoid yang bersifat polar. Selain itu, etanol 96% memenuhi kriteria sebagai pelarut yang ideal, yaitu selektif, ekonomis, ramah lingkungan, dan aman. Sifat volatilitas tinggi etanol 96% memudahkan proses pemisahan pelarut dari ekstrak, sedangkan sifat antimikrobanya membantu menjaga stabilitas ekstrak selama proses ekstraksi (Serlahwaty dan Sevia, 2016).

Proses ekstraksi pada serbuk daun *Helianthus annuus* L. menghasilkan filtrat berwarna hijau tua. Warna hijau khas ini mengindikasikan adanya pigmen klorofil yang terestruktur. Klorofil, sebagai pigmen fotosintetik utama, terlokalisasi dalam tilakoid kloroplas. Tilakoid merupakan membran internal kloroplas yang berperan penting dalam proses fotosintesis (Sartika dkk, 2017). Filtrat hasil ekstraksi kemudian disaring menggunakan kertas saring untuk menghilangkan partikel-partikel kasar dan kontaminan lainnya. (Wardaniati dan Yanti, 2018).

Rotary evaporator digunakan untuk menghilangkan pelarut etanol dari ekstrak cair pada suhu 50°C. Prinsip kerja alat ini adalah dengan memanaskan labu yang berisi sampel secara rotasi pada suhu di bawah titik didih pelarut.

Uap pelarut yang terbentuk kemudian didinginkan dan dikondensasi di dalam kondensor, lalu ditampung dalam labu penerima. Pemilihan suhu 50°C didasarkan pada titik didih etanol yang berkisar antara 60-78°C. Suhu yang lebih rendah ini bertujuan untuk mencegah degradasi senyawa termolabil (Wardaniati dan Yanti, 2018). Proses evaporasi dihentikan ketika tidak ada lagi tetesan kondensat yang terbentuk dan ekstrak mencapai kekentalan yang diinginkan.

Ekstrak kental hasil evaporasi rotari masih mengandung kadar air yang signifikan. Oleh karena itu, proses pengeringan dilanjutkan dalam oven pada suhu 50°C untuk menghilangkan sisa pelarut dan air. Suhu pengeringan ini dipilih untuk meminimalkan degradasi senyawa termolabil. Setelah seluruh pelarut menguap dan ekstrak mencapai konsistensi pasta, ekstrak kemudian ditimbang untuk menentukan rendemen ekstraksi



Gambar 5.3 Produk pasta hasil ekstraksi daun *Helianthus annuus* L.

Setelah proses ekstraksi dan pengeringan, diperoleh data berupa berat ekstrak kering daun bunga matahari, yaitu 14,73 gram. Untuk mengetahui seberapa efisien proses ekstraksi yang telah dilakukan dapat dihitung rendemen dengan menggunakan rumus :

$$\text{Rendemen Ekstrak} = \frac{\text{Berat Ekstrak}}{\text{Berat Sampel}} \times 100\%$$

Rincian hasil ekstraksi ditunjukkan pada tabel 5.2 dengan perhitungan rendemen pada lampiran 3.

Tabel 5. 2 Rincian hasil ekstraksi daun bunga matahari

Ekstrak	Bobot sampel	Volume pelarut	Warna ekstrak pekat	Rendemen (%)
Etanol 96%	100 gram	1000 ml	Hijau tua	14,73%

Nilai rendemen ekstrak daun *Helianthus annuus* L. yang diperoleh sebesar 14,73% menunjukkan efisiensi ekstraksi yang baik. Angka ini melampaui batas minimal rendemen yang umumnya dianggap memenuhi syarat yaitu tidak kurang dari 10% (Badriyah dan Farihah, 2022). Efisiensi ekstraksi dipengaruhi oleh berbagai faktor, seperti suhu ekstraksi, jenis pelarut, waktu ekstraksi, dan ukuran partikel (Perina dkk, 2017; Jayanudin dkk, 2014). Kandungan klorofil yang tinggi pada daun bunga matahari juga berkontribusi terhadap rendemen yang diperoleh. Kelarutan klorofil dalam etanol yang tinggi menyebabkan pigmen ini ikut terekstraksi, sehingga meningkatkan berat ekstrak akhir (Dia dkk, 2015).

5.5 *Metabolite Profiling* Menggunakan UPLC-QToF-MS/MS

Analisis profil metabolit sekunder ekstrak etanol daun *Helianthus annuus* L. dilakukan menggunakan kromatografi cair kinerja ultra (UPLC) yang dikombinasi dengan spektrometri massa tandem (MS/MS). UPLC, sebagai evolusi dari HPLC konvensional, menawarkan efisiensi pemisahan yang jauh lebih tinggi, ditandai dengan kecepatan analisis yang singkat (sekitar 1,5 menit per sampel), sensitivitas yang tinggi, dan resolusi puncak yang baik. Hal ini dimungkinkan berkat penggunaan kolom kapiler berdimensi kecil dan

laju alir fase gerak yang tinggi. Detektor MS dengan sumber ionisasi elektropray ionisasi (ESI) dan analisator *quadrupole-time of flight* (Q-ToF) memberikan selektivitas, sensitivitas, dan resolusi massa yang sangat baik dalam mengidentifikasi dan kuantifikasi berbagai metabolit sekunder. Kombinasi teknik UPLC-MS/MS ini memungkinkan analisis komprehensif terhadap profil metabolit sekunder dalam waktu yang relatif singkat (Hakim dkk, 2018).

Analisis profil metabolit daun bunga matahari diawali dengan preparasi sampel. Ekstrak daun bunga matahari dilarutkan dalam metanol untuk memperoleh larutan sampel. Sebanyak 5 μ L larutan sampel kemudian diinjeksikan ke dalam sistem kromatografi cair ultra-kinerja (UPLC) yang terhubung dengan spektrometer massa tandem (MS/MS) dengan detektor *quadrupole-time of flight* (Q-ToF). Dalam sistem UPLC, sampel dialirkan melalui kolom kromatografi yang berisi fase diam. Fase diam ini berfungsi untuk memisahkan komponen-komponen dalam sampel berdasarkan perbedaan polaritas. Komponen-komponen yang memiliki polaritas yang sama dengan fase gerak akan terelusi lebih cepat, sedangkan komponen yang lebih polar akan tertahan lebih lama di dalam kolom. Setelah melewati kolom, komponen-komponen yang telah terpisah kemudian diionisasi oleh sumber ionisasi *elektrospray ionization* (ESI) dan dianalisis oleh spektrometer massa. Kromatogram yang dihasilkan merupakan representasi grafis dari sinyal ion yang terdeteksi oleh spektrometer massa sebagai fungsi waktu. Setiap puncak pada kromatogram mewakili satu senyawa kimia yang berbeda (Sheliya and Syah, 2013).

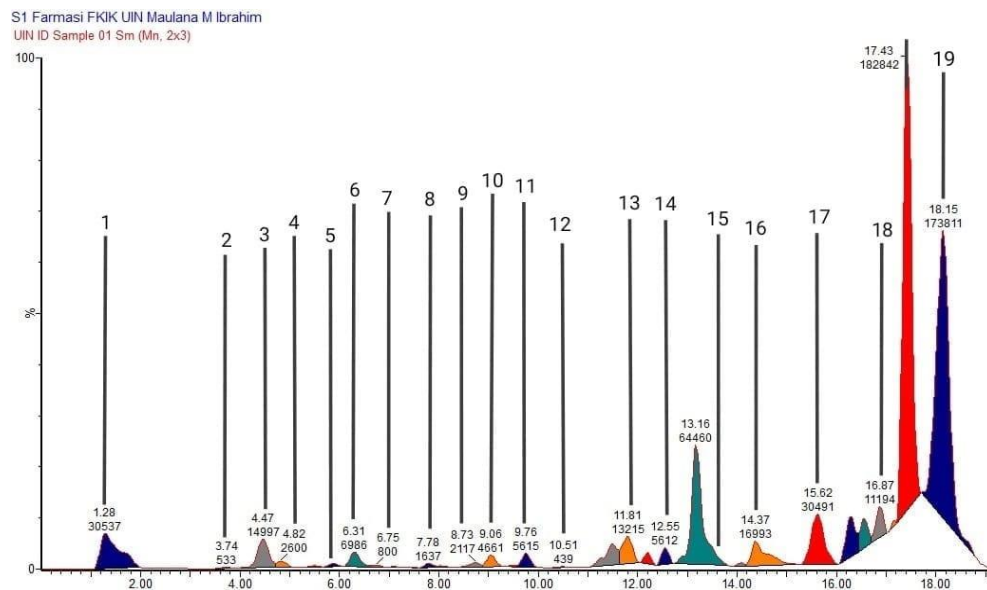
Dalam penelitian ini, kolom C18 (oktadesil silika) dipilih sebagai fase diam karena kemampuannya untuk memisahkan beragam senyawa dengan rentang polaritas yang luas. Fase gerak yang digunakan adalah campuran air-asam format dan asetonitril-asam format dengan proporsi tertentu. Kombinasi fase gerak ini terbukti efektif dalam memisahkan komponen-komponen dalam sampel dalam waktu kurang dari 15 menit (Hakim dkk, 2018). Untuk meningkatkan efisiensi pemisahan, diterapkan metode elusi gradien yang secara bertahap mengubah komposisi fase gerak selama analisis (Raeni dkk, 2018). Hal ini memungkinkan senyawa dengan polaritas berbeda untuk terelusi secara terpisah. Dalam sistem fase terbalik yang digunakan, senyawa polar akan terelusi lebih awal dibandingkan dengan senyawa nonpolar. Setelah melewati kolom, senyawa-senyawa yang telah terpisah kemudian dideteksi oleh spektrometer massa dan menghasilkan kromatogram yang menunjukkan waktu retensi dan intensitas sinyal masing-masing senyawa (Zainal dkk, 2018).

Spektrometri massa (MS), yang terintegrasi dengan sistem kromatografi cair ultra-kinerja (UPLC), berperan krusial dalam analisis profil molekuler. Prinsip kerja MS didasarkan pada ionisasi molekul sampel, diikuti oleh pemisahan ion berdasarkan rasio massa terhadap muatan (m/z). Dalam sistem UPLC-MS/MS, ionisasi molekul dilakukan menggunakan sumber ion elektropray ionisasi (ESI). ESI mengubah molekul analit dalam larutan menjadi ion melalui proses pembentukan aerosol bermuatan. Ion-ion yang terbentuk kemudian dipisahkan dan dideteksi oleh analisator massa, sehingga menghasilkan spektrum massa yang khas untuk setiap senyawa. Spektrum

massa ini memberikan informasi mengenai massa molekul relatif dan struktur kimia dari senyawa yang dianalisis (Kuncoro dkk, 2022).

Penelitian ini menggunakan spektrometer massa *quadrupole time-of-flight* (Q-TOF) sebagai detektor. Sistem Q-TOF menggabungkan kemampuan quadrupole dalam memisahkan ion berdasarkan rasio massa terhadap muatan (m/z) dengan kemampuan *time-of-flight* dalam mengukur massa ion secara akurat (Hakim dkk, 2018). Ion-ion yang telah dipisahkan oleh quadrupole kemudian difragmentasi dan ion-ion fragmennya dipisahkan berdasarkan waktu yang dibutuhkan untuk mencapai detektor. Keunggulan utama Q-TOF adalah kemampuannya dalam memberikan data massa yang sangat akurat, sensitivitas tinggi, dan resolusi massa yang baik. Hal ini memungkinkan identifikasi senyawa secara pasti berdasarkan spektrum massa yang dihasilkan. Data mentah yang diperoleh dari Q-TOF berupa kromatogram yang menunjukkan intensitas sinyal ion sebagai fungsi waktu. Perangkat lunak seperti *massLynx* digunakan untuk memproses kromatogram dan menghasilkan spektrum massa untuk setiap puncak kromatogram. Spektrum massa ini kemudian dapat digunakan untuk melakukan analisis struktural senyawa yang terdeteksi (Harmita dkk, 2019).

Hasil pemisahan dan identifikasi yang diperoleh melalui UPLC-MS/MS ditunjukkan dalam bentuk kromatogram untuk setiap senyawa yang terdeteksi sebagai berikut.

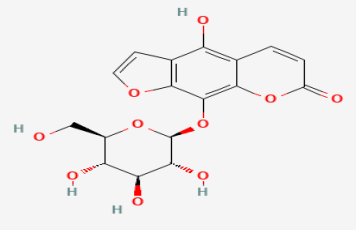
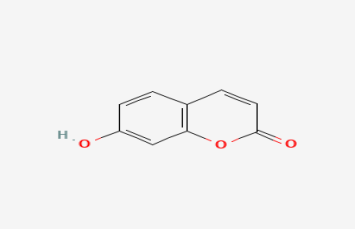
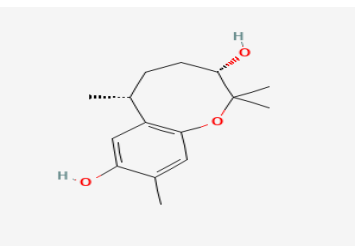


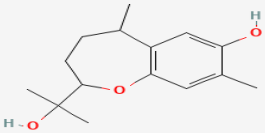
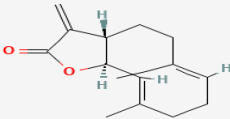
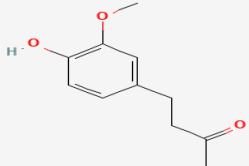
Gambar 5.4 Kromatogram sampel daun *Helianthus annuus* L.

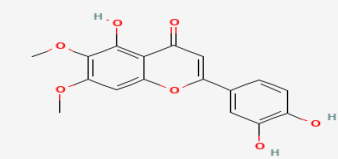
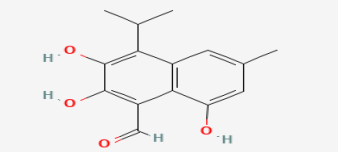
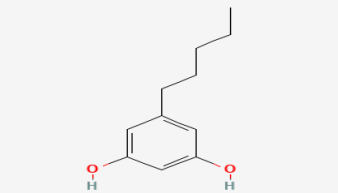
Setiap puncak (*peak*) pada kromatogram yang dihasilkan oleh analisis UPLC-MS/MS merepresentasikan identitas satu senyawa dalam sampel. Perangkat lunak *masslynx* digunakan untuk mengolah data kromatografi dan menghasilkan informasi yang meliputi waktu retensi (Rt), intensitas puncak, persentase area, massa terukur dan massa terhitung, serta spektrum massa. Rumus molekul senyawa ditentukan berdasarkan nilai *FitConf* tertinggi, yang merupakan parameter yang menunjukkan kesesuaian antara pola isotop teoritis dan eksperimental. Nama senyawa diperoleh dengan melakukan modifikasi pada rumus molekul, yaitu dengan mengurangi satu atom hidrogen, untuk memperhitungkan proses ionisasi ESI yang sering menyebabkan kehilangan satu proton. Struktur kimia senyawa dapat diprediksi dengan menggunakan basis data senyawa seperti *PubChem*. Persentase area dari setiap puncak digunakan sebagai perkiraan kuantitas relatif senyawa dalam sampel, dihitung berdasarkan perbandingan luas puncak senyawa terhadap total luas semua puncak pada kromatogram (Mutiah dkk, 2019). Berdasarkan hasil analisis,

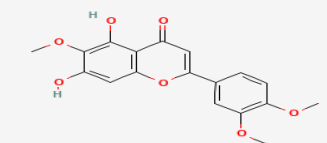
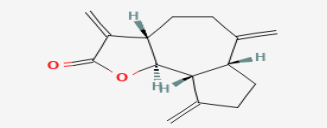
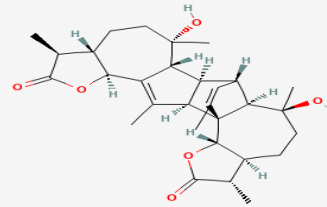
terdapat 19 senyawa yang berhasil diidentifikasi profilnya, di antaranya adalah sebagai berikut:

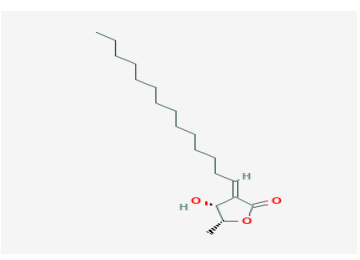
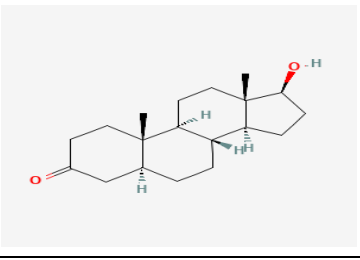
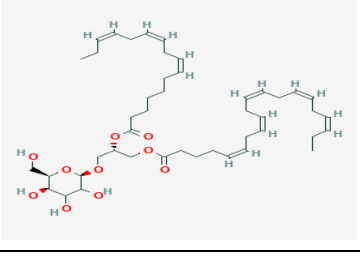
Tabel 5.3 Interpretasi hasil profil metabolit sekunder daun *Helianthus annuus* L.

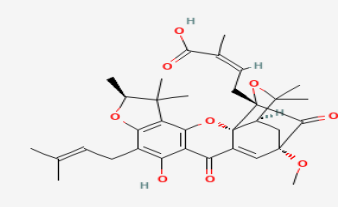
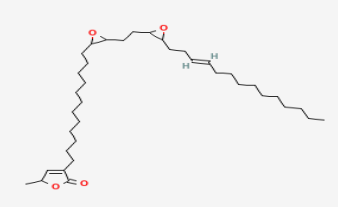
No.	Rt	% Area	Measured mass	Calculated mass	Rumus Senyawa	Nama Senyawa	Golongan Senyawa	Struktur Senyawa
1.	1,28	4,93	381,08	381,0822	C ₁₇ H ₁₆ O ₁₀	CHEMBL479499	Flavonoid	
2.	3,74	0,09	163,0396	163,0395	C ₉ H ₆ O ₃	Umbelliferone	Fenol	
3.	4,47	2,42	251,1651	251,1647	C ₁₅ H ₂₂ O ₃	Heliannuol A	Sesquiterpen lakton	

4.	4,82	0,42	251,1652	251,1647	C ₁₅ H ₂₂ O ₃	Heliannuol D	Sesquiterpen lakton	
5.	5,87	0,21	233,1544	233,1542	C ₁₅ H ₂₀ O ₂	Costunolide	Sesquiterpen lakton	
6.	6,31	1,13	195,1024	195,1021	C ₁₁ H ₁₄ O ₃	Zingerone	Fenol	
7.	6,75	0,13	526,2617	526,2639	C ₂₃ H ₃₂ N ₁₁ O ₄	Unknown	Unknown	-

8.	7,78	0,26	331,0816	331,0818	C ₁₇ H ₁₄ O ₇	Cirsiliol	Flavonoid	
9.	8,73	0,34	261,1131	261,1127	C ₁₅ H ₁₆ O ₄	Hemigossypol	Terpenoid	
10.	9,06	0,75	181,1233	181,1229	C ₁₁ H ₁₆ O ₂	Olivetol	Fenol	

11.	9,76	0,91	345,097	345,0974	C ₁₈ H ₁₆ O ₇	Eupatilin	Flavonoid	
12.	10,51	0,07	231,138	231,1385	C ₁₅ H ₁₈ O ₂	Dehydrocostus lactone	Sesquiterpen lakton	
13.	11,81	2,13	497,2906	497,2903	C ₃₀ H ₄₀ O ₆	Absinthin	Sesquiterpen lakton	

14.	12,55	0,91	311,258	311,2586	C19H34O3	Marliolide	Sesquiterpen lakton	
15.	13,65	10,41	291,2325	291,2324	C19H30O2	Androstanolone	Steroid	
16.	14,37	2,74	771,5038	771,5047	C45H70O10	SCHEMBL18806933	Glikolipid	

17.	15,62	4,92	593,2756	593,2751	C ₃₄ H ₄₀ O ₉	Scortechinone B	Flavonoid	
18.	16,87	1,81	856,5239	856,527	C ₄₁ H ₇₇ NO ₁₇	Unknown	Unknown	-
19.	18,15	28,07	573,4879	573,4883	C ₃₇ H ₆₄ O ₄	Dieporeticenin	Flavonoid	

Berdasarkan tabel 5.3 yang tersaji diatas, dapat diketahui daun *Helianthus annuus* L. mengandung 19 senyawa metabolit sekunder yang terdiri atas 6 senyawa golongan sesquiterpen lakton, 5 senyawa golongan flavonoid, 3 senyawa golongan fenol, 1 senyawa golongan terpenoid, 1 senyawa golongan steroid, 1 senyawa golongan glikolipid, dan 2 senyawa yang tidak diketahui (*unknown*).

Senyawa mayor dalam ekstrak daun *Helianthus annuus* L. dapat diidentifikasi berdasarkan dominasi puncak kromatogramnya. Puncak yang memiliki intensitas tertinggi pada kromatogram umumnya mewakili senyawa dengan konsentrasi paling tinggi dalam sampel. Korelasi antara tinggi puncak dan persentase area mengindikasikan bahwa senyawa dengan puncak yang lebih tinggi memiliki kontribusi yang lebih besar terhadap total sinyal kromatogram (Hanwar dkk, 2015). Berdasarkan Hal tersebut dapat diketahui bahwa senyawa mayor yang terkandung dalam ekstrak daun *Helianthus annuus* L. diantaranya Dieporeticenin dengan persen area terbesar yaitu 28.07%, selanjutnya Androstanolone dengan persen area sebesar 13.65%, dan yang terakhir ChEMBL479499 dengan persen area sebesar 4.93%.

5.6 Pengujian Karakteristik Fisikokimia Senyawa

Prediksi sifat fisikokimia merupakan langkah awal dalam asesmen potensi suatu senyawa sebagai kandidat obat. Hukum lima lipinski yang terdiri dari lima parameter, digunakan sebagai pedoman untuk memprediksi bioavailabilitas oral suatu senyawa. Parameter-parameter ini berkaitan dengan sifat kelarutan dan permeabilitas senyawa dalam tubuh. Dengan menggunakan perangkat lunak *PkCSM* dan kode SMILES, dilakukan prediksi sifat

fisikokimia senyawa yang diteliti. Hasil prediksi ini memberikan gambaran awal mengenai kesesuaian senyawa tersebut sebagai calon obat. Didapatkan hasil prediksi sifat fisikokimia sebagai berikut:

Tabel 5.4 Hasil pengujian fisikokimia senyawa daun *Helianthus annuus* L.

Nama Senyawa	Parameter Hukum Lima Lipinski						Memenuhi/ Tidak
	BM (g/mol)	Log P	HBA	HBD	Torsion	PSA	
CHEMBL479499	380.305	-0.5765	10	5	3	149.937	Memenuhi
Umbelliferone	162.144	1.4986	3	1	0	67.874	Memenuhi
Heliannuol A	250.338	3.11622	3	2	0	108.412	Memenuhi
Heliannuol D	234.339	4.00132	2	1	1	103.618	Memenuhi
Costunolide	232.323	3.5508	2	0	0	103.043	Memenuhi
Zingerone	194.23	1.9224	3	1	4	83.325	Memenuhi
Cirsiliol	330.292	2.594	7	3	3	135.576	Memenuhi
Hemigossypol	260.289	3.20092	4	3	2	110.482	Memenuhi
Olivetol	180.247	2.8305	2	2	4	78.845	Memenuhi
Eupatilin	344.319	2.897	7	2	4	142.160	Memenuhi
Dehydrocostus lactone	230.307	3.0166	2	0	0	102.037	Memenuhi
Absinthin	496.644	3.8024	6	2	0	213.041	Memenuhi
Marliolide	310.478	4.9201	3	1	12	135.682	Memenuhi
Androstanolone	290.447	3.9591	2	1	0	128.241	Memenuhi
SCHEMBL18806933	771.045	7.9889	10	4	31	330.228	Tidak
Scortechinone B	592.685	5.1561	8	2	6	251.079	Tidak
Dieporeticenin	572.915	10.7215	4	0	28	252.983	Tidak

Keterangan:

- BM : Bobot Molekul ≤ 500
 Log P : Koefisien partisi ≤ 5
 HBA : *Hydrogen Bond Acceptors* ≤ 10
 HBD : *Hydrogen Bond Donor* ≤ 5
 Torsion : Ikatan hidrogen berotasi < 10
 PSA : *Polar Surface Area* $< 140 \text{ \AA}$

Parameter yang perlu dipenuhi dari hukum lima lipinski meliputi log P ≤ 5 , berat molekul $\leq 500 \text{ g/mol}$, *Hydrogen Bond Donors* ≤ 5 , *Hydrogen Bond*

$Acceptors \leq 10$, $Torsion \leq 10$, $Polar\ Surface\ Area \leq 140$ (Apriali dkk, 2022). Analisis tersebut disebut sebagai hukum lima Lipinski karena semua nilai merupakan kelipatan dari angka lima (Kesuma dkk, 2018). Berdasarkan tabel hasil prediksi fisikokimia senyawa menunjukkan bahwa dari sejumlah senyawa yang dievaluasi, 14 senyawa memenuhi parameter hukum lima lipinski, sedangkan 3 senyawa lainnya tidak memenuhi. Senyawa yang memenuhi hukum lima lipinski umumnya memiliki permeabilitas membran yang baik, yang memungkinkan mereka untuk menembus membran sel dan mencapai target molekul di dalam tubuh. Nilai log P mencerminkan hidrofobisitas suatu senyawa. Senyawa dengan nilai log P yang rendah cenderung lebih polar dan larut dalam air, sedangkan senyawa dengan nilai log P yang tinggi lebih nonpolar dan larut dalam lemak. Berat molekul yang besar dapat menghambat difusi pasif senyawa melalui membran sel. Ikatan hidrogen antara senyawa dan molekul air dapat mempengaruhi kelarutan dan permeabilitas senyawa. (Syahputra dkk, 2014 ; Febri dkk, 2023).

Jumlah rotasi ikatan (*torsion*) pada suatu molekul mempengaruhi fleksibilitas molekul tersebut dalam mengadopsi konformasi yang sesuai untuk berinteraksi dengan target biologis. Molekul dengan jumlah rotasi ikatan yang tinggi cenderung memiliki konformasi yang lebih rigid dan kesulitan dalam menembus membran sel. Luas permukaan polar (PSA) merupakan indikator polaritas suatu molekul. Molekul dengan PSA yang tinggi bersifat lebih polar dan lebih mudah larut dalam pelarut polar seperti air. Namun, polaritas yang tinggi juga dapat menghambat permeabilitas molekul melalui membran sel yang bersifat nonpolar (Febri dkk, 2023).

5.7 Pengujian Toksisitas Senyawa

Senyawa yang telah lolos seleksi berdasarkan hukum lima lipinski selanjutnya akan dievaluasi potensi toksisitasnya. Nilai LD_{50} dan klasifikasi toksisitas digunakan sebagai indikator tingkat bahaya suatu senyawa. Semakin rendah nilai LD_{50} , semakin toksik suatu senyawa terhadap organisme uji. Terdapat beberapa kelas dalam memprediksi toksisitas senyawa (Nursanti, 2019):

- A. Kelas I : Fatal jika tertelan ($LD_{50} \leq 5$)
- B. Kelas II : Fatal jika tertelan ($5 < LD_{50} \leq 50$)
- C. Kelas III : Beracun jika tertelan ($50 < LD_{50} \leq 300$)
- D. Kelas IV : Berbahaya jika tertelan ($300 < LD_{50} \leq 2000$)
- E. Kelas V : Mungkin berbahaya jika tertelan ($2000 < LD_{50} \leq 5000$)
- F. Kelas VI : Tidak beracun ($LD_{50} > 5000$)

Dalam penelitian ini, dikatakan memenuhi uji toksisitas dengan parameter yang digunakan adalah kelas toksisitas ≥ 4 . Prinsip dari pengujian ini adalah bahwa pada dosis tinggi, komponen bioaktif cenderung menunjukkan sifat toksik, sedangkan pada dosis rendah, komponen tersebut dapat memberikan efek terapeutik (Jelita dkk, 2020). Prediksi toksisitas senyawa dalam penelitian ini dilakukan menggunakan situs web *Protox II Online* dengan cara memasukkan kode SMILE untuk setiap senyawa, dan hasilnya adalah sebagai berikut:

Tabel 5.5 Hasil pengujian toksisitas daun *Helianthus annuus* L.

Nama Senyawa	LD₅₀	Kelas Toksisitas	Memenuhi/Tidak
CHEMBL479499	5000	5	Memenuhi
Umbelliferone	10000	6	Memenuhi
Heliannuol A	1630	4	Memenuhi
Heliannuol D	1630	4	Memenuhi
Costunolide	3140	5	Memenuhi
Zingerone	2580	5	Memenuhi
Cirsiliol	4000	5	Memenuhi
Hemigossypol	1425	4	Memenuhi
Olivetol	3000	5	Memenuhi
Eupatilin	5000	5	Memenuhi
Dehydrocostus lactone	1330	4	Memenuhi
Absinthin	1330	4	Memenuhi
Marliolide	5000	5	Memenuhi
Androstanolone	3000	5	Memenuhi

Keterangan :

LD₅₀ : *Lethal Dose*-50

Berdasarkan tabel hasil pengujian toksisitas senyawa tersebut, diperoleh informasi bahwa semua senyawa yang diuji dinyatakan aman karena telah memenuhi kriteria dari uji toksisitas, yaitu termasuk dalam kelas toksisitas 4, 5, dan 6. Berdasarkan hasil LD₅₀ tersebut diperoleh hasil bahwa senyawa Heliannuol A, Heliannuol D, Hemigossypol, Dehydrocostus lactone, dan Absinthin masuk pada kelas toksisitas 4 ($300 < LD_{50} \leq 2000$) yang menerangkan bahwa senyawa-senyawa tersebut memiliki toksisitas yang relatif rendah. Senyawa CHEMBL479499, Costunolide, Zingerone, Cirsiliol, Olivetol, Eupatilin, Marliolide, dan Androstanolone masuk pada kelas toksisitas 5 ($2000 < LD_{50} \leq 5000$) yang menerangkan bahwa senyawa-senyawa tersebut memiliki toksisitas yang rendah. Sedangkan senyawa Umbelliferone

masuk pada kelas toksisitas 6 yang menerangkan bahwa senyawa ini tidak bersifat toksik (Nursanti, 2019).

Kelas toksisitas 4 sering dikategorikan sebagai tingkat toksisitas yang moderat. Namun, keamanan suatu obat tidak hanya bergantung pada tingkat toksisitasnya, tetapi juga dipengaruhi oleh dosis, metode pemberian, serta berbagai faktor lainnya (Nursanti, 2019). Senyawa toksik adalah zat beracun yang dapat menyebabkan efek negatif dan membahayakan kesehatan manusia, bahkan hingga mengakibatkan kematian. Oleh karena itu, prediksi toksisitas senyawa menjadi langkah krusial dalam proses pengembangan obat baru. Parameter LD₅₀ digunakan untuk mengukur dosis senyawa (dalam mg per kilogram berat badan hewan uji) yang mampu menyebabkan kematian pada 50% populasi hewan uji dalam periode tertentu (Nursanti, 2019). Secara konvensional, penentuan LD₅₀ memerlukan penggunaan sejumlah besar hewan uji, yang menjadi kendala utama dalam pengujian toksisitas. Alternatifnya, penilaian toksisitas berbasis komputasi dapat menjadi solusi untuk mengurangi penggunaan hewan uji, sekaligus menawarkan efisiensi waktu yang lebih baik dibandingkan metode pengukuran toksisitas tradisional (Sasmito dkk, 2017).

5.8 Prediksi Aktivitas Antikanker Melalui *PASS Online*

Pendekatan terapeutik pada kanker sangat bergantung pada histologi dan stadium penyakit. Pembedahan, kemoterapi, dan radioterapi merupakan modalitas terapi konvensional yang umum digunakan (Mutiah, 2015). Meskipun efektif dalam mengendalikan pertumbuhan sel kanker, terapi farmakologis seringkali diiringi oleh efek samping yang signifikan. Oleh karena itu, pengembangan terapi alternatif berbasis bahan alam, khususnya

tanaman obat, menjadi fokus penelitian saat ini. Terapi herbal diharapkan dapat memberikan alternatif pengobatan yang lebih aman, terjangkau, dan memiliki profil efek samping yang lebih baik.

Untuk mengevaluasi potensi aktivitas antikanker dari ekstrak etanol 96% daun bunga matahari, dilakukan analisis menggunakan perangkat lunak PASS Server. Perangkat lunak ini menghasilkan data berupa probabilitas aktivitas antikanker (Pa) untuk setiap senyawa yang terdapat dalam ekstrak daun *Helianthus annuus* L.. Senyawa-senyawa yang terdeteksi kemudian diidentifikasi menggunakan representasi struktur kimianya dalam format canonical SMILES untuk menentukan nilai Pa yang dimilikinya. Berdasarkan hasil analisis PASS, senyawa dengan nilai $Pa > 0,7$ dianggap memiliki aktivitas biologis yang sangat tinggi. Jika nilai Pa berada pada rentang 0,5–0,7, senyawa tersebut dinilai memiliki kemungkinan aktivitas biologis yang moderat. Sebaliknya, senyawa dengan nilai $Pa < 0,5$ dianggap memiliki potensi aktivitas biologis yang rendah atau tidak signifikan (Fakih dkk, 2022; Yasmin dkk, 2022). Nilai probabilitas aktivitas biologis (Pa) dari senyawa-senyawa yang terdapat dalam ekstrak etanol 96% daun *Helianthus annuus* L. disajikan dalam tabel berikut:

Tabel 5.6 Prediksi aktivitas antikanker senyawa dalam daun *Helianthus annuus* L. dengan *PASS online*

Nama Senyawa	Antineoplastic (Pa)	Chemopreventif (Pa)	Apoptosis Agonis (Pa)	Antineoplastic (colon cancer) (Pa)
CHEMBL479499	0,786*	0,898*	0,660	0,234
Umbelliferone	0,648	0,510	0,704*	0,207
Heliannuol A	0,326	0,455	0,452	-
Heliannuol D	0,333	0,487	0,408	-
Costunolide	0,950*	0,440	0,902*	0,493
Zingerone	0,383	0,404	0,488	-
Cirsiliol	0,819*	0,693	0,852*	0,515
Hemigossypol	0,698	0,284	0,928*	0,178
Olivetol	-	0,350	0,476	-
Eupatilin	0,819*	0,693	0,852*	0,515
Dehydrocostus lactone	0,982*	0,343	0,843*	0,137
Absinthin	0,882*	0,161	0,319	-
Marliolide	0,891*	0,289	0,768*	-
Androstanolone	0,806*	0,454	0,576	0,284

Keterangan:

Pa : Nilai *Probability activity* yang menunjukkan kemungkinan aktivitas suatu senyawa

* : Senyawa dengan Nilai Pa diatas 0.7

Berdasarkan hasil prediksi yang disajikan pada tabel 5.6, terdapat 10 senyawa yang teridentifikasi memiliki aktivitas biologis terkait kanker kolon dengan nilai Pa > 0,7. Nilai ini mengindikasikan bahwa kesepuluh senyawa tersebut memiliki potensi yang sangat tinggi untuk menunjukkan aktivitas biologis. Aktivitas biologis yang dimaksud adalah *antineoplastic*, *apoptosis agonist*, *chemopreventive*, dan *antineoplastic (colon cancer)*. Senyawa-senyawa yang memiliki nilai Pa >0,7 antara lain CHEMBL479499,

Umbelliferone, Costunolide, Cirsiliol, Hemigossypol, Eupatilin, Dehydrocostus lactone, Absinthin, Marliolide dan Androstanolone.

Perangkat lunak PASS Server memiliki kemampuan untuk memprediksi lebih dari 4.000 jenis aktivitas senyawa bioaktif, mencakup mekanisme aksi, efek samping, toksisitas, interaksi enzim, dan lainnya (Basha *et al*, 2018). Dari beragam aktivitas yang tersedia, analisis difokuskan pada aktivitas yang berkaitan dengan perkembangan sel kanker, yaitu antineoplastik, kemopreventif, agonis apoptosis, dan antineoplastik khusus untuk kanker kolon. Suatu senyawa dikategorikan sebagai agen antikanker apabila memiliki aktivitas antineoplastik. Antineoplastik merupakan senyawa atau obat yang dirancang secara spesifik untuk menangani kanker melalui mekanisme yang memengaruhi siklus sel tumor, termasuk masa hidup sel, jumlah sel, perubahan fisiologis, serta kerusakan inti sel tumor (Silalahi, 2019). Berdasarkan hasil analisis nilai P_a , teridentifikasi beberapa senyawa yang memiliki potensi tinggi sebagai antineoplastik dengan tingkat akurasi yang signifikan adalah CHEMBL479499, Costunolide, Cirsiliol, Eupatilin, Dehydrocostus lactone, Absinthin, Marliolide dan Androstanolone. Berdasarkan nilai P_a tertinggi, senyawa Dehydrocostus lactone diidentifikasi sebagai senyawa yang paling potensial untuk berfungsi sebagai agen antineoplastik dibandingkan senyawa lainnya.

Agen kemopreventif merupakan salah satu zat yang sangat penting dalam menangani permasalahan kasus kanker. Zat ini, baik yang bersifat alami, sintetis, maupun biologis, memiliki kemampuan untuk mencegah transformasi sel normal menjadi sel tumor. Selain itu, agen kemopreventif juga berperan

dalam menghambat dan menekan perkembangan sel kanker invasif, namun tidak bertindak sebagai agen kuratif atau penyembuh (Sukohar dan Arisandi, 2016). Menurut Puspita (2016), mekanisme kerja agen kemopreventif terbagi menjadi dua kategori utama. Pertama, sebagai tumor blocking agent, yang melindungi sel sehat dari paparan zat penginduksi kanker, sehingga dapat mencegah kerusakan dan mutasi sel yang mengarah pada pembentukan sel kanker. Kedua, sebagai tumor suppressing agent, yang berfungsi menekan perkembangan sel setelah mengalami kerusakan akibat paparan zat karsinogenik, sehingga proses karsinogenesis dapat dihambat. Berdasarkan tahap perkembangan sel kanker, tumor blocking agent bekerja pada fase inisiasi, sedangkan tumor suppressing agent bertindak sebagai penghambat pada fase promosi dan progresi. Daun bunga matahari mengandung senyawa-senyawa yang menunjukkan potensi tinggi sebagai agen kemopreventif, berdasarkan nilai probability activity (Pa) yang telah dianalisis yakni CHEMBL479499.

Salah satu mekanisme alami tubuh untuk menjaga keseimbangan seluler adalah apoptosis, yaitu kematian sel yang terprogram secara terstruktur untuk mengeliminasi sel-sel yang rusak serta sel-sel yang tidak lagi dibutuhkan. Proses apoptosis merupakan sistem kompleks yang hanya terjadi setelah adanya induksi sinyal tertentu. Mekanisme ini dimediasi oleh caspase, dengan caspase initiator (seperti caspase-2, -8, -9, dan -10) yang berperan dalam memulai proses apoptosis secara sinergis dengan caspase executioner (seperti caspase-3, -6, dan -7) yang bertugas mematikan sel melalui pembelahan protein targetnya. Apoptosis dapat berlangsung melalui dua jalur

utama: jalur intrinsik, yang dikenal juga sebagai jalur mitokondria, dan jalur ekstrinsik (Stoian *et al*, 2014).

Pada jalur intrinsik, stres intraseluler, seperti stres oksidatif, perubahan redoks, pembentukan ikatan kovalen, dan peroksidasi lipid, memicu terjadinya apoptosis. Produk sampingan dari proses ini memengaruhi mitokondria dengan menyebabkan pembukaan membran mitokondria, pembengkakan matriks, serta pelepasan protein dari mitokondria. Proses ini juga menurunkan potensi membran mitokondria, yang memulai mekanisme apoptosis. Sebaliknya, jalur ekstrinsik melibatkan aktivasi faktor nekrosis tumor (TNF), termasuk Fas, DR4, TNFR I, dan TNFR II (Stoian *et al*, 2014). Fas memicu apoptosis melalui dua rute. Rute pertama melibatkan pengikatan ligan, di mana reseptor TNFR I dan Fas diaktifkan melalui interaksi ligan yang merekrut protein adaptor Fadd/Mort-1. Interaksi ini mengaktifkan procaspase-8 menjadi caspase-8, yang kemudian dilepaskan ke sitosol untuk memulai kaskade apoptosis. Rute kedua melalui transduksi sinyal, di mana protein adaptor berikatan dengan reseptor Fas dan mengaktifkan kinase *mitogen-activated protein* (MAP). Aktivasi MAP memulai kaskade fosforilasi yang melibatkan c-Jun N-terminal kinase (JNK). JNK yang aktif memfosforilasi berbagai substrat, seperti p53 dan c-Jun, yang kemudian menginduksi apoptosis melalui pengaturan dan modifikasi protein keluarga Bcl-2 (Sudarmawan dkk, 2010).

Ketidaknormalan dalam proses apoptosis sel tubuh dapat menjadi indikator adanya gangguan dalam sistem alami tubuh, seperti terhambatnya proses apoptosis yang dapat mengarah pada perkembangan kanker. Jika mekanisme pengendalian apoptosis tidak berfungsi dengan baik, sel kanker

dapat bertahan lebih lama, memberi kesempatan bagi sel tersebut untuk mengalami mutasi yang membuatnya lebih invasif selama perkembangan tumor. Hal ini juga dapat merangsang angiogenesis, menderegulasi proliferasi sel, dan mengganggu diferensiasi sel (Stoian *et al*, 2014). Stoian *et al* (2014) juga mengungkapkan bahwa terapi non-bedah yang efektif untuk mengatasi kanker salah satunya adalah melalui induksi kematian sel. Terapi ini dapat diterapkan pada berbagai jenis kanker, mengingat bahwa sel kanker yang menghindari apoptosis alami dapat ditemukan pada hampir semua sel dan tidak terbatas pada jenis kanker tertentu. Umbelliferone, Costunolide, Cirsiliol, Hemigossypol, Eupatilin, Dehydrocostus lactone, dan Marliolide telah terbukti sebagai senyawa penginduksi apoptosis yang terkandung dalam daun *Helianthus annuus* L. Di antara senyawa-senyawa tersebut, Hemigossypol menunjukkan potensi paling akurat sebagai agonis apoptosis.

Antineoplastic (colon cancer) adalah senyawa atau obat yang dirancang khusus untuk mengatasi kanker kolon, dengan mekanisme kerja yang memengaruhi siklus sel tumor, termasuk durasi hidup sel, jumlah sel, serta perubahan fisiologis dan kerusakan inti sel pada kelenjar kolon (Silalahi, 2019). Berdasarkan hasil nilai Pa, beberapa senyawa menunjukkan nilai Pa antara 0,5-0,7, yang mengindikasikan bahwa senyawa-senyawa tersebut memiliki potensi sebagai antineoplastik untuk kanker kolon, meskipun aktivitas biologisnya tergolong moderat, yaitu Cirsiliol dan Eupatilin.

5.9 Network Farmakologi

5.9.1 Hasil Identifikasi Gen Target Senyawa dengan *GeneCards*

Setelah dilakukan seleksi awal menggunakan perangkat lunak *PASS*, diperoleh 10 senyawa metabolit sekunder dari daun *Helianthus annuus* L. yang memiliki potensi sebagai agen antikanker kolon. Senyawa-senyawa ini memenuhi kriteria profil fisikokimia yang baik dan toksisitas yang rendah. Selanjutnya, dilakukan analisis *in silico* lebih lanjut untuk mengidentifikasi gen target dari masing-masing senyawa menggunakan basis data *GeneCards*. Hasil analisis menunjukkan bahwa 8 dari 10 senyawa memiliki gen target yang terkait dengan kanker kolon, yaitu umbelliferone, costunolide, cirsiliol, hemigossypol, eupatilin, dehydrocostus lactone, absinthin, dan androstanolone. Didapatkan hasil dengan jumlah gen target berikut ini:

Tabel 5.7 Hasil identifikasi gen target senyawa dengan *GeneCards*

Senyawa	Jumlah Gen Target	Rentang Gifts	Rentang Relevance
Umbelliferone	129	8-68	0.24-4.36
Costunolide	34	8-66	0.24-4.25
Cirsiliol	5	19-65	0.4-1.88
Hemigossypol	1	19	0.31
Eupatilin	36	19-68	0.24-4.99
Dehydrocostus lactone	18	20-66	0.75-8.4
Absinthin	5	37-48	0.42-4.84
Androstanolone	160	2-68	0.41-2.29

Berdasarkan hasil pengumpulan data gen target dari masing-masing senyawa melalui *GeneCards*, diperoleh total 388 gen target dari 8 senyawa. Dari 10 senyawa yang memenuhi kriteria prediksi bioaktivitas, fisikokimia, toksisitas, dan uji *PASS*, terdapat 2 senyawa yang tidak teridentifikasi pada *GeneCards*. Senyawa yang tidak teridentifikasi yakni CHEMBL479499 dan Marliolide.

GeneCards adalah *database* yang digunakan untuk menentukan dan mengumpulkan gen target dalam pendekatan network farmakologi. *Genomic Information for Tissue Specificity* (GIFTS) menjelaskan tingkat aktivitas gen tertentu pada berbagai jaringan atau jenis sel dalam tubuh manusia. Nilai GIFTS yang baik yakni ≥ 2 dalam jaringan kolon untuk memastikan gen diekspresikan di jaringan target (Stelzer *et al*, 2016). Sementara itu, *Relevance score* pada *GeneCards* menggambarkan sejauh mana relevansi suatu gen terhadap penyakit tertentu. Nilai *relevance score* > 0.6 menunjukkan relevansi signifikan terhadap kondisi atau penyakit tertentu, sedangkan nilai $0.4 - 0.6$ menunjukkan relevansi yang moderat dan nilai *relevance score* < 0.4 menunjukkan relevansi yang rendah. Semakin tinggi skor ini, semakin besar keterkaitan gen tersebut dengan penyakit yang dimaksud (Stelzer *et al*, 2016). Dalam penelitian ini, Androstanolone adalah senyawa yang memiliki jumlah gen target terbanyak, yaitu 160 gen, dengan rentang nilai GIFTS antara 2-68.

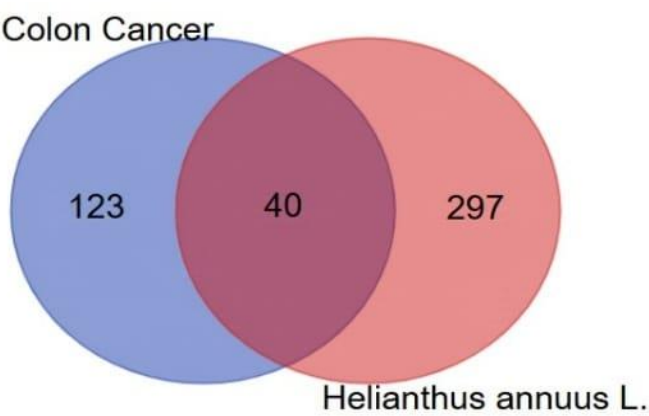
5.9.2 Hasil Identifikasi Gen Target Kanker Kolon dengan *DisGeNet*

Pengumpulan data gen target yang terkait dengan kanker kolon dilakukan melalui database *DisGeNet*, yang menghasilkan 270 gen yang terintegrasi dengan berbagai tipe penyakit kanker kolon, seperti *Colon Cancer Stage IV* (CUI:C0278484) dengan 30 gen target, *Colonic Neoplasm* (CUI:C00099375) dengan 30 gen target, *Malignant Neoplasm of Colon* (CUI:C0007102) dengan 30 gen target, *Colon Cancer Staged* (CUI:C0280252) dengan 30 gen target, *Carcinoma of Colon* (CUI:C0699790) dengan 30 gen target, *Carcinoma of Colon Stage II* (CUI:C0278479) dengan 30 gen target, *Stage II Colon Cancer AJCC v7* (CUI:C3146257) dengan 30 gen target, Stage

III Colon Cancer AJCC v7 (CUI:C3146254) dengan 30 gen target, dan Colitis Assosiated Colorectal Cancer dengan 30 gen target. Gen-gen target ini diperkirakan memiliki potensi sebagai sasaran terapi untuk kanker kolon.

5.9.3 Hasil Analisis Keterkaitan Gen Target Senyawa dan Gen Target Penyakit dengan Diagram venn

Setelah pengumpulan data gen target senyawa melalui *GeneCards* dan gen target penyakit kanker kolon melalui *DisGeNet*, dilakukan analisis hubungan antara gen target tersebut dengan menggunakan diagram venn, yang menggabungkan seluruh gen target dari masing-masing senyawa dan penyakit kanker kolon. Hasil analisis hubungan ini dapat dilihat pada gambar 5.6, sementara data interseksi gen target disajikan pada Tabel 5.7.



Gambar 5.5 Diagram venn yang menunjukkan keterkaitan antara gen target tanaman dan gen target pada penyakit kanker kolon

Tabel 5.8 Gen target *Helianthus annuus* L. yang beririsan dengan kanker kolon

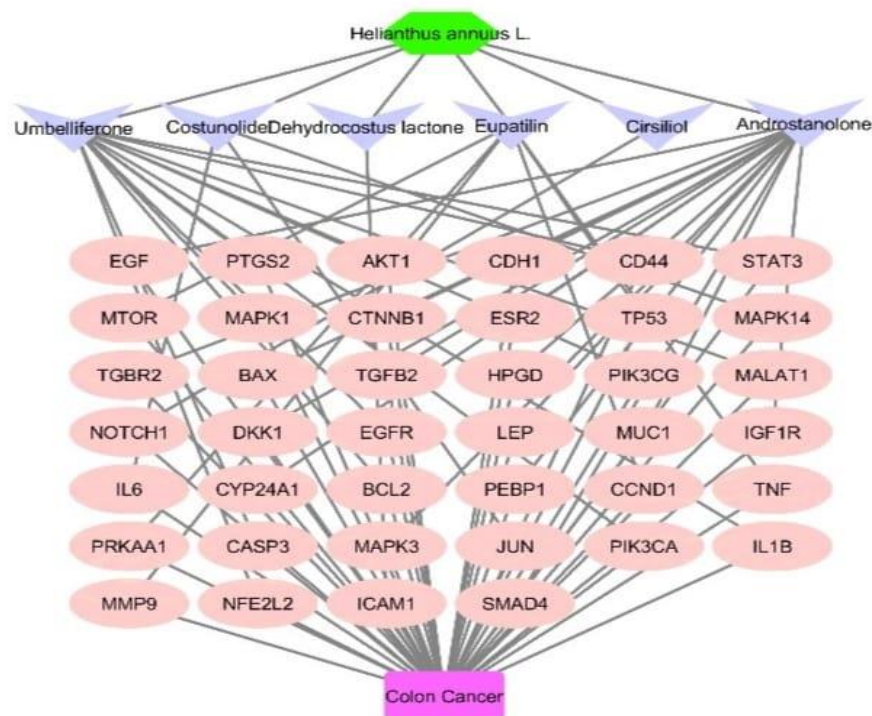
Gen Target Daun <i>Helianthus annuus</i> L. pada Kanker Kolon	CD44, MTOR, MAPK14, TOFB2, TP53, TNF, TOFBR2, EGF, LEP, AKTI, STATS, MAPKI, PTOS2, PIK3CG, MALAT1, CTNNB1, EGFR, IL18, CCND1, PIKICA, CDH1, MUC1, BCL2, SMAD4, HPGD, IGFIR, ICAMI, JUN, MAPK3, ESR2, PEBP1, NOTCHI, BAX, CYP24A1, PRKAA1, ILS, DKK1, CASP3, NFE2L2, MMPR.
---	--

Hasil analisis diagram venn yang membandingkan gen target senyawa dengan gen target penyakit menunjukkan bahwa dari 388 gen target senyawa yang terhubung dengan 270 gen target kanker kolon, terdapat 40 gen target potensial yang tumpang tindih, yang membuktikan adanya keterkaitan antara gen target senyawa dan gen target penyakit kanker kolon. Kemudian, dari 40 gen target yang tumpang tindih tersebut, dilakukan analisis lebih lanjut terkait dengan jaringan farmakologi menggunakan perangkat *Cytoscape*.

5.9.4 Penyusunan Jejaring Farmakologi Menggunakan *Cytoscape*

Network farmakologi adalah pendekatan yang digunakan untuk menentukan apakah suatu senyawa dapat memberikan efek sinergis, yang berguna untuk memahami interaksi antar senyawa obat dan mekanisme hubungan antara penyakit, protein target, dan senyawa kimia dalam tanaman. Pendekatan ini memungkinkan pemahaman yang lebih jelas mengenai mekanisme, efek farmakologi, dan jalur molekuler yang menghubungkan obat dengan targetnya secara efisien, tanpa hanya fokus pada satu target, melainkan memperhatikan banyak bahan aktif yang berinteraksi dengan gen target atau protein target (Liu *et al*, 2018; Liang *et al*, 2020). *Cytoscape* adalah perangkat lunak yang digunakan untuk visualisasi dan analisis hubungan antara senyawa, gen target, dan penyakit secara ringkas (Yi *et al*, 2018). Visualisasi interaksi antara gen target *Helianthus annuus* L. dan gen target kanker kolon menjelaskan bagaimana interaksi terjadi antara gen target satu dengan yang lain, serta antara gen target dan penyakit, sambil menggambarkan asal-usul gen target tersebut.

Dalam penelitian ini, pembuatan jaringan target yang terkait dengan senyawa dari daun bunga matahari divisualisasikan melalui jejaring kemiripan menggunakan *Cytoscape* v3.7.2. Dari 109 gen target senyawa, 40 di antaranya spesifik dan berhubungan dengan kanker kolon. Hasil visualisasi network farmakologi yang menghubungkan tanaman *Helianthus annuus* L. dengan penyakit kanker kolon dapat dilihat pada gambar 5.7 dan tabel 5.8. Jaringan target yang diperoleh dari hasil visualisasi menggunakan *Cytoscape* v3.7.2 ditampilkan sebagai berikut:



Gambar 5.6 Visualisasi *network pharmacology* melalui *Cytoscape*. Keterangan: tanaman (hexagonal hijau), senyawa metabolit sekunder *Helianthus annuus* L. (simbol “V” biru), gen target (oval pink), dan penyakit (kotak ungu)

Tabel 5.9 Analisis hasil pemetaan visual dengan *Cytoscape*

Compound	Gene symbol	Description	Gifts	Relevance score
Umbelliferone	CD44	CD44 Molecule (IN Blood Group)	61	0.24
Umbelliferone	AKT1	AKT Serine/Threonine Kinase 1	66	0.42
Umbelliferone	STAT3	Signal Transducer And Activator Of Transcription 3	66	0.42
Umbelliferone	MAPK1	Mitogen-Activated Protein Kinase 1	65	0.42
Umbelliferone	PTGS2	Prostaglandin-Endoperoxide Synthase 2	62	0.59
Umbelliferone	PIK3CG	Phosphatidylinositol-4,5-Bisphosphate 3-Kinase Catalytic Subunit Gamma	62	2.16
Umbelliferone	MALAT1	Metastasis Associated Lung Adenocarcinoma Transcript 1	33	0.42
Umbelliferone	EGFR	Epidermal Growth Factor Receptor	68	0.42
Umbelliferone	IL1B	Interleukin 1 Beta	60	0.42
Umbelliferone	PIK3CA	Phosphatidylinositol-4,5-Bisphosphate 3-Kinase Catalytic Subunit Alpha	65	0.42
Umbelliferone	BCL2	BCL2 Apoptosis Regulator	63	0.72
Umbelliferone	CASP3	Caspase 3	62	0.59
Umbelliferone	NFE2L2	NFE2 Like BZIP Transcription Factor 2	63	0.42
Eupatilin	MTOR	Mechanistic Target Of Rapamycin Kinase	68	0.24
Eupatilin	TP53	Tumor Protein P53	66	1.76
Eupatilin	TNF	Tumor Necrosis Factor	65	0.24

Eupatilin	CCND1	Cyclin D1	66	4.01
Eupatilin	PRKAA1	Protein Kinase AMP-Activated Catalytic Subunit Alpha 1	59	1.56
Eupatilin	MMP9	Matrix Metalloproteinase 9	66	1.56
Costunolide	MAPK14	Mitogen-Activated Protein Kinase 14	63	1.57
Costunolide	JUN	Jun Proto-Oncogene, AP-1 Transcription Factor Subunit	62	2.37
Costunolide	IL6	Interleukin 6	63	0.24
Androstanolone	TGFB2	Transforming Growth Factor Beta 2	64	1.57
Androstanolone	TGFR2	Transforming Growth Factor Beta Receptor 2	65	1.57
Androstanolone	EGF	Epidermal Growth Factor	64	1.57
Androstanolone	LEP	Leptin	59	1.57
Androstanolone	CTNNB1	Catenin Beta 1	66	1.57
Androstanolone	CDH1	Cadherin 1	62	1.57
Androstanolone	MUC1	Mucin 1, Cell Surface Associated	61	1.57
Androstanolone	SMAD4	SMAD Family Member 4	66	1.57
Androstanolone	HGPD	15-Hydroxyprostaglandin Dehydrogenase	58	1.57
Androstanolone	IGF1R	Insulin Like Growth Factor 1 Receptor	68	1.57
Androstanolone	MAPK3	Mitogen-Activated Protein Kinase 3	62	0.72
Androstanolone	ESR2	Estrogen Receptor 2	61	
Androstanolone	PEBP1	Phosphatidylethanolamine Binding Protein 1	58	0.72
Androstanolone	BAX	BCL2 Associated X, Apoptosis Regulator	64	0.72

Androstanolone	CYP24A1	Cytochrome P450 Family 24 Subfamily A Member 1	59	1.57
Androstanolone	DKK1	Dickkopf WNT Signaling Pathway Inhibitor 1	56	0.72
Dehydrocostus lactone	ICAM1	Intercellular Adhesion Molecule 1	63	1.57
Cirsiliol	NOTCH1	Notch Receptor 1	65	1.88

Berdasarkan hasil visualisasi menggunakan *Cytoscape* dan analisis data yang ditampilkan dalam tabel, diperoleh hasil berupa 48 *node* yang dihubungkan oleh 86 *edges* (garis interaksi). Node-node tersebut mencakup daun *Helianthus annuus* L., penyakit kanker kolon, enam senyawa metabolit sekunder yaitu Umbelliferone, Eupatilin, Costunolide, Androstanolone, Dehydrocostus lactone, dan Cirsiliol, serta 40 gen target senyawa. Gen target, komponen bioaktif senyawa daun bunga matahari, dan penyakit kanker kolon direpresentasikan sebagai *node*, sementara interaksi antara dua protein tersebut diwakili oleh *edge* (garis). Semakin banyak gen target atau protein penting yang menjadi sasaran suatu komponen senyawa, semakin besar kemungkinan komponen tersebut dapat dianggap sebagai komponen kunci. Hal ini dapat dilihat dari banyaknya *edge* yang dihasilkan oleh komponen tersebut (Liu *et al*, 2018; Liang *et al*, 2020).

Pada tabel hasil analisis hasil pemetaan visual dengan *Cytoscape* terdapat informasi tentang *Compound* (senyawa), *Gene symbol*, *Description*, *GIFTS*, dan *Relevance score*. *Genomic Information for Tissue Specificity* (*GIFTS*) menjelaskan tingkat aktivitas gen tertentu pada berbagai jaringan atau jenis sel dalam tubuh manusia. Nilai *GIFTS* yang baik yakni ≥ 2 dalam jaringan

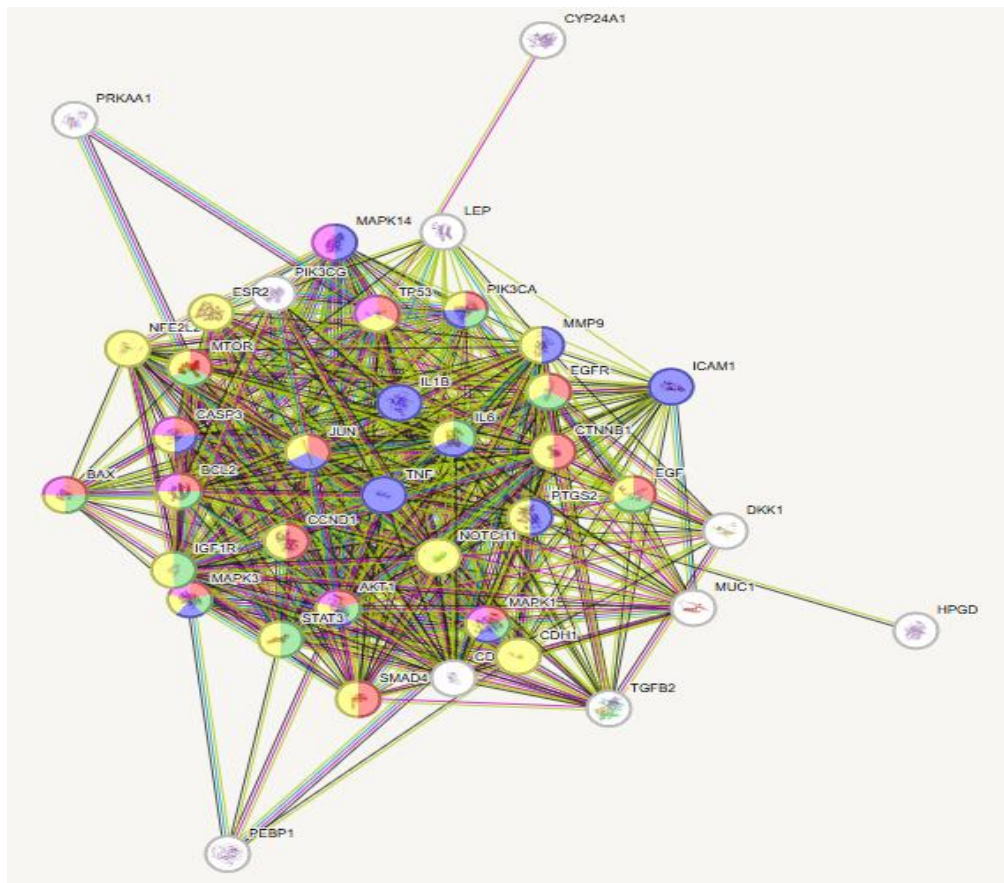
kolon untuk memastikan gen diekspresikan di jaringan target (Stelzer *et al*, 2016). Sementara itu, *Relevance score* pada *Cytoscape* menggambarkan sejauh mana relevansi suatu gen terhadap penyakit tertentu. Nilai *relevance score* > 0.6 menunjukkan relevansi signifikan terhadap kondisi atau penyakit tertentu, sedangkan nilai 0.4 - 0.6 menunjukkan relevansi yang moderat dan nilai *relevance score* < 0.4 menunjukkan relevansi yang rendah. Semakin tinggi skor ini, semakin besar keterkaitan gen tersebut dengan penyakit yang dimaksud (Stelzer *et al*, 2016).

Berdasarkan hasil visualisasi menggunakan *Cytoscape* dan analisis data yang disajikan dalam tabel, ditemukan enam senyawa yang memiliki potensi sebagai gen target untuk kanker kolon. Keenam senyawa tersebut adalah Umbelliferone dengan 13 gen target, Eupatilin dengan 6 gen target, Costunolide dengan 3 gen target, Androstanolone dengan 16 gen target, Dehydrocostus lactone dengan 1 gen target, dan Cirsiliol dengan 19 gen target. Di antara komponen-komponen senyawa tersebut, Androstanolone merupakan senyawa yang paling penting dalam mengatasi kanker kolon, karena memiliki jumlah gen target terbanyak yang berhubungan dengan kanker kolon, yaitu 16 gen target.

5.9.5 Penyusunan Jejaring Interaksi Protein-Protein (*PPI Network*)

Gen target yang terkait dengan bahan aktif dan penyakit dipilih untuk analisis lebih lanjut menggunakan *STRING*. *STRING* adalah *database* yang digunakan untuk mengeksplorasi jaringan asosiasi protein dari berbagai organisme, dengan kemampuan untuk memfokuskan analisis pada beberapa cakupan tertentu (Szklarczyk *et al*, 2021). Sebanyak 40 gen target yang

diidentifikasi melalui visualisasi jaringan menggunakan *Cytoscape*, yang berhubungan dengan kanker kolon, kemudian digunakan untuk membangun jaringan interaksi protein-protein melalui *STRING*. Hasil dari analisis ini diperoleh sebagai berikut:



Gambar 5.7 Jejaring interaksi protein-protein antar gen (30 nodes, 482 edges, enrichment p -value: $< 1.0e^{-16}$)

Hasil analisis interaksi protein-protein ditampilkan pada gambar 5.8, menunjukkan 38 node dan 482 edge dan enrichment p -value: $< 1.0e^{-16}$, dimana node mewakili gen target dan edge menggambarkan interaksi yang terjadi. Enrichment p -value menunjukkan signifikansi statistik pengayaan interaksi protein-protein dalam jaringan. Semakin kecil nilai enrichment p -value, semakin besar relevansi kemungkinan interaksi dalam jaringan biologis. Edge atau interaksi yang digambarkan dengan garis penghubung memiliki berbagai

warna, yang masing-masing memiliki makna tertentu. Warna biru muda dan ungu mengindikasikan sumber dari informasi mengenai gen target, di mana biru muda menunjukkan bahwa gen target berasal dari database yang dikurasi, sementara ungu menunjukkan bahwa gen target ditentukan melalui eksperimen. Warna hijau, merah, dan biru menggambarkan jenis interaksi gen target, di mana hijau menunjukkan gen target yang berada dalam lingkungan atau kelompok gen dengan karakteristik serupa, merah menggambarkan interaksi yang dapat menyebabkan fusi gen atau kelainan genom, dan biru menunjukkan bahwa gen tersebut berinteraksi dengan protein lain sebagai mitra yang saling mempengaruhi. Warna kuning, hitam, dan ungu muda memberikan keterangan tambahan, di mana kuning menunjukkan sumber penamaan gen target, hitam menunjukkan gen target dengan pola ekspresi yang serupa, dan ungu muda menunjukkan homolog protein (Szklarczyk *et al*, 2021).

Hasil analisis menunjukkan bahwa beberapa senyawa, seperti Umbelliferone, Eupatilin, Costunolide, Androstanolone, Dehydrocostus lactone, dan Cirsiliol, berpotensi memiliki interaksi dengan protein-protein tertentu yang terlibat dalam proses biologis yang relevan untuk pengobatan kanker kolon. Interaksi Protein-Protein (PPI) bertujuan untuk memahami hubungan antara berbagai jenis gen target dalam senyawa daun bunga matahari yang berperan dalam jalur biologis terkait pengobatan kanker kolon. Selain itu, analisis jaringan PPI digunakan untuk mempelajari aktivitas biologis melalui anotasi fungsional *Gene Ontology* (GO) dan identifikasi jalur protein serta fungsinya dalam transduksi sinyal melalui *KEGG* (Liu *et al*, 2018; Liang *et al*,

2020). Langkah ini kemudian dapat digunakan untuk mengidentifikasi *pathway* dan *gene ontology* yang terkait dengan kanker kolon.

5.9.6 Analisis *Gene Ontology* menggunakan *STRING*

Protein atau gen target yang diperoleh dari analisis PPI menggunakan *STRING* kemudian dianalisis lebih lanjut untuk mengevaluasi *gene ontology*, yang mencakup proses biologis, fungsi molekuler, komponen seluler, dan jalur sinyal yang terkait dengan *Helianthus annuus* L. dan kanker kolon. Proses biologis mengacu pada serangkaian langkah yang dicapai oleh satu atau lebih molekul yang dikendalikan oleh gen. Fungsi molekuler menggambarkan aktivitas biokimia produk gen, sementara komponen seluler merujuk pada lokasi dalam sel di mana produk gen tersebut aktif (Ashburner *et al*, 2000). Analisis ini dilakukan dengan menggunakan metode *enrichment* pada *STRING* dan memilih sepuluh teratas dari proses biologis, fungsi molekuler, serta komponen seluler yang memiliki nilai *false discovery rate* $\leq 0,001$ (Nadeau *et al*, 2021). Selain itu, dipilih juga jalur sinyal yang memiliki kekuatan dan jumlah gen target terbanyak.

Hasil *gene ontology* yang diperoleh dari *database STRING* menjelaskan tentang *GO term*, *description*, *count in network*, *strength*, dan *false discovery rate*. *GO term* adalah istilah spesifik yang digunakan dalam *Gene Ontology* untuk mendeskripsikan fungsi biologis, proses molekuler, atau lokasi seluler yang memiliki kode unik seperti “GO:0008150”. *Description* memberikan nama atau penjelasan dan konteks biologis yang dapat dipahami terkait *GO term* tersebut. *Count in network* menunjukkan jumlah gen dalam jaringan, dengan angka pertama menunjukkan jumlah gen yang terlibat dalam jaringan,

dan angka kedua menunjukkan total jumlah gen yang ada. *Count in network* yang baik yakni ≥ 2 gen dari total jumlah gen untuk memastikan relevansi dengan fungsi biologis tertentu. *Strength* menggambarkan kekuatan suatu gen target dalam memberikan efek biologis, semakin tinggi angka *strength*, semakin kuat pengaruh gen target tersebut. Kriteria minimal *strength* yakni ≥ 1 untuk memastikan kekuatan suatu gen target secara biologis. *False discovery rate* menggambarkan tingkat kesalahan dalam prediksi aktivitas, dimana semakin rendah angkanya, semakin kecil kemungkinan terjadinya kesalahan prediksi. Nilai *false discovery rate* yang baik yakni $\leq 0,001$ (Nadeau *et al*, 2021). Hasil lengkap disajikan pada tabel 5.10, 5.11, 5.12, dan 5.13 berikut:

Tabel 5.10 Proses biologi gen target *Helianthus annuus* L. dan kanker kolon

GO term	Description	Count in network	Strenght	False discovery rate
GO:0018105	Peptidyl-serine phosphorylation	7 of 193	1.27	$3.55e^{-06}$
GO:0042063	Gliogenesis	11 of 248	1.36	$1.21e^{-10}$
GO:0033135	Regulation of peptidyl-serine phosphorylation	11 of 143	1.6	$6.28e^{-13}$
GO:0033138	Positive regulation of peptidyl-serine phosphorylation	8 of 110	1.58	$3.65e^{-09}$
GO:2000377	Regulation of reactive oxygen species metabolic process	6 of 143	1.34	$1.20e^{-05}$
GO:0010001	Glial cell differentiation	9 of 188	1.39	$6.91e^{-09}$
GO:0062197	Cellular response to chemical stress	15 of 272	1.46	$5.81e^{-16}$
GO:0000302	Response to reactive oxygen species	11 of 169	1.53	$3.10e^{-12}$
GO:0048708	Astrocyte differentiation	6 of 61	1.71	$1.57e^{-07}$

GO:2000377	Regulation of reactive oxygen species metabolic process	6 of 143	1.34	1.20e ⁻⁰⁵
------------	---	----------	------	----------------------

Hasil analisis proses biologi menunjukkan bahwa semua proses biologi yang teridentifikasi memiliki kaitan dengan kanker kolon, dengan proses biologi *Astrocyte differentiation* menunjukkan profil terbaik. Proses ini melibatkan 6 gen dari total 61 gen, dengan kekuatan interaksi tertinggi sebesar 1.71 dan tingkat kesalahan yang sangat rendah, yakni 1.57e⁻⁰⁷ atau 0.000000157. *Astrocyte differentiation* merujuk pada diferensiasi jenis utama sel glial yang terdapat dalam sistem saraf pusat (SSP). Sel-sel ini berkembang dari *neural stem cells* (NSCs) setelah pembentukan neuron, pada akhir embriogenesis dan awal kehidupan postnatal. *Astrocytes* berperan vital dalam pemeliharaan fungsi normal SSP serta respons terhadap cedera atau penyakit, dengan kemampuan untuk mendukung regenerasi dan modulasi jaringan saraf. *Astrocyte differentiation* tidak terjadi langsung pada kanker kolon, tetapi jalur molekuler yang mengatur proses tersebut seperti *JAK-STAT*, *TGF-β*, dan *Notch signaling pathway*, memainkan peran penting pada kanker kolon dalam proliferasi, metastasis, dan resistensi terapi (Lattke and Guillemot, 2022).

Tabel 5.11 Fungsi molekul gen target *Helianthus annuus* L. dan kanker kolon

GO term	Description	Count in network	Strenght	False discovery rate
GO:0019902	Phosphatase binding	8 of 198	1.32	7.44e ⁻⁰⁶
GO:0004674	Protein serine/threonine kinase activity	9 of 434	1.03	6.02e ⁻⁰⁵
GO:0005126	Cytokine receptor binding	5 of 270	0.98	0.0205
GO:0004712	Protein serine/threonine/tyrosine kinase activity	4 of 44	1.67	0.00062
GO:0019903	Protein phosphatase binding	6 of 152	1.31	0.00020
GO:0051434	BH3 domain binding	2 of 6	2.24	0.00015
GO:0019901	Protein kinase binding	8 of 702	0.77	0.0086
GO:0019887	Protein kinase regulatory activity	5 of 221	1.07	0.0114
GO:0004708	MAP kinase kinase activity	3 of 17	1.96	0.0015
GO:0004707	MAP kinase activity	3 of 15	2.02	0.0012

Hasil analisis fungsi molekuler menunjukkan bahwa seluruh molekul yang teridentifikasi memiliki hubungan dengan kanker kolon, dengan fungsi molekuler *BH3 domain binding* menunjukkan profil terbaik. Fungsi ini melibatkan 2 gen dari total 6 gen dalam jaringan, dengan kekuatan interaksi tertinggi sebesar 2.24 dan tingkat kesalahan yang rendah, yakni 0.00015. *BH3 domain binding* merupakan mekanisme kunci dalam proses apoptosis, di mana domain ini mengatur interaksi antara protein *BH3-only* dan anggota keluarga

BCL-2. Fungsi utama dari mekanisme ini adalah inisiasi dan pengaturan kematian sel terprogram, yang berperan penting dalam mempertahankan keseimbangan antara kelangsungan hidup dan kematian sel (Chittenden, 2002).

Tabel 5.12 Komponen seluler gen target *Helianthus annuus* L. dan kanker kolon

GO term	Description	Count in network	Strenght	False discovery rate
GO:0045121	Membrane raft	10 of 320	1.21	$9.52e^{-07}$
GO:0017053	Transcription repressor complex	4 of 77	1.43	0.0024
GO:0098590	Membrane region	12 of 1237	0.7	0.00066
GO:0005635	Nuclear envelope	7 of 487	0.87	0.0039
GO:0031968	Organelle outer membrane	4 of 236	0.94	0.0439
GO:0070013	Intracellular organelle lumen	25 of 5660	0.36	0.00066
GO:0005901	Caveola	6 of 78	1.6	$8.37e^{-06}$
GO:0031143	Pseudopodium	2 of 18	1.76	0.000292
GO:0031410	Cytoplasmic vesicle	14 of 2482	0.47	0.0101
GO:0098797	Plasma membrane protein complex	6 of 589	0.72	0.0364

Hasil analisis komponen seluler menunjukkan bahwa semua molekul yang dianalisis berhubungan dengan kanker kolon, dengan komponen seluler *Pseudopodium* menunjukkan profil terbaik. Komponen ini melibatkan 2 gen dari total 18 gen dalam jaringan, dengan kekuatan interaksi tertinggi sebesar 1.76 dan tingkat kesalahan yang rendah, yaitu 0.000292. *Pseudopodium* adalah tonjolan seluler yang terbentuk dari membran sel dan sitoskeleton, terutama filamen aktin, dan memainkan peran penting dalam migrasi sel. Struktur ini berfungsi untuk memperluas membran, berinteraksi dengan matriks

ekstraseluler (ECM), mendeteksi sinyal, dan mengatur jalur pergerakan sel. Pseudopodium sangat bergantung pada koordinasi antara sitoskeleton, molekul adhesi, dan jalur sinyal untuk memastikan migrasi sel yang efisien. *Pseudopodium* pada sel kanker kolon adalah struktur penting yang mendukung migrasi, invasi, metastasis, dan resistensi terhadap terapi (Fu *et al*, 2024).

Tabel 5.13 KEGG Pathway gen target *Helianthus annuus* L. dan kanker kolon

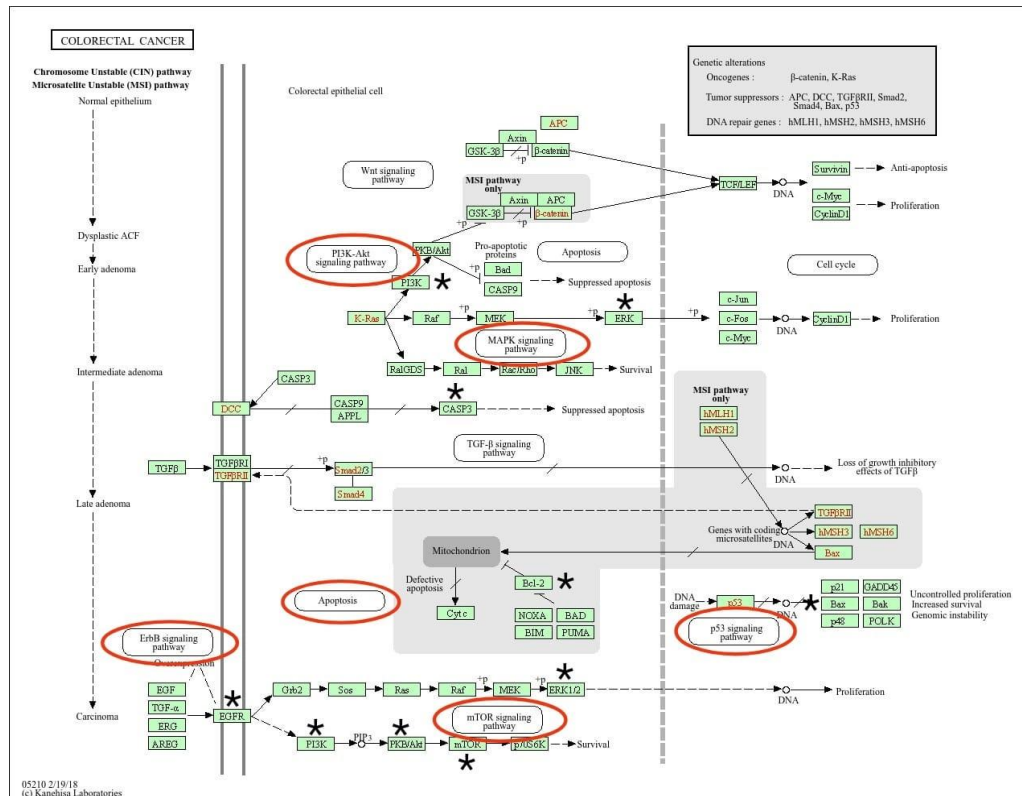
Pathway	Description	Count in network	Strenght	False discovery rate
hsa01520	Colorectal cancer	9 of 82	1.98	$8.99e^{-24}$
hsa01521	EGFR tyrosine kinase inhibitor resistance	12 of 77	1.91	$1.80e^{-18}$
hsa04210	Apoptosis	10 of 131	1.91	$9.32e^{-13}$
hsa04012	ErbB signaling pathway	8 of 81	1.71	$3.14e^{-18}$
hsa04151	PI3K-Akt signaling pathway	14 of 389	1.32	$2.87e^{-14}$
hsa04010	MAPK signaling pathway	12 of 286	1.34	$1.85e^{-12}$
hsa04150	mTOR signaling pathway	8 of 150	1.44	$2.39e^{-09}$
hsa04115	p53 signaling pathway	5 of 72	1.56	$1.21e^{-06}$
hsa04310	Wnt signaling pathway	6 of 154	1.31	$1.88e^{-06}$
hsa04668	TNF signaling pathway	13 of 111	1.78	$1.42e^{-18}$

Hasil analisis jalur KEGG menunjukkan bahwa jalur persinyalan kanker kolorektal (*Colorectal cancer*) memiliki profil terbaik, dengan 9 jaringan atau gen target dari total 82 gen, kekuatan interaksi terbesar sebesar 1.98, dan tingkat kesalahan yaitu $8.99e^{-24}$ atau 0,00000000000000000000899. Jalur persinyalan kanker kolorektal menggambarkan rangkaian mekanisme

komunikasi molekuler dalam sel yang jika terganggu, dapat memicu proses tumorigenesis (pembentukan tumor), mendukung proliferasi sel kanker, dan memungkinkan terjadinya penyebaran metastasis. Jalur-jalur ini sering kali terpengaruh oleh mutasi genetik, baik somatik (didapat) maupun *germline* (yang diwariskan), yang mengubah fungsi normal gen dan protein. Jalur persinyalan utama pada kanker kolorektal, seperti Wnt/ β -catenin, RAS/RAF/MEK/ERK, PI3K/AKT, dan TGF- β , berperan penting dalam patogenesis kanker kolorektal (Li *et al*, 2024).

5.9.7 Analisis Jalur Persinyalan Kanker Kolon dengan *KEGG pathway*

Analisis jalur persinyalan *KEGG Pathway* pada kanker kolon merupakan aspek penting dalam penelitian ini, yang bertujuan untuk mengidentifikasi dan menganalisis jalur-jalur yang terkait dengan kanker kolon. Jalur persinyalan ini diperoleh dari hasil analisis interaksi protein-protein melalui *STRING*, yang menunjukkan hubungan paling signifikan dengan kanker kolon. Berdasarkan identifikasi tersebut, jalur persinyalan yang dipilih adalah *Colorectal Cancer Pathway* (hsa01520), dengan nilai *count in network* 9 dari 82, yang menunjukkan bahwa jalur ini memiliki keterkaitan kuat dengan gen target senyawa daun bunga matahari dan memiliki jumlah interaksi protein terbanyak dibandingkan dengan jalur lainnya, serta relevansi yang erat dengan penyakit kanker kolon.



Gambar 5.8 Colorectal Cancer Pathway (hsa01520)

Berdasarkan hasil analisis pengayaan jalur KEGG, ditemukan 6 jalur yang memiliki potensi signifikan dalam pengobatan kanker kolon, yang dipengaruhi oleh senyawa Umbelliferone, Eupatilin, dan Androstanolone. Jalur-jalur tersebut meliputi *ErbB signaling pathway* (hsa04012), *mTOR signaling pathway* (hsa04150), *p53 signaling pathway* (hsa04115), *MAPK signaling pathway* (hsa04010), *PI3K-Akt signaling pathway* (hsa04151), dan *Apoptosis* (hsa04210). Beberapa jalur ini diprediksi berhubungan erat dan mempengaruhi proses biologis dalam penyembuhan kanker kolon. Selain itu, analisis menunjukkan bahwa *Colorectal Cancer Pathway* (hsa01520) melibatkan sembilan gen target potensial dari senyawa ekstrak daun bunga matahari, yaitu AKTI, MAPK1, EGFR, PIK3CA, BCL2, CASP3, MTOR, MAPK3, dan BAX.

ErbB signaling pathway adalah jalur sinyal seluler yang melibatkan keluarga reseptor tirosin kinase. Keluarga reseptor ini, yang dikenal juga dengan nama *EGFR family*, memiliki peran penting dalam mengatur proliferasi, diferensiasi, dan kelangsungan hidup sel. Gangguan pada jalur ini sering terjadi pada berbagai jenis kanker, termasuk kanker kolorektal (KKR), yang mengarah pada peningkatan aktivitas onkogenik dan mendukung pertumbuhan tumor. Pada *ErbB signaling pathway* terdapat 2 gen target yakni EGFR dan MAPK1. EGFR adalah titik masuk utama dalam *ErbB signaling pathway*. Aktivasi berlebihan atau mutasi pada EGFR sering menyebabkan proliferasi tak terkendali dan resistensi apoptosis. Sedangkan MAPK1, juga dikenal sebagai ERK2, adalah komponen hilir dari RAS-RAF-MEK-ERK. Ketika diaktifkan, MAPK1 berfungsi sebagai ekspresi gen yang mendukung proliferasi sel dan Inhibisi apoptosis. Kedua gen target tersebut dapat diketahui fungsinya yakni menyebabkan proliferasi sel dan inhibisi apoptosis sehingga dapat dijadikan gen target untuk pengobatan kanker kolon (Arteaga and Engelman, 2014).

mTOR signaling pathway adalah jalur sinyal yang dikendalikan oleh *mammalian target of rapamycin* (mTOR), sebuah protein kinase yang membentuk dua kompleks utama, mTORC1 dan mTORC2, yang memiliki fungsi dan regulasi yang berbeda. Aktivasi abnormal dari mTOR sering dikaitkan dengan agresivitas tumor dan resistensi terhadap terapi, sehingga menjadikannya target potensial dalam pengobatan kanker kolorektal. Pada *mTOR signaling pathway* terdapat 3 gen target yakni PIK3CA, AKT1, dan mTOR. PIK3CA yang bermutasi akan meningkatkan proliferasi, migrasi, dan

resistensi terhadap apoptosis. AKT1 yang hiperaktif akibat mutasi upstream (seperti PIK3CA) berkontribusi pada resistensi terapi. Sedangkan aktivasi mTOR, yakni mTORC1 mendorong proliferasi tumor, sementara mTORC2 mendukung metastasis melalui regulasi migrasi sel. Mutasi pada gen-gen ini menghasilkan aktivasi jalur yang abnormal, sehingga menjadi target terapi potensial untuk kanker kolon (Francipane and Lagasse, 2014).

p53 signaling pathway jalur molekuler yang dikendalikan oleh protein p53, yang berfungsi sebagai penekan tumor utama. Protein ini berperan sebagai "penjaga genom" dengan mendeteksi stres seluler dan meresponsnya dengan mengatur mekanisme untuk menjaga homeostasis dan mencegah tumorigenesis. Namun, mutasi pada gen TP53 sering menyebabkan hilangnya fungsi penghambat tumor, yang berkontribusi pada peningkatan agresivitas dan resistensi tumor terhadap terapi. Pada kanker kolorektal, jalur ini berperan dalam melindungi sel normal dari perkembangan kanker. Pada *p53 signaling pathway* terdapat 1 gen target yakni BAX. *Bcl-2-associated X protein* (BAX) adalah salah satu gen target utama yang diatur oleh p53 dalam jalur ini. Aktivasi BAX berperan dalam induksi apoptosis, yang merupakan target penting untuk pengobatan kanker. Seluruh gen target yang ada di jalur *p53* termasuk BAX ketika bermutasi akan menyebabkan tidak terkontrolnya proliferasi (perkembangan sel) yang meningkatkan *survival* (tingkat daya tahan hidup) dari gen-gen yang tidak stabil. Gen-gen yang tidak stabil tersebut akan memberikan *damage* kepada DNA yang masih normal. Oleh karena itu BAX merupakan salah satu gen yang menjadi target terapi kanker kolon (Hu *et al*, 2021).

MAPK signaling pathway jalur molekuler utama yang memengaruhi ekspresi gen dan memiliki peran krusial dalam respons terhadap berbagai sinyal eksternal, termasuk faktor pertumbuhan, sitokin, stres lingkungan, dan kerusakan sel. Jalur ini memainkan peranan sentral dalam perkembangan kanker kolorektal dengan mendukung proliferasi, diferensiasi, adaptasi terhadap stres, inflamasi, dan resistensi terhadap terapi. *MAPK signaling pathway* juga berkontribusi pada pembentukan lingkungan mikro tumor yang memfasilitasi pertumbuhan tumor dan metastasis. Pada *MAPK signaling pathway* terdapat 2 gen target yakni MAPK1 dan MAPK3. MAPK1 dan MAPK3 jika bermutasi dapat menghambat protein pro-apoptosis untuk mendukung kelangsungan hidup sel. Selain itu aktivasi berlebihan ERK1/2 (nama lain dari MAPK1/3) meningkatkan proliferasi yang tak terkendali. Sehingga MAPK1 dan 3 menjadi gen target potensial dalam pengobatan kanker kolon (Slattery *et al*, 2018).

PI3K-Akt signaling pathway adalah salah satu jalur yang paling sering mengalami perubahan pada kanker manusia, termasuk kanker kolorektal. Jalur ini berperan penting dalam mendukung pertumbuhan, kelangsungan hidup, migrasi, dan resistensi terhadap terapi pada kanker kolorektal. Pada *PI3K-Akt signaling pathway* terdapat 1 gen target yakni PIK3CA. PIK3CA yang bermutasi akan menyebabkan resistensi apoptosis yang menyebabkan *suppressed* atau penekanan (inhibisi protein pro-apoptosis) membuat sel kanker bertahan terhadap terapi (*resistance*). Sehingga disini PIK3CA menjadi salah satu target terapi penyakit kanker kolon untuk menghambat proliferasi dan penyebaran tumor (Leiphrahpam and Are, 2024).

Apoptosis signaling pathway adalah rangkaian proses biokimia yang mengatur kematian sel terprogram (*apoptosis*) dalam tubuh. Jalur ini melibatkan berbagai molekul sinyal, seperti protein, enzim, dan gen, yang berfungsi untuk menginduksi atau menghambat *apoptosis*. Dalam konteks kanker kolorektal, jalur ini memiliki peran penting dalam mengatur keseimbangan antara proliferasi sel dan kematian sel, yang dapat mempengaruhi perkembangan tumor. *Apoptosis signaling pathway* adalah jalur regulasi yang mengontrol kematian sel terprogram untuk menjaga homeostasis jaringan. Pada *apoptosis signaling pathway* terdapat 2 gen target yakni BCL2 dan CASP3. Dalam kanker kolon, BCL2 adalah gen protein anti-*apoptosis* utama yang sering diekspresikan berlebihan. BCL2 menghambat pelepasan *cytochrome c* melalui mitokondria dengan menetralkan protein (gen target) *pro-apoptosis* (BAX/BAK). Ekspresi/mutasi berlebihan BCL2 menyebabkan *defective apoptosis* atau kerusakan *apoptosis* meskipun terdapat sinyal *pro-apoptosis* yang memungkinkan sel kanker bertahan hidup. Sedangkan CASP3 ketika bermutasi menyebabkan *suppressed* atau penekanan yang membuat sel kanker bertahan terhadap terapi (*resistance*). Oleh karena itu, BCL2 dan CASP3 menjadi gen target potensial untuk terapi kanker kolon (Stoian *et al*, 2014).

Terdapat beberapa tantangan dalam identifikasi senyawa dari profil metabolit sekunder ekstrak etanol 96% daun *Helianthus annuus* L. serta dalam penentuan mekanisme molekulernya melalui pendekatan network farmakologi, yang dapat menjadi bahan evaluasi untuk penelitian di masa depan. Pada tahap pemprofilan metabolit, beberapa kendala teknis muncul, seperti

ketidakcocokan perangkat komputer (PC/laptop) untuk menginstal aplikasi *masslynx*, yang menyebabkan analisis data sedikit terhambat. Oleh karena itu, analisis dilakukan menggunakan PC/laptop yang kompatibel dengan instalasi aplikasi tersebut. Beberapa puncak (*peak*) yang terdeteksi tidak memiliki massa terhitung (*calculated mass*), sehingga nama dan struktur senyawa tidak dapat diidentifikasi. Selain itu, terdapat beberapa puncak lain dengan massa terhitung dan rumus molekul yang dapat diketahui, tetapi nama dan struktur senyawa tersebut tetap tidak dapat ditentukan (*unknown compounds*). Oleh karena itu, perlu dilakukan isolasi dan elusidasi lebih lanjut untuk mengatasi masalah ini. Puncak (*peak*) yang tidak terdeteksi nilai massa terhitung (*calculated mass*)-nya dapat disebabkan oleh beberapa faktor berikut.

- 1) *Unknown compounds* merupakan senyawa yang tidak dapat teridentifikasi oleh *database*, dapat berupa senyawa pengotor atau degradan yang masih terdeteksi oleh instrumen, atau mungkin senyawa baru yang belum ada dalam *database*, terutama *unknown compounds* yang memiliki kadar tinggi (Ma'arif dkk, 2019).
- 2) Akurasi detektor yang kurang optimal dalam mendeteksi massa suatu molekul senyawa dapat menjadi penyebab. Untuk mengatasi hal ini, solusi yang dapat diterapkan adalah dengan mengganti detektor dengan yang lebih mumpuni dan memiliki kemampuan yang lebih baik (Harmita dkk, 2019).
- 3) Penggunaan metode ionisasi ESI⁺ dalam analisis dapat menyebabkan kesalahan dalam pengukuran massa molekul senyawa. Oleh karena itu, untuk memperbaiki akurasi pengukuran massa, dapat dipertimbangkan

untuk menggunakan metode ionisasi yang lebih efektif dan sesuai dengan analisis yang dilakukan seperti *Atmospheric Pressure Chemical Ionization* (APCI), *Atmospheric Pressure Photo-Ionization* (APPI), dan *Matrix-Assisted Desorption/Ionization* (MALDI) (Harmita dkk, 2019).

5.10 Integrasi Hasil Penelitian dalam Kerangka Perspektif Islam

Allah SWT melalui malaikat Jibril, menurunkan wahyu-Nya kepada Nabi Muhammad SAW, kekasih-Nya, yang kemudian disampaikan kepada umat Islam untuk diyakini dan diterima. Wahyu-wahyu tersebut tersusun dengan teratur dan menggunakan bahasa yang sangat indah serta tinggi dalam kitab suci Al-Qur'an. Al-Qur'an merupakan kitab suci terakhir bagi umat yang dipimpin oleh nabi terakhir, dengan kedudukannya lebih tinggi dari kitab-kitab sebelumnya. Di dalamnya terkandung segala petunjuk yang dibutuhkan oleh makhluk-Nya untuk pedoman dalam menjalani kehidupan. Salah satunya terdapat dalam Surah Al-Hijr ayat 19 yang berbunyi:

وَالْأَرْضَ مَدَدْنَاهَا وَأَلْقَيْنَا فِيهَا رَوَاسِيَ وَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ شَيْءٍ مَّوْرُؤٍ ۝ ١٩

Artinya: “Dan Kami telah menghamparkan bumi dan menjadikan padanya gunung-gunung serta Kami tumbuhkan di sana segala sesuatu menurut ukuran” (Q.S. Al-Hijr [15] : 19)

Menurut tafsir Kemenag RI (2015), Allah SWT menciptakan bumi sebagai tempat bagi manusia untuk hidup dan mencari nafkah, termasuk dalam hal mencari rezeki yang halal serta berkebun. Selain itu, Allah SWT juga menciptakan gunung-gunung yang kokoh sebagai penopang bumi dan menghiasi bumi dengan beragam jenis tumbuhan yang memiliki ukuran dan komposisi tertentu. Penelitian ini mengungkapkan potensi metabolit dalam

daun bunga matahari yang memiliki senyawa bioaktif untuk pengobatan kanker kolon. Pendekatan ilmiah melalui teknologi UPLC-MS/MS membantu memahami komposisi kimia yang bermanfaat untuk kesehatan manusia. Dengan kebesaran-Nya, Allah SWT menciptakan beragam senyawa yang terkandung dalam setiap tumbuhan, bahkan setiap bagian tumbuhan, yang berpotensi memiliki manfaat besar, khususnya dalam bidang kesehatan. Metabolit sekunder ini dapat digunakan sebagai obat untuk mencegah, mengobati, dan memulihkan kondisi tubuh saat sakit. Melalui hal ini, Allah SWT menegaskan bahwa sebagai manusia, makhluk-Nya yang paling sempurna, kita wajib mengimani-Nya dengan merenungkan keajaiban alam sekitar, yang pada gilirannya akan menambah keimanan dan keyakinan kita kepada-Nya yang Maha Mengetahui segala sesuatu.

Manusia merupakan makhluk dengan derajat tertinggi dalam proses penciptaannya. Meskipun berasal dari tanah yang diciptakan oleh Allah SWT, manusia diberikan berbagai keistimewaan yang tidak dimiliki oleh makhluk lainnya. Keberhasilan dan pencapaian hidup manusia sangat bergantung pada cara mereka menjalani dan memaknai hidup, salah satunya melalui pencarian ilmu. Orang yang memiliki pengetahuan akan memiliki pemahaman yang lebih jelas dan berusaha untuk memanfaatkan segala karunia yang diberikan oleh Allah SWT. Dalam kehidupan sehari-hari, umat Islam diharapkan untuk bertindak sesuai dengan ajaran Nabi Muhammad SAW, termasuk dalam aspek kesehatan (Amiruddin dkk, 2022). Hal ini sejalan dengan firman Allah SWT dalam Surat Al-Ankabut ayat 43.

وَتِلْكَ الْأَمْثَالُ نَضْرِبُهَا لِلنَّاسِ وَمَا يَعْقِلُهَا إِلَّا الْعُلَمَاءُ ﴿٤٣﴾

Artinya: “*Dan perumpamaan-perumpamaan itu Kami buat untuk manusia. Namun, tidak ada yang memahaminya, kecuali orang-orang yang berilmu*” (Q.S. Al- Ankabut [29] : 43)

Ayat tersebut mengajak umat manusia untuk selalu berpikir, memahami, dan memanfaatkan ilmu pengetahuan serta teknologi. Setiap individu, sesuai dengan kapasitas ilmiah mereka, dapat memperoleh pemahaman yang mungkin berbeda, bahkan lebih mendalam dibandingkan orang lain, dari perumpamaan tersebut. Islam mendorong umatnya untuk terus belajar dan melakukan penelitian sebagai bentuk ibadah. Dalam hal ini, penelitian tentang metabolit bunga matahari mencerminkan usaha manusia untuk menggunakan akal dan ilmunya dalam menggali manfaat dari ciptaan Allah. Dalam penelitian ini pula, ilmu dan teknologi digunakan secara komputasi melalui pendekatan *network pharmacology*, yang merupakan metode untuk memprediksi potensi aktivitas senyawa dari tanaman *Helianthus annuus L.* sebagai alternatif pengobatan kanker kolon. *Network pharmacology* memanfaatkan perangkat lunak dan berbagai basis data informasi, yang kemudian divisualisasikan untuk memberikan gambaran yang lebih kompleks mengenai hubungan antara obat, gen target, serta berbagai mekanisme yang terjadi di dalam tubuh (Liu *et al*, 2018; Liang *et al*, 2020).

Bukti akan kekuasaan Allah SWT semakin mudah untuk diinterpretasikan seiring dengan berjalannya waktu dan berkembangnya pengetahuan manusia. Terjadi keselarasan yang sangat apik akan kebutuhan kesehatan manusia dengan apa yang telah Allah siapkan dalam buminya salah satunya zat yang terkandung dalam tumbuhan, sehingga manusia dapat terus memanfaatkan dan menggali potensi ilmiah tumbuhan khususnya untuk bidang

kesehatan. Salah satu contoh tumbuhan yang terus dimanfaatkan oleh masyarakat Indonesia adalah bunga matahari (*Helianthus annuus* L.). Penelitian ini menggunakan pendekatan *network pharmacology* dengan memanfaatkan tanaman *Helianthus annuus* L., yang mengandung berbagai senyawa kimia seperti flavonoid, fenol, sesquiterpen lakton, terpenoid, steroid, dan glikolipid. Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk mengeksplorasi manfaat dari kandungan-kandungan senyawa tersebut sebagai alternatif pengobatan kanker kolon. Tanaman *Helianthus annuus* L., khususnya bagian daunnya, diprediksi memiliki potensi sebagai agen antikanker kolon, dengan profil fisikokimia yang baik dan tingkat toksisitas yang rendah, sehingga menjadikannya kandidat yang menjanjikan untuk pengujian lebih lanjut sebagai obat alternatif untuk kanker kolon.

Penelitian tentang metabolit daun bunga matahari dan mekanisme molekulernya pada kanker kolon sejalan dengan ajaran Islam yang mendorong pemanfaatan ciptaan Allah untuk kebaikan umat manusia. Q.S. Al-Hijr ayat 19 mengingatkan bahwa segala sesuatu diciptakan dengan tujuan dan ukuran tertentu, sementara Q.S. Al-Ankabut ayat 43 menekankan pentingnya ilmu pengetahuan untuk memahami tanda-tanda kebesaran Allah. Integrasi ini memperkuat keyakinan bahwa ilmu pengetahuan adalah sarana untuk mendekatkan diri kepada Allah dengan memanfaatkan potensi alam secara optimal dan bertanggung jawab.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilaksanakan, dapat disimpulkan bahwa:

1. Diperoleh 19 senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak etanol 96% daun *Helianthus annuus* L., antara lain CHEMBL479499, Umbelliferone, Heliannuol A, Heliannuol D, Costunolide, Zingerone, Cirsiliol, Hemigossypol, Olivetol, Eupatilin, Dehydrocostus lactone, Absinthin, Marliolide, Androstanolone, SCHEMBL18806933, Scortechinone B, Dieporeticenin, dan 2 senyawa yang tidak diketahui (*unknown*).
2. Dari hasil *metabolite profiling* diperoleh 19 senyawa, dan 10 di antaranya memenuhi prediksi bioaktivitas yang berkaitan dengan kanker kolon berdasarkan uji PASS dengan nilai $P_a \geq 0,7$. Senyawa-senyawa tersebut meliputi CHEMBL479499, Costunolide, Cirsiliol, Hemigossypol, Eupatilin, Dehydrocostus lactone, Absinthin, Marliolide dan Androstanolone.
3. Gen target yang terkait dengan kanker kolon dari senyawa metabolit ekstrak etanol 96% daun *Helianthus annuus* L. meliputi CD44, MTOR, MAPK14, TOFB2, TP53, TNF, TOFBR2, EGF, LEP, AKTI, STATS, MAPKI, PTOS2, PIK3CG, MALAT1, CTNNB1, EGFR, IL18, CCND1, PIKICA, CDH1, MUC1, BCL2, SMAD4, HPGD, IGFIR, ICAMI, JUN,

MAPK3, ESR2, PEBP1, NOTCH1, BAX, CYP24A1, PRKAA1, ILS, DKK1, CASP3, NFE2L2, dan MMPR.

4. Jalur persinyalan senyawa metabolit dari ekstrak etanol 96% daun bunga matahari (*Helianthus annuus* L.) yang memiliki potensi besar terhadap pengobatan kanker kolon diantaranya *ErbB signaling pathway*, *mTOR signaling pathway*, *p53 signaling pathway*, *MAPK signaling pathway*, *PI3K-Akt signaling pathway*, dan *Apoptosis* dengan melibatkan 9 komponen gen target potensial dari senyawa ekstrak daun bunga matahari diantaranya AKT1, MAPK1, EGFR, PIK3CA, BCL2, CASP3, MTOR, MAPK3, dan BAX.

6.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, terdapat beberapa saran untuk penelitian berikutnya antara lain perlunya penelitian lebih lanjut dalam bidang farmakologi dan molekuler untuk memverifikasi hasil yang telah dicapai. Selain itu, disarankan untuk melakukan uji *in vivo* dan *in vitro* guna mengevaluasi potensi daun *Helianthus annuus* L. sebagai alternatif terapi untuk kanker kolon.

DAFTAR PUSTAKA

- Adnan, M., Nazim Uddin Chy, M., Mostafa Kamal, A. T. M., Azad, M. O. K., Paul, A., Uddin, S. B., Faruque, M. O., Park, C. H., and Cho, D. H. 2019. Investigation of the Biological Activities and Characterization of Bioactive Constituents of *Ophiorrhiza rugosa* var. *prostrata* (D. Don) & Mondal Leaves Through In Vivo, In Vitro, and In Silico Approaches. *Molecules*, Vol. 24. No. 7 : 1-24.
- Akhmad, D. M. 2020. Pengukuran Kemiripan Semantik Berbasis Graph Pada Gene Ontology. *Computatio: Journal Of Computer Science And Information Systems*, Vol. 4. No. 2 : 102–111.
- Amiruddin, M., Salsabila, A. S., Wibawati, A. P., Mulpiawan, N. R., dan Sari, Y. A. 2022. 3rd Annual Symposium On Hajj And Umrah Medicine (Anshar) 2022 Types of the 3rd Prophet's Herbal : Honey Bees (Salwa). *Proceeding Annual Symposium on Hajj and Umrah Medicine*, Vol. 1. No. 1 : 108-121
- Amrulloh, M. F. 2018. *Uji aktivitas ekstrak Etanol 96% daun Bunga Matahari (Helianthus annuus) terhadap induksi apoptosis, siklus sel, dan ekspresi P53 sel kanker serviks HeLa* (Doctoral dissertation, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim).
- Andarwulan, S., Rahayu, A., Mukti, A. W., Hardani, P. T., Purbosari, I., Pramushinta, I. A. K., Sari, D. P., Ambarwati, N., Sinulingga, A. S., Berliyanti, A. E., Saputra, D. P. E., Sopandi, T., Mukhtar, M. N. A., Mukti, R. A., Wijayanti, P. D., dan Fatmawati. 2023. Sosialisasi Optimalisasi Pembudidayaan Bunga Matahari di Desa Pengalangan Kabupaten Gresik. *JURPIKAT (Jurnal Pengabdian Kepada Masyarakat)*, Vol. 4. No. 2 : 344-353.
- Apriali, K. D., Triana, E., Farhani, M. I., Khoirunnisa, A., dan Nur'aini, Y. A. 2022. Studi Penambatan Molekul Dan Prediksi Admet Senyawa Metabolit Sekunder Tanaman Kelor (*Moringa oleifera* L.) Sebagai Inhibitor Bace1 Pada Penyakit Alzheimer. *Fitofarmaka: Jurnal Ilmiah Farmasi*, Vol. 12. No. 1 : 58– 67.
- Ardiyanti. Y. 2016. Berpikir Kritis Dalam Pembelajaran Berbasis Masalah Berbantuan Kunci Determinasi. *Jurnal Pendidikan Indonesia*. Vol. 5 No. 2 : 193-201.
- Ariani, N., Musiam, S., Niah, R., dan Febrianti, D. R. 2022. Pengaruh Metode Pengeringan Terhadap Kadar Flavonoid Ekstrak Etanolik Kulit Buah Alpukat (*Persea americana* Mill.) Dengan Spektrofotometri UV-VIS. *Jurnal Pharmascience*. Vol. 9. No. 1 : 40-47.

- Arifianti, L., Oktarina, R. D., dan Kusumawati, I. 2014. Pengaruh Jenis Pelarut Pengekstraksi Terhadap Kadar Sinensetin Dalam Ekstrak Daun *Orthosiphon stamineus* Benth. *E-Journal Planta Husada*, Vol. 2. No. 1 : 1-4.
- Ariyanti, M., Rosniati., Yumas, M., Wahyuni., dan Indriana, D. 2021. Kandungan Asam Amino dan Asam Lemak Kakao Bubuk Tidak Fermentasi Melalui Penyangraian Dengan Uap Panas Suhu Rendah. *Jurnal Industri Hasil Perkebunan*. Vol. 16. No. 2 : 70-82.
- Arrozi, P., Burhanuddin, N. F. N., dan Saharudin, N. F. N. 2020. Leksikon Etnomedisin dalam Pengobatan Tradisional Sasak: Kajian Antropolinguistik. *Mabasan*, Vol. 14. No. 1 : 17-30.
- Arteaga, C. L., and Engelman, J. A. 2014. ERBB Receptors: From Oncogene Discovery to Basic Science to Mechanism-Based Cancer Therapeutics. *Cancer cell*, Vol. 25. No. 3 : 282-303.
- Ashburner, M., Ball, C. A., Botstein D., Butler, H., and Cherry, J. M. 2000. Gene ontology: Tool for The Unification of Biology. *Nature Genetics*, Vol. 25. No. 1 : 1-9.
- Asworo, R. Y., dan Widwastuti, H. 2023. Pengaruh Ukuran Serbuk Simplisia dan Waktu Maserasi terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Sirsak. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Education*. Vol. 3. No. 2 : 256-263.
- Badriyah, L., dan Farihah, D. 2022. Optimalisasi Ekstraksi Kulit Bawang Merah (*Allium cepa* L.) Menggunakan Metode Maserasi. *Jurnal Sintesis: Penelitian Sains, Terapan dan Analisisnya*. No. 3. Vol. 1 : 30–37.
- Basha, S. A., Yunoos, M., and Ahmed, J. 2018. PASS: A Computerized Prediction of Biological Activity Spectra for Chemical Substances. *Indo American Journal of Pharmaceutical Research*, Vol. 8. No. 6 : 1441-1445.
- Bashir, T., Mashwani, Z. U. R., Zahara, K., Haider, S., Tabassum, S., and Mudrikah. 2021. Chemistry, Pharmacology and Ethnomedicinal Uses of *Helianthus annuus* (Sunflower): A Review. *Pure and Applied Biology (PAB)*, Vol. 4. No. 2 : 226-235.
- Budiyanto, B., dan Akbar, D. L. 2020. Konsep Kesehatan dalam Al-qur'an dan Hadis. *Al-Bayan: Jurnal Ilmu al-Qur'an dan Hadist*, Vol. 3. No. 2 : 157-173.
- Chittenden, T. 2002. BH3 Domains: Intracellular Death-Ligands Critical for Initiating Apoptosis. *Cancer Cell*, Vol. 2. No. 3 : 165-166.
- [Depkes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2020. Farmakope Indonesia Edisi VI. Jakarta : Kementerian Kesehatan RI.

- Dharma, M. A., Nocianitri, K. A., dan Yusasrini, N. L. A. 2020. Pengaruh Metode Pengeringan Simplisia Terhadap Kapasitas Antioksidan Wedang Uwuh. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan (ITEPA)*, Vol. 9. No. 1 : 88.
- Dia. S. P. S, Nurjanah., dan Jacob. A. M. 2015. Komposisi Kimia Dan Aktivitas Antioksidan Akar, Kulit Batang Dan Daun Lindur. *JPHPI*, Vol. 18. No. 2 : 205-219.
- Djoko, W., Taurhesia, S., Djamil, R., dan Simanjuntak, P. 2020. Standardisasi Ekstrak Etanol Herba Pegagan (*Centella asiatica*). *Sainstech Farma*. Vol. 13. No. 2 : 118–123.
- Dwi, D. K., Sasongkowati, R., dan Haryanto, E. 2020. Studi In Silico Sifat Farmakokinetik, Toksisitas, Dan Aktivitas Immunomodulator Brazilein Kayu Secang Terhadap Enzim 3-Chymotrypsin-Like Cysteine Protease Coronavirus. *Journal Of Indonesian Medical Laboratory And Science (Joimedlabs)*, Vol. 1. No. 1 : 76–85.
- Dwitiyanti, N., Ambarsari, E. W., dan Kustian, N. 2022. Interpretasi Basis Data Dengan Pendekatan Tabulasi Silang Untuk Pemetaan Diagram Venn. *Jurnal Publikasi Teknik Informatika*, Vol. 1. No. 2 : 81-89.
- Fajarullah, A., Irawan, H., dan Pratomo, A. 2014. Ekstraksi Senyawa Metabolit Sekunder Lamun *Thalassodendron ciliatum* Pada Pelarut Berbeda. *Repository Umrah*, Vol. 1. No. 1 : 1-15.
- Fakih, T. M., Jannati, F. A., Meilani, A., Ramadhan, D. S. F., dan Darusman, F. 2022. Studi In Silico Aktivitas Analog Senyawa Zizyphine Dari Bidara Arab (*Zizyphus spina-christi*) Sebagai Antivirus Sars-Cov-2 Terhadap Reseptor 3clpro. *Alchemy Jurnal Penelitian Kimia*, Vol. 18. No. 1 : 70-79.
- Fauziyah., Maghfirah, L., dan Hardiana. 2021. Gambaran Penggunaan Obat Tradisional Pada Masyarakat Desa Pulo Secara Swamedikasi. *Jurnal Sains dan Kesehatan Darussalam*. Vol. 1. No. 1 : 37-50.
- Faradisa, E., dan Fakhruddin, A. 2021. Beberapa Tumbuhan Obat di dalam Al-Quran Ditinjau dari Perspektif Sains. *NUSANTARA*, Vol. 3. No. 1 : 1-19.
- Febriana, E., Tamrin, T. R., dan Faradillah, F. 2019. Analisis Kadar Polifenol dan Aktivitas Antioksidan Yang Trdapat Pada Ekstrak Buah: Studi kepustakaan. *Edible: Jurnal Penelitian Ilmu-ilmu Teknologi Pangan*, Vol. 8. No. 1 : 1-11.
- Febri, F. A., Chilfi, T., Salamah, A. F., dan Wilipangga, A. 2023. Analisis Farmakokinetik Dan Toksisitas Pada Kandungan Fenolik Ekstrak Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) Menggunakan In Silico Pkcms Dan Protox II. *Jurnal Bina Cipta Husada*, Vol. 19. No. 1 : 108–117.

- Francipane, M. G., and Lagasse, E. 2014. mTOR Pathway in Colorectal Cancer: An Update. *Oncotarget*, Vol. 5. No. 1 : 1-18.
- Fu, R., Zhu, K., Li, Z., Lei, L., Li, M., Lang, X., and Yao, Y. 2024. Type III Collagen Promotes Pseudopodium-Driven Cell Migration. *Chem & Bio Engineering*, Vol. 1. No. 1 : 1-13.
- Guna, I. M. A. D., Putra, I. N. K., dan Wiadnyani, A. A. I. S. 2020. Pengaruh Konsentrasi Etanol Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Rambusa (*Passiflora foetida* L.) Menggunakan Metode *Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE). *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan (ITEPA)*. Vol. 9. No. 3 : 291-300.
- Gupta, M. K., Ghuge, A., Parab, M., Al-Refaei, Y., Khandare, A., Dand, N., and Waghmare, N. 2022. A Comparative Review on High-Performance Liquid Chromatography (HPLC), Ultra Performance Liquid Chromatography (UPLC) & High-Performance Thin Layer Chromatography (HPTLC) With Current Updates. *Current Issues in Pharmacy and Medical Sciences*, Vol. 35. No. 4 : 224-228.
- Hafidloh, D. 2014. *Sitotoksik ekstrak daun bunga matahari (Helianthus annus L.) dengan metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test) dan identifikasi golongan senyawa aktifnya* (Doctoral dissertation, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim).
- Hakim, A., Muti'ah, R., Aprinda, R., Suryadinata, A., dan Nasikhatul, F. 2018. Metabolite Profiling Bagian Akar, Batang, Daun, Dan Biji *Helianthus annuus* L. Menggunakan UPLC-MS. *MPI (Media Pharmaceutical Indonesiana)*. Vol. 2. No. 2 : 64-81.
- Hakim, A. R., dan Saputri, R. 2020. Narrative Review: Optimasi Etanol sebagai Pelarut Senyawa Flavonoid dan Fenolik. *Jurnal Surya Medika (JSM)*, Vol. 6. No. 1 : 177-180.
- Handaratri, A., dan Yuniati, Y. 2019. Kajian Ekstraksi Antosianin dari Buah Murbei dengan Metode Sonikasi dan Microwave. *Reka Buana: Jurnal Ilmiah Teknik Sipil dan Teknik Kimia*, Vol. 4. No. 1 : 63-67.
- Hanwar, D., Suhendi, A., Trisharyanti, I., Santoso, B., Safitri, M., dan Haryoto. 2015. Analisis Profil Metabolit Sekunder Ekstrak Lempuyang Emprit Dengan Kromatografi Gas-Spektroskopi Massa. *University Research Colloquium*. Hal : 158-166.
- Harmita, A. A. K., Harahap, Y., dan Supandi. 2019. *Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS)*. Jakarta barat: PT ISFI Penerbitan.

- Haryati, N. S., Susilowati, Y., dan Sartika, R. 2023. Hubungan Perilaku Caring Perawat Dengan Kualitas Hidup Pasien Kanker Payudara Di Rumah Sakit Kanker Dharmais. *Innovative: Journal Of Social Science Research*, Vol. 3. No. 6 : 3931-3941.
- Hu, J., Cao, J., Topatana, W., Juengpanich, S., Li, S., Zhang, B., Shen, J., Cai, L., Cai, X., and Chen, M. 2021. Targeting Mutant p53 for Cancer Therapy: Direct and Indirect Strategies. *Journal of Hematology & Oncology*, Vol. 14. No. 157 : 1-19.
- Hunafa, S. H., Andriane, Y., dan Yuniarti, L. 2023. Pengembangan Obat Kanker dari Daun Kelor (*Moringa oleifera*). In *Bandung Conference Series: Medical Science*. Vol. 3. No. 1 : 749-753.
- Husna, F., dan Mita, S. R. 2020. Identifikasi Bahan Kimia Obat dalam Obat Tradisional Stamina Pria dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis. *Farmaka*, Vol. 18. No. 2 : 16-25.
- Jayanuddin., Lestari, A.Z., dan Nurbayanti, F., 2014. Pengaruh Suhu Dan Rasio Pelarut Ekstraksi Terhadap Rendemen Dan Viskositas Natrium Alginate Dari Rumpun Laut Cokelat (*Sargassum* sp). *Jurnal Integrasi Proses*, Vol. 5. No. 1 : 51-55.
- Jelita, S. F., Setyowati, G. W., Ferdinand, M., Zuhrotun, A., dan Megantara, S. 2020. Uji Toksisitas Infusa *Acalypha Simensis* Dengan Metode Brine Shrip Lethality Test (BLST). *Jurnal Farmaka*, Vol. 18. No. 1 : 14–22.
- Kanehisa, M., Furumichi, M., Tanabe, M., Sato, Y., and Morishima, K. 2017. KEGG: New Perspectives on Genomes, Pathways, Diseases and Drugs. *Nucleic acids research*, Vol. 45. No. 1 : 353-D361.
- Katuuk, R. H., Wanget, S. A., dan Tumewu, P. 2019. Pengaruh Perbedaan Ketinggian Tempat Terhadap Kandungan Metabolit Sekunder Pada Gulma Babadotan (*Ageratum conyzoides* L.). In *Cocos*, Vol. 1. No. 4 : 1-6.
- [Kemenag RI] Kementerian Agama Republik Indonesia. 2015. *Al-Qur'an dan Tafsirnya* (edisi yang disempurnakan). Jakarta : Widya Cahaya.
- Kesuma, D., Siswandono, S., Purwanto, B. T., dan Hardjono, S. 2018. Uji In Silico Aktivitas Sitotoksik Dan Toksisitas Senyawa Turunan N-(Benzoil)-N'-Feniltiourea Sebagai Calon Obat Antikanker. *Jpscr: Journal Of Pharmaceutical Science And Clinical Research*, Vol. 3. No. 1 : 1-11.
- Kim, S., Thiessen, P. A., Bolton, E. E., Chen, J., Fu, G., Gindulyte, A., Han, L., He, J., He, S., Shoemaker, B. A., Wang, J., Yu, B., Zhang, J., and Bryant, S. H. 2016. Pubchem Substance And Compound Databases. *Nucleic Acids Research*, Vol. 44. No. 1 : 1202-1213.

- Krastanov, A. 2010. Metabolomics - The State of Art. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, Vol. 24. No. 1: 1537-1543.
- Kristina, C. V. M., Yusrini, N. A., dan Yusa, N. M. 2022. Pengaruh Waktu Ekstraksi Dengan Menggunakan Metode *Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE) Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Duwet (*Syzygium cumini*). *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*, Vol. 11. No. 1 : 13-21.
- Kristiyanto, J., Mamosey, W. E., dan Damis, M. 2020. Budaya Pengobatan Etnomedisin Di Desa Porelea Kecamatan Pipikoro Kabupaten Sigi Sulawesi Tengah. *HOLISTIK, Journal of Social and Culture*, Vol. 13. No. 1 : 1-15.
- Kuncoro, H., Apriani, D. K., Naspiah, N., dan Rahmadani, A. 2022. Isolasi, Karakterisasi Dan Aktivitas Radikal Bebas Dpph Senyawa Metabolit Sekunder Dari Fraksi Etil Asetat Daun Kokang (*Lepisanthes amoena* (Hassk) Leenh.). *JOPS (Journal Of Pharmacy and Science)*, Vol. 5. No. 2: 1-10.
- La Tansa, I., Permata, B. R., dan Artini, K. S. 2023. Formulasi Dan Uji Mutu Fisik Sediaan Bedak Padat Ekstrak Biji Bunga Matahari (*Helianthus annuus* L.) Sebagai Antioksidan. *Detector: Jurnal Inovasi Riset Ilmu Kesehatan*, Vol. 1. No. 4 : 167-181.
- Lattke, M., and Guillemot, F. 2022. Understanding Astrocyte Differentiation: Clinical Relevance, Technical Challenges, and New Opportunities in the Omics Era. *WIREs Mechanisms of Disease*, Vol. 14. No. 5 : 1-25.
- Laurella, L. C., Mirakian, N. T., Garcia, M. N., Grasso, D. H., Sülsen, V. P., and Papademetrio, D. L. 2022. Sesquiterpene Lactones as Promising Candidates for Cancer Therapy: Focus on Pancreatic Cancer. *Molecules*, Vol. 27. No. 11 : 1-25.
- Lee, K., Park, J. W., Song, I., Lee, K., Cho, S., Kwon, Y., and Kim, M. J., Ryoo, S. B., Jeong, S. Y., and Park, K. J. 2018. Prognostic Significance Of Sealed-Off Perforation in Colon Cancer : A Prospective Cohort Study. *World Journal of Surgical Oncology*, Vol. 16. No. 1 : 1-8.
- Leiphrakpam, P. D., and Are, C. 2024. PI3K/Akt/mTOR Signaling Pathway as a Target for Colorectal Cancer Treatment. *International Journal of Molecular Sciences*, Vol. 25. No. 6 : 1-20.
- Liang, X., Liu, C. S., Xia, T., Tang, Q. F., and Tan, X. M. 2020. Identification Of Active Compounds Of Mahuang Fuzi Xixin Decoction And Their Mechanisms Of Action By Lc-MS/MS And Network Pharmacology. *Evidence-Based Complementary And Alternative Medicine*, Vol. 1. No. 1 : 1-11.

- Li, Q., Geng, S., Luo, H., Wang, W., Mo, Y. Q., Luo, Q., Wang, L., Song, G.B., Sheng, J.P., and Xu, B. 2024. Signaling Pathways Involved in Colorectal Cancer: Pathogenesis and Targeted Therapy. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, Vol. 9. No. 1 : 1-48.
- Liu, X., Wu, J., Zhang, D., Wang, K., Duan, X., and Zhang, X. 2018. A Network Pharmacology Approach To Uncover The Multiple Mechanisms Of *Hedyotis diffusa* Willd. On Colorectal Cancer. *Evidence-Based Complementary And Alternative Medicine*, Vol 1. No. 1 : 1–12.
- Liu, Z. 2019. *Gastrointestinal cancers*. In *Radiomics and Radiogenomics: Technical Basis and Clinical Applications*. CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781351208277-17>
- Ma'arif, B., Aditama, A., Mutiah, R., Bhagawan, W. S., Amiruddin, R., dan Rukiana, 2019. Profil Metabolit Berbagai Ekstrak Daun *Chrysophyllum cainito* L. Menggunakan UPLC-QTOF-MS/MS. *Jurnal Tumbuhan Obat Indonesia*, Vol. 12. No. 1 : 10-24.
- Mármol, I., Diego, C. S., Dieste, A. P., Cerrada, E., and Yoldi, M. J. R. 2017. Colorectal Carcinoma: A General Overview and Future Perspectives in Colorectal Cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, Vol. 18. No. 1 : 1–39.
- Maslakhah, F. N. 2018. *Metabolite profiling bagian akar, batang, daun, dan biji Helianthus annuus L. menggunakan instrumen UPLC-MS* (Doctoral dissertation, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim).
- Masluhah, Y. L., Widyaningsih, T. D., Waziiroh, E., Wijayanti, N., dan Sriherfyna, F. H. 2016. Faktor Pengaruh Ekstraksi Cincau Hitam (*Mesona palustris*) Skala Pilot Plant: Kajian Pustaka. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, Vol. 4. No. 1 : 245-252.
- Maswara, D., Yamlean, P.V.Y., dan Sudewi, S. 2016. Uji Efektivitas Ekstrak Bunga Matahari (*Helianthus annuus L*) Sebagai Obat Analgetik Secara In Vitro Pada Mencit Putih Jantan (*Mus mucus*). *Pharmakon*, Vol. 5. No. 1 : 192-196.
- Mukhriani. 2014. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan*. Vol. 7. No. 2 : 361-367.
- Muldianah, D., Sulastri, S., Fatharani, A., Nurdimayanthi, D. A., Rahmawati, D. S., dan Fadhillah, H. 2022. Metode Analisis Paracetamol (*Acetaminophen*) dalam Darah, Plasma, Dan Serum Manusia. *COMSERVA: Jurnal Penelitian dan Pengabdian Masyarakat*, Vol. 2. No. 1 : 1-12.

- Mutiah, R. 2015. Evidence Based kurkumin Dari Tanaman kunyit (*Curcuma longa*) Sebagai Terapi Kanker Pada Pengobatan Modern. *Jurnal Farma Sains*. Vol. 1. No. 1 : 28–41.
- Muti'ah, R., Bhagawan, W. S., Arifin, B. M. Z., dan Rahmandika, J. M. S. 2019. Metabolite Fingerprinting *Eleutherine palmifolia* (L.) Merr. Using UPLC QTOF-MS/MS. *Traditional Medicine Journal*. Volume 24, Nomor 3: 139–159.
- Muti'ah, R., Hayati, E. K., dan Triastutik, Y. 2013. Pemisahan dan Identifikasi Ekstrak Kasar Seskuitperpen Daun Bunga Matahari (*Helianthus annuus* L.) dengan Kromatografi Lapis Tipis. *ALCHEMY: Journal of Chemistry*, Vol. 2. No. 3 : 190-194.
- Mutiah, R., Listiyana, A., Nafisa, B. B., dan Suryadinata, A. 2020. Kajian Efek Ekstrak Umbi Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr) Sebagai Antikanker. *Journal of Islamic Pharmacy*, Vol. 5. No. 2 : 14-25.
- Nadeau, R., Byvsheva, A., and Lavallée-Adam, M. 2021. PIGNON: a protein–protein interaction-guided functional enrichment analysis for quantitative proteomics. *BMC Bioinformatics*. Vol. 22. No. 1: 1-22.
- Nofiani, R. 2008. Urgensi dan Mekanisme Biosintesis Metabolit Sekunder Mikroba Laut. *Jurnal Natur Indonesia*, Vol. 10. No. 2 : 120-125.
- Nugroho, A. 2017. *Buku Ajar : Teknologi Bahan Alam*. Banjarbaru : In Lambung Mangkurat University Press.
- Nuraini, N., Ilyas, A., dan Novianty, I. 2015. Identifikasi dan Karakterisasi Senyawa Bioaktif Antikanker dari Ekstrak Etanol Kulit Batang Kayu Bitti (*Vitex cofassus*). *Al-Kimia*, Vol. 3. No. 2 : 15-27.
- Nurhidayati, D., dan Warmiati. 2021. Moisture Analyzer Sartorius Type Ma 45 Sebagai Alat Uji Kadar Air Gelatin Dari Tulang Kelinci. *Majalah Kulit Politeknik ATK Yogyakarta*. Vol. 20. No. 2 : 95–101.
- Nursanti, O. 2019. Validasi Penambatan Molekul Untuk Mendapatkan Ligan Aktif Pada Reseptor Cyclooxygenase 2. *Prosiding Seminar Informasi Kesehatan Nasional*, 411–430.
- Nusantoro, Y. R., dan Fadlan, A. 2020. Analisis Sifat Mirip Obat, Prediksi Admet, Dan Penambatan Molekular Isatinil-2-Aminobenzoilhidrazon Dan Kompleks Logam Transisi Co(II), Ni(II), Cu(II), Zn(II) Terhadap Bcl2-XL. *Akta Kimia Indonesia*, Vol. 5, No. 2 : 114-126.
- Padang, M. S., dan Rotty, L. 2020. Adenokarsinoma Kolon: Laporan Kasus. *e-CliniC*, Vol. 8. No. 2 : 229-236.

- Panaungi, A. N., dan Sakka . L. 2022. Pelatihan Pembuatan Simplisia Daun Kelor (*Morinaga oliefera*) Pada Masyarakat Desa Mageloreng Kecamatan Bantimurung, Kabupaten Maros. *Jurnal Pengabdian Farmasi dan Sains* (JPFS). Vol. 1. No. 1 : 36-39.
- Perina, I., Soetaredjo, F. E., dan Hindarso, H. 2017. Ekstraksi Pektin dari Berbagai Macam Kulit Jeruk. *Widya Teknik*, Vol. 6. No. 1 : 1-10.
- Piñero, J., Bravo, Á., Queralt-Rosinach, N., Gutiérrez-Sacristán, A., Deu-Pons, J., Centeno, E., García-García, J., Sanz, F., and Furlong, L. I. 2017. Disgenet: A Comprehensive Platform Integrating Information On Human Disease-Associated Genes And Variants. *Nucleic Acids Research*, Vol. 45. No. 1 : 833–83.
- Pradita, N., Widanti, Y. A., dan Wulandari, Y. W. 2021. Formulasi Egg Roll Ubi Jalar Ungu-Kuning dan Putih (*Ipomoea batatas* L) Dengan Substitusi Kacang Kedelai (*Glycine max* Merrill). *JITIPARI*. Vol. 6. No. 2 : 14–24.
- Prasetya, F., Arifuddin, M., dan Ibrahim, A. 2021. Identifikasi Senyawa Marker Dominan Ekstrak Daun Sirih Hitam dan Kuantifikasi Berdasarkan Perbedaan Lokasi Tanam. *Jurnal Sains dan Kesehatan*, Vol. 3. No. 2 : 147-157.
- Puspita, N. A. 2016. Kemoprevensi Untuk Pencegahan Kanker : Fakta atau Mitos?. *Jurnal Kedokteran Syiah Kuala*, Vol. 6. No. 2 : 37-50.
- Puspitasari, M. R., dan Waluyo, A. 2021. Aplikasi Teori Katharine Kolbaca Pada Kasus Kanker Kolon Pasca Laparatomi Dengan Musik. *Jurnal Medika Usada*, Vol. 4. No. 1 : 1-6.
- Puspitasari, I., Sari, G. N. F., dan Indrayati, A. 2021. Pemanfaatan Tanaman Obat Keluarga (TOGA) Sebagai Alternatif Pengobatan Mandiri. *Jurnal Warta LPM*, Vol. 24. No. 3 : 456-465.
- Putri, A. M. 2020. Perbandingan Aktivitas Antioksidan Terhadap Biji Bunga Matahari (*Helianthus Annuus* L.) Dengan Tumbuhan Lainnya. *Journal of Research and Education Chemistry*, Vol. 2. No. 2 : 85-91.
- Putri, S. P., Nusantara, F. J. P., dan Putri, S. E. 2017. Aplikasi Pendekatan Metabolomik untuk Ilmu Pangan dan Mikro-biologi. In *Bunga Rampai Forum Peneliti Muda Indonesia*. Vol. 1. No. 1 : 39-49.
- Raeni, S. F., Haresmawati, U., Mulyasuryani, A., dan Sabarudin, A. 2018. Evaluasi Pemisahan Alkilbenzena Menggunakan Kolom Monolith Berbasis Polimer Organik secara Kromatografi Cair Kinerja Tinggi. *ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia*. Vol. 14. No. 1 : 37–50.

- Rafi, M., Septaningsih, D. A., dan Heryanto, R. 2018. Metabolite Profiling of Java Turmeric (*Curcuma xanthoriza*) Essential Oil with Different Harvest Times. *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, Vol. 21. No. 4 : 237-241.
- Ramadhan, N., Martinsyah, R. H., dan Jamsari, J. 2022. Pertumbuhan dan Hasil 6 Varietas Bunga Matahari (*Helianthus annus* L.) Pada Lahan Buka-an Baru di Dataran Tinggi Alahan Panjang. *Jurnal Galung Tropika*, Vol. 11. No. 1 : 45-52.
- Ramadhani, S. T., Hamidah, S., dan Lastariwati, B. 2019. Pannacotta Biji Bunga Matahari (*Helianthus annuus* L.) Bagi Vegetarian. *Home Economics Journal*, Vol. 3. No. 2 : 38-61.
- Reddy, T S. G., Balammal, G., and Kumar, A. S. 2012. Ultra Performance Liquid Chromatography: An Introduction and Review. *International Journal of Pharmaceutical Research & Analysis*. Vol. 2. No. 1 : 24-31.
- Rizal, S. 2020. Manfaat Alam Dan Tumbuhan “Sumber Belajar Anak” Dalam Perspektif Islam. *Childhood Education: Jurnal Pendidikan Anak Usia Dini*. Vol. 1. No. 2 : 96-107.
- Rosita, Binakada, I. M. C., dan Kusnan, A. 2021. Pengaruh Motivasi Kerja, Disiplin Kerja dan Gaya Kepemimpinan Terhadap Kinerja Petugas Kesehatan Dalam Penanggulangan Kanker Payudara Tahap Deteksi Dini. *Jurnal Nursing Update*. Vol. 12. No. 3: 17-26.
- Roudotuljannah, Y., dan Azizah, N. 2019. Studi Etnofarmasi Tumbuhan Yang Berkhasiat Obat di Kampung Adat Cireundeu. *HERBAPHARMA: Journal of Herb Farmacological*, Vol. 1. No. 2 : 44-51.
- Ruriasri C, Y. A., Susanti, R., dan Nugrahaningih, W. H. 2021. Identifikasi Senyawa Bioaktif Moringa Oleifera Lam. Sebagai Antioksidan Melalui Lignan Pada Mammalian Target Of Rapamycin (Mtor) Pathway Untuk Prediksi Pencegahan Stunting Secara In Silico. *Prosiding Semnas Biologi*, 256–261.
- Sadiah, I., Indianto, R., dan Cahyana, Y. 2022. Karakteristik Dan Senyawa Fenolik Mikrokapsul Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera*) Dengan Kombinasi Maltodekstrin Dan Whey Protein Isolat. *Jurnal Teknologi Industri Pertanian*. Vol. 32. No. 3 : 273–282.
- Saputri, G. A. R., Marcellia, S., dan Eldianta, D. O. 2021. Uji larvasida Ekstrak Etanol Batang Pepaya (*Carica papaya* L.) Terhadap Larva *Aedes aegypti*. *Jurnal Ilmu Kedokteran Dan Kesehatan*, Vol. 8. No. 4 : 398-405.
- Saragih, S. H. Y., dan Sinta, M. M. 2018. Induksi Mutasi Pada Bunga Matahari (*Helianthus annuus* L) Melalui Iradiasi Sinar Gamma. *Jurnal Agroplasma*, Vol. 5. No. 1 : 25-29.

- Sari, D. I., dan Triyasmono, L. 2017. Rendemen dan Flavonoid Total Ekstrak Etanol Kulit Batang Bangkal (*Nauclea subdita*) dengan Metode Maserasi Ultrasonikasi. *Jurnal Pharmascience*, Vol. 4. No. 1 : 48-53.
- Sartika, Y., Alimuddin, A. H., dan Rudiyanasyah. 2017. Karakterisasi Senyawa Klorofil pada Daun Langsung (*Lansium domesticum* Corr.). *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, Vol. 6. No. 1 : 73–81.
- Sasmito, W. A., Wijayanti, A. D., Fitriana, I., dan Sari, P. W. 2017. Pengujian Toksisitas Akut Obat Herbal Pada Mencit Berdasarkan Organization For Economic Co-Operation And Development (OECD). *Jurnal Sain Veteriner*, Vol. 33. No. 2 : 234–239.
- Serlahwaty, D., dan Sevian, A. N. 2016. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 96% Kombinasi Buah Strawberry dan Tomat dengan Metode ABTS. In *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*, Vol. 3. No. 1 : 322-330.
- Setyorini, S. D., dan Yusnawan, E. 2016. Peningkatan Kandungan Metabolit Sekunder Tanaman Aneka Kacang Sebagai Respon Cekaman Biotik. *Iptek Tanaman Pangan*, Vol. 11. No. 2 : 167-174.
- Sheliya, K. G., and Syah, K. V. 2013. Ultra Performance Liquid Chromatography (UPLC) : A Modern Chromatography Technique. *Pharma Science Monitor An International Journal Of Pharmaceutical Sciences*. Vol. 4. No. 3 : 78-99.
- Sholekah, F. F. 2017. Perbedaan Ketinggian Tempat Terhadap Kandungan Flavonoid dan Beta Karoten Buah Karika (*Carica pubescens*) Daerah Dieng Wonosobo. In *Prosiding Seminar Nasional Pendidikan Biologi Dan Biologi*. Vol. 2. No. 1 : 75-82.
- Sholihah, M., Ahmad, U., dan Budiastra, I. W. 2017. Application Of Ultrasonic Wave To Increase Extraction Yield and Effectiveness Of Antioxidant From *Mangosteen Rind*. *Jurnal Keteknikan Pertanian*. Vol. 5. No. 2 : 1-11.
- Silalahi, M. 2016. Studi Etnomedisin di Indonesia dan Pendekatan Penelitiannya. *Jurnal Dinamika Pendidikan*, Vol. 9. No. 3 : 117-124.
- Silalahi, M. 2019. Kencur (*Kaempferia galanga*) dan Bioaktivitasnya. *Jurnal Pendidikan Informatika dan Sains*. Vol. 8. No. 1 : 127-142.
- Simamora, A. N., dan Wening, S. 2021. Kajian Metabolit Sebagai Pendukung Program Pemuliaan Kelapa Sawit. *WARTA Pusat Penelitian Kelapa Sawit*, Vol. 26. No. 3 : 162-177.

- Sinaga, B., Sondak, E. S., dan Ningsih, A. W. 2024. Pengaruh Metode Pengeringan Terhadap Kualitas Simplisia Daun Jambu Biji Merah (*Psidium guajava* L.). *Jurnal Jamu Kusuma*. Vol. 1 No. 2 : 112-120.
- Siska, S., dan Kustiawan, P. M. 2022. Kajian Etnofarmasi Tumbuhan Obat Berkhasiat Sebagai Antihipertensi Di Desa Muara Gusik, Kutai Barat. *Lambung Farmasi: Jurnal Ilmu Kefarmasian*, Vol. 3. No. 2 : 88-93.
- Slattery, M. L., Mullany, L. E., Sakoda, L. C., Wolff, R. K., Samowitz, W. S., and Herrick, J. S. 2018. The MAPK-Signaling Pathway in Colorectal Cancer: Dysregulated Genes and Their Association with Micrnas. *Cancer Informatics*, Vol. 17. No. 1 : 1-12.
- Stelzer, G., Rosen, N., Plaschkes, I., Zimmerman, S., Twik, M., Fishilevich, S., Iny Stein, T., Nudel, R., Lieder, I., Mazor, Y., Kaplan, S., Dahary, D., Warshawsky, D., Guan-Golan, Y., Kohn, A., Rappaport, N., Safran, M., and Lancet, D. 2016. The Genecards Suite: From Gene Data Mining To Disease Genome Sequence Analyses. *Current Protocols In Bioinformatics*, Vol. 1. No. 1 : 1-33.
- Stoian, M., State, N., Stoica, V., and Radulian, G. 2014. Apoptosis in Colorectal Cancer. *Journal of Medicine and Life*, Vol. 7. No. 2 : 160-164.
- Sudarmawan, I. H., Dlidir, D., Mudigno, A., dan Budiani, D. R. 2010. The Effect of Ethanolic and Petroleum Ether Fractions of Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia*) Bulb Extract On Expression Of P53 Mutant In Breast Cancer Cell Line T47D. *Biofarmasi Journal Of Natural Product Biochemistry*. Vol. 8. No. 1 : 17-26.
- Sukohar, A., dan Arisandi, R. 2016. Seledri (*Apium graveolens* L.) Sebagai Agen Kemopreventif Bagi Kanker. *Majority*. Vol. 5. No. 2 : 95-100.
- Susanti, A. D., Ardiana, D., dan Gumelar P. G. 2012. Polaritas Pelarut Sebagai Pertimbangan dalam Pemilihan Pelarut untuk Ekstraksi Minyak Bekatul dari Bekatul Varietas Ketan (*Oriza sativa* glatinosa). *Simposium Nasional*. Vol 1. No. 1 : 8-14.
- Syafrida, M., Darmanti, S., dan Izzati, M. 2018. Pengaruh Suhu Pengeringan Terhadap Kadar Air, Kadar Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Daun dan Umbi Rumput Teki (*Cyperus rotundus* L.). *Bioma : Berkala Ilmiah Biologi*. Vol. 20. No. 1 : 44-50.
- Syahputra, G., Ambarsari L, dan T, S. 2014. Simulasi Docking Kurkumin Enol, Bisdemetoksikurkumin Dan Analognya Sebagai Inhibitor Enzim12-Lipoksigenase. *Journal Biofisika*, Vol. 10. No. 1 : 55-67.
- Szklarczyk, D., Gable, A. L., Nastou, K. C., Lyon, D., Kirsch, R., Pyysalo, S., Doncheva, N. T., Legeay, M., Fang, T., Bork, P., Jensen, L. J., and Mering,

- C. Von. 2021. The String Database In 2021 : Customizable Protein – Protein Networks, And Functional Characterization Of User-Uploaded Gene / Measurement Sets. *Nucleic Acids Research*, Vol. 49. No. 1 : 605–612.
- Tzima, K., Brunton, N. P., and Rai, D. 2018. Qualitative and Quantitative Analysis of Polyphenols in Lamiaceae Plants. *Plants*. Vol. 7. No. 2 : 1–30.
- Ulfa, A. M. A., Herdwiani, W., dan Purwidyaningrum, I.. 2021. Kajian Literatur Aktivitas Antikanker Tanaman Bunga Matahari (*Helianthus annuus L*) Terhadap Berbagai Kultur Sel Kanker. *Jurnal Farmasi Medica/Pharmacy Medical Journal (PMJ)*, Vol. 4 No. 2. Hal : 73-82.
- Wadhawan, M., Chhabra, V., Katiyar, A., Sharma, V., Khuntia, B. K., Rathore, S., Kaur, P., and Sharma G. 2021. A Network Pharmacology-Based Approach To Explore Therapeutic Mechanism Of Indian Herbal Formulation Nisha Amalaki In Treating Type 2 Diabetes Mellitus. *Research Square*, Vol. 1. No. 1 : 1-30.
- Wardaniati. I., dan Yanti. Y. 2018. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Propolis Lebah Trigona (*Trigona itama*) Menggunakan Metode DPPH. *Journal of Pharmacy and Science*. Vol. 2. No. 1 : 14-21.
- Warsito, M. F. 2018. Analisis Metabolomik: Metode Modern dalam Pengujian Kualitas Produk Herbal. *Biotrends*, Vol. 9. No. 2 : 38-47.
- [WHO] World Health Organization, 2023. *Colorectal Cancer*. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/colorectal-cancer> diakses Juli 2024.
- Wusnah, W., Bahri, S., dan Hartono, D. 2020. Proses Pembuatan Bioetanol dari Kulit Pisang Kepok (*Musa acuminata* BC) Secara Fermentasi. *Jurnal Teknologi Kimia Unimal*, Vol. 8. No. 1 : 48-56.
- Yasmin, R., Mafiroh W.U., Kinasih, A., Ramadhani, A.N., Putri, R., dan Semiarti, E. 2022. Potential Of Anti-Cancer And Antimicrobial In Orchid Based On Prediction Of Activity Spectra For Substances (Pass) Online. *Journal Of Agromedicine And Medical Sciences*, Vol. 8. No. 1 : 25-33.
- Yi, F., Li, L., Xu, L. Jia, Meng, H., Dong, Y. Mao, Liu, H. Bo, and Xiao, P. Gen. 2018. In Silico Approach In Reveal Traditional Medicine Plants Pharmacological Material Basis. *Chinese Medicine (United Kingdom)*, Vol. 13. No. 1 : 1–20.
- Yusmaidi, Y., Rafie, R., Nur, M., dan Nabilah, B. 2020. Derajat Toksisitas Trombosit pada Penderita Kanker Kolorektal yang Mendapat Kemoterapi CapeOX. *Jurnal Ilmiah Kesehatan Sandi Husada*, Vol. 9. No. 1 : 313-320.

- Zainal, T.H., Wahyudin, E., dan Rifai, Y. 2018. Penetapan Kurva Standar Senyawa Tetra Hidroxy Ethyl Disulphate (THES) dalam Plasma Marmut (*Cavia porcellus*) Menggunakan KCKT. *Majalah Farmasi dan Farmakologi*. Vol. 22. No. 3 : 90-92.
- Zaini, N. S. M., dan Mohd, R. A. 2022. Kajian Tematik Konsep Makanan Berdasarkan Tumbuhan Dalam Ayat 99 Surah Al-An'am Berdasarkan Kitab Tafsir Mafatihul Ghayb. *Ma'ālim al-Qur'ān wa al-Sunnah*, Vol. 18. No. 2 : 176-190.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil determinasi tumbuhan *Helianthus annuus* L.



**PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR
DINAS KESEHATAN
UPT MATERIA MEDICA BATU**

Jalan Lahor No.87 Telp. (0341) 593396
KOTA BATU 65313

Nomor : 074/400/102.7/2017
Sifat : Biasa
Perihal : Determinasi Tanaman Bunga Matahari

Memenuhi permohonan saudara :

Nama : JAUZA ULFAH
NIM : 14670013
Instansi : JURUSAN FARMASI, FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU-ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG

1. Perihal determinasi tanaman bunga matahari
 - Kingdom : Plantae (Tumbuhan)
 - Subkingdom : Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
 - Super Divisi : Spermatophyta (Menghasilkan biji)
 - Divisi : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
 - Kelas : Magnoliopsida
 - Bangsa : Asterales
 - Suku : Asteraceae
 - Marga : Helianthus
 - Jenis : *Helianthus annuus* L.
 - Nama Umum : Bunga matahari, sunflower, mirasol, xiang ri kui, himawari, koujitsuki.
 - Kunci Determinasi : 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14a-15a-109b-119b-120a-121a-122a.
2. Morfologi : Habitus: Terna semusim, tinggi 3-5 m tergantung varietasnya. Batang: Ditumbuhi rambut kasar, tegak; jarang bercabang. Daun: Tunggal, lebar, hijau. Bunga: Majernuk, terdapat dua tipe bunga: bunga tepi atau bunga lidah yang membawa satu kelopak besar berwarna kuning cerah dan steril, dan bunga tabung yang fertil dan menghasilkan biji, bunga tabung jumlahnya bisa mencapai 2000 kuntum dalam satu tandan bunga. Buah: Buah kurung (achene), buah kering ber dinding agak keras dan tak terlalu tebal ini sering disangka 'biji' bunga. Biji: Biji yang sesungguhnya terletak di dalam, terlindung oleh buah yang serupa tempurung. Akar: Tunggang, putih kotor.
3. NamaSimplisia : Helianthii annii Herba / Herba Bunga Matahari.
4. Kandungan kimia : Saponin dan tannin.
5. Penggunaan : Penelitian.
6. Daftar Pustaka
 - Anonim, <http://www.plantamor.com/index.php?plant=661>, diakses 11 Desember 2010.
 - Syamsuidayat, Sri Sugati dan Hutapea, Johny Ria. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia I*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.
 - Van Steenis, CGGJ. 2008. *FLORA: untuk Sekolah di Indonesia*. Pradnya Paramita, Jakarta.

Demikian surat keterangan determinasi ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.



Lampiran 2. Sertifikat mutu pengujian sampel daun bunga matahari



PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR
DINAS KESEHATAN
UPT LABORATORIUM HERBAL MATERIA MEDICA BATU
Jl. Lahor No. 87 Telp/Fax. (0341) 593396 KOTA BATU



SERTIFIKAT PRODUKSI DAN PENJAMINAN MUTU SIMPLISIA

No. 400.7.21.4/1676/102.20/2024

PRODUKSI

TANGGAL PENERIMAAN : 28 MEI 2024
NAMA TANAMAN OBAT : BUNGA MATAHARI (*Helianthus annuus L*)
NOMOR BETS : 240528.BMT.F.BTU.459.176
BERAT TANAMAN OBAT : 3,5 KG
FOTO TANAMAN OBAT :



PENGUJIAN MUTU

ORGANOLEPTIK : DAUN LEBAR, MEMILIKI TANGKAI PANJANG, BATANG DAN DAUN BERBULU.
ORGANOLEPTIK SIMPLISIA : -
SUSUT PENGERINGAN : 5,7%

Batu, 31-05-2024

Kepala UPT Laboratorium Herbal Materia Medica Batu

HASIL SETELAH SORATASI BASAH : TIDAK ADA GULMA / BAHAN ASING
SUMBER AIR PENCUCIAN : SUMUR
PROSES PENCUCIAN : AIR MENGALIR
FREKUENSI PEMBILASAN : 3 KALI
ALAT PENGUBAHAN BENTUK : PISAU
HASIL SETELAH PENGUBAHAN BENTUK : UKURAN TIDAK SERAGAM
TANGGAL MULAI PENGERINGAN : 28 MEI 2024
METODE PENGERINGAN : OVEN
SUHU : OVEN = 50°C
TANGGAL SELESAI PENGERINGAN : 29 MEI 2024
BERAT SIMPLISIA : 0,51 KG
FOTO SIMPLISIA :



HASIL SETELAH SORTASI KERING : TIDAK ADA BAHAN ASING SIMPLISIA KERING KESELURUHAN
RENDEMENT : 14,6%

- UU ITE No 11 Tahun 2008 Pasal 5 Ayat 1
" Informasi Elektronik dan/atau Dokumen Elektronik dan/atau hasil cetaknya merupakan alat bukti hukum yang sah. "
- Dokumen ini telah ditandatangani secara elektronik menggunakan sertifikat elektronik yang diterbitkan BSRtE



Lampiran 3. Perhitungan rendemen ekstrak etanol 96% daun bunga matahari

Diketahui:

$$\begin{aligned}\text{Bobot cawan kosong} &= 42,63 \text{ gram} \\ \text{Bobot cawan kosong + ekstrak} &= 57,36 \text{ gram} \\ \text{Bobot ekstrak} &= (\text{Bobot cawan kosong + ekstrak}) - \text{Bobot} \\ &\quad \text{cawan kosong} \\ &= 57,36 \text{ gram} - 42,63 \text{ gram} = 14,73\%\end{aligned}$$

Ditanya: % Rendemen ?

Jawab:

$$\begin{aligned}\% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{Bobot ekstrak}}{\text{Bobot sampel}} \times 100\% \\ &= \frac{14,73 \text{ gram}}{100 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 14,73\%\end{aligned}$$

Lampiran 4. Dokumentasi penelitian

L.4.1 Preparasi sampel daun *Helianthus annuus* L.



Daun bunga matahari segar



Pengeringan daun bunga matahari

L.4.2 Pengujian kadar air serbuk daun bunga matahari



Hasil pengujian kadar air replikasi 1



Hasil pengujian kadar air replikasi 2



Hasil pengujian kadar air replikasi 3

L.4.3 Ekstraksi



Pelarutan serbuk simplisia dengan etanol 96% (perbandingan 1:10)



Instrumen *Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE)



Penyaringan filtrat menggunakan vakum



Pemekatan ekstrak dengan instrumen rotary evaporator



Instrumen oven untuk mengeringkan ekstrak



Pasta ekstrak daun bunga matahari



Penyaringan ekstrak daun bunga matahari



Penimbangan cawan porselen
kosong



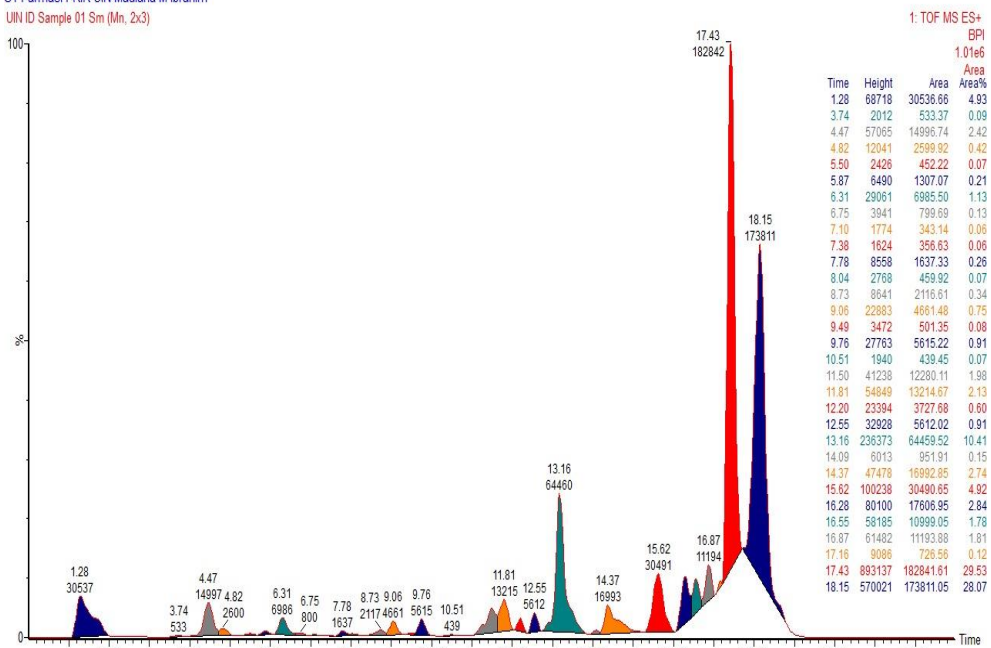
Penimbangan hasil ekstrak daun
bunga matahari

L.4.4 Pemprofilan metabolite dengan UPLCMS/MS



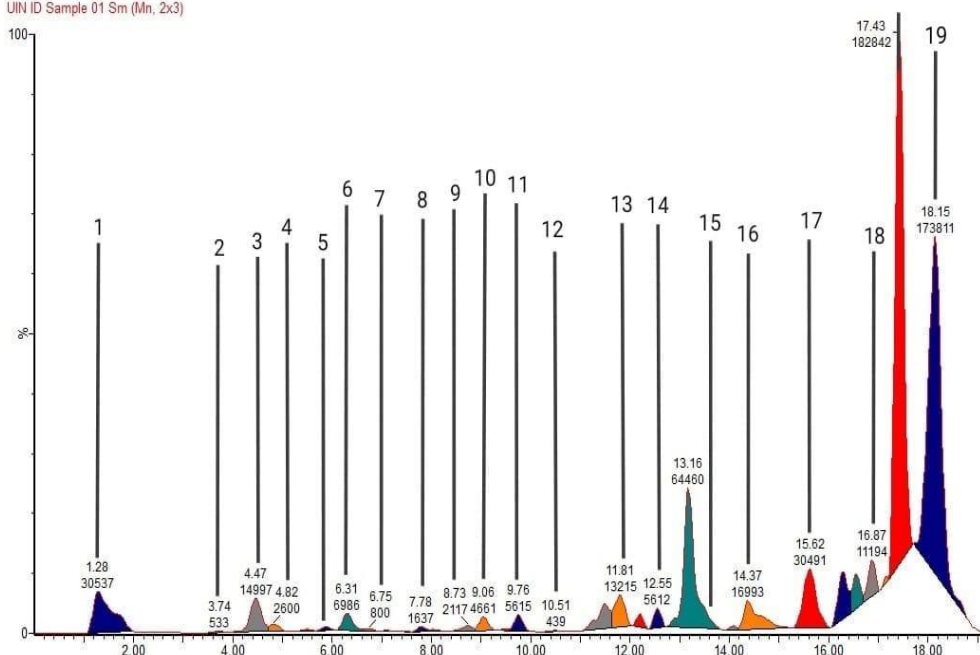
Seperangkat instrumen UPLC-MS/MS

S1 Farmasi FKIK UIN Maulana M Ibrahim
UIN ID Sample 01 Sm (Mn, 2x3)



Kromatogram sampel hasil pemisahan UPLC-MS/MS

S1 Farmasi FKIK UIN Maulana M Ibrahim
UIN ID Sample 01 Sm (Mn, 2x3)



Analisis *peak* senyawa kromatogram sampel hasil pemisahan UPLC-MS/MS

L.4.5 Penentuan mekanisme molekuler dengan network farmakologi

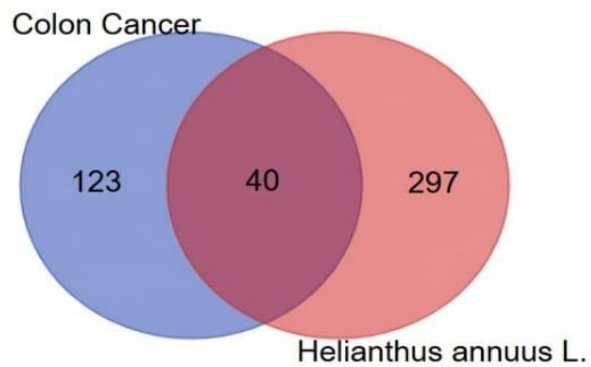
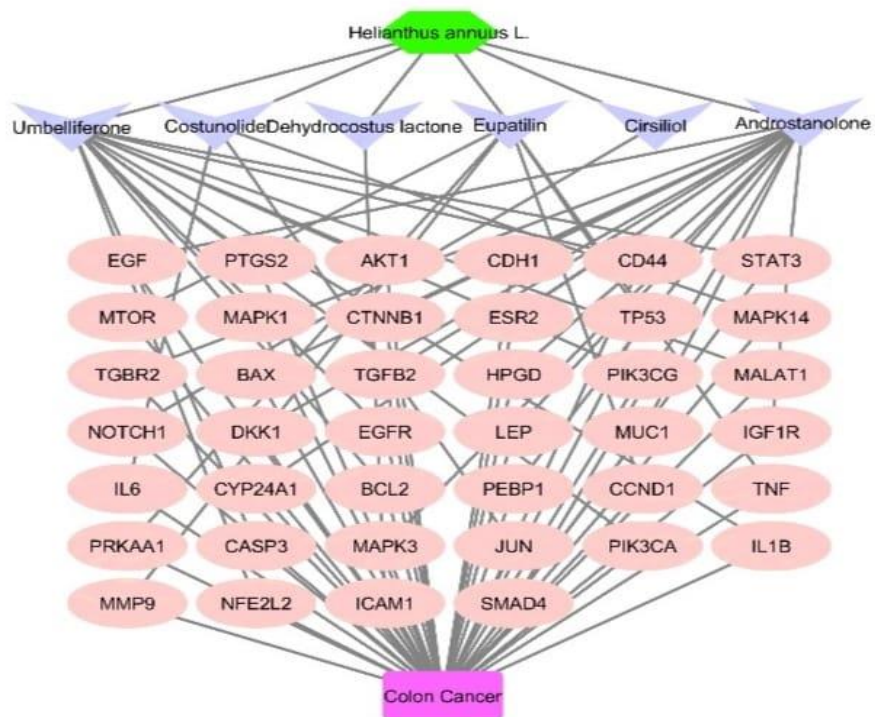
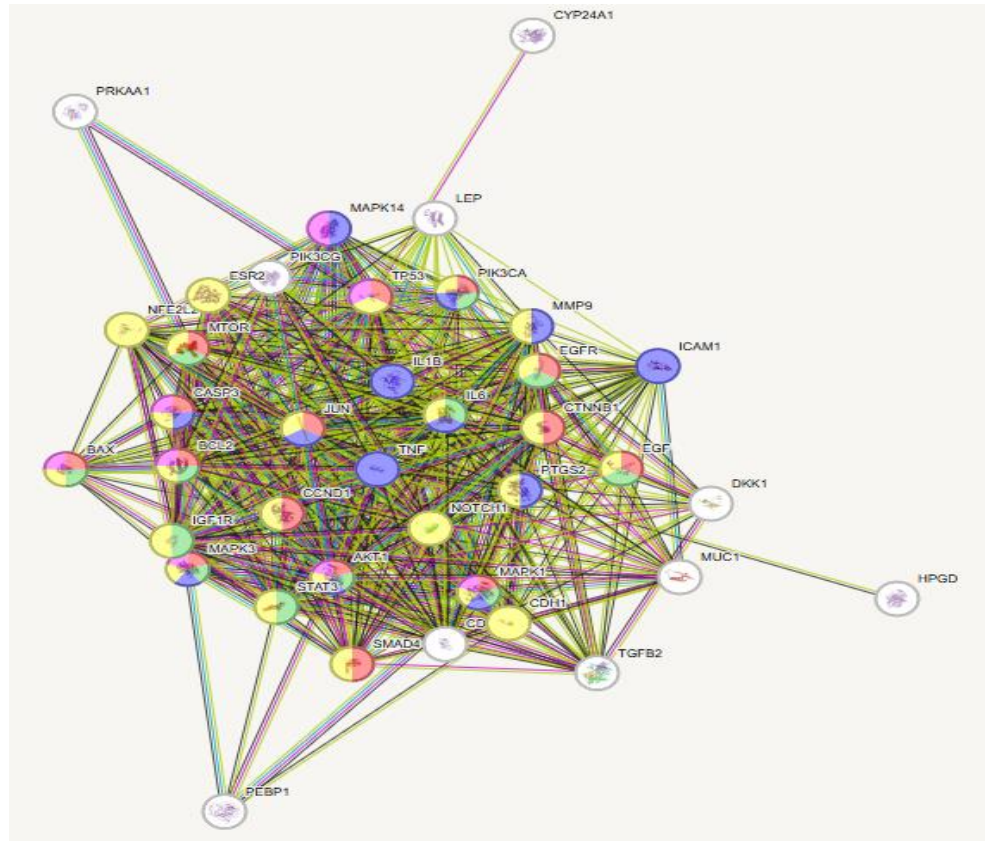


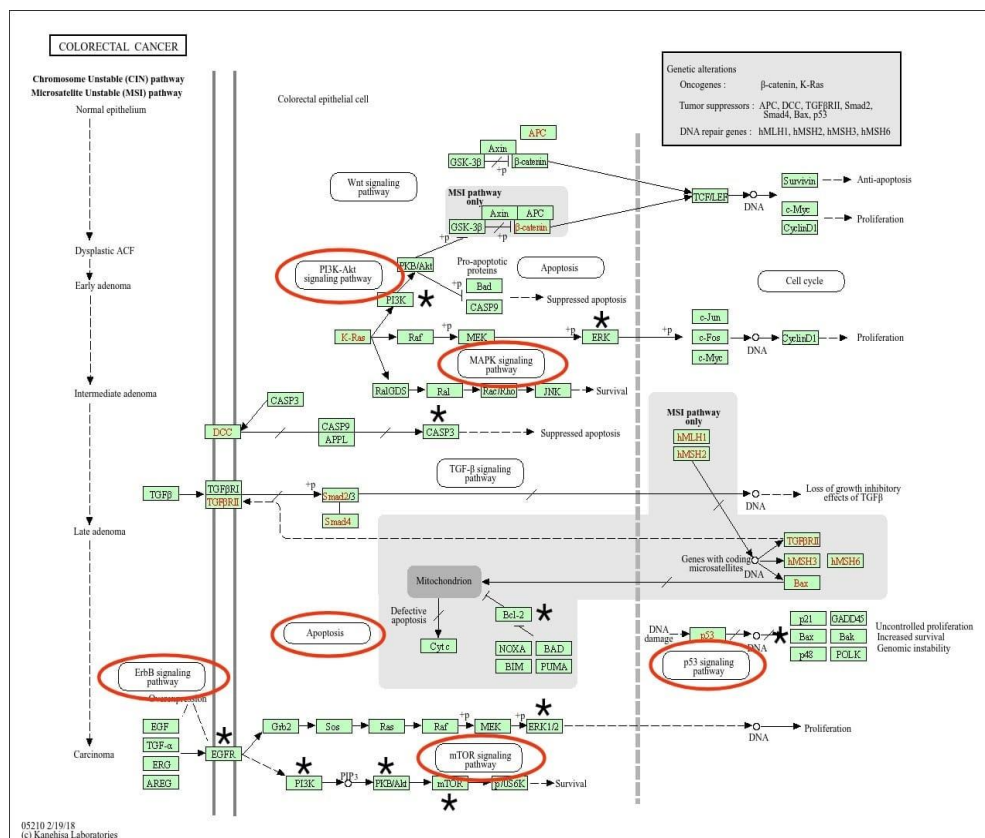
Diagram venn yang menunjukkan keterkaitan antara gen target tanaman dan gen target pada penyakit kanker kolon



Visualisasi *network pharmacology* melalui *Cytoscape*



Visualisasi jejaring interaksi protein-protein antar gen dengan *STRING*



Colorectal Cancer Pathway (hsa01520)