

## **Efektivitas Ekstrak Daun Eceng Gondok *Eichhornia crassipes* Sebagai Bahan Antikanker pada Sel Tumor MCF-7 dengan Metode *In Vitro* dan *In Silico***

**Eva Johannes<sup>1\*</sup>, Andi Ilham Latunra<sup>1</sup>, Mustika Tuwo<sup>1</sup>, Sry Sukmawaty<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,  
Universitas Hasanuddin, Makassar 90245 Indonesia*

*\*E-mail: evajohannes@gmail.com*

---

### **Abstract**

*The use of water hyacinth *Eichhornia crassipes* bioactive compounds has been developed, including as an anti-cancer base material. This study aims to examine the potential of water hyacinth leaf extract on MCF-7 tumor cells with the MTT method and the affinity of the water hyacinth leaf compound using molecular docking methods. The results showed the effect of water hyacinth leaf extract on MCF-7 cancer cell death due to the active compounds stigmasterol and phytol, while the docking results showed the best binding affinity value on stigmasterol and its receptor IQR1 which was -9.4.*

*Keywords: bioactive compound; n-hexane; methanol; molecular docking*

---

### **PENDAHULUAN**

Kanker merupakan penyebab kematian nomor 2 di dunia (Global Burden of Disease Cancer Collaboration, 2017) data terbaru oleh IARC (*Internasional Agency for Research on Cancer*) pada tahun 2018 diperkirakan penderita meningkat menjadi 18,1 juta kasus dan 9,6 juta mengalami kematian akibat kanker, berdasarkan data tersebut juga menunjukkan salah satu jenis kanker yang paling banyak didiagnosis pada tahun 2018 yaitu kanker payudara. Kanker payudara adalah kanker wanita yang paling sering terjadi dengan 2.4 juta kasus, kanker ini juga merupakan penyebab utama kematian dan kecacatan bagi wanita (Alshammari, 2019).

Berbagai jenis pengobatan kanker telah banyak dilakukan seperti operasi dan kemoterapi tetapi pengobatan ini memberikan efek samping (Greenwell and Rahman, 2015), karena efek samping yang ditimbulkan beberapa penelitian mulai diarahkan pada komponen bioaktif tanaman untuk mempelajari aktivitas anti-kanker (Mahmoud and Abdelrazek, 2019). Hal inilah yang menjadi dasar dilakukannya berbagai penelitian untuk menemukan bahan aktif alami dan lebih aman yang berasal dari tanaman, salah satu tumbuhan yang memiliki potensi yaitu Eceng gondok (*Eichhornia crassipes*) (Lenora *et al.*, 2015). Potensi ekstrak daun eceng gondok (*Eichhornia crassipes*) sebagai anti-kanker dilakukan secara *in vitro* dan didukung pada pengujian *in silico* untuk menentukan aktivitas bahan kimia atau mengetahui interaksi antara suatu senyawa dengan molekul target kemudian dapat divisualisasikan dengan metode komputasi dan dapat digunakan untuk mengetahui pharmacophore dari suatu senyawa (Ekins *et al.*, 2007; Hasselgren *et al.*, 2019).

## **METODE PENELITIAN**

### **Preparasi Sampel**

Daun eceng gondok yang telah dikumpulkan dari danau Universitas Hasanuddin Makassar dibersihkan kemudian dikeringanginkan selama kurang lebih 10 hari, daun selanjutnya dihaluskan hingga menjadi serbuk kasar.

### **Ekstraksi**

Serbuk kasar diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan metanol 96% selama 24 jam pada suhu ruang dan dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali, setiap ekstrak metanol disaring lalu diuapkan hingga kering menggunakan *rotary evaporation*. Selanjutnya ekstrak kental metanol disuspensikan kedalam pelarut n-heksana lalu dimasukkan ke dalam corong pisah, dikocok dan didiamkan selama 24 jam, kemudian dikeluarkan dari corong pisah hasil dari fraksinasi n-heksan, sedangkan metanol yang masih berada dalam corong pisah ditambahkan n-heksan ini dilakukan sebanyak 3 kali. Hasil fraksinasi tersebut kemudian diupkan kembali menggunakan *rotary evaporation*.

### **Efektivitas Anti-kanker MCF-7 dengan Metode MTT**

Thawing sel MCF-7 dengan mengeluarkan kultur dari *freezer* dan dipindahkan ke dalam *conical tube* lalu disentrifus pada kecepatan 1800 rpm selama 5 menit dan dilakukan sebanyak 2 kali. Sel dipindahkan ke *tissue culture dishes* diamati dibawa mikroskop, dan dipanen selama fase eksponensial. Tahapan pemanenan dimulai dengan membuang media kultur terlebih dahulu, lalu diinkubator selama 5 menit, ditambahkan 5 mL RPMI steril lalu di homogenkan dilakukan sebanyak 3 kali untuk mengumpulkan supernatan dan penambahan *trypan blue* lalu diinkubasi selama 5 menit. Penambahan media RPMI 5 mL untuk menginaktivkan sel serta dilakukan resuspensi, diamati di bawah mikroskop, diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam hingga sel konfluen 80%, dilakukan perhitungan dengan menggunakan *counter cell*.

Sel diletakkan pada media 10 mL RPMI ke dalam *plate 96-well* kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C untuk mendapatkan pertumbuhan yang baik, pembuatan larutan dengan cara menimbang sampel ekstrak pekat 10 mg dalam wadah yang berbeda, dilarutkan masing – masing 100 µL DMSO (*dimethyl sulfoxide*) dilakukan pencucian dengan 100 uL PBS. (*Phosphate Buffered Saline*) Memasukkan larutan sampel sebanyak 100 µL dengan konsentrasi 0,1, 1, 10, 100, dan 1000 ppm dengan 3 kali ulangan dan diinkubasi dalam suhu 37°C selama 24 jam, lalu media sel dan ekstrak dibuang dan sel dicuci dengan PBS. Pemberian 100 uL media kultur dan 10 µL larutan reagen MTT 3-(4-5 *dimethylthiazol-2-yl*)-2,5-difenil tetrazolium bromide 5mg/mL ke setiap sumuran lalu dilakukan inkubasi selama 4 jam pada suhu 37°C hingga membentuk kristal, untuk menghentikan reaksi MTT maka digunakan reagen *stopper* dengan menambahkan 50 µL SDS (*Sodium Dodecyl Sulphate*) 10%, serapan dibaca dengan *Enzyme Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) panjang gelombang 570 nm.

### **Uji In Silico**

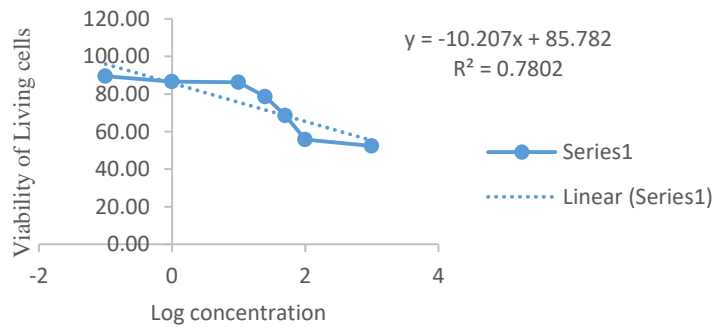
Persiapan struktur kimia daun eceng gondok (*Eichhornia crassipes*) yang didapatkan dari literature yaitu *Phytol* dan *Stigmasterol* (Tyagi and Agarwal, 2017), struktur 3D dan Conical SMILES dari senyawa di dapatkan dari database PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>). Struktur didownload dalam bentuk SDF dan diubah dalam forat PDB menggunakan BIOVIA Discovery, selanjutnya dilakukan validasi pada protein dengan menggunakan Uniprot (<https://www.uniprot.org>). Percobaan docking molekular dilakukan dengan menggunakan software PyRx 0,8, interaksi antara reseptor dan ligan dianalisis oleh AutoDock *Vina Wizard* kemudian divisualisasikan menggunakan PyMol. Alat berbasis kemoinformatika digunakan untuk memprediksi penyerapan, metabolisme, ekskresi, dan toksisitas senyawa tertentu. prediksi senyawa dengan ADMET prediksi ([www.swissadme.ch](http://www.swissadme.ch)).

**Analisis Data**

Potensi senyawa aktif hasil ekstrak daun eceng gondok (*Eichhornia crassipes*) terhadap *Artemia salina* dianalisis dengan LC<sub>50</sub> sedangkan sel tumor payudara MCF-7 dianalisis dengan IC<sub>50</sub>.

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

Hasil pengujian dan analisis ekstrak daun *Eichhornia crassipes* terhadap sel kanker MCF-7 dapat dilihat pada grafik hubungan antara log konsentrasi dengan jumlah sel hidup yang dapat dilihat pada grafik berikut:



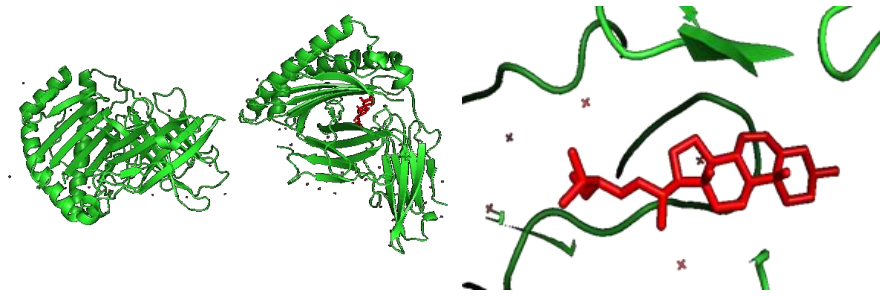
**Gambar 1.** Grafik Hubungan Log Konsentrasi dan Jumlah Sel Hidup

Berdasarkan gambar 1 menunjukkan bahwa adanya penurunan jumlah sel hidup dengan semakin meningkatnya konsentrasi pada ekstrak daun *Eichhornia crassipes* dengan konsentrasi hambat atau IC<sub>50</sub> yaitu sebesar 9,876.908 µg/mL. Hasil analisis data yang diperoleh menunjukkan aktivitas sitotoksik yang rendah terhadap sel kanker payudara MCF-7 dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 9,876.908 µg/mL, karena adanya stigmasterol pada daun *Eichhornia crassipes* yang berpotensi sebagai anti-kanker (Tyagi and Agarwal, 2017). Stigmasterol mempengaruhi proses transduksi seluler dan pensinyalan pada sel kanker, mekanisme kerja stigmasterol dengan mengaktifkan caspase dan kemudian menginduksi ekspresi gen P53 dan gen Bax serta menurunkan Bcl-2 sebagai pro-apoptosis (Bradford and Awad, 2007), akibat stigmasterol siklus sel akan berhenti pada *checkpoint* G<sub>2</sub>/M dari siklus sel kemudian masuk ke G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> sehingga sel yang rusak akan mengalami apoptosis (Kim *et al.*, 2014; Al-Fatlawi, 2019). Sitotoksitas ekstrak daun *Eichhornia crassipes* yang rendah terhadap sel MCF-7 diduga karena ekstrak daun *Eichhornia crassipes* yang masih berupa ekstrak kasar sehingga masih terdapat senyawa-senyawa lain yang diduga bersifat antagonis terhadap sitotoksitasnya, menurut (Yudi and Nugroho, 2016) sitotoksitas ekstrak terhadap sel kanker dapat meningkat apabila senyawa potensial dipisahkan dari senyawa-senyawa lain yang bersifat antagonis.

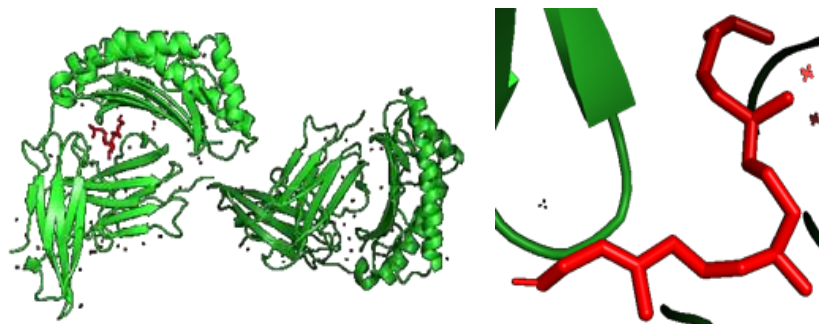
**Tabel 1.** Binding Affinity Ekstrak Daun *Eichhornia crassipes*

| No. | Ligands and Target Proteins                              | Binding Affinity |
|-----|--|------------------|
| 1.  | Stigmasterol dan complement component C1q receptor       | -9.4             |
| 2.  | Phytol dan complement component C1q receptor             | -5.8             |
| 3.  | Stigmasterol dan receptor tyrosine-protein kinase erbB-2 | -9.0             |
| 4.  | Phytol dan receptor tyrosine-protein kinase erbB-2       | -5.3             |

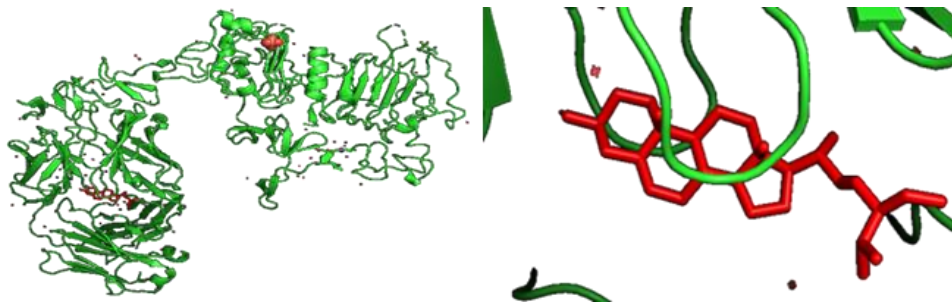
Berdasarkan *binding affinity* antara senyawa ekstrak daun *Eichhornia crassipes* dan protein target dapat divisualisasikan dengan menggunakan Pymol dan dapat dilihat pada gambar berikut:



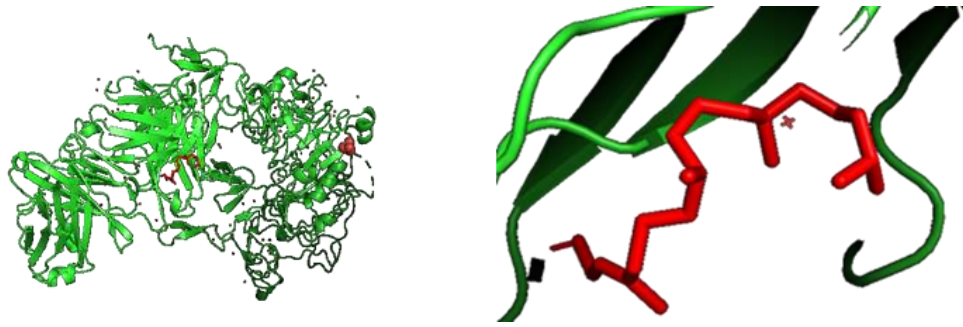
**Gambar 2.** Visualisasi interaksi hasil *docking* stigmasterol (merah) dan complement component C1q receptor atau 1QR1 (hijau)



**Gambar 3.** Visualisasi interaksi hasil *docking* phytol (merah) dan complement component C1q receptor atau 1QR1 (hijau)



**Gambar 4.** Visualisasi iInteraksi hasil *docking* stigmasterol (merah) dan receptor tyrosine-protein kinase erB-2 atau 1N8Z (hijau)



**Gambar 5.** Visualisasi interaksi hasil *docking* phytol (merah) dan receptor tyrosine-protein kinase erbB-2 atau 1N8Z (hijau)

Interaksi yang terjadi antara senyawa daun *Eichhornia crassipes* ditunjukkan dengan hasil *docking score* atau *binding affinity*, berdasarkan hasil docking diperoleh *binding affinity* terkecil antara Stigmasterol dan Complement component C1q receptor yaitu -9.4. Semakin rendah *binding affinity* maka interaksi antara ligand dan reseptor akan semakin kuat dan stabil, sehingga semakin rendah pula energi docking yang dibutuhkan (Sulfahri dkk., 2019).

Ligan senyawa *Eichhornia crassipes* memiliki sifat fisikokimia serta struktur yang dapat dijadikan sebagai obat yang aktif secara oral pada manusia selama memenuhi aturan dasar dari Lipinski Ghose, Veber, Egan dan Muegge (Thorat, 2018), berdasarkan hasil uji pada kedua senyawa *Eichhornia crassipes* yaitu stigmasterol dan phytol menunjukkan nilai koefisien partisi Log P > 5, semakin besar nilai log P, maka semakin hidrofobik molekul tersebut, molekul yang memiliki sifat terlalu hidrofobik cenderung memiliki tingkat toksisitas yang tinggi karena akan tertahan lebih lama pada *lipid bilayer* dan terdistribusi lebih luas di dalam tubuh sehingga selektifitas ikatan terhadap enzim target menjadi berkurang, nilai log P yang terlalu rendah juga tidak baik karena jika molekul tersebut tidak dapat melewati membran *lipid bilayer* (Syaputra *et al.*, 2014).

Berdasarkan nilai Log P > 5 pada stigmasterol dan phytol yang merupakan senyawa pada daun *Eichhornia crassipes*, diduga menjadi salah satu penyebab rendahnya toksisitas pada pengujian sel kanker MCF-7, karena kaitannya dengan polaritas yang rendah. Meskipun memiliki polaritas yang rendah stigmasterol dan phytol masih dapat digunakan sebagai bahan dasar obat, termasuk obat antikanker karena bioavailabilitas pada kedua senyawa sebesar 0.55 skor bioavailabilitas baik digunakan sebagai bahan dasar obat ketika nilainya berkisar antara 0.50-0.55 (Begum *et al.*, 2017).

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa adanya aktivitas sitotoksik yang rendah terhadap sel kanker payudara MCF-7, ini dapat dilihat dengan menurunnya jumlah sel hidup dengan semakin meningkatnya konsentrasi pada ekstrak daun *Eichhornia crassipes* pada konsentrasi hambat atau IC<sub>50</sub> yaitu sebesar 9,876.908 µg/mL. Hasil docking antara senyawa stigmasterol dari daun *Eichhornia crassipes* dan molekul target Complement component C1q receptor diperoleh *binding affinity* terkecil dan yaitu -9.4.

## DAFTAR PUSTAKA

Al-Fatlasswi, A. A. Y., 2019. *Stigmasterol Inhibits Proliferation of Cancer Cells Via Apoptotic Regulatory Genes*. Bioscience Research. 16(1): 695-702.

- Alshammari, F. D., 2019. *Breast Cancer Genetic Susceptibility: With Focus in Saudi Arabia*. Journal of Oncological Sciences. 5(1): 6–12.
- Begum, A., Begum, S., Kvsrg, P., and Bharathi, K., 2017. *In-silico Studies on Functionalized Azaglycine Derivatives Containing 2, 4-Thiazolidinedione Scaffold on Multiple Targets*. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. 9(8): 209-215.
- Bradford, P. G., and Awad, A. B., 2007. *Phytosterols as Anticancer Compounds*. Mol. Nutr. Food Res. 51(2): 161-170.
- Ekins, S., Mestres, J., and Testa, B., 2007. *In silico Pharmacology for Drug Discovery: Methods for Virtual Ligand Screening and Profiling*. Br. J Pharmacol. 152(1): 9-20.
- Global Burden of Disease Cancer Collaboration, Fitzmaurice, C., Allen, C., et al., 2017. *Global, Regional, and National Cancer Incidence, Mortality, Years of Life Lost, Years Lived With Disability, and Disability-Adjusted Life-years for 32 Cancer Groups 1990 to 2015: A Systematic Analysis for the Global Burden of Disease Study*. JAMA Oncol. 3(1): 524-548.
- Greenwell, M., and Rahman, P. K., 2015. *Medicinal Plants: Their Use in Anticancer Treatment*. Int J Pharm Sci Res. 6(10): 4103-4112.
- Hasselgren, C., Ahlberg, E., Akahori, Y., et al., 2019. *Genetic Toxicology In silico Protocol*. Regul Toxicol Pharmacol. 107.
- Kim, Y. S., Li, X. F., Kang, K. H., Ryu, B., and Kim, S. K., 2014. *Stigmasterol Isolated From Marine Microalgae Navicula Incerta Induces Apoptosis In Human Hepatoma Hepg2 Cells*. BMB Rep. 47(8): 433-438.
- Lenora, L. M., Kumar, J. S., Murugesan, S., and Senthilkumar, N., 2015. *Anticancer Activity of Water Hyacinth Eichhornia crassipes (Mart) Solms on Human Cervical Cancer Cell Line*. Octa Journal of Environmental Research. 3(4): 327-331.
- Mahmoud, Y. K., and Abdelrazek, H. M. A., 2019. *Cancer: Thymoquinone Antioxidant/Pro-Oxidant Effect as Potential Anticancer Remedy*. Biomed Pharmacother. 115.
- Sulfahri, Iskandar, I. W, Novriyani, I., Damayanti, P., Afriani, N. A., Sukmawaty, S., Iqraini, N., Nurhikmah, Fidhatami, I. I., and Razak, R., 2019. *Potential Analysis Persea americana, Allium sativum and Ficus sepatica as Anti-Cancer Uses In-silico Docking and ADMET Prediction*. Journal of Physics: Conference Series. 1341: 1-6.
- Syaputra, G., Ambarsari, L., and Sumaryada, T., 2014. *Docking Simulation of Curcumin Enol, Bisdemetoksikurkumin and Analogs as an Inhibitor of 12-Lipoxygenase Enzyme*. Jurnal Biofisika. 10(1): 55-67.
- Thorat, B. R., 2018. *Synthese and SAR Study of 2-(4-cyano-2-methylphenoxy)acetohydrazide*. J. of Physical and Chemical Sciences. 6(3): 1-14.
- Tyagi, T., and Agarwal, M., 2017. *Phytochemical Screening and GC-MS Analysis of Bioactive Constituents in the Ethanolic of Pistia stratiotes L. and Eichhornia crassipes (Mart.) solms*. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry. 6(1): 195-206.
- Yudi, Y. H. C., dan Nugroho, H., 2016. *Sitotoksitas Fraksi Piper porphyrophyllum terhadap Sel Kanker T47D*. BIO-SITE Biologi dan Sains Terapan. 2(2): 1-50.