

**UJI AKTIVITAS EKSTRAK ETANOL DAUN SIRSAK (*Annona muricata*
Linn.) YANG DIEMBANKAN PADA ZEOLIT NaX MENGGUNAKAN
METODE IMPREGNASI KERING SEBAGAI ANTIKANKER
PAYUDARA T-47D**

SKRIPSI

Oleh:
FIFTI ZUYYINA LILBAIQ
NIM. 13630087



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
2017**

**UJI AKTIVITAS EKSTRAK ETANOL DAUN SIRSAK (*Annona muricata*
Linn.) YANG DIEMBANKAN PADA ZEOLIT NaX MENGGUNAKAN
METODE IMPREGNASI KERING SEBAGAI ANTIKANKER
PAYUDARA T-47D**

SKRIPSI

Oleh:
FIFTI ZUYYINA LILBAIQ
NIM. 13630087

Diajukan Kepada:
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S. Si)

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
2017**

**UJI AKTIVITAS EKSTRAK ETANOL DAUN SIRSAK (*Annona muricata*
Linn.) YANG DIEMBANKAN PADA ZEOLIT NaX MENGGUNAKAN
METODE IMPREGNASI KERING SEBAGAI ANTIKANKER
PAYUDARA T-47D**

SKRIPSI

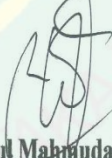
Oleh:
FIFTI ZUYYINA LILBAIQ
NIM. 13630087

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji
Tanggal: 09 November 2017

Pembimbing I


Elok Kamilah Hayati, M.Si
NIP. 19790620 200604 2 002

Pembimbing II


Rif'atul Mahaudah, M.Si
NIDT. 19830125 20160801 2 068

**Mengetahui,
Ketua Jurusan Kimia**


Elok Kamilah Hayati, M.Si
NIP. 19790620 200604 2 002

**UJI AKTIVITAS EKSTRAK ETANOL DAUN SIRSAK (*Annona muricata*
Linn.) YANG DIEMBANKAN PADA ZEOLIT NaX MENGGUNAKAN
METODE IMPREGNASI KERING SEBAGAI ANTIKANKER
PAYUDARA T-47D**

SKRIPSI

Oleh:
FIFTI ZUYYINA LILBAIQ
NIM. 13630087

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: 09 November 2017

Penguji Utama	: Rachmawati Ningsih, M.Si NIP. 19810811 200801 2 010	(.....)
Ketua Penguji	: Susi Nurul Khalifah, M.Si NIP. 19820616 200604 1 002	(.....)
Sekretaris Penguji	: Elok Kamilah Hayati, M.Si NIP. 19790620 200604 2 002	(.....)
Anggota Penguji	: Rif'atul Mahmudah, M.Si NIDT. 19830125 20160801 2 068	(.....)

**Mengesahkan,
Ketua Jurusan Kimia**

Elok Kamilah Hayati, M.Si
NIP. 19790620 200604 2 002

**SURAT PERNYATAAN
ORISINALITAS PENELITIAN**

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Fifti Zuyyina Lilbaig
NIM : 13630087
Jurusan : Kimia
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Penelitian : “Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn.) yang Diimbangkan pada Zeolit NaX Menggunakan Metode Impregnasi Kering sebagai Antikanker Payudara T-47D”

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, 13 November 2017

Yang membuat pernyataan,



Fifti Zuyyina Lilbaig

NIM. 13630087

MOTTO

إِنَّ مَعَ الْعُسْرِ يُسْرًا ﴿٦﴾

Artinya: “sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan”

Sesungguhnya Allah itu dekat. Kita mungkin mendapati sebuah persimpangan atau jalan yang berliku, tetapi bersama-Nya kita tidak akan kehilangan arah atau merasa tertipu.

Karena itu, ingatlah kamu kepada-Ku niscaya AKU ingat (pula) kepadamu, dan bersyukurlah kepada-Ku, dan janganlah kamu mengingkari (nikmat)-Ku.
(QS. Al-Baqarah: 152)

PERSEMBAHAN

Alhamdulillah, tiada kata terindah selain syukur kepada Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan hidayah-Nya sehingga saya dapat menimba sebagian dari ilmu-Nya dan dapat menyelesaikan skripsi ini. Shalawat dan salam tetap terlimpah curahkan kepada junjungan kita Nabi Muhammad SAW.

Skripsi ini penulis persembahkan untuk:

Ayahanda Ali Rokani, S.H dan Ibunda Win mudawamah, S.Ag yang senantiasa dengan ikhlas mendoakan, memberi dukungan, semangat, motivasi baik secara moril maupun material, dan memenuhi semua kebutuhan penulis dalam menuntut ilmu hingga dapat menyelesaikan tulisan ini.

Untuk adik tercinta Ichwanul Muttaqin dan Tazkiyatul Khamida, serta (Alm.) Mbah kakung H. Satar dan Mbah putri Hj. Mujayanah yang selalu memberikan doa dan motivasi kepada penulis.

Tak lupa kepada pengasuh Asrama PPAP "Nurul Ummah", Bapak Drs. H. Sabilul Rosyad dan Ibu Hj. Aminatuz Zahroh terima kasih karena telah diberi kesempatan untuk menimba ilmu di asrama. Tak lupa pula untuk seluruh teman-teman seperjuangan Antikanker Squad, Chemistry C '13, seluruh teman-teman santri PPAP Nurul Ummah (*especially my best roommate B2*), 4 Sekawan, BILDA, AHNAPIDA II, serta seluruh guru dan dosen yang memberikan dukungan, doa, dan ilmunya kepada penulis. Serta semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu persatu yang telah membantu terealisasinya skripsi ini, semoga Allah selalu melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya kepada kita semua.

Aamiin..

KATA PENGANTAR

Assalamu 'Alaikum Wr.Wb.

Alhamdulillahirobbil 'Alamin, puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan Rahmat, Taufiq dan Hidayah-NYA tiada henti dan tiada batas kepada penulis, sehingga penulis dapat menyelesaikan rangkaian penyusunan skripsi dengan judul **“Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn.) yang Diembankan pada Zeolit NaX Menggunakan Metode Impregnasi Kering sebagai Antikanker Payudara T-47D”** dengan semaksimal mungkin meskipun masih sangat banyak kekurangannya. Kami hanya berharap apa yang kami lakukan dapat menjadi bermanfaat.

Shalawat beserta salam selalu kami haturkan pada junjungan besar kita, Nabi Muhammad SAW yang karenanya kita mendapat pencerahan menuju jalan yang lurus, jalan yang diridhoi dan bukan jalan orang sesat yang dimurkai. Semoga Allah melimpahkan atas beliau, rahmat yang sesuai dengan keutamaan sebagai pahala atas amal perbuatan beliau, serta kepada semua keluarga, sahabat, para pengikut dan juga pecintanya yang senantiasa meneruskan perjuangan sampai saat ini hingga akhir zaman.

Skripsi ini dibuat untuk memenuhi satu diantara kriteria kelulusan yang ada di jurusan kimia. Skripsi ini dapat disusun karena dukungan, motivasi serta bimbingan dari berbagai pihak. Tiada kata yang patut terucap untuk menguntai sedikit makna kebahagiaan ini.

Oleh karena itu, izinkanlah penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada:

1. Kedua orang tua penulis, Bapak Ali Rokani, S.H dan Ibu Win Mudawamah, S.Ag serta saudara-saudara penulis adek Ichwanul Muttaqin, Tazkiyatul Khamida yang telah memberikan semangat penuh, nasihat, doa dan dukungan moral dan materil sehingga penyusunan skripsi dapat terselesaikan.
2. Ibu Elok Kamilah Hayati, M.Si selaku ketua jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang dan dosen pembimbing yang telah memberikan bimbingan, motivasi serta arahan kepada penulis dalam penyelesaian penulisan skripsi ini.
3. Ibu Susi Nurul Kholifah, M.Si selaku dosen konsultan dan ibu Rif'atul Mahmudah, M.Si selaku pembimbing agama, karena atas bimbingan, pengarahan, dan kesabarannya penulisan skripsi ini dapat terselesaikan.
4. Dosen Penguji Rachmawati Ningsih, M.Si, karena atas masukan dan sarannya skripsi ini bisa menjadi lebih baik.
5. Seluruh bapak ibu dosen Jurusan Kimia dan segenap Laboran dan Staf administrasi Jurusan Kimia UIN Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah mengalirkan ilmu, pengetahuan, pengalaman, wacana dan wawasannya, sebagai pedoman dan bekal bagi penulis, serta banyak membantu dalam proses penelitian.
6. Dr. Sri Harini, M.Si, selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
7. Prof. Dr. H. Abdul Haris, M.Ag, selaku rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
8. Keluarga tim riset Analitik 2017 yang membantu dalam menjalankan penelitian.

9. Teman-teman kimia angkatan 2013, *my best roommate* PPAP Nurul Ummah, keluarga Al-Husna II, Cos Alpha, BILDA, dan 4 Sekawan yang saling memotivasi dan membantu terselesaikannya skripsi ini.
10. Seluruh teman-teman mahasiswa yang ikut serta memberikan semangat dan motivasi guna untuk segera menyelesaikan proposal skripsi dengan baik.

Akhirnya atas segala kekurangan dari skripsi ini, sangat diharapkan saran dan kritik yang bersifat konstruktif dari semua pembaca demi kesempurnaan penulisan skripsi. Terlepas dari segala kekurangan, semoga skripsi ini dapat memberikan informasi dan kontribusi positif serta bermanfaat bagi kita semua. Amin.

Malang, November 2017

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
HALAMAN PERNYATAAN.....	iv
MOTTO	v
HALAMAN PERSEMBAHAN	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
ABSTRAK	xv
 BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	6
1.3 Tujuan Penelitian.....	7
1.4 Batasan Masalah	7
1.4 Manfaat Penelitian.....	8
 BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Pemanfaatan Tanaman dalam Perspektif Islam.....	9
2.2 Tanaman Sirsak (<i>Annona muricata</i> Linn.)	10
2.2.1 Morfologi dan Klasifikasi Tanaman Sirsak	10
2.2.2 Manfaat dan Kandungan Daun Sirsak.....	11
2.3 Ekstraksi Senyawa Aktif	12
2.4 Zeolit X.....	13
2.4.1 Sintesis Zeolit X	14
2.4.2 Potensi Zeolit sebagai Antikanker dan Sistem Pembawa Obat.	17
2.5 Metode Impregnasi Kering.....	18
2.6 Uji Aktivitas Antikanker secara <i>In-Vitro</i> dengan Metode MTT	21
2.7 Kanker	22
2.7.1 Kanker Payudara	22
2.7.2 Sel Kanker Payudara T-47D	23
2.8 Analisis dengan <i>Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay</i> (ELISA) Reader	23
 BAB III METODOLOGI PENELITIAN	
3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian.....	25
3.2 Alat dan Bahan	25
3.2.1 Alat	25
3.2.2 Bahan.....	25
3.3 Rancangan Penelitian	26
3.4 Tahapan Penelitian	26
3.5 Pelaksanaan Penelitian	27

3.5.1 Preparasi Sampel	27
3.5.2 Ekstraksi Senyawa Aktif Daun Sirsak dengan Maserasi	27
3.5.3 Uji Fitokimia dengan Reagen.....	28
3.5.3.1 Uji Flavonoid	28
3.5.3.2 Uji Alkaloid	28
3.5.3.3 Uji Tanin	29
3.5.3.4 Uji Triterpenoid dan Steroid	29
3.5.3.5 Uji Saponin	29
3.5.4 Pengembanan Ekstrak Etanol Daun Sirsak pada Zeolit NaX Menggunakan Metode Impregnasi Kering	29
3.5.5 Karakterisasi Hasil Impregnasi menggunakan FTIR	30
3.5.6 Uji Aktivitas Antikanker dengan Metode MTT	30
3.5.6.1 Penyiapan Sel.....	30
3.5.6.2 Penghitungan Sel Kanker.....	31
3.5.6.3 Peletakan Sel pada <i>Plate</i>	31
3.5.6.4 Pembuatan Larutan Sampel dan Pemberian Larutan Sampel pada <i>Plate</i>	32
3.5.6.5 Pemberian Larutan MTT (Reagen 3-(4,5-dimetiltiazol- 2-yl)-2,5-difeniltetrazolium bromide)	32
3.5.7 Analisis Data	33
 BAB IV PEMBAHASAN	
4.1 Preparasi Sampel	35
4.2 Ekstraksi Senyawa Aktif Daun Sirsak (<i>Annona muricata</i> Linn.)	35
4.3 Uji Fitokimia dengan Reagen	36
4.4 Pengembanan Ekstrak Etanol Daun Sirsak pada Zeolit NaX menggunakan Metode Impregnasi Kering	41
4.5 Uji Aktivitas Antikanker	45
4.6 Kajian Hasil Penelitian dalam Perspektif Islam	56
 BAB V PENUTUP	
5.1 Kesimpulan.....	62
5.2 Saran	62
 DAFTAR PUSTAKA	63
LAMPIRAN	70

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 (a) Sirsak; (b) daun; (c) bunga; dan (d) buah	10
Gambar 2.2 Struktur umum dari <i>annonaceous acetogenins</i>	12
Gambar 2.3 Struktur kimia zeolit	13
Gambar 2.4 Kerangka zeolit NaX	14
Gambar 2.5 Pola difraktogram XRD zeolit X standar	15
Gambar 2.6 Difraktogram sintesis zeolit X dari SiO_2 dan Al_2O_3	15
Gambar 2.7 Difraktogram zeolit NaY variasi rasi $\text{SiO}_2/\text{Al}_2\text{O}_3$ sebelum dan sesudah dilakukan pengembunan.....	19
Gambar 2.8 Spektra IR pada sampel : a) Zeolit NaX Mesopori, b) Ekstrak kasar daun sirsak, c) Zeolit NaX mesopori-Ekstrak kasar daun sirsak.....	20
Gambar 3.1 Tabel data	34
Gambar 4.1 Dugaan reaksi flavonoid dengan serbuk Mg dan HCl pekat	37
Gambar 4.2 Dugaan reaksi alkaloid dengan reagen Dragendorff	38
Gambar 4.3 Dugaan reaksi alkaloid dengan reagen Mayer	38
Gambar 4.4 Dugaan reaksi senyawa tanin	39
Gambar 4.5 Dugaan reaksi senyawa triterpenoid dengan reagen Liebermann-Burchard	40
Gambar 4.6 Dugaan reaksi hidrolisis saponin dalam air.....	41
Gambar 4.7 a) zeolit sebelum diimpregnasi b) zeolit setelah diimpregnasi ..	42
Gambar 4.8 Struktur senyawa aktif (a) Annomuricin A (b) Muricapentocin (c) Muricatocin C (d) Annopentocin B dalam ekstrak daun sirsak	43
Gambar 4.9 Dugaan interaksi yang terjadi antara Annomuricin A dalam ekstrak daun sirsak dengan sebagian zeolit NaX	43
Gambar 4.10 Spektra FTIR pada sampel: a) Zeolit NaX, b) Ekstrak daun sirsak, c) Hasil Impregnasi 1:10; d) Hasil Impregnasi 5:10; d) Hasil Impregnasi 10:10	44
Gambar 4.11 Morfologi sel T-47D setelah di treatment (a) Sel kontrol (b) Sel + kombinasi (5:10) konsentrasi 1000 $\mu\text{g/mL}$ (c) Sel + kombinasi (5:10) konsentrasi 15,625 $\mu\text{g/mL}$	48
Gambar 4.12 Reaksi reduksi MTT.....	49
Gambar 4.13 Transpor elektron pada proses respirasi sel.....	50
Gambar 4.14 Struktur natrium dodesil sulfat	51

DAFTAR TABEL

2.1 Data hasil perbandingan 2 theta	16
2.2 Data hasil perhitungan ukuran kristal	17
2.3 Data hasil perhitungan jarak antar kristal.....	17
2.4 Perbedaan antara Spektrofotometri UV-Vis dengan ELISA reader.....	24
4.1 Hasil maserasi ekstrak etanol daun sirsak (<i>Annona muricata</i> Linn.).....	36
4.2 Data hasil uji fitokomia dengan reagen.....	37
4.3 Interpretasi spektra FTIR sampel zeolit NaX dan hasil pengembangan	45
4.4 Nilai IC ₅₀ uji aktivitas antikanker	54



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Tahapan Penelitian.....	70
Lampiran 2 Skema kerja.....	71
L.2.1 Preparasi Sampel	71
L.2.2 Ekstraksi Komponen Aktif.....	71
L.2.3 Uji Fitokimia dengan Reagen	72
L.2.3.1 Uji Flavonoid.....	72
L.2.3.2 Uji Alkaloid	72
L.2.3.3 Uji Tanin	73
L.2.3.4 Uji Saponin	73
L.2.3.5 Uji Triterpenoid atau Steroid.....	73
L.2.4 Pengembanan Ekstrak Etanol Daun Sirsak pada Zeolit NaX Menggunakan Metode Impregnasi Kering.....	74
L.2.5 Uji Aktivitas Antikanker Metode MTT	75
L.2.5.1 Penyiapan Sel	75
L.2.5.2 Penghitungan Sel Kanker	75
L.2.5.3 Peletakan Sel pada <i>Plate</i>	75
L.2.5.4 Pembuatan Larutan Sampel dan Pemberian Larutan Sampel pada <i>Plate</i>	76
L.2.5.5 Pemberian Larutan MTT	76
Lampiran 3 Pembuatan Larutan dan Reagen	77
L.3.1 Pembuatan Reagen Dragendorff	77
L.3.2 Pembuatan Reagen Mayer	77
L.3.3 Pembuatan Larutan Metanol 50 %.....	77
L.3.4 Pembuatan Reagen FeCl ₃ 1 % (b/v)	78
L.3.5 Pembuatan Larutan HCl 1 M (b/b)	78
L.3.6 Pembuatan Larutan HCl 2 %	79
L.3.7 Pembuatan Larutan SDS 10 % (b/v).....	79
L.3.8 Pembuatan Larutan Stok 10.000 ppm Ekstrak Daun Sirsak	80
L.3.9 Pembuatan Larutan Stok MTT (5 mg/mL)	80
L.3.10 Pembuatan Larutan Stok 1000 ppm Ekstrak Daun Sirsak	80
Lampiran 4 Data dan Perhitungan Hasil Penelitian	81
L.4.1 Perhitungan Randemen	81
L.3.2 Perhitungan Data dan Hasil Uji Aktivitas Antikanker secara <i>In-Vitro</i>	81
Lampiran 5 Dokumentasi	92
L.5.1 Proses Maserasi	92
L.5.2 Uji Fitokimia dengan Reagen	93
L.5.3 Proses Impregnasi dengan Zeolit NaX.....	93
L.5.4 Uji Aktivitas Antikanker menggunakan Metode MTT.	94
L.5.5 Morfologi Sel Kanker T47D setelah Pemberian Larutan MTT.....	96

ABSTRAK

Lilbaig, F. Z. 2017. **Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn.) yang Diimbangkan pada Zeolit NaX menggunakan Metode Impregnasi Kering sebagai Antikanker Payudara (T-47D).** Skripsi. Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing I: Elok Kamilah Hayati, M.Si; Pembimbing II: Rif'atul Mahmudah, M.Si; Konsultan: Susi Nurul Khalifah, M.Si.

Kata Kunci : Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn.), Zeolit NaX, Impregnasi Kering, Sel Kanker Payudaya T-47D, Metode MTT

Tanaman sirsak (*Annona muricata* Linn.) merupakan satu diantara tanaman yang dimanfaatkan sebagai antikanker. Selain dari tanaman, material anorganik yang berupa zeolit juga telah dieksplorasi sebagai pengobatan kanker dan sistem pembawa obat. Pengembanan senyawa antikanker pada zeolit dapat meningkatkan efektivitas senyawa dalam menghambat pertumbuhan sel kanker. Pada penelitian ini telah dipelajari nilai IC_{50} dari perbandingan rasio ekstrak daun sirsak yang diimbangkan pada zeolit NaX untuk menghambat pertumbuhan sel kanker payudara (T-47D).

Ekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96 %. Zeolit NaX yang digunakan adalah zeolit sintesis murni dan pengembanan menggunakan metode impregnasi kering dengan perbandingan ekstrak:zeolit yaitu 1:10; 5:10 dan 10:10. Metode uji aktivitas antikanker yang digunakan adalah metode MTT (*Microculture tetrazolium*) berdasarkan reaksi kolorimetri. Selanjutnya dihitung prosentase sel hidup tiap sampel dan dianalisis menggunakan SPSS probit sehingga diketahui nilai IC_{50} . Analisis FTIR juga dilakukan untuk mengetahui perbedaan struktur zeolit sebelum dan sesudah dilakukan pengembanan.

Berdasarkan hasil uji fitokimia ekstrak daun sirsak mengandung golongan senyawa flavonoid, alkaloid, tanin, saponin dan triterpenoid. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perbandingan yang efektif menghambat pertumbuhan sel kanker payudara adalah 5:10 dengan nilai IC_{50} sebesar 67,343 $\mu\text{g/mL}$. Hasil nilai IC_{50} menunjukkan bahwa ekstrak daun sirsak yang diimbangkan pada zeolit NaX dengan perbandingan 5:10 lebih efektif sebagai antikanker sel payudara (T-47D) dibandingkan ekstrak daun sirsak tanpa pengembanan yaitu sebesar 83,6 $\mu\text{g/mL}$. Hasil analisis menggunakan FTIR menunjukkan bahwa semua sampel hasil pengembanan muncul puncak serapan baru pada bilangan gelombang 2925,277 cm^{-1} dan 2855,833 cm^{-1} . Puncak serapan baru yang muncul sesuai dengan serapan gugus $\text{Csp}_3\text{-H}$ (stretch) asym dan $\text{-CH}_2\text{-}$ (stretch) sym pada spektra ekstrak daun sirsak.

ABSTRACT

Lilbaig, FZ. 2017. **Activity Test of Ethanol Extract Leaf Soursop (*Annona muricata* Linn.) that Loading on NaX Zeolite using Dry Impregnation Method as Breast of Anticancer (T-47D)**. Thesis Department of Chemistry Faculty of Science and Technology State Islamic University Maulana Malik Ibrahim Malang. Supervisor I: Elok Kamilah Hayati, M.Si; Advisor II: Rif'atul Mahmudah, M.Si; Consultant: Susi Nurul Khalifah, M.Si.

Keywords: Leaf Soursop (*Annona muricata* Linn.), NaX Zeolite, Dry Impregnation, Breast Cancer Cells T-47D, MTT Method

Soursop plants (*Annona muricata* Linn.) is among the plants that used as anticancer. Apart from plants, inorganic materials in the form of zeolites also have been explored as a cancer treatment and drug carrier system. The proliferation of anticancer compounds in zeolites can increase the effectiveness of compounds in inhibiting the growth of cancer cells. This research studied the IC_{50} values of the ratio of soursop leaf extract that loading on NaX zeolite to inhibit the growth of breast cancer cells (T-47D).

Extraction used is the maceration method with 96 % ethanol solvent. Zeolite NaX used is pure synthesis zeolite and loading used is dry impregnation method with comparison extract:zeolite that is 1:10; 5:10 and 10:10. Anticancer activity test method is the method of MTT (*tetrazolium microculture*) based colorimetric reaction. Then calculated the percentage of viable cells for each sample and analyzed using SPSS probit to know the value of the IC_{50} . FTIR analysis also conducted to determine the difference of zeolite structure before and after loading.

Based on the results of phytochemical test, soursop leaf extract contains flavonoid compounds, alkaloids, tannins, saponins and triterpenoids. The results show that the ratio of effective inhibit the growth of breast cancer cells is 5:10 with IC_{50} values of 67,343 $\mu\text{g/mL}$. Results of IC_{50} values indicate that extracts of soursop leaf that loading on NaX zeolite with a ratio of 5:10 is more effective as an anticancer of breast cells (T-47D) compared soursop leaf extract without carrier that is 83,6 $\mu\text{g/mL}$. The result of using FTIR analysis showed that all of the sample results appears loading new absorption peak at wave number 2925,277 cm^{-1} and 2855,833 cm^{-1} . New absorption peaks that appear in accordance with the uptake group $\text{Csp}_3\text{-H}$ (stretch) asym and $\text{-CH}_2\text{-}$ (stretch) sym on soursop leaf extract spectra.

مستخلص البحث

للبنائق، ففتي زيتنا. تجربة نشاط مقتطف إيثانول ورقة قشطة شائكة (*Annona muricata* Linn.) على حزم زيولايت NaX باستخدام طريقة التلقيح الجاني كمضادة سرطان الثدي (T-47D). البحث الجامعي. قسم الكيمياء كلية العلوم والتكنولوجيا جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج. المشرفة الأولى: إيلوك كاملة الماجستير، المشرفة الثانية: رفعة المحمودة الماجستير، المستشارة: سوسي نور الخليفة الماجستير.

الكلمات الأساسية: ورقة قشطة شائكة (*Annona muricata* Linn.)، زيولايت NaX، التلقيح الجاني، خلية سرطان الثدي T-47D، منهج MTT.

أن نبات قشطة شائكة (*Annona muricata* Linn.) من النباتات المستفيدة كمضادة السرطان. وبالإضافة من النبات، أن عُدّة غير عضو زيولايت مكتشف حسبما معالجة السرطان وجهاز حملة الدواء. يستطيع تنمية مركبات مضادة السرطان على زيولايت أن ينمي فعالية المركبات في إعاقه نمو خلية السرطان. قد تعلّم في هذا البحث درجة IC_{50} من مقارنة نسبة مقتطف ورقة قشطة شائكة على حزم زيولايت NaX لإعاقه نمو خلية سرطان الثدي (T-47D).

يستخدم المقتطفي بطريقة النقع بذائب الإيثانول ٩٦ % زيولايت NaX الذي المستخدم الباحثة في هذا البحث يعني زيولايت التوليف النقي ويستخدم النمو بطريقة التلقيح بمقارنة مقتطف زيولايت وهو ١٠:١٠؛ ١٠:١٠ و ١٠:١٠. وأما المنهج المستخدم الباحثة في تجربة نشاط كضادة السرطان يعني المنهج MTT (*Microculture tetrazolium*) بنظر إلى استجابة قياس الألوان. وبالتالي تحسب نسبة خلية الحياة في كل العينة. ويحلل باستخدام SPPS Provit وعلى هذا يعرف الدرجة IC_{50} . قد أقام FTIR التحليل بمعرفة الفرق بين تركيب زيولايت قبل النمو وبعده.

إضافة إلى انتاج تجربة كيميائي نباتي مقتطف ورقة قشطة شائكة تتضمن من مجموعة مركبة الفلافويد والقلويد والعصف والصابونين والمستحضر. تدلّ نتائج البحث أن المقارنة يثبط نمو خلفية سرطان الثدي فهو ١٠:٥ مع الدرجة IC_{50} تبلغ ٦٧،٣٤٣ $\mu\text{g/mL}$. أما نتاج درجة IC_{50} يدلّ على أن مقتطف ورقة قشطة شائكة على زحم زيولايت NaX بمقارنة ١٠:٥ أكبر الفعالية كمضادة سرطان خلية الثدي (T-47D) مقارنة بمقتطف ورقة قشطة شائكة بدون زحم وهو تبلغ ٨٣،٦ $\mu\text{g/mL}$. يستخدم نتائج البحث FITR أن يدلّ أنّ جميع العينات حصول الزحم قد ظهرت قمة الامتصاص الجديد في عدد الفيض ٢٩٢٥،٢٧٧ cm^{-1} و ٢٨٥٥،٨٣٣ cm^{-1} قمة الامتصاص الجديد مناسباً بامتصاص الأنصاف $\text{Csp}_3\text{-H}$ (stretch) asym و $\text{-CH}_2\text{-}$ (stretch) sym في طيفيا مقتطف ورقة قشطة شائكة.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kanker merupakan satu diantara penyakit di dunia yang mempunyai angka kematian tinggi (*American Cancer Society*, 2011). Menurut *American Cancer Society*, kanker yang paling sering terjadi pada manusia adalah kanker payudara (Globocan, 2012). Kasus kanker payudara yang terjadi di Amerika tahun 2016 didiagnosis sekitar 246.660 wanita dan 2.600 laki-laki dengan angka kematian sebesar 40.890 orang (40.450 wanita, 440 laki-laki) (*American Cancer Society*, 2016). Kanker payudara menjadi penyebab kematian paling tinggi di Indonesia yang menyerang perempuan antara usia 18 sampai 54 tahun (Lee, 2008), sehingga kanker payudara merupakan penyebab kematian sebagian besar wanita.

Zeolit adalah satu diantara beberapa material anorganik yang berkembang saat ini sebagai material pengobatan kanker dan sistem pembawa obat. Hal ini karena zeolit mempunyai sifat struktural dan stabilitas di lingkungan biologis (Vilaca, dkk., 2013). Penggunaan zeolit untuk aplikasi biomedis mempunyai keuntungan diantaranya biokompatibilitas, toksisitas rendah, dan area permukaan besar sehingga zeolit dapat digunakan sebagai pengemban yang efisien (Datt, 2012). Zeolit sendiri juga dapat digunakan sebagai obat pada terapi kanker karena mampu menghambat proliferasi sel kanker (Ghazi, dkk., 2013).

Obat atau senyawa antikanker tanpa pengembanan zeolit, laju alirnya akan lebih cepat dan tidak terkontrol sehingga sel kanker target yang dituju kurang terarah. Keunggulan pengembanan obat atau senyawa antikanker pada zeolit dapat

meningkatkan efektivitas obat atau senyawa dalam menghambat pertumbuhan sel kanker karena zeolit memiliki sifat adsorpsi yang dapat mengatur laju alir obat atau senyawa antikanker. Pengembanan senyawa antikanker pada zeolit dilakukan sesuai dengan penelitian Vilaca, dkk., (2013) menggunakan metode impregnasi.

Ghazi, dkk. (2013) melakukan penelitian menggunakan zeolit sintetis X dan Y. Sel kanker yang dibudidayakan dalam 50 mg/mL zeolit X dan Y dengan penambahan 5 % suplemen FBS (*fetal bovine serum*) dapat memberikan aktivitas yang tinggi dalam menghambat proliferasi sel kanker dan mengurangi sel viability *in vitro* yaitu sebesar 70,6 %. Penelitian Rimoli, dkk. (2007) menunjukkan bahwa zeolit sintesis tipe X yang dienkapsulasikan pada obat ketoprofen menggunakan proses perendaman dapat berperan sebagai sistem pembawa obat dan hasilnya terbukti cukup efektif tanpa memberikan efek samping. Spanakis, dkk. (2013) juga telah melaporkan bahwa impregnasi 5-fluorouracil dengan zeolit NaX lebih efisien 16,18% dibandingkan zeolit BEA yaitu 6,02%. Hal ini disebabkan zeolit NaX bersifat hidrofilik sehingga obat antikanker 5-FU yang dilepaskan lebih cepat dibandingkan dengan zeolit BEA yang bersifat hidrofobik.

Penelitian lain yang dilakukan oleh Amorim, dkk. (2012) menunjukkan bahwa pengembanan zeolit NaA dengan senyawa CHC pada konsentrasi 0,05 ppm dapat menghambat sel kanker dengan meningkatkan efisiensi obat sebesar 29 dan 146 kali dengan perbandingan CHC:zeolit NaA yaitu 1:10 dan 5:10. Sedangkan hasil pengembanan zeolit NaY dengan senyawa CHC pada konsentrasi 0,05 ppm dapat menghambat sel kanker dengan meningkatkan efisiensi obat sebesar 119 dan 585 kali dengan perbandingan CHC:zeolit NaY yaitu 1:10 dan 5:10. Hal ini dikarenakan struktur zeolit NaY yang lebih terbuka dan ukuran pori yang lebih

besar (7,4 Å) sehingga CHC dapat dengan bebas berdifusi ke arah sel. Zeolit NaY mempunyai struktur yang sama dengan zeolit NaX yaitu *faujasite*, sehingga aktivitas dari kedua zeolit tersebut adalah sama.

Penelitian yang telah dilakukan mayoritas mengembangkan obat sintetis antikanker pada zeolit. Penggunaan obat sintetis antikanker dapat menimbulkan efek samping seperti mual, muntah, diare, dan sampai gangguan yang berat seperti diare hemoragik, sehingga penelitian yang akan dilakukan mengembangkan ekstrak dari bahan alam pada zeolit sintetis dan diharapkan penggunaannya lebih aman. Penggunaan ekstrak dari tumbuhan dan zeolit dari material anorganik telah memanfaatkan alam untuk kemaslahatan manusia, sebagaimana Allah SWT berfirman dalam surat Al-Jaatsiyah ayat 13 sebagaimana berikut:

وَسَخَّرَ لَكُم مَّا فِي السَّمَوَاتِ وَمَا فِي الْأَرْضِ جَمِيعًا مِّنْهُ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يَتَفَكَّرُونَ



Artinya:

“Dan Dia telah menundukkan untukmu apa yang di langit dan apa yang di bumi semuanya, (sebagai rahmat) daripada-Nya. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi kaum yang berfikir” (Q.S Al-Jaatsiyah : 13).

Surat Al-Jaatsiyah ayat 13 menjelaskan bahwa Allah telah menundukkan segala yang di langit dan di bumi untuk kemaslahatan manusia. Manusia dengan kekuatan akal dan pikiran yang diberikan Allah seharusnya dapat memanfaatkan alam untuk mencapai tujuan-tujuannya. Sesungguhnya yang demikian itu terdapat tanda-tanda kekuasaan Allah bagi orang yang suka berfikir (Ash-Shiddieqy, 2000). Satu diantara bentuk berfikir manusia yaitu memanfaatkan sebaik-baiknya keanekaragaman tumbuhan yang diberikan oleh Allah SWT. Firman Allah SWT dalam surat Al-Jaatsiyah ayat 13 diperkuat dengan Surat Thaha (20):53 berikut ini:

الَّذِي جَعَلَ لَكُمُ الْأَرْضَ مَهْدًا وَسَلَكَ لَكُمْ فِيهَا سُبُلًا وَأَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ
أَنْوَاجًا مِنْ نَبَاتٍ شَتَّى ﴿٥٣﴾

Artinya:

“Yang telah menjadikan bagimu bumi sebagai hamparan dan yang telah menjadikan bagimu di bumi itu jalan-jalan, dan menurunkan dari langit air hujan. Maka Kami tumbuhkan dengan air hujan itu berjenis-jenis dari tumbuh-tumbuhan yang bermacam-macam” (QS.Thaha : 53).

Surat Thaha ayat 53 tersebut, menjelaskan bahwa Allah SWT telah menurunkan air hujan dari langit, lalu dengan air hujan itu Allah SWT menumbuhkan berbagai jenis tumbuhan yang beranekaragam. Keanekaragaman tumbuhan merupakan fenomena alam yang termasuk bagian dari tanda-tanda kekuasaan Allah yang hanya diketahui oleh orang-orang yang berakal (Rossidy, 2008). Tumbuhan yang beranekaragam dapat dimanfaatkan oleh manusia sebagai obat alternatif antikanker, satu diantaranya adalah tumbuhan sirsak.

Penelitian Moghadamtousi, dkk. (2015) telah membuktikan bahwa tanaman sirsak mengandung senyawa antikanker, antikonvulsan, anti-reumatik, antiparasit, antimalaria, hepatoprotektif dan antidiabetes. Konstituen utama dari tanaman sirsak adalah *annonaceous acetogenins*. *Annonaceous acetogenins* ini memiliki sifat sitotoksik terhadap sel tumor dan aktivitas molluscicidal (Santos, dkk., 2001; Luna, dkk., 2006). Selain itu, ekstrak daun *Annona muricata* L. memiliki antioksidan (Baskar, dkk., 2007).

Hasil penelitian Rachmani, dkk. (2012) menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun sirsak memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker T-47D dengan nilai IC₅₀ sebesar 17,149 µg/mL dan fraksinasi menggunakan etil asetat memiliki nilai IC₅₀ sebesar 30,112 µg/mL. Gavamukulya, dkk., (2014) juga melakukan penelitian tentang uji aktivitas antikanker dan antioksidan dari ekstrak etanol daun

sirsak yang hasilnya menunjukkan bahwa ekstrak daun sirsak mempunyai sifat sitotoksik pada sel kanker karsinoma dan payudara dengan nilai IC_{50} sebesar 335,85 $\mu\text{g/mL}$ dan 248,77 $\mu\text{g/mL}$. Ekstrak dikatakan memiliki aktivitas sitotoksik jika nilai IC_{50} kurang dari 1.000 mg/mL setelah waktu kontak 24 jam (Meiyanto, dkk., 2008). Semakin kecil nilai IC_{50} ekstrak tersebut semakin bersifat toksik.

Metode awal yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstraksi maserasi, karena selain mudah, sederhana dan diharapkan dapat mengurangi resiko kerusakan pada kandungan senyawa dari ekstrak daun sirsak. Hasil ekstrak daun sirsak yang diembankan pada zeolit X sintetis menggunakan metode impregnasi kering agar tidak perlu melakukan penyaringan dan diharapkan dapat menghambat aktivitas kanker payudara lebih baik. Menurut Laila (2016) apabila metode pengembanan yang digunakan adalah impregnasi basah maka harus dilakukan penyaringan. Penyaringan yang dilakukan dapat menyebabkan zeolit dan ekstrak larut bersama filtrat.

Rohmah (2016) mengembankan ekstrak akar rumput bambu dengan zeolit NaX menggunakan impregnasi basah. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perbandingan yang paling berpotensi dalam menghambat pertumbuhan sel kanker payudara T-47D adalah 10:10 dengan nilai IC_{50} sebesar 2.192,42 $\mu\text{g/mL}$. Sedangkan Laila (2016) juga melakukan penelitian pengembanan ekstrak daun sirsak dengan zeolit NaX menggunakan impregnasi basah, hasil perbandingan yang paling berpotensi dalam menghambat pertumbuhan sel kanker payudara T-47D adalah 1:10 dengan nilai IC_{50} sebesar 1.743,738 $\mu\text{g/mL}$. Hasil penelitian dari keduanya menunjukkan nilai IC_{50} yang besar, sehingga penelitian yang akan dilakukan ini menggunakan impregnasi kering yang diharapkan hasil yang

didapatkan lebih baik.

Metode yang digunakan untuk melihat efek sitotoksik ekstrak etanol daun sirsak kombinasi zeolit X sintetis pada sel kanker payudara T-47D adalah assay MTT. Metode assay MTT digunakan untuk pengujian secara *in-vitro* karena mempunyai keuntungan yaitu waktu yang dibutuhkan lebih singkat, senyawa yang digunakan untuk pengujian ini relatif sedikit dan dapat memberikan informasi mengenai efeknya secara langsung terhadap sel manusia yang telah dikultur. Prinsip uji MTT adalah metode spektroskopi dengan menentukan nilai absorbansi formazan dan digunakan sel kanker payudara T-47D karena kemampuan replikasi yang tidak terbatas, penanganannya yang mudah, dan homogenitas yang tinggi serta mudah diganti dengan *frozen stock* jika terjadi kontaminasi (Burdall, dkk., 2003).

Berdasarkan uraian diatas, maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui aktivitas ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* Linn.) yang diimbangkan pada zeolit X sintetis dengan metode impregnasi kering. Hal ini dilakukan agar dapat ditemukan obat tradisional yang diimbangkan dengan bahan alam sebagai penghambat aktivitas kanker payudara T-47D yang efisien tanpa membahayakan jaringan sehat lainnya.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah berapa nilai IC_{50} dari perbandingan rasio ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* Linn.) yang diimbangkan pada zeolit NaX untuk menghambat pertumbuhan sel kanker payudara (T-47D)?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini berdasarkan rumusan masalah tersebut adalah untuk mengetahui nilai IC_{50} dari perbandingan rasio ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) yang diimbangkan pada zeolit NaX untuk menghambat pertumbuhan sel kanker payudara (T-47D).

1.4 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Sampel yang digunakan adalah daun sirsak (*Annona muricata* L.) yang tumbuh pada urutan ke-4 sampai ke-5 dari pucuk batang daun yang berasal dari daerah Gondanglegi kab. Malang.
2. Ekstraksi yang digunakan adalah maserasi menggunakan pelarut etanol 96 %.
3. Ekstrak daun sirsak yang digunakan adalah ekstrak kasarnya.
4. Zeolit yang digunakan adalah zeolit NaX sintetis yang diperoleh dari kelompok penelitian Kimia Anorganik UIN MALIKI Malang.
5. Metode pengembanan yang digunakan adalah impregnasi kering.
6. Perbandingan kombinasi ekstrak pekat etanol daun sirsak dengan zeolit X sintetis adalah 1:10; 5:10; dan 10:10.
7. Sel kanker yang digunakan adalah sel kanker payudara T-47D dengan medium kultur RPMI.
8. Metode *in-vitro* yang digunakan adalah metode MTT dengan variasi konsentrasi 1000; 500; 250; 125; 62,5; 31,25; 15,625 $\mu\text{g/mL}$ dan kontrol positif dengan Doxorubicin sebanyak masing-masing 3 ulangan.

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah:

1. Hasil penelitian ini dapat memberikan informasi kepada masyarakat mengenai daun sirsak (*Annona muricata* Linn.) yang diimbaskan pada zeolit dapat dijadikan sebagai alternatif obat antikanker.
2. Sebagai salah satu referensi dan perbandingan dalam penelitian lebih lanjut.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pemanfaatan Tanaman dalam Perspektif Islam

Tanaman merupakan ciptaan Allah yang memiliki banyak manfaat, sebagaimana yang telah dijelaskan dalam Surat Luqman (31):10 berikut ini:

خَلَقَ السَّمَوَاتِ بِغَيْرِ عَمَدٍ تَرَوْنَهَا ۖ وَأَلْقَىٰ فِي الْأَرْضِ رَوْسِي ۚ أَنْ تَمِيدَ بِكُمْ ۖ وَبَثَّ فِيهَا مِنْ كُلِّ دَابَّةٍ ۚ
وَأَنْزَلْنَا مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿١٠﴾

Artinya:

“ Dia menciptakan langit dan bumi tanpa tiang yang kamu melihatnya dan Dia meletakkan gunung-gunung (di permukaan) bumi supaya bumi itu tidak menggoyangkan kamu; dan memperkembang biakkan padanya segala macam jenis binatang, dan kami turunkan air hujan dari langit, lalu kami tumbuhkan padanya segala macam tumbuh-tumbuhan yang baik ” (QS. Luqman:10).

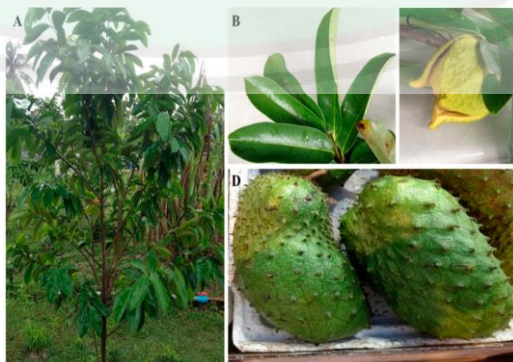
Lafadz زَوْجٍ mempunyai arti jenis. Sedangkan lafadz كَرِيمٍ artinya mulia dan banyak manfaatnya, sehingga lafadz مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ berarti setiap jenis dari tumbuh-tumbuhan yang indah, bermanfaat dan tidak membahayakan (Al-Jazairi, 2008). Allah SWT menurunkan air dari langit, yaitu air hujan yang mempunyai manfaat bagi berbagai macam tumbuhan sehingga dapat tumbuh dan berkembang serta bermanfaat bagi makhluk hidup lainnya. Menurut Shihab (2002), lafadz كَرِيمٍ dalam Surat Luqman digunakan untuk menyifati segala sesuatu yang baik sesuai objeknya. Tumbuhan yang baik adalah tumbuhan yang bermanfaat bagi makhluk hidup lainnya, termasuk tumbuhan yang dapat digunakan sebagai pengobatan berbagai penyakit.

Firman Allah, “*Dan Kami turunkan air dari langit...*” yaitu air hujan. “*Lalu Kami tumbuhkan padanya (bumi) segala macam tumbuh-tumbuhan...*” yang bermanfaat dan baik untuk manusia. Hal ini merupakan satu diantara tanda-tanda kekuasaan, ilmu, dan kebijaksanaan Allah SWT yang mengharuskan-Nya untuk diimani (Al-Jazairi, 2008). Manusia dengan kemampuan akal dan pikiran yang dimilikinya dapat memanfaatkan tanaman yang beranekaragam sebagai tanaman obat, seperti tanaman sirsak mengandung senyawa *acetogenin* yang memiliki potensi sitotoksik sebagai antikanker. Selain itu, triterpenoid dan flavonoid di dalam daun sirsak juga memiliki efek antikarsinogenesis (Retnani, 2011).

2.2 Tanaman Sirsak (*Annona muricata* Linn.)

2.2.1 Morfologi dan Klasifikasi Tanaman Sirsak

Tanaman sirsak adalah pohon yang tumbuh tegak lurus beriklim tropis. Buahnya berbentuk oval atau hati dengan kulit buah kasar, melengkung dan berduri lentur. Bagian dalam buah berwarna krem dan dibagi menjadi segmen (Kedari, dkk., 2014). Daun berbentuk bulat panjang, menyirip dengan ujung meruncing, permukaan mengkilap, serta berwarna hijau muda sampai hijau tua (Sunarjono, 2005). Morfologi tanaman sirsak dapat dilihat pada Gambar 2.1.



Gambar 2.1 (a) Sirsak; (b) daun; (c) bunga; dan (d) buah (De Souza, dkk., 2009)

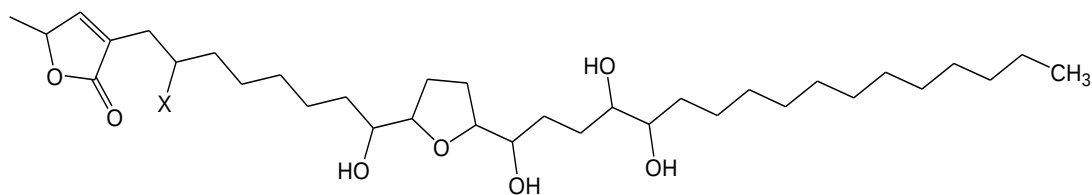
Klasifikasi tanaman sirsak adalah sebagai berikut (Widyaningrum, 2012):

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Divisi	: <i>Spermatophyta</i>
Sub Divisi	: <i>Angiospermae</i>
Kelas	: <i>Dicotyledonae</i>
Ordo	: <i>Polycarpiceae</i>
Famili	: <i>Annonaceae</i>
Genus	: <i>Annona</i>
Spesies	: <i>Annona muricata</i> Linn.

2.2.2 Manfaat dan Kandungan Daun Sirsak

Pohon *Annona muricata*, mirip dengan spesies *Annona* lainnya, termasuk *Annona squamosa* dan *Annona reticulata* banyak digunakan sebagai obat tradisional berbagai penyakit, terutama kanker dan infeksi parasit (De Sousa, dkk., 2010; Mishra, dkk., 2013). Uji fitokimia menyatakan bahwa *annonaceous acetogenins* adalah konstituen utama dari *Annona muricata* (Moghadamtousi, dkk., 2015). Selain *annonaceous acetogenin*, hasil skrining fitokimia dari ekstrak air dan etanol daun sirsak mengandung senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, saponin, terpenoid, flavonoid, kumarin, lakton, antrakuinon, tanin, glikosida jantung, fenol dan pitosterol (Gavamukulya, dkk., 2014).

Acetogenins merupakan senyawa yang memiliki potensi sitotoksik (Mardiana, 2011). *Acetogenins* adalah rantai panjang asam lemak sepanjang 35 atau 37 karbon yang diakhiri oleh sebuah γ -lakton. Secara biogenetik, *annonaceous acetogenin* diturunkan dari rantai panjang asam lemak (C-32 atau C-34), dan asam karboksilat terminal yang terikat pada gugus 2-propanol pada posisi C-2 untuk membentuk suatu lakton (metil tersubstitusi α,β -tak jenuh- γ -lakton) (Kojima dan Tanaka, 2009). Gambar struktur umumnya dapat dilihat pada Gambar 2.2.



Gambar 2.2 Struktur umum dari *annonaceous acetogenins* (Gorman, 2006)

Annonaceous acetogenin merupakan inhibitor NADH pada enzim ubiquinone oksidoreduktase. Enzim ini merupakan enzim esensial dalam sistem transport elektron yang memimpin ke proses selanjutnya yaitu fosforilasi oksidatif di dalam mitokondria. Sumber utama aktivitas biologis *annonaceous acetogenin* melibatkan interaksi dengan kompleks I mitokondrial. Inhibisi kompleks I membuat sel kekurangan ATP, hal ini menyebabkan pertumbuhan sel terhambat dan mengganggu kinerja sel sehingga sel mengalami apoptosis. Salah satu cara sel dapat mengalami apoptosis adalah dengan diinisiasi oleh inhibisi kompleks I mitokondria (Villo, 2008).

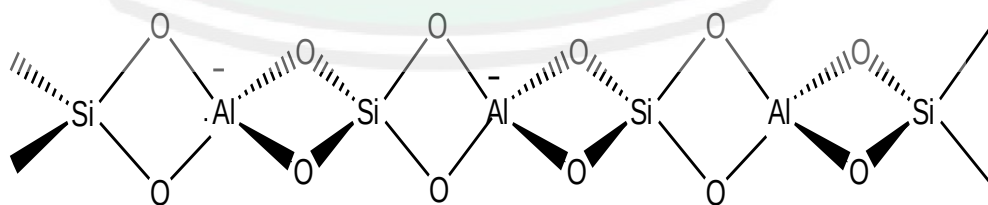
2.3 Ekstraksi Senyawa Aktif

Ekstraksi adalah satu diantara metode pemisahan suatu komponen dari campurannya dengan pelarut berdasarkan perbedaan distribusi fasa (Soebagio, 2003). Salah satu metode ekstraksi adalah maserasi. Ekstraksi maserasi dilakukan dengan cara perendaman dalam cairan (pelarut). Pelarut akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan larut, karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan yang di luar sel, maka larutan yang terpekat didesak ke luar. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar dan di dalam sel (Baraja, 2008).

Pemilihan pelarut organik yang digunakan dalam ekstraksi komponen aktif merupakan faktor penting dan menentukan untuk mencapai tujuan dan sasaran ekstraksi komponen (Chandra, 2013). Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini yaitu etanol. Ekstraksi etanol dari biomassa tanaman dengan family *Annonaceae* untuk mendapatkan *acetogenin* merupakan metode umum yang digunakan, hampir semua *acetogenin* dapat dengan mudah larut dalam pelarut organik. *Annonaceous acetogenin* bersifat sedikit polar dan mudah larut dalam pelarut organik pada umumnya sehingga diekstraksi menggunakan etanol untuk mendapatkan senyawa organik sebanyak-banyaknya dari daun sirsak.

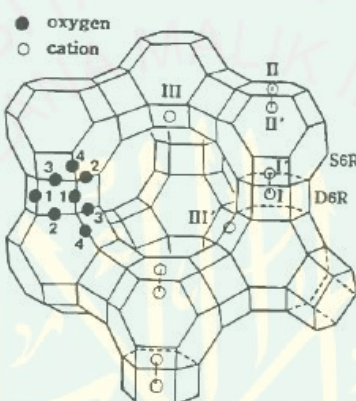
2.4 Zeolit X

Zeolit didefinisikan sebagai kristal aluminosilikat yang mempunyai struktur kerangka tiga dimensi terbentuk oleh tetrahedral $[\text{AlO}_4]^{5-}$ dan $[\text{SiO}_4]^{4-}$ dengan pori-pori didalamnya terisi ion-ion logam (Ribiero, dkk., 1984). Umumnya struktur zeolit adalah suatu polimer anorganik berbentuk tetrahedral unit TO_4 , dimana T adalah Si^{4+} atau Al^{3+} dengan atom O berada diantara dua atom T, seperti ditunjukkan dalam Gambar 2.3.



Gambar 2.3 Struktur kimia zeolit (Haag, 1984)

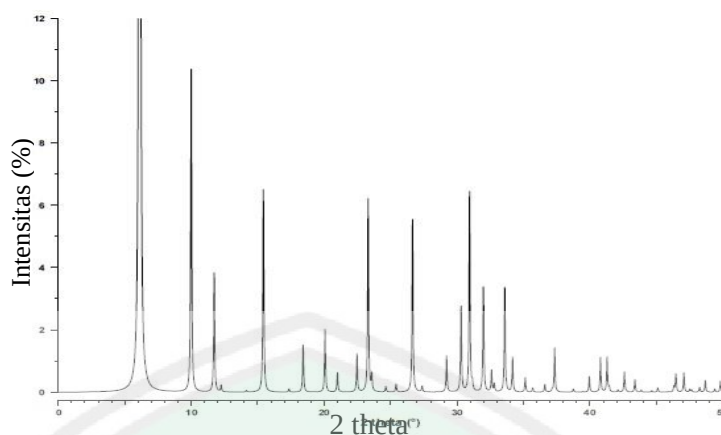
Zeolit X yaitu zeolit yang memiliki diameter α -cage (supercage) 13 Å dan diameter β -cage (kerangka sodalit) 6,6 Å dengan diameter pori 7,4 Å membentuk struktur tiga dimensi dengan rasio Si/Al 1,0 – 1,5 (Thammavong, 2003). Zeolit NaX mempunyai diameter pori yang berstruktur bangun oktahedral pada titik I, II dan III. Hal ini menunjukkan posisi dari kation natrium yang dapat bertukar ion dan dapat berpindah dengan adanya ion lain seperti Gambar 2.4.



Gambar 2.4 Kerangka zeolit NaX (Yeom, dkk., 1997)

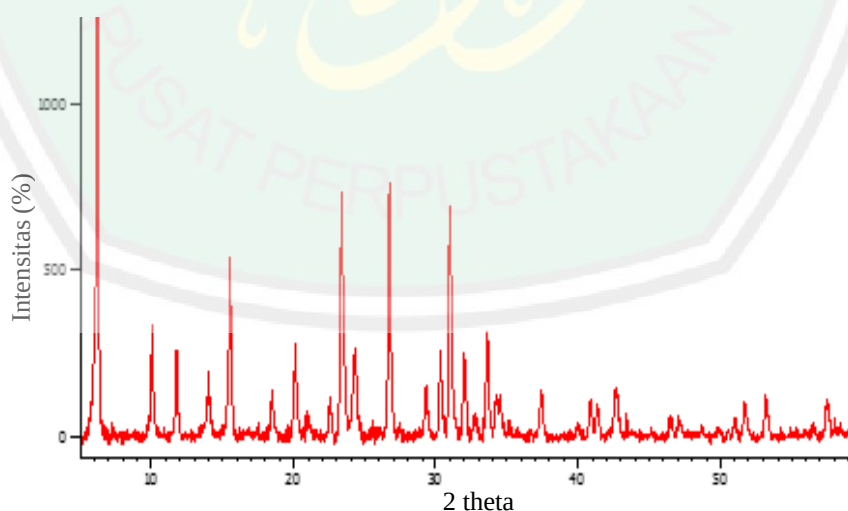
2.4.1 Sintesis Zeolit X

Metode yang sering digunakan dalam sintesis zeolit X adalah metode sol gel dan dilanjutkan dengan metode hidrotermal. Kemurnian zeolit X hasil sintesis dapat diketahui dengan membandingkan nilai sudut 2θ dan intensitasnya dengan zeolit X standar *Collection of Simulated XRD Powder Patterns for Zeolites* (Treacy dan Higgins, 2001). Setiap senyawa dengan struktur kristal yang sama akan menghasilkan difraktogram yang identik. Berikut difraktogram zeolit X standar pada Gambar 2.5.



Gambar 2.5 Pola difraktogram XRD zeolit X standar (Treacy dan Higgins, 2001)

Berdasarkan difraktogram zeolit X standar tersebut, puncak-puncak tertinggi zeolit X diketahui terdapat pada sudut $2\theta = 6,1^\circ$; $10,7^\circ$; 16° ; 27° dan $34,08^\circ$ (Georgiev, dkk., 2013; Manurung, dkk., 2011). Apabila puncak-puncak hasil difraktogram zeolit X sintesis tidak muncul pada 2θ tersebut, maka sintesis zeolit X yang dilakukan kurang berhasil. Berikut difraktogram zeolit X hasil sintesis dari SiO_2 dan Al_2O_3 ditunjukkan pada Gambar 2.6.



Gambar 2.6 Difraktogram sintesis zeolit X dari SiO_2 dan Al_2O_3 (Khalifah, 2016)

Hasil perbandingan 2θ standar dan sampel dapat dilihat pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Data hasil perbandingan 2 theta

Zeolit X Standar ($^{\circ}2\theta$)	Zeolit X Sampel ($^{\circ}2\theta$)
6.31	6.2911
10,31	10.2368
15.92	15.6701
19.01	18.6871
20.71	20.3901
21.98	22.9080
23.19	22.8313
24.06	24.4311
24.06	26.9981
26,24	26.9981
27.52	27.5869
30.16	30.4683
31.29	31.3507
31.95	32.4329

Sumber: (Treacy dan Higgins, 2001)

Berdasarkan Tabel 2.1 perbandingan 2θ hasil sintesis zeolit X dengan standar, menunjukkan bahwa puncak pertama yang muncul pada difraktogram dari zeolit X hasil sintesis yaitu pada $2\theta = 6.2911$ yang sesuai dengan standar zeolit X. Puncak-puncak yang lain muncul di daerah 2θ yang sesuai dengan difraktogram zeolit X standar, sehingga dapat disimpulkan produk yang terbentuk merupakan zeolit X murni. Selain itu, ketajaman puncak yang dihasilkan memiliki intensitas yang relatif tinggi, hal ini menunjukkan tingginya kristalinitas produk yang terbentuk.

Ukuran kristal zeolit hasil sintesis dapat dihitung menggunakan rumus Scherrer's. Hasil perhitungan menunjukkan bahwa ukuran kristal pada zeolit bervariasi. Hasil dari perhitungan ukuran kristal dapat dilihat pada Tabel 2.2.

Tabel 2.2 Data Hasil Perhitungan Ukuran Kristal

Zeolit X Sampel ($^{\circ}2\theta$)	D (nm)
6.1898	119.66
23.3405	95.273
26.6852	111.0296

Jarak antar kisi kristal zeolit tertera pada Tabel 2.3. Semakin dekat jarak antar kisi kristal maka bentuk zeolit semakin kristalin. Berdasarkan Tabel 2.3 dapat disimpulkan bahwa zeolit hasil sintesis yang digunakan dalam penelitian ini sangat kristalin.

Tabel 2.3 Data Hasil Perhitungan Jarak Antar Kristal

Zeolit X Sampel ($^{\circ}2\theta$)	d ($\text{\AA}$)
6.1898	14.28032
23.3405	3.81127
26.6852	3.34067

2.4.2 Potensi Zeolit sebagai Antikanker dan Sistem Pembawa Obat

Zeolit diaplikasikan dalam dunia medis karena kestabilannya dalam lingkungan kimia dan biologis, memiliki ukuran dan bentuk selektif, serta aktivitas imun (Pavelic, dkk., 2003). Zeolit saat ini dipandang sebagai obat yang potensial dalam terapi kanker karena kemampuannya untuk menghambat proliferasi sel kanker (Ghazi, dkk., 2013). Zeolit juga dapat digunakan sebagai sistem pembawa obat (*Drug Delivery System (DDS)*) dan agen pengontrol pelepasan obat. Hal ini dipengaruhi oleh sifat zeolit yang memiliki struktur dan komposisi pori yang teratur dengan rongga dan saluran (Baerlocher, dkk., 2007).

Zeolit telah dieksplorasi dalam aplikasi medis sebagai matriks untuk enkapsulasi molekul obat antikanker. Molekul obat yang terdapat di dalam pori

zeolit berdifusi keluar dari sistem saluran secara perlahan, sehingga dapat mengontrol laju pelepasan obat sebagai sistem pembawa obat (*Drug Delivery System (DDS)*) yang efisien. Pelepasan obat yang terkontrol dapat meningkatkan efisiensi obat dan mengurangi efek samping. Selain itu, zeolit memegang peranan penting dalam regulasi sistem imun tubuh sehingga dapat digunakan sebagai agen antibakteri atau terapi antikanker (Rimoli, dkk., 2007; Vilaca, dkk., 2013).

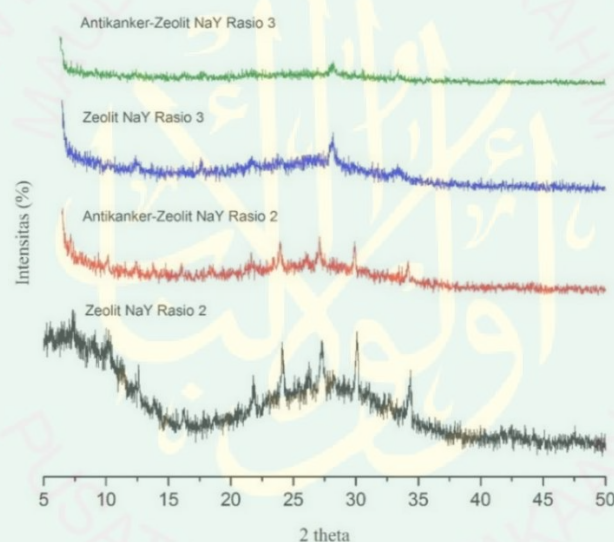
Penelitian telah melaporkan tentang penggunaan zeolit sebagai pengemban senyawa antikanker, diantaranya obat antikanker α -cyano-4-hydroxycinnamic acid (CHC) yang diemban pada zeolit NaY. Zeolit yang diemban tidak merubah struktur atau hilangnya kristalinitas kerangka zeolit. Sedangkan obat antikanker sendiri dapat dipertahankan integritas molekulnya. Molekul obat yang diemban pada zeolit NaY dapat menghambat sel hingga 110 kali lipat dibandingkan dengan obat tanpa pengemban (Vilaca, dkk., 2011).

2.5 Metode Impregnasi Kering

Menurut Kamus Besar Bahasa Indonesia, impregnasi berarti penjenjuran atau pemenuhan dengan gas atau cairan. Impregnasi adalah preparasi katalis dengan mengadsorpsikan garam prekursor yang mengandung komponen aktif logam di dalam larutan kepada padatan pengemban. Impregnasi dibedakan menjadi dua, yaitu impregnasi basah dan impregnasi kering. Perbedaan impregnasi kering dan basah didasarkan pada perbandingan volume larutan prekursor dengan volume pori pengemban. Impregnasi kering yaitu volume larutan berkisar 1-1,2 kali dari volume pori pengemban, karena diharapkan jumlah antara larutan prekursor dengan pori yang tersedia pada pengemban adalah sama. Sedangkan impregnasi basah yaitu

volume larutan prekursor lebih dari 1,5 kali dari volume pori pengemban.

Ekstrak etanol daun sirsak yang diimbangkan pada zeolit dapat diketahui secara kualitatif dengan melihat perubahan warna zeolit sebelum dan setelah dilakukan impregnasi. Warna zeolit yang awalnya abu-abu kecoklatan berubah menjadi abu-abu kehijauan mengikuti warna dari ekstrak daun sirsak (hijau). Sudiyono (2016) melakukan pengembanan ekstrak etanol akar rumput bambu pada zeolit NaY hasil sintesis dengan metode impregnasi. Difraktogram hasil pengembanan dapat dilihat pada Gambar 2.7.



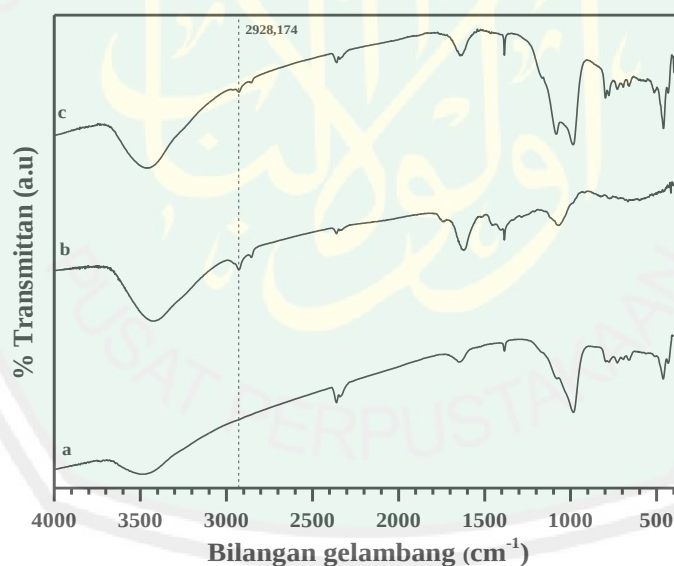
Gambar 2.7 Difraktogram zeolit NaY variasi rasi $\text{SiO}_2/\text{Al}_2\text{O}_3$ sebelum dan sesudah dilakukan pengembanan (Sudiyono, 2016)

Zeolit NaY hasil sintesis setelah dilakukan pengembanan mengalami penurunan intensitas yang disebabkan karena adanya senyawa yang diimbangkan. Penurunan intensitas disebabkan karena sinar yang dipantulkan oleh bidang kristal

zeolit terhalang oleh senyawa antikanker yang menempel pada zeolit. Intensitas yang turun akan menyebabkan kristalinitas juga menurun (Sudiyono, 2016).

Keberhasilan impregnasi senyawa antikanker pada zeolit juga dapat dianalisis menggunakan FTIR. Metode FTIR didasarkan pada molekul dengan gugus fungsi tertentu dan memiliki frekuensi spesifik yang dihubungkan dengan vibrasi dari atom gugus fungsi tersebut (Sibilia, 1996). Zeolit secara umum mempunyai daerah serapan yang karakteristiknya sekitar $1200 - 300 \text{ cm}^{-1}$ (Mozgawa, dkk., 2011).

Nasifah (2017) juga melakukan analisis FTIR terhadap ekstrak daun sirsak yang diimbaskan pada zeolit NaX mesopori. Hasil spektra dapat dilihat pada Gambar 2.8.



Gambar 2.8 Spektra FTIR pada sampel : a) Zeolit NaX Mesopori, b) Ekstrak kasar daun sirsak, c) Zeolit NaX mesopori-Ekstrak kasar daun sirsak

Berdasarkan Gambar 2.8 terdapat puncak serapan baru pada spektra zeolit setelah diimbaskan dengan ekstrak daun sirsak. Puncak serapan dengan bilangan gelombang $2928,174 \text{ cm}^{-1}$ merupakan vibrasi regangan asimetris dari ikatan C-H

yang diinterpretasikan sebagai salah satu gugus yang dimiliki oleh senyawa acetogenin pada ekstrak daun sirsak. Munculnya serapan khas dari ekstrak daun sirsak pada spektra zeolit NaX mesopori sesudah diembankan memperkuat dugaan bahwa ekstrak telah teremban dalam zeolit NaX mesopori.

2.6 Uji Aktivitas Antikanker secara *In-Vitro* dengan Metode MTT

Uji aktivitas antikanker dapat dilakukan dengan uji MTT yang merupakan satu diantara metode dalam uji sitotoksik. Dasar uji enzimatik MTT adalah dengan mengukur kemampuan sel hidup berdasarkan aktivitas mitokondria dari kultur sel. Uji MTT merupakan uji yang sensitif, reaksi MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difeniltetrazolium bromide) merupakan reaksi reduksi selular yang didasarkan pada pemecahan garam tetrazolium MTT berwarna kuning menjadi kristal formazan berwarna biru keunguan (Basmal, 2009).

Konsentrasi formazan yang berwarna biru keunguan dapat ditentukan secara spektrofotometri visibel dan berbanding lurus dengan jumlah sel hidup karena reduksi hanya terjadi ketika enzim reduktase yang terdapat dalam jalur respirasi sel pada mitokondria aktif (Mosman, 1983). Absorbansi larutan berwarna ini kemudian dapat diukur menggunakan *Enzyme-linked Immunosorbent Assay* (ELISA) *reader* pada panjang gelombang antara 500 dan 600 nm, yang mana semakin besar absorbansi menunjukkan semakin banyak jumlah sel yang hidup.

Uji sitotoksik ini digunakan untuk menentukan nilai IC_{50} (*Inhibitory Concentration*). Nilai IC_{50} menunjukkan nilai konsentrasi yang menghasilkan hambatan proliferasi sel 50 % dan menunjukkan potensi ketoksikan suatu senyawa terhadap sel. Semakin besar nilai IC_{50} maka senyawa tersebut semakin tidak toksik

(Meiyanto, dkk., 1999; Padmi, 2008). Ekstrak dikatakan memiliki aktivitas sitotoksik jika nilai IC_{50} kurang dari 1.000 mg/mL setelah waktu kontak 24 jam (Meiyanto, dkk., 2008).

Gavamukulya, dkk. (2014) menunjukkan bahwa aktivitas antikanker pada ekstrak etanol daun sirsak terhadap *cell line* EACC mempunyai nilai IC_{50} sebesar 335,85 μ g/mL. Sedangkan ekstrak etanol daun sirsak pada uji *in vitro* menunjukkan sangat sitotoksik terhadap dua *cell line* kanker payudara MDA dan SKBR3 dengan nilai IC_{50} masing-masing 248,77 μ g/mL dan 202,33 μ g/mL.

2.7 Kanker

2.7.1 Kanker Payudara

Kanker adalah penyakit yang disebabkan sel-sel di dalam tubuh berubah dan berkembang tak terkendali (American Cancer Society, 2015). Pertumbuhan sel yang abnormal ini dapat menyusup ke jaringan tubuh dan menekan jaringan tubuh yang normal sehingga dapat mempengaruhi fungsi tubuh (Diananda, 2009). Kanker payudara adalah suatu penyakit yang kompleks dan heterogen. Kanker payudara bermula pada sel epitel sehingga dikelompokkan sebagai karsinoma (keganasan tumor epitelial). Sel kanker payudara dapat tumbuh menjadi benjolan sebesar 1 cm² dalam waktu 8-12 tahun (Tambunan, 2003). Penyakit kanker payudara merupakan satu diantara penyakit kanker dengan prevalensi tertinggi yaitu sebesar 0,5 % di Indonesia pada tahun 2013 dan jumlah kematian akibat kanker payudara semakin meningkat (Depkes, 2015).

2.7.2 Sel Kanker Payudara T-47D

Sel T-47D adalah sel kanker payudara yang diambil dari jaringan payudara seorang wanita remaja maupun dewasa yang terkena *ductal carcinoma* dan sel ini ditumbuhkan pada media dasar RPMI (*Roswell Park Memorial Institute*) (ATCC, 2008). Sel kanker payudara T-47D ini memiliki kemampuan replikasi yang tidak terbatas, homogenitas yang tinggi serta mudah diganti dengan *frozen stock* jika terjadi kontaminasi (Burdall, dkk, 2003).

Penelitian yang dilakukan oleh Aka dan Lin (2012), menggunakan dua dimensi gel dan analisis spektrometri massa untuk membandingkan profil proteomik dari sel T-47D dan MCF7. Hasil penelitian menunjukkan bahwa lebih dari 164 protein berbeda yang diekspresikan antara sel T-47D dan MCF7. Hasilnya menunjukkan bahwa protein yang terlibat dalam stimulasi pertumbuhan sel, mekanisme anti-apoptosis dan kanserogenesis lebih kuat sel T-47D daripada MCF7.

2.8 Analisis dengan *Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay* (ELISA) Reader

Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA) adalah tes cepat untuk mendeteksi dan mengukur antibodi atau antigen. ELISA reader digunakan untuk menentukan komponen zat warna atau komponen yang belum berwarna, tetapi menggunakan pewarna reagen yang sesuai. Reagen yang digunakan dalam metode ini adalah MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difeniltetrazolium bromide) (Pamilih, 2009). ELISA reader sama seperti Spektrofotometri UV-Vis, perbedaan pada alat atau fisiknya adalah:

Tabel 2.4 Perbedaan antara Spektrofotometri UV-Vis dengan ELISA reader

Perbedaan	Spektrofotometri UV-Vis	ELISA reader
Sumber cahaya datang	Cahaya datang dari sebelah kanan atau kiri kuvet, dari sisi tegak	Cahaya datang dari atas ke bawah (atau kebalikannya)
Wadah sampel	Kuvet	Well diplat (satu plat bisa memiliki 96 lubang kecil)
Tebal kuvet	Tebal kuvetnya dihitung dan biasanya panjang lebar kuvet tetap	Volume satu plat harus sama (semakin banyak volume sampel, semakin tinggi larutan sampelnya, dan makin tebal larutannya)

Output data yang dihasilkan berkorelasi langsung dengan jumlah sel yang aktif melakukan metabolisme, sehingga berkorelasi dengan kehidupan sel. Nilai absorbansi yang didapatkan dari ELISA reader dapat diketahui potensi sampel dalam menghambat kanker, karena semakin besar absorbansi menunjukkan semakin banyak jumlah sel yang hidup (Meiyanto, dkk., 1999). Hasil dari proses ELISA reader secara kuantitatif berupa besaran konsentrasi dan nilai adsorpsi (y) pada sampel. Pengukuran y pada hasil ELISA reader prinsipnya sama dengan spektrofotometer. Intensitas cahaya yang diserap oleh sampel pada panjang gelombang tertentu berbanding lurus dengan besar nilai y . Jika semakin banyak intensitas cahaya yang diserap, maka semakin besar nilai y . Semakin kecil nilai intensitas cahaya yang diserap, semakin kecil pula nilai y (Crowther, 2001).

Rohmah (2016) menguji ekstrak akar rumput bambu dan Laila (2016) menguji ekstrak daun sirih menggunakan metode MTT sebagai antikanker payudara T-47D. Untuk menentukan nilai IC_{50} , maka diukur nilai absorbansinya menggunakan ELISA reader sehingga didapatkan nilai IC_{50} masing-masing sebesar 49,52 $\mu\text{g/mL}$ dan 240,165 $\mu\text{g/mL}$.

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April - Juli 2017 di Laboratorium Kimia Organik dan Kimia Analitik Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang dan Laboratorium Protho, Parasitologi Jurusan Kedokteran Umum, Fakultas Kedokteran, Universitas Gadjah Mada.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah seperangkat alat gelas, gunting, neraca analitik, klem dan statif, oven, erlenmeyer vacuum, gilingan, ayakan 60 mesh, penjepit kayu, loyang, kertas saring, aluminium foil, *tissue*, penyaring *buchner*, *shaker incubator*, *rotary evaporator vacuum*, kertas saring, botol vial, mikropipet 10, 100, dan 1000 μL , tabung reaksi kecil, rak tabung kecil, *vortex*, *conical tube*, *yellow tip*, *blue tip*, *culture dish*, *96-well plate*, *hemocytometer*, *ELISA reader*, *mortal agate*, alat pengepres, dan *Fourier Transform Infra-Red* (FTIR).

3.2.2 Bahan

Bahan – bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun sirsak, etanol 96 %, aquades, PBS, tripsin-EDTA, DMSO, media kultur RPMI, formaldehid, MTT 5 mg/mL (50 mg MTT dan 10 mL PBS), SDS 10 % dalam 0,1

N HCl, zeolit NaX, reagen Dragendroff, reagen Mayer, metanol panas, logam Mg, HCl pekat, HCl 2 %, FeCl_3 1 %, HCl 1 N, kloroform, asam asetat anhidrat, H_2SO_4 pekat, dan padatan KBr.

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan pengujian eksperimental di laboratorium berupa ekstrak etanol daun sirsak yang diimbangkan pada zeolit NaX sebagai antikanker sel payudara T-47D. Tahapan awal yaitu sampel diambil dari tanaman sirsak bagian daun, dicuci bersih, ditiriskan dan dipotong kecil-kecil. Potongan sampel dikeringanginkan dan dihaluskan dengan gilingan dan diayak. Serbuk yang diperoleh diekstraksi maserasi menggunakan pelarut etanol 96 %. Perlakuan ini dilakukan berulang sebanyak 3 kali dan disaring menggunakan corong buchner. Pelarut dipisahkan dengan *rotary evaporator vacuum*.

Ekstrak pekat yang didapatkan diimbangkan pada zeolit menggunakan metode impregnasi kering dengan variasi perbandingan ekstrak etanol daun sirsak (EDS) dan zeolit NaX 1:10, 5:10, dan 10:10. Campuran distirer selama 48 jam. Setelah campuran homogen, sampel dioven untuk menguapkan pelarutnya. Sampel ekstrak etanol daun sirsak, zeolit NaX, dan kombinasi antara ekstrak etanol daun sirsak dengan zeolit NaX di uji aktivitas antikanker terhadap sel kanker payudara T-47D dengan metode MTT (secara *in-vitro*) dan dianalisis menggunakan *Fourier Transform Infra-Red* (FTIR).

3.4 Tahapan Penelitian

Tahapan dalam pelaksanaan penelitian ini adalah sebagai berikut:

- 1) Preparasi sampel
- 2) Ekstraksi daun sirsak menggunakan metode maserasi
- 3) Uji fitokimia golongan senyawa aktif menggunakan reagen
- 4) Pengembanan ekstrak etanol daun sirsak pada zeolit NaX menggunakan metode impregnasi kering
- 5) Karakterisasi hasil impregnasi menggunakan FTIR
- 6) Uji aktivitas antikanker dengan metode MTT
- 7) Analisis data

3.5 Pelaksanaan Penelitian

3.5.1 Preparasi Sampel

Sampel tanaman sirsak diambil bagian daun, dicuci dengan air hingga bersih, ditiriskan. Sampel dipotong kecil-kecil dan dikeringanginkan pada temperatur kamar. Sampel setelah kering dihaluskan dengan digiling hingga halus dan diayak menggunakan ayakan 60 mesh. Serbuk merupakan sampel penelitian yang kemudian diekstraksi kandungan bioaktifnya.

3.5.2 Ekstraksi Senyawa Aktif Daun Sirsak dengan Maserasi (A'illah,2015)

Sampel yang telah dipreparasi selanjutnya dilakukan ekstraksi. Langkah awal yang dilakukan adalah ditimbang serbuk daun sirsak sebanyak 60 gram, dimasukkan ke dalam 3 erlenmeyer 1000 mL masing-masing 20 gram dan diekstraksi dengan perendaman menggunakan 200 mL pelarut etanol 96 %. Sampel didiamkan selama 24 jam dan dikocok dengan shaker selama 3 jam pada suhu ruang dengan kecepatan 150 rpm. Fraksi terlarut dalam etanol dipisahkan, dimasukkan ke dalam labu dan ampas yang diperoleh dimaserasi kembali dengan pelarut yang sama. Ekstraksi ini dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan. Pengulangan kedua

dan ketiga volume pelarut perendaman sebanyak 150 mL. Filtrat yang diperoleh dipekatkan dengan *rotary evaporator vaccum* dengan suhu 60 °C dan dihentikan ketika ekstrak cukup kental, ditandai dengan berhentinya penetesannya pada labu alas bulat. Ekstrak kental disimpan pada suhu kurang dari 20 °C agar ekstrak tersebut tidak menjadi rusak. Ekstrak pekat ditimbang dan dihitung rendemennya dengan persamaan 3.1

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{Berat sampel}} \times 100 \% \dots\dots\dots (3.1)$$

3.5.3 Uji Fitokimia dengan Reagen (Indrayani, dkk., 2006)

Ekstrak pekat etanol daun sirsak dibuat konsentrasi 10.000 ppm untuk uji fitokimia, kemudian dilakukan uji flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, triterpenoid dan steroid.

3.5.3.1 Uji Flavonoid

Ekstrak daun sirsak sebanyak 0,5 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian dilarutkan dalam 1-2 mL metanol panas 50 %. Setelah itu ditambah logam Mg dan 4 – 5 tetes HCl pekat. Hasil positif jika terbentuk larutan berwarna merah atau jingga yang menunjukkan adanya flavonoid.

3.5.3.2 Uji Alkaloid

Ekstrak daun sirsak sebanyak 0,5 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambah 0,5 mL HCl 2 % dan larutan dibagi dalam dua tabung. Tabung I ditambahkan 2 – 3 tetes reagen Dragendorff, tabung II ditambahkan 2-3 tetes reagen Mayer. Hasil positif alkaloid apabila terbentuk endapan berwarna merah bata, merah, jingga (dengan reagen Dragendorf) dan endapan putih atau kekuning-kuningan (dengan reagen Mayer) menunjukkan adanya alkaloid.

3.5.3.3 Uji Tanin

Ekstrak daun sirsak sebanyak 0,5 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan dengan 2-3 tetes larutan FeCl_3 1 %. Apabila larutan menghasilkan warna biru kehitaman menunjukkan adanya senyawa tanin galat dan jika warnanya hijau kehitaman menunjukkan adanya senyawa tanin katekol.

3.5.3.4 Uji Triterpenoid dan Steroid

Ekstrak daun sirsak sebanyak 0,5 mL dimasukkan dalam tabung reaksi, dilarutkan dalam 0,5 mL kloroform dan ditambah dengan 0,5 mL asam asetat anhidrat. Campuran ini selanjutnya ditambah dengan 1-2 mL H_2SO_4 pekat melalui dinding tabung tersebut. Apabila hasil yang diperoleh berupa cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan dua pelarut maka ekstrak tersebut menunjukkan adanya terpenoid, sedangkan jika hasil yang diperoleh terbentuk warna hijau kebiruan maka ekstrak tersebut menunjukkan adanya steroid.

3.5.3.5 Uji Saponin

Ekstrak daun sirsak sebanyak 0,5 mL dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambah air (1:1) dan sambil dikocok selama 1 menit, apabila menimbulkan busa ditambahkan HCl 1 N, busa yang terbentuk dapat bertahan selama 10 menit dengan ketinggian 1-3 cm, maka ekstrak positif mengandung saponin.

3.5.4 Pengembanan Ekstrak Etanol Daun Sirsak pada Zeolit NaX Menggunakan Metode Impregnasi Kering

Pengembanan senyawa antikanker pada zeolit sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Vilaca, dkk., (2013) menggunakan metode impregnasi. Zeolit NaX sebelum digunakan, dikeringkan terlebih dahulu pada suhu 105 °C

selama 3 Jam. Ekstrak pekat etanol daun sirsak akan diimbangkan dengan zeolit NaX dengan variasi perbandingan sebagai berikut:

1. Ekstrak pekat daun sirsak 20 mg; zeolit NaX 200 mg (1:10)
2. Ekstrak pekat daun sirsak 100 mg; zeolit NaX 200 mg (5:10)
3. Ekstrak pekat daun sirsak 200 mg; zeolit NaX 200 mg (10:10)
4. Kontrol ekstrak pekat etanol 10 mg.
5. Kontrol zeolit NaX 10 mg.

Masing-masing campuran diaduk menggunakan *magnetic stirrer* pada suhu ruang selama 48 jam. Hasil pengembanan ekstrak pekat daun sirsak dengan zeolit NaX dikeringkan dalam oven pada suhu 60 °C selama kurang lebih 2 jam (sampai kering) untuk menguapkan pelarutnya. Masing-masing campuran tersebut diuji aktivitas antikanker terhadap sel kanker payudara T-47D dengan metode MTT (secara *in-vitro*) dan dianalisis dengan *Fourier Transform Infra-Red* (FTIR).

3.5.5 Karakterisasi Hasil Impregnasi menggunakan FTIR

Karakterisasi FTIR dilakukan pada ekstrak daun sirsak, zeolit NaX, dan hasil impregnasi. Mula-mula cuplikan dihaluskan hingga menjadi serbuk halus menggunakan mortar batu *agate* dengan dicampurkan padatan KBr, kemudian ditempatkan pada preparat dan dipress untuk membentuk pellet. Selanjutnya, sampel ditempatkan pada *sample holder* dan dianalisis menggunakan FTIR.

3.5.6 Uji Aktivitas Antikanker dengan Metode MTT (CCRC, 2009)

3.5.6.1 Penyiapan Sel

Sel kanker payudara T-47D diambil dari koleksi Universitas Gajah Mada. Sel kanker dikeluarkan dari *freezer* (-80 °C), dihangatkan dalam penangas air pada

suhu 37 °C selama 2 – 3 menit. Setelah mencair, sel dipindahkan ke dalam *conical tube* yang telah berisi 10 mL media RPMI (*Roswell Park Memorial Institute*), dan disentrifugasi untuk memisahkan sel kanker (pelet) dengan media RPMI. Pelet yang terbentuk dimasukkan ke dalam *culture dish* yang telah berisi 10 mL media RPMI dan diinkubasi selama 3 – 4 jam pada suhu 37 °C/ 5 % CO₂. Sel diamati dibawah mikroskop untuk melihat apakah sel melekat di dasar *culture dish* dan bila jumlah sel mencapai 70 – 85 % (konfluen), dilakukan panen sel.

Tahapan panen sel yaitu, media kultur dibuang terlebih dahulu, PBS (*Phosphate Buffered Saline*) ditambahkan sebanyak ± 5 mL serta dihomogenkan kemudian dibuang kembali. Trispsin ditambahkan secara merata dan diinkubasi selama 3 menit. Langkah selanjutnya media RPMI 5 mL ditambahkan untuk menginaktifkan sel serta dilakukan resuspensi, diamati dibawah mikroskop *inverted*, kemudian diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37 °C/ 5 % CO₂ selama 24 jam.

3.5.6.2 Penghitungan Sel Kanker

Panen sel diambil 10 µL dan dipipetkan ke *hemacytometer*, diamati dan dihitung dibawah mikroskop *inverted* dengan *counter*. Jumlah sel kanker dapat diketahui dengan perhitungan sebagai berikut:

$$\sum \text{sel yang dihitung} = \frac{\sum \text{sel kamar A} + \sum \text{sel kamar B} + \sum \text{sel kamar C} + \sum \text{sel kamar D}}{4} \times 10^4 \dots (3.2)$$

3.5.6.3 Peletakan Sel pada *Plate*

Peletakan sel pada *plate* harus diketahui berapa jumlah mL panen sel yang akan diletakkan pada setiap sumuran, dengan menggunakan persamaan sebagai berikut:

$$\Sigma \text{panenan mL panen sel yang ditransfer} = \frac{\Sigma \text{total sel yang diperlukan}}{\Sigma \text{sel terhitung /mL}} \dots$$

(3.3)

Sel diletakkan dan media RPMI ditambahkan sesuai perhitungan ke dalam *plate* 96-well dan diinkubasi kembali selama 24 jam pada suhu 37 °C/ 5 % CO₂, akan tetapi 6 sumuran bagian bawah disisakan untuk kontrol sel dan kontrol media.

3.5.6.4 Pembuatan Larutan Sampel dan Pemberian Larutan Sampel pada *Plate*

Sampel ekstrak pekat etanol daun sirsak, zeolit NaX dan kombinasi ekstrak pekat etanol daun sirsak dengan zeolit NaX masing-masing ditimbang sebanyak 10 mg dalam wadah yang berbeda, dilarutkan masing-masing ekstrak pekat dalam 100 µL DMSO (*dimethyl sulfoxide*) dan diaduk dengan vortex agar lebih cepat dalam melarutkan sampel. Langkah selanjutnya sel diambil dari inkubator, kemudian media sel dibuang dengan cara dibalikkan *plate* 180° diatas tempat buangan dan ditekan secara perlahan diatas tissue untuk meniriskan sisa cairan, PBS 100 µL dimasukkan kedalam semua sumuran yang terisi sel dan dibuang kembali, lalu larutan sampel dimasukkan sebanyak 100 µL dengan konsentrasi 1000; 500; 250; 125; 62,5; 31,25; dan 15,625 ppm, diulang sebanyak 3 x (triplo) dan diinkubasi kembali selama 24 jam.

3.5.6.5 Pemberian Larutan MTT (Reagen 3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difeniltetrazolium bromide)

Media sel dibuang dengan cara *plate* dibalik dan dicuci dengan PBS (*Phosphate Buffered Saline*), larutan MTT (reagen 3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difeniltetrazolium bromide) berwarna kuning sebanyak 100 µL ditambahkan ke setiap sumuran. Inkubasi kembali selama 3 – 4 jam didalam inkubator pada suhu 37 °C/ 5 % CO₂ (sampai terbentuk kristal formazan atau perubahan warna menjadi

biru). Apabila kristal formazan telah terbentuk diamati kondisi sel dengan mikroskop *inverted*, selanjutnya *stopper* SDS (*Sodium Dodecyl Sulfate*) 10% ditambahkan dalam 0,1 N HCl, *plate* dibungkus dengan aluminium foil dan diinkubasi kembali di tempat gelap (suhu ruangan) semalam.

Langkah selanjutnya yaitu pembacaan nilai absorbansi dengan ELISA reader untuk mengetahui nilai IC₅₀ setiap ekstrak. Tahapan awalnya ini dihidupkan ELISA reader dan ditunggu hingga *proccessing* selesai, pembungkus *plate* dibuka kemudian dimasukkan ke ELISA reader, absorbansi masing-masing sumuran dibaca dengan panjang gelombang 550 – 600 nm (595 nm), dimatikan kembali ELISA reader. Dihitung prosentase sel hidup dengan persamaan sebagai berikut:

$$\text{Prosentase sel hidup} = \frac{(A-B)}{(C-B)} \times 100 \% \dots\dots\dots (3.4)$$

Keterangan :

A = absorbansi perlakuan (sel + media kultur + sampel)

B = absorbansi kontrol media (media kultur)

C = absorbansi kontrol negatif (sel + media kultur)

Data dari prosentase sel hidup kemudian dianalisis untuk mengetahui nilai IC₅₀ dengan SPSS (probit/logit).

3.5.7 Analisis Data

Potensi ekstrak, zeolit dan kombinasi ekstrak dengan zeolit dalam menghambat atau membunuh sel kanker payudara T-47D dapat diketahui dengan melakukan uji IC₅₀, menggunakan analisa *regression* probit SPSS dengan kepercayaan 95 % untuk masing-masing konsentrasi, 1000; 500; 250; 125; 62,5; 31,25; dan 15,625 µg/mL. Penggunaan data absorbansi yang diperoleh dari

pengukuran, dapat ditentukan prosentase sel yang hidup dengan menggunakan rumus seperti Persamaan 3.4.

Data yang diperoleh dibuat dalam bentuk tabel dan data yang terinput merupakan data hubungan antara konsentrasi dengan prosentase sel hidup, kemudian dibuat grafik dengan *chart type scatter* serta nilai maksimum sebesar 100. Selanjutnya dicari persamaan regresi linier dari grafik tersebut dengan menampilkan *add trendline*-regresi linier. $Y = 50\%$ dimasukkan pada persamaan regresi linier dan cari x nya sehingga diperoleh IC_{50} . Data yang dihasilkan dimasukkan dalam tabel data sesuai pada Gambar 3.1.

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi Sampel			Rata- rata	% Hidup
	Pengulangan 1	Pengulangan 2	Pengulangan 3		

Gambar 3.1 Tabel data

BAB IV

PEMBAHASAN

4.1 Preparasi Sampel

Preparasi sampel merupakan tahapan awal dalam proses ekstraksi. Sampel daun sirsak (*Annona muricata* Linn.) diambil pada urutan ke-4 sampai ke-5 dari pucuk batang dalam kondisi baik dan bebas hama. Menurut Prof. Soelaksono Sastrodiharjo, PhD. dari Institut Teknologi Bandung, daun sirsak yang paling berkhasiat digunakan sebagai obat adalah daun ke-4 dan ke-5 dari pucuk batang. Dijelaskan pula bahwa kandungan asetogenin pada daun sirsak dapat dimanfaatkan untuk mengobati infeksi kulit yang disebabkan oleh beberapa bakteri seperti *Staphylococcus aureus* dan *Propionibacterium acnes* (Sastrodiharjo, dkk., 1997).

Pencucian sampel menggunakan air bertujuan untuk menghilangkan kotoran atau debu yang menempel pada daun sirsak. Pengeringan digunakan agar terhindar dari perkembangan mikroba dan diharapkan senyawa aktif yang terkandung dalam daun sirsak tidak rusak. Penghalusan atau penyerbukan sampel menggunakan penggilingan untuk meningkatkan luas permukaan partikel, sehingga proses ekstraksi dapat lebih efektif dan pelarut lebih mudah dalam menarik senyawa yang terkandung dalam daun sirsak (Rachmani, dkk., 2012). Hasil yang diperoleh dari preparasi ini berupa serbuk halus daun sirsak yang berwarna hijau muda.

4.2 Kandungan Senyawa Aktif Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn.)

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah maserasi. Prinsip maserasi adalah mengekstraksi komponen yang terkandung di dalam sel dan

dilakukan dengan merendam serbuk simplisia dalam cairan pelarut yang sesuai pada temperatur kamar dan terlindung dari cahaya. Filtrat yang didapatkan dari proses maserasi merupakan campuran pelarut dengan senyawa metabolit sekunder yang terlarut, sehingga dilakukan pemisahan. Hasil maserasi serbuk daun sirsak ditunjukkan pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Hasil maserasi ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* Linn.)

Pelarut	Warna ekstrak	Berat sampel (gram)	Berat ekstrak kental (gram)	Randemen (%)
Etanol 96 %	Hijau tua	60	8,98	14,97

Berdasarkan Tabel 4.1 dapat diketahui bahwa randemen hasil ekstraksi daun sirsak yang diperoleh cukup tinggi yaitu 14,97 %. Pelarut yang digunakan untuk maserasi adalah etanol 96 %, karena dapat menarik komponen baik yang bersifat polar maupun non polar sehingga senyawa yang terkandung di dalam sampel dapat terekstrak lebih banyak. Ekstrak pekat etanol daun sirsak yang diperoleh akan digunakan sebagai sampel uji fitokimia dan akan diimpregnasi dengan zeolit NaX.

4.3 Uji Fitokimia dengan Reagen

Identifikasi kandungan metabolit sekunder merupakan langkah awal dalam penelitian pencarian senyawa bioaktif baru dari bahan alam yang dapat menjadi prekursor bagi sintesis obat baru atau obat asli beraktivitas tertentu (Harborne, 2006). Hasil identifikasi golongan metabolit sekunder terhadap ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* Linn.) seperti terlihat pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Data hasil uji fitokomia dengan reagen

No	Pereaksi	Golongan Senyawa	Hasil
1	Logam Mg-HCl	Flavonoid	+
2	Dragendorf	Alkaloid	+++
3	Mayer	Alkaloid	+++
4	FeCl ₃	Tanin	++
5	Lieberman-Burchard	Triterpenoid	++
6	Lieberman-Burchard	Steroid	-
7	HCl	Saponin	+

Keterangan:

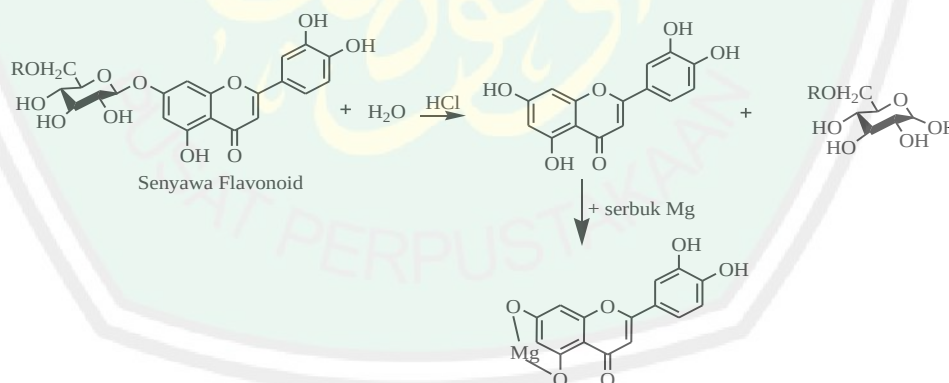
+++ = Kandungan senyawa lebih banyak (warna sangat pekat)

++ = Mengandung senyawa (warna cukup pekat)

+ = Mengandung senyawa (berwarna)

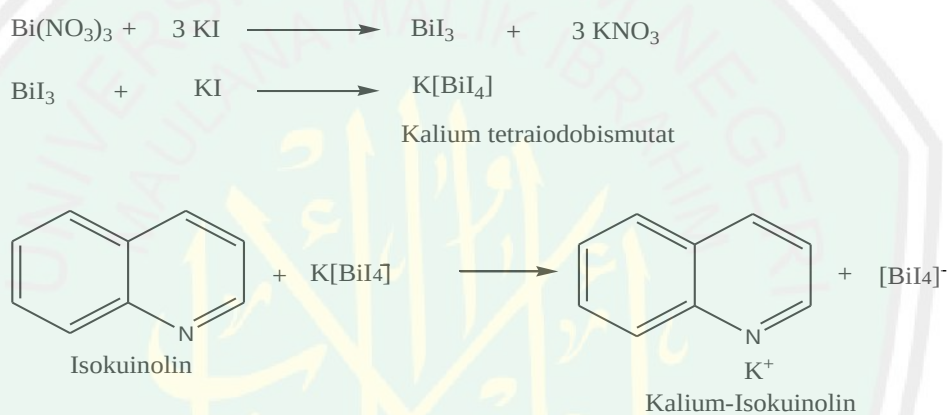
- = Tidak terkandung senyawa

Hasil uji fitokomia pada Tabel 4.2 dapat ditunjukkan bahwa ekstrak daun sirsak mengandung flavonoid yang ditandai dengan warna kuning. Warna kuning didapatkan dari hasil reduksi dengan Mg dan HCl pekat untuk menghidrolisis flavonoid menjadi aglikonnya. Dugaan reaksi uji flavonoid disajikan pada Gambar 4.1.

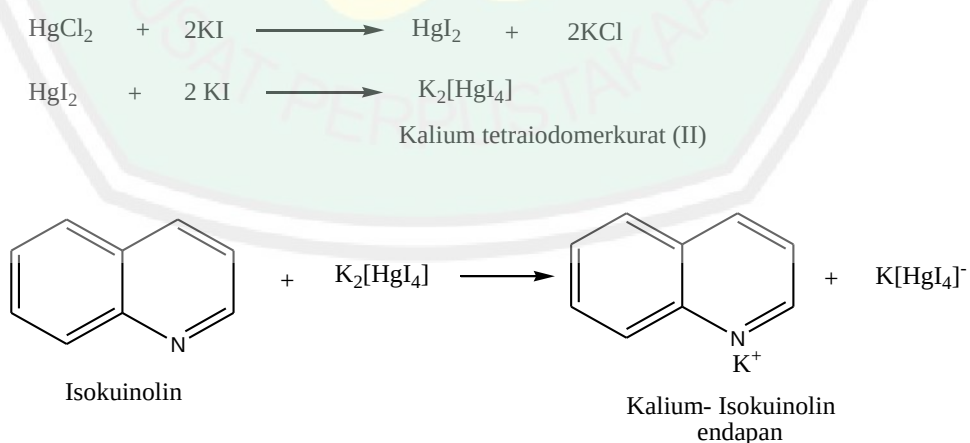
**Gambar 4.1** Dugaan reaksi flavonoid dengan serbuk Mg dan HCl pekat (Hidayat, 2004)

Hasil pengujian dengan reagen Dragendorf dan reagen Mayer menunjukkan ekstrak daun sirsak mengandung alkaloid dengan terbentuknya

endapan berwarna merah bata dan endapan putih. Senyawa alkaloid dalam ekstrak yang bersifat basa, dapat ditarik dengan penambahan asam seperti HCl. Alkaloid akan terpisah dengan komponen-komponen lain dari sel tumbuhan yang ikut terekstrak dengan mendistribusikannya ke fasa asam. Senyawa alkaloid dapat mengkoordinasikan pasangan elektron bebas atom nitrogennya pada atom K. Dugaan reaksi uji Dragendorff dan uji Mayer dapat terlihat pada Gambar 4.2 dan 4.3.

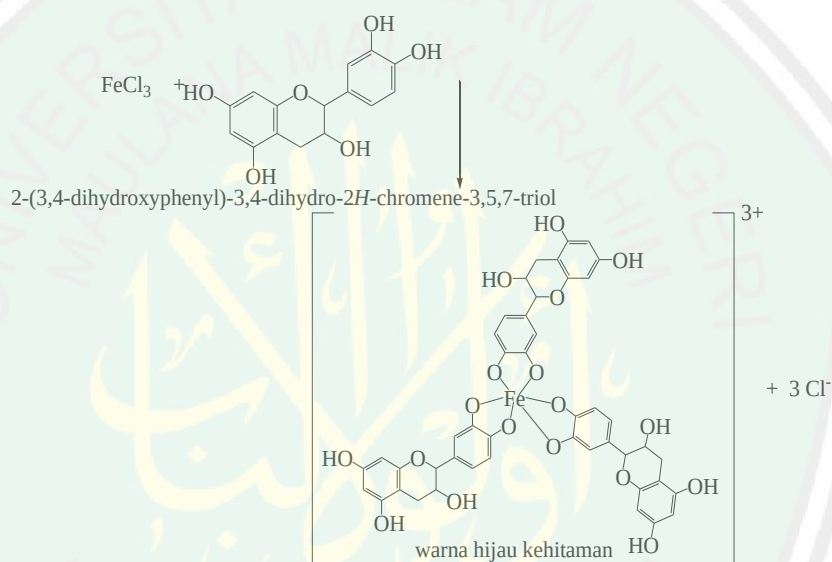


Gambar 4.2 Dugaan reaksi alkaloid dengan reagen Dragendorff (Marliana, 2005)



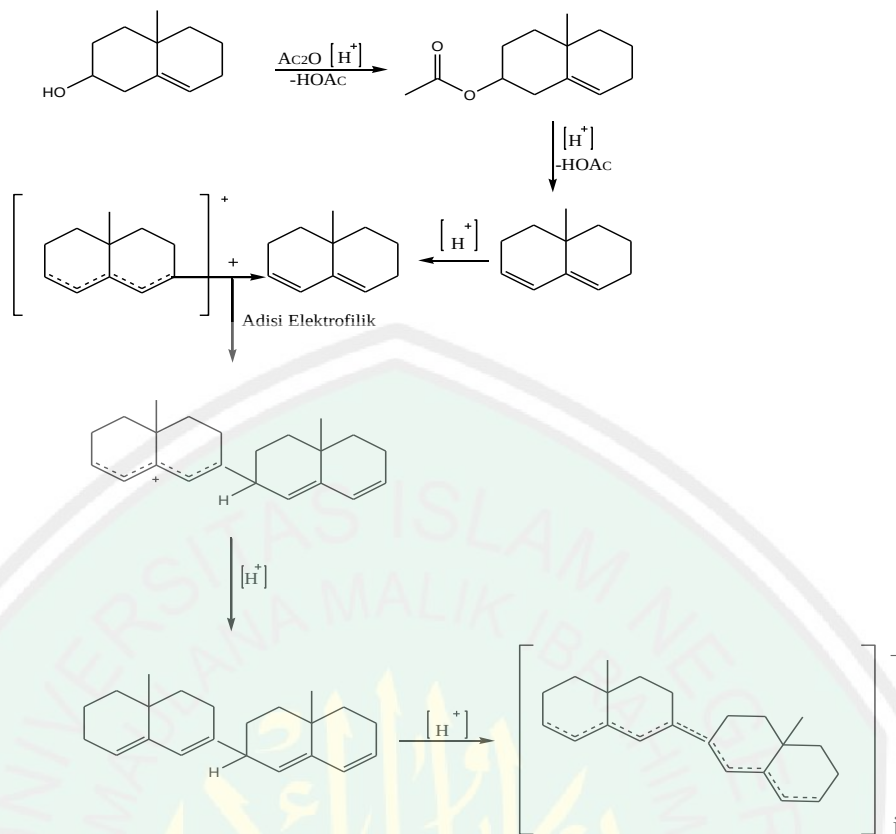
Gambar 4.3 Dugaan reaksi alkaloid dengan reagen Mayer (Marliana, 2005)

Uji fitokimia ekstrak daun sirsak dengan pereaksi FeCl_3 menghasilkan warna hijau kehitaman yang menunjukkan adanya tanin terkondensasi. Uji tanin ditunjukkan dengan perubahan warna setelah penambahan FeCl_3 yang dapat bereaksi dengan salah satu gugus hidroksil pada senyawa tanin dalam sampel, sehingga menghasilkan senyawa kompleks. Adapun dugaan reaksi yang terjadi dapat dilihat pada Gambar 4.4 (Harbone, 1994):



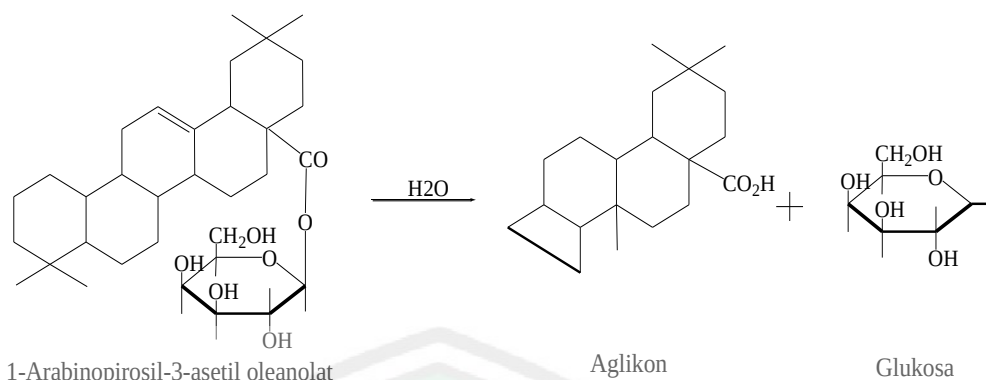
Gambar 4.4 Dugaan reaksi senyawa tanin (Halimah, 2010)

Analisis ekstrak daun sirsak dengan pereaksi Liebermann-Burchard menunjukkan adanya triterpenoid dengan terbentuknya larutan berwarna kecoklatan dan tidak terbentuk cincin berwarna hijau kebiruan sehingga tidak mengandung steroid. Pengujian ini didasarkan pada kemampuan senyawa tersebut membentuk warna dengan H_2SO_4 pekat dalam pelarut asam asetat anhidrat (Ciulei, 1984). Dugaan reaksi antara senyawa triterpenoid dapat dilihat pada Gambar 4.5.



Gambar 4.5 Dugaan reaksi senyawa triterpenoid/steroid dengan reagen Liebermann-Burchard (Setyowati, dkk., 2014)

Hasil uji fitokimia ekstrak daun sirsak mengandung saponin dengan ditandai adanya busa jika dikocok dalam air. Adanya penambahan air mengakibatkan gugus hidrofilik akan berikatan dengan air sedangkan gugus hidrofobik akan membentuk busa. Busa yang terbentuk menunjukkan adanya glikosida yang mempunyai kemampuan untuk membentuk buih dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya (Marliana dkk., 2005). Busa yang dihasilkan diuji kestabilannya dengan penambahan HCl. Dugaan reaksi yang terjadi dapat dilihat pada Gambar 4.6.

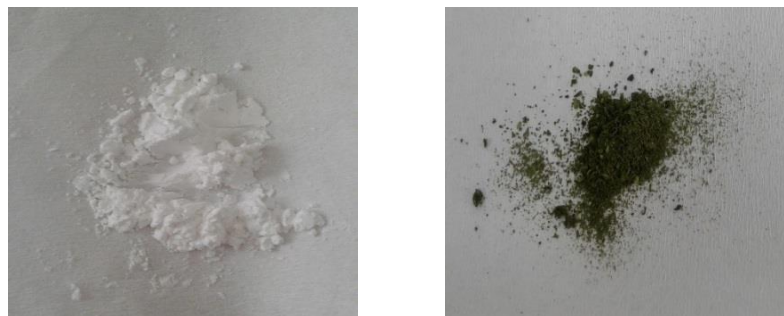


Gambar 4.6 Dugaan reaksi hidrolisis saponin dalam air (Marliana, dkk., 2005)

4.4 Pengembangan Ekstrak Etanol Daun Sirsak pada Zeolit NaX Menggunakan Metode Impregnasi Kering

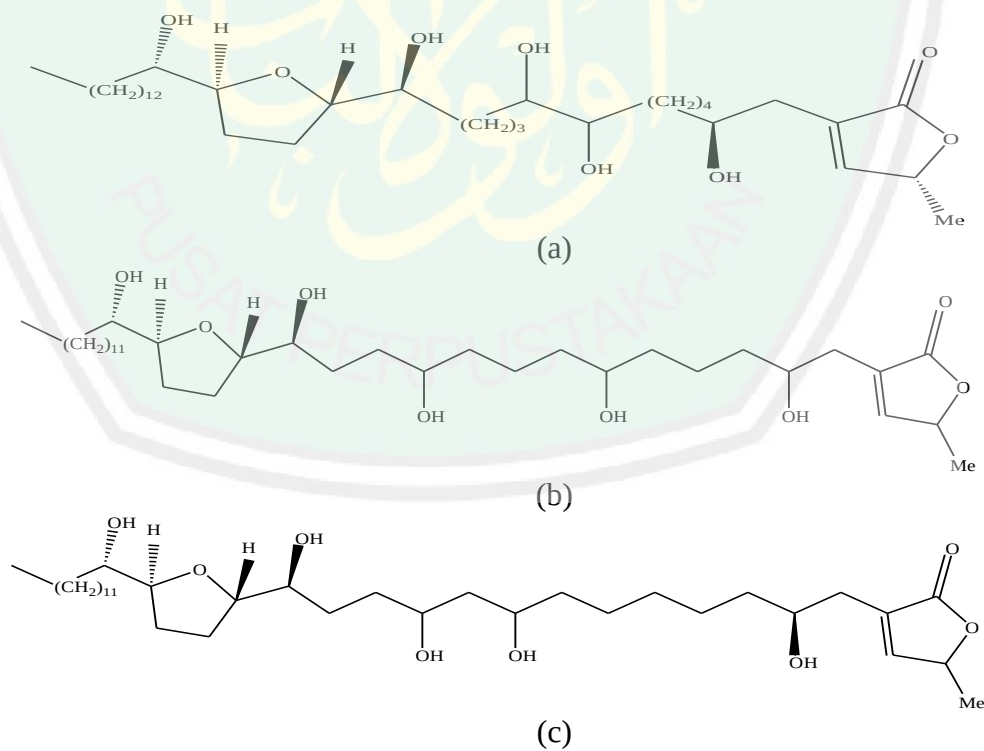
Zeolit memiliki komposisi pori teratur dan luas permukaan yang besar sehingga dapat digunakan sebagai sistem pembawa obat dan agen pengontrol pelepasan obat. Zeolit yang digunakan pada penelitian ini adalah zeolit NaX hasil sintesis murni. Keunggulan zeolit sintesis adalah kemurniannya yang tinggi dan memiliki pori-pori serta bentuk kristal yang lebih seragam, sehingga dapat meningkatkan efisiensi biologis dan sifat mekanis pada sistem obat.

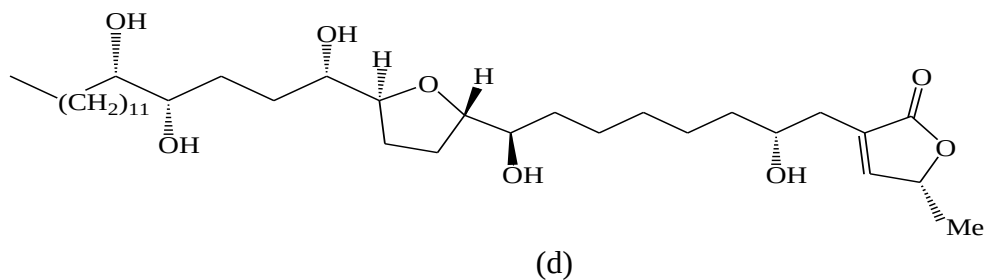
Penelitian ini mengembangkan ekstrak daun sirsak pada zeolit NaX menggunakan impregnasi kering dengan variasi kombinasi yaitu 1:10, 5:10, dan 10:10. Variasi ini dilakukan untuk mengetahui kombinasi yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan sel kanker payudara T-47D. Impregnasi kering yaitu volume larutan berkisar 1-1,2 kali dari volume pori pengemban, karena diharapkan jumlah antara larutan prekursor dengan pori yang tersedia pada pengemban adalah sama. Pengembangan ekstrak daun sirsak pada zeolit NaX dapat dilihat secara kualitatif dari perubahan warna zeolit yang semula abu-abu menjadi hijau keabuan, seperti Gambar 4.7.



Gambar 4.7 a) Zeolit sebelum diimpregnasi b) Zeolit setelah diimpregnasi

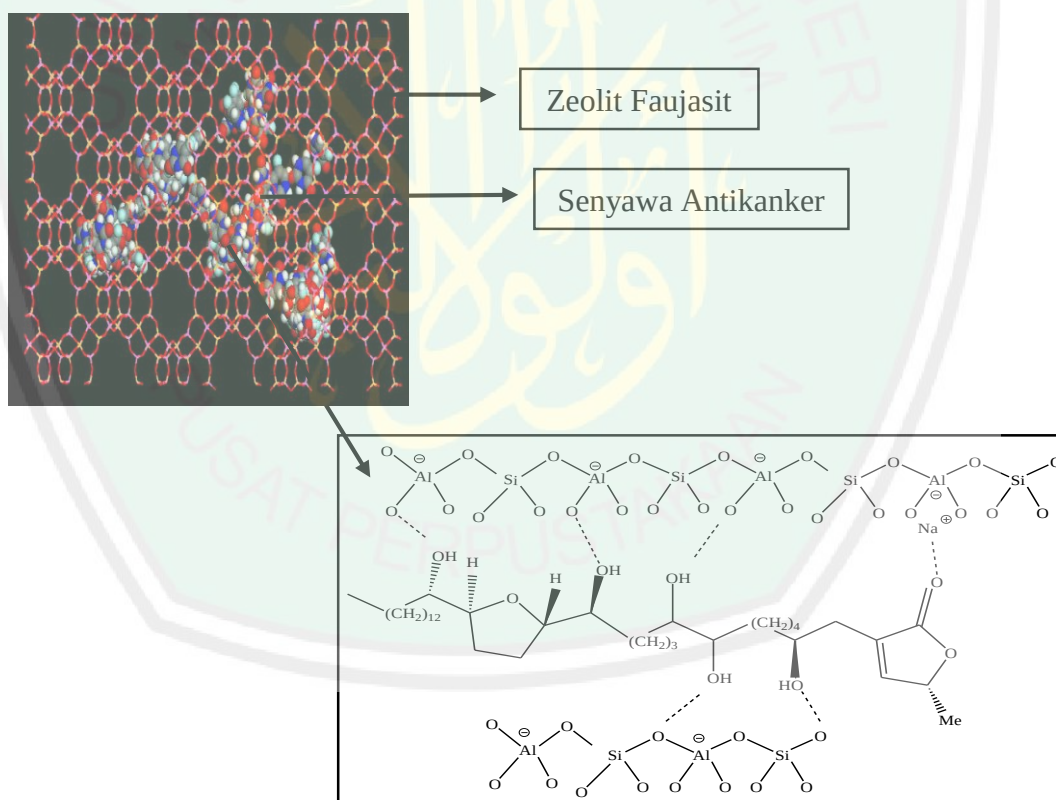
Ekstrak daun sirsak yang teremban pada zeolit NaX akan mengalami interaksi Van Der Waals berupa interaksi ion-dipol dan ikatan hidrogen. Tanaman sirsak telah terbukti menjadi sumber senyawa *annonaceous acetogenins*. Berikut beberapa contoh struktur senyawa aktif *annonaceous acetogenins* dalam ekstrak daun sirsak yang sudah diisolasi dan diidentifikasi, seperti pada Gambar 4.8.





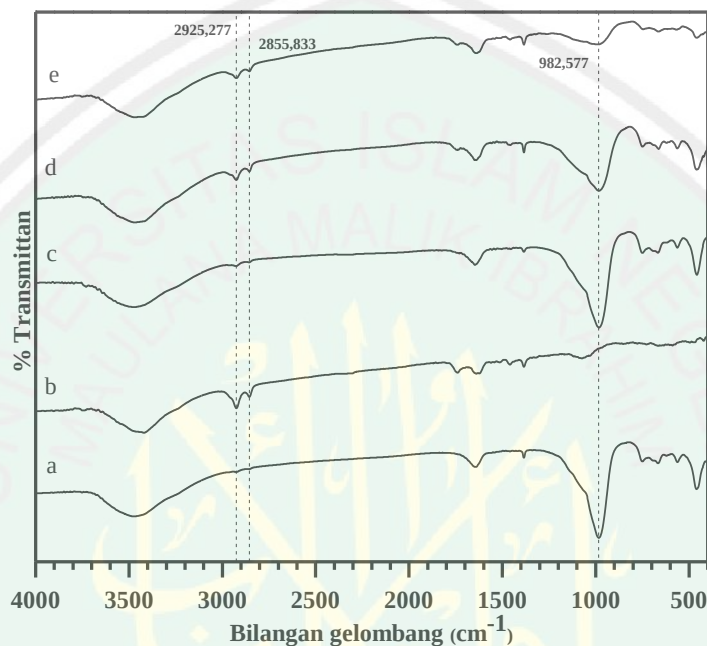
Gambar 4.8 Struktur senyawa aktif (a) Annomuricin A (b) Muricapentocin (c) Muricatocin C (d) Annopentocin B dalam ekstrak daun sirsak (Moghadamtsusi, dkk., 2015)

Berikut dugaan interaksi yang terjadi antara sebagian zeolit NaX dengan salah satu senyawa aktif *annonaceous acetogenins* (Annomuricin A) dalam ekstrak daun sirsak, seperti pada Gambar 4.9.



Gambar 4.9 Dugaan interaksi yang terjadi antara Annomuricin A dalam ekstrak daun sirsak dengan sebagian zeolit NaX

Keberhasilan pengembanan ekstrak daun sirsak pada zeolit NaX didukung dengan data hasil analisis menggunakan FTIR dengan membandingkan spektra zeolit NaX sebelum dan sesudah pengembanan. Spektra zeolit NaX, ekstrak daun sirsak dan sampel hasil impregnasi dapat ditunjukkan pada Gambar 4.10.



Gambar 4.10 Spektra FTIR pada sampel: a) Zeolit NaX, b) Ekstrak daun sirsak, c) Hasil Impregnasi 1:10; d) Hasil Impregnasi 5:10; e) Hasil Impregnasi 10:10

Spektra FTIR pada zeolit NaX sesudah pengembanan menunjukkan puncak serapan baru. Hal ini menunjukkan perubahan zeolit NaX ke dalam zeolit NaX yang teremban oleh ekstrak daun sirsak. Puncak serapan baru muncul pada bilangan gelombang $2925,277 \text{ cm}^{-1}$ yang menunjukkan serapan gugus $\text{Csp}_3\text{-H}$ (stretch) asym pada spektra ekstrak daun sirsak. Spektra tersebut tidak muncul pada spektra zeolit NaX (a). Selanjutnya daerah $2855,833 \text{ cm}^{-1}$ juga tidak muncul pada spektra (a) yang menunjukkan serapan $\text{-CH}_2\text{-}$ (stretch) sym ekstrak daun sirsak.

Pita vibrasi khas zeolit pada bilangan gelombang 982,577 cm^{-1} setelah dilakukan pengembanan ekstrak daun sirsak dengan perbandingan 1:10, 5:10, dan 10:10 (spektra c, d, dan e), semakin mengalami penurunan intensitas puncak. Hal ini memperkuat dugaan bahwa spektra khas zeolit yang semakin menurun, dikarenakan semakin banyaknya ekstrak yang diembankan. Berdasarkan perbedaan pita serapan pada sampel tersebut, maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun sirsak telah teremban ke dalam zeolit NaX. Interpretasi spektra FTIR sampel ditunjukkan dalam Tabel 4.2.

Tabel 4.3. Interpretasi spektra FTIR sampel zeolit NaX dan hasil pengembanan

No.	Bilangan gelombang (cm^{-1}) referensi	Zeolit NaX	Hasil pengembanan	Keterangan
1.	3600 – 3100	3471,373	3476,868	Regangan O-H
2.	3000 – 2800	-	2929,032	Csp ₃ -H (stretch) asym
3.	2870 – 2840	-	2859,314	-CH ₂ - (stretch) sym
4.	1650-1600	1643,185	1646,189	Tekukan H-O-H
5.	1020-970	982,577	982,047	Regangan asimetris O-T-O internal
6.	820-750	750,186	749,790	Regangan simetris O-T-O eksternal
7.	580-565	561,455	562,325	Cincin ganda
8.	500-420	461,102	458,778	Tekukan O-T-O (T= Si atau Al)

¹Flaningen (1991) ²Rios dkk (2009) ³Tafarel dan Rubio (2001) ⁴Socrates (1994)

4.5 Uji Aktivitas Antikanker

Uji aktivitas antikanker ini dilakukan secara *in-vitro* menggunakan metode MTT (*Microculture tetrazolium*). Prinsip uji MTT adalah mengukur aktivitas selular berdasarkan kemampuan enzim mitokondria reduktase pada mitokondria dalam mereduksi garam methylthiazol tetrazolium membentuk kristal formazan

berwarna biru (Mosman, 1983). Pengujian aktivitas antikanker melalui beberapa tahapan yaitu : 1) penyiapan sel kanker, 2) panen sel, 3) uji toksisitas, 4) pemberian reagen MTT, dan 5) pembacaan absorbansi.

Penyiapan sel dilakukan dengan menghidupkan kembali sel yang telah ditidurkan (inaktif sel) dan ditumbuhkan hingga mencapai konfluen dalam medium RPMI (*Roswell Park Memorial Institute*). Menurut Djati (2006), sel dikatakan konfluen apabila sel tersebut sudah menempel dan berkembang memenuhi wadah kultur. Medium RPMI adalah media yang baik untuk menumbuhkan sel kanker payudara T-47D untuk jangka pendek (Gusmita, 2010). Medium ini mengandung nutrisi yang cukup untuk pertumbuhan, yaitu asam amino, vitamin, garam-garam organik, glukosa, dan serum. Komposisi dari media kultur adalah FBS (*fetal bovine serum*) 10 %, penisilin-streptomisin 2 %, dan fungizone 0,5 % (antijamur) dan media RPMI ditambahkan sampai 100 %. Suplemen pertumbuhan sel dirangsang oleh FBS (*fetal bovine serum*) 10 %. Serum ini berasal dari serum sapi mengandung hormon yang memacu pertumbuhan sel. Adanya penambahan penisilin-streptomisin 2 % untuk mencegah kontaminasi mikroorganisme pada saat pengerjaan secara teknis sterilisasi.

Panen sel adalah penumbuhan dan pengembangbiakkan sel dengan penambahan media kultur dan dilakukan ketika sel sudah konfluen. Sel sebelum pemberian tripsin terlebih dahulu dilakukan pencucian dengan PBS (*Phosphate Buffered Saline*) untuk menghilangkan serum dalam media RPMI yang tertinggal. Serum ini dapat menghambat kerja tripsin (Freshney, 2000). Pemberian tripsin sebagai enzim protease yang akan melepaskan interaksi antara molekul glikoprotein dan proteoglikan dengan permukaan *flask*. Akibatnya sel akan kehilangan

kemampuannya untuk melekat pada permukaan *flask* dan terlihat mengapung (Doyle dan Griffith, 2000). Media RPMI ditambahkan untuk menginaktifkan sel serta dilakukan resuspensi dan diamati dibawah mikroskop *inverted*.

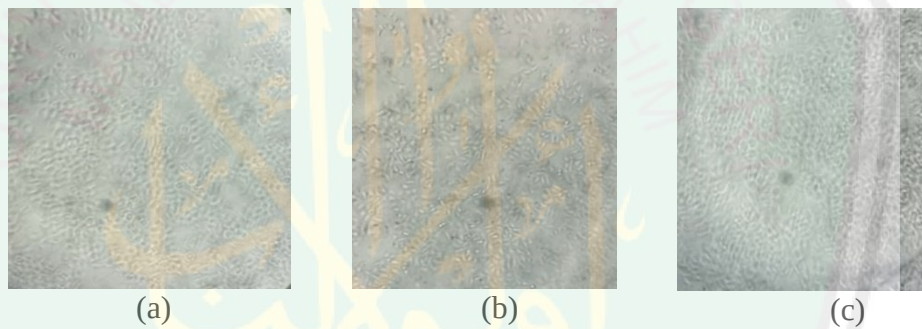
Penentuan jumlah volume panen sel dengan menggunakan tripan biru. Sel yang hidup tidak berwarna. Sedangkan sel yang mati akan berwarna biru karena mengalami kerusakan pada membran selnya, sehingga protein dalam sel keluar dan berikatan dengan tripan biru. Sel yang berada pada batas luar di sebelah atas dan kanan *hemacytometer* tidak dihitung. Sedangkan sel yang dihitung berada pada batas kiri dan batas bawah *hemacytometer*. Perhitungan sel dibantu dengan *counter* dibawah mikroskop *inverted* (terbalik). Syarat penghitungan sel dengan *hemacytometer* adalah sel harus berdiri sendiri tidak menggerombol (CCRC, 2009).

Jumlah suspensi sel kanker T-47D pada penelitian ini yang digunakan dalam kultur adalah 56×10^4 sel/mL. Jumlah sel tersebut diharapkan dapat bertahan hidup melewati siklus hidupnya dalam waktu inkubasi 24 – 48 jam. Penentuan waktu inkubasi 24 – 48 jam untuk mencegah berkurangnya ketersediaan nutrisi yang dikonsumsi oleh sel. Medium akan berfungsi maksimal dalam mengkultur sel kanker T-47D selama dua hari (Zarisman, 2006).

Uji toksisitas meliputi subkultur sel, preparasi sampel, dan *treatment* sel. Pada subkultur sel dilakukan pemindahan sel dari kondisi konfluen ke tempat yang lebih kosong. Sel yang diambil untuk dikultur kembali pada penelitian ini sejumlah 1,8 mL sel. Preparasi sampel meliputi penimbangan sampel, pelarutan sampel dengan dimetilsulfoksida (DMSO), dan penentuan konsentrasi.

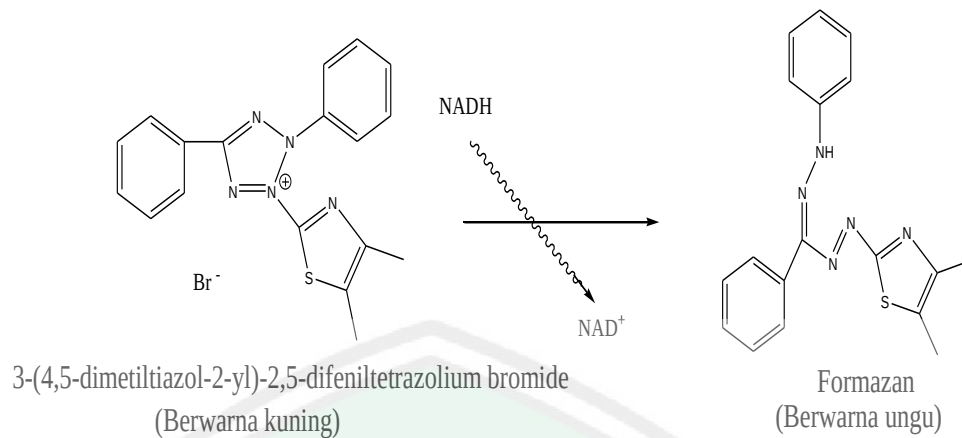
Treatment sel dilakukan selama 24 jam. Morfologi sel kanker payudara T-47D diamati pada konsentrasi 1000 $\mu\text{g/mL}$ dan 15,625 $\mu\text{g/mL}$ dibawah mikroskop

inverted setelah *ditreatment* menggunakan sampel. Jumlah sel mati pada konsentrasi 1000 $\mu\text{g/mL}$ lebih banyak dibandingkan dengan jumlah sel yang mati pada konsentrasi lebih rendah yaitu 15,625 $\mu\text{g/mL}$. Morfologi sel yang hidup jika diamati dengan mikroskop *inverted* berbentuk lonjong seperti jarum yang saling berdempet dengan sel lainnya dan dinding sel yang terlindungi sehingga terlihat bersinar dan menempel pada dasar wadah kultur. Sedangkan sel yang mati berbentuk bulat, berwarna gelap, tersebar, dan mengapung. Hal ini dapat dilihat pada Gambar 4.11 dan Lampiran 5.5.



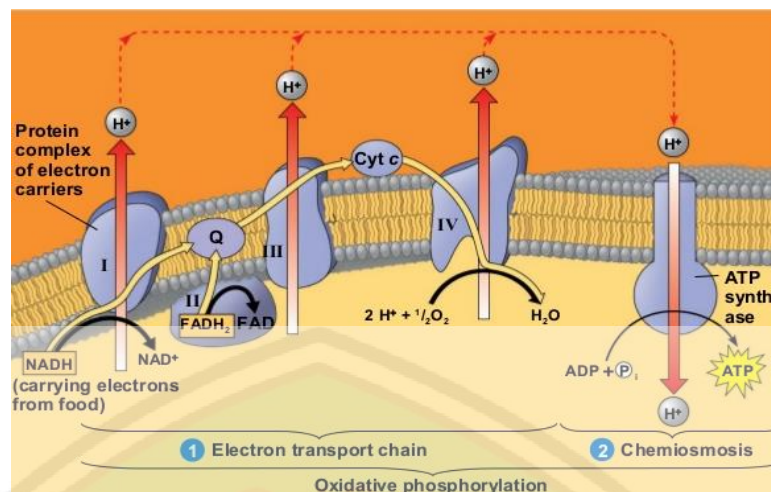
Gambar 4.11 Morfologi sel T-47D setelah di treatment (a) Sel kontrol (b) Sel + kombinasi (5:10) konsentrasi 1000 $\mu\text{g/mL}$ (c) Sel + kombinasi (5:10) konsentrasi 15,625 $\mu\text{g/mL}$

Kemampuan aktivitas antikanker dapat diketahui secara kasat mata dengan melihat perubahan warna setelah pemberian larutan MTT. Larutan MTT (kuning pucat) hanya bisa teradsorpsi oleh sel yang hidup dan akan mengalami perubahan warna menjadi ungu (formazan). Perubahan warna tersebut menunjukkan tidak adanya aktivitas antikanker. Sedangkan apabila tidak terjadi perubahan warna (kuning pucat) menunjukkan adanya aktivitas antikanker dari sampel uji. Reaksi reduksi MTT dapat dilihat pada Gambar 4.12.



Gambar 4.12 Reaksi reduksi MTT (Sukhramani, dkk., 2011)

Reduksi garam tetrazolium berkaitan dengan proses respirasi sel. Respirasi sel merupakan suatu proses pembentukan energi yang terdiri dari reaksi glikolisis, siklus asam sitrat (siklus Krebs), dan fosforilasi oksidatif (transpor elektron dan kemiosmosis). Reaksi glikolisis mengoksidasi gula melalui transfer elektron dari H^+ ke NAD^+ , membentuk NADH (reaksi redoks). Sedangkan pada siklus Krebs, suatu enzim mentransfer elektron-elektron yang terekstraksi ke NAD^+ , menyimpan energi dalam bentuk NADH. Setiap molekul NADH yang terbentuk selama respirasi merepresentasikan simpanan energi yang dapat diambil untuk membentuk ATP. Pembentukan ATP terjadi ketika NADH (nikotinamida adenosin dinukleotida hidrogen) dan $FADH_2$ (flavin adenin dinukleotida dihidrogen) yang diproduksi oleh reaksi glikolisis dan siklus asam sitrat meneruskan elektron ke rantai transpor elektron. Pada transpor elektron terjadi perpindahan elektron dari kompleks I hingga kompleks IV untuk menghasilkan energi yang berupa ATP (Campbell, dkk., 2008). Transpor elektron pada proses respirasi sel dapat dilihat pada Gambar 4.13.



Gambar 4.13 Transpor elektron pada proses respirasi sel (Campbell, dkk., 2008)

Perpindahan elektron dimulai dari kompleks I rantai transpor elektron yang dibantu oleh enzim NADH dehidrogenase (disebut juga NADH ubikuinon oksidoreduktase). Elektron yang dilepaskan oleh NADH ($\text{NADH} \rightarrow \text{NAD}^+$: reaksi oksidasi) ditransfer ke molekul pertama yang disebut flavoprotein karena memiliki gugus prostetik yang dinamakan FMN (flavin mononukleotida) sehingga flavin ini merupakan sisi aktif dari enzim tersebut. Elektron dari FMN diteruskan ke protein Fe-S (besi-sulfur), kemudian diteruskan ke senyawa yang disebut ubikuinon (senyawa non protein yang tidak menetap pada kompleks tertentu sebagai penyalur elektron dari kompleks I dan II, disimbolkan dengan huruf Q) (Campbell, dkk., 2008).

Suatu sumber elektron lain untuk rantai transpor elektron adalah FADH_2 yang terdapat dalam kompleks II. FADH_2 mendapatkan elektron dari kompleks I melalui ubikuinon yang akan mendepositkan elektronnya melalui kompleks II, sehingga lebih sedikit proton yang dipompakan ke ruang antarmembran mitokondria daripada NADH. Hal ini dikarenakan tingkat energi NADH lebih

tinggi daripada FADH_2 (Campell, 2008). Hal ini berkaitan dengan hasil penelitian Al-Araji, dkk. (2015) yang menunjukkan bahwa reduksi garam tetrazolium dihasilkan dari donor elektron utama yaitu NADH melalui rantai transpor elektron. Berridge, dkk. (2005) menyatakan bahwa NADH merupakan donor elektron utama dalam mereduksi garam tetrazolium yang dikatalis oleh enzim NADH dehidrogenase karena menurut Sanchez dan Konigsberg (2006), garam tetrazolium digunakan untuk mendeteksi aktivitas enzim dehidrogenase.

Kristal formazan merupakan zat berwarna ungu yang tidak larut dalam air dan tidak stabil dalam kondisi basa, sehingga ditambahkan natrium dodesil sulfat 10 % dalam HCl 0,1 N. Natrium dodesil sulfat 10 % dalam 0,1 N HCl sebagai penghambat pembentukan kristal sebelum dianalisis (A'illah, 2015). Reagen tersebut akan melisiskan membran sel sehingga kristal formazan dapat keluar dari sel dan melarutkan kristal formazan tersebut. Gambar struktur natrium dodesil sulfat dapat dilihat pada Gambar 4.14.



Gambar 4.14 Struktur natrium dodesil sulfat (Caligur, 2007)

Enzim NADH dehidrogenase bekerja maksimum pada pH antara 6,5 - 7. Enzim dapat berbentuk ion positif, ion negatif atau ion bermuatan ganda (*zwitter ion*). Struktur ion enzim tergantung pada pH lingkungannya yang berpengaruh

terhadap efektivitas bagian aktif enzim dalam membentuk kompleks enzim substrat. pH rendah atau pH tinggi dapat menyebabkan terjadinya proses denaturasi dan akan menyebabkan turunnya aktivitas enzim. Garam natrium dodesil sulfat adalah deterjen ionik yang mempunyai pH antara 9-11. Tingginya nilai pH dari garam ini dapat menurunkan aktivitas enzim NADH dehidrogenase, sehingga reagen natrium dodesil sulfat dapat menghentikan reaksi enzimatik dan menghambat pembentukan kristal formazan.

Natrium dodesil sulfat terdiri dari sisi hidrofilik (kepala) dan sisi hidrofobik (ekor). Garam ini dapat mendenaturasi polipeptida pada membran sel dengan proses interaksi gugus sulfat bermuatan negatif dengan muatan berlawanan rantai samping asam amino. Ekor hidrofobik dari natrium dodesil sulfat kemudian masuk ke dalam area hidrofobik protein dan mulai menghancurkan atau merusak struktur protein dalam membran sel sehingga kristal formazan dapat larut dan keluar dari sel.

Pengukuran absorbansi menggunakan ELISA reader pada panjang gelombang 595 nm. Penggunaan panjang gelombang 595 nm karena warna yang tampak pada larutan adalah ungu kebiruan yang akan menyerap warna kuning dari spektra sinar tampak (Effendy, 2007). Output data yang dihasilkan berkorelasi dengan viabilitas (kehidupan) sel. Apabila nilai absorbansi yang didapat semakin besar, menunjukkan semakin banyaknya jumlah sel hidup.

Perubahan warna yang terjadi dalam *plate 96 well* setelah pemberian garam natrium dodesil sulfat dapat diamati secara langsung dan jelas. Hal ini dapat dilihat pada Lampiran 5.4. Ekstrak tunggal daun sirsak pada konsentrasi 1000, 500, 250, dan 125 $\mu\text{g}/\text{mL}$ memiliki warna kuning cerah. Hal ini menunjukkan bahwa

keempat konsentrasi tersebut mempunyai persen hidup sel kanker dalam jumlah kecil atau sel kanker telah mati. Sedangkan pada konsentrasi 62,5; 31,25; dan 15,625 $\mu\text{g/mL}$ memiliki warna ungu muda. Hal ini menunjukkan bahwa pada konsentrasi tersebut persen hidup sel kanker masih dalam jumlah yang tinggi. Sehingga ekstrak daun sirsak ini berpotensi dengan baik sebagai penghambat pertumbuhan sel kanker pada konsentrasi tinggi.

Sampel zeolit NaX dan kombinasi ekstrak dengan zeolit pada perbandingan 1:10 menghasilkan perubahan warna menjadi ungu muda pada konsentrasi tinggi, dan ungu tua pada konsentrasi rendah. Hal ini menunjukkan bahwa pada kedua sampel tersebut mempunyai jumlah persen hidup sel kanker dalam jumlah besar, sehingga belum mampu menghambat pertumbuhan sel kanker payudara T-47D secara maksimal. Pada perbandingan 5:10, sampel mempunyai warna kuning cerah pada konsentrasi 1000, 500, 250, dan 125 $\mu\text{g/mL}$. Sedangkan pada kombinasi 10:10, sampel yang berwarna kuning cerah hanya terdapat pada konsentrasi 1000, 500 $\mu\text{g/mL}$. Hal ini menunjukkan bahwa kedua sampel hanya berpotensi menghambat pertumbuhan sel kanker payudara T-47D pada konsentrasi tinggi. Intensitas warna ungu yang dihasilkan oleh sampel hampir sama dengan kontrol sel, sehingga memiliki absorbansi yang saling berdekatan. Hal ini menunjukkan bahwa sampel masih mampu menghambat pertumbuhan sel kanker dalam jumlah kecil.

Nilai absorbansi yang diperoleh pada setiap sampel berbeda-beda. Nilai absorbansi pada ekstrak daun sirsak, zeolit NaX, kombinasi 1:10, 5:10, dan 10:10 masing-masing mempunyai nilai absorbansi pada rentang 0,138 – 0,456; 0,324 – 0,422; 0,277 – 0,384; 0,104 – 0,408 dan 0,093 – 0,449. Sedangkan untuk kontrol

sel mempunyai nilai absorbansi sebesar 0,454 serta untuk kontrol media sebesar 0,064. Berdasarkan hasil absorbansi yang telah didapatkan digunakan untuk menghitung persen hidup sel yang ditunjukkan pada Lampiran 4.2, dan dianalisis menggunakan metode statis untuk mengetahui nilai IC_{50} masing-masing sampel yang ditunjukkan pada Tabel 4.4.

Tabel 4.4 Nilai IC_{50} uji aktivitas antikanker

Sampel	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
Ekstrak daun sirsak	83,6
Zeolit NaX	1.807,087
Kombinasi ekstrak : zeolit (1:10)	1.699,802
Kombinasi ekstrak : zeolit (5:10)	67,343
Kombinasi ekstrak : zeolit (10:10)	292,804

Berdasarkan Tabel 4.4, hasil pengujian toksisitas dengan metode MTT dapat diketahui bahwa kombinasi ekstrak dan zeolit pada perbandingan 5:10 memiliki nilai IC_{50} terendah yaitu sebesar 67,343 $\mu\text{g/mL}$. Nilai IC_{50} pada kombinasi 5:10 lebih rendah dibandingkan dengan ekstrak tunggal daun sirsak. Semakin rendah nilai IC_{50} yang didapatkan, maka senyawa tersebut bersifat semakin toksik. Hal ini menunjukkan bahwa zeolit berpotensi sebagai sistem pembawa obat dan agen pengontrol pelepasan obat yang mampu mengemban ekstrak daun sirsak dengan baik sesuai dengan kapasitas pori zeolit.

Zeolit dalam dunia medis selain digunakan sebagai antikanker, juga dapat digunakan sebagai pengemban atau sistem pembawa obat (*Drug Delivery System*). Zeolit NaX pada penelitian ini mempunyai nilai IC_{50} sebesar 1.807,087 $\mu\text{g/mL}$. Nilai IC_{50} yang tinggi menunjukkan bahwa zeolit belum mampu menghambat pertumbuhan sel kanker. Akan tetapi zeolit NaX berfungsi sebagai pengemban.

Kombinasi pada perbandingan 1:10 dan 10:10 mempunyai efek toksisitas yang lebih rendah dengan didapatkan nilai IC_{50} yang lebih besar dibandingkan kombinasi 5:10. Nilai IC_{50} yang besar menunjukkan bahwa sampel belum mampu menghambat pertumbuhan sel kanker payudara T-47D dengan maksimal. Pengembanan pada kombinasi 5:10, jumlah yang diembankan setengah dari jumlah pengemban, sehingga pengembanannya maksimal. Ekstrak yang diembankan pada zeolit dapat meningkatkan efisiensi ekstrak dalam menghambat pertumbuhan sel kanker, dikarenakan zeolit dapat mengatur laju pelepasan ekstrak.

Nilai IC_{50} pada pengembanan 1:10 didapatkan sebesar 1.699,802 $\mu\text{g/mL}$. Nilai IC_{50} yang tinggi menunjukkan kinerja zeolit sebagai pengemban tidak maksimal, karena jumlah yang diembankan (ekstrak daun sirsak) sangat sedikit. Hal ini didukung dengan data FTIR pada Gambar 4.9 yang menunjukkan bahwa pengembanan pada perbandingan 1:10 masih didominasi oleh vibrasi zeolit NaX. Intensitas serapan pada pita vibrasi khas zeolit pada panjang gelombang 982,577 cm^{-1} juga masih mempunyai intensitas yang cukup tinggi.

Hasil nilai IC_{50} pada kombinasi 10:10 sebesar 292,804 $\mu\text{g/mL}$. Pita vibrasi khas zeolit pada kombinasi ini mempunyai intensitas yang sangat rendah (Gambar 4.9). Pada umumnya pengembanan, jumlah yang diembankan harus lebih sedikit agar maksimal kinerja zeolit, sehingga pada pengembanan 10:10 kontrol pelepasan ekstrak tidak maksimal.

Penelitian ini didukung oleh beberapa contoh penelitian yang menggunakan zeolit sebagai pengemban, antara lain pengemban obat kanker sintetis ke dalam kerangka zeolit. Zeolit sebagai pengemban obat memiliki beberapa keuntungan diantaranya dapat meningkatkan kemanjuran obat, menurunkan toksisitas, serta

obat akan dilepas dalam jalur dan laju yang terkontrol ke daerah kanker dan mencegah degradasi obat (Vilaca, dkk., 2013). Selain itu zeolit diketahui tidak memberikan efek toksik terhadap tubuh. Contoh lainnya yaitu pengembanan pupuk pada zeolit yang dapat mengontrol atau memperlambat laju pelepasan pupuk pada tanaman. Laju pelepasan yang terkontrol dapat mengoptimalkan penyerapan pupuk oleh tanaman dan mempertahankan keberadaan pupuk dalam tanah dibandingkan metode konvensional.

Menurut *National Cancer Institute* (NCI) dalam Rahmawati (2013), suatu ekstrak dinyatakan aktif memiliki aktivitas antikanker apabila memiliki nilai $IC_{50} < 30 \mu\text{g/mL}$, moderat aktif apabila memiliki nilai $IC_{50} < 100$, dan dinyatakan tidak aktif apabila nilai $IC_{50} > 100$. Berdasarkan hasil yang didapatkan, ekstrak tunggal daun sirsak dan ekstrak daun sirsak yang diembankan pada zeolit NaX dengan perbandingan 5:10 dikatakan moderat aktif terhadap sel kanker payudara T-47D. Sedangkan untuk zeolit NaX, kombinasi ekstrak daun sirsak dengan zeolit NaX pada perbandingan 1:10 dan 10:10 tidak mempunyai aktivitas antikanker terhadap sel payudara T-47D secara *in vitro* dengan metode *Microculture Tetrazolium Salt* (MTT).

4.6 Kajian Hasil Penelitian dalam Perspektif Islam

Al-Quran merupakan kalam Allah yang diturunkan kepada Nabi Muhammad SAW yang merupakan inti dari semua kitab-kitab Allah. Menurut tafsir An-Nuur bahwasannya Al-Quran berisi ilmu Allah yang meliputi segala sesuatu. Selain itu, dalam Al-Qur'an juga berisikan petunjuk, pokok-pokok hukum, politik,

ekonomi, peraturan, dan petunjuk dasar hukum bagi agama seperti sunnah, qias, dan ijma’.

Umat manusia dianjurkan untuk mencari ilmu Allah, yang satu diantaranya dengan melihat, memahami dan berpikir akan semua ciptaan Allah yang ada di langit dan di bumi. Allah SWT telah menciptakan tumbuh-tumbuhan di bumi ini yang sangat bermanfaat bagi kelangsungan hidup manusia, sebagaimana firman-Nya dalam Surah An-Nahl ayat 10-11:

هُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً لَكُمْ مِنْهُ شَرَابٌ وَمِنْهُ شَجَرٌ فِيهِ تُسِيمُونَ ﴿١٠﴾ يُنْبِتُ لَكُمْ بِهِ الزَّرْعَ وَالزَّيْتُونَ وَالنَّخِيلَ وَالْأَعْنَابَ وَمِنْ كُلِّ الثَّمَرَاتِ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً لِّقَوْمٍ يَتَفَكَّرُونَ ﴿١١﴾

Artinya:

“Dia-lah, yang telah menurunkan air hujan dari langit untuk kamu, sebahagiannya menjadi minuman dan sebahagiannya (menyuburkan) tumbuh-tumbuhan, yang pada (tempat tumbuhnya) kamu menggembalakan ternakmu. Dia menumbuhkan bagi kamu dengan air hujan itu tanam-tanaman; zaitun, kurma, anggur dan segala macam buah-buahan. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar ada tanda (kekuasaan Allah) bagi kaum yang memikirkan” (An-Nahl: 10-11).

Lafadz شَجَرٌ dalam bahasa Arab mempunyai arti yang luas, mencakup

setiap jenis tanaman, baik pepohonan maupun semak-semak. Ayat Al-Quran ini, menunjukkan pada nikmat material untuk membangkitkan rasa syukur manusia kepada Allah SWT dan menyerunya untuk mencapai pengenalan yang lebih luas tentang Dia yang Esa, yang telah menganugrahkan segenap nikmat itu kepadanya. Firman Allah, *“Dia menumbuhkan bagi kamu dengan air hujan itu tanam-tanaman; zaitun, kurma, anggur dan segala macam buah-buahan.* Hal ini harus diingat bahwa yang menumbuhkan, bukan menanam tumbuhan merupakan pekerjaan Allah, dan semua jenis buah-buahan diciptakan bagi manusia. Melihat dan

mengetahui saja tidaklah cukup, manusia perlu berpikir dan mengambil tindakan-tindakan yang patut sebagaimana firman Allah pada ayat selanjutnya, “*Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar ada tanda (kekuasaan Allah) bagi kaum yang memikirkan*” (Imani, 2005).

Manusia dengan kemampuan akal dan pikiran yang dimilikinya, dapat mengambil pelajaran dan manfaat terhadap segala ciptaan Allah SWT. Salah satunya memanfaatkan daun sirsak sebagai tanaman obat yang berpotensi sebagai antikanker. Firman Allah dalam surat An-Nahl ayat 10-11 diperkuat dengan hadis yang diriwayatkan oleh Imam Bukhari dan Imam Muslim, Rasulullah SAW. bersabda:

مَا أُنْزِلَ اللَّهُ دَاءً إِلَّا أَنْزَلَ لَهُ شِفَاءً

Artinya: “*Tidaklah Allah turunkan penyakit kecuali Allah turunkan pula obatnya.*” (HR. Imam Bukhari dan Imam Muslim, 10/134 nomer 5678).

Hadis yang diriwayatkan oleh Imam Bukhari dan Imam Muslim, dengan jelas menerangkan bahwa semua penyakit yang diturunkan oleh Allah pasti ada obatnya. Satu diantara penyakit yang mematikan di dunia adalah kanker. Penyakit kanker merupakan suatu penyakit yang pertumbuhannya cepat dan tak terkendali yang disebabkan oleh pertumbuhan sel-sel jaringan tubuh yang tidak normal dan akan menyebar ke jaringan sekitarnya serta menyerang organ-organ penting. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, ekstrak daun sirsak memiliki aktivitas sitotoksik dengan didapatkan nilai IC₅₀ sebesar 83,6 µg/mL yang menunjukkan bahwa ekstrak daun sirsak berpotensi dalam menghambat pertumbuhan sel kanker payudara (T-47D).

Material anorganik dewasa ini juga telah dieksplorasi sebagai aplikasi biomedis untuk pengobatan kanker dan sistem pembawa obat, satu diantaranya

adalah zeolit. Penggunaan zeolit sebagai pengemban dapat meningkatkan efektivitas obat atau senyawa antikanker dalam menghambat pertumbuhan sel kanker karena zeolit memiliki sifat adsorpsi yang dapat mengatur laju alir obat atau senyawa antikanker. Zeolit tidak hanya digunakan sebagai sistem pembawa obat, akan tetapi dapat digunakan sebagai katalis suatu reaksi, adsorben, dan penukar ion pada pemurnian air. Manusia sebagai makhluk yang paling sempurna yang dilengkapi dengan akal dan pikiran hendaknya selalu memikirkan akan ciptaan Allah SWT, satu diantaranya pemanfaatan zeolit sebagai sistem pembawa obat.

Allah SWT berfirman dalam Al-Qur'an surat Ali Imran ayat 190 – 191:

أَنَّ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَخِتَلَفِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ لَآ يَاتِ لِّأُولِي الْأَلْبَابِ ﴿١٩٠﴾
الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَامًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ
هَٰذَا بَطِلًا مُّبِينًا ﴿١٩١﴾

Artiya: “*Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan silih bergantinya malam dan siang terdapat tanda-tanda bagi orang-orang yang berakal, (yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata): "Ya Tuhan Kami, Tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia, Maha suci Engkau, Maka peliharalah Kami dari siksa neraka"*”.

Lafadz الْأُولَىٰ adalah jamak dari lafadz lubbun yang artinya adalah akal,

sehingga lafadz الْأُولَىٰ berarti orang-orang yang memiliki akal (Al Maraghi,

1993). *Ulul Albab* adalah orang-orang yang menggunakan pikirannya dalam mengambil faedah serta hidayah dari-Nya, memikirkan tentang kejadian langit dan bumi beserta manfaat dan rahasia yang terkandung didalamnya yang menunjukkan

betapa sempurnanya ilmu Allah, serta mampu mengambil hikmah dari segala ciptaan Allah (Al Maraghi, 1992).

Surah Ali Imran ayat 190 – 191 tersebut, menjelaskan bahwa semua ciptaan Allah SWT baik yang hidup maupun tak hidup yang ada di langit maupun di bumi dan seisinya memiliki manfaat bagi kemaslahatan manusia, tidak ada yang tidak berarti dan sia-sia. Manusia yang dilengkapi dengan akal dan pikiran hendaknya selalu memikirkan akan ciptaan Allah SWT, karena melalui berfikir dan merenungkan ciptaan Allah maka akan mendatangkan serta melahirkan ketauhidan, kecintaan kita kepada Allah dan akan memunculkan rasa syukur kita atas segala nikmat-Nya.

Satu diantara bentuk berfikir adalah dengan melakukan penelitian tentang pengembangan ekstrak daun sirsak pada zeolit NaX sebagai antikanker payudara T-47D. Tanaman sirsak banyak digunakan sebagai obat tradisional berbagai penyakit, terutama penyakit kanker. Selain itu, zeolit sintesis juga memiliki manfaat sebagai sistem pembawa obat yang efisien. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian untuk membuktikan bahwa kedua ciptaan Allah SWT ini tidak sia-sia dan memiliki manfaat yang penting dalam dunia medis.

Penelitian ini telah membuktikan bahwa ekstrak daun sirsak yang diembankan pada zeolit NaX mampu menghambat pertumbuhan sel kanker payudara (T-47D) lebih baik dibandingkan ekstrak tunggal daun sirsak. Hasil pengembangan yang paling efektif yaitu pada perbandingan 5:10 dengan nilai IC_{50} sebesar 67,343 $\mu\text{g/mL}$. Sedangkan ekstrak tunggal daun sirsak dan zeolit NaX masing-masing mempunyai nilai IC_{50} berturut-turut sebesar 83,6 $\mu\text{g/mL}$ dan

1.807,087 $\mu\text{g/mL}$. Berdasarkan penelitian ini telah membuktikan bahwa Allah SWT menciptakan segala sesuatu di alam ini tidaklah sia-sia.



BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Pengembangan obat atau senyawa antikanker pada zeolit dapat meningkatkan efektivitas obat atau senyawa dalam menghambat pertumbuhan sel kanker. Ekstrak etanol daun sirsak yang diimbaskan pada zeolit NaX dengan perbandingan 1:10, 5:10, dan 10:10 menggunakan metode impregnasi kering sebagai antikanker sel payudara (T-47D) mempunyai nilai IC_{50} secara berturut-turut sebesar 1.699,802 $\mu\text{g/mL}$, 67,343 $\mu\text{g/mL}$, dan 292,804 $\mu\text{g/mL}$. Hasil pengembangan pada perbandingan 5:10 lebih efektif menghambat pertumbuhan sel kanker payudara (T-47D) dengan nilai IC_{50} sebesar 67,343 $\mu\text{g/mL}$ dibandingkan ekstrak tunggal daun sirsak (*Annona muricata* Linn.) sebesar 83,6 $\mu\text{g/mL}$.

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang laju alir pelepasan ekstrak yang teremban dalam zeolit.
2. Perlu dilakukan uji biokompatibilitas pada zeolit.

DAFTAR PUSTAKA

- A'ilah, A. F. 2015. Uji Aktivitas Antikanker Terhadap Sel Kanker Payudara T47D dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktif dari Ekstrak dan Fraksi Akar Rumpun Bambu (*Lophatherum gracile* Brongn). *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia FSAINTEK UIN Malang.
- Aka, J. A., dan Lin, S. 2012. Comparison of Functional Proteomic Analyses of Human Breast Cancer Cell Lines T47D and MCF7. *PLoS ONE*, 7(2): 1-10.
- American Cancer Society. 2011. *Global Cancer Facts and Figures 2nd Edition*. Atlanta: American Cancer Society.
- American Cancer Society. 2015. *Cancer Facts and Figures 2016*. Atlanta: American Cancer Society.
- American Cancer Society. 2016. *Cancer Facts and Figures 2016*. Atlanta: American Cancer Society.
- Amorim, R., Vilaca, N., Martinho, O., Reis, R. M., Sardo, M., Rocha, J., Fonseca, A. M., Baltazar, F., Neves, I. C. 2012. Zeolite Structures Loading with an Anticancer Compound as Drug Delivery Systems. *Journal of Physical Chemistry C*, 116: 25642-25650.
- Al-Araji, Y.H., Shneine, J.K., Ahmed A.A. 2015. Chemistry of Formazan. *International Journal of Research in Pharmacy and Chemistry*, 5(1): 41-76.
- ATCC (American Type Culture Collection). 2008. *Cell Biology*. [http://www.atcc.org/ATCCAdvancedCatalogSearch/Product Details/ tabid/ 452/ Cell Biology](http://www.atcc.org/ATCCAdvancedCatalogSearch/Product%20Details/tabid/452/Cell%20Biology). Diakses pada tanggal 05 November 2016.
- Baerlocher, C. M. 2007. *Atlas of Zeolite Framework Types Fifth Revised Edition*. Elsevier.
- Baraja, M. 2008. Uji Toksisitas Ekstrak Daun *Ficus elastic nois ex lume* Terhadap Artemiasalina Leach dan Profil Kromatografi Lapis Tipis. *Skripsi*. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Baskar, R., Rajeswari, V., dan Kumar, T. S. 2007. In Vitro Antioxidant Studies in Leaves of *Annona* Species. *Indian Journal of Experimental Biology*, 45: 480-485.
- Basmal, J. A. 2009. Memacu Inovasi Teknologi Pengolahan Produk dan Bioteknologi dalam Meningkatkan Nilai Tambah dan Daya Saling Produk Kelautan dan Perikanan. Di dalam: Seminar Nasional Inovasi Teknologi Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan III. *Prosiding Seminar Nasional Inovasi Teknologi Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan III 2009*; Jakarta, ISBN 978-602-96199-6-6.

- Berridge, M.V., Herst, P.M., Tan, A.S. 2005. Tetrazolium Dyes as Tools in Cell Biology: New Insights into Their Cellular Reduction. *Biotechnology Annual Review*, 11. ISSN: 1387-2656.
- Burdall, S. E., Hanby, A. M., Lansdown, M. R. J., dan Speirs, V. 2003. Breast Cancer Lines: Friend or Foe?. *Breast Cancer Research*. 5: 89-95.
- Burgess, G. W. 1995. *Prinsip Dasar ELISA dan Variasi Konfigurasinya*. Dalam G. W. Burgess (ed). *Teknologi ELISA dalam Diagnosis dan Penelitian*. Terjemahan oleh Dr. drh. Wayah T. Artama. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada Press.
- Caligur, V. 2007. Detergent Properties and Applications, *BioFiles*, 3(3):14.
- Campbell, N.A., Reece, J.B., Urry, L.A., Cain, M.L., Wasserman, S.A., Minorsky, P.V., Jackson, R.B. 2008. *Biologi Edisi Kedelapan Jilid 1*. Jakarta: Penerbit Erlangga.
- CCRC (Community College Research Center). 2009. *Prosedur Tetap Uji Sitotoksik Metode MTT*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi, UGM.
- Chandra, A., Hie, M.I. dan Verawati. 2013. *Pengaruh pH dan Jenis Pelarut pada Perolehan dan Karakterisasi Pati dari Biji Alpukat*. Bandung: Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Universitas Katolik Parahyangan.
- Ciulei, J. 1984. *Methodology for Analysis of Vegetables and Drugs*. Bucharest Rumania: Faculty of Pharmacy. Pp. 11-26.
- Crowther. 2001. *The ELISA Guidebook*. New Jersey: Humana Press.
- Datt, A. 2012. Applications of Mesoporous Silica and Zeolites for Drug Delivery. *Thesis*. Iowa: The Doctor of Philosophy Degree in Chemistry University of Iowa.
- De Sousa, O. V., Vieira, G. D-V., Pinho, Jose De Jesus R. G. De., Yamamoto, C. H., dan Alves, M. S. 2010. Antinociceptive and Anti-Inflammatory Activities of the Ethanol Extract of *Annona muricata* L. Leaves in Animal Models. *International Journal of Molecular Sciences*, 11: 2067-2078.
- De Souza, E. B. R., Da Silva, R. R., Afonso, S., dan Scarminio, I. S. 2009. Enhanced Extraction Yields and Mobile Phase Separations by Solvent Mixtures for the Analysis of Metabolites in *Annona muricata* L. Leaves. *Journal Sep. Sciences*, 32: 4176-4185.
- Departemen Kesehatan. 2015. *Pusat Data dan Informasi*. Jakarta Selatan: Departemen Kesehatan RI.
- Diananda, R. 2009. *Panduan Lengkap Mengenal Kanker*. Yogyakarta: Mirza Media Pustaka.
- Djati, M.S. 2006. *Teknologi Manipulasi dan Kultur Sel Jaringan Hewan*. Malang: UB Press.
- Doyle, A., Griffiths, J.B., dan Newell, D.G. 2000. *Cell and Tissue Culture: Laboratory Procedures*. Edisi ke III. New York: John Wiley and Son.

- Effendy. 2007. *Kimia Koordinasi Jilid I*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Negeri Malang.
- Freshney, L.A. 2000. *Culture of Animal Cells. A Manual of Basic Technique*. Edisi ke IV. Toronto: Willey-Liss.
- Gavamukulya, Y., Abou-Elella, F., Wamunyokoli, F., dan AEl-Shemy, H. 2014. Phytochemical Screening, Anti-Oxidant Activity and In Vitro Anticancer Potential of Ethanolic and Water Leaves Extracts of *Annona muricata* (Graviola). *Journal Tropical Medicine*, 7(Suppl 1), S355-S363.
- Georgiev, D. Bogdanov, B. Markovska, I. and Hristov, Y. 2013. A Study on the Synthesis and Structure of Zeolite NaX. *Journal Chemical Technology and Metallurgy*, 48: 168-173.
- Ghazi, N. A., Hussain, K. 'Izzati A., Malek, N. A. N. N., dan Hamdan S. 2013. The Effects of Zeolite X and Y on Cancer Cell Lines. *Journal of Science and Technology*, 33-40.
- GLOBOCAN. 2012. Estimated Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide in 2012. Available: http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_cancer.aspx.
- Gorman, J. S. 2006. Transition Metal-Mediated Cyclizations and Synthesis of *Annonaceous Acetogenin* Analogs. *Dissertation*. Austin: Faculty of the Graduate School of The University of Texas at Austin.
- Gusmita, D. 2010. Uji Sitotoksitas Ekstrak Etanol Spons *Callyspongia sp.* dan Fraksi-fraksinya terhadap Sel Lestari Tumor Hela. *Skripsi*. Semarang: Universitas Diponegoro.
- Haag, W.O. 1984. *Catalysis by Zeolite Science and Technology in Zeolite: Related Microporous Materials*. Amsterdam: Elsevier.
- Halimah, N. 2010. Uji Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Tanaman Anting-anting (*Acalypha indica* Linn.) Terhadap Larva Udang (*Artemia salina* Leach). *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim
- Harbone, J.B. 1994. *Metode Fitokimia: Penentuan Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Terjemahan Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro. Bandung: ITB.
- Harborne, J.B. 2006. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Edisi IV*. Terjemahan Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro. Bandung: ITB.
- Hidayat, M.B.C. 2004. Identifikasi Senyawa Flavonoid Hasil Isolasi dari Propolis Lebah Madu *Apis mellifera* dan Uji Aktifitasnya sebagai Antijamur *Candida albicans*. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia FMIPA Universitas Brawijaya.
- Imani, A. K. F. 2005. *Terjemahan Tafsir Nurul Quran*. Jakarta: Al-Huda.
- Indrayani, L., Soetjipto, H. dan Sihasale, L. 2006. Skrining Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Daun Pencut Kuda (*Stachytarpheta jamacensis* L.

- Vahl) Terhadap Larva Udang *Artemia salina* Leach. *Journal of Science*, 12: 57-61.
- Al-Jazairi, Syaikh Abu Bakar Jabir. 2008. *Terjemahan Tafsir Al-Qur'an Al-Aisar Jilid 7*. Jakarta Timur: Darus Sunnah Press.
- Kedari, T. S., dan Khan, A. A. 2014. Guyabano (*Annona muricata*): A Review of Its Traditional Uses Phytochemistry and Pharmacology. *American Journal of Research Communication*, 2(10): 247-268.
- Kojima, N., dan Tanaka, T. 2009. Medicinal Chemistry of *Annonaceous Acetogenins*: Design, Synthesis, and Biological Evaluation of Novel Analogues. *Molecules*, 14: 3621-3661.
- Laila, A. K. 2016. Uji Aktivitas Antikanker Payudara T47D Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn) yang Diembankan pada Zeolit NaX. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia FSAINTEK UIN Malang.
- Lee, J. R. 2008. *Kanker Payudara Pencegahan dan Pengobatannya*. Jakarta: Daras Books.
- Luna, J. D. S., Carvalho, J. M. De, Lima, M. R. F. De, Bieber, L. W., Bento, E. D. S., Franck, X., dan Sant'ana, A. E. G. 2006. *Acetogenins* in *Annona muricata* L. (*Annonaceae*) Leaves are Potent Molluscicides. *Natural Product Research*, 20(3): 37-41.
- Manurung, T. W., Sunardi, Utami, I. 2011. The Effect of NaOH Concentration towards Characteristic of Zeolite Synthesized from kaolin of South Borneo. *Sains dan terapan Kimia*, 5: 76-83.
- Al Maraghi, A. M. 1992. *Terjemahan Tafsir Al-Maraghi*. Semarang: CV. Toha Putra.
- Al Maraghi, A. M. 1993. *Terjemahan Tafsir Al-Maraghi*. Semarang: CV. Toha Putra.
- Mardiana, L. 2011. *Kanker pada Wanita Pencegahan dan Pengobatan dengan Tanaman Obat*. Bogor: Penerbit Swadaya.
- Marliana, S. D., Venty S., dan Suyono. 2005. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule* Jacq. Swartz.) dalam Ekstrak Etanol. *Jurnal Biofarmasi*, 3(1): 26-31.
- Meiyanto, E., Susidarti, R. A., Handayani, S., dan Rahmi, F. 2008. Ekstrak Etanolik Biji Buah Pinang (*Areca catechu* L.) Mampu Menghambat Proliferasi dan Memacu Apoptosis Sel MCF-7. *Majalah Farmasi Indonesia*, 19(1): 12-19.
- Meiyanto, M. K. 1999. Targeted Disruption of the Microsomal Epoxide Hydrolase Gene. *The Journal of Biological Chemistry*, 274: 23963-23968.
- Mishra, S., Ahmad, S., Kumar, N., Sharma, B.K. 2013. *Annona muricata* (The Cancer Killer): A Review. *Glob. Journal Pharm. Research*, 2: 1613-1618.
- Moghadamtousi, S. Z., Fadaeinasab, M., Nikzad, S., dan Mohan, G. 2015. *Annona muricata* (*Annonaceae*): A Review of Its Traditional Uses, Isolated

Acetogenins and Biological Activities. International Journal of Molecular Sciences, 16: 15625-15658.

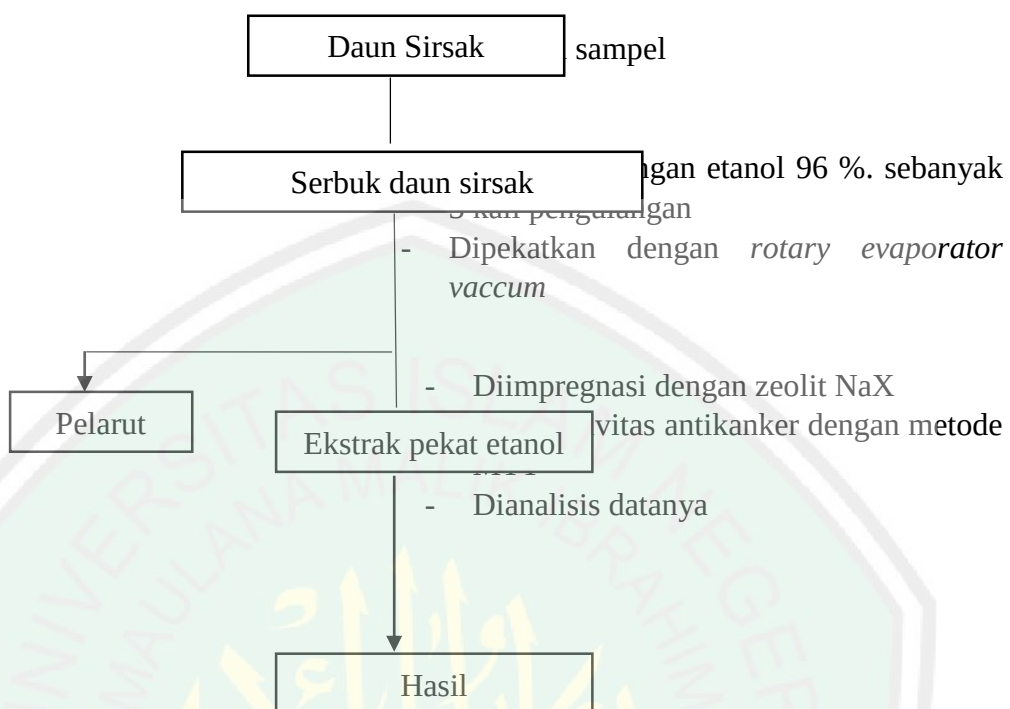
- Morshed, H., Islam, Md.s, Parvin, S., Uddin, M.A., Mostofa, A.G.M., dan Sayyed, S.B. 2012. Antimicrobial and Cytotoxic Activity of the Methanol Extract of (*Peaderia foetida* Linn). *Journal of Applied Parmaceutical Science*, 2(1): 77-80.
- Mosman, T. 1983. Rapid Colorimetric Assay for Cellular Growth and Survival: Application to Proliferation and Cytotoxicity Assays. *Journal of Immunological Method*, 16(1-2): 55-63.
- Mozgawa, W., Krol, M., dan Barczyk, K., 2011, FT-IR Studies of Zeolites from Different Structural Groups, *CHEMIK*, 65, 667-674.
- Padmi, A. 2008. Uji Sitotoksik Ekstrak Etanol 70 % Buah Kemukus (*IPiper Cubeba* L.) Terhadap Sel Hela. Surakarta: Fakultas Farmasi UNMUH Surakarta.
- Pamilih, H. 2009. Uji sitotoksik ekstrak etil asetat Herba Bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) terhadap sel kanker payudara (T-47D) dan profil Kromatografi Lapis Tipis. *Skripsi*. Surakarta: Universitas Muhammadiyah.
- Pavelic, K., Hadzija, M., Bedrica, L., Pavelic, J., Dikic, I., Katic, M., Kralj, M., Bosnar, M.H., Kapitanovic, S., Poljak-Blazi, M., Krizanac, S., Stojkovic, R., Jurin, M., Subotic, B., dan Colic, M. 2003. Natural Zeolite Clinoptilolite: New Adjuvant in Anticancer Therapy. *Journal Mol. Med.*, 78: 708-720.
- Rachmani, E. P. N., Suhesti, T. S., Widiastuti, Retno, dan Aditijono. 2012. The Breast of Anticancer from Leaf Extract of *Annona muricata* Againsts Cell Line in T47D. *International Journal of Applied Science and Technology*, 2(1): 157-164.
- Rahmawati, E., Sukardiman, dan Muti, A.F. 2013. Aktivitas Antikanker Ekstrak n-Heksana dan Ekstrak Metanol Herba Pacar Air (*Impatiens balsamina* L.) terhadap Sel Kanker Payudara T47D. *Media Farmasi*, 10(2): 47 – 55.
- Retnani, V. 2011. *Pengaruh Suplementasi Ekstrak Daun Annona muricata Terhadap Kejadian Displasia Epitel Kelenjar Payudara Tikus Sprague Dawley Yang Diinduksi 7,12 Dimethylbenz[a]anthracene*. Semarang: UNDIP Press.
- Ribiero, R.F., Ridrigues, A.E., dan Rollman, L.D. 1984. *Zeolites: Science and Technology*. Netherland : Martinus Nijhoff Publishers.
- Rimoli, M. G., Rabaioli, M. R., Melisi, D., Curcio, A., Mondello, S., Mirabelli, R., dan Abignente, E. 2007. Synthetic Zeolites as a New Tool for Drug Delivery. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 87: 156-164.
- Rohmah, N. N. 2016. Uji Aktivitas Antikanker Ekstrak Akar Rumpun Bambu (*Lophatherum Gracile* B.) yang Diembankan Pada Zeolit NaX Terhadap Sel Kanker Payudara (T47D). *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia FSAINTEK UIN Malang.

- Rossidy, I. 2008. *Fenomena Flora dan Fauna dalam Perspektif Al-Qur'an*. Malang: UIN Press.
- Sanchez, N. Silvia dan Konigsberg, Mina. 2006. Using Yeast to Easily Determine Mitochondrial Functionality with 1-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-3,5-diphenyltetrazolium Bromide (MTT) Assay. *Biochemistry and molecular biology education*, 34(3): 209–212.
- Santos, A. F. dos, dan Sant'Ana, A. E. G. 2001. Molluscicidal Properties of Some Species of *Annona*. *Phytomedicine*, 8(2): 115-120.
- Sastrodiharjo, S., Kim, G., Zeng, L., Alali, F., Rogers, L., Wu, F., McLaughlin, J. 1997. Two New Mono-Tetrahydrofuran Ring Acetoginins, *Annomuricin E* and *Muricapentocin*, from the Leaves of *Annona muricata*. *Journal Natural Products*, 61(4): p.432-6.
- Setyowati, dkk., 2014. Skrining Fitokimia dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Metanol Kulit Durian (*Durio zibethinus* Murr.) Varietas Petruk. *Prosiding Seminar Nasional Kimia dan Pendidikan Kimia VI*. Surakarta: Universitas Sebelas Maret.
- Ash-Shiddieqy, Hasbi. 2000. *Tafsir Al-Qur'anul majid An-Nur*, Jilid 2. Cetakan Kedua. Edisi Kedua. Semarang: Pustaka Rizki Putra.
- Shihab, Q. 2002. *Tafsir Al-Mishbah Pesan, Kesan, dan Keserasian Al-Qur'an*. Vol.7 dan 10. Jakarta: Penerbit Lentera Hati.
- Sibilia, P. 1996. *Guide to Material Characterization and Chemical Analysis*, 2nd Edition. New York: John Willey-VCH.
- Soebagio. 2003. *Kimia Analitik II*. Malang: UM Press.
- Spanakis, M., Bouropoulos, N., Theodoropoulos, D., Sygellou, L., Ewart, S., Moschovi, A. M., Siokou, A., Niopas, I., Kachrimanis, K., Nikolakis, V., Cox, P.A., Vizirianakis, I.S., Fatouros, D. G. 2013. Controlled Release of 5-Fluorouracil from Microporous Zeolites. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, 1–9.
- Sudiyono, D.A. 2016. Sintesis dan Karakterisasi Zeolit NaY sebagai Pengembangan Senyawa Antikanker Hasil Ekstrak Etanol Akar Rumpun Bambu (*Lophatherum gracile* Brongn). *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia FSAINTEK UIN Malang.
- Sukhramani, Prakash S., Sukhramani, Poonam S., Tirthani, S.R., Desai, S.A., Suthar, M.P. 2011. Biological cytotoxicity evaluation of spiro[azetidine-2, 3'-indole]-2', 4(1'H)-dione derivatives for anti-lung and anti-breast cancer activity. *Der Pharmacia Lettre*, 3(5): 236-243.
- Sunarjono, H. 2005. *Sirsak Srikaya*. Bogor: Penerbit Swadaya.
- Tambunan. 2003. *Diagnosis dan Tata laksana Sepuluh Jenis Kanker di Indonesia*. Jakarta: EGC.
- Thammavong, S. 2003. Studies of Synthesis, Kinetics and Particle Size of Zeolite X from Narathiwat Kaolin. *Thesis*. Laos: Suranaree University of Technology.

- Treacy, M. d. 2001. *Collection of Simulated XRD Powder Patterns for Zeolites*, 4th ed. New York: Elsevier Science Publishers B.V.
- Vilaca, N., Amorim, R., Machado, A. F., Parpot, P., Pereira, M. F. R., Sardo, M., Rocha, J., Fonseca, A. M., Neves, I. C., Baltazar, F. 2013. Potentiation of 5-Fluorouracil Encapsulated in Zeolites as Drug Delivery Systems for In Vitro Models of Colorectal Carcinoma. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 112: 237-244.
- Vilaca, N., Amorim, R., Martinho, O., Reis, R. M., Baltazar, F., Fonseca, A. M., dan Neves, I. C. 2011. Encapsulation of a -cyano-4-hydroxycinnamic Acid into a NaY Zeolite. *Journal Mater Sci*, 46: 7511-7516.
- Villo, P. V. 2008. Synthesis of *Acetogenin* Analogues. *Master Thesis in Organic Chemistry*. University of Tartu.
- Widyaningrum, Herlina. 2012. *Sirsak si Buah Ajaib 10.000x Lebih Hebat dari Kemoterapi*. Yogyakarta: MedPress.
- Yeom, Y. H., Jang, S. B. dan Kim, Y. 1997. Three Crystal Structures of Vacuum-Dehydrated Zeolite X, $M_{46}Si_{100}Al_{92}O_{384}$, $M=Mg^{2+}$, Ca^{2+} and Ba^{2+} . *Journal Physics Chemistry B.*, 101: 6914-6920.
- Zarisman, S. Z. 2006. Potensi Ilmu Nomodulator Bubuk Kakao Bebas Lemak sebagai Produk Substandar secara *In Vitro* pada Sel Limfosit Manusia. *Skripsi*. Bogor: Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor.

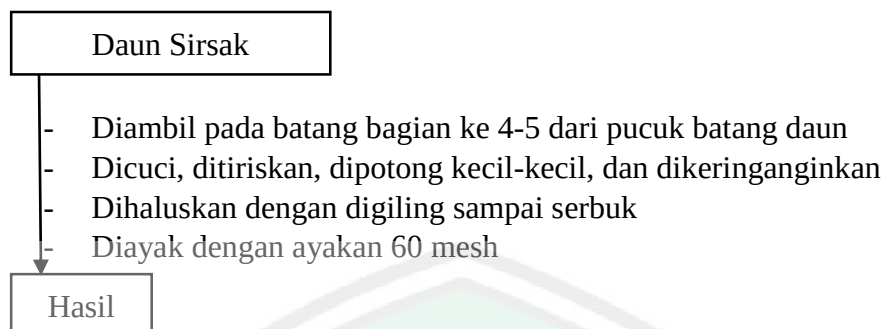
LAMPIRAN

Lampiran 1. Tahapan Penelitian

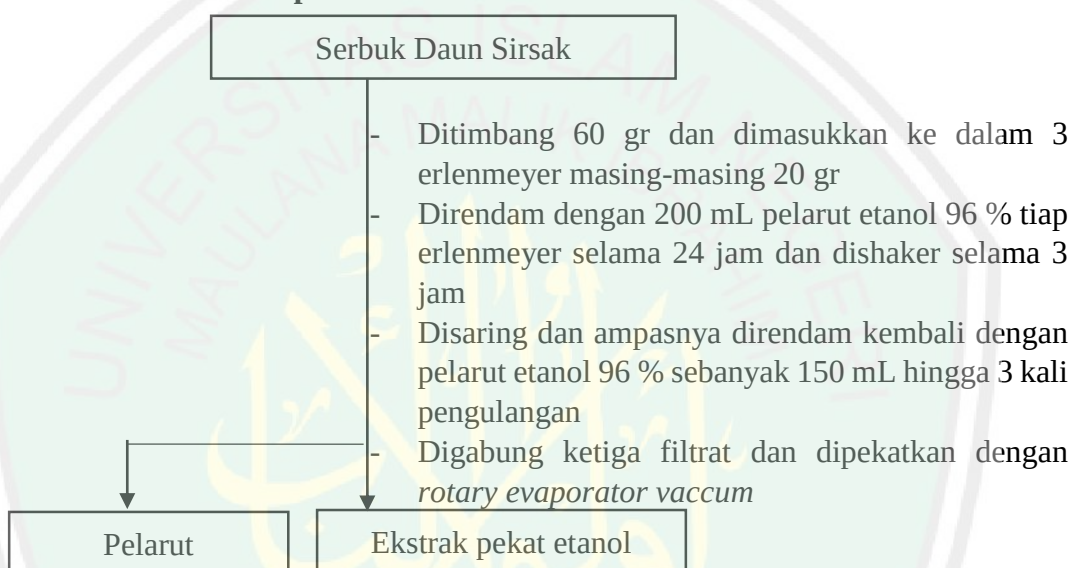


Lampiran 2. Skema Kerja

L.2.1 Preparasi Sampel

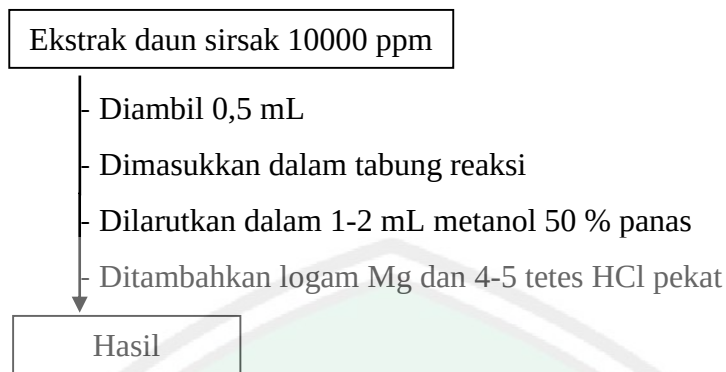


L.2.2 Ekstraksi Komponen Aktif



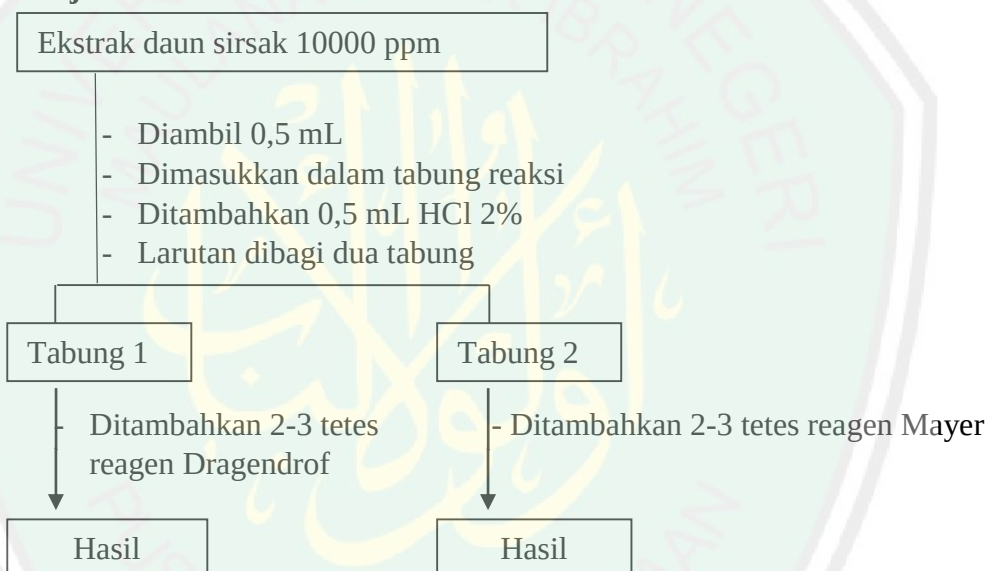
L.2.3 Uji Fitokimia dengan Reagen (Indrayani, dkk., 2006)

L.2.3.1 Uji Flavonoid



*Hasil positif dari uji flavonoid apabila larutan berwarna merah atau jingga

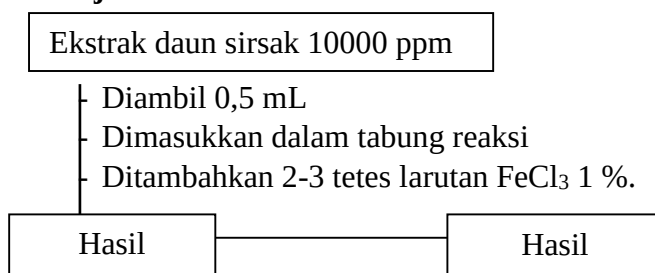
L.2.3.2 Uji Alkaloid



*Hasil positif uji alkaloid dengan penambahan reagen dragendrof, apabila terbentuk endapan berwarna merah atau jingga

*Hasil positif uji alkaloid dengan penambahan reagen mayer, apabila terbentuk endapan berwarna putih atau kekuning-kuningan

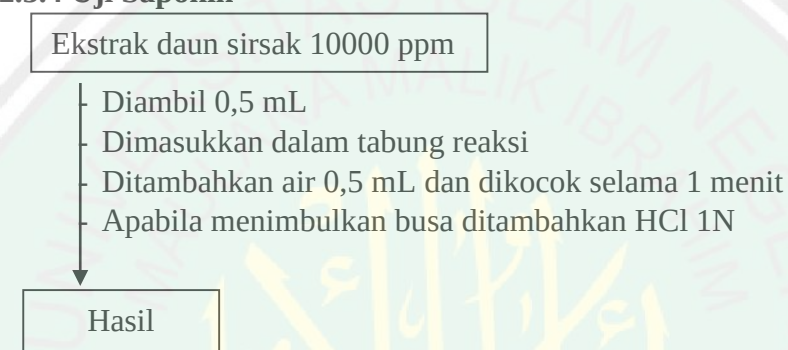
L.2.3.3 Uji Tanin



*Apabila larutan berwarna biru kehitaman menunjukkan adanya tanin galat

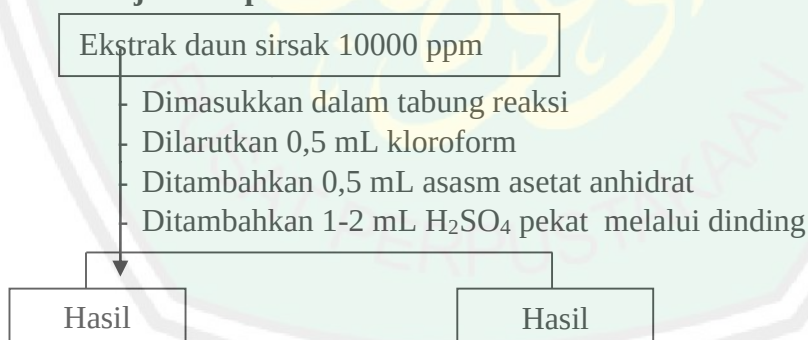
*Apabila larutan berwarna hijau kehitaman menunjukkan adanya tanin katekol

L.2.3.4 Uji Saponin



*Hasil positif dari saponin apabila terbentuk busa kurang lebih 10 menit

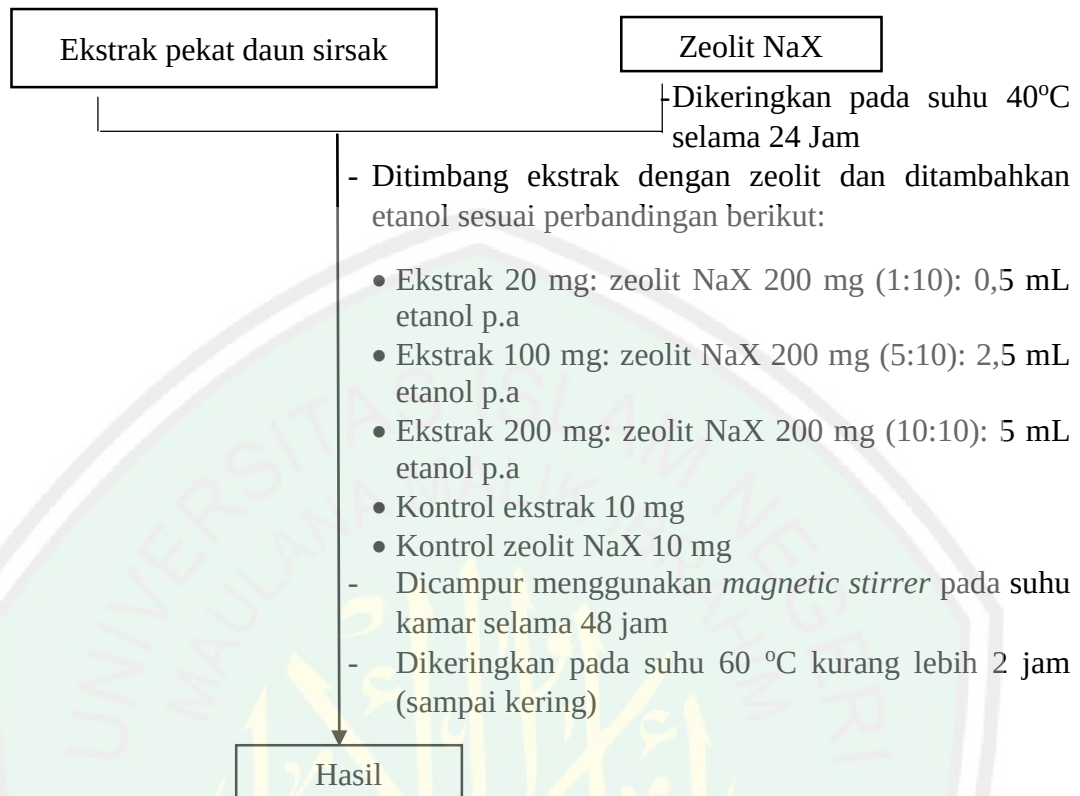
L.2.3.5 Uji Triterpenoid atau Steroid



*Hasil positif dari terpenoid apabila terbentuk cincin kecoklatan atau violet

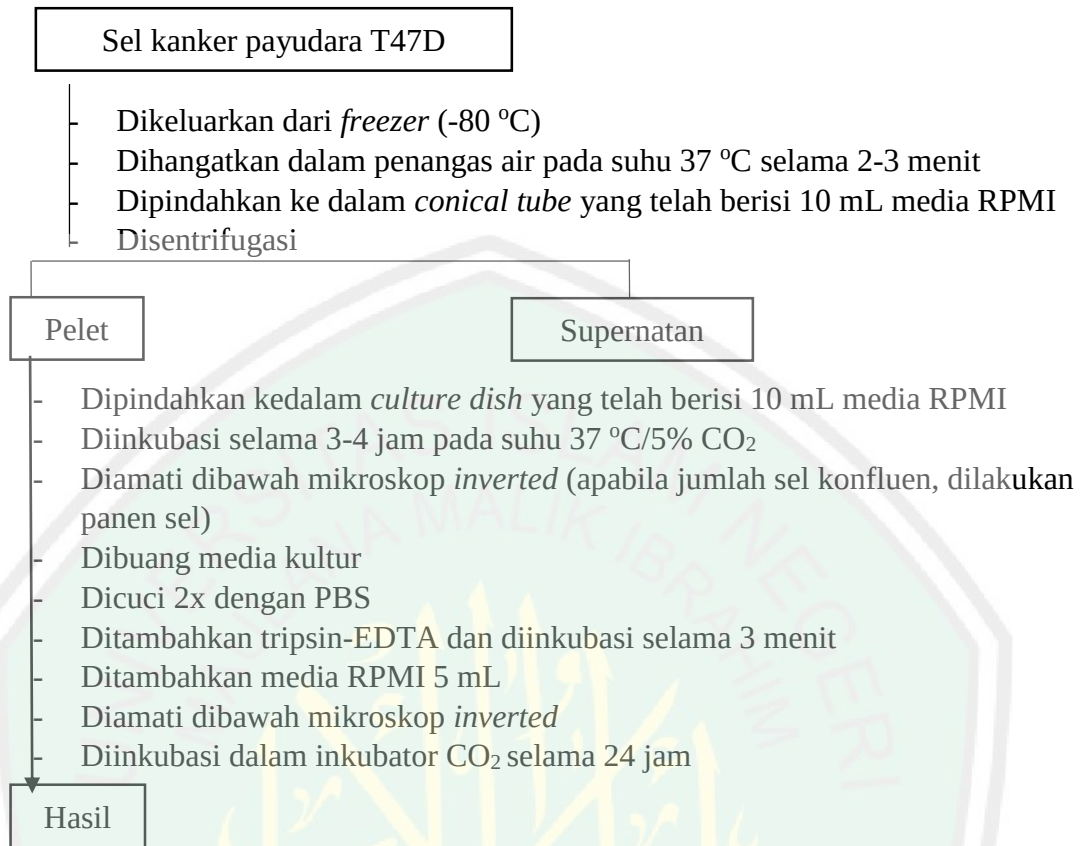
*Hasil positif dari steroid apabila terbentuk larutan berwarna hijau kebiruan

L.2.4 Pengembangan Ekstrak Etanol Daun Sirsak pada Zeolit NaX Menggunakan Metode Impregnasi Kering

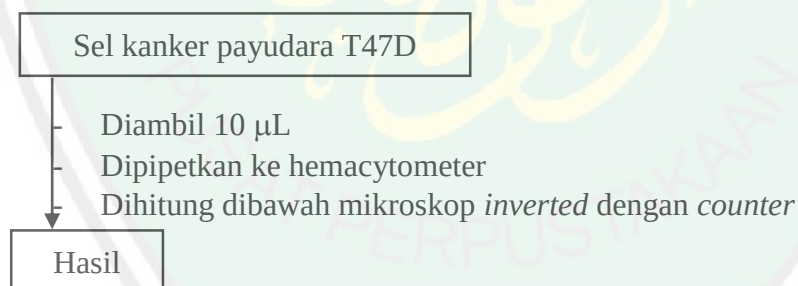


L.2.5 Uji Aktivitas Antikanker Metode MTT

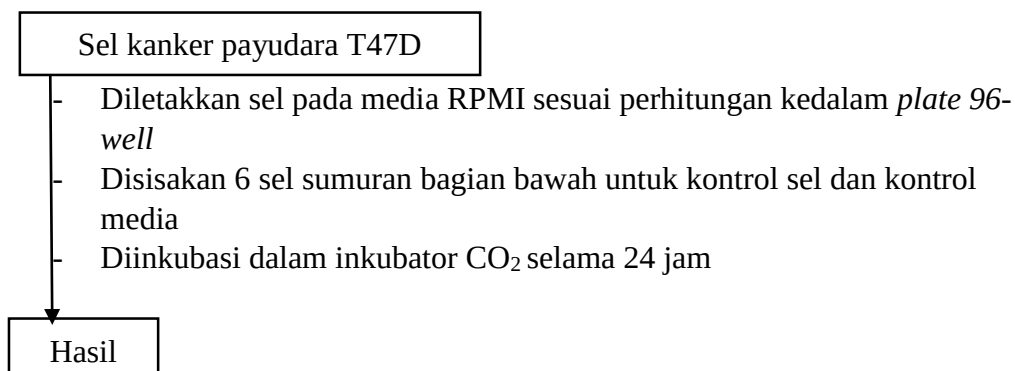
L.2.5.1 Penyiapan Sel



L.2.5.2 Penghitungan Sel Kanker



L.2.5.3 Peletakan Sel pada plate



L.2.5.4 Pembuatan Larutan Sampel dan Pemberian Larutan Sampel pada Plate

Sampel kombinasi ekstrak dengan zeolit

- Ditimbang 10 mg dan dimasukkan dalam wadah yang berbeda
- Dilarutkan masing-masing dalam 100 μ L DMSO
- Diaduk menggunakan vortex
- Diambil sel dari inkubator
- Dibuang media sel dengan cara dibalikkan plate 180°
- Dimasukkan 100 μ L PBS kedalam semua sumuran yang terisi sel dan dibuang kembali
- Dimasukkan sampel sebanyak 100 μ L dengan konsentrasi 1000; 500; 250; 125; 62,5; dan 31,25 ppm
- Dilakukan pengulangan penambahan konsentrasi sampel sebanyak 3x
- Diinkubasi kembali selama 24 jam

Hasil

L.2.5.5 Pemberian Larutan MTT

Sel kanker payudara T47D

- Dibuang media sel dan dicuci dengan PBS
- Ditambahkan larutan MTT 100 μ L kesetiap sumuran kecuali kontrol sel
- Diinkubasi selama 3-4 jam didalam inkubator pada suhu 37 °C/ 5% CO₂
- Diamati kondisi sel dengan mikroskop *inverted* jika formazan telah terbentuk
- Ditambahkan stopper SDS 10% dalam 0,1 N HCl
- Dibungkus plate dengan alumunium foil
- Diinkubasi kembali ditempat gelap (suhu ruangan) selama semalam
- Dibaca nilai absorbansi dengan ELISA reader (panjang gelombang 550 – 600 nm (595 nm))

Hasil

Lampiran 3. Pembuatan Larutan dan Reagen

L.3.1 Pembuatan Reagen Dragendorff (Wagner, 2001)

Larutan I. 0,6 g $\text{Bi}(\text{NH}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ dalam 2 mL HCl pekat dan 10 mL H_2O

Larutan II. 6 g KI dalam 10 mL H_2O

Cara pembuatannya adalah larutan I dibuat dengan menimbang 0,6 g $\text{Bi}(\text{NH}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ dan dilarutkan ke dalam 2 mL HCl pekat dan 10 mL aquades. Larutan II dibuat dengan menimbang 6 g KI dan dilarutkan dalam 10 mL aquades. Kemudian kedua larutan tersebut dicampur dengan 7 mL HCl pekat dan 15 mL H_2O .

L.3.2 Pembuatan Reagen Mayer (Manan, 2006)

Larutan I. HgCl_2 1,358 gr dalam aquades 60 mL

Larutan II. KI 5 gr dalam aquades 10 mL

Cara pembuatannya adalah larutan I dibuat dengan menimbang HgCl_2 1,358 gr dan dilarutkan dengan aquades 60 mL. Larutan II dibuat dengan menimbang KI 5 gr dan dilarutkan dengan aquades 10 mL. Selanjutnya larutan I dituangkan ke dalam larutan II dan dihomogenkan dengan menggunakan pengaduk gelas kemudian dipindahkan ke labu ukur 100 ml dan diencerkan dengan aquades sampai tanda batas.

L.3.3 Pembuatan Larutan Metanol 50 %

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$99,8\% \times V_1 = 50\% \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = 5 \text{ mL}$$

Cara pembuatannya adalah diambil larutan metanol 99,8% sebanyak 5 mL dengan pipet volum 5 mL, kemudian dimasukkan dalam labu ukur 10 mL.

Selanjutnya ditambahkan aquades sampai tanda batas dan dikocok hingga homogen.

L.3.4 Pembuatan Reagen FeCl_3 1 % (b/v)

$$\text{FeCl}_3 \text{ 1 \%} = \frac{1 \text{ gr}}{100 \text{ mL}}$$

Untuk membuat larutan FeCl_3 1% adalah ditimbang sebanyak 1 g serbuk FeCl_3 dengan neraca analitik, dimasukkan dalam gelas kimia 100 mL kemudian ditandabatkan hingga 100 mL.

L.3.5 Pembuatan Larutan HCl 1 M (b/b)

$$\text{Konsentrasi HCl} = 37\%$$

$$\text{Berat jenis HCl pekat} = 1,19 \text{ g/ml} = 1190 \text{ g/L}$$

$$\text{Berat Molekul} = 36,5 \text{ g/mol}$$

$$37\% = \frac{37 \text{ gr HCl}}{100 \text{ gr larutan}}$$

$$\text{mol} = \frac{\text{gram}}{\text{Mr}}$$

$$= \frac{37 \text{ gr}}{36,5 \text{ gr/mol}}$$

$$= 1,0137 \text{ mol}$$

$$\rho = \frac{\text{masaa larutan}}{\text{volume}}$$

$$V = \frac{100 \text{ gr}}{1,19 \text{ gr/mL}} = 84,03 \text{ mL}$$

$$M = \frac{n}{V}$$

$$= \frac{1,0137 \text{ mol}}{84,03 \text{ mL}}$$

$$= \frac{1,0137 \text{ mol}}{8,403 \times 10^{-2} \text{ L}}$$

$$= 12,064 \text{ mol/L}$$

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$12,064 \text{ mol/L} \times V_1 = 1 \text{ mol/L} \times 100 \text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{100 \text{ mL}}{12,064}$$

$$V_1 = 8,28 \text{ mL}$$

Cara membuat 100 mL HCl 1 M adalah diambil larutan HCl 37% sebanyak 8,3 mL dengan pipet ukur 10 mL, kemudian dimasukkan dalam labu ukur 100 mL. Selanjutnya ditambahkan aquades sampai tanda batas dan dikocok hingga homogen.

L.3.6 Pembuatan Larutan HCl 2 %

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$37\% \times V_1 = 2\% \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = 0,6 \text{ mL}$$

Cara membuat 10 mL HCl 1 M adalah diambil larutan HCl 37% sebanyak 0,6 mL dengan pipet ukur 1 mL, kemudian dimasukkan dalam labu ukur 10 mL. Selanjutnya ditambahkan aquades sampai tanda batas dan dikocok hingga homogen.

L.3.7 Pembuatan Larutan SDS 10 % (b/v)

$$\text{SDS } 10\% = \frac{10 \text{ g}}{100 \text{ mL}}$$

Cara pembuatannya adalah ditimbang 10 gram SDS (*Sodium Deodecyle Sulphate*) dan dimasukkan dalam *beaker glass* 100 mL. kemudian dilarutkan dalam 100 mL aquades.

L.3.8 Pembuatan Larutan Stok 10.000 ppm Ekstrak Daun Sirsak

$$10.000 \text{ ppm} = \frac{10.000 \text{ mg}}{1 \text{ L}} = \frac{10.000 \text{ mg}}{1000 \text{ mL}} = \frac{100 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} = \frac{50 \text{ mg}}{5 \text{ mL}}$$

Cara pembuatannya adalah sampel berupa ekstrak kombinasi ditimbang 50 mg, kemudian diencerkan dengan 5 mL pelarut. Selanjutnya dihomogenkan dengan diaduk menggunakan pengaduk gelas, sehingga diperoleh konsentrasi ekstrak 10.000 ppm. Ekstrak yang diperoleh adalah lebih encer sehingga mempermudah dalam identifikasi kualitatif dengan reagen tertentu.

L.3.9 Pembuatan Larutan Stok MTT (5 mg/mL) (CCRC, 2009)

Ditimbang 50 mg serbuk MTT, kemudian dilarutkan dalam 10 mL PBS dan diaduk dengan *vortex*.

L.3.10 Pembuatan Larutan Stok 1000 ppm Ekstrak Daun Sirsak

Berat ekstrak = 10 mg

Volume pelarut = 100 μ L (DMSO)

$$\text{ppm} = \frac{10 \text{ mg}}{100 \mu\text{L}} = \frac{10000 \mu\text{g}}{100 \mu\text{L}} = 100000 \mu\text{g/mL}$$

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$1 \text{ mL} \times 1000 \mu\text{g/mL} = 100000 \mu\text{g/mL} \times V_2$$

$$V_2 = 0,01 \text{ mL} = 10 \mu\text{L}$$

Larutan stok 1000 ppm dibuat dengan mengambil 10 μ L ekstrak yang telah dilarutkan dengan 100 μ L DMSO menggunakan mikropipet, kemudian ditambahkan 990 μ L media kultur RMPI dan diresuspensi hingga homogen.

Lampiran 4. Data dan Perhitungan Hasil Penelitian

L.4.1 Perhitungan Rendemen

Ekstrak Etanol 96 %

Berat sampel = 60 gr

Berat ekstrak pekat = 8,98 gr

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{Berat sampel}} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{8,98 \text{ gr}}{60 \text{ gr}} \times 100 \% = 14,97 \%$$

L.4.2 Perhitungan Data dan Hasil Uji Aktivitas Antikanker secara *In-Vitro*

A. Perhitungan konsentrasi sel

- Pengamatan jumlah sel dengan *hemocytometr* dibawah mikroskop *inverted*

Kuadran A 75	Kuadran B 60
Kuadran C 42	Kuadran D 47

- Jumlah sel yang dihitung (mL^{-1})

$$= \frac{\sum \text{sel kuadran A} + \sum \text{sel kuadran B} + \sum \text{sel kuadran C} + \sum \text{sel kuadran D}}{4} \times 10^4$$

$$= \frac{75 + 60 + 42 + 47}{4} \times 10^4$$

$$= 56 \times 10^4 \text{ sel/mL}$$

➤ **Jumlah mL panen sel yang ditransfer (konsentrasi sel)**

$$= \frac{\text{jumlah total sel yang diperlukan}}{\text{jumlah sel terhitung}}$$

$$= \frac{100 \times 10^4}{56 \times 10^4 / \text{mL}}$$

$$= 1,786 \text{ mL} = 1,8 \text{ mL}$$

Volume panen sel yang ditransfer sebanyak 1,8 mL, ditambahkan hingga 10 mL media kultur RPMI (MK) karena setiap sumuran akan diisi 100 μL MK berisi sel, sehingga total volume yang diperlukan untuk menanam sel = 100 μL x 100 sumuran = 10.000 μL atau 10 mL.

B. Perhitungan Persentase Sel Hidup

➤ **Data Uji aktivitas Antikanker dengan Metode MTT**

No.	Absorbansi kontrol sel	Absorbansi kontrol media
1.	0,472	0,061
2.	0,482	0,061
3.	0,444	0,061
4.	0,414	0,065
5.	0,445	0,069
6.	0,468	0,069
Rata –Rata:	0,454	0,064

1. Ekstrak Daun Sirsak

Konsentrasi	Absorbansi			Rata-rata	% Hidup
	Pengulangan 1	Pengulangan 2	Pengulangan 3		
1000	0,139	0,138	0,136	0,138	18,974
500	0,099	0,097	0,093	0,096	8,205
250	0,090	0,089	0,086	0,088	6,154
125	0,079	0,097	0,099	0,092	7,179
62,5	0,357	0,350	0,335	0,347	72,564
31,25	0,468	0,433	0,402	0,434	94,872
15,625	0,482	0,436	0,449	0,456	100,513

2. Kombinasi Ekstrak Daun Sirsak : zeolit NaX (1:10)

Konsentrasi	Absorbansi			Rata-rata	% Hidup
	Pengulangan 1	Pengulangan 2	Pengulangan 3		
1000	0,299	0,265	0,267	0,277	54,615
500	0,330	0,309	0,323	0,321	65,897
250	0,370	0,340	0,351	0,354	74,359
125	0,384	0,352	0,358	0,365	77,179
62,5	0,390	0,394	0,393	0,392	84,106
31,25	0,404	0,410	0,377	0,397	85,385
15,625	0,408	0,384	0,360	0,384	82,051

3. Kombinasi Ekstrak Daun Sirsak : zeolit NaX (5:10)

Konsentrasi	Absorbansi			Rata-rata	% Hidup
	Pengulangan 1	Pengulangan 2	Pengulangan 3		
1000	0,101	0,102	0,110	0,104	10,256
500	0,081	0,080	0,084	0,082	4,615
250	0,077	0,082	0,083	0,081	4,359
125	0,087	0,093	0,100	0,093	7,436
62,5	0,309	0,287	0,330	0,309	62,821
31,25	0,347	0,396	0,432	0,392	84,103
15,625	0,395	0,422	0,407	0,408	88,205

4. Kombinasi Ekstrak Daun Sirsak : zeolit NaX (10:10)

Konsentrasi	Absorbansi			Rata-rata	% Hidup
	Pengulangan 1	Pengulangan 2	Pengulangan 3		
1000	0,088	0,096	0,095	0,093	7,436
500	0,089	0,094	0,092	0,092	7,179
250	0,338	0,326	0,359	0,341	71,026
125	0,409	0,456	0,468	0,444	97,436
62,5	0,446	0,482	0,449	0,459	101,282
31,25	0,442	0,471	0,467	0,46	101,538
15,625	0,447	0,442	0,457	0,449	98,718

5. Zeolit NaX

Konsentrasi	Absorbansi			Rata-rata	% Hidup
	Pengulangan 1	Pengulangan 2	Pengulangan 3		
1000	0,323	0,326	0,323	0,324	65,3
500	0,389	0,368	0,376	0,377	79,5
250	0,376	0,389	0,382	0,382	80,8
125	0,428	0,464	0,390	0,427	92,7
62,5	0,368	0,364	0,329	0,354	73,2
31,25	0,433	0,399	0,434	0,422	91,3

➤ Perhitungan Prosentase Sel Hidup

$$\text{Prosentase sel hidup} = \frac{(A-B)}{(C-B)} \times 100 \%$$

Keterangan : A = absorbansi perlakuan (sel + media kultur + sampel)

B = absorbansi kontrol media (media kultur)

C = absorbansi kontrol negatif (sel + media kultur)

1. Ekstrak Daun Sirsak

- Konsentrasi 1000 → % Hidup = $\frac{0,138 - 0,064}{0,454 - 0,064} \times 100 \% = 18.974 \%$
- Konsentrasi 500 → % Hidup = $\frac{0,096 - 0,064}{0,454 - 0,064} \times 100 \% = 8.205 \%$
- Konsentrasi 250 → % Hidup = $\frac{0,088 - 0,064}{0,454 - 0,064} \times 100 \% = 6.154 \%$
- Konsentrasi 125 → % Hidup = $\frac{0,092 - 0,064}{0,454 - 0,064} \times 100 \% = 7.179 \%$
- Konsentrasi 62,5 → % Hidup = $\frac{0,347 - 0,064}{0,454 - 0,064} \times 100 \% = 72.564 \%$
- Konsentrasi 31,25 → % Hidup = $\frac{0,434 - 0,064}{0,454 - 0,064} \times 100 \% = 94.872 \%$
- Konsentrasi 15,625 → % Hidup = $\frac{0,456 - 0,064}{0,454 - 0,064} \times 100 \% = 100.513 \%$

2. Perbandingan Ekstrak Daun Sirsak : Zeolit NaX (1:10)

- Konsentrasi 1000 → % Hidup = $\frac{0,277 - 0,064}{0,454 - 0,064} \times 100 \% = 54.615 \%$

- Konsentrasi 500 $\rightarrow$ % *Hidup* = $\frac{0,321 - 0,064}{0,454 - 0,064} \times 100 \% = 65.897 \%$
- Konsentrasi 250 $\rightarrow$ % *Hidup* = $\frac{0,354 - 0,064}{0,454 - 0,064} \times 100 \% = 74.359 \%$
- Konsentrasi 125 $\rightarrow$ % *Hidup* = $\frac{0,365 - 0,064}{0,454 - 0,064} \times 100 \% = 77.179 \%$
- Konsentrasi 62,5 $\rightarrow$ % *Hidup* = $\frac{0,392 - 0,064}{0,454 - 0,064} \times 100 \% = 84.106 \%$
- Konsentrasi 31,25 $\rightarrow$ % *Hidup* = $\frac{0,397 - 0,064}{0,454 - 0,064} \times 100 \% = 85.385 \%$
- Konsentrasi 15,625 $\rightarrow$ % *Hidup* = $\frac{0,384 - 0,064}{0,454 - 0,064} \times 100 \% = 82.051 \%$

3. Perbandingan Ekstrak Daun Sirsak : Zeolit NaX (5:10)

- Konsentrasi 1000 $\rightarrow$ % *Hidup* = $\frac{0,104 - 0,064}{0,454 - 0,064} \times 100 \% = 10.256 \%$
- Konsentrasi 500 $\rightarrow$ % *Hidup* = $\frac{0,082 - 0,064}{0,454 - 0,064} \times 100 \% = 4.615 \%$
- Konsentrasi 250 $\rightarrow$ % *Hidup* = $\frac{0,081 - 0,064}{0,454 - 0,064} \times 100 \% = 4.359 \%$
- Konsentrasi 125 $\rightarrow$ % *Hidup* = $\frac{0,093 - 0,064}{0,454 - 0,064} \times 100 \% = 7.436 \%$
- Konsentrasi 62,5 $\rightarrow$ % *Hidup* = $\frac{0,309 - 0,064}{0,454 - 0,064} \times 100 \% = 62.821 \%$
- Konsentrasi 31,25 $\rightarrow$ % *Hidup* = $\frac{0,392 - 0,064}{0,454 - 0,064} \times 100 \% = 84.103 \%$
- Konsentrasi 15,625 $\rightarrow$ % *Hidup* = $\frac{0,408 - 0,064}{0,454 - 0,064} \times 100 \% = 88.205 \%$

4. Perbandingan Ekstrak Daun Sirsak : Zeolit NaX (10:10)

- Konsentrasi 1000 $\rightarrow$ % *Hidup* = $\frac{0,093 - 0,064}{0,454 - 0,064} \times 100 \% = 7.436 \%$
- Konsentrasi 500 $\rightarrow$ % *Hidup* = $\frac{0,092 - 0,064}{0,454 - 0,064} \times 100 \% = 7.179 \%$
- Konsentrasi 250 $\rightarrow$ % *Hidup* = $\frac{0,341 - 0,064}{0,454 - 0,064} \times 100 \% = 71.026 \%$
- Konsentrasi 125 $\rightarrow$ % *Hidup* = $\frac{0,444 - 0,064}{0,454 - 0,064} \times 100 \% = 97.436 \%$
- Konsentrasi 62,5 $\rightarrow$ % *Hidup* = $\frac{0,459 - 0,064}{0,454 - 0,064} \times 100 \% = 101.282 \%$

- Konsentrasi 31,25 $\rightarrow$ % *Hidup* = $\frac{0,46 - 0,064}{0,454 - 0,064} \times 100 \% = 101.538 \%$
- Konsentrasi 15,625 $\rightarrow$ % *Hidup* = $\frac{0,449 - 0,064}{0,454 - 0,064} \times 100 \% = 98.718 \%$

5. Zeolit NaX

- Konsentrasi 1000 $\rightarrow$ % *Hidup* = $\frac{0,324 - 0,077}{0,378} \times 100 \% = 65.3 \%$
- Konsentrasi 500 $\rightarrow$ % *Hidup* = $\frac{0,378 - 0,077}{0,378} \times 100 \% = 79.5 \%$
- Konsentrasi 250 $\rightarrow$ % *Hidup* = $\frac{0,382 - 0,077}{0,378} \times 100 \% = 80.8 \%$
- Konsentrasi 125 $\rightarrow$ % *Hidup* = $\frac{0,427 - 0,077}{0,378} \times 100 \% = 92.7 \%$
- Konsentrasi 62,5 $\rightarrow$ % *Hidup* = $\frac{0,354 - 0,077}{0,378} \times 100 \% = 73.2 \%$
- Konsentrasi 31,25 $\rightarrow$ % *Hidup* = $\frac{0,422 - 0,077}{0,378} \times 100 \% = 91.3 \%$

C. Hasil Perhitungan IC₅₀ dengan SPSS

1. Ekstrak Daun Sirsak

Confidence Limits							
	Proba bility	95% Confidence Limits for Konsentrasi			95% Confidence Limits for log(Konsentrasi) ^b		
		Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT a	0.01	516.930	.	.	2.713	.	.
	0.02	417.558	.	.	2.621	.	.
	0.03	364.663	.	.	2.562	.	.
	0.04	329.337	.	.	2.518	.	.
	0.05	303.142	.	.	2.482	.	.
	0.06	282.493	.	.	2.451	.	.
	0.07	265.549	.	.	2.424	.	.
	0.08	251.242	.	.	2.400	.	.
	0.09	238.901	.	.	2.378	.	.
	0.1	228.077	.	.	2.358	.	.
	0.15	188.240	.	.	2.275	.	.
	0.2	161.605	.	.	2.208	.	.
	0.25	141.779	.	.	2.152	.	.
	0.3	126.056	.	.	2.101	.	.
	0.35	113.047	.	.	2.053	.	.
	0.4	101.947	.	.	2.008	.	.
	0.45	92.246	.	.	1.965	.	.
	0.5	83.600	.	.	1.922	.	.
	0.55	75.765	.	.	1.879	.	.
	0.6	68.555	.	.	1.836	.	.
	0.65	61.824	.	.	1.791	.	.
	0.7	55.444	.	.	1.744	.	.
	0.75	49.295	.	.	1.693	.	.
	0.8	43.247	.	.	1.636	.	.
	0.85	37.128	.	.	1.570	.	.
	0.9	30.643	.	.	1.486	.	.
	0.91	29.255	.	.	1.466	.	.
	0.92	27.818	.	.	1.444	.	.
	0.93	26.319	.	.	1.420	.	.
	0.94	24.740	.	.	1.393	.	.
	0.95	23.055	.	.	1.363	.	.
	0.96	21.221	.	.	1.327	.	.
	0.97	19.166	.	.	1.283	.	.
	0.98	16.738	.	.	1.224	.	.
	0.99	13.520	.	.	1.131	.	.

2. Kombinasi Ekstrak Daun Sirsak dengan Zeolit NaX (1:10)

Confidence Limits

	Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi) ^a		
		Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT	0.01	9.330E6	586622.388	2.686E9	6.970	5.768	9.429
	0.02	3.462E6	280151.454	5.922E8	6.539	5.447	8.772
	0.03	1.846E6	175243.893	2.269E8	6.266	5.244	8.356
	0.04	1.150E6	123112.316	1.103E8	6.061	5.090	8.043
	0.05	7.826E5	92367.507	6.136E7	5.894	4.966	7.788
	0.06	5.640E5	72321.700	3.724E7	5.751	4.859	7.571
	0.07	4.232E5	58354.235	2.404E7	5.627	4.766	7.381
	0.08	3.272E5	48149.861	1.625E7	5.515	4.683	7.211
	0.09	2.590E5	40424.755	1.138E7	5.413	4.607	7.056
	0.1	2.088E5	34412.103	8197814.697	5.320	4.537	6.914
	0.15	85635.430	17653.498	2110924.129	4.933	4.247	6.324
	0.2	42167.602	10373.959	718908.064	4.625	4.016	5.857
	0.25	22962.624	6566.807	285662.779	4.361	3.817	5.456
	0.3	13303.920	4349.522	124875.632	4.124	3.638	5.096
	0.35	8022.782	2964.580	58096.685	3.904	3.472	4.764
	0.4	4964.714	2056.401	28163.715	3.696	3.313	4.450
	0.45	3120.578	1439.476	14016.961	3.494	3.158	4.147
	0.5	1975.937	1009.211	7082.671	3.296	3.004	3.850
	0.55	1251.155	702.964	3602.192	3.097	2.847	3.557
	0.6	786.415	481.281	1832.998	2.896	2.682	3.263
	0.65	486.655	318.184	932.320	2.687	2.503	2.970
	0.7	293.472	196.341	479.102	2.468	2.293	2.680
	0.75	170.030	106.715	255.226	2.231	2.028	2.407
	0.8	92.591	48.393	141.565	1.967	1.685	2.151
	0.85	45.592	17.690	77.504	1.659	1.248	1.889
	0.9	18.697	4.740	38.210	1.272	.676	1.582
	0.91	15.075	3.435	32.337	1.178	.536	1.510
	0.92	11.931	2.418	27.003	1.077	.384	1.431
	0.93	9.226	1.643	22.170	.965	.216	1.346
	0.94	6.922	1.065	17.805	.840	.028	1.251
	0.95	4.989	.650	13.880	.698	-.187	1.142
	0.96	3.395	.363	10.370	.531	-.440	1.016
	0.97	2.115	.177	7.255	.325	-.752	.861
	0.98	1.128	.068	4.519	.052	-1.167	.655
	0.99	.418	.015	2.148	-.378	-1.821	.332

3. Kombinasi Ekstrak Daun Sirsak dengan Zeolit NaX (5:10)

Confidence Limits

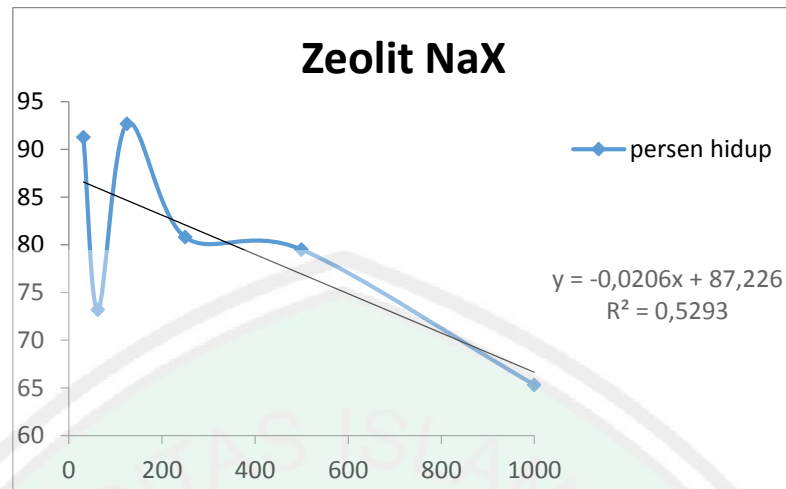
Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi) ^b		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
0.01	1141.988	318.882	1372934.518	3.058	2.504	6.138
0.02	819.606	256.371	416658.456	2.914	2.409	5.620
0.03	664.058	222.332	196313.915	2.822	2.347	5.293
0.04	566.826	199.198	111755.417	2.753	2.299	5.048
0.05	498.336	181.780	70821.150	2.698	2.260	4.850
0.06	446.600	167.857	48120.200	2.650	2.225	4.682
0.07	405.677	156.278	34345.058	2.608	2.194	4.536
0.08	372.227	146.375	25430.914	2.571	2.165	4.405
0.09	344.207	137.725	19376.443	2.537	2.139	4.287
0.1	320.283	130.044	15105.867	2.506	2.114	4.179
0.15	237.684	100.772	5483.044	2.376	2.003	3.739
0.2	187.521	79.944	2522.099	2.273	1.903	3.402
0.25	153.013	63.485	1337.422	2.185	1.803	3.126
0.3	127.471	49.764	784.730	2.105	1.697	2.895
0.35	107.626	38.095	499.117	2.032	1.581	2.698
0.4	91.659	28.250	339.985	1.962	1.451	2.531
0.45	78.469	20.192	245.668	1.895	1.305	2.390
0.5	67.343	13.882	186.494	1.828	1.142	2.271
0.55	57.794	9.178	147.224	1.762	.963	2.168
0.6	49.478	5.831	119.666	1.694	.766	2.078
0.65	42.137	3.552	99.249	1.625	.550	1.997
0.7	35.577	2.060	83.329	1.551	.314	1.921
0.75	29.638	1.123	70.306	1.472	.050	1.847
0.8	24.184	.562	59.142	1.384	-.250	1.772
0.85	19.080	.247	49.085	1.281	-.607	1.691
0.9	14.159	.087	39.437	1.151	-1.063	1.596
0.91	13.175	.067	37.479	1.120	-1.174	1.574
0.92	12.184	.051	35.485	1.086	-1.295	1.550
0.93	11.179	.037	33.441	1.048	-1.428	1.524
0.94	10.155	.026	31.321	1.007	-1.577	1.496
0.95	9.100	.018	29.095	.959	-1.747	1.464
0.96	8.001	.011	26.711	.903	-1.948	1.427
0.97	6.829	.006	24.079	.834	-2.195	1.382
0.98	5.533	.003	21.021	.743	-2.525	1.323
0.99	3.971	.001	17.032	.599	-3.046	1.231

4. Kombinasi Ekstrak Daun Sirsak dengan Zeolit Nax (10:10)

Confidence Limits

	Pro babi lity	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi) ^b		
		Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT ^a	0.01	1107.479	.	.	3.044	.	.
	0.02	947.620	.	.	2.977	.	.
	0.03	858.381	.	.	2.934	.	.
	0.04	796.833	.	.	2.901	.	.
	0.05	750.038	.	.	2.875	.	.
	0.06	712.380	.	.	2.853	.	.
	0.07	680.920	.	.	2.833	.	.
	0.08	653.932	.	.	2.816	.	.
	0.09	630.317	.	.	2.800	.	.
	0.1	609.334	.	.	2.785	.	.
	0.15	529.638	.	.	2.724	.	.
	0.2	473.802	.	.	2.676	.	.
	0.25	430.615	.	.	2.634	.	.
	0.3	395.197	.	.	2.597	.	.
	0.35	364.983	.	.	2.562	.	.
	0.4	338.452	.	.	2.529	.	.
	0.45	314.619	.	.	2.498	.	.
	0.5	292.804	.	.	2.467	.	.
	0.55	272.501	.	.	2.435	.	.
	0.6	253.313	.	.	2.404	.	.
	0.65	234.899	.	.	2.371	.	.
	0.7	216.940	.	.	2.336	.	.
	0.75	199.097	.	.	2.299	.	.
	0.8	180.949	.	.	2.258	.	.
	0.85	161.873	.	.	2.209	.	.
	0.9	140.701	.	.	2.148	.	.
	0.91	136.017	.	.	2.134	.	.
	0.92	131.106	.	.	2.118	.	.
	0.93	125.909	.	.	2.100	.	.
	0.94	120.349	.	.	2.080	.	.
	0.95	114.306	.	.	2.058	.	.
	0.96	107.593	.	.	2.032	.	.
	0.97	99.879	.	.	1.999	.	.
	0.98	90.473	.	.	1.957	.	.
	0.99	77.414	.	.	1.889	.	.

5. Zeolit NaX



$$y = -0,0206x + 87,226$$

$$x = \frac{50 - 87,226}{-0,0206}$$

$$x = \frac{-37,226}{-0,0206}$$

$$x = 1.807,087 \mu\text{g/mL}$$

Lampiran 5. Dokumentasi

L.5.1 Proses Maserasi



Pengeringan daun sirsak



Serbuk daun sirsak



Maserasi



Proses pemisahan



Serbuk hasil penyaringan



Filtrat hasil maserasi

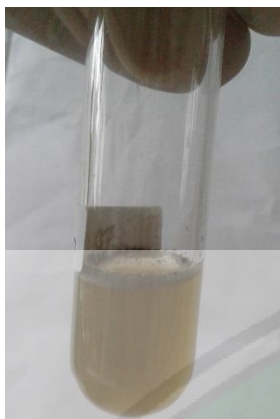


Penguapan pelarut dengan rotary evaporator vacuum



Ekstrak pekat daun sirsak

L.5.2 Uji Fitokimia dengan Reagen



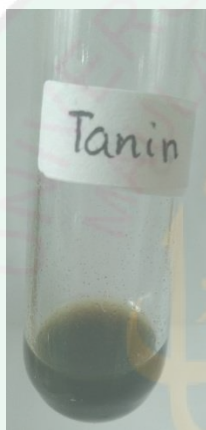
Uji flavonoid



Uji alkaloid dengan reagen mayer



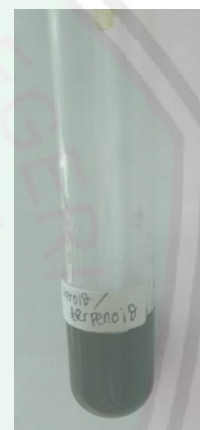
Uji alkaloid dengan reagen dragendroff



Uji tanin

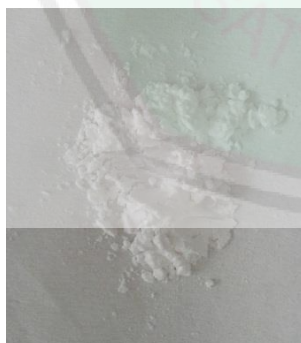


Uji saponin



Uji Triterpenoid

L.5.3 Proses Impregnasi dengan Zeolit NaX



Zeolit NaX



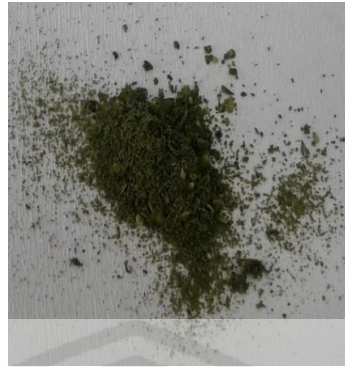
Pengadukan menggunakan stirrer



Pengeringan menggunakan oven



Hasil impregnasi 1:10



Hasil impregnasi 5:10



Hasil impregnasi 10:10



Penimbangan sampel



Hasil penimbangan 10 mg

L.5.4 Uji Aktivitas Antikanker menggunakan Metode MTT



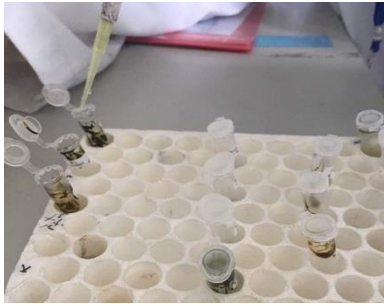
Pengamatan dan perhitungan sel dibawah mikroskop inverted



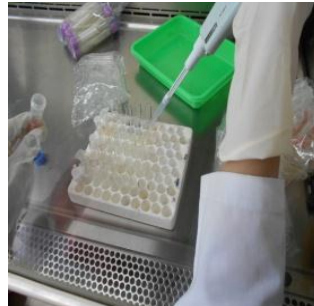
Morfologi perhitungan sel



Peletakan sel pada plate



Pemberian DMSO pada sampel



Pengenceran konsentrasi sampel



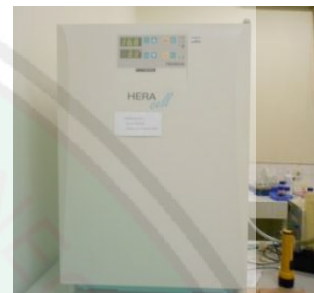
Pemberian larutan sampel pada plate



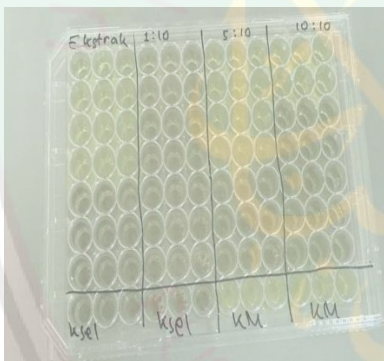
Hasil peletakan sel dan sampel



Pemberian larutan MTT



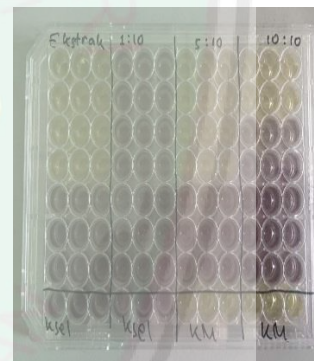
Inkubator CO₂/37 °C



Setelah pemberian larutan MTT



Pemberian stopper SDS



Setelah pemberian stopper SDS



Elisa reader

L.5.5 Morfologi Sel Kanker T-47D setelah Pemberian Larutan MTT



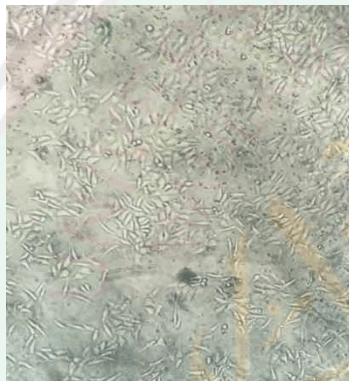
Ekstrak daun sirsak + sel konsentrasi 1000 ppm



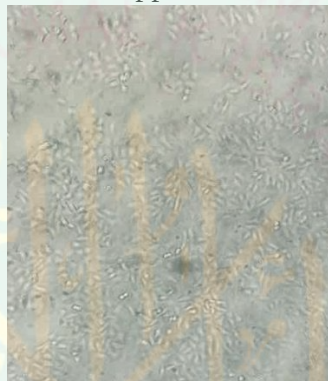
Ekstrak daun sirsak + sel konsentrasi 15,625 ppm



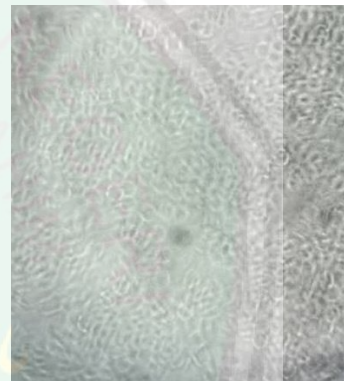
Perbandingan 1:10 + sel konsentrasi 1000 ppm



Perbandingan 1:10 + sel konsentrasi 15,625 ppm



Perbandingan 5:10 + sel konsentrasi 1000 ppm



Perbandingan 5:10 + sel konsentrasi 15,625 ppm



Perbandingan 10:10 + sel konsentrasi 1000 ppm



Perbandingan 10:10 + sel konsentrasi 15,625 ppm



Kontrol Sel



**KEMENTERIAN AGAMA RI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI (UIN) MALIKI MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
JURUSAN KIMIA**

Gedung Sains dan Teknologi UIN Malang Lt.2 Jl. Gajayana 50 Malang Telp./Fax +62341558933
www.uin-malang.ac.id Email: info@uin-malang.ac.id, kimia@uin-malang.ac.id

KARTU KONSULTASI PENELITIAN

Nama : FITRI ZUYYINA LILBAIQ
 NIM : 13630081
 Judul Skripsi : UJI AKTIVITAS EKSTRAK ETANOL DAUN SIRSAK (Carronia muricata Linn.) YANG DIEMBAKAN PADA ZEOLIT NaX MENGGUNAKAN METODE IMKUBASI KERING SEBAGAI ANTIKANKER BATU DARA T470
 Pembimbing Utama : Elok Kamilah Hayati, M.Si
 Pembimbing Agama : Rif'atul Mahmudah, M.Si
 Konsultan : Susi Nurul Khalifah, M.Si

No.	Tanggal	Materi Konsultasi	Catatan (ditulis tangan)	Tanda tangan Pembimbing
1.	04-10-2016	Bab I dan judul		
2.	19-10-2016	BAB I dan BAB II		
3.	27-10-2016	BAB I, II, dan BAB III		
4.	07-11-2016	BAB I		
5.	14-11-2016	BAB I dan BAB II		
6.	07-12-2016	Bab I, II, III		
7.	14-12-2016	BAB I, II, III, Lampiran		
8.	16-12-2016	BAB I, II, III, DAFTAR, Lampiran		
9.	08-05-2017	Bab I, II, IV		
10.	25-05-2017	Bab IV, V		
11.	09-06-2017	Ayat yang berhubungan dengan penelitian		
12.	22-06-2017	Bab IV		
13.	03-07-2017	Bab I, II, IV		
14.	12-07-2017	Bab IV		
15.	21-07-2017	Bab I, II, IV, Hafalan, ACC		
16.	25-07-2017	Bab II		
17.	27-07-2017	BAB I, II, III, IV, V		
18.	02-08-2017	BAB I, II, III, IV, V, Abstrak		
19.	09-08-2017	BAB I, IV, V		
20.	09-08-2017	BAB I, II, III, IV, V		



Kedalaman Spiritual, Keagungan Akhlak, Keluasan Ilmu dan Kematangan Profesional



**KEMENTERIAN AGAMA RI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI (UIN) MALIKI MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI**

JURUSAN KIMIA

Gedung Sains dan Teknologi UIN Malang Lt.2 Jl. Gajayana 50 Malang Telp./Fax +62341558933
www.uin-malang.ac.id Email: info uin@uin-malang.ac.id, kimia@uin-malang.ac.id

[illegible]

Malang,201...

NIP.



Kedalaman Spiritual, Keagungan Akhlak, Keluasan Ilmu dan Kematangan Profesional