

**UJI AKTIVITAS EKSTRAK AKAR RUMPUT BAMBU (*Lophaterum gracile* B.) YANG DIEMBANKAN PADA ZEOLIT NaX MENGGUNAKAN METODE IMPREGNASI KERING TERHADAP SEL KANKER PAYUDARA T-47D**

SKRIPSI

Oleh :

**LILIK WIDAYATI**

**NIM. 13630117**



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

**UJI AKTIVITAS EKSTRAK AKAR RUMPUT BAMBU (*Lophaterum gracile* B.) YANG DIEMBANKAN PADA ZEOLIT NaX MENGGUNAKAN METODE IMPREGNASI KERING TERHADAP SEL KANKER PAYUDARA T-47D**

**SKRIPSI**

Oleh:

**LILIK WIDAYATI  
NIM. 13630117**

**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 AKAR RUMPUT BAMBU (*Lophaterum gracile* B.) YANG DIEMBANKAN PADA ZEOLIT NaX MENGGUNAKAN METODE IMPREGNASI KERING TERHADAP SEL KANKER PAYUDARA T-47D

SKRIPSI

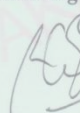
Oleh:  
LIIK WIDAYATI  
NIM. 13630117

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji  
Tanggal: 04 Desember 2017

Pembimbing I

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

Pembimbing II

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

Mengetahui,  
Ketua Jurusan Kimia



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

UJI AKTIVITAS EKSTRAK AKAR RUMPUT BAMBU (*Lophaterum gracile* B.) YANG DIEMBANKAN PADA ZEOLIT NaX MENGGUNAKAN METODE IMPREGNASI KERING TERHADAP SEL KANKER PAYUDARA T-47D

SKRIPSI

Oleh:  
LILIK WIDAYATI  
NIM. 13630117

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi  
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan  
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)  
Tanggal: 04 Desember 2017

Penguji Utama : Rachmawati Ningsih, M.Si  
NIP. 19810811 200801 2 010

(.....)

Ketua Penguji : Susi Nurul Khalifah, M.Si  
NIPT. 2013 090223 17

(.....)

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 : Lilik Widayati  
NIM : 13630117  
Jurusan : Kimia  
Fakultas : Sains dan Teknologi  
Judul Penelitian : Uji Aktivitas Akar Rumput Bambu (*Lophaterum gracile*  
B.) yang Diimbangkan Pada Zeolit NaX Menggunakan  
Metode Impregnasi Kering Terhadap Sel Kanker 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, 9 januari 2017

Yang membuat pernyataan,



Lilik Widayati

NIM. 13630117



MOTTO

مَنْ جَدَّ وَ جَدَّ

Artinya: "Siapa bersungguh-sungguh pasti berhasil"

Sesungguhnya akan selalu ada harapan bagi mereka yang sering berdoa dan selalu ada jalan bagi mereka yang sering berusaha, jangan sampai rasa nyamanmu membawamu dalam ketidaknyamanan.

## PERSEMBAHAN

**Assalamu'alaikum. Wr. Wb.**

Alhamdulillah rabbil'alamin Puji syukur kehadiran Allah SWT  
atas segala rahmat dan karunianya. Kupersembahkan dengan  
segala kerendahan hati skripsiku ini

Kepada

Bapakku Sukri, Bundaku Sulihati

Masku Agus Harianto

Adikku Nurwahyudi Firmansyah

Mbak Ipar Anita Rahayu

Ponakanku Raffael Alfa Rizky

Atas segala cinta, usaha, kasih sayang, materi, terutama  
do'a yang tercurahkan tiada henti untuk keberhasilan ini  
Tak lupa untuk orang-orang tersayang Fifty Z., Riziki M.,  
Fadhilaturrohma, R.A. Zalihana P., Muharrofatul J., Rinaldy  
S., Fajriyatus S., Gina H., Finda R., dan Afifah U. yang  
tiada henti memberikan semangat dan dukungan dalam segala  
kondisi

**Teman-teman kimia angkatan 2013 khususnya kelas C...**

**See you on top!**

## 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 Akar Rumput Bambu (*Lophatherum gracile* Brong.) yang Diimbangkan pada Zeolit NaX Menggunakan Metode Impregnasi Kering Terhadap Sel Kanker 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, serta saudara-saudara penulis 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. Bapak Dr. Anton Prasetya, M.Si selaku wakil Dekan Fakultas Sains dan Teknologi (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.

8. Keluarga tim riset Analitik 2017 yang membantu dalam menjalankan penelitian.
9. Teman-teman kimia angkatan 2013, keluarga “Kos Cantik” 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, 09 Januari 2018

Penulis

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN JUDU</b> .....	<b>i</b>
<b>HALAMAN PERSETUJUAN</b> .....	<b>ii</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	<b>iii</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	<b>iv</b>
<b>MOTTO</b> .....	<b>v</b>
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	<b>vi</b>
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	<b>vii</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>x</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>xii</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>xiii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>xiv</b>
<b>ABSTRAK</b> .....	<b>xv</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	6
1.3 Tujuan Penelitian .....	6
1.4 Batasan Masalah .....	6
1.5 Manfaat Penelitian .....	7
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Pemanfaatan Tanaman dalam Perspektif Islam .....	8
2.2 Tanaman Rumput Bambu ( <i>Lopatherum gracile</i> B.) .....	9
2.2.1 Morfologi dan Klasifikasi Tanaman Rumput Bambu .....	9
2.2.2 Manfaat Tanaman Rumput Bambu .....	10
2.2.3 Kandungan Tanaman Rumput Bambu .....	10
2.3 Metode Pemisahan Senyawa Aktif Akar Rumput Bambu .....	13
2.3.1 Ekstraksi Maserasi .....	13
2.3.2 Ekstraksi Cair-Cair (Partisi) .....	14
2.4 Zeolit NaX .....	15
2.4.1 Sintesis Zeolit X .....	17
2.4.2 Potensi Zeolit Sebagai Antikanker dan <i>Drug Delivery System</i> .....	21
2.4.3 Hasil Analisis Zeolit Sintesis dengan <i>Fourier Transform Infra-Red</i> .....	22
2.5 Senyawa Antikanker yang Diembankan pada Zeolit .....	23
2.6 Metode Impregnasi .....	24
2.7 Uji Aktivitas Antikanker secara <i>In-Vitro</i> dengan Metode MTT .....	25
2.8 Kanker .....	28
2.8.1 Kanker Payudara .....	28
2.5.2 Sel Kanker Payudara T47D .....	29
<b>BAB III METODOLOGI</b>	
3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian .....	30

3.2 Alat dan Bahan.....	30
3.2.1 Alat.....	30
3.2.2 Bahan ....	30
3.3 Rancangan Penelitian.....	31
3.4 Tahapan Penelitian.....	31
3.5 Pelaksanaan Penelitian.....	32
3.5.1 Preparasi Sampel.....	32
3.5.2 Ekstraksi Komponen Aktif Akar Rumput Bambu dengan Maserasi.....	32
3.5.3 Uji Fitokimia dengan Reagen.....	33
3.5.3.1 Uji Flavonoid.....	33
3.5.3.2 Uji Alkaloid.....	33
3.5.3.3 Uji Tanin.....	34
3.5.3.4 Uji Saponin.....	34
3.5.3.5 Uji Terpenoid dan Steroid.....	34
3.5.4 Pengembangan Ekstrak Akar Rumput Bambu pada Zeolit NaX secara Impregnasi.....	34
3.5.5 Analisis menggunakan <i>Fourier Transform Infra-Red</i> (FTIR).....	35
3.5.6 Uji Aktivitas Antikanker Metode MTT.....	36
3.5.6.1 Penyiapan Sel.....	36
3.5.6.2 Penghitungan Sel Kanker.....	36
3.5.6.3 Peletakan Sel pada <i>Plate</i> .....	37
3.5.6.4 Pembuatan Larutan Sampel dan Pemberian Larutan Sampel pada <i>Plate</i> .....	37
3.5.6.5 Pemberian Larutan MTT.....	37
3.5.7 Analisis Data.....	38
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	
4.1 Hasil Maserasi dan Fraksinasi Akar Rumput Bambu.....	40
4.2 Uji Fitokimia dengan Reagen.....	42
4.3 Analisis pengembangan Ekstrak terhadap Zeolit NaX sintesis dengan Metode Impregnasi Kering.....	45
4.4 Penentuan IC50 dengan Metode MTT.....	49
4.5 Kajian Hasil Penelitian dalam Perspektif Islam.....	58
<b>BAB V PENUTUP</b>	
5.1 Kesimpulan.....	62
5.2 Saran.....	62
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	63
<b>LAMPIRAN</b> .....	68

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Rumput Bambu ( <i>Lophatherum gracile</i> B.) .....	10
Gambar 2.2 Struktur umum dari senyawa triterpenoid.....	12
Gambar 2.3 Struktur kimia zeolit .....	16
Gambar 2.4 Kerangka zeolit NaX.....	17
Gambar 2.5 Pola difraktogram XRD pada zeolit X standar.....	18
Gambar 2.6 Difraktogram sintesis zeolit X dari SiO <sub>2</sub> dan Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> .....	19
Gambar 2.7 Hasil spektra FTIR zeolit X rasio molar Si/Al 1,5.....	22
Gambar 2.8 Difraktogram zeolit NaY variasi rasi SiO <sub>2</sub> /Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> sebelum dan sesudah dilakukan pengembangan .....	25
Gambar 2.9 Reaksi reduksi MTT.....	27
Gambar 3.1 Tabel data .....	39
Gambar 4.1 Dugaan reaksi antara alkaloid dengan reagen Mayer.....	43
Gambar 4.2 Dugaan reaksi alkaloid dengan reagen Dragendorff .....	43
Gambar 4.3 Dugaan reaksi senyawa saponin.....	44
Gambar 4.4 Dugaan reaksi senyawa tanin .....	45
Gambar 4.5 a) zeolit sebelum diimpregnasi, b) zeolit setelah diimpregnasi .....	46
Gambar 4.6 Ilustrasi interaksi antara zeolit NaX dengan senyawa aktif terpenoid .....	46
Gambar 4.7 Spektra Hasil FTIR a) zeolit NaX, b) Ekstrak akar rumput bambu fraksi n-heksan, c) Impregnasi 1:10, d) Impregnasi 5:10, e) Impregnasi 10:10 Hasil analisa ekstrak akar rumput bambu fraksi n-heksan dan zeolit.....	47
Gambar 4.8 Morfologi sel T47D ketika dihitung dengan <i>hemocytometer</i> . .....	50
Gambar 4.9 Morfologi sel T-47D setelah di treatment (a) Sel kontrol (b) Sel + kombinasi (5:10) konsentrasi 1000 µg/mL (c) Sel + kombinasi (5:10) konsentrasi 31,25 µg/mL .....	52
Gambar 4.10 Respirasi Sel Secara Umum .....	53
Gambar 4.11 Transport Elektron.....	53
Gambar 4.12 Proses MTT .....	54
Gambar 4.13 Struktur Natrium Dedosil Sulfat .....	55

## DAFTAR TABEL

2.1 Data hasil uji fitokimia dengan reagen .....	12
2.2 Data hasil perbandingan 2 theta .....	19
2.3 Data Hasil Perhitungan Ukuran Kristal.....	21
2.4 Data Hasil Perhitungan Jarak Antar Krista.....	21
2.5 Interpretasi spektra FTIR zeolit X sintesis rasio 1,5.....	22
2.6 Data nilai IC <sub>50</sub> uji aktivitas antikanker.....	28
4.1 Hasil maserasi serbuk akar rumput bambu ( <i>Lophatherum gracile</i> B.) .....	40
4.2 Hasil fraksinasi serbuk akar rumput bambu ( <i>Lophatherum gracile</i> B.) .....	41
4.3 Data hasil uji fitokimia dengan reagen .....	42
4.4 Interpretasi spektra FTIR sampel zeolit NaX dan hasil pengembanan .....	48
4.5 Nilai IC <sub>50</sub> uji aktivitas antikanker .....	57



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Tahapan Penelitian.....	68
Lampiran 2. Skema Kerja.....	69
Lampiran 3. Pembuatan Larutan dan Reagen.....	74
Lampiran 4. Data dan Perhitungan Hasil Penelitian.....	79
Lampiran 5. Dokumentasi.....	83



## ABSTRAK

Widayati, L. 2017. **Uji Aktivitas Antikanker Ekstrak Akar Rumput Bambu (*Lohaterum gracile* B.) yang Diembankan pada Zeolit NaX terhadap Sel Kanker 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** : Ekstrak Akar Rumput Bambu (*Lohaterum gracile* B.), Zeolit NaX, Impregnasi Kering, Sel Kanker Payudara T-47D, Metode MTT

Telah dilakukan ekstrak akar rumput bambu fraksi n-heksan yang diembankan pada zeolit NaX. Hasil pengembanan ekstrak diuji aktivitas antikanker terhadap sel kanker payudara t-47d. Rasio pengembanan kombinasi ekstrak akar rumput bambu fraksi n-heksan dan zeolit NaX telah dilakukan untuk menentukan  $IC_{50}$  terbaik dalam menghambat pertumbuhan sel kanker.

Ekstraksi akar rumput bambu menggunakan pelarut alkohol 80% dan ekstraksi cair-cair dengan n-heksana. Pengembanan ekstrak akar rumput bambu pada zeolit NaX menggunakan metode impregnasi kering dengan perbandingan ekstrak:zeolit yaitu 1:10; 5:10 dan 10:10. Keberhasilan pengembanan dianalisis menggunakan FTIR. Metode uji aktivitas antikanker yang digunakan adalah metode MTT (*Microculture tetrazolium*) berdasarkan reaksi kolorimetri. Selanjutnya dihitung prosentase sel hidup tiap sampel sehingga diketahui nilai  $IC_{50}$ .

Hasil analisis FTIR terhadap ekstrak yang diembankan pada zeolit memberikan informasi bahwa adanya serapan pada bilangan gelombang  $2923,039\text{ cm}^{-1}$  untuk  $Csp_3-H$  (stretch) asym dan  $2855,795\text{ cm}^{-1}$  untuk  $-CH_2-$  (stretch) sym. Hal ini membuktikan bahwa ekstrak akar rumput bambu fraksi n-heksan telah teremban pada zeolit. Nilai  $IC_{50}$  dari masing-masing perbandingan secara berturut-turut yaitu  $3.016\text{ }\mu\text{g/mL}$ ;  $91245\text{ }\mu\text{g/mL}$ ;  $1.006,215\text{ }\mu\text{g/mL}$  dan rasio perbandingan terbaik dalam menghambat pertumbuhan sel kanker adalah 5:10.

## ABSTRACT

Widayati, L. 2017. **Anticancer Activity Test of Bamboo Grass Root Extract (Lohaterum gracile B.) Development on NaX Zeolite to Breast Cancer Cells (T-47D)**. Thesis. Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Supervisor I: Elok Kamilah Hayati, M.Si; Supervisor II: Rif'atul Mahmudah, M.Si; Consultant : Susi Nurul Khalifah, M.Si.

---

**Keyword** : Bamboo Grass Root Extract (*Lohaterum gracile* B.), Zeolite NaX, Dry Impregnation, Breast Cancer Cells T-47D, Method MTT

Bamboo grass root extract fraction of n-hexane was carried out development to zeolite NaX. The result of extract was tested activity to breast cancer T-47D with combination ratio of bamboo grass root extract fraction of n-hexane and NaX zeolite to determine the best IC<sub>50</sub> in inhibiting the growth of cancer cell. It was caused to know accounting of the best IC<sub>50</sub> to inhibition of cancer cells.

Extraction of bamboo grass roots using 80% alcohol solvent and liquid-liquid extraction with n-hexane. The development of bamboo grass root extract on NaX zeolite using dry impregnation method with extract ratio: zeolite are 1:10; 5:10 and 10:10. The result of was analyzed using FTIR. The anticancer activity test using the MTT (Microculture tetrazolium) method based on colorimetric reaction and was calculated the percentage of living cells in the each sample.

The spectra of FTIR to extract carry on in zeolite give information absorbtion are at 2923,039 cm<sup>-1</sup> for Csp<sub>3</sub>-H (stretch) asym and 2855,795 cm<sup>-1</sup> for -CH<sub>2</sub>- (stretch) sym. It has prove that bamboo grass root extract fraction n-heksan, to have was carried on the zeolite. The value of IC<sub>50</sub> of each comparison respectively is 3,016 µg / mL; 91245 µg / mL; 1,006,215 µg / mL and the best ratio of ratio in inhibiting cancer cell growth is 5:10.

## مستخلص البحث

وبداياتي. تجربة مضادة سرطان مقتطف جذر عشب الخيزران (*Lohaterum gracile* B.) فصيلة N-heksan في تعيين زيولايت NaX على خلية السرطان 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 الحمودة الماجستير، المستشار: سوسي نور الخليفة الماجستير. الكلمات الأساسية: مقتطف جذر عشب الخيزران (*Lohaterum gracile* B.)، زيولايت NaX، التسريب الجاف، خلية السرطان الثدي T-47D، طريقة MTT.

والحديث أن عشب الخيزران نبات الأعشاب الذي يتفجع به كالدواء، ومنها الدواء للسرطان. فيما عدا النبات، مادة غير العضوية كزيولايت المستخدم للدواء. الدواء أو مركبات مضاد السرطان التعيين على زيولايت له الامكانية في تقييد نمو خلية السرطان على نحو فعال. أن أهداف هذا البحث فهو لمعرفة  $IC_{50}$  الأفضل من نسبة المقارنة مجموعة من مقتطف جذر عشب الخيزران فصيلة N-heksan في تعيين زيولايت NaX تقييد نمو خلية السرطان الثدي. T47D.

إضافة إلى ذلك، أن خطوات البحث هي مقتطف جذر عشب الخيزران الذي يستخدم ذائب الكحول ٨٠ ومقتطف السوائل فصيلة N-heksan. أن زيولايت NaX المستخدمة الزيولايت التوليفة النقية. من حيث المقارنة بين مقتطف زيولايت وهو ١:١٠، ٥:١٠ و ١٠:١٠. ولمعرفة الفرق كتلة وطينة زيولايت من قبل وبعد التعيين فيقيم التحليل باستخدام FTIR أما الطريقة التجربة مضاد السرطان المستخدمة فهي MTT (*Microculture tetrazolium*) بنظر إلى رد الفعل اللونية. وبالتالي بحسب نسبة الخلية الحياة لكل العينة وبحلل باستخدام .... حتى يعرف درجة  $IC_{50}$ .

أما نتائج التحليل باستخدام FTIR تدل إلى أن جميع العينات نتيجة التعيين الظهور قمة الجواذب الجديد على عدد موج ٢٩٢٣،٠٣٩  $cm^{-1}$  و ٢٨٥٥،٧٩٥  $cm^{-1}$  قمة الجواذب الجديد الظهور مناسباً بجواذب الأنصاف (stretch) sym -CH<sub>2</sub>- dan (stretch) asym Csp<sub>3</sub>-H على طيفيا مقتطف جذر عشب الخيزران فصيلة N-heksan. وعلى هذه الحالة تصدق أن مقتطف جذر عشب الخيزران فصيلة N-heksan قد عين على زيولايت. أن نتائج البحث فهي المقارنة المحتملة لمنع نمو خلية السرطان ٥:١٠ على درجة  $IC_{50}$  ودرجة 919,245  $\mu g/mL$  تدل درجة  $IC_{50}$  أن مقتطف جذر عشب الخيزران المنفرد أفضل الفعالية كمضاد السرطان خلية الثدي (T47D) من الزيولايت NaX وهو 629,63  $\mu g/mL$ .

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Kanker merupakan salah satu penyakit yang memiliki nilai angka kematian yang tinggi. Kanker tertinggi di Indonesia pada perempuan adalah kanker payudara dan kanker leher rahim. Berdasarkan data IARC (2010) kanker payudara merupakan penyebab kematian kanker utama kedua pada perempuan, selama 5 tahun terakhir, sejak tahun 2008 ada sekitar 1,38 juta kasus kanker payudara dimana sekitar 458 ribu mengalami kematian, sedangkan di Indonesia ada sekitar 40 ribu kasus dan 20 ribu diantaranya mengalami kematian. Berdasarkan data KEMENKES tahun 2015, bahwa insiden kanker payudara sebesar 40 per 100.000 perempuan dan kanker leher rahim 17 per 100.000 perempuan. Sehingga kanker payudara merupakan penyebab kematian sebagian besar wanita.

Zeolit merupakan material anorganik yang saat ini telah dieksplorasi sebagai pengemban obat. Zeolit dapat digunakan sebagai sistem pembawa obat ((*DDS*) *Drug Delivery System*) dan agen pengontrol pelepasan obat. Hal ini dipengaruhi oleh sifat zeolit yang memiliki arsitektur dan komposisi pori yang teratur (Baerlocher, dkk., 2007). Zeolit saat ini dipandang sebagai obat yang berpotensi dalam terapi kanker karena kemampuannya untuk menghambat proliferasi sel kanker (Ghazi, dkk., 2013). Zeolit berpotensi dalam aplikasi medis karena sifat struktural dan stabilitas di lingkungan biologis (Vilaça et al., (2013).

Obat atau senyawa antikanker yang diemban terhadap zeolit tidak memiliki efek samping yang berbahaya jika dikonsumsi oleh tubuh. Selain itu,

efektifitas dalam menghambat pertumbuhan sel akan lebih baik dari pada tidak diimbangkan pada zeolit. Hal ini dikarenakan zeolit memiliki sifat adsorpsi sehingga mampu mengontrol laju dan pelepasan obat, sedangkan obat atau senyawa yang tidak diimbangkan laju alir obat atau senyawa antikanker tersebut lebih cepat dan tidak terkontrol sehingga sel kanker target yang dituju kurang terarah. Pengembanan senyawa antikanker pada zeolit dilakukan sesuai dengan penelitian Vilaca, dkk., (2013) menggunakan metode impregnasi.

Menurut Amorim et al., (2012), zeolit memiliki peranan dalam membawa atau mengangkut obat ke dalam sel kanker melalui permukaannya yaitu berupa makropori. Sehingga memiliki potensi lebih besar dalam menghambat pertumbuhan sel kanker. Penelitian ini dilakukan secara enkapsulasi, yaitu  $\alpha$ -siano-4-Asam hydroxycinnamic (CHC) dengan zeolit dalam bentuk natrium (NaY dan NaA). Zeolit tersebut sebagai pengemban obat antikanker CHC dan diujikan terhadap sel kanker *carcinoma* yaitu berupa sel kanker usus HCT-15. Hasil penelitiannya menyatakan bahwa obat dengan kombinasi zeolit memiliki nilai viabilitas sel 585 kali lipat terhadap sel kanker usus HCT-15, jika dibandingkan obat tanpa enkapsulasi.

Penelitian Amorim et al., (2012) dilakukan berdasarkan variasi kombinasi CHC dengan zeolit NaY dan NaA. Hasil penelitian ini menyatakan bahwa zeolit NaY lebih efektif dalam mengemban obat CHC daripada zeolit NaA. Hal ini dikarenakan ukuran zeolit NaY yang lebih besar, sehingga CHC dapat dengan bebas berdifusi ke arah sel. Hasil pengembanan zeolit NaY dengan senyawa CHC pada konsentrasi 0,05 ppm dapat menghambat sel kanker dengan meningkatkan efisiensi obat sebesar 119 kali dan 585 kali dengan jumlah

konsentrasi senyawa CHC secara berturut-turut adalah 0.054 dan 0.011 mM dengan perbandingan CHC:zeolit NaY yaitu 1:10 dan 5:10. Zeolit NaY mempunyai struktur yang sama dengan zeolit NaX yaitu *faujasite*, sehingga aktivitas dari kedua zeolit tersebut adalah sama.

Penelitian lain dengan menggunakan zeolit sintetis X dan Y telah dilakukan oleh Ghazi (2013), zeolit X dan Y dapat menghambat proliferasi sel kanker dan mengurangi sel viability secara *in vitro*. Sel kanker dibudidayakan dalam 50mg/ml zeolit X dan Y dengan penambahan 5 % suplemen FBS (*fetal bovine serum*) memberikan aktivitas yang tinggi dalam penghambatan proliferasi sel kanker dan mengurangi sel viability *in vitro* yaitu sebesar 70,6 %. Rimoli, dkk., (2007) menunjukkan bahwa zeolit sintesis tipe X yang dienkapsulasi 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 yang telah dilakukan mayoritas menggunakan obat sintesis yang diibankan terhadap zeolit. Penggunaan obat sintesis berkelanjutan akan menimbulkan efek samping yang signifikan, sehingga obat antikanker herbal telah menjadi pilihan bagi sebagian orang. Penelitian yang akan dilakukan yaitu menggunakan bahan alam berupa ekstrak akar rumput bambu fraksi n-heksan yang diibankan terhadap zeolit, harapan dalam penggunaannya aman karena

efek samping yang ditimbulkan kecil dan apabila penggunaannya tepat maka obat herbal ini tidak akan menimbulkan efek samping bagi pengkonsumsi. Penggunaan bahan alam merupakan salah satu karunia Allah SWT yang patut disyukuri dan dimanfaatkan sebaik-baiknya, seperti firman Allah SWT dalam surat Thahaa ayat 53.

Allah berfirman dalam surat Thahaa ayat 53 yang berbunyi :

الَّذِي جَعَلَ لَكُمُ الْأَرْضَ مَهْدًا وَسَلَّكَ لَكُمْ فِيهَا سُبُلًا وَأَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ أَزْوَاجًا مِّن نَّبَاتٍ شَتَّىٰ (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 menjelaskan bahwa Allah SWT telah menciptakan bermacam-macam jenis tumbuhan dengan berbagai khasiatnya. Salah satu khasiat dari tumbuhan adalah bisa digunakan sebagai obat alternatif berbagai penyakit yang dialami oleh manusia. Obat alternatif dari bahan alam tidak akan diketahui manusia jika tidak benar-benar memikirkannya. Hal inilah yang menuntun manusia untuk terus mencari dan menemukan obat dari suatu penyakit. Salah satu usahanya adalah sebagai obat penyakit kanker.

Penelitian A'ilah (2015), menyatakan bahwa nilai  $IC_{50}$  dari ekstrak etanol 80% akar rumput bambu, ekstrak etanol hasil hidrolisis, fraksi n-heksana, dan kloroform berturut-turut adalah 143,28 ; 428,580 ; 65,461 ; dan 72,757 ppm. Suatu ekstrak dianggap toksik apabila memiliki nilai  $IC_{50} < 1000 \mu\text{g/mL}$ . Nilai  $IC_{50}$  menunjukkan konsentrasi dalam penghambatan pertumbuhan sel sebesar 50% dari populasi sel, sehingga semakin kecil nilai  $IC_{50}$  sampel tersebut semakin toksik (NCI dalam Rahmawati, dkk., 2013). Penelitian tersebut menunjukkan bahwa

fraksi n-heksana dan fraksi kloroform memiliki sifat toksisitas yang tinggi dibandingkan dengan ekstrak etanol 80% dan ekstrak etanol hidrolisis sebagai bahan aktif penghambatan sel kanker payudara T47D.

Penelitian Rohma (2016), menyatakan bahwa ekstrak akar rumput bambu fraksi n-heksan yang diimbangkan pada zeolit NaX memiliki potensi yang kecil daripada ekstrak akar rumput bambu fraksi n-heksan tunggal dalam menghambat pertumbuhan sel kanker payudara (T47D) secara *in vitro*. Nilai  $IC_{50}$  yang berpotensi sebagai antikanker sel payudara (T47D) yaitu perbandingan 10:10 sebesar 2.192,42  $\mu\text{g/mL}$  dan ekstrak tunggal akar rumput bambu fraksi n-heksan sebesar 49,52  $\mu\text{g/mL}$ . Sedangkan Laila (2016) juga melakukan penelitian pengembanan ekstrak daun sirsak dengan zeolit NaX. Hasil perbandingan yang paling berpotensi dalam menghambat pertumbuhan sel kanker payudara T47D 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. Proses pengembanan pada penelitian tersebut dilakukan menggunakan metode impregnasi basah. Menurut Laila (2016) metode impregnasi basah memerlukan proses penyaringan untuk memisahkan antara filtrat dan residu, sehingga dimungkinkan ada sebagian zeolit yang ikut turun dalam filtrat dan akan menyebabkan turunnya konsentrasi zeolit pada residu, akibatnya efektifitas dalam menyerang sel kanker payudara berkurang.

Uji toksisitas ekstrak akar rumput bambu yang diimbangkan pada zeolit NaX menggunakan metode MTT (*Microculture Tetrazolium*). Prinsip dari metode ini menggunakan metode spektroskopi dengan menentukan nilai absorbansi dari formazan. Keuntungan dari metode ini yaitu relatif cepat, sensitif, akurat, senyawa

yang digunakan untuk pengujian relatif sedikit dan dapat memberikan informasi mengenai efeknya secara langsung terhadap sel manusia yang telah dikultur.

Berdasarkan uraian diatas, maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui aktivitas ekstrak akar rumput bambu (*Lophatherum gracile* B.) fraksi n-heksan yang diimbangkan pada zeolit X sintesis sebagai obat antikanker dengan metode impregnasi kering. Hal ini dilakukan agar dapat ditemukan obat-obatan tradisional yang dikombinasikan dengan bahan alam sehingga dapat menghambat aktivitas sel kanker payudara T47D.

### **1.2 Rumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang diatas, rumusan masalah penelitian ini adalah berapakah nilai  $IC_{50}$  dari perbandingan ekstrak akar rumput bambu (*Lophatherum gracile* B.) dengan zeolit NaX yang berpotensi sebagai antikanker sel payudara (T47D)

### **1.3 Tujuan Penelitian**

Tujuan penelitian ini berdasarkan rumusan masalah tersebut adalah untuk mengetahui nilai  $IC_{50}$  dari perbandingan ekstrak akar rumput bambu (*Lophatherum gracile* B.) dengan zeolit NaX yang berpotensi sebagai antikanker sel payudara (T47D).

### **1.4 Batasan Masalah**

1. Sampel yang digunakan adalah akar rumput bambu (*Lophatherum gracile* B.) yang telah diserbukkan dan berasal dari PT. Material Medika Kota Batu.
2. Pelarut yang digunakan adalah pelarut etanol 80%.
3. Metode ekstraksi yang digunakan adalah metode maserasi dan cair-cair.

4. Metode yang digunakan untuk kombinasi zeolit dengan akar rumput bambu (*Lophatherum gracile* B.) adalah metode impregnasi.
5. Sel kanker yang digunakan adalah sel kanker payudara T47D.
6. Metode *in-vitro* yang digunakan adalah metode MTT.

### 1.5 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan mampu memberikan informasi mengenai pemanfaatan akar rumput bambu (*Lophatherum gracile* B.) yang diimbangkan pada zeolit NaX sebagai obat kanker payudara T47D.



## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Pemanfaatan Tanaman dalam Perspektif Islam

Allah berfirman dalam surat asSyu'ara' (26) ayat 7-9

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ (٧) إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً وَمَا كَانَ أَكْثَرُهُمْ مُؤْمِنِينَ (٨) وَإِنَّ رَبُّكَ لَهُوَ الْعَزِيزُ الرَّحِيمُ (٩)

Artinya:” dan Apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik? Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat suatu tanda kekuasaan Allah. dan kebanyakan mereka tidak beriman. Dan Sesungguhnya Tuhanmu benar-benar Dialah yang Maha Perkasa lagi Maha Penyayang.”

Kata “Zaujin Karim” pada ayat ini menjelaskan tentang segala macam tumbuh-tumbuhan yang bersifat baik. Tumbuhan yang paling baik adalah tumbuhan yang subur dan bermanfaat Shihab (2002) . Allah SWT menumbuhkan berbagai macam jenis tumbuhan yang baik di bumi ini dengan berbagai manfaat dan kegunaan yang terkandung didalamnya yang dapat digunakan dan dikembangkan untuk kemaslahatan manusia. Salah satu hasil yang diharapkan dari tumbuhan adalah sebagai obat. Seperti halnya tanaman rumput bambu (*Lophatherum gracile* B.) merupakan salah satu tumbuhan yang dapat dimanfaatkan sebagai obat, karena banyak mengandung senyawa aktif. Salah satu senyawa aktif yang terkandung dalam rumput bambu yaitu terpenoid, dimana senyawa ini memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan sel kanker.

Firman Allah SWT surat an Nahl (16); 13

وَمَا ذَرَأَ لَكُمْ فِي الْأَرْضِ مُخْتَلِفًا أَلْوَنُهُ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً لِّقَوْمٍ يَتَذَكَّرُونَ (١٣)

Artinya: “ dan Dia (menundukkan pula) apa yang Dia ciptakan untuk kamu di bumi ini dengan berlain-lainan macamnya. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda (kekuasaan Allah) bagi kaum yang mengambil pelajaran.

Kata “*Mukhtalifan Alwanuhu*” menunjukkan bahwa Allah SWT menciptakan segala macam makhluk yang beranekaragam diseluruh penjuru bumi (al Mahali dan as Suyuthi,2011), misalnya rumput bambu (*Lophatherum gracile* B.). Allah SWT menciptakan rumput bambu agar manusia berfikir dan mengambil pelajaran pada tanda-tanda kekuasaanNya.

## 2.2 Tanaman Rumput Bambu (*Lophatherum gracile* B)

### 2.2.1 Morfologi dan Klasifikasi Tanaman Rumput Bambu (*Lophatherum gracile* B.)

Tanaman rumput bambu (*Lophatherum gracile*. B.) merupakan rumput liar di pinggir-pinggir jalan, semak-semak atau pinggir hutan. Tumbuh dari daratan menengah sampai pegunungan tinggi dari ketinggian 800 m sampai 2.500 m di atas permukaan laut. Rumput bambu merupakan rumput menahun yang memiliki tinggi 0,5 sampai 1,2 m, bertangkai banyak dengan rimpang pendek bercabang-cabang, berakar serabut yang tumbuh menjadi umbi-umbi. Batang-batangannya tegak, mampat tidak berbulu, daun-daunnya bertangkai jelas, terbangun lanset garis, berurat melintang diantara lidinya yang membujur, lembut, berwarna hijau tua dengan panjang 10-30 cm dan lebarnya 10-55 mm. Bunga majemuknya berupa sebuah malai bertangkai panjang dan terdiri atas bulir-bulir yang panjangnya 1-15 cm (Kususmawati,dkk.2003). Morfologi rumput bambu dapat dilihat pada Gambar 2.1 sebagai berikut:



Gambar 2.1 Rumput bambu (*Lophatherum gracile* Brongn) (Wijayakusuma, 2005)

Klasifikasi tanaman rumput bambu (*Lophatherum gracile* Brongn) menurut Cronquist (1981):

Kingdom	: Plantae (Plantae)
Subkingdom	: Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
Super Divisi	: Spermatophyta (Menghasilkan biji)
Divisi	: Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
Ordo	: Poales
Famili	: Poaceae (Suku rumput-rumputan)
Genus	: <i>Lophatherum</i>
Spesies	: <i>Lophatherum gracile</i> Brongn

### 2.2.2 Manfaat Tanaman Rumput Bambu

Tanaman rumput bambu (*Lophatherum gracile* B.) bermanfaat untuk menurunkan panas, meluruhkan kemih dan anti radang. Selain itu, untuk mengatasi demam, mimisan, sakit tenggorokan, sariawan, gusi bengkak, infeksi saluran kemih, air kemih sedikit dan berwarna kuning, air kemih berdarah, gelisah, dan haus (Wijayakusuma, 2005). Menurut (Jing, dkk., 2009), riset farmakologi ekstrak daun rumput bambu (*Lophatherum gracile* Brongn) dapat digunakan sebagai antipiretik, antideuritik, antibakteri, antitumor, dan efek hiperglesimik.

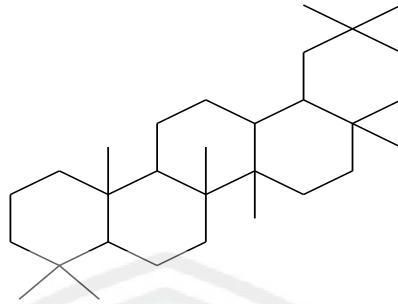
### 2.2.3 Senyawa Aktif yang Terkandung dalam Tanaman Rumput Bambu

Kandungan pada seluruh bagian tanaman ini antara lain akar, batang, dan daun mengandung triterpenoid dan steroid arundoin, cylindrin, friedelin, beta-

sitosterol, stigmasterol, campesterol, taraxerol, asam amino, dan asam lemak. (Wijayakusuma, 2005).

Penelitian farmakologi China menyatakan bahwa ekstrak daun (*Lophatherum gracile* Brongn) mengandung senyawa aktif flavonoid dan triterpenoid yang dapat dimanfaatkan sebagai antipiretik, diuretik, antibakteri, antitumor dan efek hiperglikemia (Jing, 2009). Menurut penelitian Sari (2014) ekstrak daun tanaman rumput bambu (*Lophatherum gracile* Brongn) fraksi etanol ditemukan tiga golongan senyawa yakni alkaloid, tanin dan triterpenoid. Hasil penelitian lainnya menyebutkan tumbuhan ini juga mengandung flavonoid pada bagian daun dan steroid atau triterpenoid pada bagian akar (Kusumawati, 2003).

Uji fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi golongan senyawa aktif yang terdapat dalam ekstrak akar rumput bambu. Penelitian Rohma (2016) uji fitokimia dilakukan pada ekstrak pekat fraksi n-heksan. Golongan senyawa metabolit sekunder yang diuji berupa alkaloid, flavonoid, saponin, steroid, tannin dan terpenoid. Hasil dari uji fitokimia dapat dilihat pada Tabel 2.1 yang menunjukkan bahwa ekstrak pekat n-heksan akar rumput bambu mengandung alkaloid, saponin, tannin dan terpenoid. Kandungan yang paling banyak terdapat dalam ekstrak pekat fraksi n-heksan adalah terpenoid dan hasil positif terpenoid ditunjukkan dengan terbentuknya cincin kecoklatan. Triterpenoid adalah senyawa yang kerangka karbonnya terdiri dari enam buah isoprena dan secara biosintesis diturunkan dari hidrokarbon C-30 asiklik. Senyawa ini tidak berwarna, berbentuk kristal, mempunyai titik leleh tinggi, dan bersifat optis aktif. Senyawa ini umum ditemukan dalam tumbuhan berbiji dan sebagai glikosida. Struktur senyawa triterpenoid ditunjukkan pada Gambar 2.2 (Harbone, 1987):



Gambar 2.2 Senyawa triterpenoid

Uji triterpenoid dilakukan dengan penambahan kloroform sebagai pelarut senyawa triterpenoid karena memiliki sifat kepolaran yang sama (nonpolar). Selanjutnya adalah penambahan asam asetat anhidrat untuk membentuk turunan senyawa asetil kloroform, lalu penambahan asam kuat yaitu asam sulfat pekat melalui dinding tabung reaksi mengakibatkan senyawa triterpenoid mengalami dehidrasi. Akhirnya akan membentuk garam yang akan memberikan sejumlah warna reaksi (Mukhlis, 2010). Berdasarkan penelitian Rohma (2016) menyatakan bahwa uji fitokimia pada ekstrak pekat fraksi n-heksan ini pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Data hasil uji fitokimia dengan reagen

Senyawa aktif	Fraksi n-Heksana
Alkaloid	
- Dragendorf	+
- Mayer	+
Flavonoid	-
Saponin	+
Steroid	-
Tanin	++
Terpenoid	+++

**Keterangan:**

- +++ = Kandungan senyawa lebih banyak (warna sangat pekat)
- ++ = Mengandung senyawa (warna cukup pekat)
- + = Mengandung senyawa (berwarna)
- = Tidak terkandung senyawa

## **2.3 Metode Pemisahan Senyawa Aktif Akar Rumput Bambu (*Lophatherum gracile* B.)**

### **2.3.1 Ekstraksi Maserasi**

Ekstraksi adalah salah satu metode pemisahan suatu komponen dari campurannya dengan menggunakan pelarut berdasarkan perbedaan distribusi fasa. Tujuan ekstraksi adalah memisahkan suatu komponen dari campurannya menggunakan pelarut tertentu (Soebagio, 2003). Salah satu metode ekstraksi adalah maserasi. Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam 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. Pelarutan dengan maserasi, perlu dilakukan pengadukan untuk meratakan konsentrasi larutan diluar butir serbuk simplisia, sehingga dengan pengadukan tersebut tetap terjaga adanya derajat perbedaan konsentrasi yang sekecil-kecilnya antara larutan di dalam sel dengan larutan di luar sel (Baraja, 2008).

Proses maserasi ini sangat menguntungkan dalam isolasi senyawa bahan alam, karena akan terjadi kontak sampel dan pelarut yang cukup lama. Terdistribusinya pelarut organik yang terus menerus ke dalam sel tumbuhan mengakibatkan perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel, sehingga pemecahan dinding dan membran sel dan metabolit sekunder yang berada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik. Ekstraksi senyawa akan sempurna dengan variasi lama perendaman (Baraja, 2008).

Kelebihan dari metode maserasi adalah sederhana, relatif murah, tidak memerlukan peralatan yang rumit, terjadi kontak antara sampel dan pelarut yang cukup lama dan dapat menghindari kerusakan komponen senyawa yang tidak tahan panas. Kekurangan dari metode ini adalah membutuhkan waktu yang lama untuk mencari pelarut organik yang dapat melarutkan dengan baik senyawa yang akan diisolasi dan harus mempunyai titik didih yang tinggi pula sehingga tidak mudah menguap (Voight, 1995). Pemilihan pelarut organik yang akan digunakan dalam ekstraksi komponen aktif merupakan faktor penting dan menentukan untuk mencapai tujuan dan sasaran ekstraksi komponen. Semakin tinggi nilai konstanta dielektrik, titik didih dan kelarutan dalam air, maka pelarut akan bersifat makin polar (Sudarmadji, *et al.*, 2007).

Pelarut yang digunakan pada penelitian ini yaitu n-heksana dan etanol didasarkan pada pemilihan variasi pelarut yang sesuai. Pelarut-pelarut tersebut memiliki titik didih yang cukup rendah, dapat mudah diuapkan tanpa menggunakan suhu yang tinggi, bersifat inert, dapat melarutkan senyawaan yang sesuai dengan cukup cepat serta memiliki harga yang terjangkau (Guenther, 2006). Kelarutan terhadap air dari pelarut-pelarut tersebut juga semakin tinggi dengan semakin tingginya tingkat kepolarannya (Nur Adijuwana, 1989; Sudarmadji, *et al.*, 2007).

### **2.3.2 Ekstraksi Cair-Cair (Partisi)**

Ekstraksi cair-cair ditentukan oleh distribusi Nerts yang menyatakan bahwa “pada konsentrasi dan tekanan yang konstan, analit akan terdistribusi dalam jumlah yang selalu sama terhadap pelarut yang tidak campur”. Analit-analit yang mudah terekstrak pada pelarut organik adalah molekul netral yang berikatan

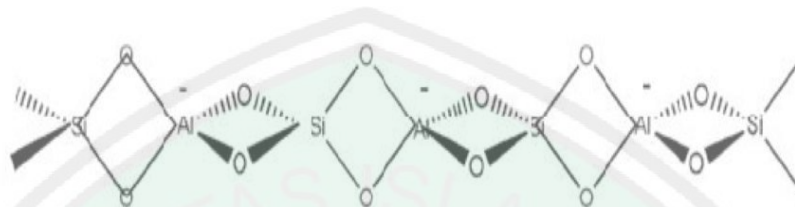
senyawa kovalen dengan substansi yang bersifat nonpolar atau semi polar. Sedangkan senyawa-senyawa yang mudah terionisasi akan bertahan pada fase air (Rohman dan Gandjar, 2007). Prinsip kerja dari metode ini adalah *like dissolve like* yaitu senyawa polar akan larut dalam pelarut polar dan senyawa nonpolar akan larut dalam senyawa nonpolar.

Pelarut organik yang dipilih untuk proses ekstraksi adalah pelarut yang memiliki kelarutan yang rendah dalam air (0,1%). Hal ini bertujuan untuk memudahkan penghilangan pelarut organik setelah ekstraksi. Selain itu, hasil ekstraksi memiliki kemurnian tinggi untuk meminimalisir terjadinya kontaminasi pada sampel (Rohman dan Gandjar, 2007). Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah n-heksana, karena perbedaan tingkat kepolaran, sehingga dapat memisahkan senyawa aktif dalam ekstrak berdasarkan kepolarannya. Selain itu, pelarut ini memiliki titik didih yang rendah. Sifat ketosikannya juga cukup rendah dibandingkan dengan pelarut nonpolar lainnya yaitu 47702 mg/kg dan nilai kelarutannya dalam air adalah 2,0. Sehingga dimungkinkan akan lebih mudah mendapatkan senyawa murninya (Guather, 2006).

#### 2.4 Zeolit X

Zeolit didefinisikan sebagai kristal aluminosilikat yang mempunyai struktur kerangka tiga dimensi terbentuk oleh tetrahedral  $[AlO_4]^{5-}$  dan  $[SiO_4]^{4-}$  dengan pori-pori didalamnya terisi ion-ion logam. Biasanya logam-logam alkali atau alkali tanah dan molekul air yang dapat bergerak bebas (Ribiero, dkk., 1984). Umumnya struktur zeolit adalah suatu polimer anorganik berbentuk tetrahedral

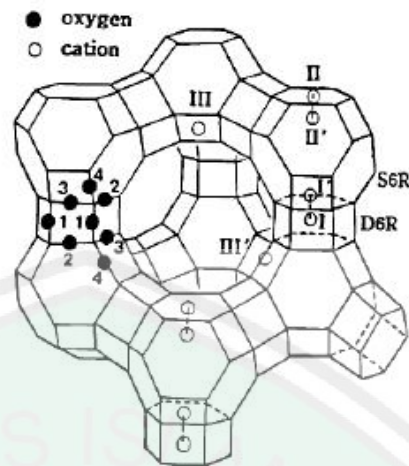
unit  $\text{TO}_4$ , dimana T adalah  $\text{Si}^{4+}$  atau  $\text{Al}^{3+}$  dengan atom O berada diantara dua atom T, seperti ditunjukkan dalam Gambar 2.3 :



Gambar 2.3 Struktur kimia zeolit (Haag, 1984)

Zeolit X merupakan tipe zeolit sintetik yang termasuk dalam kelompok Faujasit (FAU) (Kurniawan, 2006). Zeolit X yaitu zeolit yang memiliki diameter *a-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). Rumus molekul dari zeolit X sintesis adalah  $\text{Na}_{86}[(\text{AlO}_2)_{86}(\text{SiO}_2)_{106}].264\text{H}_2\text{O}$  (Widati, dkk., 2010). Perbedaan *faujasite* dengan jenis zeolit yang lain adalah pada komposisi dan distribusi kation, rasio Si/Al dan keteraturan Si/Al pada pusat *tetrahedral* (Salaman, 2004). Struktur zeolit *faujasite* terdiri dari muatan negatif, kerangka tiga dimensi *tetrahedral*  $\text{SiO}_4$  dan  $\text{AlO}_4$  yang bergabung membentuk *oktahedral* terpancung (*sodalite*).

Zeolit NaX mempunyai diameter pori-pori yang berstruktur bangun oktahedral pada titik I, II dan III. Hal ini menunjukkan posisi dari kation natrium yang dapat bertukar ion atau situs yang dapat berpindah dengan adanya ion lain (Widayat, dkk., 2012) seperti Gambar 2.4.



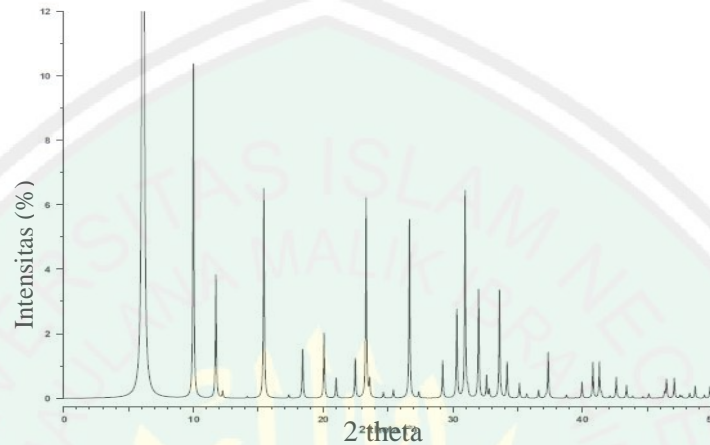
Gambar 2.4 Kerangka zeolit NaX (Yeom, dkk., 1997)

#### 2.4.1 Sintesis Zeolit X

Metode yang sering digunakan dalam sintesis zeolit X adalah metode sol gel dan dilanjutkan dengan metode hidrotermal. Metode sol gel yaitu proses pembentukan senyawa anorganik melalui reaksi kimia dalam larutan pada suhu rendah. Proses yang terjadi adalah perubahan fasa dari suspensi koloid (sol) membentuk fase cair yang kontinyu (gel) (Fernandez, 2011). Gel yang terbentuk kemudian dipanaskan menggunakan metode hidrotermal. Zeolit dibentuk dalam kondisi hidrotermal, bahan utamanya adalah aluminat silikat (gel) dan berbagai logam kation. Komposisi gel, sifat fisik, kimia reaktan, jenis kation dan kondisi kristalisasi sangat menentukan struktur yang diperoleh (Saputra, 2006).

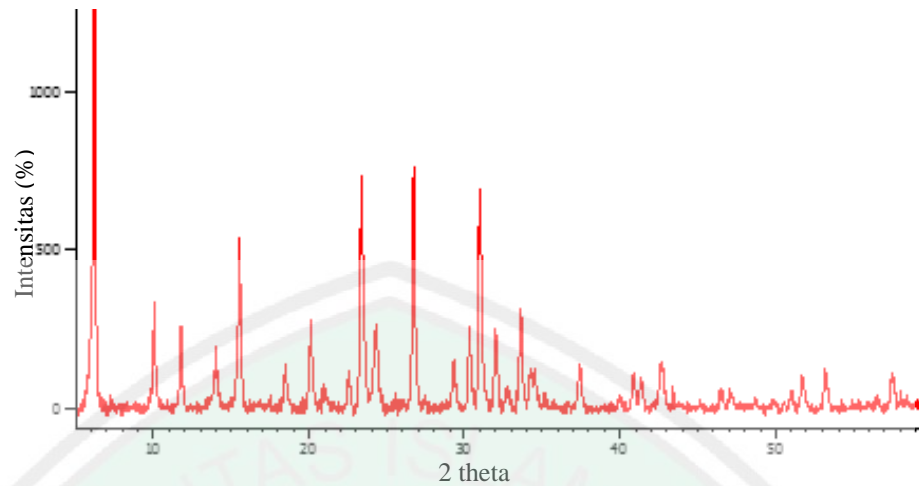
Kemurnian zeolit X hasil sintesis dapat diketahui dengan membandingkan nilai sudut  $2\theta$  dan intensitasnya dengan zeolit X standar *Collection of Simulated XRD Powder Patterns for Zeolites* (Treacy dan Higgins, 2001). Setiap senyawa dengan struktur kristal yang sama akan menghasilkan

difaktogram yang identik. Berikut difraktogram zeolit X standar pada Gambar 2.5:



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

Berdasarkan difraktogram zeolit X standar tersebut, puncak- puncak tertinggi zeolit X diketahui terdapat pada sudut  $2\theta = 6,1^\circ$ ;  $10,7^\circ$ ;  $16^\circ$ ;  $27^\circ$  dan  $34,08^\circ$  (Zhan, dkk, 2002; Georgiev, dkk, 2013; Kovo, 2012; Manurung, dkk, 2012). Apabila puncak- puncak hasil difraktogram zeolit X sintesis tidak muncul pada  $2\theta$  tersebut, maka sintesis zeolit X yang dilakukan kurang berhasil. Berikut difraktogram zeolit X hasil sintesis dari  $\text{SiO}_2$  dan  $\text{Al}_2\text{O}_3$  ditunjukkan pada Gambar 2.6.



Gambar 2.6 Difraktogram sintesis zeolit X dari  $\text{SiO}_2$  dan  $\text{Al}_2\text{O}_3$  (Khalifah, 2016)

Berikut hasil perbandingan 2 theta standar dan sampel dapat dilihat pada

Tabel 2.2

Tabel 2.2 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 2.2 perbandingan 2 theta 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 hampir sesuai dengan standar zeolit X. Puncak-puncak yang lain muncul di daerah  $2\theta$  yang hampir 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 pada 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 2.3.

Tabel 2.3 Data Hasil Perhitungan Ukuran Kristal

Zeolit Y 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 2.4. 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 2.4 Data Hasil Perhitungan Jarak Antar Kristal

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

#### 2.4.2 Potensi Zeolit Sebagai Antikanker dan *Drug Delivery System*

Zeolit dapat diaplikasikan dalam dunia medis karena kestabilannya dalam lingkungan kimia dan biologis, sedikit mengikat molekul oksigen dan oksida nitrit, memiliki ukuran dan bentuk yang selektif, memberikan kemungkinan terjadinya metaloenzim, dan memiliki aktivitas imun (Pavelić & Hadžija, 2003). Zeolit saat ini dipandang sebagai adjuvant 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 arsitektur dan komposisi pori yang teratur dengan rongga dan saluran (Baerlocher, dkk., 2007).

Zeolit telah dieksplorasi dalam aplikasi medis yang digunakan 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. Sistem pembawa obat yang ideal harus biodegradabel, biokompatibel, memiliki pori dan mampu mencapai sediaan obat yang tinggi (Datt, 2012). 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 dapat digunakan dalam terapi antikanker (Rimoli et al., 2008).

Penelitian Ghazi, dkk., (2013) menggunakan zeolit sintetis X dan Y dapat menghambat proliferasi sel kanker dan mengurangi sel viability secara *in vitro*. Sel kanker dibudidayakan dan diobati dengan 50 mg/ml zeolit X dan Y dengan

penambahan 5 % suplemen FBS (*fetal bovine serum*) memberikan aktivitas yang tinggi dalam penghambatan proliferasi sel kanker dan mengurangi sel viability *in vitro* yaitu sebesar 70,6 %.

#### 2.4.3 Hasil Analisis Zeolit Sintesis dengan *Fourier Transform Infra-Red*

Zeolit secara umum mempunyai daerah serapan inframerah yang khas di sekitar bilangan gelombang 1200-300  $\text{cm}^{-1}$  karena pada daerah ini memuat vibrasi fundamental kerangka tetrahedral ( $\text{SiO}_4/\text{AlO}_4$ ) yang merupakan satuan-satuan pembangun kerangka zeolit (Murni dan Helmawati, 2006). Hasil spektra FTIR zeolit X rasio 1,5 dapat dilihat pada Gambar 2.7:



Gambar 2.7 Hasil spektra FTIR zeolit X rasio molar Si/Al 1,5

Tabel 2.5 Interpretasi spektra FTIR zeolit X sintesis rasio 1,5

No	Bilangan Gelombang ( $\text{cm}^{-1}$ ) Zeolit X rasio 1,5	Bilangan Gelombang ( $\text{cm}^{-1}$ ) Referensi*	Keterangan
1.	468	540 – 440	Tekukan O-T-O (T= Si atau Al)
2	576	650 – 500**	Cincin ganda
3	773	820 – 750**	Rentangan simetris O-T-O eksternal
4	1039	1120 – 1000	Rentangan asimetris O-T-O internal
5	1635	1650 – 1600	Tekukan H-O-H
6	3446	3600 – 3100	O-H

\*Socrates (1994) dan \*\*Flanigen, dkk. (1971)

Berdasarkan hasil spektra pada Gambar 2.7 diketahui bahwa absorpsi yang kuat muncul di daerah bilangan gelombang 1039. Absorpsi yang kuat pada daerah bilangan gelombang  $1100\text{ cm}^{-1}$  ini merupakan ciri khas adanya zeolit (Byrappa dan Kumar, 2007).

## 2.5 Senyawa Antikanker yang Diembankan pada Zeolit

Zeolit 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 pori (Baerlocher, *et al.*, 2007). Sifat zeolit pada dasarnya ditentukan oleh karakteristik unik strukturnya, seperti ukuran pori, ruang kosong yang dapat diakses, sistem saluran, situs aktif dan jenis kation tambahan (Cundy, *et al.*, 2003). Adanya pori, saluran dan rongga, menyebabkan zeolit dapat digunakan sebagai pengemban/matriks molekul obat. Molekul obat yang terdapat didalam pori, berdifusi keluar dari sistem saluran dengan perlahan, sehingga dapat mengontrol laju pelepasan obat. Pelepasan obat yang terkontrol dapat meningkatkan efisiensi obat dan mengurangi efek samping.

Penelitian tentang penggunaan zeolit sebagai pengemban senyawa antikanker, diantaranya zeolit NaY dan NaA digunakan untuk enkapsulasi  $\alpha$ -cyano-4-hydroxycinnamic acid (CHC) yang merupakan obat antikanker. Pengaruh enkapsulasi CHC dalam zeolit pada sel kanker HTC-15 menunjukkan penghambatan sel 585 kali lipat Amorim, Vilaça, *et al.*, (2012). Spanakis *et al.*, (2014) juga telah melaporkan penggabungan obat antikanker 5-fluorouracil dengan zeolit BEA (rasio Si/Al 250) dan zeolit NaX (rasio Si/Al <1,5). Hasil impregnasi 5-fluorouracil dalam zeolit NaX menunjukkan penurunan viabilitas

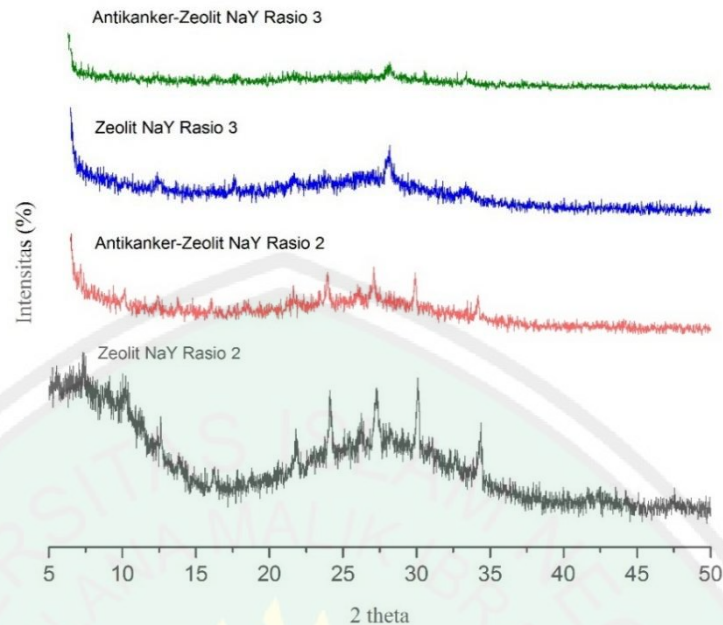
sel Caco-2 yang lebih baik dibandingkan zeolit BEA. Hal ini disebabkan zeolit NaX lebih hidofilik dibandingkan dengan BEA.

## 2.6 Metode Impregnasi

Menurut Kamus Besar Bahasa Indonesia, impregnasi berarti penjenuhan atau pemenuhan dengan gas atau cairan. Salah satu metode dalam preparasi katalis adalah impregnasi. 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.

Sudiyono (2016) melakukan pengembanan senyawa antikanker hasil ekstrak etanol akar rumput bambu pada zeolit NaY hasil sintesis dilakukan dengan metode impregnasi. Difraktogram hasil pengembanan senyawa antikanker pada zeolit NaY hasil sintesis dapat dilihat pada Gambar 2.8.



Gambar 2.8 Difraktogram zeolit NaY variasi rasi  $\text{SiO}_2/\text{Al}_2\text{O}_3$  sebelum dan sesudah dilakukan pengembunan (Sudiyono, 2016)

Zeolit NaY hasil sintesis setelah dilakukan pengembunan mengalami penurunan intensitas. Penurunan intensitas ini disebabkan karena adanya senyawa yang diembankan pada zeolit NaY. Penurunan intensitas disebabkan karena sinar yang dipantulkan oleh bidang kristal zeolit terhalang oleh senyawa antikanker yang menempel pada zeolit. Intensitas yang turun ini akan menyebabkan kristalinitas zeolit juga menurun (Sudiyono, 2016). Penelitian lain yang dilakukan oleh Rimoli, *et al.*, (2007) melaporkan bahwa zeolit X dan zeolit AX yang diembankan dengan obat ketoprofen tidak mengubah difraktogram zeolit dan hanya menurunkan kristalinitasnya.

## 2.7 Uji Aktivitas Antikanker secara *In-Vitro* dengan Metode MTT

Antikanker dapat dilakukan dengan uji MTT yang merupakan salah satu metode yang digunakan dalam uji sitotoksik. Metode MTT (*Microculture*

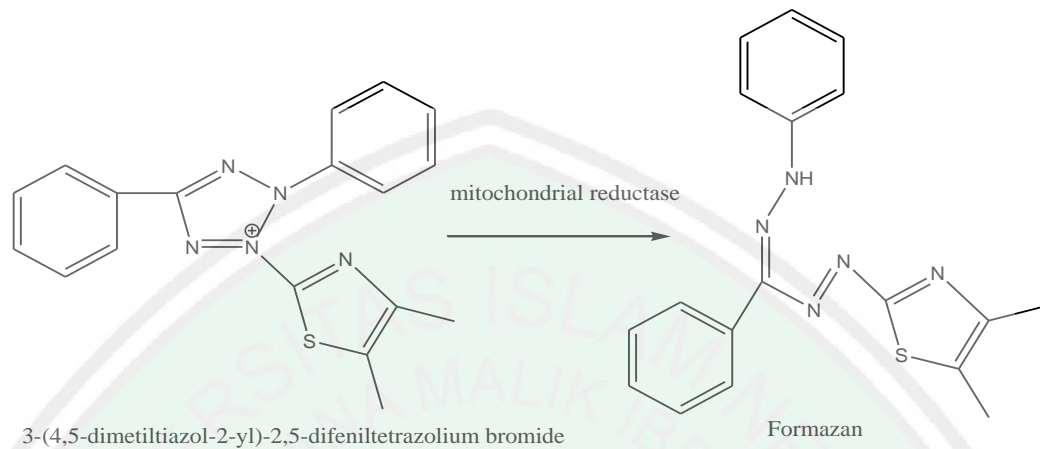
*Tetrazolium*) banyak dimanfaatkan untuk menyelidiki mekanisme aktivasi sel dan kerusakan sel yang mana pengujiannya secara kolorimetri dan didasarkan pada *bio-reduction* garam tetrazolium ke formazan Goodwin, *et al.*, (1995). Pengujian secara *in vitro* ini menggunakan biakan sel (*cell line*) yang memberikan kelebihan dibandingkan pengujian *in vivo* yakni bahan uji yang digunakan lebih sedikit dan waktu pengujian relatif singkat (Widowati, dkk., 2009).

Penelitian ini digunakan uji MTT karena memiliki kelebihan yaitu relatif cepat, sensitif, akurat, digunakan untuk mengukur sampel dalam jumlah besar dan hasilnya bisa untuk memprediksi sifat sitotoksik suatu bahan. 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).

Prinsip uji MTT adalah mengukur aktivitas selular berdasarkan kemampuan enzim mitokondria reduktase pada mitokondria dalam mereduksi garam Methylthiazol Tetrazolium (MTT) membentuk kristal formazan berwarna biru. Konsentrasi formazan yang berwarna biru 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.

Reaksi reduksi MTT dapat dilihat pada Gambar 2.9 berikut Meiyanto (1999):



Gambar 2.9 Reaksi reduksi MTT

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. Nilai ini merupakan patokan untuk melakukan uji pengamatan kinetika sel. Nilai  $IC_{50}$  menunjukkan potensi suatu senyawa sebagai sitostatik. Semakin besar nilai  $IC_{50}$  maka senyawa tersebut semakin tidak toksik (Meiyanto, 1999; Padmi, 2008).

Penelitian Rohma (2016) menyatakan bahwa fraksi n-heksan memiliki potensi penghambatan pertumbuhan sel kanker payudara T47D lebih baik daripada menggunakan ekstrak yang lain dengan ditunjukkan nilai  $IC_{50}$  paling rendah. Nilai  $IC_{50}$  menunjukkan konsentrasi yang menyebabkan penghambatan pertumbuhan sel sebesar 50% dari populasi sel, sehingga semakin kecil nilai  $IC_{50}$  sampel tersebut semakin toksik. Sifat sitotoksik memiliki tiga tingkatan menurut *National Cancer Institute* (NCI), yaitu sangat aktif apabila nilai  $IC_{50} < 30 \mu\text{g/mL}$ ,

moderate aktif dengan nilai  $IC_{50}$  30 – 100  $\mu\text{g/mL}$ , dan nilai  $IC_{50} > 100 \mu\text{g/mL}$  dinyatakan tidak aktif (Rahmawati, *et al.*, 2013). Hasil  $IC_{50}$  tiap sampel dari akar bambu pada penelitian Rohma (2016) ditunjukkan pada Tabel 2.6.

Tabel 2.6 Data nilai  $IC_{50}$  uji aktivitas antikanker

Sampel	$IC_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )
Ekstrak n-Heksan akar rumput bambu	42,59
Zeolit NaX	5.328,69
Kombinasi ekstrak : zeolit (1 : 10 )	13.258,59
Kombinasi ekstrak : zeolit (10 : 10 )	2.192,42

Sumber: Rohma, 2016

## 2.8 Kanker

Kanker merupakan suatu keadaan dimana sel abnormal melakukan pembelahan diri tidak terkontrol, menyerang ataupun merusak jaringan di dekatnya, dan kadang bermetastasis atau dapat menyebar ke jaringan lainnya. Sel kanker dapat menyebar ke jaringan lain melalui sistem darah dan sistem limfa. Sifat inilah yang membedakan kanker dengan tumor yang tak berbahaya, karena tidak merusak jaringan lain. Ilmu yang mempelajari tentang kanker disebut onkologi (Maharani, 2009).

### 2.8.1 Kanker Payudara

Kanker payudara bermula pada sel epitel sehingga dikelompokkan sebagai karsinoma (keganasan tumor epitelial). Kanker payudara umumnya berupa *ductal breast cancer* yang invasif dalam pertumbuhan singkat. Sel kanker payudara dapat tumbuh menjadi benjolan sebesar 1  $\text{cm}^2$  dalam waktu 8-12 tahun (Tambunan, 2003). Sebagian besar (70%) ditandai dengan adanya

gumpalan yang terasa sakit pada payudara dan juga rasa panas pada jaringan payudara (Lindley dan Michaud, 2005).

### 2.8.2 Sel Kanker Payudara T47D

Sel kanker payudara yang sering digunakan dalam penelitian adalah MCF-7 dan T47D. Sel MCF-7 merupakan sel kanker yang diperoleh dari pasien wanita Kaukasian dengan dasar penumbuh media DMEM terformulasi. Sel T47D adalah sel kanker payudara yang diperoleh dari jaringan payudara seorang wanita remaja maupun dewasa yang terkenal *ductal carcinoma* dengan media dasar RPMI (*Roswell Park Memorial Institute*) (ATCC, 2008).



## BAB III

### METODOLOGI PENELITIAN

#### 3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari - April 2017 di Laboratorium BIOTEK, 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 diantaranya seperangkat alat gelas, blender, gunting, ayakan 60 mesh, oven, loyang, neraca analitik, penjepit kayu, *shaker incubator*, kertas saring, klem dan statif, penyaring *buchner*, *rotary evaporator*, botol vial, oven, *vortex*, mikropipet 200, 1000  $\mu\text{L}$ , tabung reaksi kecil, rak tabung kecil, *96-well plate*, *conical tube*, *yellow tip*, *blue tip*, *culture dish*, *hemocytometer*, dan *ELISA reader*.

##### 3.2.2 Bahan

Bahan – bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah akar rumput bambu, n-heksana, etanol 80 %, aquades, kloroform asam asetat anhidrat, logam Mg, HCl pekat, reagen Dragendroff, reagen Mayer, FeCl, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat, PBS, media kultur RPMI, tripsin-EDTA, DMSO, formaldehid, MTT 5 mg/mL (50 mg MTT dan 10 mL PBS), SDS 10 % dalam 0,1 N HCl, *tissue*, aluminium foil dan zeolit NaX sintesis.

### 3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan melalui pengujian eksperimental di laboratorium.

Tahapan awal yang dilakukan yaitu sampel yang diambil dari tanaman rumput bambu (*Lophatherum gracile* B.) bagian akar dipotong, dicuci dengan air dan ditiriskan. Lalu potongan sampel dikeringanginkan, dihaluskan dengan ayakan 60 mesh. Serbuk yang diperoleh diekstraksi maserasi menggunakan pelarut etanol 80 %, perlakuan ini dilakukan berulang sebanyak 3 kali, lalu dipekatkan dengan *rotary evaporator vaccum*.

Ekstrak pekat dipisahkan senyawa metabolit sekundernya berdasarkan sifat kepolarannya dengan ekstraksi cair-cair dengan pelarut n-heksana lalu masing-masing hasil ekstrak diuapkan menggunakan *rotary evaporator vaccum* sehingga diperoleh ekstrak pekat. Setelah itu, diuji fitokimia golongan senyawa aktifnya dengan menggunakan reagen. Selanjutnya diimpregnasi dengan zeolit NaX sintesis dan diuji aktivitas antikanker terhadap selkanker payudara T47D dengan metode MTT (*secarain vitro*).

### 3.4 Tahapan Penelitian

Tahapan dalam pelaksanaan penelitian ini adalah sebagai berikut:

- 1) Preparasi sampel
- 2) Ekstraksi akar rumput bambu menggunakan metode maserasi
- 3) Uji fitokimia golongan senyawa aktif dengan menggunakan reagen.
- 4) Pengembanan ekstrak akar rumput bambu pada zeolit NaX sintesis secara impregnasi
- 5) Analisa FTIR
- 6) Uji aktivitas antikanker dengan metode MTT

## 7) Analisis data

**3.5 Pelaksanaan Penelitian****3.5.1 Preparasi Sampel**

Sampel tanaman rumput bambu diambil bagian akar kemudian dipotong kecil-kecil dan dicuci dengan air. Potongan akar rumput bambu dikering anginkan kemudian dihaluskan dan diayak dengan ayakan 60 mesh. Serbuk merupakan sampel penelitian yang kemudian diekstraksi kandungan bioaktifnya.

**3.5.2 Ekstraksi Komponen Aktif Akar Rumput Bambu dengan Maserasi (Rohma, 2016)**

Sampel yang telah dipreparasi dilakukan tahap selanjutnya, yaitu tahap ekstraksi. Langkah awal yang dilakukan yaitu ditimbang serbuk akar rumput bambu sebanyak 90 g, dimasukkan kedalam 3 erlenmeyer 1000 mL masing-masing 30 g, lalu diekstraksi dengan perendaman menggunakan 300 mL pelarut etanol 80 % tiap Erlenmeyer selama 24 jam, dan *dishaker* selama 3 jam pada suhu ruang dengan kecepatan 150 rpm. Kemudian disaring dan ampas yang diperoleh dimaserasi kembali dengan pelarut yang sama dan dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan. Pengulangan kedua dan ketiga volume pelarut perendaman sebanyak 250 mL. Filtrat dari 3 erlenmeyer digabung menjadi satu dan dipekatkan dengan *rotary evaporator vaccum* dengan suhu 60 °C dan dihentikan ketika ekstrak cukup kental dan ditandai dengan berhentinya penetesan pelarut pada labu alas bulat. Selanjutnya ekstrak kental dapat disimpan dalam lemari pendingin pada suhu 4 °C agar ekstrak tersebut tidak menjadi rusak (Lestari, 2012).

Ekstrak pekat yang diperoleh ditimbang dan dihitung rendemennya dengan persamaan 3.1

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

Ekstrak pekat etanol ditimbang sebanyak 3 gr, tanpa dihidrolisis kemudian dipartisi dengan pelarut n- heksana. Ditambahkan dalam 50 mL pelarutnya dan n-heksana (1:1) dalam corong pisah. Kemudian dikocok selama 15 menit dan didiamkan beberapa menit hingga terbentuk 2 lapisan. Perlakuan ini dilakukan sebanyak 2x, yang akhirnya fraksi n-heksana dikumpulkan menjadi satu, kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator vaccum* hingga diperoleh ekstrak cukup kental. Selanjutnya ekstrak pekat faksi n-heksana ditimbang dan dihitung rendemennya dengan persamaan 3.1, serta diimbangkan dengan zeolit dan diuji aktivitas antikanker secara *in vitro*.

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

Uji fitokimia dengan penambahan reagen untuk mengetahui kandungan golongan senyawa aktif dalam ekstrak fraksi n-heksana akar rumput bambu. Ekstrak tersebut untuk uji fitokimia dibuat konsentrasi 10.000 ppm, kemudian dilakukan uji flavonoid, alkaloid, tannin, saponin, triterpenoid dan steroid.

#### **3.5.3.1 Uji Flavonoid**

Sebanyak 0,5 mL ekstrak akar rumput bambu 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 terbentuk menunjukkan adanya flavonoid.

#### **3.5.3.2 Uji Alkaloid**

Sebanyak 0,5 mL ekstrak akar rumput bambu dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambah 0,5 mL HCl 2 % dan larutan dibagi dalam dua tabung. Tabung I ditambahkan 2 – 3 tetes reagen Dragendroff, 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 Meyer) menunjukkan adanya alkaloid.

### **3.5.3.3 Uji Tanin**

Sebanyak 0,5 mL ekstrak akar rumput bambu dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan dengan 2-3 tetes larutan  $\text{FeCl}_3$  1 %. Jika 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 Saponin**

Sebanyak 0,5 mL ekstrak akar rumput bambu 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.

### **3.5.3.5 Uji Terpenoid dan Steroid**

Sebanyak 0,5 mL ekstrak akar rumput bambu 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  $\text{H}_2\text{SO}_4$  pekat melalui dinding tabung tersebut. Jika 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.

### **3.5.4 Pengembanan Ekstrak Akar Rumput Bambu pada Zeolit NaX secara Impregnasi**

Pengembanan senyawa antikanker pada zeolit NaX sintesis menggunakan metode impregnasi sesuai dengan yang dilakukan oleh Vilaca, dkk., (2013). Zeolit NaX sintesis sebelum digunakan, dikeringkan terlebih dahulu pada

suhu 105°C selama 3 Jam. Selanjutnya fraksi n-heksan dari akar rumput bambu akan diimbangkan dengan zeolit NaX dengan perbandingan sebagai berikut:

1. Ekstrak pekat fraksi n-heksan akar rumput bambu 20 mg: Zeolit NaX 200 mg (1:10)
2. Ekstrak pekat fraksi n-heksan akar rumput bambu 100 mg: Zeolit NaX 200 mg (5:10)
3. Ekstrak pekat fraksi n-heksan akar rumput bambu 200 mg: Zeolit NaX 200 mg (10:10)
4. Kontrol ekstrak pekat fraksi n-heksana 10 mg.
5. Kontrol zeolit NaX 10 mg.

Selanjutnya, masing-masing campuran diaduk menggunakan *magnetic stirrer* pada suhu kamar selama 48 jam hingga pelarut berwarna sama dengan ekstraknya. Selanjutnya hasil pengembunan fraksi n-heksan akar rumput bambu dengan zeolit NaX dikeringkan dalam oven pada suhu 60 °C selama 2 jam untuk menguapkan pelarutnya. Kemudian hasil pengembunan tersebut diuji aktivitasnya dengan sel kanker payudara T47D secara *in vitro*.

### 3.5.5 Analisis menggunakan *Fourier Transform Infra-Red* (FTIR)

Karakterisasi dengan FTIR dilakukan terhadap zeolit X hasil sintesis. Mula-mula cuplikan dihaluskan hingga menjadi serbuk yang halus menggunakan mortal dari batu *agate* dengan dicampurkan padatan KBr, kemudian ditempatkan pada prepat dan dipress dengan alat pengepres untuk membentuk pellet. Selanjutnya ditempatkan pada *sample holder* dan dianalisa menggunakan FTIR. Hasil yang diperoleh dibandingkan dengan literatur untuk mengetahui gugus fungsi pada zeolit X hasil sintesis.

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

#### 3.5.6.1 Penyiapan Sel

Sel kanker payudara T47D diambil dari koleksi Universitas Gajah Mada (UGM). 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*), kemudian 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% CO<sub>2</sub>, lalu diamati dibawah mikroskop untuk melihat apakah sel melekat di dasar *culture dish* dan bila jumlah sel di dalam *culture dish* mencapai 70 – 85 % (konfluen), dilakukan panen sel.

Tahapan panen sel yakni, dibuang media kultur terlebih dahulu, ditambah ± 5 mL PBS (*Phosphate Buffered Saline*) serta dihomogenkan kemudian dibuang kembali, ditambahkan trispsin secara merata dan diinkubasi selama 3 menit, ditambahkan media RPMI 5 mL untuk menginaktifkan sel serta dilakukan resuspensi, diamati dibawah mikroskop *inverted* , kemudian diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37 °C/ 5%CO<sub>2</sub> selama 24 jam.

#### 3.5.6.2 Penghitungan Sel Kanker

Diambil 10 µL panen sel dan dipipetkan ke *hemacytometer*. Diamati dan dihitung dibawah mikroskop *inverted* dengan *counter*. Jumlah sel kanker dapat diketahui dengan perhitungan sebagai berikut:

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

(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:

$$\Sigma \text{ panen sel yang ditransfer} = \frac{\Sigma \text{ total sel yang diperlukan}}{\Sigma \text{ sel terhitung /mL}} \dots (3.3)$$

Diletakkan sel dan ditambahkan media RPMI sesuai perhitungan kedalam *plate 96-well* dan diinkubasi kembali selama 24 jam pada suhu 37 °C/ 5% CO<sub>2</sub>, 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*

Ditimbang masing-masing sampel ekstrak pekat yakni ekstrak pekat fraksi n-heksana 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, diambil sel dari inkubator, kemudian dibuang media sel dengan cara dibalikkan *plate 180°* diatas tempat buangan dan ditekan secara perlahan diatas tissue untuk meniriskan sisa cairan, dimasukkan 100 µL PBS kedalam semua sumuran yang terisi sel dan dibuang kembali, lalu dimasukkan larutan sampel sebanyak 100 µL dengan konsentrasi 1000, 500, 250, 125, 62,5, 31,25, ppm dan diulang sebanyak 3 x (triplo), 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 dibalik *plate* dan dicuci dengan PBS, ditambahkan larutan MTT (reagen 3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difeniltetrazolium

*bromide*) berwarna kuning 100 µL kesetiap sumuran. Inkubasi kembali selama 3 – 4 jam didalam inkubator pada suhu 37 °C/ 5%CO<sub>2</sub> (sampai terbentuk kristal formazan atau perubahan warna menjadi biru). Apabila kristal formazan telah terbentuk diamati kondisi sel dengan mikroskop *inverted*, lalu ditambahkan *stopper* SDS (*Sodium Dodecyl Sulfate*)10 % dalam 0,1 N HCl, dibungkus *plate* dengan aluminium foil dan diinkubasi kembali di tempat gelap (suhu ruangan) semalam.

Langkah selanjutnya yakni pembacaan nilai absorbansi dengan ELISA *reader* untuk mengetahui nilai IC<sub>50</sub> setiap ekstrak. Tahapan awalnya ini dihidupkan ELISA *reader* dan ditunggu hingga *proccessing* selesai, dibuka pembungkus *plate* dan tutup *plate* kemudian dimasukkan ke ELISA *reader*, dibaca absorbansi masing-masing sumuran dengan panjang gelombang 550 – 600 nm (595 nm), dimatikan kembali ELISA *reader*. Lalu 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 control negatif (sel + media kultur)

Data dari prosentase sel hidup kemudian dianalisis untuk mengetahui nilai IC<sub>50</sub> dengan SPSS (probit/logit).

### 3.5.7 Analisis Data

Potensi ekstrak, zeolit dan kombinasi ekstrak dengan zeolit dalam menghambat atau membunuh sel kanker payudara T47D dapat diketahui dengan melakukan uji

IC<sub>50</sub>, menggunakan analisa *regression* probit SPSS dengan kepercayaan 95 % untuk masing-masing konsentrasi, 1000; 500; 250; 125; 62,5; dan 31,25 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<sub>50</sub>. 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

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1 Hasil Maserasi dan Fraksinasi Akar Rumput Bambu

Sampel rumput bambu sebelum proses maserasi dilakukan preparasi 3 tahap yaitu, pencucian, pengeringan, dan penghalusan. Penghilangan kotoran seperti tanah liat dan sampah-sampah organik yang menempel pada akar rumput bambu, maka dilakukan pencucian menggunakan air bersih. Pengeringan sampel pada suhu ruang untuk menjaga sampel agar terhindar dari perkembangbiakan mikroba ditempat lembab dan menjaga kandungan senyawa aktif dalam akar rumput bambu agar tidak rusak. Penghalusan dilakukan karena semakin kecil ukuran sampel akan meningkatkan kontak antara pelarut dengan sampel, sehingga proses maserasi akan berjalan semakin cepat dan maksimal.

Metode ekstraksi senyawa aktif yang terkandung dalam akar rumput bambu menggunakan metode ekstraksi maserasi. Maserasi merupakan metode pemisahan dengan cara perendaman sampel ke dalam pelarut organik yang sesuai pada suhu ruang. Filtrat yang didapatkan merupakan campuran dari senyawa metabolit skunder yang terlarut dan pelarutnya, oleh karena itu perlu dilakukan pemisahan dengan *rotary evaporator vaccum* hingga diperoleh ekstrak pekat.

Tabel 4.1 Hasil maserasi serbuk akar rumput bambu (*Lophatherum gracile* B.)

Pelarut	Perubahan warna filtrate	Warna ekstrak pekat	Serbuk (g)	Berat ekstrak pekat (g)	Rendemen (%) (b/b)
Etanol 80 %	Kuning bening	Hijau kecoklatan	90 g	6,69 gr	7,43 %

Berdasarkan Tabel 4.1 dapat diketahui bahwa rendemen dari hasil maserasi serbuk akar rumput bambu sebesar 7,43 %. Ekstrak pekat akan diekstraksi kembali dengan cara partisi (ekstraksi cair-cair) menggunakan pelarut n-heksana (non polar) yang memiliki perbedaan pelarut dengan pelarut etanol (polar). Pemilihan pelarut ini bertujuan agar senyawa-senyawa yang berbeda sifat kepolarannya dapat terekstrak kedalam pelarut yang sesuai (Voight, 1994).

Proses partisi dengan pelarut n-heksana menghasilkan 2 lapisan yang tidak saling bercampur yang disebabkan adanya perbedaan kelarutan dari atau kepolaran. Lapisan bawah berupa fase air yang dimungkinkan mengandung senyawa-senyawa polar dan semi polar (flavonoid dan steroid), sedangkan fase organik dibagian atas dimungkinkan mengandung senyawa nonpolar (alkaloid, saponin, tanin dan triterpenoid). Filtrat yang diambil adalah fase organik.

Tabel 4.2 Hasil fraksinasi n-heksan serbuk akar rumput bambu (*Lophatherum gracile* B.)

Ekstrak	Perubahan warna filtrat	Warna ekstrak pekat	Berat sampel (g)	Berat ekstrak pekat (g)	Rendemen (%) (b/b)
Fraksi n-Heksana	Kuning bening	Coklat kehitaman	6,002	0,646	10,763 %

Hasil ekstraksi senyawa aktif yang diperoleh adalah ekstrak pekat fraksi n-heksana yang akan digunakan sebagai sampel uji fitokimia dengan penambahan reagen, analisis menggunakan *Fourier Transform Infra-Red* (FTIR), dan uji aktivitas antikanker secara *in-vitro*.

## 4.2 Uji Fitokimia Menggunakan Reagen

Uji fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder dari ekstrak pekat fraksi n-heksana. Identifikasi kandungan metabolit sekunder merupakan langkah awal dalam penelitian pencarian senyawa bioaktif baru dari bahan alam yang dapat menjadi obat dengan aktivitas tertentu. Hasil identifikasi golongan metabolit sekunder terhadap ekstrak akar rumput bambu (*Lophaterum gracile* B.) fraksi n-heksana seperti terlihat pada Tabel 4.3.

Tabel 4.3 Data hasil uji fitokimia dengan reagen

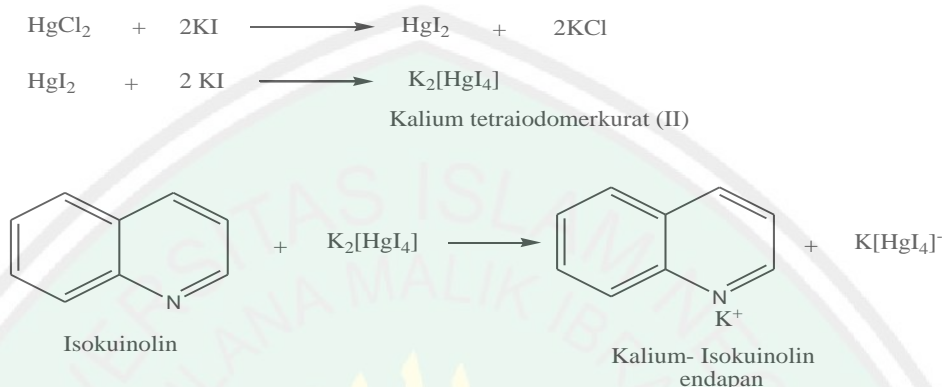
Senyawa aktif	Fraksi n-Heksana
Alkaloid	
Dragendorf	+
Mayer	+
Flavonoid	-
Saponin	+
Steroid	-
Tanin	++
Triterpenoid	+++

### Keterangan:

- +++ = Kandungan senyawa lebih banyak (warna sangat pekat)
- ++ = Mengandung senyawa (warna cukup pekat)
- + = Mengandung senyawa (berwarna)
- = Tidak terkandung senyawa

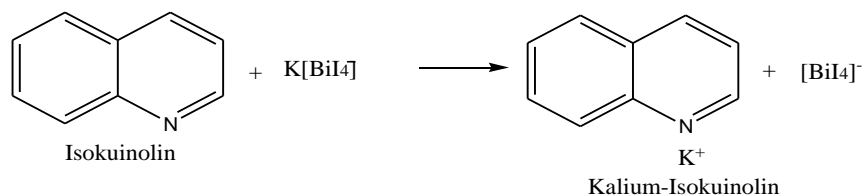
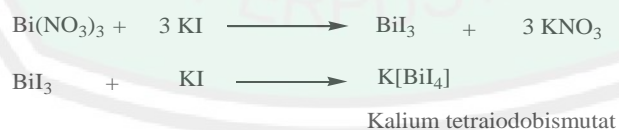
Hasil uji fitokimia pada Tabel 4.3 dapat ditunjukkan bahwa ekstrak akar rumput bambu (*Lophaterum gracile* B.) fraksi n-heksana positif mengandung alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan berwarna orange dengan reagen Dandegroff dan endapan putih atau kekuning dengan reagen Mayer. Senyawa alkaloid dalam sampel bersifat basa, oleh karena itu untuk menarik senyawa alkaloid dalam sampel maka direaksikan dengan pelarut asam HCl sebelum

penambahan reagen. Dugaan reaksi yang terjadi pada uji alkaloid menggunakan reagen Mayer ditunjukkan pada Gambar 4.1



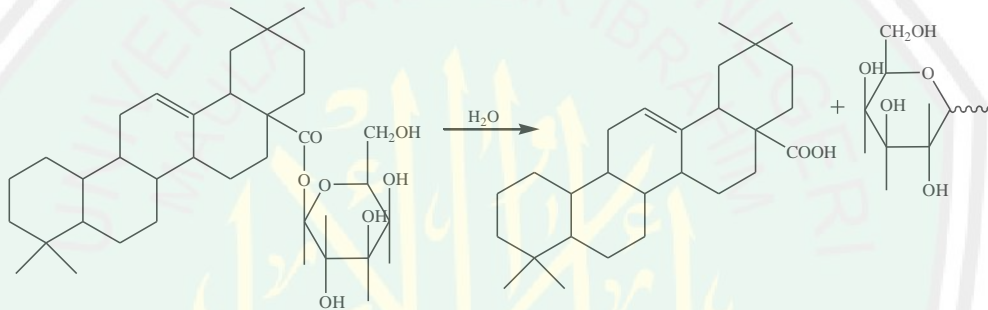
Gambar 4.1 Dugaan reaksi antara alkaloid dengan reagen Mayer (Marliana,dkk., 2005)

Positif mengandung alkaloid pada uji fitokimia Dragendorff membentuk warna coklat muda hingga jingga. Atom nitrogen pada alkaloid akan berikatan kovalen dengan ion logam Bi. Dugaan reaksi pada reagen Dragendorff pada Gambar 4.2



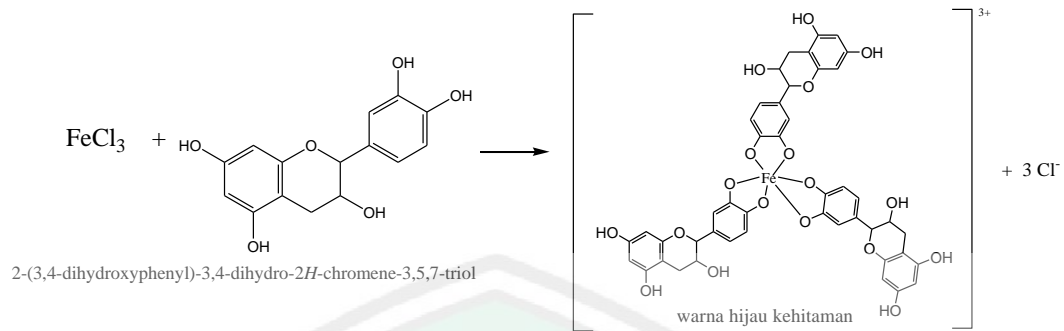
Gambar 4.2 Dugaan reaksi alkaloid dengan reagen Dragendorff (Marliana,dkk., 2005)

Hasil uji fitokimia ekstrak akar rumput bambu fraksi n-heksan menunjukkan positif mengandung saponin yang ditandai dengan adanya busa jika dikocok dalam air. Adanya penambahan air mengakibatkan gugus hidrofilik akan berikatan dengan air sedangkan gugus hidrofobik akan membentuk busa. Busa yang dihasilkan diuji kestabilannya dengan penambahan HCl. Dugaan reaksi yang terjadi pada Gambar 4.3 sebagai berikut (Marliana, dkk., 2005):



Gambar 4.3 Dugaan reaksi senyawa saponin (Marliana, dkk., 2005):

Uji fitokimia ekstrak akar rumput bambu fraksi n-heksan dengan pereaksi  $\text{FeCl}_3$  menghasilkan warna hijau kehitaman yang menunjukkan adanya tanin terkondensasi. Uji tanin ditunjukkan dengan perubahan warna setelah penambahan  $\text{FeCl}_3$  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):

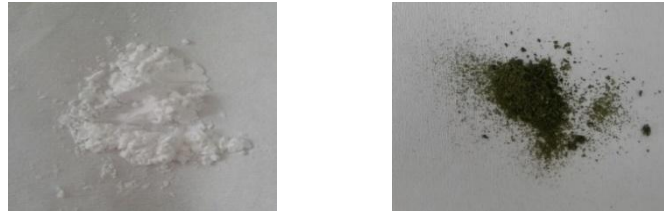


Gambar 4.4 Dugaan reaksi senyawa tanin (Harbone, 1994)

Hasil uji positif mengandung senyawa triterpenoid pada ekstrak akar rumput bambu fraksi n-heksan adalah terbentuknya cincin kecoklatan. Senyawa triterpenoid dapat larut baik dalam pelarut kloroform. Selanjutnya ditambahkan asam asetat anhidrat untuk membentuk turunan asetil, dan ditambahkan asam sulfat pekat dalam larutan sehingga senyawa triterpenoid dalam larutan tersebut mengalami dehidrasi dan menghasilkan warna kecoklatan (Harbone, 1996).

#### 4.3 Analisis Pengembangan Ekstrak terhadap Zeolit NaX Sintesis dengan Metode Impregnasi Kering

Pengembangan ekstrak akar rumput bambu fraksi n-heksan terhadap zeolit NaX sintesis dilakukan dengan metode impregnasi. Metode impregnasi merupakan metode penempelan suatu bahan pada material yang memiliki pori dan luas permukaan yang besar dalam suatu pelarut. Keberhasilan dari pengembangan ini dapat dilihat secara kualitatif dengan melihat perubahan warna zeolit sebelum dan sesudah dilakukan impregnasi seperti pada Gambar 4.6 dibawah ini:



Gambar 4.5. a) zeolit sebelum diimpregnasi b) zeolit setelah diimpregnasi

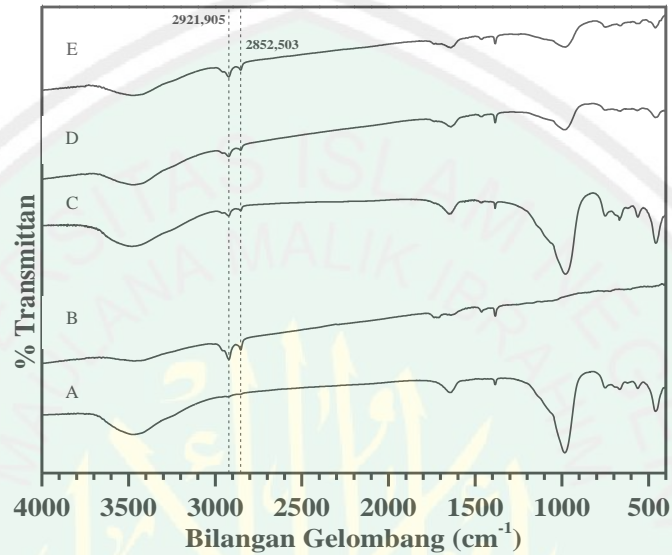
Ekstrak akar rumput bambu yang tereskan pada zeolit NaX akan mengalami interaksi Van Der Waals berupa interaksi ion-dipol dan ikatan hidrogen. Tanaman akar rumput bambu dari hasil uji fitokimia mengandung senyawa terpenoid. Berikut dugaan interaksi yang terjadi antara zeolit NaX dan senyawa aktif terpenoid dalam ekstrak akar rumput bambu, seperti pada Gambar 4.6



Gambar 4.6 Ilustrasi interaksi antara zeolit NaX dengan senyawa aktif terpenoid

Keberhasilan dalam pengembanan ekstrak akar rumput bambu (*Lophetherun gracile* B.) fraksi n-heksan dengan zeolit NaX juga didukung dengan data hasil analisis menggunakan FTIR dengan membandingkan hasil spektra antara zeolit NaX sebelum dan sesudah pengembanan. Spektra zeolit

NaX, ekstrak akar rumput bambu (*Lophetherun gracile* B.) fraksi n-heksan dan sampel hasil impregnasi dapat ditunjukkan pada Gambar 4.7



Gambar 4.7 Spektra Hasil FTIR a) zeolit NaX, b) Ekstrak akar rumput bambu fraksi n-heksan, c) Impregnasi 1:10, d) Impregnasi 5:10, e) Impregnasi 10:10

Hasil analisa ekstrak akar rumput bambu fraksi n-heksan dan zeolit menggunakan FTIR menunjukkan adanya karakteristik pada masing-masing sampel. Ekstrak akar rumput bambu fraksi n-heksan memiliki puncak serapan pada bilangan gelombang  $2921,905\text{ cm}^{-1}$  yang merupakan gugus  $-\text{CH}_2-$  simetri dan tidak dimiliki oleh zeolit. Selain itu, zeolit juga menunjukkan puncak serapan pada bilangan gelombang  $1200\text{-}300\text{ cm}^{-1}$  yang merupakan ciri khasnya. Kombinasi antara ekstrak dan zeolit memiliki kemiripan dalam puncak serapannya, namun terjadi perbedaan intensitas pada masing-masing konsentrasi.

Keberhasilan dalam proses pengembanan kombinasi 1:10; 5:10; 10:10 menggunakan FTIR menunjukkan puncak serapan baru pada bilangan gelombang

2923  $\text{cm}^{-1}$ , 2855  $\text{cm}^{-1}$  dan 2922  $\text{cm}^{-1}$ . Puncak serapan baru yang muncul sesuai dengan gugus  $\text{Csp}_3\text{-H}$  (stretch) asym,  $\text{-CH}_2\text{-}$ (stretch) sym pada spektra ekstrak akar rumput bambu (*Lhophaterum gracile* B.) fraksi n-heksan. Selain itu, puncak-puncak karakter zeolit juga masih ada setelah pengembanan dengan ekstrak akar rumput bambu. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak akar rumput bambu fraksi n-heksan telah berhasil teremban pada zeolit NaX sintesis.

Puncak serapan karakteristik zeolit pada masing-masing kombinasi memiliki intensitas yang berbeda. Kombinasi 1:10 menunjukkan puncak serapan pada bilangan gelombang 980,254  $\text{cm}^{-1}$  dengan intensitas yang sangat tinggi. Tingginya intensitas ini karena ekstrak yang diemban masih sedikit. Semakin besar penambahan ekstrak, yaitu pada kombinasi 5:10 dan 10:10 puncak serapan zeolit pada bilangan gelombang 983,289 memiliki intensitas yang semakin rendah. Hal ini disebabkan semakin banyak ekstrak pada zeolit, sehingga karakter zeolit semakin rendah.

**Tabel 4.4.** Interpretasi spektra FTIR sampel zeolit NaX dan hasil pengembanan

No.	Bilangan gelombang ( $\text{cm}^{-1}$ ) referensi	Zeolit NaX	Hasil pengembanan	Keterangan
1.	3600 – 3100	3471,373	3476,868	Regangan O-H
2.	3000 – 2800	-	2923,504	$\text{Csp}_3\text{-H}$ (stretch) asym
3.	2870 – 2840	-	2855,785	$\text{-CH}_2\text{-}$ (stretch) sym
4.	1650-1600	1643,185	1639,221	Tekukan H-O-H
5.	1020-970	982,577	983,289	Regangan asimetris O-T-O internal
6.	820-750	750,186	749,035	Regangan simetris O-T-O eksternal
7.	580-565	561,455	561,370	Cincin ganda
8.	500-420	461,102	460,634	Tekukan O-T-O (T= Si atau Al)

<sup>1</sup>Flanigen (1991) <sup>2</sup>Rios dkk (2009) <sup>3</sup>Tafarel dan Rubio (2001) <sup>4</sup>Socrates (1994)

#### 4.4 Penentuan IC<sub>50</sub> dengan Metode MTT

Pengujian aktivitas antikanker dilakukan untuk mengetahui kemampuan ekstrak akar rumput bambu (*Lophaterum gracile* B.) fraksi n-heksana dan zeolit NaX sintesis dalam menghambat pertumbuhan sel kanker payudara dengan berbagai konsentrasi yaitu 1000, 500, 250, 125, 62,5, 31,25 µg/mL. Uji aktivitas antikanker dilakukan secara *in vitro* terhadap sel kanker payudara dengan metode MTT.

Tahapan pengujian aktivitas antikanker secara *in vitro* antara lain adalah: 1) penyiapan sel kanker, 2) panen sel, 3) uji sitotoksitas, 4) pemberian reagen MTT, dan 5) pembacaan absorbansi. Penyiapan sel dilakukan dengan beberapa tahapan yaitu menghidupkan kembali sel yang ditidurkan (inaktif sel) dan ditumbuhkan kembali hingga mencapai konfluen. Konfluensi sel adalah tumbuh homogenya atau meratanya sel sebagai sel monolayer yang menutupi *cover glass*.

Panen sel adalah tahapan penumbuhan dan pengembangbiakan sel dengan penambahan media kultur. Panen sel dilakukan ketika sel yang dikultur telah membentuk monolayer konfluen 80%. Prinsip dari panen sel adalah melepaskan ikatan antar sel dan ikatan sel dengan matrik tanpa merusak sel (CCRC, 2009). Media kultur untuk sel kanker payudara T47D adalah RPMI karena mengandung nutrisi yang dibutuhkan sel seperti asam amino, vitamin, glukosa, fungison (antijamur), dan serum. Serum yang digunakan adalah FBS (*Fetal Bovine Serum*) yang berasal dari serum sapi mengandung hormon yang memacu pertumbuhan sel (Freshney, 200).

Panen sel ini menunjukkan bahwa sel akan menempel pada dasar wadah kultur (*culture dish*) karena memiliki sifat adesif yaitu mampu melekat pada substrat (A'illah, 2015). Sehingga untuk melepaskan sel yang menempel

ditambahkan tripsin. Tripsin berfungsi sebagai enzim protease yang melepaskan interaksi antara glikoprotein dan proteoglikan dengan dasar wadah kultur, akibatnya sel akan kehilangan kemampuannya untuk melekat pada dasar wadah dan mengapung dipermukaan (Doyle dan Griffith, 2000).

Tahap selanjutnya adalah penghitungan sel dengan menggunakan alat *hemocytometer* dan pengamatan dibawah mikroskop *inverted* untuk mengetahui jumlah sel yang akan digunakan bahan uji dengan out put berupa data. Syarat penghitungan sel dengan hemositometri adalah sel harus berdiri sendiri tidak menggerombol (CCRC, 2009). Hasil penrhitungan sel yang diperoleh adalah  $56 \times 10^4$  sel/mL. Morfologi sel T47D ketika dihitung dengan *hemocytometer* dapat dilihat pada Gambar 4.8 :

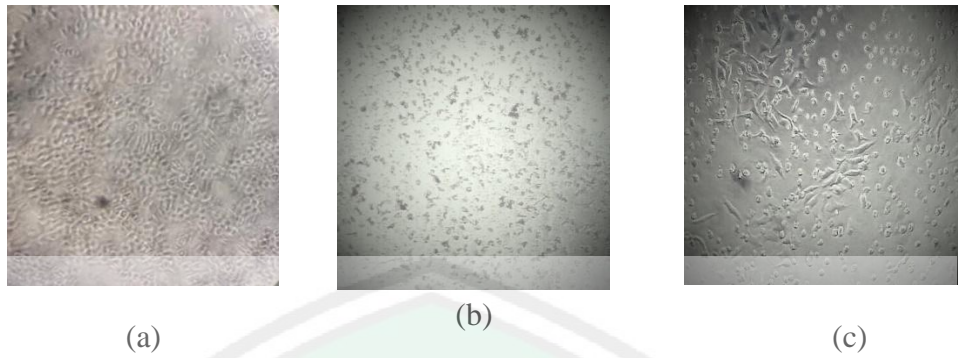


Gambar 4.8 Morfologi sel T47D ketika dihitung dengan *hemocytometer*

Tahapan uji sitotoksik meliputi subkultur sel, preparasi sampel dan *treatment* sel. Pada tahapan subkultur sel akan dilakukan pemindahan sel dari kondisi kofluen ketempat yang masih kosong. Tahapan ini bertujuan agar sel yang akan digunakan dalam pengujian dapat tumbuh secara maksimal pada medianya (CCRC, 2009). Sel yang diambil untuk dikultur kembali adalah sejumlah 1,8 mL sel. Tahapan selanjutnya adalah preparasi sampel meliputi pelarutan sampel dan

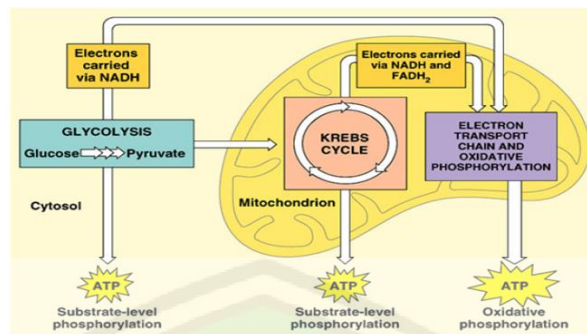
penentuan konsentrasi. Syarat sampel yang digunakan sebagai bahan uji ke dalam kultur sel harus larut dalam media kultur sehingga dibantu dengan *cosolvent* DMSO. Dimetilsulfoksida (DMSO) merupakan cairan tak berwarna yang memiliki rumus  $(\text{CH}_3)_2\text{SO}$ , pelarut yang dapat melarutkan senyawa polar maupun nonpolar (Morshed, dkk.,2012).Selain itu, penentuan seri konsentrasi sampel harus merupakan kelipatan dari konsentrasi tersebut sehingga diperoleh hasil regresi yang sesuai dengan standart (CCRC, 2009). Penelitian ini menggunakan 6 variasi konsentrasi yaitu, 1000, 500, 250, 125, 62,5, dan 31,25  $\mu\text{g}/\text{mL}$ .

*Treatment* sel dilakukan selama 24 jam kemudian diamati morfologi sel kanker payudara T47D dibawah mikroskop *inverted* setelah di *treatment* dengan sampel berupa fraksi n-heksan akar rumput bambu, zeolit NaX dan kombinasi anatara fraksi n-heksan dan zeolit NaX. Jumlah sel mati pada konsentrasi 1000  $\mu\text{g}/\text{mL}$  lebih banyak apabila dibandingkan pada konsentrasi terendah 31,25  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Morfologi sel hidup apabila diamati dibawah mikroskop *inverted* akan berbentuk lonjong seperti jarum yang saling berimpit dengan sel lainnya sehingga terlihat lebih bersinar daripada sel yang mati dan menempel pada pada dasar wadah kultur. Sedangkan sel yang mati berbentuk bulat, berwarna gelap, tersebar dan mengapung.



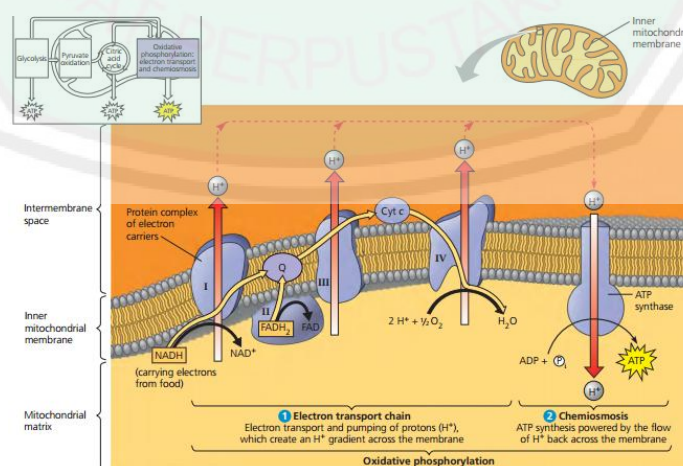
**Gambar 4.9** Morfologi sel T-47D setelah di treatment (a) Sel kontrol (b) Sel + kombinasi (5:10) konsentrasi 1000  $\mu\text{g/mL}$  (c) Sel + kombinasi (5:10) konsentrasi 31,25 $\mu\text{g/mL}$

Kemampuan senyawa antikanker dalam menghambat pertumbuhan sel kanker payudara T47D dapat dilihat secara kasat mata dengan terjadinya perubahan warna setelah pemberian larutan MTT. Apabila terjadi perubahan warna biru-keungunan berarti tidak ada aktivitas senyawa anti kanker dalam menghambat pertumbuhan sel kanker dan apabila tidak terjadi perubahan warna maka ada aktivitas dari senyawa antikanker dalam menghambat pertumbuhan sel kanker payudara T47D. Perubahan warna terjadi karena adanya reaksi redoks yang terjadi di dalam mitokondria sel. Prinsip dari reaksi redoks ini yaitu adanya transfer satu atau lebih elektron dari satu reaktan ke reaktan yang lain. Kemampuan reduksi ini ditunjukkan oleh enzim NADH *dehidrogenase* pada sel yang masih melangsungkan proses respirasi sel. Respirasi adalah reaksi katabolisme yang memecah molekul-molekul gula menjadi molekul anorganik berupa  $\text{CO}_2$  dan  $\text{H}_2\text{O}$  yang terdiri dari tiga tahap metabolik, yaitu glikolisis, siklus asam sitrat dan fosforilasi oksidatif. Proses respirasi sel secara umum dapat dilihat pada Gambar 4.10



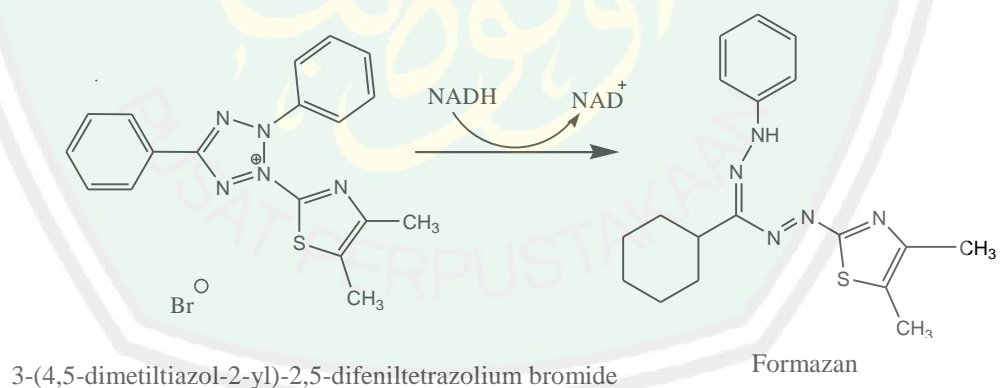
**Gambar 4.10** Gambaran secara umum respirasi selular (Campbell A. Neil & Reece B. Jane., 2008)

Reaksi redoks yang terjadi pada proses glikolisis dan siklus asam sitrat terjadi ketika NADH *dehidrogenase* mentransfer elektron dari substrat ke  $\text{NAD}^+$  akan membentuk NADH dan ion  $\text{H}^+$ . Pada tahap ketiga respirasi, rantai transport elektron menerima elektron dari penguraian produk pada kedua tahap sebelumnya. Sebagian besar komponen rantai transport elektron adalah protein yang terdapat sebagai kompleks multiprotein yang dinomori dari I sampai IV. Proses transport elektron dapat dilihat pada Gambar 4.11



**Gambar 4.11** Proses transport elektron (Campbell A. Neil & Reece B. Jane., 2008)

Perubahan warna yang terjadi pada reaksi MTT disebabkan karena adanya enzim *NADH dehidrogenase* pada kompleks I. Enzim *NADH dehidrogenase* akan mereduksi NADH sehingga NADH akan melepas  $H^+$  dan berikatan dengan tetrazolium yang menyebabkan pemutusan ikatan (pemecahan) sehingga dapat membuka cincin tetrazolium (berwarna kuning pucat) dan mengubah bentuk menjadi formazan (berwarna ungu). Sumber elektron lain untuk transport elektron adalah  $FADH_2$  yang dihasilkan pada kompleks II, namun energi yang dihasilkan lebih rendah dari NADH sehingga penyumbang elektron utama adalah NADH. Hal ini juga didukung oleh Berridge, M.V., dkk., 2005 yang menyatakan bahwas ecara umum, NADH dan NADPH adalah donor elektron yang lebih efisien daripada suksinat atau glutathione, atau agen pereduksi kimiawi, dithiothreitol atau mercap-toethanol. Proses pemecahan garam tetrazolium menjadi formazan dapat dilihat pada Gambar 4.12.



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

Kristal formazan merupakan zat berwarna ungu yang tidak larut dalam air sehingga ditambahkan reagen 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 4.13.



**Gambar 4.13** Struktur natrium dodesil sulfat (Caligur, 2007)

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). Semakin besar nilai absorbansi jumlah sel hidup semakin banyak, sehingga dari nilai absorbansi sudah dapat diketahui potensi sampel dalam menghambat kanker.

Ketoksitan suatu sampel juga dapat dilihat dari perubahan warna yang terjadi dalam *plate 96 well* setelah pemberian garam natrium dodesil sulfat secara langsung dan jelas. Ekstrak tunggal akar rumput bambu fraksi n-heksan dan hasil pengembanan 5:10 pada konsentrasi 1000 $\mu$ g /mL memiliki warna kuning cerah. Hal ini menunjukkan bahwa pada konsentrasi tersebut mempunyai persen hidup sel kanker dalam jumlah kecil atau sel kanker telah mati. Sedangkan pada konsentrasi 500; 250; 125; 62,5; dan 31,25; 15,625  $\mu$ g/mL memiliki warna ungu muda. Hal ini menunjukkan bahwa pada konsentrasi tersebut persen hidup sel kanker masih dalam jumlah yang tinggi. Sehingga ekstrak akar rumput bambu fraksi n-heksan ini hanya memiliki potensi pada konsentrasi tinggi dalam menghambat pertumbuhan sel kanker.

Sampel zeolit NaX dan hasil kombinasi ekstrak dengan zeolit pada perbandingan 1:10 dan 10:10 menghasilkan perubahan warna menjadi ungu muda pada keseluruhan konsentrasi. Hal ini menunjukkan bahwa pada ketiga sampel tersebut mempunyai jumlah persen hidup sel kanker dalam jumlah besar. Sehingga ketiga sampel belum mampu menghambat pertumbuhan sel kanker payudara T-47D secara maksimal.

Absorbansi yang dihasilkan dari hasil analisis menggunakan ELISA *reader* kemudian digunakan untuk menghitung persenhidup dari masing masing sampel kemudian dilakukan analisis menggunakan excel untuk mengetahui nilai  $IC_{50}$  masing-masing sampel. Hasil  $IC_{50}$  masing-masing sampel terhadap sel kanker payudara T-47D ditunjukkan pada Tabel 4.5

Tabel 4.5 Nilai IC<sub>50</sub> uji aktivitas antikanker

Sampel	IC <sub>50</sub> (µg /mL)
Fraksi n-heksan	692,63
Zeolit NaX	1.861
Kombinasi ekstrak : zeolit (1:10)	3.016
Kombinasi ekstrak : zeolit (5:10)	919,245
Kombinasi ekstrak : zeolit (10:10)	1006,215

Berdasarkan Tabel 4.5 dapat diketahui hasil pengujian toksisitas menggunakan metode MTT pada masing-masing sampel. Nilai IC<sub>50</sub> yang dimiliki oleh fraksi n-heksan sebesar 692,63µg/mL. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak akar rumput bambu fraksi n-heksan tidak memiliki aktivitas sebagai antikanker, karena memiliki nilai IC<sub>50</sub> >100 µg /mL. Akan tetapi menurut penelitian Rohma (2016) ekstrak etanol fraksi n-heksan memiliki nilai IC<sub>50</sub> sebesar 42,59 µg /mL. Hal ini dimungkinkan adanya perbedaan kandungan pada sampel, karena perbedaan waktu dan lokasi sampel akan mempengaruhi senyawa metabolit sekunder yang terkandung.

Zeolit NaX memiliki IC<sub>50</sub> sebesar 1.861µg /mL. Besarnya nilai IC<sub>50</sub> pada zeolit menunjukkan bahwa zeolit NaX tidak memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan sel kanker, karena menurut *National Cancer Institute*(NCI) suatu senyawa sangat aktif apabila nilai IC<sub>50</sub> < 30 µg/mL, moderate aktif dengan nilai IC<sub>50</sub> 30 – 100 µg/mL, dan nilai IC<sub>50</sub>> 100 µg/mL dinyatakan tidak aktif (Rahmawati, *et al.*, 2013). Nilai IC<sub>50</sub> yang dihasilkan dari perbandingan 1:10 yaitu sebesar 3.016 µg/mL. Hal ini disebabkan ekstrak akar rumput bambu fraksi n-heksan memiliki nilai IC<sub>50</sub>692,63 dan yang diibandingkan pada zeolit NaX masih sedikit sehingga IC<sub>50</sub> yang dihasilkan besar. Rendahnya kandungan ekstrak dari hasil pengembaan 1:10 juga dapat dilihat pada hasil FTIR yang menunjukkan

tingginya intensitas dari zeolit NaX. Perbandingan 5:10 dan 10:10 memiliki  $IC_{50}$  sebesar 919,245 dan 1.006,215  $\mu\text{g/mL}$ .  $IC_{50}$  yang dihasilkan pada perbandingan 5:10 dan 10:10 menunjukkan nilai yang hampir sama. Hal ini dapat dilihat pada hasil FTIR yang menunjukkan perubahan intensitas yang tidak signifikan.

#### 4.5 Kajian Hasil Penelitian dalam Perspektif Islam

Kanker merupakan salah satu penyakit paling mematikan didunia. Salah satu kanker yang sering terjadi pada wanita saat ini yaitu kanker payudara. Kanker payudara merupakan penyebab kematian kedua bagi wanita didunia. Era modern ini banyak masyarakat yang mencoba berbagai pengobatan alternatif maupun secara medis untuk mendapatkan kesembuhan. Namun tidak sedikit orang yang merasa putus asa karena mengalami kegagalan dalam proses penyembuhannya. Sebagai manusia yang beriman sifat putus asa seharusnya tidak tertanam dalam diri kita, karena Allah tidak akan menguji umatnya diatas batas kemampuannya. Segala macam penyakit pasti ada obatnya, hal tersebut sudah diterangkan dalam hadist maupun didalam kitab suci Al-qur'an. Hadist yang menjelaskan tentang hal tersebut yaitu :

عَنْ أَبِي هُرَيْرَةَ رَضِيَ اللَّهُ عَنْهُ عَنِ النَّبِيِّ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ قَالَ: مَا أَنْزَلَ اللَّهُ دَاءً إِلَّا أَنْزَلَ لَهُ شِفَاءً

Abu Hurairah, meriwayatkan bahwa nabi bersabda, *“Tidaklah Allah menurunkan suatu penyakit, kecuali Dia pasti juga menurunkan obatnya”*.

عَنْ جَابِرٍ عَنِ رَسُولِ اللَّهِ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ أَنَّهُ قَالَ " لِكُلِّ دَاءٍ دَوَاءٌ فَإِذَا أُصِيبَ دَوَاءُ الدَّاءِ بَرَأَ بِإِذْنِ اللَّهِ عَزَّ وَجَلَّ

Artinya: “Rasulullah bersabda: Setiap penyakit ada obatnya. Apabila ditemukan obat yang tepat untuk suatu penyakit maka sembuhlah si penderita atas izin Allah Azza Wa Jalla” (HR. Muslim no. 1473).

Hadits-hadits tersebut mengandung pengabsahan terhadap adanya sebab musabab dan sesungguhnya terhadap orang yang menolak kenyataan tersebut. Hadits tersebut dengan jelas menerangkan bahwa semua penyakit yang diturunkan oleh Allah pasti ada obatnya. Allah SWT telah menciptakan tumbuh-tumbuhan di bumi ini yang sangat bermanfaat bagi kelangsungan hidup manusia. Salah satu tumbuhan yang memiliki manfaat adalah rumput bambu. Akar rumput bambu mengandung senyawa triterpenoid yang dapat menghambat pertumbuhan sel kanker. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh A'ilah (2015), menyatakan bahwa nilai  $IC_{50}$  dari ekstrak etanol 80% akar rumput bambu, ekstrak etanol hasil hidrolisis, fraksi n-heksana, dan kloroform berturut-turut adalah 143,28 ; 428,580 ; 65,461 ; dan 72,757 ppm. Suatu ekstrak dianggap toksik apabila memiliki nilai  $IC_{50} < 1000 \mu\text{g/mL}$ . Nilai  $IC_{50}$  menunjukkan konsentrasi dalam penghambatan pertumbuhan sel sebesar 50% dari populasi sel, sehingga semakin kecil nilai  $IC_{50}$  sampel tersebut semakin toksik (NCI dalam Rahmawati, dkk., 2013).

Manusia dengan kemampuan akal dan pikiran yang dimiliki hendaknya selalu memikirkan akan ciptaan Allah SWT, satu diantaranya pemanfaatan zeolit. Zeolit dapat digunakan sebagai sistem pembawa obat ((*DDS* ) *Drug Delivery System*) dan agen pengontrol pelepasan obat. Hal ini dipengaruhi oleh sifat zeolit yang memiliki arsitektur dan komposisi pori yang teratur (Baerlocher, dkk., 2007). Zeolit saat ini dipandang sebagai obat yang berpotensi dalam terapi kanker karena kemampuannya untuk menghambat proliferasi sel kanker (Ghazi, dkk.,

2013). Zeolit berpotensi dalam aplikasi mediskarena sifat struktural dan stabilitas di lingkungan biologis (Vilaça et al., (2013).

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

﴿١٩٠﴾ أَلَمْ يَجْعَلْ لَكُمْ آيَاتٍ لَّا يَتَذَكَّرُ أَكْثَرُهَا أُولَئِكَ جَدَلَاءٌ لَّهُمْ فِيهِ قُلُوبٌ غَافِلَةٌ ﴿١٩٠﴾  
 الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَامًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَطْلًا  
 سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ ﴿١٩١﴾

Artinya: “*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 keadaan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata): “Ya Tuhan Kami, Tidaklah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia, Maha suci Engkau, Maka periharalah Kami dari siksa neraka”.* (QS. Ali Imron ayat 190-191)

Surah Ali Imron ayat 190-191 telah menjelaskan bahwa semua ciptaan Allah SWT di bumi dan dilangit yang hidup maupun tak hidup memiliki manfaat dan kegunaan masing-masing, tidak ada satupun ciptaan Allah yang diciptakan dengan sia-sia. Manusia sebagai ciptaan Allah SWT yang paling sempurna hendaknya merasa syukur dan selalu memikirkan akan ciptaan Allah SWT, karena melalui berfikir dan merenungkan ciptaan Allah maka akan menambah kecintaan kita kepada Allah dan meningkatkan rasa syukur kita atas segala nikmat-Nya.

Salah satu bentuk pemikiran yaitu dikembangkannya penelitian mengenai obat antikanker dari bahan alam yang diembankan pada zeolit NaX sebagai senyawa antikanker yang dapat menghambat pertumbuhan sel kanker payudara (T47D). Akar rumput bambu mengandung senyawa triterpenoid yang dapat menghambat pertumbuhan sel kanker, sedangkan zeolit NaX sintesis dapat digunakan sebagai sistem pembawa obat ((DDS) Drug Delivery System).

Hasil penelitian ini menyatakan bahwa ekstrak akar rumput bambu fraksi n-heksan yang diembankan pada zeolit NaX memiliki potensi lebih kecil daripada

ekstrak akar rumput bambu fraksi n-heksan tunggal dalam menghambat pertumbuhan sel kanker payudara (T47D) secara *in vitro*. Nilai  $IC_{50}$  yang berpotensi sebagai antikanker sel payudara (T47D) yaitu perbandingan 5:10 sebesar 919,245  $\mu\text{g/mL}$  sedangkan ekstrak tunggal akar rumput bambu fraksi n-heksan dan zeolit NaX masing-masing mempunyai nilai  $IC_{50}$  berturut-turut sebesar 692,63  $\mu\text{g/mL}$  dan 1.868,047  $\mu\text{g/mL}$ . Besarnya nilai  $IC_{50}$  hasil pengembunan ekstrak pada zeolit NaX masih memiliki potensi dalam menghambat pertumbuhan sel kanker payudara (T47D), karena suatu ekstrak dianggap toksik apabila memiliki nilai  $IC_{50} < 100 \mu\text{g/mL}$ . Berdasarkan penelitian ini telah membuktikan bahwa Allah SWT menciptakan segala sesuatu di alam ini tidaklah sia-sia.

## **BAB V**

### **PENUTUP**

#### **5.1 Kesimpulan**

Ekstrak akar rumput bambu fraksi n-heksan yang diimbangkan pada zeolit NaX memiliki potensi lebih kecil dalam menghambat pertumbuhan sel kanker payudara (T47D) secara *in vitro*. Ekstrak yang diimbangkan pada zeolit NaX dengan metode impregnasi kering memiliki nilai IC<sub>50</sub> berturut-turut sebesar 3.016µg/mL , 919,245 µg/mL dan 1.006,215 µg/mL. Hasil pengujian aktivitas antikanker yang berpotensi sebagai penghambat pertumbuhan sel kanker payudara (T47D) yaitu ekstrak tunggal akar rumput bambu fraksi n-heksan dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 692,63 µg/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 NaX

## DAFTAR PUSTAKA

- Al Maraghi, A.M. 1992. *Terjemahan Tafsir Al-Maraghi (Edisi Bahasa Arab) Juz XXI*. Semarang: CV. Toha Putra.
- Amorim, R., Vilaca, N., Martinho, O., Reis, R. M., Sardo, M., Rocha, J., ... C. Neves, I. (2012). Zeolite Structures Loading with an Anticancer Compound As Drug Delivery Systems. *Journal of Physical Chemistry C*, 116, 25642–25650.
- ATCC (*American Type Culture Collection*). 2008. *Cell Biology*. <http://www.atcc.org/ATCCAdvancedCatalogSearch/ProductDetails/tabid/452/CellBiology>. Diakses pada tanggal 05 November 2016.
- A'ilah, A. F. 2015. Uji Aktivitas Antikanker Terhadap Sel Kanker Payudara T47D dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktif dari Ekstrak dan Fraksi Akar Rumput Bambu (*Lophatherum gracile* Brongn). *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia FSAINTEK UIN Malang.
- Baerlocher, Ch., L.B. McCusker, and D.H. Olson, 2007, *Atlas of zeolite framework types 6th Ed.*, Elsevier, Amsterdam.
- Baraja, M. 2008. Uji Toksisitas Ekstrak Daun Ficus elastic nois ex lume Terhadap Artemiasalina Leach dan Profil Kromatografi Lapis Tipis. *Skripsi*. Surakarta: Fakultas Frmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Basmal, J. A. 2009. *Seminar Nasional Pengolahan Produk dan Bioteknologi kelautan dan Perikanan*. Jakarta.
- 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.
- Cronquist, A. 1981. *An Integrated System of Clasification of Flowering Plants*. New York: Columbia University Press.
- Datt, Ashish. 2012. Applications of Mesoporous Silica and Zeolites for Drug Delivery. *Theses and Dissertations*. University of Iowa.
- 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.
- Ferlay, J., Shin, HR., Bray, F., Forman, D., Mathers, C., Parkin, DM. 2010. GLOBOCAN 2008 v1.2: *Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC Cancer Base*. No. 10. Lyon: IARC Press.
- Fernandes, B.R. 2011. *Makalah Sintesis Nanopartikel*. Padang: Universitas Andalas Padang.
- Flanigen, E. d. 1991. *Infrared Structural Studies of Zeolite Frameworks. In Molecular Sieve Zeolites-I*. Washington: American Chemical Society.

- Freshney, L.A. 2000. *Culture of Animal Cells. A Manual of Basic Technique*. Edisi ke IV. Toronto: Willey-Liss.
- Gates, Bruce C.1992. *Catalytic Chemistry*. Singapore: John Wiley and Sons Inc.
- Ghazi, N. A., Hussain, K. 'Izzati A., Malek, N. A. N. N., dan Hamdan Salehuddin. (2013). The Effects of Zeolite X and Y on Cancer Cell Lines. *Journal of Science and Technology*, 33–40.
- Goodwin, C.J., Holt, S.J., Downes, S, dan Marshall, N.J., 1995. Microculture Tetrazolium Assays: A comparison Between Two New Tetrazolium Salts, XTT and MTS, *Journal Immunol Methods*, Vol. 197, No. 1, Hal: 95 – 103.
- Haag, W.O. 1984. *Catalysis by Zeolite Science and Technology in Zeolite : Related Microporous Materials*. Amsterdam. Elsevier.
- Harborne, J.B. 1996. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Padmawinata K, Soedira I, penerjemah. Bandung: Penerbit Institut Teknologi Bandung. Terjemahan dari: Phytochemical methods.
- Indrayani, dkk., 2006. Skrining Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Daun Pecut Kuda (*Stachytarpheta jamaicensis L. Vahl*) Terhadap Larva Udang *Iartemia salina* Leach. *Jurnal Fakultas Sains dan Matematika* Salatiga: Universitas Kristen Satya Wacana.
- Jing, Z., Ying, W., Xiao-Qi, Z., Qing-Wen, Z., dan Wen-Cai, Y. 2009. *Chemical Constituents from the Leaves of Lophatherium gracile*. *Chinesse Journal of Natural Medicines*.7(6): 428-431.
- Kadja, G. T. M., Rilyanti, M., Mukti, R. R., Marsih, I. N., dan Ismunandar. (2013). Strategi Sintesis Zeolit Hirarkis : Kajian Metode Cetak Lunak dan Cetak Keras. *Jurnal Matematika Dan Sains*, 18, 3.
- Kasmui, Muhlisin, M.Z., dan Sumarni, W. 2008. Kajian Pengaruh Variasi Rasio Si/Al dan Variasi Kation Terhadap Perubahan Ukuran Pori Zeolit Y dengan Menggunakan Metode Mekanika Molekuler. *Jurnal Kimia: UNNES*.
- Kiti, E. V. 2012. Synthesis of Zeolites and Their Application to the Desalination of Seawater. *Tesis*. Kumasi: Kwame Nkrumah University of Science and Technology Kumasi.
- Koller, H. Dkk. 1997. <sup>13</sup>C and <sup>23</sup>Na Solid-State NMR Study on Zeolite Y Loaded with Mo(CO)<sub>6</sub>. *Journal Physical Chemistry*. Eindhoven University of Technology : Netherlands.
- Kusumawati, I., Djatmiko, W., dan Rahman, A. Studiawan, H., Ekasari, W. 2003. *Eksplorasi Keanekaragaman dan Kandungan Kimia Tumbuhan Obat di*

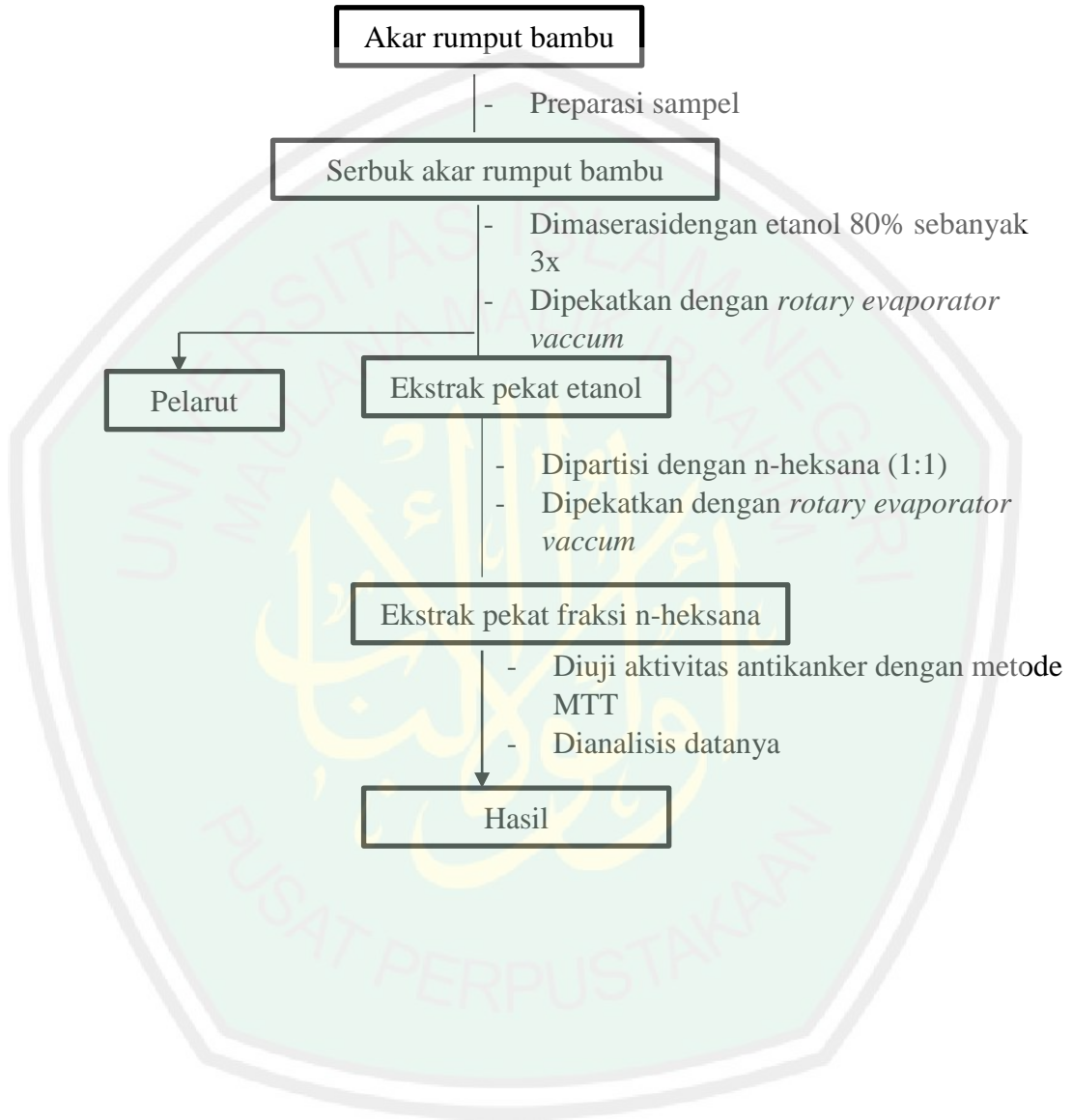
- Hutan Tropis Gunung Arjuno. Jurnal Bahan Alam Indonesian* ISSN 1412-2855. Volume 2, Nomor 3.
- Laila, A. K. 2016. Uji Aktivitas Antikanker Payudara T47D Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn) yang Diembankan pada Zeolit NaX. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia FSAINTEK UIN Malang.
- Lestari, Dewi Y. 2010. Kajian Modifikasi dan Karakterisasi Zeolit Alam dari Berbagai Negara. *Jurnal Prosiding Seminar Nasional Kimia dan Pendidikan Kimia*.
- Mangan, Y. 2009. Solusi Sehat Mencegah dan Mengatasi Kanker. Jakarta : Agromedia Pustaka
- 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, M. K. 1999. Targeted Disruption of the Microsomal Epoxide Hydrolase Gene. *The Journal of Biological Chemistry*. 274. 23963-23968.
- Meiyanto, E., Susidarti, R. A., Handayani, S., 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.
- Monsalve, A.G. 2004. *Active Acid Sites in Zeolite Catalyzed Iso-butane/cis-2-butene Alkylation*. Germany: Institut fur Technische Chemie der Technischen Universitat Munchen Lehrstuhl II.
- 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.
- NCI (*National Cancer Institute*) dalam Rahmawati, E., Sukardiman dan Muti, A.F. 2013. Aktivitas Antikanker Ekstrak n-Heksan dan Ekstrak Metanol Herba Pacar Air (*Impatiens balsamina* Lin) terhadap sel kanker Payudara T47D. *Media Farmasi*. Vol.10, N0.2, Hal: 47-55
- Padmi, A. 2008. Uji Sitotoksik Ekstrak Etanol 70 % Buah Kemukus (IPiper Cubeba L) Terhadap Sel Hela. Fakultas Farmasi UNMUH Surakarta.
- Pavelic, K., dan Hadzija, M. (2003). Medical Applications of Zeolites.

- 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., Abignente, E. 2007. Synthetic Zeolites as a New Tool for Drug Delivery. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. 156-164.
- Salaman, S. 2004. Persepsi Karakterisasi dan Modifikasi Katalis Ni<sub>3</sub>-Pd<sub>1</sub>/Zeolit-Y untuk Hidrorengkah Fraksi Aspaten dari Aspal Buton dengan Sistem Reaktor Semi Batch. *Skripsi*. Yogyakarta: UGM.
- Sang, S., Liu, Z., Tian, P., Liu, Z., dan Zhang, Y. 2006. Synthesis of Small Crystals Zeolite NaY. *Material Letters* 60. 1131-1133. China.
- Saputra, R. 2006. *Pemanfaatan Zeolit Sintesis sebagai Alternatif Pengolahan Limbah Industri*.
- Saputra, D.E, Handayani, N dan Wartono, M.E. 2014. Isolasi dan Identifikasi Campuran Senyawa B-Sitosterol dan Stigmasterol dari Kulit Akar Slatrri (*Calophyllum Soulattri* Burm. F). *Jurnal ALCHEMY*. Vol.10, No. 1, Hal: 87-93.
- Soebagio. 2003. *Kimia Analitik II*. Malang: UM Press.
- Spanakis, Marios, Nikolaos Bouropoulos, Dimitrios Theodoropoulos, Lamprini Sygellou, Sinead Ewart, Anastasia Maria Moschovi Angeliki Siokou, Ioannis Niopas, Kyriakos Kachrimanis, Vladimiro Nikolakis, Paul A. Cox, Ioannis S. Vizirianakis, Dimitrios G. Fatouros. 2014. *Controlled release of 5-fluorouracil from microporous zeolites*. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine* xx (2013) xxx–xxx.
- Sudarmadji, S.B., Haryono dan Suhardi. 2003. *Analisa Bahan Makanan dan Pertanian*. Yogyakarta: Liberty.
- Sudiyono, D.A. 2016. Sintesis dan Karakterisasi Zeolit NaY sebagai Pengemban Senyawa Antikanker Hasil Ekstrak Etanol Akar Rumput Bambu (*Lophatherum gracile* Brongn). *Skripsi*. Diterbitkan. 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.
- Sumaryanto, A. 2009. Isolasi Karakterisasi Senyawa Alkaloid dari Kulit Batang Tanaman Angsret (*Spathoda campanulata* Beauv) serta Uji Aktivitas Biologisnya dengan Metode Uji Brine Shrimp. *Skripsi*. Jurusan Kimia. Fakultas MIPA. Malang: Universitas Brawijaya.

- Tambunan. 2003. *Diagnosis dan Tata laksana Sepuluh Jenis Kanker di Indonesia*. Jakarta: EGC.
- Taufiqurrahmi, N., Mohamed, A. R., dan Bhatia S. 2011. Nanocrystalline Zeolite Y: Synthesis and Characterization. *Materials Science and Engineering*.
- Mosman, T. 1983. Rapid Colorimetric Assay for Cellular Growth and Survival: Application to Proliferation and Cytotoxicity Assays. *Journal of Immunological Method*.16. (1-2): 55-63.17:1-6
- Vilaca, Natalia, Amorim, R., Machado, A. F., Parpot, P., Pereira, M. F. R., Sardo, M., Rocha, J., ... 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. <http://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2013.07.042>
- Voight, R. 1995. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Diterjemahkan oleh Soedani Noerono Soewandi, Apt. Yogyakarta: Universitas Gajah Mada press.
- Wijayakusuma, H. 2005. *Atasi Kanker dengan Tanaman Obat*. Jakarta: Puspa Swara.

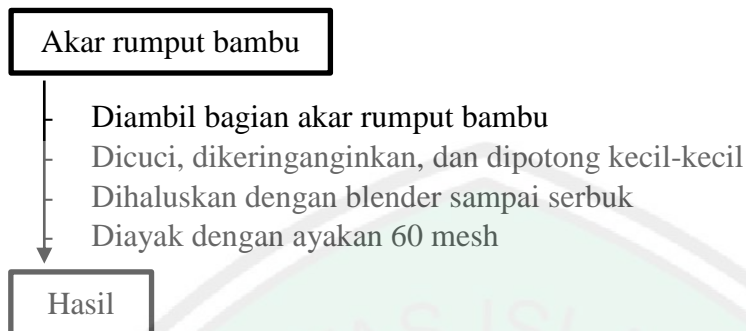
## LAMPIRAN

### Lampiran 1. Tahapan Penelitian

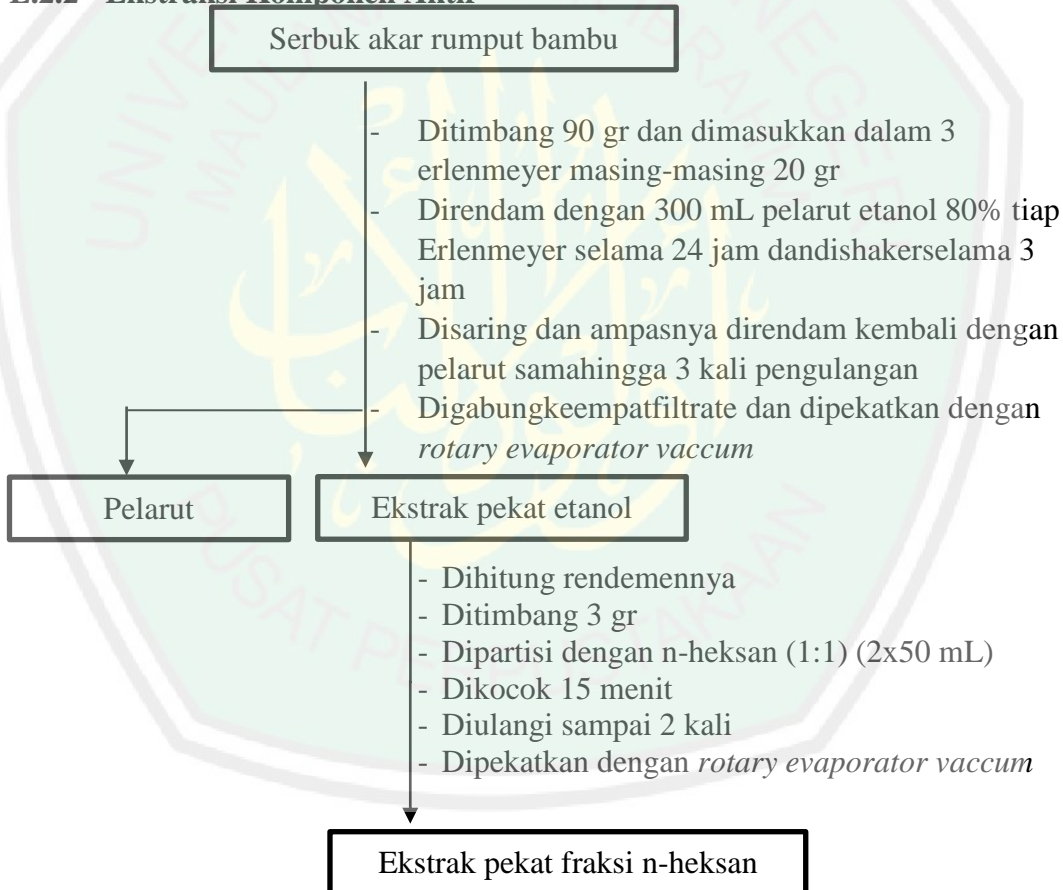


## Lampiran 2. Skema Kerja

### L.2.1 Preparasi Sampel

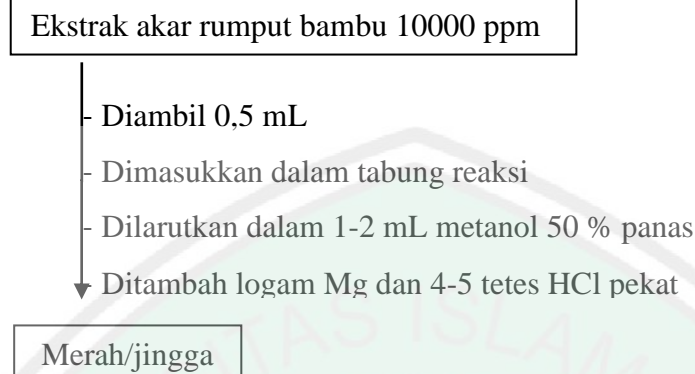


### L.2.2 Ekstraksi Komponen Aktif

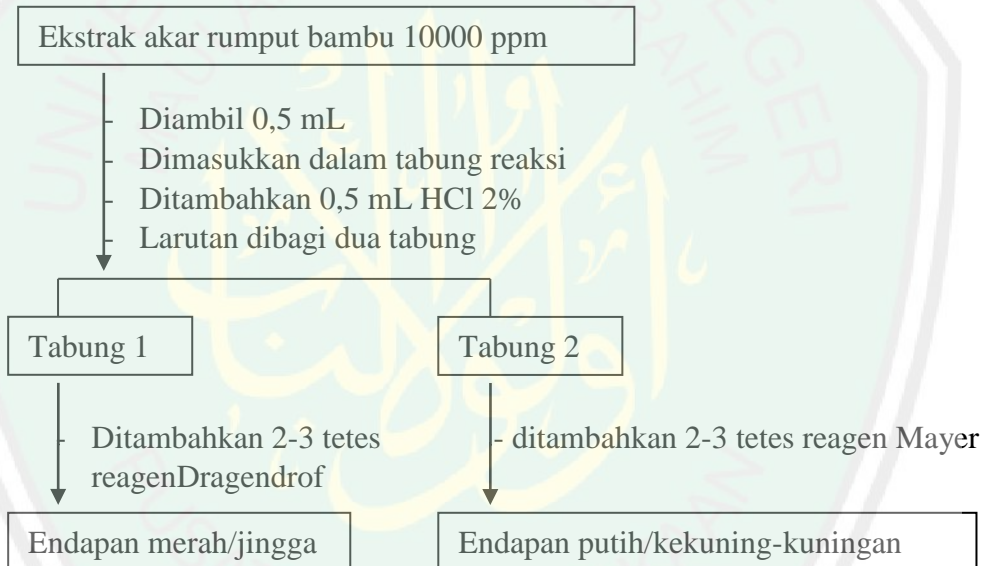


### L.2.3 Uji Fitokimia dengan Reagen (Indrayani, dkk., 2006)

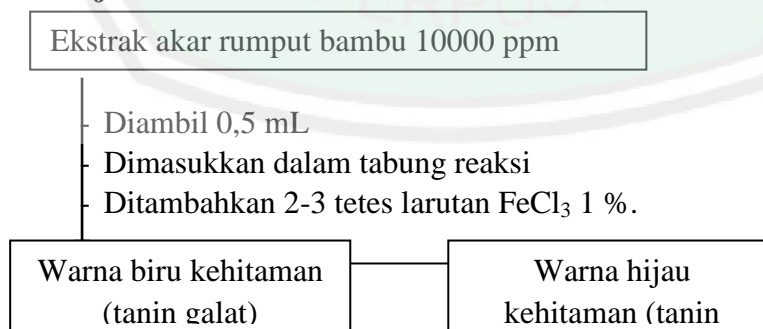
#### L.2.3.1 Uji Flavonoid



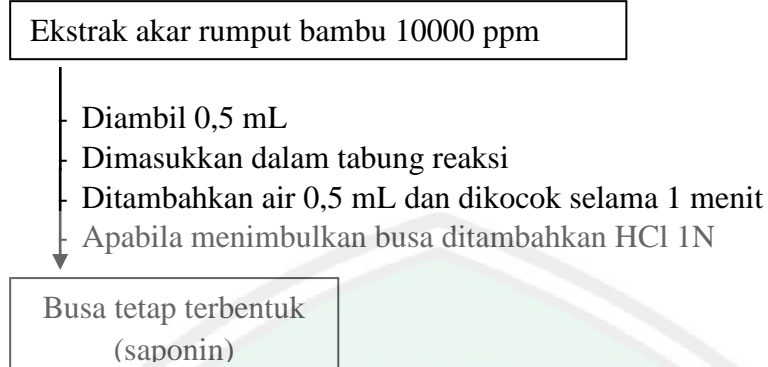
#### L.2.3.2 Uji Alkaloid



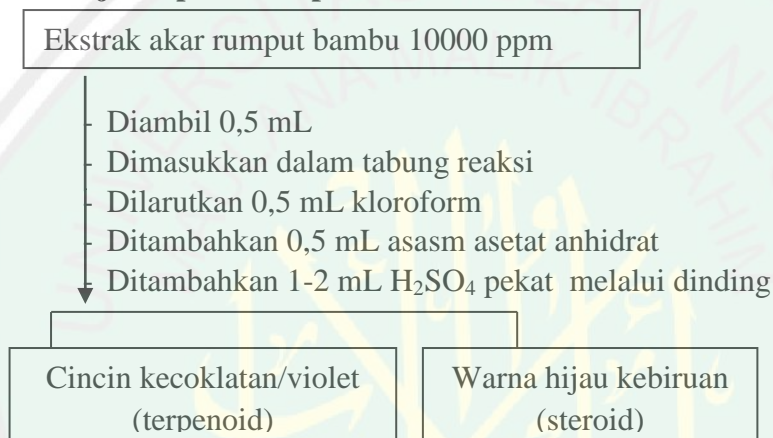
#### L.2.3.3 Uji Tanin



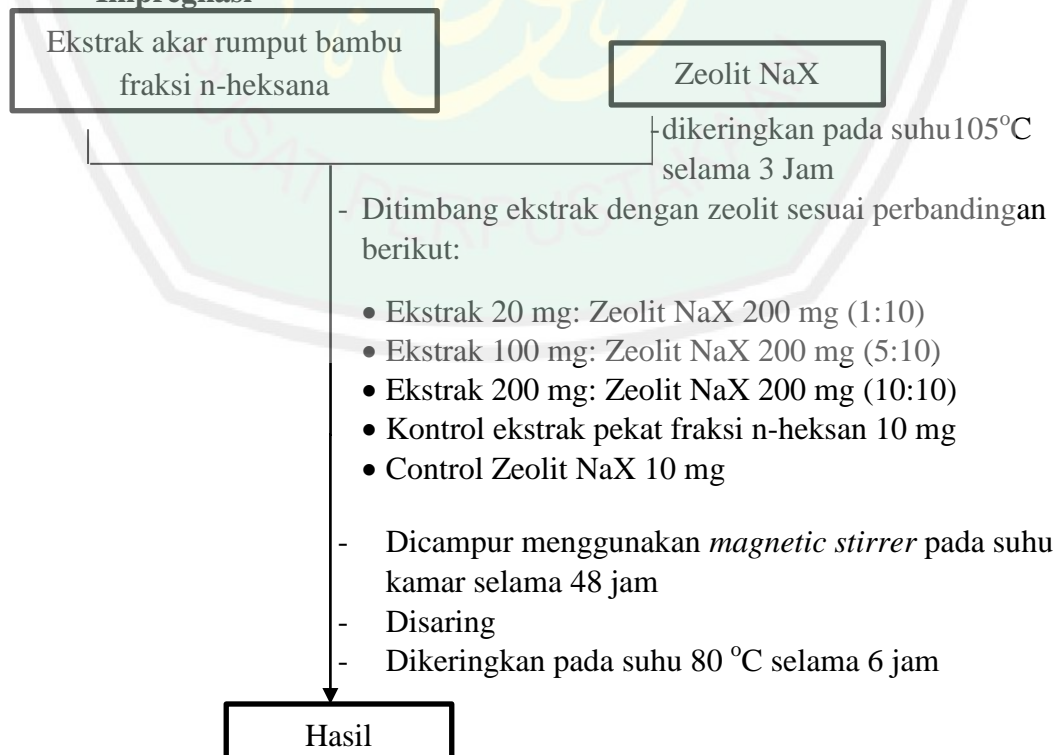
### L.2.3.4 Uji Saponin



### L.2.3.5 Uji Terpenoid/Saponin

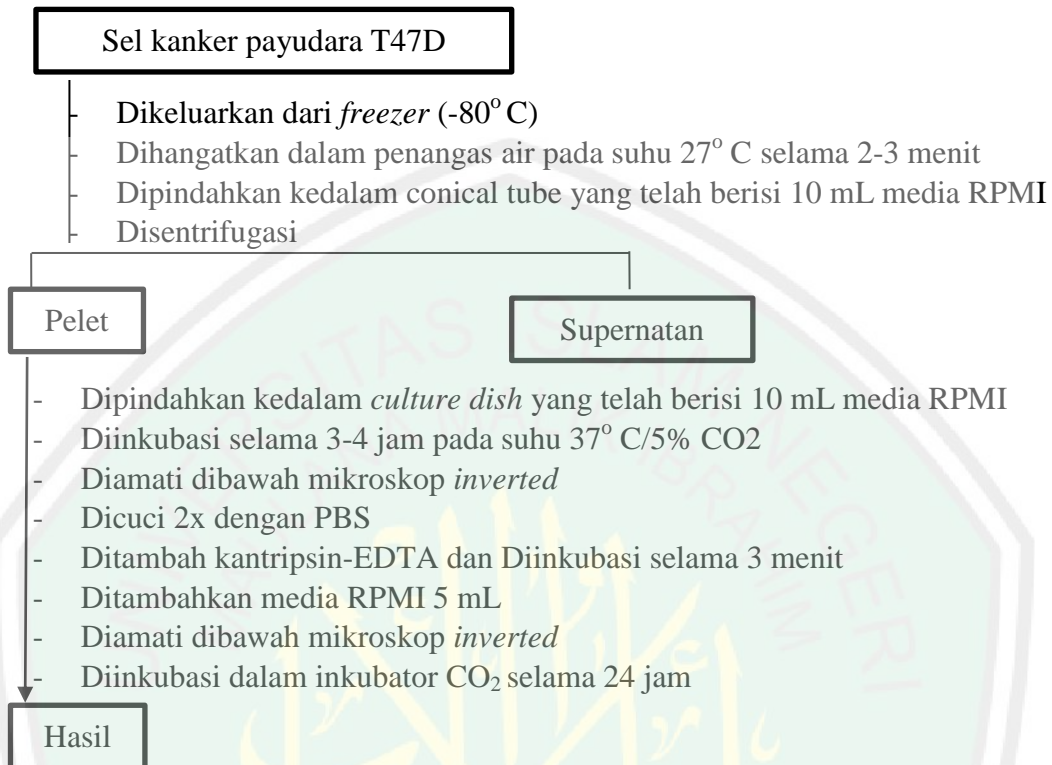


### L.2.4 Pengembanan Ekstrak Akar Rumput Bambu pada Zeolit NaX secara Impregnasi

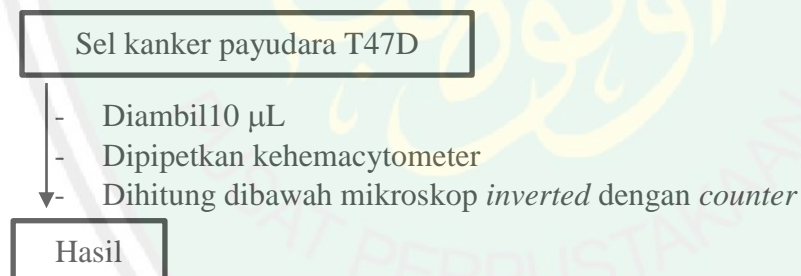


## L.2.5 Aktivitas Antikanker Metode MTT

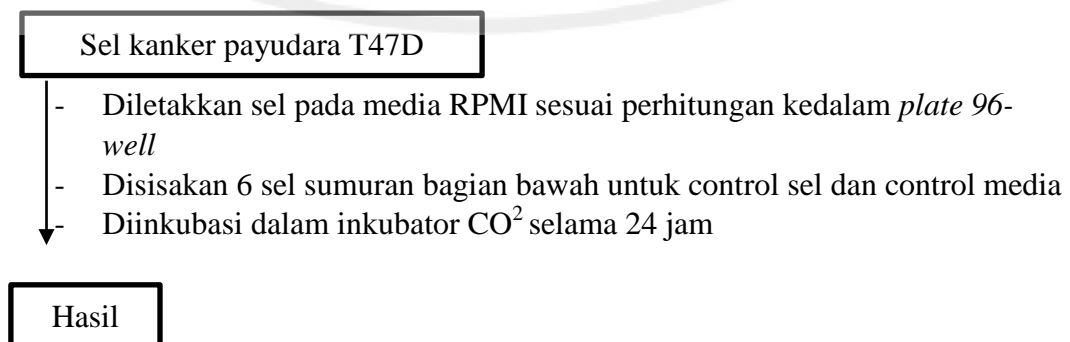
### L.2.5.1 Penyiapan Sel



### L.2.5.2 Penghitungan Sel Kanker



### L.2.5.3 Peletakan sel pada plate



### L.2.5.5 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  $\mu$ L DMSO
- Diambil sel dari inkubator
- Dibuang media sel dengan cara dibalikkan *plate* 180o
- Dimasukkan 100  $\mu$ L PBS kedalam semua sumuran yang terisi sel dan dibuang kembali
- Dimasukkan sampel sebanyak 100  $\mu$ L dengan konsentrasi 1000, 500, 250, 125, 62.5, 31.25ppm
- Dilakukan pengulangan penambahan konsentrasi sampel sebanyak 3x
- Diinkubasi kembali selama 24 jam

Hasil

### L.2.5.6 Pemberian larutan MTT

#### Sel kanker payudara T47D

- Dibuang media sel dan dicuci dengan PBS
- Ditambahkan larutan MTT 100  $\mu$ L kesetiap sumuran kecuali control sel
- Diinkubasi selama 3-4 jam kedalam inkubator
- Diamati kondisi sel dengan mikroskop *inverted* jika formazan telah terbentuk
- Ditambahkan *stopper* SDS 10% dalam 0,1 N HCl
- Dibungkus *plate* dengan aluminium foil
- Diinkubasi kembali ditempat gelap (suhu ruangan) selama semalam
- Dibaca nilai absorbansi dengan ELISA *reader*

Hasil

### Lampiran 3 Pembuatan Larutan dan Reagen

#### L.3.1 Pembuatan Larutan Etanol 80%

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

$$96\% \times V_1 = 80\% \times 1000 \text{ mL}$$

$$V_1 = 833,33 \text{ mL} \rightarrow 835 \text{ mL}$$

Cara pembuatannya adalah diisi labu takar 1000 mL dengan 100 mL aquades, kemudian ditambahkan 835 mL etanol p.a (96%) secara perlahan. Digoyangkan sebentar lalu ditambahkan aquades kembali hingga tanda batas. Selanjutnya dikocok hingga homogen.

#### L.3.2 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  $\text{H}_2\text{O}$ .

Larutan II. 6 g KI dalam 10 mL  $\text{H}_2\text{O}$ .

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

#### L.3.3 Pembuatan Reagen Mayer (Manan, 2006)

Larutan I.  $\text{HgCl}_2$  1,358 gr dalam aquades 60 mL

Larutan II. KI 5 gr dalam aquades 10 mL

Cara pembuatannya adalah larutan I dibuat dengan menimbang  $\text{HgCl}_2$  1,358 gr dengan neraca analitik kemudian dimasukkan dalam beaker glass 100 mL dan dilarutkan dengan menambahkan aquades 60 mL dan larutan II dibuat dengan menimbang KI 5 gr dengan neraca analitik kemudian dimasukkan dalam beaker glass 250 mL dan dilarutkan dengan menambahkan aquades 10 mL. Masing-masing dilakukan pengadukan dengan pengaduk gelas sampai larut

sempurna. Selanjutnya larutan I dituangkan ke dalam larutan II dan dihomogenkan dengan menggunakan pengaduk gelas. Apabila kedua larutan homogen, campuran larutan tersebut dipindahkan dalam labu takar 100 mL dan diencerkan dengan aquades sampai tanda batas.

#### L.3.4 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.3.5 Pembuatan Reagen FeCl<sub>3</sub> 1 % (b/v)

$$\text{FeCl}_3 \text{ 1 \%} = \frac{0,1 \text{ gr}}{10 \text{ mL}}$$

Untuk membuat larutan FeCl<sub>3</sub> 1% adalah ditimbang sebanyak 1 g serbuk FeCl<sub>3</sub> dengan neraca analitik, dimasukkan dalam labu ukur 100 mL. Selanjutnya ditambahkan aquades sampai tanda batas dan dikocok hingga homogen.

#### L.3.6 Pembuatan Larutan HCl 1 M

Konsentrasi HCl (b/b) = 37 %

Berat jenis HCl = 1,19 g/ml = 1190 g/L

Berat Molekul = 36,5 g/mol

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

$$\begin{aligned} \text{mol} &= \frac{\text{gram}}{Mr} \\ &= \frac{37 \text{ gr}}{36,5 \text{ gr/mol}} \\ &= 1,0137 \text{ mol} \end{aligned}$$

$$\rho = \frac{\text{massa larutan HCl}}{\text{Volume}}$$

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

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

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

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

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

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

$$12,06 \text{ mol/L} \times V_1 = 1 \text{ mol/L} \times 100 \text{ mL}$$

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

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

Cara membuat 100 mL HCl 1 M adalah diambil larutan HCl 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.3.7 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 2% 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.3.8 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.3.9 Pembuatan Larutan Stok 10.000 ppm Kombinasi Ekstrak Akar

#### Rumput Bambu dengan Zeolit NaX

$$10.000 \text{ ppm} = \frac{10.000 \text{ mg}}{1 \text{ L}} = \frac{10.000 \text{ mg}}{1000 \text{ mL}} = \frac{100 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} = \frac{50 \text{ mg}}{5 \text{ mL}} = \frac{0,05 \text{ g}}{5 \text{ mL}}$$

Cara pembuatannya adalah sampel berupa ekstrak pekat daun bidara mauritiana ditimbang 0,05 g, kemudian diencerkan dengan 5 mL pelarut masing-masing ekstrak. 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.3.10 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.3.11 Pembuatan Larutan Stok 1000 ppm Kombinasi Ekstrak Akar

#### Rumput Bambu dengan Zeolit NaX

Berat sampel = 10 mg

Volume pelarut = 100  $\mu$ L (DMSO)

$$M = \frac{10 \text{ mg}}{100 \text{ } \mu\text{L}} = \frac{10.000 \text{ } \mu\text{g}}{100 \text{ } \mu\text{L}} = 100000 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

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

$$1 \text{ mL} \times 1000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 100.000 \text{ } \mu\text{g/mL} \times V_2$$

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

Larutan stok 1000 ppm dibuat dengan cara mengambil 10  $\mu$ L sampel yang telah dilarutkan dengan DMSO. Kemudian ditambahkan 990  $\mu$ L media kultur RPMI dan diresuspensi hingga homogen.

## Lampiran 4. Data dan Perhitungan Hasil Penelitian

### L.4.1 Perhitungan Rendemen

#### 1. Ekstrak Etanol 80%

Berat sampel = 90 gr

Berat ekstrak pekat = 6,69 gr

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Beratekstrak}}{\text{Beratsampel}} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{6,69 \text{ gr}}{90 \text{ gr}} \times 100 \% = 7,43 \%$$

#### 2. Fraksi n-heksana

Berat sampel = 6,002 gr

Berat ekstrak pekat = 0,646 gr

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

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{0,646 \text{ gr}}{6,002 \text{ gr}} \times 100 \% = 10,763 \%$$

### 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 7

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

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

$$= \frac{75+60+42+7}{4} \times 10^4$$

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

➤ **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  $\mu\text{L}$  MK berisi sel, sehingga total volume yang diperlukan untuk menanam sel = 100  $\mu\text{L}$  x 100 sumuran = 10000  $\mu\text{L}$  atau 10 mL.



## B. Perhitungan Persentase Sel Hidup

### ➤ Data Uji aktivitas Antikanker dengan Metode MTT

No.	Absorbansi kontrol sel	Absorbansi kontrol media
1.	0.441	0.077
2.	0.445	0.079
3.	0.468	0.077
<b>Rata –Rata:</b>	0.455	0.077

#### 1. Perbandingan Ekstrak Akar Rumput Bambu : Zeolit NaX (1:10)

Konsentrasi	Absorbansi			Rata-rata	% Hidup
	Pengulangan 1	Pengulangan 2	Pengulangan 3		
1000	0.278	0.362	0.427	0.356	73.8
500	0.403	0.414	0.409	0.077	87.7
250	0.435	0.398	0.406	0.413	88.9
125	0.353	0.383	0.429	0.388	82.4
62.5	0.407	0.413	0.359	0.405	86.8
31.25	0.408	0.415	0.431	0.418	90.2

#### 2. Kombinasi Ekstrak Akar Rumput Bambu : Zeolit NaX (5:10)

Konsentrasi	Absorbansi			Rata-rata	% Hidup
	Pengulangan 1	Pengulangan 2	Pengulangan 3		
1000	0.357	0.127	0.189	0.224	38.9
500	0.394	0.416	0.384	0.398	84.9
250	0.434	0.405	0.422	0.420	90.8
125	0.431	0.384	0.441	0.419	90.3
62.5	0.414	0.372	0.422	0.403	86.1
31.25	0.384	0.399	0.383	0.387	81.9

#### 3. Kombinasi Ekstrak Akar Rumput Bambu : Zeolit NaX (10:10)

Konsentrasi	Absorbansi			Rata-rata	% Hidup
	Pengulangan 1	Pengulangan 2	Pengulangan 3		
1000	0.135	0.406	0.307	0.283	54.4
500	0.050	0.479	0.407	0.312	62.2
250	0.505	0.441	0.459	0.468	103.5
125	0.463	0.447	0.431	0.447	97.9
62.5	0.448	0.458	0.443	0.449	98.6
31.25	0.470	0.448	0.442	0.453	99.5

#### 4. Ekstrak Akar Rumput Bambu Fraksi n-Heksana

Konsentrasi	Absorbansi			Rata-rata	% Hidup
	Pengulangan 1	Pengulangan 2	Pengulangan 3		
1000	0.076	0.086	0.088	0.083	1.7
500	0.340	0.499	0.559	0.466	102.9
250	0.370	0.488	0.503	0.454	99.6
125	0.483	0.497	0.502	0.494	110.3
62.5	0.436	0.458	0.463	0.452	99.2
31.25	0.415	0.431	0.449	0.431	93.8

#### 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	0.378	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. Perbandingan Ekstrak Akar Rumput Bambu : Zeolit NaX (1:10)

- ✓ Konsentrasi 1000 → % Hidup =  $\frac{0,356-0,077}{0,455-0,077} \times 100 \%$  = 73,8 %
- ✓ Konsentrasi 500 → % Hidup =  $\frac{0,409-0,077}{0,455-0,077} \times 100 \%$  = 87,7%
- ✓ Konsentrasi 250 → % Hidup =  $\frac{0,413-0,077}{0,455-0,077} \times 100 \%$  = 88,9%
- ✓ Konsentrasi 125 → % Hidup =  $\frac{0,388-0,077}{0,455-0,077} \times 100 \%$  = 82,4%
- ✓ Konsentrasi 62,5 → % Hidup =  $\frac{0,405-0,077}{0,455-0,077} \times 100 \%$  = 86,8%
- ✓ Konsentrasi 31,25 → % Hidup =  $\frac{0,418-0,077}{0,455-0,077} \times 100 \%$  = 90,2%

#### 2. Perbandingan Ekstrak Akar Rumput Bambu : Zeolit NaX (5:10)

- ✓ Konsentrasi 1000 → % Hidup =  $\frac{0,224-0,077}{0,455-0,077} \times 100 \%$  = 38,9 %
- ✓ Konsentrasi 500 → % Hidup =  $\frac{0,398-0,077}{0,455-0,077} \times 100 \%$  = 84,9%

- ✓ Konsentrasi 250 → % *Hidup* =  $\frac{0,420-0,077}{0,455-0,077} \times 100 \% = 90,8\%$
- ✓ Konsentrasi 125 → % *Hidup* =  $\frac{0,419-0,077}{0,455-0,077} \times 100 \% = 90,3\%$
- ✓ Konsentrasi 62,5 → % *Hidup* =  $\frac{0,403-0,077}{0,455-0,077} \times 100 \% = 86,1\%$
- ✓ Konsentrasi 31,25 → % *Hidup* =  $\frac{0,387-0,077}{0,455-0,077} \times 100 \% = 81,9\%$

### 3. Perbandingan Ekstrak Akar Rumput Bambu : Zeolit NaX (10:10)

- ✓ Konsentrasi 1000 → % *Hidup* =  $\frac{0,283-0,077}{0,455-0,077} \times 100 \% = 54,4 \%$
- ✓ Konsentrasi 500 → % *Hidup* =  $\frac{0,312-0,077}{0,455-0,077} \times 100 \% = 62,2 \%$
- ✓ Konsentrasi 250 → % *Hidup* =  $\frac{0,468-0,077}{0,455-0,077} \times 100 \% = 103,5 \%$
- ✓ Konsentrasi 125 → % *Hidup* =  $\frac{0,447-0,077}{0,455-0,077} \times 100 \% = 97,9 \%$
- ✓ Konsentrasi 62,5 → % *Hidup* =  $\frac{0,449-0,077}{0,455-0,077} \times 100 \% = 98,6 \%$
- ✓ Konsentrasi 31,25 → % *Hidup* =  $\frac{0,470-0,077}{0,455-0,077} \times 100 \% = 99,5 \%$

### 4. Ekstrak n-Heksana Akar Rumput Bambu

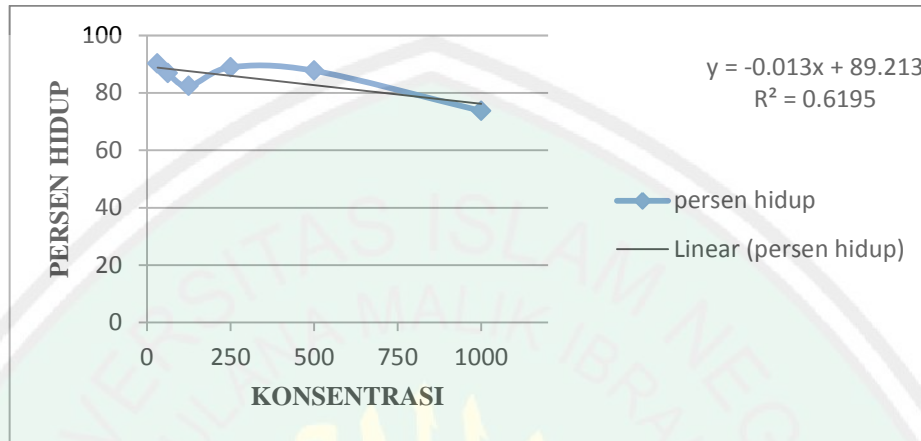
- ✓ Konsentrasi 1000 → % *Hidup* =  $\frac{0,083-0,077}{0,455-0,077} \times 100 \% = 1,7 \%$
- ✓ Konsentrasi 500 → % *Hidup* =  $\frac{0,466-0,077}{0,455-0,077} \times 100 \% = 102,9 \%$
- ✓ Konsentrasi 250 → % *Hidup* =  $\frac{0,370-0,077}{0,455-0,077} \times 100 \% = 99,6 \%$
- ✓ Konsentrasi 125 → % *Hidup* =  $\frac{0,494-0,077}{0,455-0,077} \times 100 \% = 110,3 \%$
- ✓ Konsentrasi 62,5 → % *Hidup* =  $\frac{0,452-0,077}{0,455-0,077} \times 100 \% = 99,2 \%$
- ✓ Konsentrasi 31,25 → % *Hidup* =  $\frac{0,431-0,077}{0,455-0,077} \times 100 \% = 93,8 \%$

### 5. Zeolit NaX

- ✓ Konsentrasi 1000 → % *Hidup* =  $\frac{0,324 - 0,077}{0,378} \times 100 \% = 65,3 \%$
- ✓ Konsentrasi 500 → % *Hidup* =  $\frac{0,378 - 0,077}{0,378} \times 100 \% = 79,5 \%$
- ✓ Konsentrasi 250 → % *Hidup* =  $\frac{0,382 - 0,077}{0,378} \times 100 \% = 80,8 \%$
- ✓ Konsentrasi 125 → % *Hidup* =  $\frac{0,427 - 0,077}{0,378} \times 100 \% = 92,7 \%$
- ✓ Konsentrasi 62,5 → % *Hidup* =  $\frac{0,354 - 0,077}{0,378} \times 100 \% = 73,2 \%$
- ✓ Konsentrasi 31,25 → % *Hidup* =  $\frac{0,422 - 0,077}{0,378} \times 100 \% = 91,3 \%$

### C. Hasil Perhitungan IC<sub>50</sub> dengan Excel

#### 1. Perbandingan Ekstrak Akar Rumput Bambu dengan Zeolit (1:10)

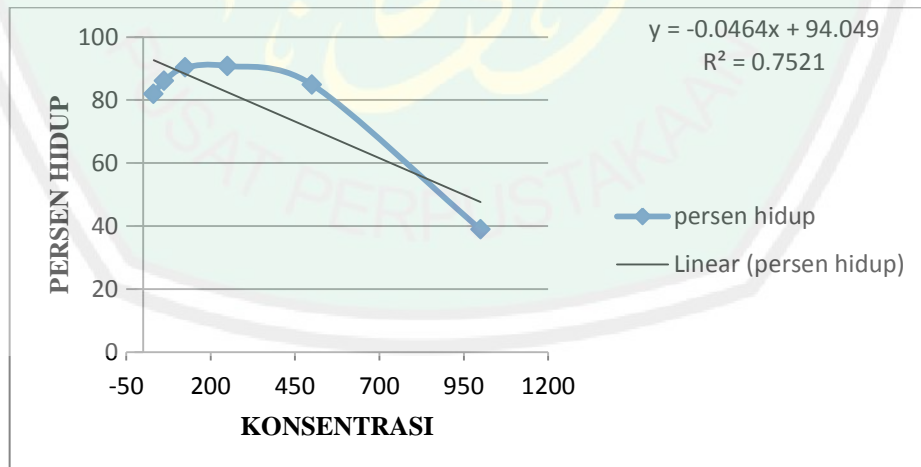


$$y = -0,013 + 89,213$$

$$x = \frac{50 - 89,213}{0,013}$$

$$x = 3,016 \mu\text{g/mL}$$

#### 2. Perbandingan Ekstrak Akar Rumput Bambu (5 :10)

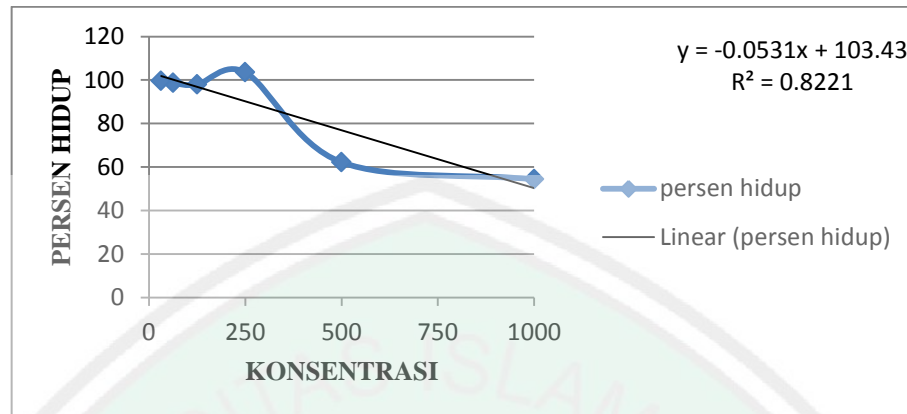


$$y = -0,0464x + 94,049$$

$$x = 1 + \frac{(50 - 94,049)}{0,0464}$$

$$x = 919,245 \mu\text{g/mL}$$

### 3. Perbandingan Ekstrak Akar Rumpun Bambu (10 :10)

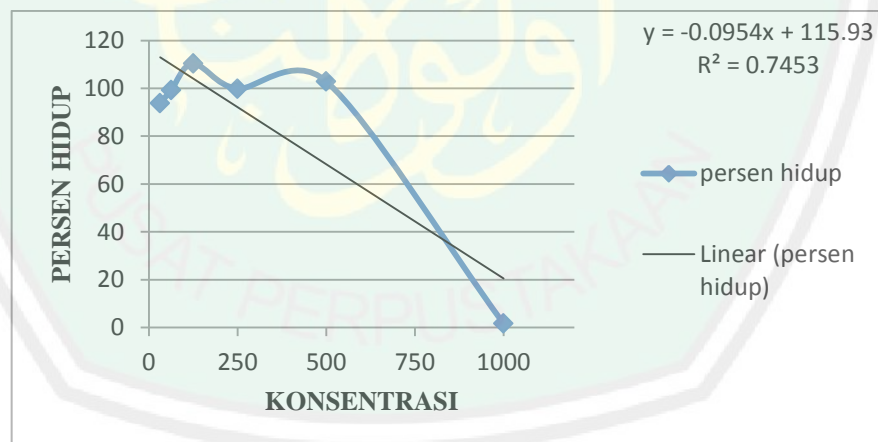


$$y = -0,0531x + 103,43$$

$$x = 1 + \frac{(50 - 103,34)}{0,0531}$$

$$x = 1.006,215$$

### 4. Ekstrak Akar Rumpun Bambu

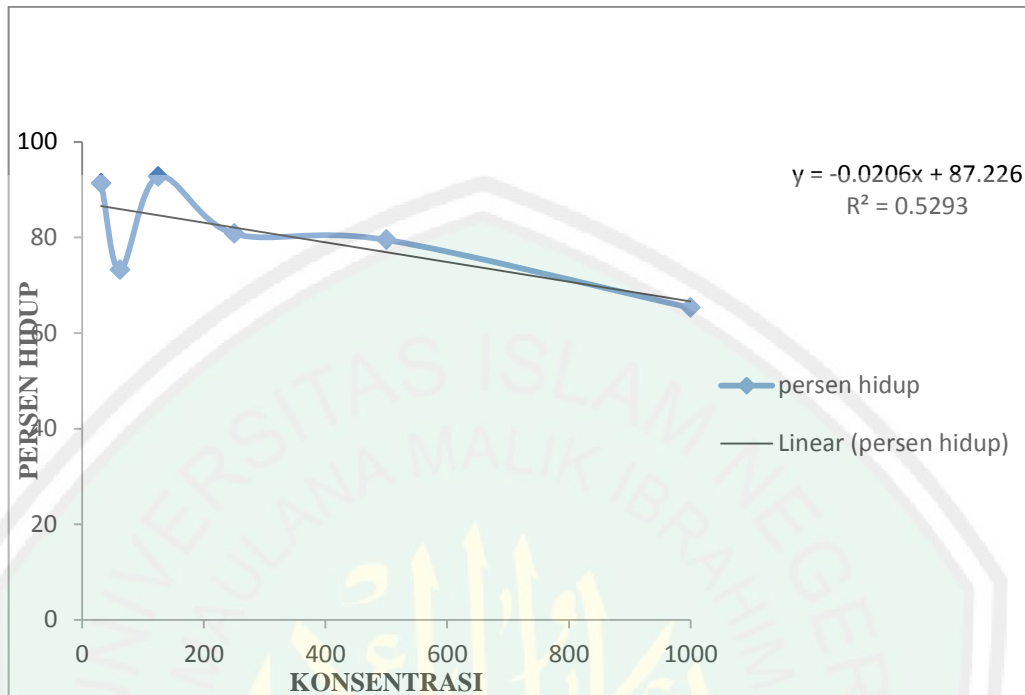


$$y = -0,0954x + 115,93$$

$$x = \frac{n(50 - 115,93)}{0,0954}$$

$$x = 692,630 \mu\text{g/mL}$$

## 5. Zeolit NaX



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

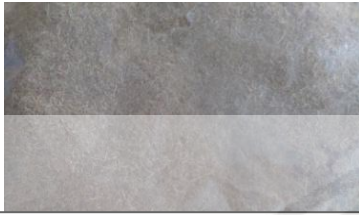
$$x = \frac{50 - 87,226}{-0,0206}$$

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

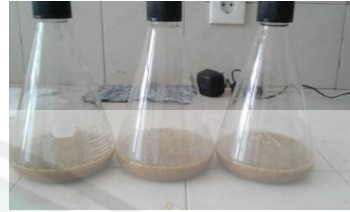
$$x = 1.807,087 \mu\text{g/mL}$$

## Lampiran 5. Dokumentasi

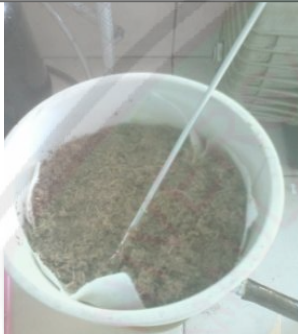
### L.5.1 Proses Maserasi



Serbuk akar rumput bambu



Proses perendaman



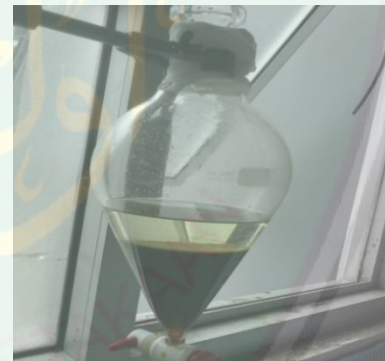
Serbuk hasil penyaringan



Filtrat hasil penyaringan



Pemekatan dengan rotary evaporator vaccum

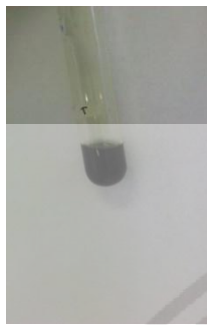


Partisi cair-cair dengan n-heksana

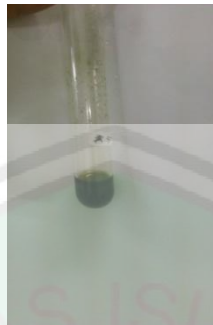


Filtrate fraksi n-heksana

### L.5.2 Uji Fitokimia dengan Reagen



Uji terpenoid



Uji flavonoid



Uji alkaloid dengan reagen Mayer



Uji alkaloid dengan reagen Dragendorff



Uji tanin



Uji steroid

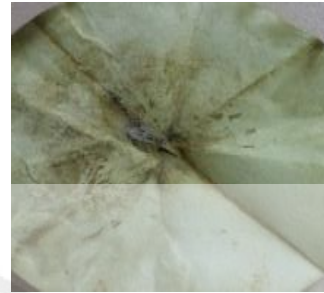
### L.5.3 Proses Impregnasi dengan Zeolit NaX



Pengadukan  
dengan stirer



Pengeringan  
menggunakan oven



Hasil pengeringan  
kombinasi

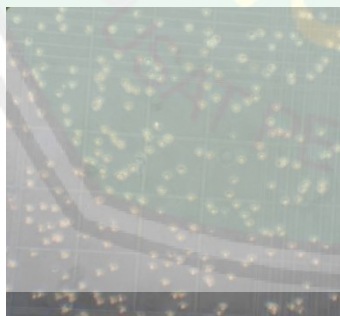


Proses penimbangan  
sampel



Hasil penimbangan  
10 mg

### L.5.4 Uji Aktivitas Antikanker Metode MTT



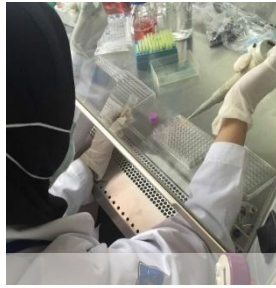
Morfologi perhitungan  
sel



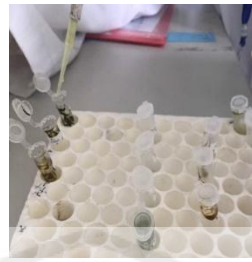
Mikroskop inverted



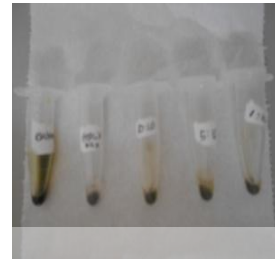
Pengenceran  
konsentrasi sampel



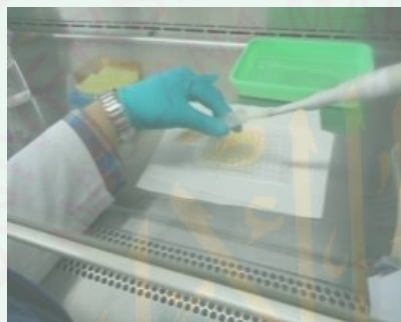
Peletakan sel



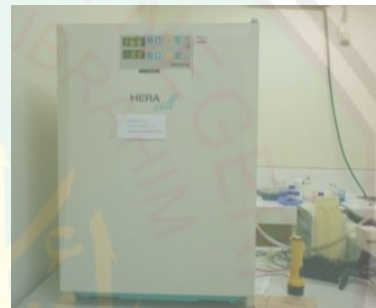
Pemberian larutan DMSO



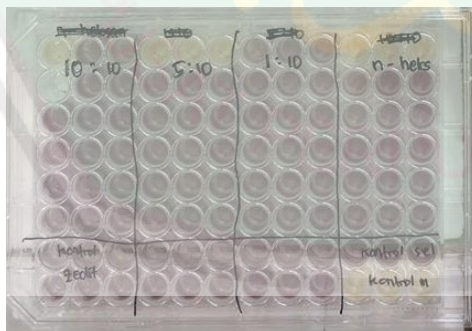
Setelah pemberian DMSO



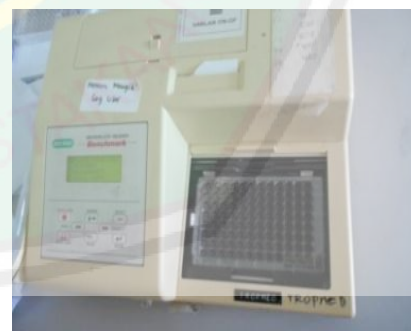
Pemberian reagen MTT



Inkubator CO<sub>2</sub>/37° C

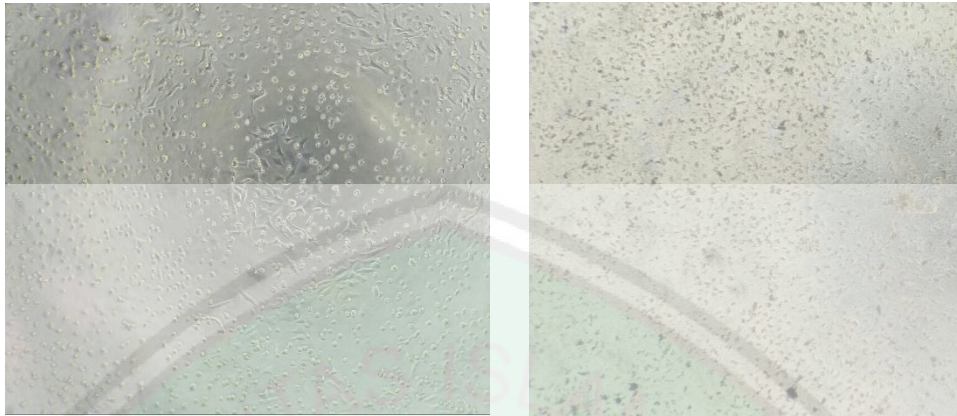


Setelah pemberian SDS



Elisa reader (mikroplate reader)

### L.5.5 Morfologi Sel Kanker T47D setelah Pemberian Reagen MTT



Perbandingan 5:10 + sel  
konsentrasi 1000 ppm

Perbandingan 5:10 + sel  
konsentrasi 31,25 ppm



Kontrol Sel