

**UJI AKTIVITAS ANTIKANKER EKSTRAK DAN FRAKSI DAUN
BIDARA LAUT (*Ziziphus mauritiana* L.) TERHADAP SEL KANKER
PAYUDARA (T47D) MELALUI METODE MTT**

SKRIPSI

Oleh:

**MUHARROFATUL JANNAH
NIM.13630120**



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2018**

**UJI AKTIVITAS ANTIKANKER EKSTRAK DAN FRAKSI DAUN
BIDARA LAUT (*Ziziphus mauritiana* L.) TERHADAP SEL KANKER
PAYUDARA (T47D) MELALUI METODE MTT**

SKRIPSI

Oleh:

MUHARROFATUL JANNAH

NIM. 13630120

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**

2018

**UJI AKTIVITAS ANTIKANKER EKSTRAK DAN FRAKSI DAUN
BIDARA LAUT (*Ziziphus mauritiana* L.) TERHADAP SEL KANKER
PAYUDARA (T47D) MELALUI METODE MTT**

SKRIPSI

Oleh:
MUHARROFATUL JANNAH
NIM. 13630120

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji
Tanggal: 26 Februari 2018

Pembimbing I

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

Pembimbing II

Romaiddi, M.Si.,D.Sc.
NIP. 19810201 200901 1 019



Mengetahui,
Ketua Jurusan Kimia

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

**UJI AKTIVITAS ANTIKANKER EKSTRAK DAN FRAKSI DAUN
BIDARA LAUT (*Ziziphus mauritiana* L.) TERHADAP SEL KANKER
PAYUDARA (T47D) MELALUI METODE MTT**

SKRIPSI

Oleh:
MUHARROFATUL JANNAH
NIM. 13630120

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: 26 Februari 2018

Penguji Utama : Akyunul Jannah, S.Si.,M.P.
NIP. 19750410 200501 2 009

(.....)

Ketua Penguji : Dewi Yuliani, M.Si.
NIDT. 19880711 20160801 2 067

(.....)

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

(.....)

Anggota Penguji : Romaidi, M.Si.,D.Sc.
NIP. 19810201 200901 1 019

(.....)



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 : Muharrofatul Jannah

NIM : 13630120

Jurusan : Kimia

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul Penelitian : Uji Aktivitas Anti Kanker Ekstrak Dan Fraksi Daun Bidara Laut (*Ziziphus mauritiana* L.) Terhadap Sel Kanker Payudara (T47D) Melalui Metode MTT

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, 23 April 2018

Yang membuat pernyataan,



Muharrofatul Jannah
NIM. 13630120

MOTTO

“ KESOPANAN LEBIH TINGGI NILAINYA DARI PADA KECERDASAN”

Dalam keadaan apapun dan dalam menghadapi siapapun tetaplah akhlaq yang diutamakan



KATA PENGANTAR

Alhamdulillahirobbil 'Alamin, segala puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT yang maha pengasih dan maha penyayang, dimana dengan limpahan rahmat , taufik dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dengan judul **"Uji Aktivitas Antikanker Ekstrak dan Fraksi Daun Bidara Laut (*Ziziphus mauritiana* L.) Terhadap Sel Kanker Payudara (T47D) Melalui Metode MTT"**. Selama proses penulisan skripsi penulis mendapat banyak bimbingan, nasihat, dan bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada

1. Allah SWT yang telah memberikan rahmat, nikmat serta karunia-Nya kepada kami sehingga skripsi ini terselesaikan dengan baik.
2. Orang tua tercinta yang telah banyak memberikan do'a, perhatian, nasihat, dan dukungan baik moral maupun materi sehingga penulisan skripsi ini dapat terselesaikan.
3. Ibu Elok Kamilah Hayati, M.Si selaku pembimbing dan Ketua Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Bapak Romaidi, M.Si selaku dosen pembimbing agama, Ibu Dewi Yuliani, M.Si selaku konsultan dan Ibu akyunul Jannah, S.Si.,M.P yang telah meluangkan waktu untuk membimbing dan memberi masukan dalam penulisan skripsi ini.
5. Seluruh dosen dan laboran jurusan kimia yang telah memberikan motivasi, pengalaman, pengetahuan dan masukan kepada penulis untuk menyelesaikan skripsi.
6. Seluruh anggota antikanker fifty, lilik, kiki, vira, dan ana yang tidak pernah lelah memberikan semangat dan motivasi.

7. Kepada semua pihak yang secara langsung maupun tidak langsung telah ikut memberikan bantuan dan motivasi selama pelaksanaan penelitian sampai dengan skripsi ini selesai disusun.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Kritik dan saran yang bersifat membangun sangat diharapkan oleh penulis demi kesempurnaan skripsi ini. Semoga skripsi ini memberikan manfaat bagi semua pihak Aamiin.

Malang, 27 Februari 2018

Penulis



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
ABSTRAK	xii
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan	4
1.4 Batasan Masalah	5
1.5 Manfaat	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Pemanfaatan Tanaman Obat dalam Perspektif Islam	6
2.2 Tanaman Bidara Laut	7
2.3 Manfaat Bidara Laut	8
2.4 Ekstraksi Senyawa Aktif Daun Bidara Laut	9
2.5 Uji Aktivitas Antikanker Secara <i>In-Vitro</i> dengan Metode MTT	10
2.6 Uji Fitokimia	11
2.6.1 Alkaloid	12
2.6.2 Steroid dan Triterpenoid	12
2.6.3 Tanin	13
2.6.4 Saponin	14
2.6.5 Flavonoid	14
2.7 Identifikasi Golongan Senyawa Metabolit Sekunder dengan Kromatografi Lapis Tipis	15
2.8 Kanker	16
BAB III METODOLOGI DAN HASIL	
3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian	18
3.2 Alat dan Bahan	18
3.2.1 Alat	18
3.2.2 Bahan	18
3.3 Tahapan Penelitian	19
3.4 Pelaksanaan Penelitian	19
3.4.1 Preparasi Sampel	19
3.4.2 Analisis Kadar Air	19
3.4.3 Ekstraksi Komponen Aktif Buah Bidara Arab Dengan Meserasi	20
3.4.4 Uji Fitokimia Dengan Reagen	21
3.4.4.1 Uji Flavonoid	21
3.4.4.2 Uji Tanin	21
3.4.4.3 Uji Alkaloid	21
3.4.4.4 Uji Steroid/Triterpenoid	22

3.4.4.5 Saponin	22
3.4.5 Uji Aktivitas Anti Kanker dengan Metode MTT	22
3.4.5.1 Penyiapan Sel	22
3.4.5.2 Perhitungan Sel Kanker	23
3.4.5.3 Peletakan Sel Pada Cawan Petri	23
3.4.5.4 Pembuatan Larutan Sampel dan pemberian Larutan Sampel pada Cawan Petri	24
3.4.5.5 Pemberian Larutan MTT	24
3.4.6 Pemisahan Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis Analitik ..	25
3.4.7 Analisis Data	26
BAB IV PEMBAHASAN	
4.1 Preparasi Sampel dan Analisis Kadar Air	28
4.2 Ekstraksi Senyawa Aktif Daun Bidara Laut dengan Meserasi	28
4.3 Uji Fitokimia	29
4.4 Uji Aktivitas Antikanker dengan Metode MTT	32
4.5 Pemisahan Senyawa Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis Analitik	34
4.5.1 Alkaloid	35
4.5.2 Saponin	37
4.5.3 Steroid	39
4.6 Analisis Hasil Penelitian dalam Perspektif Islam	41
BAB V PENUTUP	
5.1 Kesimpulan	44
5.2 Saran	44
DAFTAR PUSTAKA	45
LAMPIRAN	51

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Data Hasil Uji Fitokimia dengan Reagen	29
Tabel 4.2 Nilai IC50 Uji Aktivitas Antikanker Sampel.....	33
Tabel 4.3 Data Penampakan Noda Senyawa Alkaloid Fraksi n-heksana Daun Bidara Laut dengan Beberapa Variasi Eluen	36
Tabel 4.4 Dugaan Senyawa Alkaloid dengan Reagen Dragendrof.....	37
Tabel 4.5 Data Penampakan Noda Dengan Senyawa Saponin Fraksi N-Heksana Daun Bidara Laut Dengan Beberapa Variasi Eluen	38
Tabel 4.6 Dugaan Senyawa Saponin Fraksi N-heksana Kloroform : Aseton (4:1) dengan Reagen Liebermann-Burchard.....	39
Tabel 4.7 Data Penampakan Noda dengan Senyawa Steroid Fraksi N-heksana Daun Bidara Laut dengan Beberapa Variasi Eluen	40
Tabel 4.8 Dugaan Senyawa Steroid Fraksi N-heksana N-heksana : Etil Asetat (7:3) dengan Reagen Liebermann-Burchard.....	41

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Pohon Bidara	8
Gambar 2.2 Reaksi Reduksi MTT	11
Gambar 2.3 Struktur Senyawa Alkaloid	13
Gambar 2.4 struktur Dasar Steroid dan Struktur Dasar Triterpenoid	13
Gambar 2.5 Struktur Senyawa Tanin	14
Gambar 2.6 Struktur Saponin	15
Gambar 2.7 Struktur senyawa flavonoid	16
Gambar 4.1 Dugaan Reaksi antara Alkaloid dengan Reagen Dragendroff dan Mayer	30
Gambar 4.2 Dugaan Reaksi Senyawa Saponin	30
Gambar 4.3 Dugaan Reaksi Senyawa Tanin	31
Gambar 4.4 Morfologi Sel T-47D setelah Perlakuan	32
Gambar 4.5 Perubahan Warna Sampel dan Sel Kanker T47D	33
Gambar 4.6 Hasil KLTA Senyawa Alkaloid dengan Eluen Sikloheksana : Toluena : Dietilamin (75:15:10)	36
Gambar 4.7 Hasil KLTA Senyawa Saponin dengan Eluen Kloroform : Aseton (4:1)	38
Gambar 4.8 Hasil KLTA Senyawa Steroid dengan Eluen N-heksana : Etil Asetat (7:3)	40

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Diagram Alir.....	52
Lampiran 2. Skema Kerja	53
Lampiran 3. Pembuatan Larutan dan Reagen.....	59
Lampiran 4. Data dan Perhitungan Hasil Penelitian.....	63
Lampiran 5. Dokumentasi.....	68



Abstrak

Jannah, Muharrofatul. 2017. **Uji Aktivitas Antikanker Ekstrak Dan Fraksi Daun Bidara Laut (*Ziziphus mauritiana* L.) Terhadap Sel Kanker Payudara (T47D) Melalui Metode MTT.** *Skripsi*. Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Maliki Malang. Pembimbing I: Elok Kamilah Hayati, M.Si ; Pembimbing II: Romaidi, M. Si, Konsultan : Dewi Yuliani, M.Si.

Bidara laut (*Ziziphus mauritiana* L.) merupakan salah satu tanaman yang berpotensi sebagai antikanker. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui aktivitas antikanker ekstrak daun bidara laut. Ekstraksi yang digunakan adalah maserasi menggunakan pelarut etanol 80% dan dipartisi dengan kloroform dan n-heksana. Ekstrak yang didapat diuji fitokimia dan uji aktivitas antikanker terhadap sel kanker payudara T47D secara *in vitro* dengan metode MTT ((3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5 Diphenyltetrazolium Bromida),. Hasil uji aktivitas antikanker terbaik dianalisis menggunakan KLTA (kromatografi lapis tipis analitik). Berdasarkan hasil uji fitokimia, ekstrak daun bidara mengandung golongan senyawa alkaloid, saponin, tanin, dan steroid. Hasil uji aktivitas antikanker menunjukkan nilai IC_{50} ekstrak etanol, fraksi kloroform, dan fraksi n-heksana berturut-turut sebesar 581,39, 507, dan 384 $\mu\text{g/mL}$. Fraksi n-heksana dilakukan pemisahan senyawa menggunakan KLTA. Eluen terbaik untuk memisahkan senyawa alkaloid, saponin, dan steroid masing-masing adalah sikloheksana : toluene : dietilamin (75:15:10), kloroform : aseton (4:1), dan n-heksana : etil asetat (7:3).

Kata Kunci: bidara laut, sel T47D, MTT, antikanker

ABSTRACT

Janna, Muharrofatul. 2017. **Test Anticancer Activity Of Extract And Leaf Bidara Fraction (*Ziziphus mauritiana* L.) On Breast Cancer Cell (T47D) Through MTT Method.** Thesis. Department of Chemistry Faculty of science and technology in the Islamic State University of Maulana Maliki Malang. Supervisor I: Elok Kamilah Hayati, M.Si; Supervisor II: Romaidi, M. Si, Consultant: Dewi Yuliani, M.Si.

Bidara leaf (*Ziziphus mauritiana*) is one of plant that potentially as anticancer. The aim of the research was to know the anticancer activity of bidara leaves extract. Extraction of bidara leaves used ethanol solvent 80% and partitioned with chloroform and n-hexane. The extract was analyzed with phytochemical screening and anticancer activity on breast cancer cells T47D by MTT method ((3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5 Diphenyltetrazolium Bromide). The highest of anticancer activity was identified by thin layer chromatography (TLC). Based on the phytochemical test, the ekstrak of bidara leaves contained alkaloid, saponins, tannins, and steroids. The result of anticancer activity showed IC₅₀ values of ethanol extract, chloroform fraction, and n-hexane fraction was 581.39, 507, and 384 µg/mL, respectively. N-hexane fraction as the best ekstrak was separate by TLC. Eluen of alkaloid, saponins, and steroids compounds were cyclohexene: toluene: dietilamin (75:15:10), chloroform: acetone (4:1), n-hexane: ethyl acetate (7:3).

Keywords: zizipus, T47D cells, MTT , anticancer

ملخص البحث

الجنة, محرفة ٢٠١٧ اختبارنساط مضاد السرطان من مقتطفات وتفصيل اوراق السدر (*Ziziphus mauritiana* L.) للخلايا السرطانية عدلا لثدي (T47D) بطريقة MTT البحث العلمي. قسم الكيمياء لكلية العلوم والتكنولوجيا جامعة مولانا مالك ابراهيم الاسلاسية الحكومية مالانغ. المشركة ايلوك كاملة حياتي, الماجستير, المشرق رميدي, الماجستير, المستشارة دوي يولياني, الماجستير.

السدر (*Ziziphus mauritiana* L.) هي الشجرة التي بعض المجتمع لم يعرفها خاصة تمتلكها ومحتوى كميائها. فكان هذا البحث العلمي لمعرفة تشاؤها المقتطفية في اوراق السدر للخلايا السرطانية T47D، ولمعرفة المركبات النشطة تدور في منع نمو الخلايا السرطانية. والمقتطفات تستخدم هي نقاعة باستخدام مذيئات لايتانول ٨٠%، والتقسيم كلوروفوم و n-هكسان. والمقتطفات من نتائج التسمية تختبر بالنباتية ونشاط مكاحفة السرطان للخلايا السرطانية على الشدي T47D بطريقة *in-vitro* بطريقة MTT. ونتائج عملية مكاحفة السرطان تحلل بطريقة KLTA لمعرفة احسن النتائج في تفصيل المركبات النشطة. فعلى نتيجة اختبار المقتطفات النباتية في السدر فيها مركبات القلوية، سابونين، تانين، وستيرويد. ونتيجة اختبار مكاحفة السرطان تشير بالقيمة IC_{50} معتطفات لايتانول، تفصيل كلوروفوم، وتفصيل n-هكسان مرتبة على قدر $89,581 \mu g/mL$ ، $507 \mu g/mL$ ، و $384 \mu g/mL$. فخير السواطف يستخدم في تفصيل القلوية وهوب السيكلو هكسان: التولوين: ثنائي ايتيلامين (١٠:١٥:٧٥)، وسابونين استخدام كلوروفوم: اسيتون (١:٤)، وستيرويد باستخدام مع n-هكسان: خلاص ايتيل (٣:٧).

الكلمات الرئيسية: السدر، KLTA، MTT، T47D

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kanker adalah penyakit yang disebabkan oleh sel-sel di dalam tubuh yang berubah dan berkembang tidak terkendali (*American Cancer Society*, 2015). Pertumbuhan sel yang abnormal ini dapat menyusup dan menekan jaringan tubuh normal sehingga dapat mempengaruhi fungsi tubuh (Diananda, 2015). Ada banyak jenis kanker diantaranya kanker payudara, kanker leher rahim, kanker paru dan lain sebagainya (Meiyanto, 2003).

Salah satu jenis kanker yang paling banyak menyebabkan kematian adalah kanker payudara. Kanker payudara terjadi karena sistem pertumbuhan sel di dalam jaringan payudara terganggu. Kanker payudara merupakan jenis kanker umum yang terjadi pada wanita (Rahmawati, dkk., 2013). Subeki & Muhartono, (2015) menyatakan bahwa dari 245 pasien kanker payudara di Indonesia terdiri dari 62% berusia 40-59 tahun, 19% dibawah usia 40 tahun, dan 19% berusia dari 60 tahun. Salah satu penanganan pasien kanker dapat dilakukan dengan kemoterapi.

Kemoterapi merupakan pengobatan medis yang banyak dilakukan penderita kanker. Pengobatan secara medis ini memiliki banyak efek samping seperti mual, muntah, lemas, dan diare (Maharani, 2009). Efek samping yang ditimbulkan oleh obat-obat modern menyebabkan masyarakat cenderung memilih pengobatan tradisional untuk penyakit kanker. Selain itu, pengobatan tradisional mudah didapat dan harganya murah (Kurnijasanti, dkk., 2008).

Penyembuhan seseorang dari sakit adalah mutlak kekuasaan Allah SWT, bukan kekuasaan manusia. Allah SWT menciptakan penyakit bersamaan dengan obatnya sesuai dengan sabda Rasulullah dalam hadits riwayat Muslim.

عَنْ جَابِرِ رَضِيَ اللَّهُ عَنْهُ عَنْ رَسُولِ اللَّهِ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ أَنَّهُ قَالَ (لِكُلِّ دَاءٍ دَوَاءٌ فَإِذَا أُصِيبَ دَوَاءُ الدَّاءِ بَرَأَ بِإِذْنِ اللَّهِ عَزَّ وَجَلَّ)

Artinya: “Dari sahabat Jabir Radhiyallahu anhu, dari Rasulullah Shallallahu ‘alaihi wasallam, beliau bersabda, “Setiap penyakit ada obatnya, apabila telah ditemukan dengan tepat obat suatu penyakit, niscaya akan sembuh dengan izin Allah Azzawa Jalla” [HR Muslim]

Hadist yang diriwayatkan oleh Jabir RA tersebut menjelaskan bahwa Allah SWT Maha Adil. Berbagai macam penyakit yang telah Allah SWT berikan, Allah SWT selalu menyediakan dan memberikan penawar (obat) bagi mereka yang berfikir dengan keimanannya (Fattah, 2010). Kata berfikir tidak pernah lepas dari ilmu pengetahuan. Melalui ilmu pengetahuan, manusia akan menemukan obat dari bahan alam. Salah satu bahan alam yang digunakan untuk pengobatan kanker adalah bidara laut (*Ziziphus mauritiana*).

Bidara laut adalah pohon yang tumbuh di daerah tropis dan sub-tropis. Berbagai bagian tanaman ini telah digunakan sebagai obat tradisional pada berbagai penyakit (Marwat, dkk., 2009). Semua bagian tanaman bidara banyak digunakan dalam pengobatan tradisional seperti daun, buah, biji, akar, dan batang. Tanaman ini berpotensi sebagai antidiabetes, antiinflamasi, antiplasmodial, antimikroba, hemolitik, obat penenang, anxiolytic, diuretik, analgesik, antioksidan, dan antikanker (Akhtar, dkk., 2016). Gupta, dkk., (2012) menyatakan bahwa daun bidara laut memiliki senyawa aktif yang berperan sebagai

pengobatan. Senyawa tersebut antara lain alkaloid, fenol, flavonoid, kuercetin, rutin, dan terpenoid.

Senyawa aktif dalam tanaman bidara laut dipisahkan menggunakan metode ekstraksi maserasi. Ekstrak pekat yang diperoleh dipartisi dengan pelarut kloroform dan n-heksana. Penelitian Farmani dkk., (2016) menyatakan bahwa ekstrak etanol daun bidara terhadap sel kanker payudara MCF-7 didapat nilai IC_{50} sebesar 0,02 mg/mL. Penelitian lain dilakukan Mishra, dkk (2011) menyatakan bahwa ekstrak etanol bidara laut terhadap sel kanker HL-60 (leukimia) memiliki nilai IC_{50} sebesar 20 mg/mL. Penelitian Istiqomah, dkk., (2015) menyatakan bahwa hasil partisi ekstrak etanol dengan kloroform dan n-heksana pada rumput bambu dapat menghambat pertumbuhan sel kanker. Nilai IC_{50} ekstrak etanol 80%, fraksi kloroform dan fraksi n-heksana berturut-turut 321,4, 177,8, dan 300,7 μ g/mL. Oleh karena itu, penelitian ini menggunakan pelarut etanol 80%, kloroform, dan n-heksana.

Pengujian aktivitas antikanker secara *in vitro* terhadap sel kanker payudara T47D menggunakan metode MTT ((3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5 Diphenyltetrazolium Bromide). Metode MTT merupakan metode kolorimetrik, dimana terjadinya reduksi garam kuning MTT oleh sistem reduktase. Penelitian Ashraf, dkk., (2015) menggunakan metode MTT terhadap sel kanker U937 (leukemia) dan sel kanker HCT-116 (sel kanker kolon) pada daun bidara laut menunjukkan adanya aktivitas antikanker. Nilai IC_{50} yang dihasilkan berturut-turut sebesar 27,78 dan 18,32 μ g/mL.

Identifikasi senyawa bioaktif dapat dilakukan dengan uji fitokimia. Uji fitokimia dilakukan dengan uji reagen pada masing-masing ekstrak untuk

mengetahui kandungan golongan senyawa aktif pada ekstrak daun bidara laut dan mengetahui senyawa aktif yang berpotensi sebagai antikanker (Harbone, 1996). Ekstrak yang memiliki bioaktivitas paling optimal akan dipisahkan dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT).

1.2. Rumusan Masalah :

Rumusan masalah pengujian ini antara lain:

1. Bagaimana potensi ekstrak etanol 80%, fraksi kloroform, dan fraksi n-heksana daun bidara laut terhadap *cell line* kanker payudara T47D?
2. Golongan senyawa aktif apakah yang terkandung dalam ekstrak bidara laut yang berpotensi sebagai antikanker ?
3. Eluen apa yang terbaik untuk memisahkan senyawa dari ekstrak daun bidara laut yang memiliki aktivitas antikanker tertinggi menggunakan KLT?

1.3 Tujuan

Berdasarkan sebagaimana rumusan masalah diatas, dapat diketahui bahwa tujuan pengujian ini antara lain:

1. Mengetahui potensi anti kanker ekstrak etanol 80%, fraksi kloroform, dan fraksi n-heksana daun bidara laut terhadap *cell line* kanker payudara T47D.
2. Mengetahui golongan senyawa aktif apakah yang terkandung dalam ekstrak daun bidara laut yang berpotensi sebagai antikanker dari hasil uji fitokimia.
3. Mengetahui eluen terbaik untuk memisahkan senyawa dari ekstrak daun bidara laut yang memiliki aktivitas antikanker tertinggi menggunakan KLTA.

1.4 Batasan Masalah

Berdasarkan tujuan yang dicantumkan diatas dapat diketahui bahwa batasan masalah untuk pengujian ini anatara lain:

1. Sampel yang digunakan adalah daun bidara laut (*Ziziphus mauritiana L.*) yang berasal dari Jember.
2. Sel kanker yang digunakan adalah sel kanker payudara T47D.
3. Metode *in vitro* yang digunakan adalah metode MTT.
4. Pemisahan golongan senyawa dengan Kromatografi Lapis Tipis.

1.5 Manfaat

Manfaat dari penelitian ini adalah dapat memberikan informasi mengenai potensi ekstrak daun bidara laut terhadap *cell line* kanker payudara T47D sehingga dapat memberikan kontribusi pada pengembangan daun bidara laut sebagai antikanker dari bahan alam.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pemanfaatan Tanaman Obat dalam Perspektif Islam

Al-Quran telah menyebutkan tentang manfaat dari macam-macam tanaman di bumi sebagaimana firman Allah SWT dalam Surat Taha (20):53 berikut ini:

الَّذِي جَعَلَ لَكُمُ الْأَرْضَ مَهْدًا وَوَسَّلَ لَكُم فِيهَا سُبُلًا وَأَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَلَا خَرْجَ عَلَيْهِمْ أَنْزَوْنَاهُمْ زَوَاجًا وَمِنْ ثَمَرَاتِ شَيْءٍ

Artinya : “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).”

Lafadz مَنْ ثَمَرَاتِ شَيْءٍ mempunyai arti tumbuh-tumbuhan yang beraneka ragam. Lafadz ثَمَرَاتِ menjadi kata sifat dari lafadz أَنْزَوْنَاهُمْ maksudnya yang berbeda-beda warna, rasa, dan ciri khasnya (Mahalli dan Suyuti, 2009). Tumbuhan yang diciptakan Allah SWT beraneka ragam, baik dari warna, bentuk, rasa, dan kemanfaatannya.

Lafadz مَنْ ثَمَرَاتِ شَيْءٍ mempunyai maksud Allah SWT menurunkan air hujan untuk menumbuhkan berbagai jenis tumbuhan, seperti palawija, buah-buahan, rerumputan baik yang asam maupun yang manis. Tumbuhan tersebut memiliki berbagai manfaat, warna aroma, dan bentuk (Mustafa, 1992). Sebagian tumbuhan itu cocok untuk manusia, dan sebagian lain cocok untuk hewan. Akan tetapi ada yang cocok untuk manusia dan hewan, salah satu contohnya adalah bidara laut

(*Ziziphus mauritiana*) yang biasanya sebagai bahan pokok makanan hewan tetapi juga dapat dimanfaatkan sebagai obat herbal oleh manusia. Hal inilah menunjukkan bahwa Allah SWT melimpahkan nikmat-nikmat-Nya kepada para makhluk-Nya. Bidara juga dijelaskan dalam QS. Saba' :16.

فَاَعْرِضْهُمْ اَوْ اَرْسَلْنَا عَلَيْهِمْ سَيْلَ الْعَرِمِ وَبَدَّلْنَاهُمْ بِجَنَّتَيْهِمْ جَنَّتَيْنِ ذَوَاتَىٰ اُكْلٍ حَمْطٍ وَاَثَلِ
وَشَىٰ مِّنْ سِدْرٍ قَلِيلٍ

Artinya “tetapi mereka berpaling, maka kami kirim kepada mereka banjir yang besar dan kami ganti kedua kebun mereka dengan dua kebun yang ditumbuhi (pohon-pohon) yang berbuah pahit, pohon cemara dan sedikit pohon sidr (Qs. Saba' :16)”

Pohon sidr adalah kata lain dari pohon bidara. Ayat diatas menjelaskan tentang negeri Saba'. Di dalam tafsir shofwatut tafassir dikatakan pohon bidara adalah pohon yang lebih bermanfaat dibandingkan pohon yang lainnya seperti pohon cemara dan pohon yang pahit buahnya (Asshobuni, 2000).

Akhir-akhir ini pemanfaatan bahan alam sebagai obat tradisional di Indonesia meningkat. Bahkan, beberapa bahan alam telah diproduksi secara pabrikasi dalam skala besar. Obat tradisional dinilai memiliki efek samping yang lebih kecil dibandingkan dengan obat-obat modern. Selain itu, harganya lebih terjangkau dan mudah didapat (Putri, 2010).

2.2 Tanaman Bidara Laut (*Ziziphus mauritiana*)

Bidara laut merupakan salah satu semak atau pohon berduri dengan tinggi hingga 15 m, diameter batang ± 40 cm. Kulit batang berwarna abu-abu gelap atau hitam, pecah-pecah tidak beraturan. Daun memiliki panjang 4-6 cm dan lebar 2,5-4,5 cm. Tangkai daun memiliki bulu dan pada pinggir daun terdapat gigi yang

sangat halus. Bidara laut juga mempunyai buah berbiji satu, bulat seperti bulat telur, ukuran kira-kira 6x4 cm, dan berwarna kekuningan sampai kemerahan atau kehitaman (Goyal, dkk., 2012).



(a) (b)
Gambar 2.1 (a) pohon bidara laut, (b) daun bidara laut (*Ziziphus mauritiana*)

Klasifikasi bidara laut adalah sebagai berikut (Backer dan Brink, 1965):

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Rosales
Famili	: Rhamnaceae
Genus	: <i>Ziziphus</i>
Spesies	: <i>Ziziphus mauritiana</i> Lam

2.3 Manfaat Bidara Laut

Tanaman bidara laut banyak memiliki kegunaan. Semua bagian tanaman bidara banyak digunakan dalam pengobatan tradisional seperti akar, kulit batang, daun, buah, dan biji. Daun dari bidara laut digunakan untuk mengobati diare, penurun panas dan sebagai antiobesitas. Biji bidara laut berpotensi menghentikan mual, muntah, meredakan nyeri dalam kehamilan dan untuk penyembuhan luka. Akar bidara laut digunakan untuk mengobati demam, mengobati luka dan tukak.

Kulit batang digunakan untuk pengobatan diare dan bisul. Buah bidara laut juga dapat digunakan untuk mengatasi masalah sembelit (Sharma dan Gaur, 2013; Goyal, dkk., 2012).

Penelitian Farmani, dkk., (2016) menunjukkan aktivitas antikanker ekstrak etanol daun bidara terhadap sel kanker payudara MCF-7 dengan nilai IC_{50} sebesar 0,02 $\mu\text{g/mL}$. Penelitian lain dilakukan Mishra, dkk., (2003) menyatakan bahwa nilai IC_{50} ekstrak bidara laut dengan metode MTT terhadap sel kanker HL-60 sebesar 20 $\mu\text{g/mL}$. Hasil penelitian Ashraf, dkk., (2015) menyatakan bahwa ekstrak daun bidara terhadap sel kanker U937 (leukemia) dan sel kanker HCT-116 (sel kanker kolon) didapat nilai IC_{50} berturut-turut sebesar 27,78 dan 18,32 $\mu\text{g/mL}$.

2.4 Ekstraksi Senyawa Aktif Daun Bidara Laut (*Ziziphus mauritiana*)

Ekstraksi adalah memisahkan suatu komponen dari campurannya menggunakan pelarut tertentu (Soebagio, 2003). Maserasi merupakan pemisahan yang paling sederhana dengan cara perendaman sampel dalam pelarut organik. Penekanan utama dalam pemisahan ini adalah tersedianya waktu kontak yang cukup antara pelarut dan jaringan yang diekstraksi. Terjadinya pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara didalam dan diluar sel sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut. Larutan yang konsentrasinya tinggi akan terdesak keluar dan diganti oleh cairan penyari dengan konsentrasi rendah (proses difusi). Peristiwa tersebut berulang sampai terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar dan di dalam sel (Voight, 1995).

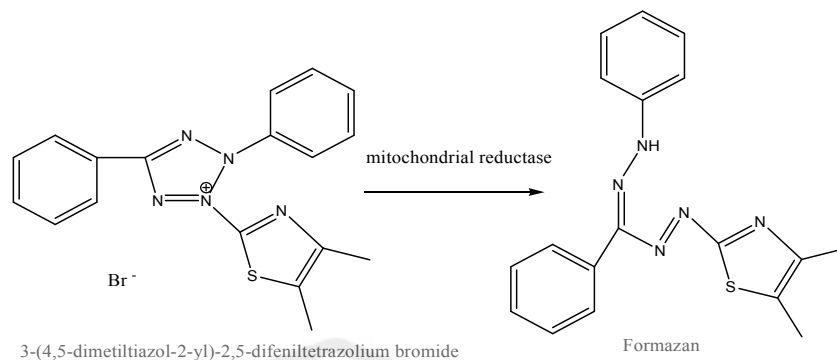
Kelebihan dari metode maserasi adalah proses yang sederhana, relatif murah, dan tidak memerlukan peralatan yang rumit. Terjadi kontak antara sampel

dan pelarut yang cukup lama dan dapat menghindari kerusakan komponen senyawa yang tidak tahan panas. Kekurangan dari metode ini adalah membutuhkan waktu yang lama (Voight, 1995).

Pelarut yang umum digunakan untuk mendapatkan ekstrak senyawa aktif dalam bidara adalah etanol, kloroform, dan n-heksana. Pelarut-pelarut tersebut memiliki titik didih yang cukup rendah, mudah diuapkan, bersifat inert, dapat melarutkan senyawaan yang sesuai dengan cukup cepat, dan memiliki harga yang terjangkau (Guenther, 2006). Kelarutan terhadap air dari pelarut-pelarut tersebut semakin tinggi dengan semakin tingginya tingkat kepolarannya (Adijuwana, 1989; Sudarmadji, dkk., 2007).

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

Metode MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolium bromida) merupakan salah satu metode yang digunakan dalam uji sitotoksik. Metode MTT memiliki kelebihan yaitu relatif cepat, sensitif, dan akurat, digunakan untuk mengukur sampel dalam jumlah besar dan hasilnya dapat untuk memprediksikan sifat sitotoksik suatu bahan (Doyle and Griffiths, 2000). Prinsip uji MTT adalah mengukur aktivitas selular berdasarkan kemampuan enzim mitokondria reduktase pada mitokondria dalam mereduksi garam MTT membentuk kristal formazan (Mosman, 1983). Kristal formazon ini memberi warna ungu yang dapat dibaca absorbansinya dengan menggunakan *Enzyme-linked Immunosorbent Assay* (ELISA) *reader* (Pamilih, 2009). Semakin besar absorbansi menunjukkan semakin banyak jumlah sel yang hidup (Meiyanto, dkk., 1999).



Gambar 2.2 Reaksi reduksi MTT (Mosman, 1983)

Uji sitotoksik ini digunakan untuk menentukan nilai IC_{50} (*Inhibitory Concentration*). Nilai IC_{50} menunjukkan nilai konsentrasi yang menghasilkan hambatan proliferasi sel 50% dan menunjukkan potensi ketoksikan suatu senyawa terhadap sel. Semakin besar nilai IC_{50} maka senyawa tersebut semakin tidak toksik (Meiyanto, dkk., 1999; Padmi, 2008). Menurut Lisdawati (2002), suatu ekstrak dianggap toksik terhadap sel kanker jika memiliki nilai IC_{50} kurang dari 1000 ppm. Tussanti (2014) menyatakan sitotoksisitas dapat dikelompokkan menjadi 3 yaitu sitotoksik potensial jika $IC_{50} < 100 \mu\text{g/mL}$, sitotoksik moderat jika $IC_{50} < 1000 \mu\text{g/mL}$, dan tidak toksik jika $IC_{50} > 1000 \mu\text{g/mL}$. Sitotoksisitas potensial dapat digunakan sebagai antikanker sedangkan sitotoksisitas moderat dapat mencegah dan menghambat pertumbuhan sel kanker.

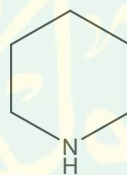
2.6 Uji Fitokimia

Uji fitokimia merupakan pengujian kandungan senyawa-senyawa kimia di dalam tumbuhan. Tumbuhan umumnya mengandung senyawa aktif dalam bentuk metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, steroid, tanin, saponin, triterpenoid, dan lain-lain. Senyawa metabolit sekunder merupakan senyawa

kimia yang umumnya mempunyai kemampuan bioktivitas dan berfungsi sebagai pelindung tumbuhan tersebut dari gangguan hama penyakit untuk tumbuhan itu sendiri atau lingkungannya (Lenny, 2006).

2.6.1 Alkaloid

Alkaloid adalah suatu golongan senyawa organik yang terbanyak ditemukan di alam. Hampir seluruh senyawa alkaloid berasal dari tumbuh-tumbuhan dan tersebar luas dalam berbagai jenis tumbuhan. Semua alkaloid mengandung nitrogen yang banyak terdapat dalam cincin heterosiklik, namun ada yang terdapat dalam struktur alifatiknya yang bersifat basa (Lenny, 2006). Penggolongan alkaloid dilakukan berdasarkan sistem cincinnya, misalnya piridina, piperidina, indol, isokuinolina, dan tropana (Robinson, 1995).

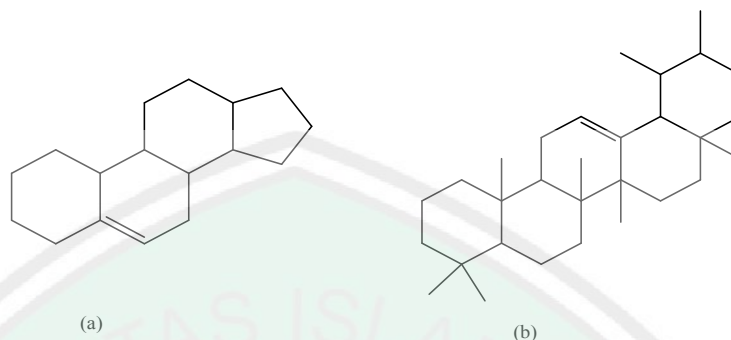


Gambar 2.3 Struktur senyawa alkaloid (Robinson, 1995)

2.6.2 Steroid dan Triterpenoid

Steroid dan triterpenoid adalah senyawa yang mempunyai struktur siklik yang kompleks seperti, alkohol dan aldehida atau asam karboksilat. Senyawa tersebut tidak memiliki warna dan berbentuk kristal yang mempunyai titik didih lebih tinggi, umumnya sulit untuk dikarakterisasi karena secara kimia tidak reaktif. Hasil positif uji triterpenoid dengan Liebermann-Burchard jika

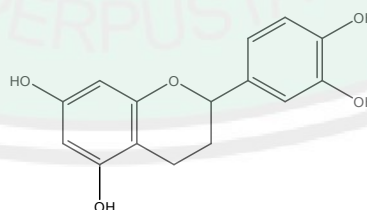
memberikan warna merah, jingga, kuning, ungu, cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan dua pelarut. Adanya steroid ditandai dengan terbentuknya warna hijau, hijau kebiruan atau biru (Lestari, 2012).



Gambar 2.4 (a) Struktur dasar steroid dan (b) Struktur dasar triterpenoid (Robinson, 1995)

2.6.3 Tanin

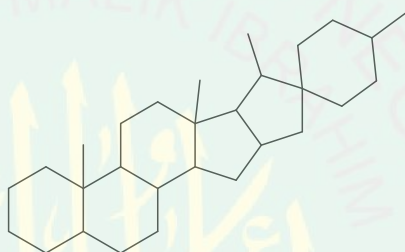
Tanin merupakan golongan senyawa aktif tumbuhan yang termasuk golongan flavonoid dan mempunyai rasa sepat. Tanin yang direaksikan dengan FeCl_3 1% akan menghasilkan perubahan warna menjadi hijau kebiruan (Hayati, 2010). Terjadinya pembentukan warna hijau ini karena terbentuknya senyawa kompleks antara logam besi (Fe) dan tanin. Senyawa kompleks terbentuk karena adanya ikatan kovalen koordinasi antara ion atau logam dengan atom nonlogam (Effendy, 2007).



Gambar 2.5 Struktur senyawa tanin (Harborne, 1996)

2.6.4 Saponin

Saponin termasuk senyawa glikosida kompleks dengan berat molekul tinggi yang dihasilkan terutama oleh tanaman. Struktur glikosida saponin rumit, banyak saponin yang mempunyai satuan gula sampai lima dan komponen yang umum ialah asam glukuronat (Harborne, 1996). Saponin memiliki karakteristik berupa buih. Ketika direaksikan dengan air dan dikocok maka akan terbentuk buih yang dapat bertahan lama. Saponin mudah larut dalam air dan tidak larut dalam eter (Aswin, 2008).

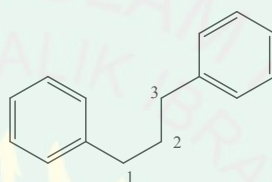


Gambar 2.6 Struktur saponin (Harborne, 1996)

2.6.5 Flavonoid

Flavonoid adalah kelompok senyawa fenol terbesar yang ditemukan di alam terutama pada jaringan tumbuhan tinggi. Senyawa ini merupakan produk metabolit sekunder yang terjadi dari sel dan terakumulasi dari tubuh tumbuhan sebagai racun (Robinson, 1995). Senyawa flavonoid mempunyai kerangka dasar karbon dalam inti dasarnya yang tersusun dalam konfigurasi $C_6 - C_3 - C_6$. Susunan tersebut dapat menghasilkan tiga struktur yaitu: 1,3-diarilpropana (flavonoid), 1,2-diarilpropana (isoflavonoid), 2,2-diarilpropana (neoflavonoid).

Menurut Darmawan (2004), uji fitokimia flavonoid dapat dilakukan dengan metode wilstater yakni dengan melarutkan sejumlah ekstrak dengan metanol panas, ditambahkan HCl pekat dan serbuk magnesium. Adanya flavonoid ditandai dengan terbentuknya warna jingga (flavon), merah tua, oranye, merah, kuning, hijau sampai biru (glikosida). Reduksi dengan Mg dan HCl pekat ini menghasilkan senyawa kompleks yang berwarna merah atau jingga pada flavonol, flavanol, flavanonol, dan santon (Robinson, 1995).



Gambar 2.7 Struktur senyawa flavonoid (Robinson,1995)

2.7 Identifikasi Golongan Senyawa Metabolit Sekunder dengan KLT

Penggunaan KLT adalah untuk menentukan banyaknya komponen dalam campuran, identifikasi senyawa, memantau berjalannya suatu reaksi, dan menentukan efektifitas pemurnian. Secara kualitatif KLT dapat digunakan untuk uji identifikasi senyawa baku (Ganjar, 2007). KLT merupakan salah satu kromatografi yang berdasarkan proses adsorpsi. KLT melibatkan dua fase yaitu fase gerak dan fase diam. Fase diam dapat berupa serbuk halus yang berfungsi sebagai permukaan penjerap, sedangkan fase gerak dapat berupa eluen atau gas pembawa yang bersifat inert.

Identifikasi dari senyawa-senyawa yang terpisah dari lapisan tipis menggunakan harga R_f . Harga R_f didefinisikan pada Persamaan 2.1

(Sastrohamidjojo, 2007). Harga Rf cukup spesifik untuk senyawa tertentu pada eluen tertentu. Hal tersebut dapat digunakan untuk mengidentifikasi adanya perbedaan senyawa dalam sampel. Senyawa yang mempunyai Rf lebih besar berarti mempunyai kepolaran yang rendah, begitu juga sebaliknya. Hal tersebut dikarenakan fasa diam bersifat polar. Senyawa yang lebih polar akan tertahan kuat pada fasa diam, sehingga menghasilkan nilai Rf yang rendah. Jika Rf terlalu tinggi, yang harus dilakukan adalah mengurangi kepolaran eluen, dan sebaliknya (Gandjar, 2007).

$$\text{Harga Rf} = \frac{\text{jarak yang digerakkan senyawa dari titik asal}}{\text{jarak yang digerakkan oleh pelarut dari titik asal}} \dots\dots\dots(2.1)$$

2.8 Sel Kanker Payudara

Kanker merupakan suatu keadaan dimana sel abnormal melakukan pembelahan diri secara tidak terkontrol (Maharani, 2009). Salah satu jenis kanker yang sering terjadi saat ini adalah kanker payudara. Kanker payudara adalah suatu penyakit yang kompleks dan heterogen. Kanker payudara bermula pada sel epitel sehingga dikelompokkan sebagai karsinoma (keganasan tumor epitelial).

Sel kanker payudara 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). Penelitian ini menggunakan Sel kanker payudara T47D karena memiliki kemampuan replikasi

yang tidak terbatas, homogenitas yang tinggi dan mudah diganti dengan *frozen stock* jika terjadi kontaminasi (Burdall, dkk, 2003).



BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April–Juni 2017 di Laboratorium BIOTEK, Kimia Organik dan Kimia Analitik Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang dan laboratorium Protho, Parasitologi Jurusan Kedokteran Umum, Universitas Gajah Mada.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah ayakan 60 mesh, neraca analitik, oven, *shaker incubator*, penyaring buchner, corong pisah, *rotary evaporator*, *vacuum*, *vortex*, seperangkat alat, dan plat silika gel F₂₄. Kultur sel digunakan plat 96-well, *conical tube*, *yellow tip*, *blue tip*, cawan petri, hemocytometer. Instrumen yang digunakan adalah ELISA *reader*, dan lampu UV.

3.2.2 Bahan

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun bidara laut (*Ziziphus mauritiana*). Bahan-bahan kimia yang digunakan yaitu : etanol 80%, aquades, logam Mg, HCl pekat, HCl 2N, FeCl₃ 10%, PBS (*Phosphate Buffered Saline*), tripsin-EDTA, DMSO (*dimethyl sulfoxide*), media kultur RPMI (*Roswell Park Memorial Institute*), formaldehid, MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolium bromida) 5 mg/mL, SDS (*Sodium Dodecyl Sulfate*) 10%, aluminium foil, kloroform, dan n-heksana.

3.3 Tahapan Penelitian

Tahapan dalam pelaksanaan penelitian ini adalah sebagai berikut:

- 1) Preparasi sampel
- 2) Analisis kadar air
- 3) Ekstraksi meserasi dan fraksinasi daun bidara laut
- 4) Uji aktivitas antikanker dengan metode MTT
- 5) Uji fitokimia golongan senyawa aktif dengan menggunakan reagen.
- 6) Pemisahan dengan Kromatografi Lapis Tipis Analitik (KLTA)
- 7) Analisis data

3.4 Pelaksanaan Penelitian

3.4.1 Preparasi Sampel

Sampel tanaman bidara laut diambil bagian daun $\pm 1,5$ kg, dibersihkan dari kotoran dengan air. Kemudian, daun bidara laut dikeringanginkan pada suhu kamar sampai benar-benar kering. Kemudian, digiling menjadi serbuk dan diayak dengan menggunakan ayakan 60 mesh.

3.4.2 Analisis Kadar Air (Bawinto, dkk., 2015)

Sampel serbuk dianalisis kandungan kadar airnya. Sampel dipanaskan cawan pada suhu 105°C selama ± 15 menit untuk menghilangkan kadar airnya, lalu didinginkan di dalam desikator selama 10 menit. Cawan ditimbang dan diulangi perlakuan sampai diperoleh berat konstan. Sampel ditimbang sebanyak 5 gram dan dipanaskan dalam oven pada suhu 105°C selama 1 jam. Setelah itu, didinginkan dalam desikator selama ± 15 menit dan ditimbang kembali. Perlakuan

ini diulangi sampai tercapai berat konstan. Kadar air dihitung menggunakan Persamaan 3.1.

$$\text{kadar air} = \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100\% \dots\dots\dots (3.1)$$

Keterangan : a = berat kering cawan
b = berat kering cawan + sampel awal
c = berat kering cawan + sampel setelah dikeringkan

3.4.3 Ekstraksi Senyawa Aktif Daun Bidara Laut dengan Maserasi (Komala, dkk., 2013)

Serbuk daun bidara laut ditimbang sebanyak 30 gram, dimasukkan kedalam 3 erlenmeyer 500 mL. Setelah itu, diekstraksi dengan perendaman menggunakan 150 mL pelarut etanol 80% selama 24 jam, dan *dishaker* selama 3 jam pada suhu ruang dengan kecepatan 150 rpm. Disaring dan ampas yang diperoleh dimaserasi kembali dengan pelarut yang sama dan dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan. Pengulangan kedua dan ketiga volume pelarut perendaman diturunkan menjadi 125 mL. Filtrat dari 3 erlenmeyer digabung menjadi satu dan dipekatkan dengan *rotary evaporator vaccum* dengan suhu 60°C. Ekstrak pekat ditimbang dan dihitung rendemennya dengan Persamaan 3.2.

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{Berat sampel}} \times 100\% \dots\dots\dots (3.2)$$

Ekstrak pekat etanol ditimbang sebanyak 3 gram, dipartisi dengan pelarut kloroform. Ditambahkan dalam 50 mL pelarut etanol dan kloroform (1:1) dalam corong pisah. Lalu, dikocok selama 15 menit dan didiamkan beberapa menit hingga terbentuk 2 lapisan. Perlakuan ini dilakukan sebanyak 2 kali. Hasil fraksi kloroform dikumpulkan menjadi satu, dipekatkan dengan *rotary evaporator vaccum*. Kemudian, ditimbang dan dihitung rendemennya dengan menggunakan

Persamaan 3.2. Perlakuan diatas diulang dengan prosedur yang sama dengan menggunakan pelarut n-heksana.

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

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

3.4.4.1 Uji Flavonoid

Sebanyak 0,5 mL ekstrak daun bidara laut 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. Adanya flavonoid ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah atau jingga pada larutan.

3.4.4.2 Uji Tanin

Sebanyak 0,5 mL ekstrak daun bidara laut dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan dengan 2-3 tetes larutan FeCl_3 1%. Hasil positif adanya senyawa tanin galat dengan terbentuknya warna biru kehitaman pada larutan dan apabila warna hijau kehitaman menunjukkan adanya senyawa tanin katekol.

3.4.4.3 Uji Alkaloid

Sebanyak 0,5 mL ekstrak daun bidara laut dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambah 0,5 mL HCl 2% dan larutan dibagi dalam tiga tabung. Tabung I pembanding, tabung II ditambahkan 2–3 tetes reagen Dragendroff, tabung III ditambahkan 2-3 tetes reagen Mayer. Hasil positif alkaloid menggunakan reagen Dragendorf dengan terbentuk endapan berwarna merah bata, merah, jingga dan

apabila menggunakan reagen Meyer dengan terbentuk endapan putih atau kekuning-kuningan.

3.4.4.4 Uji Steroid/Triterpenoid

Sebanyak 0,5 mL ekstrak daun bidara laut dimasukkan dalam tabung reaksi. Kemudian dilarutkan dalam 0,5 mL kloroform dan ditambah dengan 0,5 mL asam asetat anhidrat. Campuran ini selanjutnya ditambah dengan 1-2 mL H₂SO₄ pekat melalui dinding tabung tersebut. Adanya senyawa terpenoid ditunjukkan dengan terbentuknya cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan dua pelarut dan adanya senyawa steroid dengan terbentuk warna hijau kebiruan.

3.5.5.5 Uji Saponin

Sebanyak 0,5 mL ekstrak daun bidara laut dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambah air 1 mL dan sambil dikocok selama 1 menit. Apabila menimbulkan busa maka ditambahkan HCl 1 N. Busa yang terbentuk dapat bertahan selama 10 menit maka ekstrak positif mengandung saponin.

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

3.4.5.1 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 kedalam *conical tube* yang telah berisi 10 mL media RPMI, kemudian disentrifugasi untuk memisahkan sel kanker (pelet) dengan media RPMI. Pelet yang terbentuk dimasukkan dalam cawan petri yang telah berisi 10 mL media RPMI dan diinkubasi selama 3–4 jam pada suhu 37°C/5% CO₂. Kemudian, diamati dibawah

mikroskop untuk melihat apakah sel melekat di dasar cawan petri dan bila jumlah sel di dalam cawan petri mencapai 70–85% konfluen, dilakukan panen sel.

Tahapan panen sel yaitu media kultur dibuang dan dicuci sel dengan PBS sebanyak 2 kali. Trispsin-EDTA ditambahkan secara merata dan diinkubasi selama 3 menit. Langkah selanjutnya, media RPMI 5 mL ditambahkan untuk menginaktifkan tripsin dan dilakukan resuspensi, diamati cawan petri dibawah mikroskop *inverted*.

3.4.5.2 Penghitungan Sel Kanker

Panen sel diambil 10 μ L dan dipipetkan ke *hemacytometer*. Diamati dan dihitung dibawah mikroskop *inverted* dengan *counter*. Jumlah sel kanker dapat diketahui dengan Persamaan 3.3.

$$\Sigma \text{sel yang dihitung} = \frac{\Sigma \text{ sel kamar A} + \Sigma \text{ sel kamar B} + \Sigma \text{ sel kamar C} + \Sigma \text{ sel kamar D}}{4} \times 10^4 \dots\dots (3.3)$$

3.4.5.3 Peletakan Sel pada Cawan Petri

Peletakan sel pada cawan petri harus diketahui berapa jumlah mL panen sel yang akan diletakkan pada setiap sumuran, dengan menggunakan Persamaan 3.4. Sel diletakkan dan media RPMI ditambahkan sesuai perhitungan ke dalam cawan petri 96 *well*. Kemudian diinkubasi kembali selama 24 jam pada suhu 37°C/5% CO₂, akan tetapi 6 sumuran bagian bawah disisakan untuk kontrol sel dan kontrol media.

$$\Sigma \text{panen sel yang ditransfer} = \frac{\Sigma \text{ total sel yang diperlukan}}{\Sigma \text{ sel terhitung /mL}} \dots\dots\dots (3.4)$$

3.4.5.4 Pembuatan Larutan Sampel dan Pemberian Larutan Sampel pada Cawan Petri

Sampel ekstrak pekat yaitu ekstrak pekat etanol, fraksi kloroform dan n-heksana masing-masing ditimbang sebanyak 10 mg dalam wadah yang berbeda. dilarutkan ekstrak pekat dalam 100 μL DMSO dan diaduk dengan vortex. Langkah selanjutnya sel diambil dari inkubator dan media sel dibuang. Dimasukkan PBS 100 μL 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. Penambahan larutan sampel diulang sebanyak 3 kali (triplo) dan diinkubasi kembali selama 24 jam.

3.4.5.5 Pemberian Larutan MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difenil tetrazolium bromida) (CCRC, 2009)

Media sel dibuang dan dicuci dengan PBS, ditambahkan larutan MTT sebanyak 100 μL ke setiap sumuran. Inkubasi kembali cawan petri selama 3–4 jam didalam inkubator pada suhu $37^{\circ}\text{C}/5\% \text{ CO}_2$ (sampai terbentuk kristal formazan atau perubahan warna menjadi biru). Apabila kristal formazan telah terbentuk, diamati kondisi sel dengan mikroskop *inverted*. Selanjutnya, SDS 10% sebagai *stopper* ditambahkan dalam 0,1 N HCl. Cawan petri dibungkus dengan aluminium foil dan diinkubasi kembali di tempat gelap pada suhu ruangan semalam.

Langkah selanjutnya yaitu pembacaan nilai absorbansi dengan ELISA *reader* untuk mengetahui nilai IC_{50} setiap ekstrak. Absorbansi masing-masing sumuran dibaca dengan panjang gelombang 595 nm. Dihitung prosentase sel

hidup dengan Persamaan 3.5. Data dari prosentase sel hidup kemudian dianalisis untuk mengetahui nilai IC_{50} dengan excel (probit/logit).

$$\text{Prosentase sel hidup} = \frac{(a-b)}{(c-b)} \times 100 \% \dots\dots\dots (3.5)$$

Keterangan :

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

b = absorbansi kontrol media (media kultur)

c = absorbansi control negatif (sel + media kultur)

3.4.6 Pemisahan Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis Analitik (KLTA)

Golongan senyawa yang dipisahkan dengan KLTA adalah senyawa yang menandakan hasil positif pada uji fitokimiadan ekstrak yang memiliki aktivitas antikanker tertinggi pada uji MTT menggunakan reagen. Proses identifikasi ini merujuk pada literatur Harbone (1996). Ekstrak dan fraksi daun bidara laut sebanyak 100 mg diencerkan dalam 1 mL etanol. Campuran eluen dimasukkan dalam bejana sebanyak 5 mL. Kemudian, bejana pengemban ditutup selama 1 jam untuk menjenuhkan uap eluennya.

Pemisahan dengan KLTA dilakukan menggunakan plat silika gel F₂₅₄ berukuran 1x10 cm² yang sudah diaktifkan dengan pemanasan dalam oven pada suhu 70°C selama 20 menit. Ekstrak dan fraksi daun bidara laut yang telah diencerkan dengan etanol ditotolkan sebanyak 5-10 totolan pada jarak ± 1 cm dari tepi bawah plat dengan pipa kapiler. Kemudian, dikeringkan dan dielusi dengan fase gerak golongan senyawanya. Spot yang terbentuk pada permukaan plat disinari dengan sinar UV pada panjang gelombang 366 nm, kemudian disemprot dengan reagen penampak noda. Diamati masing-masing hasil nodanya dibawah sinar UV pada panjang gelombang 254-366 nm kemudian dihitung nilai R_f-nya.

Adapun fase gerak dan reagen uji masing-masing golongan senyawa adalah sebagai berikut:

1. Golongan senyawa Alkaloid

No	Fase gerak	Perbandingan	Referensi
1	etil asetat:metanol	1:9	Pamungkas dan Murruckmihadi, 2015
2	Sikloheksana : toluena : dietilamin	75 : 15 : 10	Fadhilah, 2016
3	Kloroform:metanol	1:4	Widi dan Indriati, 2007
4	Kloroform:metanol	19:1	Ayuni dan Sukarta, 2013
5	etil asetat : etanol	9:1	Astutiningsih, dkk., 2012

2. Golongan senyawa Saponin

No	Fase gerak	Perbandingan	Referensi
1	Kloroform : aseton	4:1	Marliana, dkk., 2005
2	Kloroform : metanol	19 : 1	Windriyanti, dkk., 2005
3	Kloroform : metanol : air	13 : 7 : 2	Harborne, 1996
4	Kloroform : metanol : air	2 : 6 : 1	Kristianingsih, 2005
5	Kloroform : metanol : air	64 : 50 : 10	Wonohadi, dkk., 2006

3. Golongan senyawa Steroid/Triterpenoid

No	Fase gerak	Perbandingan	Referensi
1	n-heksana : etil asetat	2 : 8	Hayati, 2012
2	Kloroform : etil asetat	1 : 1	Santi, 2009
3	Kloroform: metanol	9 : 1	Yusuf, dkk., 2016
4	n-heksana : etil asetat	9 : 1	Mukharromah, dkk., 2014
5	n-heksana : etil asetat	7 : 3	Sriwahyuni, 2010

3.4.7 Analisis Data

Potensi ekstrak dalam menghambat atau membunuh sel kanker payudara T47D dapat diketahui dengan melakukan uji IC_{50} untuk masing-masing konsentrasi, 1000, 500, 250, 125, 62,5, dan 31,25 $\mu\text{g/mL}$. Penggunaan data absorbansi yang diperoleh dari pengukuran, dapat ditentukan prosentase sel yang hidup dengan menggunakan rumus seperti Persamaan 3.5. Data yang diperoleh

dibuat dalam bentuk tabel dan data yang *terinput* merupakan data hubungan antara konsentrasi dengan prosentase sel hidup dan nilai maksimum sebesar 100. Selanjutnya, dilakukan analisis menggunakan excel yang akan memunculkan nilai IC_{50} tiap ekstrak dan grafik.



BAB IV

PEMBAHASAN

4.1 Prepasari Sampel dan Analisis Kadar Air

Preparasi sampel meliputi tiga tahapan diantaranya pencucian, pengeringan, dan penghalusan. Pencucian sampel menggunakan air untuk menghilangkan kotoran yang menempel pada daun bidara. Pengeringan sampel bertujuan untuk menghilangkan kadar air agar terhindar dari perkembangbiakan mikroba. Hasil analisis kadar air sampel kering diperoleh kadar air yang cukup baik yaitu sebesar 4,8113%. Menurut Febriani (2015) standar kadar air simplisia yang berlaku adalah tidak lebih dari 10%. Penghalusan sampel dilakukan untuk menyeragamkan ukuran sampel yaitu 60 mesh sehingga didapatkan serbuk daun bidara. Semakin kecil ukuran sampel, maka semakin besar kontak yang dilakukan dengan pelarutnya.

4.2 Ekstraksi Senyawa Aktif Daun Bidara Laut dengan Maserasi

Metode ekstraksi senyawa aktif daun bidara laut menggunakan maserasi. Pelarut yang digunakan adalah etanol 80%. Digunakan etanol karena diduga senyawa aktif dalam sel banyak terikat dengan senyawa glikosida yang bersifat polar. Penelitian ini didapat rendemen daun bidara laut sebanyak 10,6% dan ekstrak pekat berwarna hijau kecoklatan. Ekstrak pekat yang diperoleh akan dipartisi (ekstraksi cair-cair) menggunakan pelarut kloroform dan n-heksana. Penggunaan pelarut ini bertujuan agar senyawa yang berbeda sifat kepolarannya dapat terekstrak kedalam pelarut yang sesuai. Kloroform untuk menarik senyawa yang bersifat semipolar, sedangkan n-heksana untuk senyawa yang bersifat

nonpolar. Proses partisi dilakukan berulang-ulang hingga diperoleh filtrat bening. Hasil rendemen pada fraksi n-heksana sebesar 20,328%, dan fraksi kloroform sebesar 17,162% (lampiran 4.1).

4.3 Uji Fitokimia

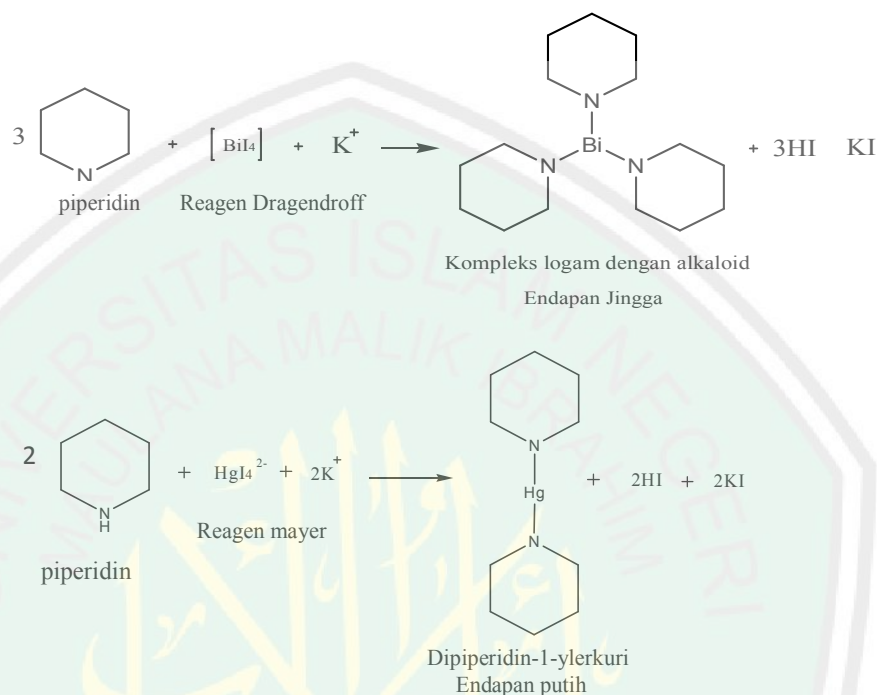
Uji fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa aktif dalam sampel. Uji fitokimia dilakukan terhadap golongan senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, steroid, dan triterpenoid. Hasil pengujian golongan senyawa aktif dari ekstrak etanol, fraksi kloroform, dan fraksi n-heksana ditunjukkan pada Tabel 4.1. Penelitian ini menunjukkan hasil negatif pada senyawa flavonoid. Hal ini dimungkinkan karena tempat dan pengambilan sampel dapat mempengaruhi senyawa yang terkandung.

Tabel 4.1 Data hasil uji fitokimia dengan reagen

Senyawa aktif	Ekstrak Etanol	Fraksi Kloroform	Fraksi n-heksana
Alkaloid			
- Mayer	+	++	++
- Dragendraf	+	++	++
Flavonoid	-	-	-
Saponin	+	++	+
Tanin	++	++	-
Terpenoid	+	++	-
Steroid	+	++	+++
Keterangan :			
+++	: kandungan senyawa lebih banyak (warna sangat pekat)		
++	: mengandung senyawa (warna cukup pekat)		
+	: mengandung senyawa (berwarna)		
-	: Tidak terkandung senyawa		

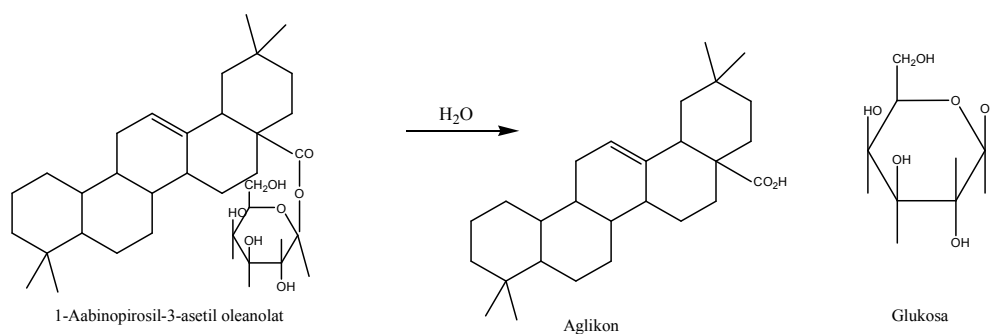
Hasil positif dari uji alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan berwarna jingga setelah diberi pereaksi Dagendroff, sedangkan pada uji Mayer didapatkan endapan putih. Alkaloid mengandung atom nitrogen yang mempunyai pasangan elektron bebas sehingga dapat digunakan untuk membentuk ikatan kovalen koordinat dengan ion logam. Nitrogen pada alkaloid akan bereaksi

dengan ion logam Bi dari tetraiodobismut (pereaksi Dragendroff) yang ditandai dengan adanya endapan jingga. Dugaan reaksi yang terjadi pada uji alkaloid menggunakan reagen Dragendroff dan reagen Mayer ditunjukkan pada Gambar 4.1.



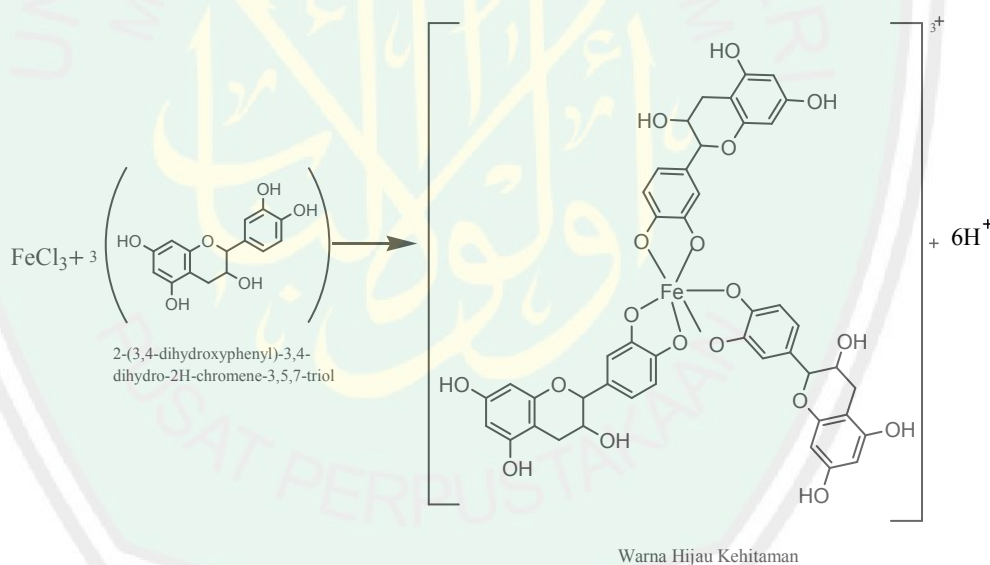
Gambar 4.1 Dugaan reaksi antara alkaloid dengan reagen Dragendroff dan Mayer (Sumaryanto, 2009)

Hasil positif saponin yaitu dengan terbentuk 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 4.2.



Gambar 4.2 Dugaan reaksi senyawa saponin (Marliana, dkk., 2005).

Hasil positif tanin pada ekstrak etanol dan fraksi kloroform yaitu dengan terbentuknya warna hijau kehitaman dan fraksi n-heksana menunjukkan hasil negatif. Uji tanin ditunjukkan dengan perubahan warna setelah penambahan $FeCl_3$ yang dapat bereaksi dengan salah satu gugus hidroksil pada senyawa tanin dalam sampel, sehingga menghasilkan senyawa kompleks. Adapun dugaan reaksi yang terjadi dapat dilihat pada Gambar 4.3.



Gambar 4.3 Dugaan reaksi senyawa tanin (Perronn dan Brumaghim 2009)

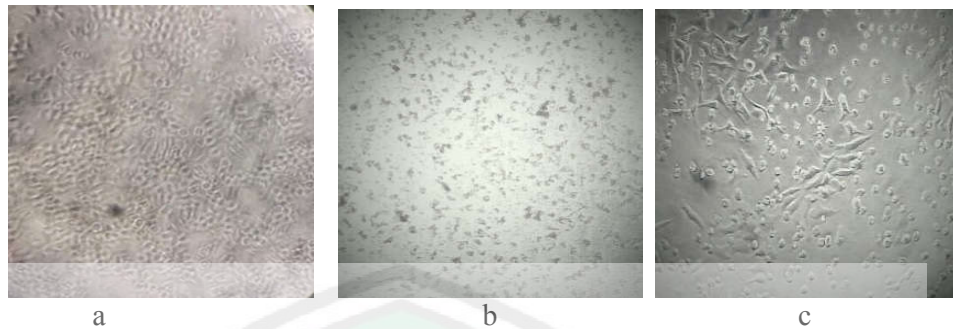
Uji triterpenoid/steroid yaitu terbentuknya cincin kecoklatan pada perbatasan dua pelarut merupakan hasil positif dengan penambahan reagen

Liebermann-Burchard. Robinson (1995) menyatakan triterpenoid memberikan reaksi terbentuknya cincin kecoklatan sedangkan steroid akan menghasilkan warna hijau kebiruan. Pengujian ini didasarkan pada kemampuan senyawa tersebut membentuk warna dengan H_2SO_4 pekat dalam pelarut asam asetat anhidrat Ciulei (1984). Pada penelitian ini, ekstrak etanol dan fraksi kloroform menunjukkan adanya senyawa terpenoid yang ditandai dengan terbentuknya cincin kecoklatan. Ekstrak etanol, fraksi kloroform, dan n-heksana menunjukkan adanya senyawa steroid ditandai dengan perubahan warna hijau kebiruan.

4.4 Uji Aktivitas Antikanker dengan Metode MTT

Pengujian aktivitas antikanker dilakukan untuk mengetahui kemampuan ekstrak etanol, fraksi kloroform, dan fraksi n-heksana daun bidara laut dalam menghambat pertumbuhan sel kanker payudara. Uji aktifitas antikanker dilakukan secara *in vitro* terhadap sel kanker payudara T47D dengan metode MTT. Penelitian ini menggunakan 6 variasi konsentrasi yaitu, 1000, 500, 250, 125, 62,5, dan 31,25 $\mu g/mL$.

Jumlah sel kanker hidup dalam suspensi yang digunakan dalam kultur adalah 56×10^4 /mL. Morfologi sel kanker payudara T47D setelah perlakuan dengan sampel ditunjukkan pada Gambar 4.4. Jumlah sel mati pada konsentrasi 1000 $\mu g/mL$ lebih banyak apabila dibandingkan pada konsentrasi 31,25 $\mu g/mL$. Morfologi sel hidup berbentuk lonjong seperti jarum yang saling berimpit dengan sel lainnya sehingga terlihat lebih bersinar dan menempel pada dasar wadah kultur. Sel yang mati berbentuk bulat, berwarna gelap, tersebar dan mengapung.



Gambar 4.4 Morfologi sel T-47D setelah perlakuan (a) Sel control (b) Sel + fraksi n-heksana 1000 µg/mL (c) Sel + fraksi n-heksana 31,25µg/mL

Kemampuan senyawa antikanker dalam menghambat pertumbuhan sel kanker payudara T47D dapat dilihat secara kasat mata setelah pemberian larutan MTT. Sel hidup ditandai dengan terjadinya perubahan warna ungu. Hal ini karena sel hidup dapat mengabsorpsi garam tetrazolium dan dipecah menjadi kristal formazan oleh sistem suksinat tetrazolium reduktase. Sel yang mati ditandai dengan tidak terjadinya perubahan warna (tetap berwarna kuning). Perubahan warna dapat dilihat pada Gambar 4.5.



Gambar 4.5 Perubahan warna sampel dan sel kanker T47D

Hasil pengujian didapat nilai absorbansi untuk masing-masing konsentrasi. Semakin besar nilai absorbansi maka jumlah sel hidup semakin

banyak. Nilai tersebut digunakan untuk menghitung persen hidup dari masing-masing sampel untuk mengetahui nilai IC_{50} . Hasil IC_{50} masing-masing sampel terhadap sel kanker payudara T-47D ditunjukkan pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Nilai IC_{50} uji aktivitas antikanker sampel

No	Sampel	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
1	Ekstrak etanol	581,1
2	Fraksi kloroform	507,0
3	Fraksi n-heksana	384,0

Berdasarkan Tabel 4.2, nilai IC_{50} pada ekstrak etanol, fraksi kloroform, dan fraksi n-heksana memiliki $IC_{50} < 1000$ yang menunjukkan bahwa ketiganya sitotoksik moderat. Sitotoksik moderat dapat dimanfaatkan dalam mencegah dan menghambat pertumbuhan sel kanker. Fraksi n-heksana memiliki nilai IC_{50} yang paling kecil dibandingkan ekstrak etanol dan fraksi kloroform. Hal ini menunjukkan bahwa fraksi n-heksana lebih baik dalam menghambat sel kanker payudara T47D.

Fraksi n-heksana mengandung senyawa alkaloid, saponin dan steroid yang diduga memiliki potensi sebagai antikanker. Ashraf, dkk., (2015) menyatakan bahwa ekstrak n-heksana daun bidara laut memiliki senyawa aktif alkaloid. Nilai IC_{50} yang didapat sebesar 48,91 $\mu\text{g/mL}$ terhadap sel kanker leukemia U937 dan 55,09 $\mu\text{g/mL}$ terhadap sel kanker kolon HCT-16. Penelitian Rahmawati, dkk., (2013) menyatakan bahwa saponin dan steroid berpotensi sebagai antikanker dengan nilai IC_{50} sebesar 97,493 $\mu\text{g/mL}$.

4.5 Pemisahan Senyawa Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis Analitik (KLTA)

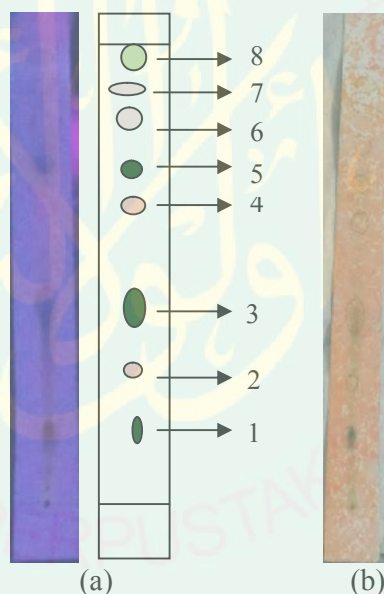
Fraksi n-heksana dilakukan pemisahan senyawa menggunakan KLTA. Fraksi n-heksana positif mengandung senyawa alkaloid, saponin, dan steroid pada uji fitokimia dan diidentifikasi menggunakan Kromatografi Lapis Tipis Analitik (KLTA). Pemisahan senyawa alkaloid, saponin, dan steroid dilakukan dengan menggunakan variasi eluen. Variasi tersebut digunakan untuk mewakili kepolaran setiap senyawa yang dipisahkan yaitu polar, semipolar, dan non polar. Pemisahan dengan menggunakan KLTA dihasilkan nilai R_f (*retardation factor*) yang menunjukkan kecepatan elusi dari suatu senyawa dalam spot atau noda. Nilai R_f berbeda-beda terkait dengan sifat eluen yang digunakan dan senyawa yang dipisahkan.

4.5.1 Alkaloid

Pemisahan golongan senyawa alkaloid pada fraksi n-heksana menggunakan variasi eluen dapat dilihat pada Tabel 4.3. Reagen yang digunakan untuk memastikan adanya senyawa alkaloid pada fraksi n-heksana adalah reagen dragendrof. Pemisahan terbaik golongan senyawa alkaloid yaitu menggunakan eluen sikloheksana : toluena : dietilamin (75:15:10). Campuran eluen tersebut bersifat non polar. Pemisahan menggunakan eluen tersebut lebih baik karena menunjukkan pemisahan noda yang banyak dengan sedikit noda yang berekor. Pemisahan alkaloid pada fraksi n-heksana menghasilkan 8 noda.

Tabel 4.3 Data penampakan noda senyawa alkaloid fraksi n-heksana daun bidara laut dengan beberapa variasi eluen

No	Eluen	Jumlah noda	Rf	Resolusi
1	etil asetat : metanol (1:9)	1	0,42	-
2	Sikloheksana : toluena : dietilamin (75:15:10)	8	0,14 0,26 0,39 0,62 0,71 0,80 0,89 0,95	Noda 1 ke 2 = 1,42 Noda 2 ke 3 = 1,06 Noda 3 ke 4 = 1,31 Noda 4 ke 5 = 0,59 Noda 5 ke 6 = 0,59 Noda 6 ke 7 = 0,40 Noda 7 ke 8 = 0,18
3	Kloroform : metanol (1:4)	1	0,67	-
4	Kloroform : metanol (19:1)	6	0,47 0,52 0,60 0,80 54,4 0,87	Noda 1 ke 2 = 0,18 Noda 2 ke 3 = 0,30 Noda 3 ke 4 = 1,41 Noda 4 ke 5 = 0,57 Noda 5 ke 6 = 0
5	etil asetat : ethanol (9:1)	2	0,07 0,70	Noda 1 ke 2 = 3,77



Gambar 4.6 Hasil KLTA senyawa alkaloid dengan eluen sikloheksana : toluena : dietilamin (75:15:10) (a) Hasil pengamatan dibawah sinar UV pada λ_{366} sebelum disemprot dengan reagen Dragendrof (b) Hasil pengamatan setelah disemprot dengan reagen Dragendrof.

Berdasarkan Tabel 4.4 dan Gambar 4.6 menunjukkan bahwa pada fraksi n-heksana terdapat senyawa alkaloid. Hasil positif alkaloid ditandai dengan

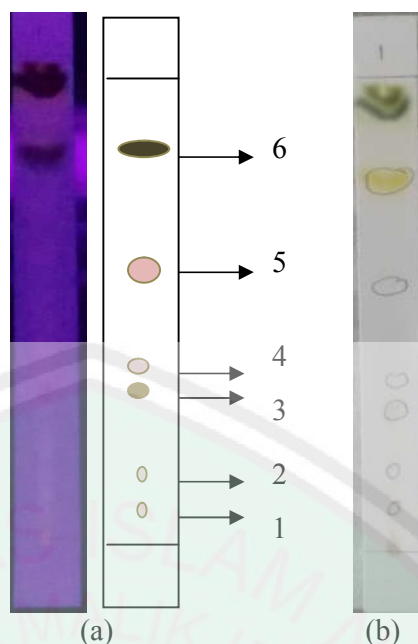
timbulnya noda pada Rf 0,95 berwarna kuning muda dan Rf 0,62 berwarna jingga pada pengamatan dengan sinar tampak. Hal tersebut didukung dengan penelitian yang dilakukan oleh Hasibuan (2007) yaitu hasil uji kualitatif serbuk daun bandotan menunjukkan adanya senyawa alkaloid pada nilai Rf 0,62 dengan warna merah oranye. Penelitian Mariana (2005) menunjukkan adanya senyawa alkaloid pada Rf 0,9 dengan warna kuning muda.

Tabel 4.4 Dugaan senyawa alkaloid dengan reagen Dragendrof

Rf	UV λ_{366}	Visible	Dugaan positif alkaloid
	Sebelum disemprot reagen dragendrof	Sesudah disemprot reagen dragendrof	
0,14	Hijau	Hijau	-
0,26	Merah muda	Merah muda	-
0,39	Hijau	Hijau	-
0,62	Merah muda	Orange	Alkaloid
0,71	Hijau	Hijau	-
0,80	Merah muda	Merah muda	-
0,89	Merah muda	Merah muda	-
0,95	Hijau	Kuning	Alkaloid

4.6.2 Saponin

Pemisahan senyawa saponin pada fraksi n-heksana dengan variasi eluen ditunjukkan pada Tabel 4.5. Reagen yang digunakan untuk memastikan adanya senyawa saponin pada fraksi n-heksana adalah Liebermann-Burchard. Pemisahan terbaik golongan senyawa saponin yaitu menggunakan eluen kloroform : aseton (4:1). Campuran eluen kloroform : aseton (4:1) bersifat non polar. Pemisahan saponin pada fraksi n-heksana menghasilkan 6 noda pada Gambar 4.7.



Gambar 4.7 Hasil KLTA senyawa saponin dengan eluen kloroform : aseton (4:1)
(a) Hasil pengamatan dibawah sinar UV pada λ_{366} sebelum di semprot dengan LB (b) Hasil pengamatan setelah disemprot dengan reagen LB.

Tabel 4.5 Data penampakan noda dengan senyawa saponin fraksi n-heksana daun bidara laut dengan beberapa variasi eluen

No	Eluen	Jumlah noda	Rf	Resolusi
1	Kloroform : aseton (4:1)	6	0,09	
			0,17	Noda 1 ke 2 = 0,94
			0,29	Noda 2 ke 3 = 1,59
			0,35	Noda 3 ke 4 = 0,47
			0,55	Noda 4 ke 5 = 1,65
			0,77	Noda 5 ke 6 = 1,26
2	Kloroform : methanol (19:1)	3	0,24	Noda 1 ke 2 = 2,47
			0,59	Noda 2 ke 3 = 2,36
			0,89	
3	Kloroform : metanol : air (13:7:2)	-	-	-
4	Kloroform : metanol : air (2:6:1)	1	0,49	-
5	Kloroform : metanol : air (64:50:10)	2	0,35	-
			0,56	

Pengamatan pada Tabel 4.6 dan Gambar 4.7 menunjukkan bahwa pada fraksi n-heksana terdapat noda yang menyatakan adanya senyawa saponin. Hasil

positif tanin ditunjukkan dengan timbulnya noda pada Rf 0,77 berwarna kuning pada pengamatan dengan sinar tampak. Hal tersebut didukung dengan penelitian yang dilakukan oleh Marlina (2005) yaitu adanya senyawa saponin ditunjukkan pada nilai Rf 0,79 dengan warna kuning.

Tabel 4.6 Dugaan senyawa saponin fraksi n-heksana Kloroform : aseton (4:1) dengan reagen Liebermann-Burchard

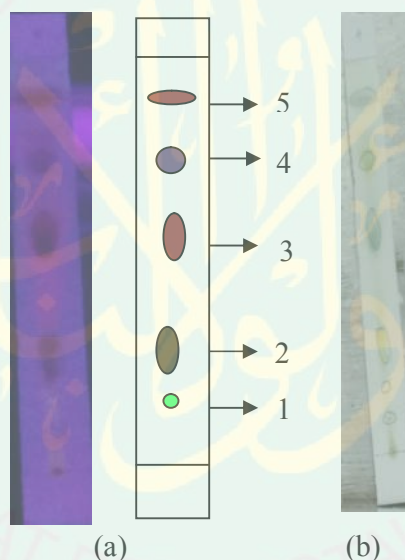
Rf	UV λ_{366}	Visible	Dugaan positif steroid
	Sebelum disemprot reagen LB	Sesudah disemprot reagen LB	
0,09	Merah muda	Merah muda	-
0,17	Merah muda	Merah muda	-
0,29	Coklat kehijauan	Hijau	-
0,35	Merah muda	Merah muda	-
0,55	Merah muda	Merah muda	-
0,77	Coklat kehijauan	Kuning	Saponin

4.6.3 Steroid

Pemisahan golongan senyawa steroid dengan menggunakan variasi eluen dapat dilihat pada Tabel 4.7. Reagen yang digunakan untuk memastikan adanya senyawa saponon pada fraksi n-heksana adalah Liebermann-Burchard. Pemisahan terbaik golongan senyawa steroid yaitu menggunakan eluen n-heksana : etil asetat (7:3). Pemisahan steroid pada fraksi n-heksana menghasilkan 5 noda. Campuran eluen n-heksana : etil asetat (7:3) bersifat non polar.

Tabel 4.7 Data penampakan noda dengan senyawa steroid fraksi n-heksana daun bidara laut dengan beberapa variasi eluen

No	Eluen	Jumlah noda	Rf	Resolusi
1	n-heksana : etil asetat (2:8)	2	0,16 0,22	Noda 1 ke 2 = 0,282
2	Kloroform : etil asetat (1:1)	1	0,21	-
3	Kloroform : metanol (9:1)	1	0,64	-
4	n-heksana : etil asetat (9:1)	4	0,14 0,20 0,40 0,57	Noda 1 ke 2 = 0,20 Noda 2 ke 3 = 1,65 Noda 3 ke 4 = 1,01
5	n-heksana : etil asetat (7:3)	5	0,16 0,22 0,51 0,71 0,89	Noda 1 ke 2 = 0,42 Noda 2 ke 3 = 1,77 Noda 3 ke 4 = 1,06 Noda 4 ke 5 = 0,71



Gambar 4.8 Hasil KLTA senyawa steroid dengan eluen n-heksana : etil asetat (7:3)(a) Hasil pengamatan dibawah sinar UV pada λ_{366} sebelum di sempeot dengan LB (b) Hasil pengamatan setelah disemprot dengan reagen LB.

Pengamatan pada Tabel 4.8 dan Gambar 4.8 menunjukkan bahwa data fraksi n-heksana terdapat noda yang menyatakan adanya senyawa steroid. Hasil positif steroid ditunjukkan dengan timbulnya noda pada Rf 0,61 dan 0,90

berwarna hijau kebiruan pada pengamatan dengan sinar tampak. Hal tersebut didukung penelitian Yuda (2017) yaitu adanya senyawa steroid ditunjukkan pada nilai Rf 0,62 dan 0,96 dengan warna hijau kebiruan.

Tabel 4.8 Dugaan senyawa steroid fraksi n-heksana n-heksana : etil asetat (7:3)

Rf	UV λ_{366}	Visible	Dugaan positif steroid
	Sebelum disemprot reagen LB	Sesudah disemprot reagen LB	
0,16	Hijau	Merah muda	-
0,22	Ungu	Kuning	-
0,61	Coklat	Hiau kebiruan	Steroid
0,71	Ungu	Kuning	-
0,90	Coklat	Hijau kebiruan	Steroid

4.6 Analisis Hasil Penelitian dalam Perspektif Islam

Tanaman merupakan salah satu nikmat Allah kepada manusia dan salah satu tanda kebesaran dan keagungan Allah SWT. Tidak sedikit ayat al-Qur'an yang mengajak manusia untuk berfikir dan menyelidiki tumbuh-tumbuhan agar mendapat manfaat yang lebih banyak. Firman Allah SWT dalam surat An-Nahl ayat 11 :

يُنَبِّئُكُمْ بِهِ الْزَّرْعَ وَالزَّيْتُونَ وَالنَّخِيلَ وَالْأَعْنَبَ وَمِنْ كُلِّ الثَّمَرَاتِ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً لِّقَوْمٍ يَتَفَكَّرُونَ ۝ ۱۱

Artinya: “Dia menumbuhkan bagi kamu dengan air hujan itu tanam-tanaman; zaitun, kurma, anggur dan segala macam buah-buahan. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar ada tanda (kekuasaan Allah) bagi kaum yang memikirkan” (Q.S. An-Nahl: 11).

Makna dari ayat di atas yaitu tersirat tanda kekuasaan Allah SWT bagi

orang-orang yang mau memikirkan tentang segala apa yang Allah berikan kepada kita. Tumbuhan adalah salah satu jenis nikmat Allah SWT yang wajib kita manfaatkan demi kemaslahatan manusia sendiri. Pemanfaatan tumbuhan ini sangat beragam salah satunya yaitu dapat dimanfaatkan sebagai bahan obat-obatan herbal yang sekarang banyak digemari untuk diteliti dan dikaji lebih mendalam. Pemanfaatan tanaman sebagai obat-obatan herbal merupakan salah satu wujud bahwa kita mampu mengambil pelajaran dan memikirkan tentang kekuasaan Allah SWT. Sesuai firman Allah dalam surat Ash-Shu'ara' ayat 7 berikut:

أَوْ لَمْ يَرْوُا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ۝٧

Artinya: *“Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik”* (Q.S Ash-Shu'ara' 26: 7).

Ayat di atas mengisyaratkan bahwa berbagai macam tanaman yang tumbuh dengan adanya air hujan yang mengalir ke tanah yang gersang tersebut menyebabkan tanaman tersebut menjadi tanaman yang baik yaitu tanaman yang memiliki nilai manfaat yang sangat besar. Mulai dari akar, batang, daun, dan buahnya bisa dimanfaatkan secara maksimal (Shihab, 2002). Salah satu contoh tanaman yang baik adalah tumbuhan bidara. Pohon bidara laut dapat dimanfaatkan sebagai obat, mulai dari daun, buah, akar, dan kulitnya. Banyak penelitian yang menyebutkan pemanfaatan daun bidara laut sebagai antikanker. Hasil penelitian ini menyatakan bahwa daun bidara laut berpotensi sebagai antikanker. Ayat lain yang menyatakan manusia harus mengambil pelajaran dari apapun yang telah Allah berikan adalah:

وَهُوَ الَّذِي يُرْسِلُ الرِّيحَ بُشْرًا بَيْنَ يَدَيْ رَحْمَتِهِ حَتَّىٰ إِذَا أَفْلَحَ سَحَابًا ثَقَالًا سُفِّتْهُ لِبَدٍ مَّيِّتٍ فَأَنْزَلْنَا بِهِ
الْمَاءَ فَأَخْرَجْنَا بِهِ مِنْ كُلِّ الثَّمَرَاتِ كَذَٰلِكَ نُخْرِجُ الْمَوْتَىٰ لَعَلَّكُمْ تَذَكَّرُونَ ٥٧

Artinya: “Dan Dialah yang meniupkan angin sebagai pembawa berita gembira sebelum kedatangan rahmat-Nya (hujan); hingga apabila angin itu telah membawa awan mendung, Kami halau ke suatu daerah yang tandus, lalu Kami turunkan hujan di daerah itu, maka Kami keluarkan dengan sebab hujan itu pelbagai macam buah-buahan. Seperti itulah Kami membangkitkan orang-orang yang telah mati, mudah-mudahan kamu mengambil pelajaran” (Q.S Al-A’raf 7: 57).

Ayat diatas menjelaskan bahwa kita sebagai manusia ditekankan untuk selalu mengambil pelajaran dari apa yang telah diberikan kepada kita (hamba-Nya) contohnya adalah berbagai macam tumbuhan, buah-buahan dan sayuran karena sesungguhnya didalamnya terdapat banyak manfaat (Qadhwai, 2010). Pelajaran yang didapatkan dari penelitian ini adalah dapat mengetahui bahwa daun bidara mempunyai potensi sebagai antikanker terhadap kanker payudara T47D. Penyakit kanker merupakan suatu penyakit yang pertumbuhannya cepat dan tidak terkendali yang disebabkan oleh pertumbuhan sel-sel jaringan tubuh yang tidak normal dan akan menyebar ke jaringan sekitarnya serta menyerang organ-organ penting.

Hasil penelitian yang telah dilakukan, ekstrak daun bidara memiliki aktivitas sitotoksik dengan didapat nilai IC_{50} pada ekstrak etanol, fraksi kloroform, dan fraksi n-heksana daun bidara berturut-turut sebesar 581 $\mu\text{g/mL}$, 507 $\mu\text{g/mL}$, dan 384 $\mu\text{g/mL}$. Nilai $IC_{50} < 1000 \mu\text{g/mL}$ dapat menghambat pertumbuhan sel kanker (Tussanti, dkk, 2014). Sebagaimana telah kita ketahui bahwa Allah SWT telah menciptakan segala sesuatu dimuka bumi ini dengan

penuh hikmah. Oleh karena itu kita sebagai makhluk yang diberi akal tidaklah melupakan segala nikmat yang Allah SWT berikan kepada kita dengan cara memikirkan tentang keagungan dan kebesaran Allah SWT.



BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

1. Ekstrak Daun bidara laut memiliki potensi menghambat pertumbuhan sel kanker payudara (T47D) secara *in vitro* dengan nilai IC₅₀ ekstrak etanol, fraksi kloroform, dan fraksi n-heksana berturut-turut sebesar 581,4, 507, dan 384 µg/mL.
2. Senyawa aktif yang terdapat dalam daun bidara adalah alkaloid, saponin, tanin, dan steroid.
3. Eluen terbaik untuk memisahkan senyawa alkaloid yaitu dengan sikloheksana : toluena : dietilamin (75:15:10), saponin menggunakan kloroform : aseton (4:1), dan steroid dengan n-heksana : etilasetat (7:3).

5.2 Saran

Perlu dilakukan pengujian menggunakan pelarut yang berbeda atau sel kanker yang berbeda.

DAFTAR PUSTAKA

- American Cancer Society. (2015). *Global Cancer Facts and Figures 2nd Edition*. Atlanta: American Cancer Society.
- Akhtar, N., Ijaz, S., Khan, H.M.S., Uzair, B., & Khan, B.A. (2016). *Ziziphus mauritiana* Lam Leaf Extract Emulsion for Skin Rejuvenation. *Journal Pharmaceutical*, 15: 929–936.
- Ashraf, A., Sarfraz, R.A., Anwar, F., Shahid, S.A., & Alkharfy, K.M. (2015). Chemical Composition and Biological Activities of Leaves of *Ziziphus mauritiana* Lam. *Native to Pakistan*, 47(1): 367–376.
- Asshobuni, M. A. (2000). *Shofwatut Tafassir*. Mesir: Al-Ashdiqo'.
- Astutiningsih, C., Nuzulia, F., & Suprijono, A. (2012). Isolasi dan Identifikasi Senyawa Alkaloid Buah Mahkota Dewa Secara Spektrofotometri UV-Vis dan IR Serta Uji Toksisitas Akut Terhadap Larva *Artemia salina* Leach. *Jurnal Farmasi Sains dan Komunitas*, 9(2): 66–70.
- Aswin, L. 2008. Pengaruh Ekstrak Kulit Buah Rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) Terhadap Kadar Kolesterol Total Serum Pada Tikus Wistar. *Jurnal Penelitian Sains dan Teknologi*, 5(3).
- ATCC (American Type Culture Collection). (2008). *Cell Biology*. [http://www.atcc.org/ATCCAdvancedCatalogSearch/ProductDetails/tabid/452/ Cell Bioligy](http://www.atcc.org/ATCCAdvancedCatalogSearch/ProductDetails/tabid/452/Cell%20Biology). Diakses pada tanggal 05 Februari 2017.
- Ayuni, S. N. P., & Sukarta, I. N. (2013). Isolasi dan Identifikasi Senyawa Alkaloid pada Biji Mahoni. *Swietenia Mahagoni Journal*, 387–395.
- Bawinto, A. S., Mongi, E., & Kaseger, B. (2015). Analisa Kadar Air, pH, Organoleptik, dan Kapang pada Produk Ikan Tuna (*Thunnus* sP.) Asap, di Kelurahan Girian Bawah, Kota Bitung, Sulawesi Utara. *Seminar Nasional Fakultas MIPA Uiversitas Pendidikan Ganesha*, 3(2): 55–65.
- Burdall, S. E., Hanby, A. M., Lansdown, M. R. J., & Speirs, V. (2003). Breast Cancer Cell Line. *Breast Cancer Researchers*, 5(2): 89-95.
- CCRC (Community College Research Center). (2009). *Prosedur Tetap Uji Sitotoksik Metode MTT*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi, UGM.
- Ciulei, J. (1984). *Metodology for Analysis of Vegetables and Drugs*. Bucharest Rumania: Faculty of Pharmacy.
- Diananda, R. (2015). *Panduan Lengkap Mengenai Kanker*. Yogyakarta: Mirza Media Pustaka.

- Doyle, A., & Griffiths, J. B. (2000). *Cell and Tissue Culture for Medical Research*. New York: John Willey and Sons Ltd.
- Farmani, F., Moein, M., Amanzadeh, A., Kandelous, M., Ehsanpour, Z., & Salimi, M. (2016). Antiproliferative Evaluation and Apoptosis Induction in MCF-7 Cells by *Ziziphus spina christi* Leaf Extracts, *Asian Pacific Journal*, 17: 315-321.
- Fattah, A. B. (2010). *Shahih Thibbun Nabawi Panduan dan Metode Pengobatan Nabi SAW*. Jakarta: Erlangga.
- Febriani, D., Dina, M., & Endah, R. (2015). Karakterisasi Simplisia dan Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn). Prosiding Penelitian Sivitas Akademika Unisba, Kesehatandan Farmasi, MIPA Universitas Islam Bandung. ISSN, 475-480.
- Gandjar, I. G., & Rohman, A. (2007). *Kimia Farmasi Analisis Cetakan IV*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Goyal, M., Nagori, B., & Samsal, D. (2012). Review on Ethnomedicinal Uses, Pharmacological Activity and Phytochemical Constituents of *Ziziphus mauritiana* Lam. *Journal Biotechnologi*, 2(2): 107-116.
- Guenther, E. (1990). *The Essential Oil (minyak atsiri)*, Penerjemah Keteren. Jakarta: UI Press.
- Gritter, R. J., Bobbitt, J. M., & Schwarting, A. E. (1991). *Pengantar Kromatografi*. Penerjemah Kokasih Padma Winata. Bandung: ITB.
- Gupta, M. K., Bhandari, A. K., & Singh, R. K. (2012). Pharmacognostical Evaluations of the Leaves of *Ziziphus mauritiana* Lam. *Journal Pharmaceutical Sciences*, 3(3): 818-821.
- Harbone, J. B. (1996). *Metode Fitokimia Penentuan Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Terjemahan Kokasih Padmawinata dan Iwang Soediro. Bandung: ITB.
- Hasibuan., Anjelisa, P. Z., & Nainggolan, M. (2007). Penentuan Sifat Kimia Fisika Senyawa Alkaloid Hasil Isolasi dari Daun Bandotan (*Ageratum conyzoides* L.). *Jurnal Penelitian MIPA*, 1(1): 20-22.
- Hayati, E. K., Akyunul, J., & Rahmawati, N. (2012). Identifikasi Senyawa dan Aktivitas Antimalaria in-vivo Ekstrak Etil Asetat Tanaman Anting-anting (*Acalypha indica* Linn). *Molekul*, 7(1): 20-32.
- Hayati, E. K., Fasyah, A. G., & Sa'adah, L. (2010). Fraksinasi dan Identifikasi Senyawa Tanin pada Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.). *Jurnal Kimia*, 4(2): 193-200.

- Heyne, K. (1987). *Tumbuhan Berguna Indonesia Jilid I dan II*. Terjemah Badan Libang Kehutanan. Cetakan I. Jakarta Pusat: Koperasi Karyawan Departemen Kehutanan.
- Indrayani, L., Hartati, S., & Lydia, S. (2006). Skrining Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Daun Pecut Kuda (*Stachytarpheta jamalensis* L.V) Terhadap Larva Udang (*Artemia salina* Leach). *Jurnal Sains dan Matematika*, 13: 86-101.
- Istiqomah, A., Muti, R., & Hayati, E. K. (2015). Anticancer Activity Against Breast Cancer Cells T47D and Identification of Its Compound from Extracts and Fractions of Leaves Bamboo Grass (*Lophaterum gracile* Brongn). *ALCHEMY*, 4(1): 6–16.
- Komala, O., Rosyanti, R., & Muztabadihardja. (2013). Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Etanol dan Ekstrak Air Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) Terhadap Bakteri. *Jurnal Berita Bologi*, 12(1) : 73–78.
- Kristianingsih. (2005). Isolasi dan Identifikasi Senyawa Triterpenoid dari Akar Tanaman Kedondong Laut (*Polyscias fruticosa*). *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Universitas Brawijaya.
- Kurnijasanti, R., Hamid., Sahrial, I., & Rahmawati, K. (2008). Efek Sitotoksik in-vitro dari Ekstrak Buah Mahkota Dewa Terhadap Kultur Sel Kanker Mieloma. *Jurnal Penelitian Med Eksakta*, 7(1): 48–54.
- Lenny, S. (2006). Senyawa Flavonoida, Fenil Propanoida dan Alkaloida, <http://library.usu.ac.id/downloadfmipa/06003489.pdf>. Diakses tanggal 25 Februari 2017.
- Lestari, S. M. 2011. Uji Penghambatan Ekstrak Daun Sidaguri (*Sida rhombifolia* L.) terhadap Aktivitas Xantin Oksidase dan Identifikasi Golongan Senyawa pada Fraksi yang Aktif. *Skripsi*. Jakarta: Jurusan Farmasi Universitas Indonesia.
- Lisdawati. (2002). *Buah Mahkota Dewa, Toksisitas, Efek Antiokasi dan Berdasarkan Uji Penapisan Farmakologi*. Yogyakarta : Universitas Gajah Mada.
- Mahalli, A., Jalaluddin, I., & Suyuti, I. J. A. (2009). *Tafsir Jalalain dan Asbabun Nuzul Jilid 2*. Bandung: Sinar Baru Algesindo.
- Maharani, S. (2009). *Mengenai 13 Jenis Kanker dan Pengobatannya*. Yogyakarta: Katahati Press.
- Marliana, S. D., Suryanti, V., & Suyono. (2005). Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule* Jack. Sw.) dalam Ekstrak Etanol. *Jurnal Biofarmasi*, 3(1): 26–3.

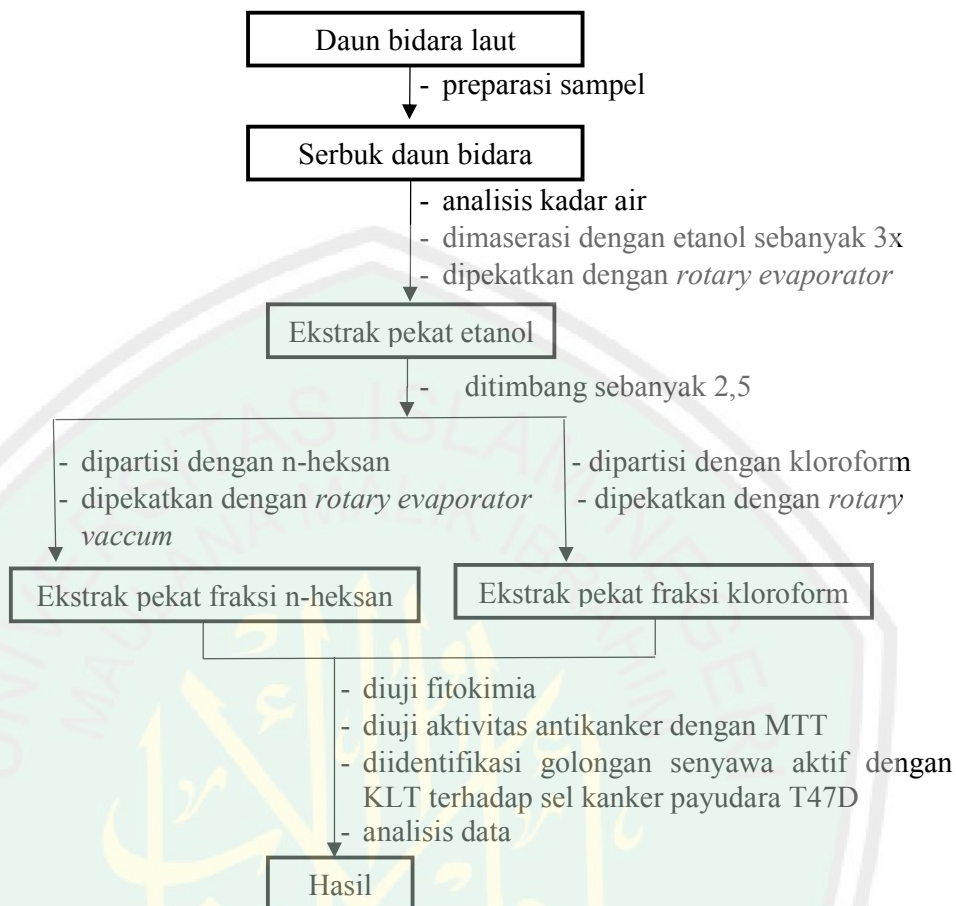
- Marwat, S. K., Khan, M. A., Khan, F. U., Rehman, M., Ahmad, M., Zafar., & Sultana, S. (2009). *Salvadora persica*, *Tamarix aphylla* and *Ziziphus mauritiana* Lam Three Woody Plant Species Mentioned in Holy Quran and Ahadith and Their Ethnobotanical Uses in North Western Part (D.I. Khan) of Pakistan. *Pakistan Journal of Nutrition*, 8: 542-547.
- Meiyanto, E. (2003). Efek Antiproliferatif Ekstrak Etanol Daun dan Kulit Batang Tanaman Cangkring (*Erythrina fusca* Lour) Terhadap Sel Hela. *Majalah Farmasi Indonesi*, 14(3) : 124-131.
- Meiyanto, M. K. (1999). Targeted Disruption of The Microsomal Epoxide Hydrolase Gene. *Journal of Biological Chemistry*, 274: 23963-23968.
- Mishra, T., Khullar, M., & Bhatia, A. (2011). Anticancer Potential of Aqueous Ethanol Seed Extract of *Ziziphus mauritiana* Lam against Cancer Cell Lines and Ehrlich Ascites Carcinoma. *Journal Evidence Based Complementari and Alternative Medicine*, 2(1): 1-10.
- Mosman, T. (1983). Rapid Colorimetric Assay for Cellular Growth and Survival: Application to Proliferation and Cytotoxicity Assay. *Journal of Immunological Method*, 16: 55-63.
- Mukharromah., Rofida, R., & Suyanto. (2014). Senyawa Metabolit Sekunder dari Ekstrak Diklorometana Kulit Batang Bakau Merah (*Rhizophora stylosa*). *Journal of Chemistry*, 3(3): 154-158.
- Nur & Adijuwana. (1989). *Teknik Pemisahan dalam Analisis Biologis*. Bogor: IPB.
- Nurcahyanti, O., Juliaha, E., & Mayanti, T. (2015). Senyawa Steroid dari Kulit Batang *Dysoxylum alliaceum* dan Aktivitasnya Terhadap Sel Kanker Payudara MCF-7. *Chimica et Natura Acta*, 3(2): 62-65.
- Padmi, A. (2008). Uji Sitotoksik Ekstrak Etanol 70% Buah Kemukur (*Piper cubeba* L.) Terhadap Sel Hela. *Skripsi*. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Pamilih, H., (2009). Uji Sitotoksik Ekstrak Etil Asetat Herba Bandotan (*Ageratum conyzoides* Lam) Terhadap Sel Kanker Payudara (T47D) dan Profil Kromatografi Lapis Tipis. *Skripsi*. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Pamungkas, K., & Murruckmihadi, M. (2015). Isolation and Determination of *Hibiscus rosa sinensis* L. Flowers Ethanolic Extract Using Spectrodensitometry. *Traditional Medicine Journal*, 20: 112-118.

- Perron, R. N. & Brumaghim, L. J. (2009). A Review of the Antioxidant Mechanisms of Polyphenol Compounds Related to Iron Binding. *Cell Biochemistry Biophysical*, 2(53).
- Prihatman, K. (2001). *Saponin untuk Pembasmi Hama Udang*. Bandung: Perkebunan Gampang.
- Putri, Z. F. (2010). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sirih (*Piper betle* L.) Terhadap *Propioni bacterium acne* dan *Staphylococcus aureus* Multiresisten. *Skripsi*. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah.
- Rahmawati, E., Sukardiman, & Muti, A. F. (2013). Aktivitas Antikanker Ekstrak n-heksan dan Ekstrak Metanol Herba Pacar Air (*Impatiens balsamina* Linn) Terhadap Sel Kanker Payudara T47D. *Jurnal Media Farmasi*, 10(2): 47–55.
- Robinson, T. (1995). *Kandungan Senyawa Organik Tumbuhan Tinggi*. Terjemahan Kokasih Padmawinata. Bandung: Penerbit ITB.
- Santi, S. R. (2009). Penelusuran Senyawa Sitotoksik pada Kulit Biji Nyemplung (*Colophyllum inophyllum* L.) dan Kemungkinan Korelasi Sebagai Antikanker. *Jurnal Kimia*, 101-108.
- Sastrohamidjojo, H. (2007). *Spektroskopi*. Yogyakarta: Liberty.
- Sharma, P., Jha, A. B., Dubey, R. S., & Pessarakli, M. (2012). Reactive Oxygen Species, Oxidative Damage, and Antioxidative Defense Mechanism in Plants under Stressful Conditions. *Journal Botany*, 1-26.
- Shihab, Q. (2002). *Tafsir Al-Mishbah Pesan, Kesan, dan Keserasian Al-Qur'an*. Jakarta: Lentera Hati.
- Sirait, M. (2007). *Penentuan Fitokimia dalam Farmasi*. Bandung: ITB.
- Soebagio. (2003). *Kimia Analitik II*. Malang: UM Press.
- Sriwahyuni. (2010). Uji Fitokimia Ekstrak Tanaman Anting-anting (*Acalypha indica* L.) dengan Variasi Pelarut dan Uji Toksisitas dengan Menggunakan Brine Shrimp. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Sudarmadji, S. B., Haryono., & Suhardi. 2007. *Analisa Bahan Makanan dan Pertanian*. Yogyakarta: Liberty.
- Subeki & Muhartono. (2015). Senyawa Brucein-A dari Buah Makasar (*Brucea javanica* L.M.) sebagai Antiproliferasi terhadap Sel Kanker Payudara T47D. *Jurnal MKB*, 47(1): 22-28.

- Sumaryanto, A. (2009). Isolasi Karakterisasi Senyawa Alkaloid dari Kulit Batang Tanaman Angsret (*Spathoda campanulata* B.) serta Uji Aktivitas Biologinya dengan Metode Uji Brine Shrimp. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Universitas Brawijaya.
- Voight, R. (1995). *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Diterjemah oleh Soedani Noerono Soewandi, Apt. Yogyakarta: Universitas Gajah Mada Press.
- Widi, R. K., & Indriati, T. (2007). Penjaringan dan Identifikasi Senyawa Alkaloid dalam Batang Kayu Kuning (*Arcangelisia flava* Merr). *Jurnal Ilmu Dasar*, 8(1): 24–29.
- Windriyanti, Y. N., Budiarti, A., & Azmi, S. I. (2005). Aktivitas Mukolitik in-vitro Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah (*Piper crocotum* Ruiz dan Pav) pada Mukosa Usus Sapi dan Identifikasi Kandungan Kimianya. *Prosiding Seminar Nasional*. Semarang: Publikasi Ilmiah Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim.
- Wonohadi, E., Ayu, P. D., Agustin, B. D., Liasthirani, S., & Melani. (2006). Identifikasi Senyawa Antimikroba Rimpang Temu Girang (*Curcuma heyneana* Val dan Van Zijp) secara Bioutografi. *Jurnal Farmasi Indonesia*, 3(2): 89-96.
- Yuda, P. E., Cahyaningsih, E., & winariyanthi, N. L. (2017). Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Tanaman Patikan Kebo (*Euphorbia hirta* L.). *Medicamento*, 3(2): 61–70.
- Yusuf, S., Jayuska, A., & Idiawati, N. (2016). Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Triterpenoid dari Daun Gaharu (*Aquilaria malaccensis* L.). *Jurnal Karakterisasi*, 5(1): 65-69.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Diagram Alir



Lampiran 2. Skema Kerja

L.2.1 Preparasi Sampel

Daun bidara laut

- diambil
- dicuci, dikering anginkan
- dihaluskan dengan blender hingga menjadi serbuk
- diayak dengan ayakan 60 mesh

Hasil

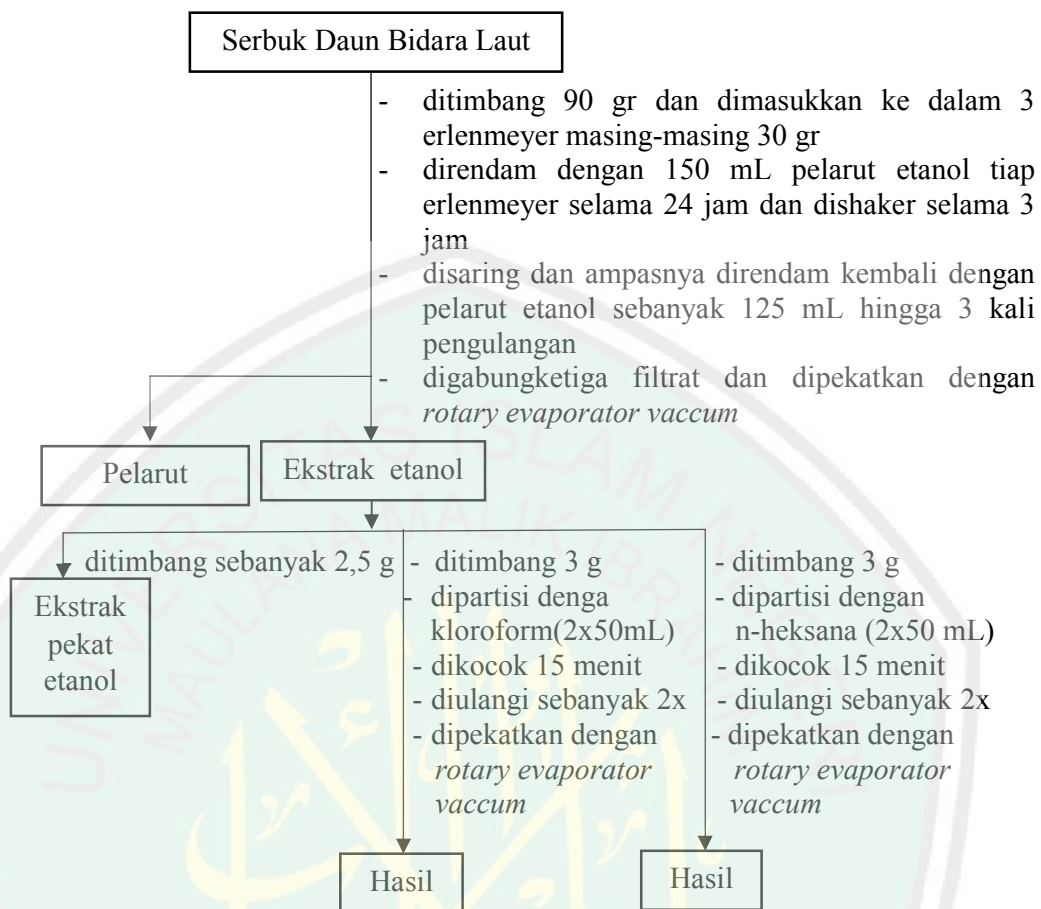
L.2.2 Analisa Kadar Air

Serbuk daun bidara

- dikeringkan cawan kosong dalam oven pada suhu 100-105⁰C sekitar 30 menit, didinginkan dalam desikator selama 10 menit, dan ditimbang sampai beratnya konstan
- ditimbang sampel sekitar 5 g pada cawan
- dikeringkan sampel dalam oven pada suhu 30-37⁰C selama ± 30 menit
- didinginkan dalam desikator selama ± 10 menit
- ditimbang
- dipanaskan kembali dalam oven selama ± 30 menit
- didinginkan dalam desikator dan ditimbang kembali
- diulangi perlakuan ini sampai tercapai berat konstan
- dihitung kadar airnya menggunakan rumus 3.1; 3.2; 3.3
- dilakukan 3 kali pengulangan

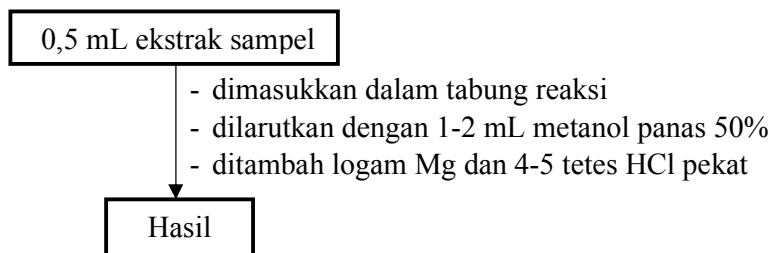
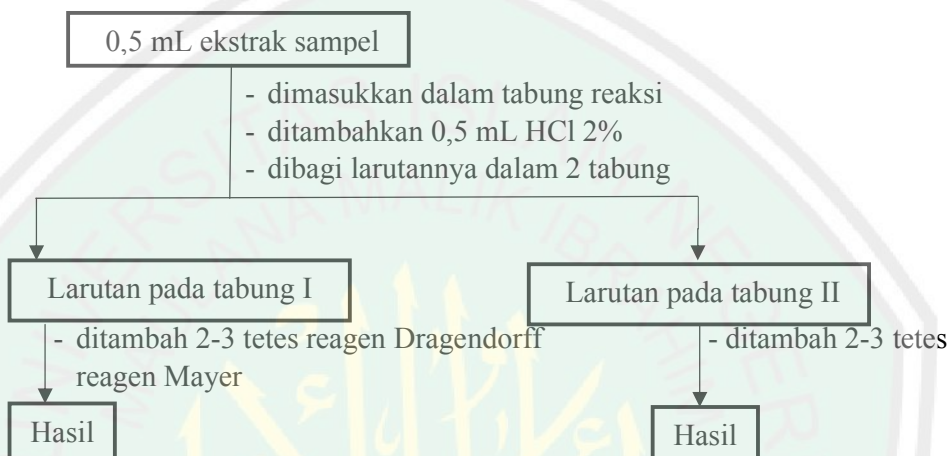
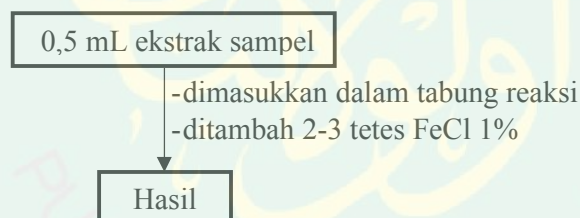
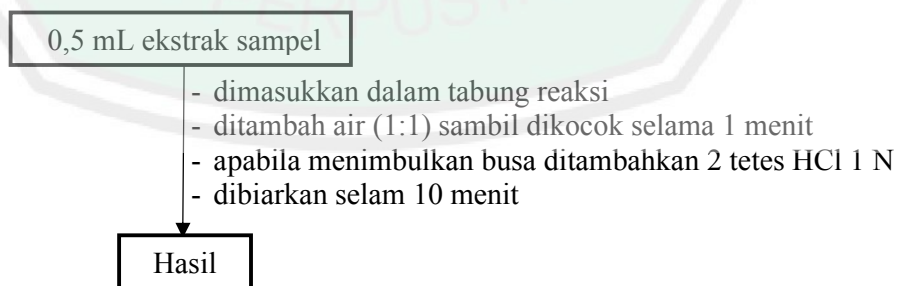
Hasil

L.2.3 EkstraksiKomponenAktif

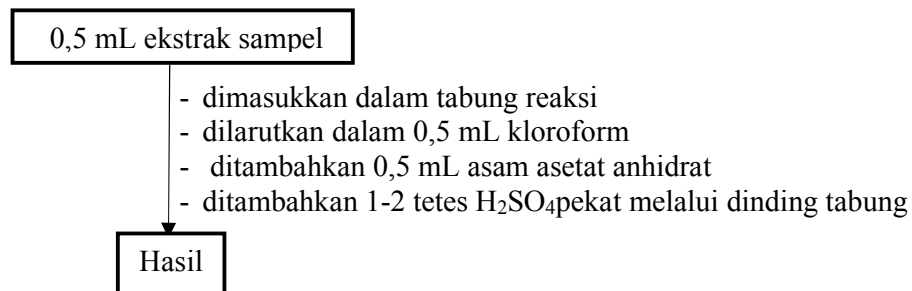


L.2.4 Uji Fitokimia

Uji fitokimia kandungan senyawa aktif dengan uji reagen dari ekstrak pekat etanol, n-heksan, dan kloroform dari daun bidara laut dilarutkan dengan masing-masing pelarutnya, kemudian dilanjutkan untuk uji alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, steroid, dan triterpenoid.

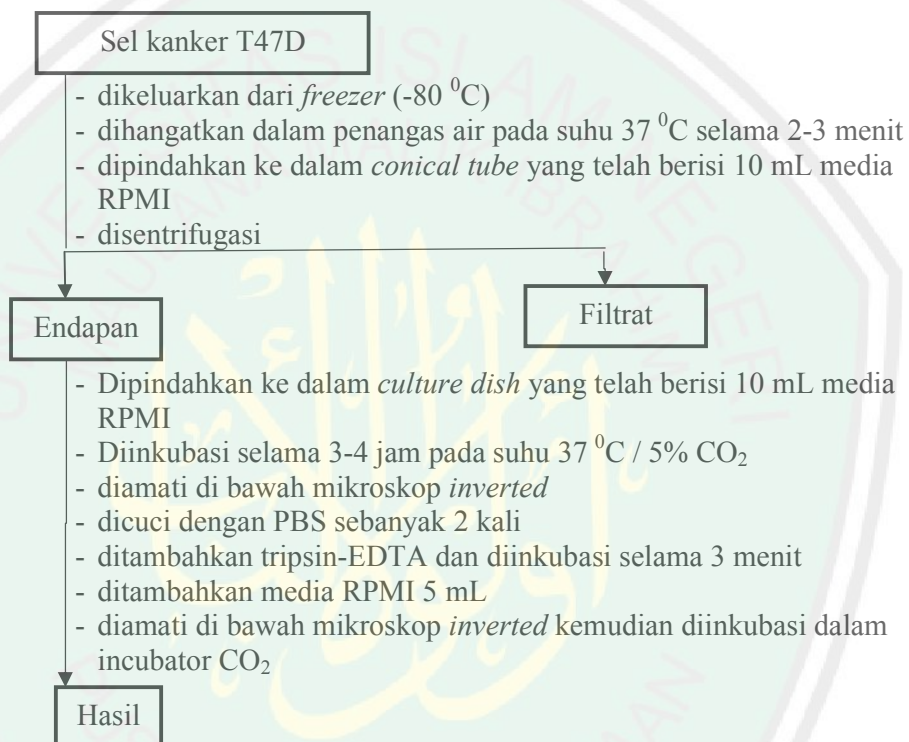
L.2.4.1 Uji Flavonoid**L.2.4.2 Uji Alkaloid****L.2.4.3 Uji Tanin****L.2.4.4 Uji Saponin**

L.2.4.5 Uji Steroid

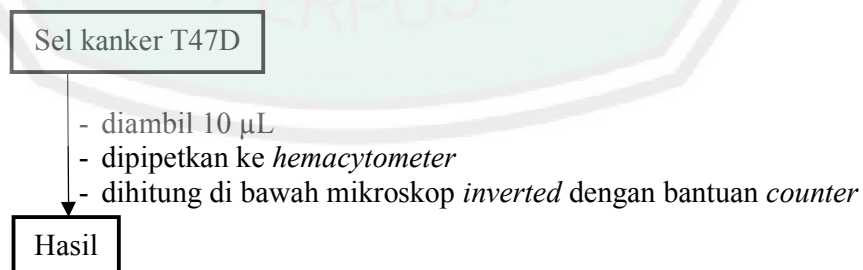


L.2.5 Uji Aktivitas Antikanker dengan Metode MTT

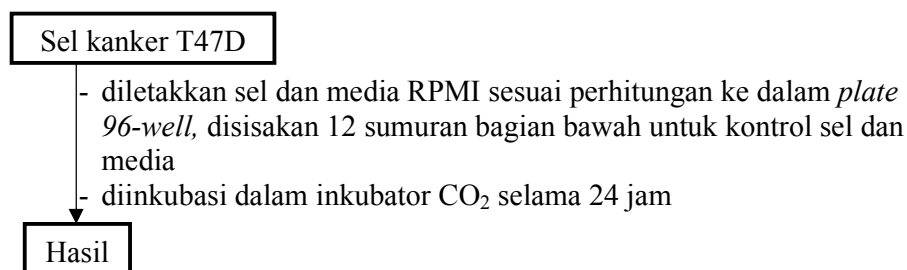
L.2.5.1 Penyiapan Sel



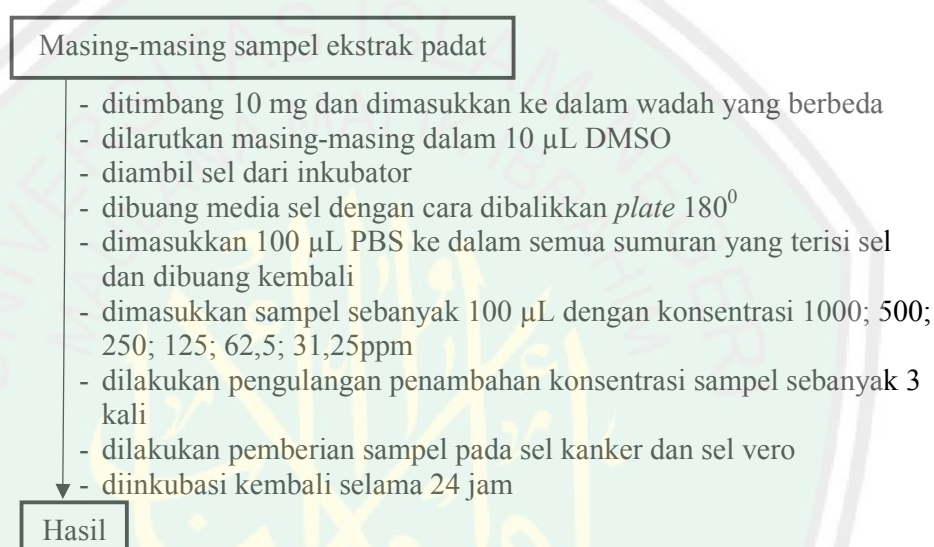
L.2.5.2 Penghitungan Sel Kanker



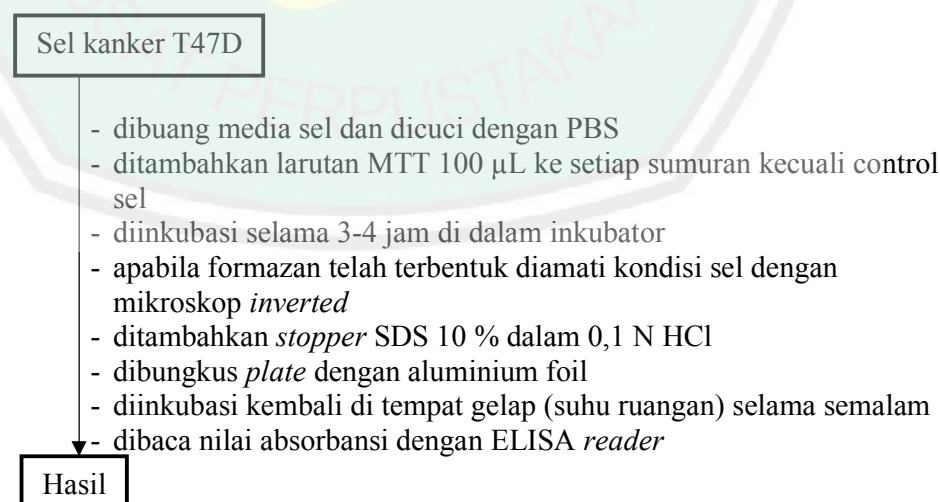
L.2.5.3 Peletakkan Sel pada Plate



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



L.2.5.5 Pemberian Larutan MTT



1.2.6 Pemisahan Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis Analitik (KLTA)

100 mg Ekstrak Daun Bidara

- Ditotolkan pada jarak 1 cm dari tepi bawah plat silika $G_{60}F_{254}$ yang telah diaktivasi $1 \times 10 \text{ cm}^3$ dengan pipa kapiler
- Dikeringkan dan dielusi dengan eluen
- Diperiksa pada permukaan plat di bawah sinar UV pada panjang gelombang 254 dan 366 nm
- Diamati masing-masing hasil nodanya

Hasil



Lampiran 3. Pembuatan Larutan dan Reagen

L.3.1 Pembuatan Reagen Dragendorff(Wagner, 2001).

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. Selanjutnya larutan I dituangkan ke dalam larutan II dan dihomogenkan. Campuran larutan tersebut ditambahkan dengan 7 mL HCl pekat dan 15 mL H_2O .

L.3.2 Pembuatan Reagen Mayer (Manan, 2006)

Larutan I dibuat dengan HgCl_2 1,358 gr dan dilarutkan dengan aquades 60 mL. Larutan II dibuat dengan KI 5 gr dan dilarutkan dengan aquades 10 mL. Selanjutnya larutan I dituangkan ke dalam larutan II dan dihomogenkan. Campuran larutan tersebut dipindahkan dalam labu takar 100 mL dan diencerkan dengan aquades sampai tanda batas.

L.3.3Pembuatan Larutan Metanol 50%

$$\begin{aligned}M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\99,8\% \times V_1 &= 50\% \times 10 \text{ mL} \\V_1 &= 5 \text{ mL}\end{aligned}$$

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.

1.3.4 Pembuatan Reagen FeCl₃ 1 % (b/v)

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

Untuk membuat larutan FeCl₃ 1% adalah ditimbang sebanyak 1 g serbuk FeCl₃ dengan neraca analitik, dimasukkan dalam labu ukur 100 mL. Selanjutnya ditambahkan aquades sampai tanda batas dan dikocok hingga homogen.

L.3.5 Pembuatan Larutan HCl 1 M

Konsentrasi HCl(b/b) = 37 %

$$\text{Berat jenis HCl} = 1,19 \text{ g/mL} \quad \Rightarrow M = \frac{n}{V}$$

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

$$\frac{37 \text{ gr HCl}}{100 \text{ gr Larutan}} = \frac{1,0137 \text{ mol}}{84,03 \text{ mL}}$$

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

$$= \frac{37 \text{ gr}}{36,5 \text{ gr/mol}} = 12,064 \text{ mol/L}$$

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

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

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

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

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

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

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

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.3.6 Pembuatan Larutan HCl 2 %

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

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

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

Cara membuat 10 mL HCl 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.3.7 Pembuatan Larutan SDS 10% (b/v)

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

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

L.3.8 Pembuatan Larutan Stok 10.000 ppm Ekstrak Pekat Daun Bidara Laut

Laut

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

Cara pembuatannya adalah sampel berupa ekstrak pekat daun bidara mauritiana ditimbang 50 mg, kemudian diencerkan dengan 5 mL pelarut masing-masing ekstrak. Selanjutnya dihomogenkan dengan diaduk menggunakan pengaduk gelas, sehingga diperoleh konsentrasi ekstrak 10.000 ppm.

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

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

L.3.10 Pembuatan Larutan Stok 1000 ppm Ekstrak Pekat Daun Bidara Laut

Berat sampel = 10 mg

Volume pelarut = 100 μ L (DMSO)

$$\text{ppm} = \frac{10 \text{ mg}}{100 \mu\text{L}} = \frac{10.000 \mu\text{g}}{100 \mu\text{L}} = 100.000 \mu\text{g/mL}$$

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

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

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

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

Lampiran 4. Data dan Perhitungan Hasil Penelitian

L.4.1 Perhitungan Rendemen

Pelarut	Perubahan warna filtrat	Warna ekstrak pekat	Berat sampel (g)	Berat ekstrak pekat	Rendemen (%) (b/b)
Ekstrak etanol	Hijau bening	Hijau kecoklatan	90g	9,54	10,6
Fraksi kloroform	Kuning bening	Coklat kehitaman	3,03	0,52	17,162
Fraksi n-heksana	Kuning bening	Coklat kehitaman	3,05	0,62	20,328

Contoh perhitungan

Ekstrak Etanol 80%

Berat sampel = 90 gr

Berat ekstrak pekat = 9,54

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

$$\begin{aligned} \% \text{ Rendemen} &= \frac{9,54}{90 \text{ gr}} \times 100\% \\ &= 10,6 \end{aligned}$$

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 (mL^{-1})**

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

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

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

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

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

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

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

Volume panen sel yang ditransfer sebanyak 1,8 mL, ditambahkan hingga 10 mL media kultur RPMI (MK) karena setiap sumuran akan diisi 100 μL MK berisi sel, sehingga total volume yang diperlukan untuk menanam sel = 100 $\mu\text{L} \times 100$ sumuran = 10000 μL atau 10 mL.

B. Perhitungan Persentase Sel Hidup

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

No	Kontrol sel	Kontrol media
1	0,409	0,484
2	0,452	0,518
3	0,518	0,079
Rata-rata	0,459	0,360

1. Ekstrak daun bidara laut

Konsentrasi	Absorbansi	Rata-rata	% Hidup
-------------	------------	-----------	---------

	Pengulangan 1	Pengulangan 2	Pengulangan 3		
1000	0,121	0,109	0,109	0,113	7,7
500	0,174	0,187	0,187	0,548	26,3
250	0,487	0,490	0,478	0,485	106,9
125	0,562	0,567	0,530	0,553	125,1
62,5	0,579	0,522	0,511	0,537	120,9
31,25	0,510	0,498	0,478	0,495	109,7

2. Ekstrak daun bidara laut fraksi kloroform

Konsentrasi	Absorbansi			Rata-rata	% Hidup
	Pengulangan 1	Pengulangan 2	Pengulangan 3		
1000	0,100	0,100	0,102	0,102	4,4
500	0,106	0,112	0,105	0,108	6,3
250	0,410	0,387	0,428	0,408	86,5
125	0,530	0,524	0,540	0,531	119,2
62,5	0,541	0,528	0,510	0,526	117,9
31,25	0,467	0,465	0,465	0,465	91,6

3. Ekstrak daun bidara laut fraksi n-heksana

Konsentrasi	Absorbansi			Rata-rata	% Hidup
	Pengulangan 1	Pengulangan 2	Pengulangan 3		
1000	0,092	0,096	0,099	0,096	3,1
500	0,087	0,086	0,088	0,087	8
250	0,127	0,182	0,164	0,158	19,6
125	0,445	0,521	0,486	0,484	106,7
62,5	0,433	0,445	0,473	0,450	97,7
31,25	0,450	0,560	0,477	0,496	109,8

➤ Perhitungan Prosentase Sel Hidup

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

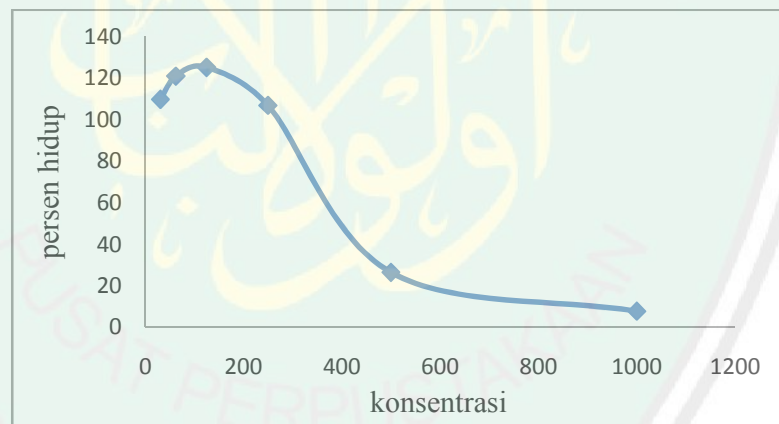
Keterangan : A = absorbansi perlakuan (sel + media kultur + sampel)
 B = absorbansi kontrol media (media kultur)
 C = absorbansi kontrol negatif (sel + media kultur)

Contoh perhitungan

$$\text{Konsentrasi 1000} \rightarrow \% \text{ Hidup} = \frac{0,113 - 0,084}{0,459 - 0,084} \times 100 \% = 7,7 \%$$

C. Hasil Perhitungan IC₅₀ dengan Excel

1. Ekstrak etanol daun bidara laut

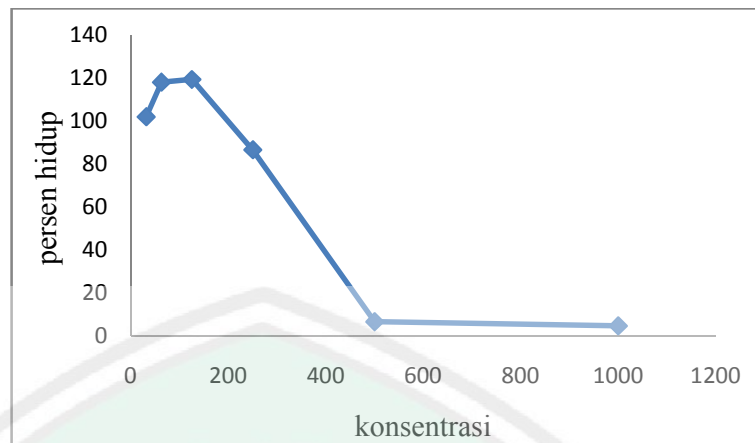


$$y = -0,129x + 125,0$$

$$X = \frac{50 - 125,0}{-0,129}$$

$$X = 581,39 \mu\text{g/mL}$$

2. Fraksi Kloroform

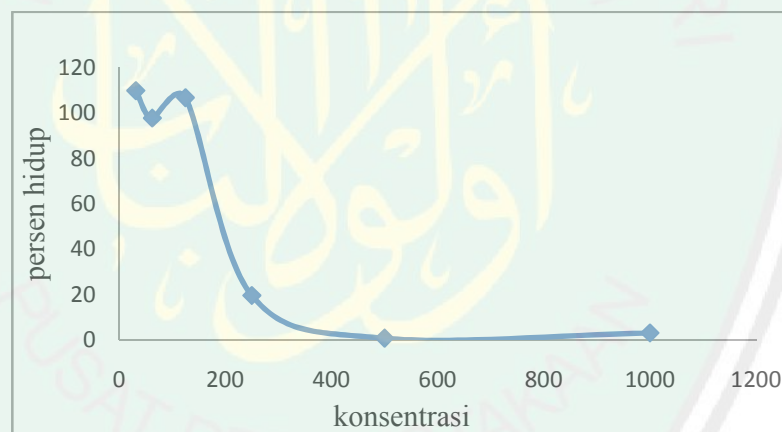


$$Y = -0,128X + 114,9$$

$$X = \frac{50 - 114,9}{-0,128}$$

$$X = 507 \mu\text{g/mL}$$

3. Fraksi n-heksana



$$Y = -0,115 X + 94,26$$

$$X = \frac{50 - 94,26}{-0,115}$$

$$X = 384$$

L.4.3 Hasil perhitungan Rf dan Rs

- Perhitungan Rf

$$\text{Harga } R_f = \frac{\text{jarak yang digerakkan senyawa dari titik asal}}{\text{jarak yang digerakkan oleh pelarut dari titik asal}}$$

Contoh perhitungan

- $\frac{3,4}{8} = 0,425$

➤ Perhitungan Resolusi

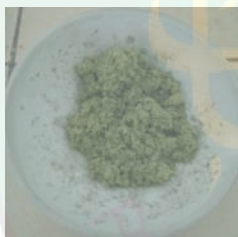
$$R_s = \frac{d}{(w_1 + w_2)\sqrt{2}}$$

Keterangan : d : jarak antar 2 noda
 w_1 dan w_2 : lebar zona

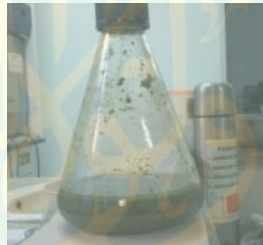
Contoh perhitungan

- $R_s = \frac{0,8}{(0,3+0,2)\sqrt{2}} = 1,131$

Lampiran 5. Dokumentasi



Serbuk daun bidara laut



Filtrat hasil penyaringan



Partisi kloroform

Uji Alkaloid

					
Fraksi n-heksana + reagen Dragendorff	Fraksi n-heksana + reagen Mayer	fraksi kloroform + reagen Dragendorff	Fraksi kloroform + reagen Mayer	Ekstrak Etanol + reagen Dragendorff	Ekstrak etanol + reagen Mayer

Uji Flavonoid		
		
Fraksi n-heksana	Fraksi kloroform	Ekstrak etanol

Uji Saponin

		
Fraksi n-heksana	Fraksi Kloroform	Ekstrak etanol

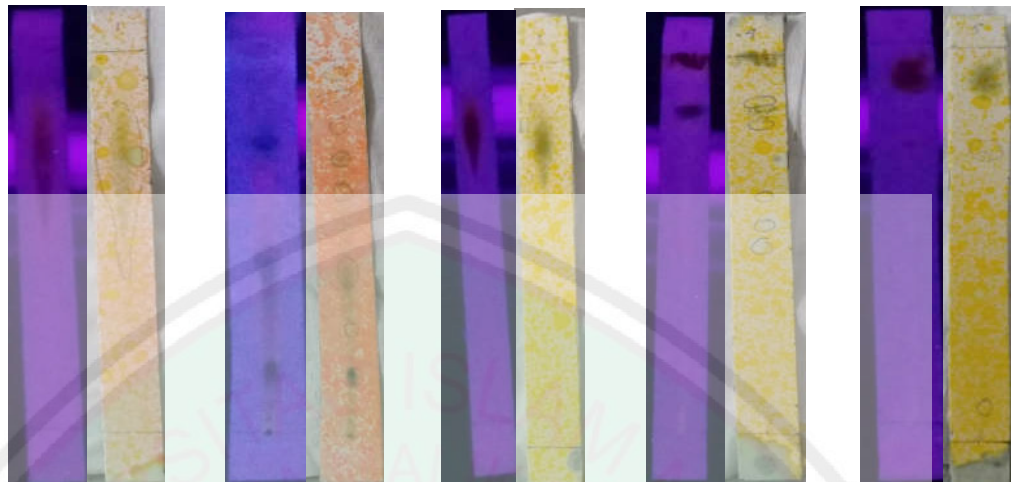
Uji Steroid/triterpenoid

		
Fraksi n-heksana	Fraksi kloroform	Ekstrak etanol

Uji Tanin

		
Fraksi n-heksana	Fraksi kloroform	Ekstrak etanol

1. Alkaloid



Etil asetat :
methanol
(1:9)

sikloheksana
: toluene :
dietilamin
(75:15:10)

kloroform :
methanol
(1:4)

kloroform
: methanol
(19:1)

Etil asetat :
methanol
(9:1)

2. Saponin



Kloroform
: aseton
(4:1)

Kloroform
: metanol
(19:1)

Kloroform
: metanol :
air (13:7:2)

Kloroform :
methanol :
air (2:6:1)

Kloroform :
methanol :air
(64:50:10)

