

**IDENTIFIKASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIKANKER BASA SCHIFF
TERHADAP SEL KANKER PAYUDARA MCF-7 SECARA *IN VITRO*
DENGAN METODE MTT ASSAY**

SKRIPSI

Oleh :
KHOIRUN NISA NURUL AULIA
NIM. 12630045



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2019**



**IDENTIFIKASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIKANKER BASA SCHIFF
TERHADAP SEL KANKER PAYUDARA MCF-7 SECARA *IN VITRO*
DENGAN METODE MTT ASSAY**

SKRIPSI

Oleh :
KHOIRUN NISA NURUL AULIA
NIM. 12630045

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
2019**

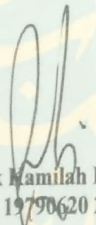
IDENTIFIKASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIKANKER BASA SCHIFF
TERHADAP SEL KANKER PAYUDARA MCF-7 SECARA *IN VITRO*
DENGAN METODE MTT ASSAY

SKRIPSI

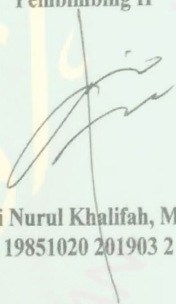
Oleh :
KHOIRUN NISA NURUL AULIA
NIM. 12630045

Telah Diperiksa dan Disetujui Untuk Diuji
Tanggal 13 Juni 2019

Pembimbing I

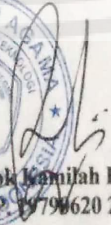

Elok Kamilah Hayati, M.Si
NIP. 19790620 200604 2 002

Pembimbing II


Susi Nurul Khalifah, M.Si
NIP. 19851020 201903 2 012

Mengetahui,
Ketua Jurusan




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

IDENTIFIKASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIKANKER BASA SCHIFF
TERHADAP SEL KANKER PAYUDARA MCF-7 SECARA *IN VITRO*
DENGAN METODE MTT ASSAY

SKRIPSI

Oleh :
KHOIRUN NISA NURUL AULIA
NIM. 12630045

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal : 21 Juni 2019

| | | |
|--------------------|--|-----------|
| Penguji Utama | : A. Ghanaim Fasya, M.Si NIP.19820616 200604 1 002 | (.....) |
| Ketua Penguji | : Ahmad Hanapi, M.Sc NIDT. 19851225 20160801 1 069 | (.....) |
| Sekretaris Penguji | : Elok Kamilah Hayati, M.Si NIP. 197900620 200604 2 002 | (.....) |
| Anggota Penguji | : Susi Nurul Khalifah, M.Si NIP. 19851020 201903 2 012 | (.....) |

Mengesahkan,
Ketua Jurusan



Elok Kamilah Hayati, M.Si
NIP. 197900620 200604 2 002

iii

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Khoirun Nisa Nurul Aulia

NIM : 12630045

Jurusan : Kimia

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul Penelitian : Identifikasi dan Uji Aktivitas Antikanker Basa Schiff
terhadap Sel Kanker Payudara MCF-7 Secara *In Vitro*
dengan Metode MTT *Assay*

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, 21 Juni 2019
Yang membuat pernyataan,



Khoirun Nisa Nurul Aulia
NIM. 12630045

KATA PENGANTAR

Alhamdulillahrabbi'lamin, segala puji kepada Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi berjudul “Identifikasi dan Uji Aktivitas Antikanker Basa Schiff terhadap Sel Kanker MCF-7 Secara *In Vitro* dengan Metode MTT *Assay*” sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana pada Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim.

Penulis menyadari bahwa penyusunan skripsi ini tak lepas dari dukungan serta bantuan berbagai pihak. Ucapan terimakasih penulis sampaikan kepada :

1. Kedua orang tua, Adik serta seluruh keluarga yang selalu memberi nasihat, do'a dan dukungan kepada penulis sehingga penyusunan skripsi ini dapat terselesaikan.
2. Bapak Prof.Dr.Abdul Haris, M.Ag selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Ibu Dr. Sri Harini, M.si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Ibu Elok Kamilah Hayati, M.Si selaku Ketua Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
5. Ibu Elok Kamilah Hayati, M.Si selaku dosen pembimbing yang telah membimbing, memotivasi dan mengarahkan penulis.
6. Bapak Ahmad Hanapi, M.Sc selaku dosen konsultan yang telah banyak memberikan membimbing, pengarahan dan pengalaman yang berharga.

7. Bapak A. Ghanaim Fasya, M.Si selaku dosen penguji yang telah memberi pengarahan dan nasihat kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi.
8. Ibu Susi Nurul Khalifah, M.Si selaku dosen agama yang telah memberikan bimbingan, nasihat, dan pengarahan kepada penulis.
9. Seluruh dosen Jurusan Kimia atas segala ilmu dan bimbingannya.
10. Seluruh staf dan laboran Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang atas bantuan dan layanan dalam melaksanakan penelitian ini.
11. Prof. Dr. Supargiono, DTM&H., SU., PhD., SpParK., selaku supervisor di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada.
12. Seluruh staf dan laboran Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada.
13. Teman-teman Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang, yang telah memberi informasi dan masukannya kepada penulis.
14. Seluruh pihak yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu.

Penulis berharap penyusunan penulisan ini dapat bermanfaat dan dapat digunakan sebagai syarat untuk melakukan penelitian tugas akhir di Jurusan Kimia ini. *Amin*.

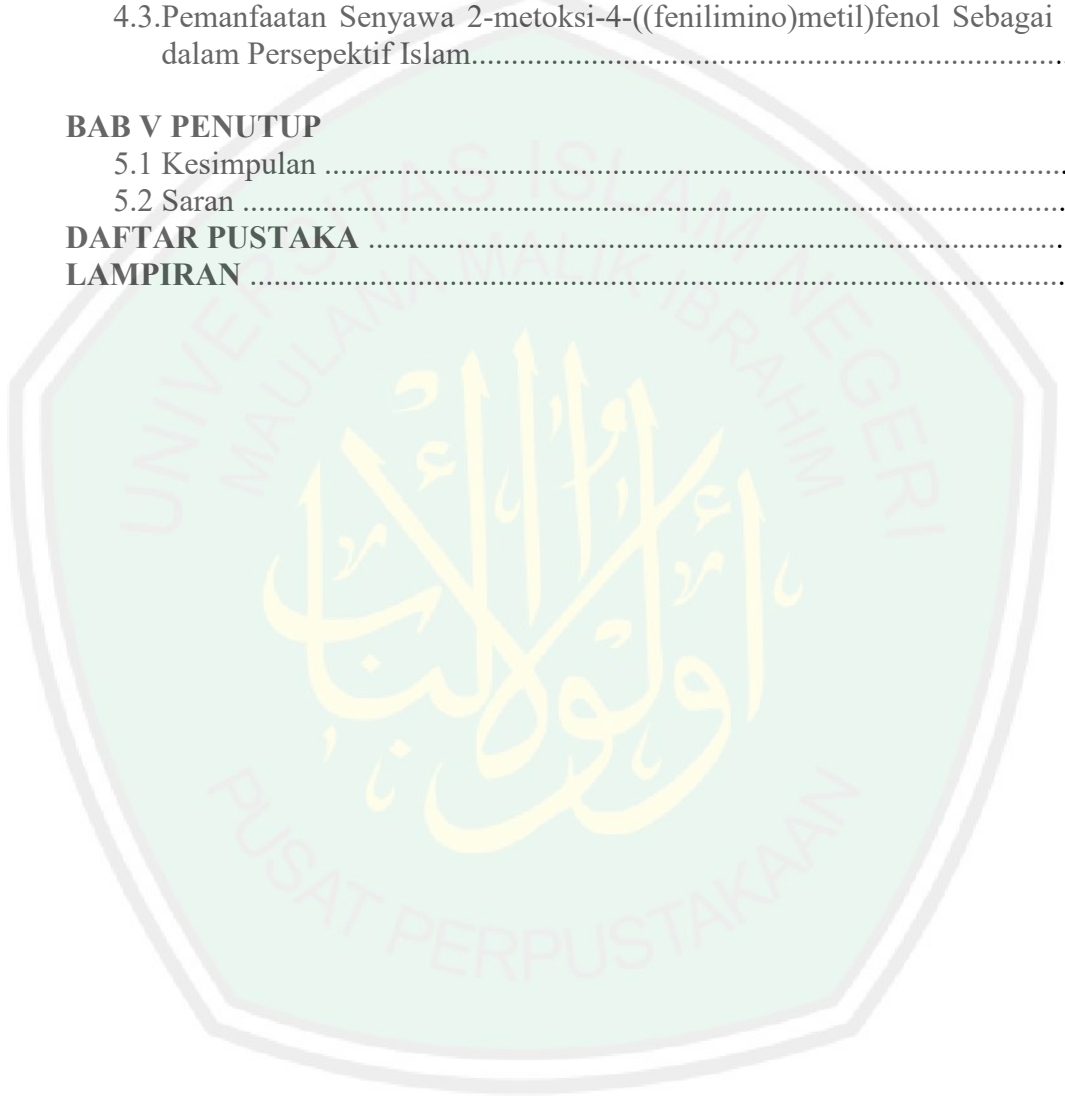
Malang, Mei 2019

Penulis

DAFTAR ISI

| | |
|--|------|
| HALAMAN JUDUL | i |
| HALAMAN PERSETUJUAN | ii |
| HALAMAN PENGESAHAN | iii |
| PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN | iv |
| KATA PENGANTAR | v |
| DAFTAR ISI | vii |
| DAFTAR GAMBAR | ix |
| DAFTAR TABEL | x |
| DAFTAR LAMPIRAN | xi |
| ABSTRAK | xii |
| ABSTRACT | xiii |
| المخلص | xiv |
| | |
| BAB I PENDAHULUAN | |
| 1.1..Latar Belakang..... | 1 |
| 1.2..Rumusan Masalah..... | 5 |
| 1.3..Tujuan..... | 5 |
| 1.4..Batasan Masalah..... | 5 |
| 1.5..Manfaat Penelitian..... | 6 |
| | |
| BAB II TINJAUAN PUSTAKA | |
| 2.1.Kanker..... | 7 |
| 2.1.1 Sel Kanker Payudara MCF-7..... | 8 |
| 2.2.Vanilin | 10 |
| 2.3.Anilina..... | 11 |
| 2.4.Basa Schiff..... | 12 |
| 2.5.Spektrofotometri Infra Merah..... | 14 |
| 2.6.Uji Aktivitas Antikanker Secara <i>In Vitro</i> dengan metode MTT..... | 16 |
| 2.7.Sintesis Senyawa Basa Schiff 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol Menurut Prespektif Islam..... | 18 |
| | |
| BAB III METODE PENELITIAN | |
| 3.1.Waktu dan Tempat Pelaksanaan Penelitian..... | 21 |
| 3.2.Alat dan Bahan | 21 |
| 3.2.1 Alat | 21 |
| 3.2.2 Bahan | 21 |
| 3.3.Rancangan Penelitian | 21 |
| 3.4.Tahapan Penelitian | 22 |
| 3.5.Pelaksanaan Penelitian | 22 |
| 3.5.1 Identifikasi Senyawa 2-metoksi4-((fenilimino)metil)fenol dengan spektrofotometri Infra Merah | 22 |
| 3.5.2 Uji Aktivitas Antikanker dengan Metode MTT | 22 |
| 3.5.2.1.Penyiapan Sel | 22 |
| 3.5.2.2.Perhitungan Sel Kanker | 23 |
| 3.5.2.3.Peletakan Sel pada <i>Plate</i> | 23 |

| | |
|--|----|
| 3.5.2.4.Pembuatan Larutan Sampel dan Pemberian Larutan Sampel pada <i>Plate</i> | 23 |
| 3.5.2.5.Pemberian Larutan MTT | 24 |
| 3.5.2.6.Analisa Data | 25 |
| BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN | |
| 4.1.Identifikasi Senyawa 2-metoksi4-((fenilimino)metil)fenol dengan Spektrofotometri Infra Merah..... | 26 |
| 4.2.Uji Aktivitas Antikanker dengan Metode MTT..... | 28 |
| 4.3.Pemanfaatan Senyawa 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol Sebagai Obat dalam Persepektif Islam..... | 33 |
| BAB V PENUTUP | |
| 5.1 Kesimpulan | 35 |
| 5.2 Saran | 35 |
| DAFTAR PUSTAKA | 36 |
| LAMPIRAN | 41 |



DAFTAR GAMBAR

| | |
|---|----|
| Gambar 2.1 Struktur Vanilin | 10 |
| Gambar 2.2 Struktur Anilin | 11 |
| Gambar 2.3 Spektrofotometri infra merah (FTIR) senyawa 2-metoksi-4- ((fenilimino)metil)fenol | 12 |
| Gambar 2.4 Spektrofotometri Massa (MS) dari senyawa 2-metoksi-4- ((fenilimino)metil)fenol | 13 |
| Gambar 2.5 Fragmentasi dari senyawa 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol).... | 14 |
| Gambar 2.6 Reaksi Reduksi MTT menjadi Formazan | 17 |
| Gambar 4.1 Spektra FTIR senyawa 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol | 27 |
| Gambar 4.2 (a) Morfologi sel MCF-7 sebelum dihitung dan gambar (b) Morfologi sel MCF-7 saat dihitung dengan <i>hemocytometer</i> | 31 |
| Gambar 4.3 Morfologi sel setelah ditambahkan sampel | 31 |
| Gambar 4.4 Morfologi sel MCF-7 setelah diamati dibawah mikroskop <i>inverted</i> | 32 |

DAFTAR TABEL

| | |
|---|----|
| Tabel 2.1 Serapan Inframerah dari beberapa gugus fungsi | 16 |
| Tabel 4.1 Gugus Fungsi dan Bilangan Gelombang | 27 |
| Tabel 4.2 Nilai IC ₅₀ Uji Aktivitas Antikanker | 32 |



DAFTAR LAMPIRAN

| | |
|-------------------------------|----|
| Lampiran 1 Diagram Alir | 41 |
| Lampiran 2 Perhitungan | 44 |
| Lampiran 3 Dokumentasi | 52 |



ABSTRAK

Aulia, K,N,N. 2019. Identifikasi dan Uji Aktivitas Antikanker Basa Schiff terhadap Sel Kanker MCF-7 secara *In Vitro* dengan Metode MTT Assay. Pembimbing I: Elok Kamilah Hayati, M.Si; Pembimbing II: Susi Nurul Khalifah, M.Si, Konsultan: Ahmad Hanapi, M.Sc.

Kata kunci: Basa Schiff, MTT Assay, Spektrofotometri Inframerah (FTIR)

Basa Schiff merupakan suatu senyawa dari reaksi kondensasi karbonil (aldehida) dan amina primer (anilina). Penelitian sebelumnya telah melakukan sintesis antara vanilin dan anilin sehingga dihasilkan senyawa basa Schiff yaitu senyawa 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengidentifikasi dan mengetahui aktivitas antikanker dari senyawa 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol terhadap sel kanker payudara MCF-7. Identifikasi senyawa 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol dilakukan dengan menggunakan spektrofotometri infra merah (FTIR) untuk mengetahui gugus fungsinya. Aktivitas antikanker dilakukan menggunakan metode MTT assay untuk menentukan nilai IC_{50} dalam menghambat sel kanker MCF-7. Hasil identifikasi dengan FTIR diketahui bahwa serapan khas gugus imina (C=N) berada pada daerah 1584 cm^{-1} , hal ini sama dengan penelitian sebelumnya. Hasil uji aktivitas antikanker senyawa 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol adalah $2565,546\text{ }\mu\text{g/mL}$, hal ini dapat dikatakan bahwa senyawa 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol tidak berpengaruh terhadap sel kanker payudara MCF-7. Berdasarkan hal tersebut, diperlukan uji lanjutan dengan menggunakan ligan agar didapatkan hasil aktivitas antikanker.

ABSTRACT

Aulia, K, N, N. 2019. Identification and Test of Anticancer Activity of Schiff Bases in MCF-7 Cancer Cells in Vitro with the MTT Assay Method. Advisor I: Elok Kamilah Hayati, M.Si; Advisor II: Susi Nurul Khalifah, M.Si., Consultant: Ahmad Hanapi, M.Sc.

Keywords: Schiff Bases, MTT Assay, Infrared Spectrophotometry (FTIR)

Schiff base is a compound of a condensation product of carbonyl (aldehyde) and primary amine (aniline). Previous research has synthesized vanillin and aniline to produce a Schiff base compound that is a 2-methoxy-4-((phenylimino) methyl) phenol compound. Purpose of this study was to identify and determine the anticancer activity of the 2-methoxy-4-((phenylimino) methyl) phenol compound on MCF-7 breast cancer cells. Identification of 2-methoxy-4-((phenylimino) methyl) phenol compound was carried out using infrared spectrophotometry (FTIR) to determine its functional group. Anticancer activity was carried out using the MTT assay method to determine IC_{50} values in inhibiting MCF-7 cancer cells. The results of identification with FTIR revealed that absorption of imine group ($C=N$) in wavenumber 1584 cm^{-1} , this is the same as previous studies. The anticancer activity test results of compound 2-methoxy-4-((phenylimino) methyl) phenol are $2565,546\text{ }\mu\text{g/mL}$. It can be said that 2-methoxy-4-((phenylimino) methyl) phenol does not affect cells MCF-7 breast cancer. Based on this, further testing is needed using ligands to obtain anticancer activity.

المستخلص

أولياء، ك.ن.ن. ٢٠٠٩. التعرف واختبار عملية مضاد السرطان قاعدة شيف إلى الخلية السرطانية -MCF-7 في الزواج بمنهج رزن MTT. المشرفة ١: إيلوك كاملة حياتي، الماجستير؛ المشرفة ٢: سوسي نور الخليفة، الماجستير. المستشار: أحمد حنفي، الماجستير.

الكلمات الأساسية: قاعدة شيف، رزن MTT، عالية الوضوح تحويل فورية الأشعة تحت الحمراء (FTIR)

قاعدة شيف هي المركبات من التفاعل التكتيفي بين الألديهيدات أو الكيتونات مع الأمينات الأولية. تناول البحث القبلي التركيب بين فانيلين وأنيولين حتى تنتج قاعدة شيف وهي مركب ٢-ميثوكسي-٤-((فينيلامين)ميثيل)فينول. يهدف هذا البحث إلى تعرف ومعرفة عملية مضاد السرطان من مركب ٢-ميثوكسي-٤-((فينيلامين)ميثيل)فينول إلى الخلية السرطانية الثديية MCF-7. يتم تعرف مركب ٢-ميثوكسي-٤-((فينيلامين)ميثيل)فينول باستخدام عالية الوضوح تحويل فورية الأشعة تحت الحمراء (FTIR) لمعرفة نوع وظائفها. ويتم عملية مضاد السرطان باستخدام طريقة رزن MTT لتعيين قيمة IC_{50} في سد الخلية السرطانية MCF-7. فنتائج التعرف تدل على أنه باستيعاب عالية الوضوح تحويل فورية الأشعة تحت الحمراء (FTIR) يعرف أن نموذجية امتصاص مجموعة إمين (-C=N-) تكون في نطاق 1584 cm^{-1} ، وهذا يعادل بنتائج البحث السابق. فنتيجة اختبار عملية مضاد السرطان من مركب ٢-ميثوكسي-٤-((فينيلامين)ميثيل)فينول هي $566,2565 \mu\text{g/mL}$ ، وهذا يدل على أن مركب ٢-ميثوكسي-٤-((فينيلامين)ميثيل)فينول لا يؤثر إلى الخلية السرطانية الثديية MCF-7. انطلاقاً من هذا البيان، يحتاج الاختبار الاستمراري باستخدام المربوطات لاكتساب النتائج من عملية مضاد السرطان.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kanker merupakan pertumbuhan sel yang tidak terkontrol, diikuti dengan proses invasi ke jaringan sekitar dan penyebaran (*metastatis*) ke bagian tubuh yang lain. Sifat utama sel kanker ditandai dengan hilangnya kontrol pertumbuhan dan perkembangan sel kanker tersebut (King, 2000). Penyakit kanker merupakan salah satu penyebab kematian utama di seluruh dunia. Pada tahun 2012 di Indonesia, sekitar 8,2 juta kematian disebabkan oleh kanker. Berdasarkan data IARC tahun 2012 diketahui bahwa kanker payudara pada wanita merupakan penyakit kanker dengan persentase kasus baru (setelah dikontrol oleh umur) tertinggi, yaitu sebesar 43,3%, dan persentase kematian (setelah dikontrol oleh umur) akibat kanker payudara sebesar 12,9% (Kementerian Kesehatan RI, 2013). Selain itu, Di Amerika pada tahun 2016 sekitar 246.660 wanita dan 2.600 laki-laki didiagnosis kanker payudara dengan angka kematian sebesar 40.890 orang (*American Cancer Society*, 2016).

Beberapa metode penyembuhan penyakit kanker saat ini telah diupayakan, antara lain penyinaran atau radiasi, operasi, dan kemoterapi. Metode-metode tersebut bertujuan untuk mengangkat jaringan sel kanker atau mematikan sel kanker, namun masing-masing mempunyai kelemahan, sehingga tingkat keberhasilannya masih rendah. Masalah-masalah tersebut mendorong perlunya usaha menemukan antikanker baru yang lebih spesifik dan lebih sensitif (Febriyanti, 2014). Allah SWT menciptakan semua yang ada di bumi ini tidaklah

sia-sia. Semua yang telah diciptakan oleh Allah SWT dapat dimanfaatkan oleh manusia jika manusia itu dapat berfikir. Sebagaimana yang telah dijelaskan di dalam Al-Qur'an surat al-Jaatsiyah, ayat 13 :

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

Ayat tersebut menjelaskan bahwa segala sesuatu yang terdapat di langit dan di muka bumi ini disiapkan untuk manusia agar dapat dimanfaatkan oleh manusia dan hukumnya halal. Allah SWT telah memberikan kemampuan, kecerdasan, dan bakat kepada setiap manusia untuk dapat memanfaatkan isi alam semesta ini. Hal ini tentunya mengharuskan mereka banyak bersyukur kepada Allah SWT atas nikmat-nikmat-Nya dan berusaha memikirkan hikmah-hikmah-Nya. Berdasarkan ayat tersebut menjelaskan pula bahwa basa Schiff hasil dari sintesis merupakan bentuk upaya berpikir manusia untuk memanfaatkan ciptaan-Nya menjadi sesuatu yang bermanfaat, salah satunya sebagai antikanker.

Beberapa strategi dalam penemuan antikanker baru telah dilakukan, diantaranya melalui isolasi senyawa aktif dari bahan alam, pencarian senyawa antimetabolit untuk menghambat pertumbuhan sel kanker secara spesifik, dan sintesis senyawa organik yang dikenal memiliki aktivitas antikanker. Salah satu senyawa hasil sintesis yaitu basa Schiff yang merupakan senyawa organik yang mengandung karbon dan nitrogen berikatan ganda seperti imina ($-C=N-$), yang

memiliki aplikasi potensial sebagai antibakteri, antikanker, dan agen antivirus (Li Xin *et al.* 2015).

Basa Schiff dapat disintesis dengan mereaksikan aldehida atau keton dan Amina primer (RNH₂) melalui reaksi adisi eliminasi, seperti yang telah dilakukan oleh Hanapi (2017), yaitu sintesis basa Schiff dengan mereaksikan antara vanilin dan anilina menggunakan katalis air buah jeruk nipis, menghasilkan senyawa 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol dengan nilai randemen tertinggi 95,35 % yang memiliki nilai antioksidan sebesar 281 ppm dan toksisitas sebesar 13,88 ppm. Selain itu, sintesis basa Schiff juga telah banyak dilakukan dengan pengujian aktivitasnya sebagai antikanker. Cahyana *et al.*, (2015) menunjukkan bahwa turunan senyawa imina yang terbentuk dari sintesis 4-amino antipirin dengan 2-hidroksi asetofenon dan 4-amino antipirin dengan vanillin yaitu [((E)-4-(1-(2-hydroxyphenyl)ethylideneamino)-1,5-dimethyl-2-phenyl-1H-pyrazol-3(2H)-one)] dan [((E)-4-(4-hydroxy-3-(vinylloxy)benzylideneamino)-1,5-dimethyl-2-phenyl-1H-pyrazol-3(2H)-one)] berpotensi sebagai antioksidan yang memiliki aktivitas toksisitas menggunakan BSLT memiliki nilai LC₅₀ masing-masing sebesar 389,25 µg/mL dan 23,73 µg/mL.

Hasil sintesis yang dilakukan oleh Shakir (2015) yaitu sintesis basa Schiff sebagai ligan yang kemudian diuji aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker payudara (MCF-7) menghasilkan IC₅₀ sebesar 2,16±0,11 µmolL⁻¹. Sintesis basa Schiff sebagai ligan juga telah dilakukan oleh Zafar (2015) dan menghasilkan nilai IC₅₀ sebesar 19,40 ± 1,9 µmolL⁻¹ terhadap sel kanker payudara (MCF-7). Mengacu pada penelitian yang dilakukan oleh Hanapi (2017) yang memiliki nilai LC₅₀ rendah yaitu 13,88 ppm, maka akan dilakukan penelitian lanjutan yaitu uji

aktifitas antikanker dari senyawa 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol terhadap sel kanker payudara MCF-7 dengan metode MTT (methylthiazol tetrazolium) *assay*. Sel kanker MCF-7 sering digunakan dalam penelitian kanker secara *in vitro* karena mudah penanganannya, memiliki kemampuan replikasi yang tidak terbatas, homogenitas yang tinggi serta mudah diganti dengan frozen stock jika terjadi kontaminasi (Burdall *et al*, 2003). Metode MTT (Methylthiazol Tetrazolium) *assay* memiliki beberapa kelebihan diantaranya dapat digunakan untuk mengetahui kemampuan suatu senyawa untuk menghambat pertumbuhan sel (Kusumaningtyas, dkk., 2008).

Metode MTT memiliki Prinsip yaitu mengukur aktivitas selular berdasarkan kemampuan enzim mitokondria reduktase pada mitokondria dalam mereduksi garam Methylthiazol Tetrazolium (MTT) membentuk kristal formazan berwarna biru (Mosman, 1983). Uji MTT digunakan untuk menentukan parameter nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} menunjukkan nilai konsentrasi yang menghasilkan hambatan proliferasi sel 50 % dan menunjukkan potensi ketoksikan suatu senyawa terhadap sel. Semakin besar harga IC_{50} maka senyawa tersebut semakin tidak toksik (Abcam, 2007). Berdasarkan penjelasan diatas, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengkaji potensi senyawa 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol dalam menghambat pertumbuhan sel kanker payudara MCF-7 dan perbandingan dengan reaktannya yaitu vanilin dan anilina, sehingga pada penelitian ini dilakukan pengujian antikanker senyawa 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol terhadap kanker payudara MCF-7 secara *in vitro*.

Senyawa 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol sebelumnya akan dilakukan karakterisasi ulang dengan instrumen Spektrofotometri Inframerah (FTIR).

Spektrofotometri FTIR digunakan untuk mendeteksi gugus fungsional suatu senyawa dengan memanfaatkan radiasi pada daerah infra merah (Underwood dan Day, 2002).

1.1 Rumusan Masalah

1. Bagaimana identifikasi senyawa 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol menggunakan spektrofotometri inframerah (FTIR)?
2. Bagaimana aktivitas dari senyawa 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol dalam menghambat pertumbuhan sel kanker payudara MCF-7 secara *in vitro* dengan metode MTT Assay?

1.2 Tujuan

1. Untuk mengetahui identifikasi senyawa 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol menggunakan spektrofotometri inframerah (FTIR).
2. Untuk mengetahui aktivitas dari senyawa 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol dalam menghambat pertumbuhan sel kanker payudara MCF-7 secara *in vitro* dengan metode MTT Assay.

1.3 Batasan Masalah

1. Senyawa 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol diperoleh dari hasil sintesis vanilin dengan anilin.
2. Sel kanker yang digunakan merupakan sel kanker payudara MCF-7.
3. Identifikasi senyawa 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol menggunakan spektrofotometri inframerah (FTIR).
4. Uji aktifitas antikanker menggunakan metode MTT Assay.

1.4 Manfaat

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmu pengetahuan mengenai basa Schiff dari hasil sintesis dalam penggunaannya sebagai agen antikanker dalam menghambat pertumbuhan sel kanker payudara MCF-7.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kanker

Kanker adalah suatu penyakit yang disebabkan oleh pertumbuhan sel-sel jaringan tubuh yang tidak normal. Sel-sel kanker akan berkembang dengan cepat, tidak terkendali, dan akan terus membelah diri, selanjutnya menyusup ke jaringan di sekitarnya (*invasive*) dan terus menyebar melalui jaringan ikat, darah, dan menyerang organ-organ penting serta saraf tulang belakang. Dalam keadaan normal, sel hanya akan membelah diri jika terdapat penggantian sel-sel yang telah mati dan rusak. Sebaliknya, sel kanker akan membelah terus meskipun tubuh tidak memerlukannya, sehingga akan terjadi penumpukan sel baru. Mangan (2010) menyebutkan bahwa penumpukan sel tersebut mendesak dan merusak jaringan normal yang nantinya akan merusak dan mengganggu organ yang ditempatinya.

Kanker merupakan penyakit yang ditandai dengan terjadinya pembentukan jaringan baru yang abnormal dan bersifat ganas serta tidak terkendali (Zwaveling, A 1985). Kanker dapat disebabkan oleh faktor endogen maupun eksogen. Faktor endogen dapat berupa faktor genetik, penyakit, dan hormon. Sedangkan faktor eksogen dapat berasal dari makanan, virus, senyawa-senyawa karsinogenik seperti polusi udara, zat warna, logam-logam karsinogen, dan banyak penyebab lainnya seperti siklofosfamida (Mosmann, T 1993; Hanahan, D 2000). Kanker adalah penyakit pertumbuhan sel dengan terjadinya gangguan atau hilangnya mekanisme pengontrol pertumbuhan dan pembelahan. Adanya gangguan tersebut

menghasilkan pertumbuhan baru dan menghasilkan masa jaringan yang abnormal yang disebut tumor (Sukardja, 2000).

Kanker adalah penyakit akibat pertumbuhan tidak normal dari sel-sel jaringan tubuh yang berubah menjadi sel kanker. Dalam perkembangannya, sel-sel kanker ini dapat menyebar ke bagian tubuh lainnya sehingga dapat menyebabkan kematian. Kanker sering dikenal oleh masyarakat sebagai tumor, padahal tidak semua tumor adalah kanker. Tumor adalah segala benjolan tidak normal atau abnormal. Tumor dibagi dalam 2 golongan yaitu tumor jinak dan tumor ganas. Kanker adalah istilah umum untuk semua jenis tumor ganas. Sebagian besar tumor jinak tidak menyebabkan masalah serius dan dapat dibuang dengan proses pembedahan. Tumor ganas dapat menyebar dan merusak fungsi suatu organ. Seorang individu dengan tumor ganas dikatakan mengidap kanker. Selama masa perkembangan sel kanker mampu menghasilkan dan melepas sel pioner yang dapat berpindah, menginvasi jaringan didekatnya, kemudian pindah ketempat lain, membentuk koloni dan tumbuh ditempat itu. Penyebaran sel kanker diluar tempat asalnya disebut dengan metastasis (Hanahan & Weinberg, 2000; Campbell & Reece, 2005).

2.1.1 Sel Kanker Payudara MCF-7

Kanker payudara adalah salah satu penyakit yang paling banyak ditakuti oleh wanita karena kanker payudara banyak menyerang wanita. Kanker payudara adalah penyakit yang bersifat ganas akibat tumbuhnya sel kanker yang berasal dari sel-sel normal di payudara bisa berasal dari kelenjar susu, saluran susu, atau jaringan penunjang seperti lemak dan saraf (Sjamsuhid Ajat & De Jong, 2004). Sebagian besar kanker payudara berhubungan dengan faktor hormonal dan

genetik yang berkaitan dengan: 1) faktor yang berhubungan dengan diet yang berdampak negatif seperti makanan yang banyak mengandung lemak jenuh, minuman beralkohol, 2) hormon dan faktor produksi seperti menarche atau haid pertama pada usia muda (kurang dari 12 tahun), melahirkan anak pertama pada usia lebih tua (lebih dari 35 tahun), interfertilitas dan tidak menyusui anak, 3) terpapar radiasi pengion pada saat pertumbuhan payudara dan 4) adanya faktor genetik atau keturunan (Depkes, 2009).

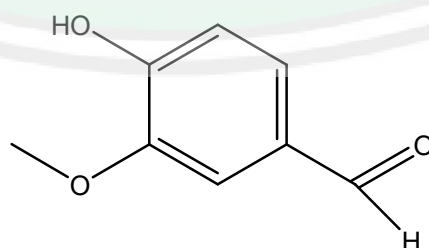
Kanker payudara sebagian besar (sekitar 70 %) ditandai dengan adanya gumpalan yang biasanya terasa sakit pada payudara, juga adanya tanda lain yang berupa pembesaran dan rasa gatal pada bagian puting, juga secara keseluruhan timbul kemerahan, pembesaran dan kemungkinan penyusutan payudara. Sedangkan pada masa metastasis dapat timbul gejala nyeri tulang, penyakit kuning atau bahkan pengurangan berat badan (Bosman dan Wagener, 1999). Sel kanker payudara dapat tumbuh menjadi benjolan sebesar 1 cm² dalam waktu 8-12 tahun (Tambunan, 2003). Pada tumor yang ganas, benjolan ini bersifat solid, keras, tidak beraturan, dan nonmobile. Pada kasus yang lebih berat dapat terjadi edema kulit, kemerahan, dan rasa panas pada jaringan payudara (Lindley dan Michaud, 2005).

Pada penelitian ilmiah, sering digunakan sel kultur payudara yaitu sel kanker MCF-7 dan T47D. Sel MCF-7 adalah salah satu model sel kanker payudara yang banyak digunakan dalam penelitian. Sel ini diperoleh dari jaringan epitel payudara dengan titik metastatis *pleural effusion breast adenocarcinoma* seorang wanita berusia 69 tahun dengan etnis kaukasian (ATCC, 2012). Sel MCF-7 biasa digunakan untuk berbagai penelitian tentang kanker payudara secara in

vitro karena memiliki beberapa karakteristik yang sama dengan epitel payudara terkait kemampuan memproses estrogen dalam bentuk estradiol melalui reseptor estrogen di dalam sitoplasma (Pfeiffer 2004). Proses terjadinya kanker payudara dan masing-masing etiologi antara lain obesitas, radiasi, hiperplasia, riwayat keluarga dengan mengkonsumsi zat-zat karsinogen sehingga merangsang pertumbuhan epitel payudara dan dapat menyebabkan kanker payudara. Kanker payudara berasal dari jaringan epithelial, dan paling sering terjadi pada sistem duktal. Kanker membutuhkan waktu 7 tahun untuk bertumbuh dari sebuah sel tunggal sampai menjadi massa yang cukup besar kira-kira berdiameter 1 cm. Pada ukuran itu seperempat dari kanker payudara telah bermetastase.

2.2 Vanilin

Vanilin atau 4-hidroksi-3-metoksibenzaldehida, merupakan senyawa organik dengan rumus molekul $C_8H_8O_3$ yang ditemukan pada ekstrak biji vanilla (Kumar, dkk., 2012). Vanilin berwarna putih dalam bentuk bubuk kristalin nonhigroskopik, memiliki aroma seperti vanila dan rasa vanila. Vanilin memiliki titik didih $285^{\circ}C$, titik lebur $81-83^{\circ}C$, kelarutan dalam air $>2\%$, sangat larut dalam kloroform, eter dan air panas, densitas 1,056 dan dalam bentuk larutan memiliki pH asam (O Neil, 2013).



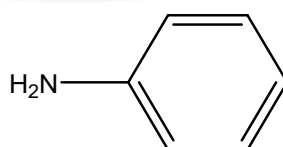
Gambar 2.1 Struktur Vanilin

Seperti pada Gambar 2.1 dijelaskan oleh Handayani (2011), vanilin memiliki tiga gugus fungsi utama, yakni aldehida, metoksi dan hidroksi. Vanilin

merupakan turunan dari senyawa benzaldehida, sehingga mempunyai struktur aromatik benzena dan gugus fungsi aldehida (-CHO). Gugus fungsi lain yang dimiliki oleh vanilin yaitu hidroksi (-OH) pada posisi para dan metoksi (-OCH₃) pada posisi meta dari gugus fungsi aldehida. Gugus aldehida pada vanilin juga dapat bereaksi dengan amina primer membentuk ikatan C=N melalui reaksi adisi-eliminasi (Zarei dan Jarrahpour, 2011).

2.3 Anilina

Anilin termasuk golongan senyawa amina aromatis. Amina aromatis banyak digunakan dalam jumlah besar untuk keperluan industri pestisida, farmasi, plastik, dan industri zat warna. Karena sifat polaritas serta kelarutannya yang tinggi dalam air. Sifat lain dari amina aromatis yang sangat mendapat perhatian adalah sifat toksik dan karsinogen (Husna, 2013). Anilin memiliki bentuk cairan berminyak berwarna jernih sampai kecoklatan, berbau amis. Berat molekul 93,13; Rumus molekul C₆H₅NH₂; Titik nyala 228°C; Titik didih 184°C (363 F); Titik beku -6 °C (21 F); Tekanan uap 0,6 mmHg pada suhu 20°C; Berat jenis uap (udara=1) 3,2; Berat jenis (air=1) 1,0217; Ambang batas bau 2,4 ppm; Titik kritis 425,6°C (798,1 F); Log Kow 0.9; Kelarutan dalam air 3,5%; pH 8,1 (larutan 0,2 M); Larut dalam metanol, eter, aseton, benzena, ligroin, kloroform, pelarut organik, air dingin, air panas. Struktur anilin dapat dilihat pada Gambar 2.2.



Gambar 2.2 Struktur Anilin

2.4 Basa Schiff

Suatu senyawa yang mengandung gugus azomethin (-CH=N-) dinamakan sebagai basa Schiff. Senyawa ini biasanya dibentuk oleh reaksi kondensasi antara suatu senyawa amina primer dengan suatu senyawa karbonil (Bell,S.C.,1963).

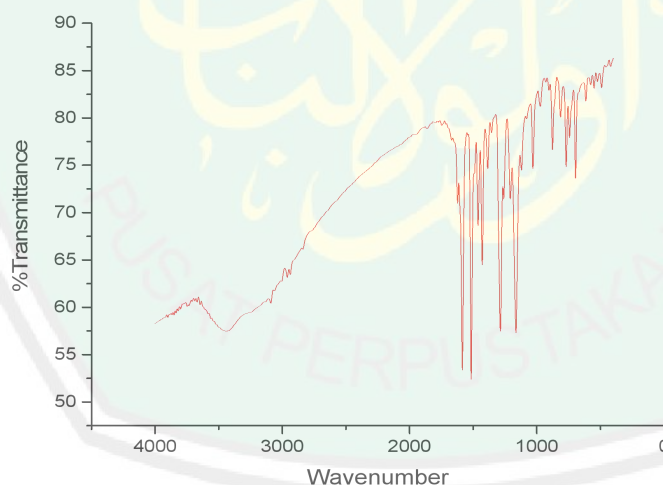
Persamaan reaksi dari basa Schiff seperti pada persamaan dibawah ini:



Dimana R dapat dimisalkan sebagai senyawa alifatik maupun senyawa aromatik.

Basa Schiff yang berasal dari senyawa aldehida aromatik memiliki keefektifan sistem konjugasi yang lebih stabil. (Munir,C., 1985).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Hanapi (2017), reaksi pembentukan basa schiff dari vanilin dan anilina mmenghasilkan senyawa 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol dengan spektra FTIR pada Gambar 2.3 :

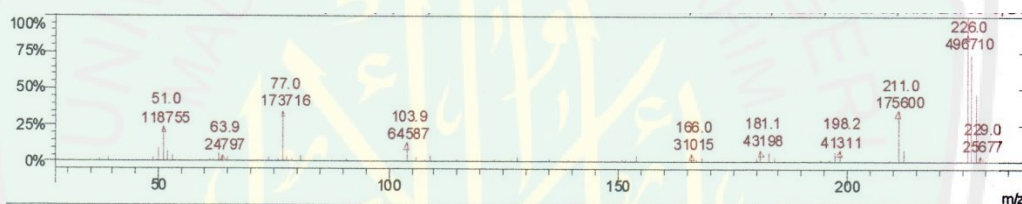


Gambar 2.3 Spektrofotometri Inframerah (FTIR) Senyawa 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol

Hasil spektra IR yang diperoleh yaitu munculnya serapan pada daerah 3442 cm^{-1} yang menunjukkan adanya gugus O-H. Serapan pada daerah sekitar 3090 cm^{-1}

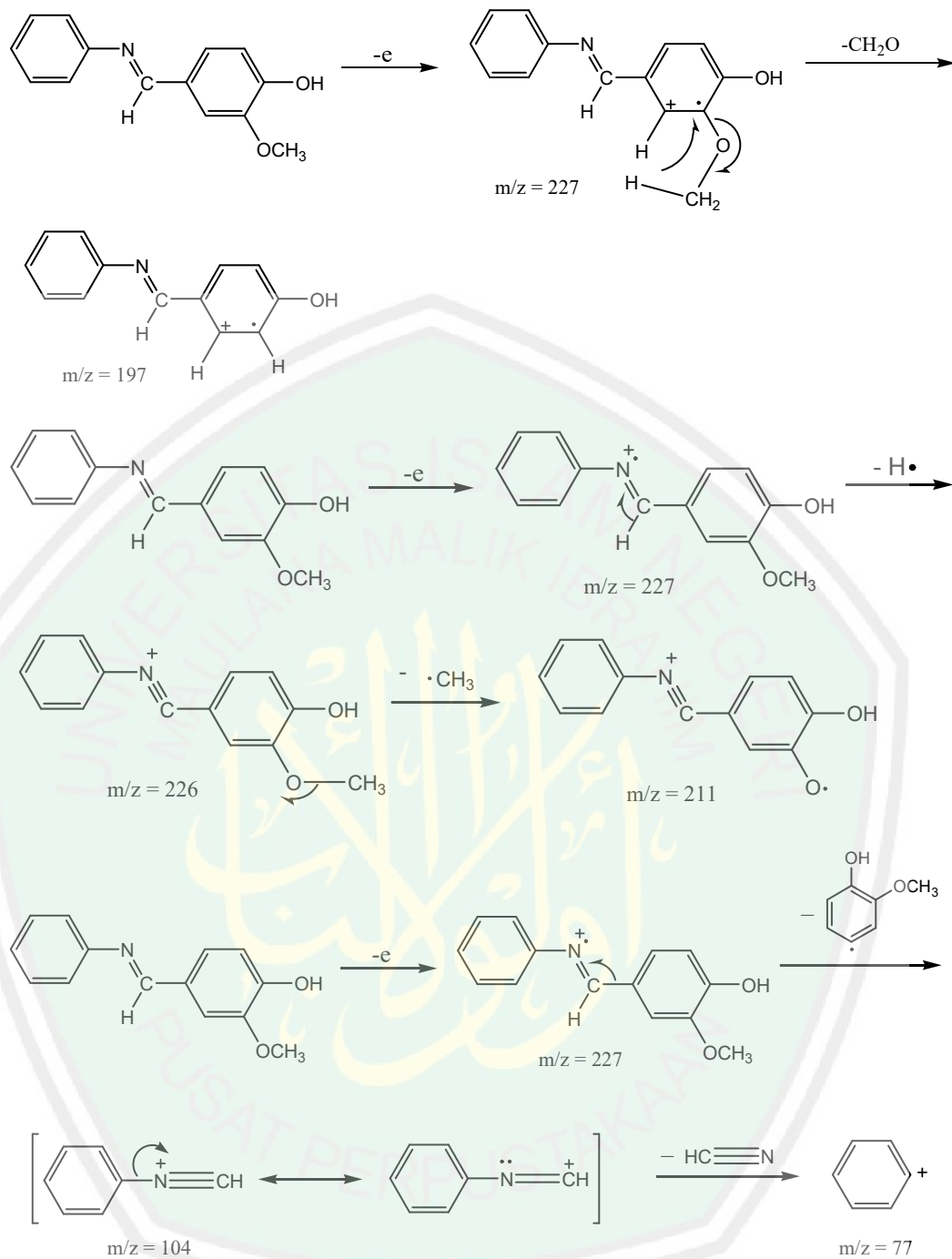
¹ menunjukkan adanya gugus C_{sp^2} -H aromatis, dan adanya serapan pada daerah 1515 cm^{-1} dan 1462 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus $C=C$ aromatis. Serapan pada $876 - 813\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya cincin aromatis. Serapan pada daerah sekitar 2960 cm^{-1} dan 2840 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus C_{sp^3} -H, dan serapan pada daerah 1428 cm^{-1} yang menunjukkan adanya gugus $-CH_3$. Serapan pada daerah 1285 cm^{-1} dan 1030 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus C-O-C. Terakhir adanya serapan pada daerah 1585 cm^{-1} yaitu merupakan serapan gugus $C=N$ (imina).

Selain data FTIR, adanya senyawa 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol juga didukung dengan data MS seperti pada Gambar 2.4:



Gambar 2.4 Spektrofotometri massa (MS) dari senyawa 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol

Spektra massa pada Gambar 2.2 dengan waktu retensi 24,132 menit memiliki *base peak* $m/z = 226$ dan ion molekular $m/z = 227$, sehingga dari hasil tersebut dapat diketahui bahwa senyawa dengan massa 227 adalah senyawa target yaitu senyawa 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa target telah berhasil disintesis dengan pola fragmentasi sebagai berikut :



Gambar 2.5 fragmentasi dari senyawa 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol

2.5 Spektrofotometri Infra Merah

Spektrofotometer FTIR merupakan alat untuk mendeteksi gugus fungsional, mengidentifikasi senyawaan dan menganalisis campuran. Banyak pita absorpsi yang terdapat dalam daerah yang disebut daerah “sidik jari” spektrum. Spektrum

FTIR suatu sampel dapat diketahui letak pita serapan yang dikaitkan dengan adanya suatu gugus fungsional tertentu (Underwood dan Day, 2002). Spektrofotometer FTIR (fourier transform infrared spectrofometer) merupakan suatu instrument yang digunakan untuk analisis gugus fungsi suatu senyawa dengan memanfaatkan radiasi pada daerah infra merah. Apabila seberkas sinar infra merah dilewatkan melalui cuplikan senyawa organik, maka sejumlah frekuensi diserap sedangkan sebagian frekuensi yang lain diteruskan atau ditransmisikan. Daerah spectra pada instrument FTIR dibagimenjadi 3, yaitu daerah dekat (antara 0,8-2,5 μm atau 12.500-4.000 cm^{-1}), daerah tengah (antara 2,5-25 μm atau 4000-400 cm^{-1}), dan daerah jauh (antara 25-1.000 μm atau 400-10 cm^{-1}) (Gandjar dan Rohman, 2007).

Apabila suatu molekul organik mengabsorbsi energy radiasi elektromagnetik infra merah maka akan terjadi vibrasi pada molekul tersebut. Energi yang dibutuhkan antara satu molekul dengan yang lain untuk bervibrasi berbeda sehingga akan menghasilkan spektra yang berbeda pula (Underwood, 1986). Cara identifikasi senyawa yaitu dengan mencocokkan hasil spektera dengan tabel korelasi. Tabel untuk serapan IR dapat dilihat pada Tabel 2.1 dibawah ini :

Tabel 2.1 Serapan Inframerah dari beberapa gugus fungsi (Khopkar, 2003)

| Gugus Fungsi | Senyawa | Frekuensi (Cm ⁻¹) |
|--------------|----------|-------------------------------|
| CH | Alkana | 2853-2962 |
| | Alkena | 3010-3095 |
| | Alkuna | 3300 |
| | Aromatik | 3030 |
| | Aldehida | 2700-2900 |
| OH | Alkohol | 3550-3200 |
| | Fenol | 3244 |
| C-O-C | Eter | 1150-1085 |
| C=O | Keton | 1675-1725 |
| | Aldehida | 1720-1740 |
| C=C | Aromatik | 1475 dan 1600 |
| C=N | imina | 1480-1690 |

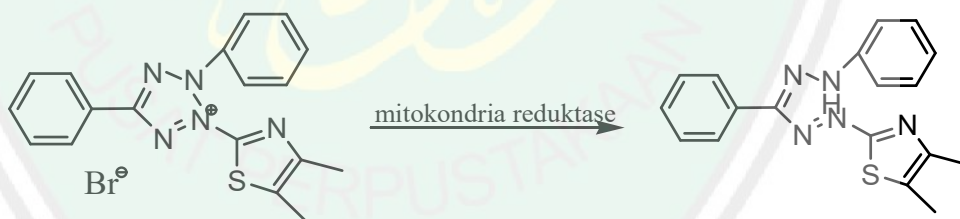
Purwono dkk (2013), dalam penelitiannya menyatakan bahwa senyawa 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol akan memberikan serapan IR gugus -O-H yang melebar pada rentang panjang gelombang 3000-3500 cm⁻¹, C_{sp2}-H aromatis pada 3086 cm⁻¹ dan C_{sp3}-H pada 2900 cm⁻¹ dan 1427 cm⁻¹, C=N pada 1581 cm⁻¹, C=C aromatis pada 1512 cm⁻¹, C-O-C pada 1288-1026 cm⁻¹, serta serapan aromatis terdistribusi pada rentang 871-810 cm⁻¹.

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

Metode uji MTT digunakan dalam penelitian ini karena memiliki kelebihan yaitu relatif cepat, sensitif, akurat, digunakan untuk mengukur sampel dalam jumlah besar dan hasilnya bisa untuk memprediksi sifat sitotoksik suatu bahan. Dasar uji enzimatik MTT adalah dengan mengukur kemampuan sel hidup berdasarkan aktivitas mitokondria dari kultur sel. Uji MTT merupakan uji yang sensitif, reaksi MTT merupakan reaksi reduksi selular yang didasarkan pada

pemecahan garam tetrazolium MTT berwarna kuning menjadi kristal formazan berwarna biru keunguan (Basmal, 2009). Prinsip uji MTT adalah mengukur aktivitas seluler berdasarkan kemampuan enzim mitokondria reduktase pada mitokondria dalam mereduksi garam Methylthiazol Tetrazolium (MTT) membentuk kristal formazan berwarna biru. Konsentrasi formazan yang berwarna biru dapat ditentukan secara spektrofotometri visibel dan berbanding lurus dengan jumlah sel hidup karena reduksi hanya terjadi ketika enzim reduktase yang terdapat dalam jalur respirasi sel pada mitokondria aktif (Mosman, 1983).

Intensitas warna ungu yang terbentuk proporsional dengan jumlah sel hidup, sehingga jika intensitas warna biru semakin besar, maka jumlah sel hidup semakin banyak (Mosman, 1983). Absorbansi larutan berwarna ini kemudian dapat diukur menggunakan ELISA *reader* pada panjang gelombang antara 500 dan 600 nm, yang mana semakin besar absorbansi menunjukkan semakin banyak jumlah sel yang hidup. Reaksi reduksi MTT dapat dilihat pada Gambar 2.6 (Meiyanto, dkk., 1999):



Gambar 2.6 Reaksi Reduksi MTT menjadi Formazan

Uji MTT digunakan untuk menentukan parameter nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} menunjukkan nilai konsentrasi yang menghasilkan hambatan proliferasi sel 50 % dan menunjukkan potensi ketoksikan suatu senyawa terhadap sel. Nilai tersebut merupakan patokan untuk melakukan uji pengamatan kinetika sel. Nilai IC_{50}

menunjukkan potensi suatu senyawa sebagai sitostatik. Semakin besar harga IC_{50} maka senyawa tersebut semakin tidak toksik (abcam, 2007). Menurut Lisdawati (2002), suatu ekstrak dianggap toksik terhadap sel kanker jika memiliki nilai IC_{50} kurang dari 1000 ppm.

Microplate reader atau *plate reader* merupakan suatu instrument yang digunakan untuk mendeteksi sampel kimia, fisika, atau biologis dalam ukuran mikro. Alat ini umumnya digunakan dalam penelitian obat, validasi, dan banyak lagi yang umumnya digunakan dalam bidang farmasi, bioteknologi, dan akademik. Format *microplate* yang umum digunakan yaitu dengan 96 sumur yang terdiri dari 12 kolom dan 8 baris. Pengukuran absorbansi dapat dilakukan dengan *microplate reader*. Pembacaan absorbansi suatu sampel dimanfaatkan untuk uji ELISA, kuantifikasi protein dan asam nukleat, serta uji terhadap aktivitas enzim. Prinsip kerja *microplate reader* tidak jauh berbeda dengan spektrofotometri. Sumber cahaya menyinari sampel yang akan diukur dengan panjang gelombang tertentu (diatur dengan filter cahaya atau sebuah monokromator) dan kemudian detector menghitung banyaknya cahaya awal yang ditransmisikan oleh sampel. Banyaknya cahaya yang ditransmisikan berhubungan dengan konsentrasi molekul akan dicari (Yudha, 2010).

2.7 Sintesis Senyawa Basa Schiff 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol Menurut Prespektif Islam

Manusia adalah makhluk ciptaan Allah SWT yang sempurna. Allah menciptakan manusia tidak hanya menganugerahi indra, akan tetapi juga

menganugerahi akal sehingga manusia dapat berfikir. Seperti yang terkandung dalam surat an-nahl 28 :

Artinya: (yaitu) orang-orang yang dimatikan oleh Para Malaikat dalam Keadaan berbuat zalim kepada diri mereka sendiri, lalu mereka menyerah diri (sambil berkata); "Kami sekali-kali tidak ada mengerjakan sesuatu kejahatanpun". (Malaikat menjawab): "Ada, Sesungguhnya Allah Maha mengetahui apa yang telah kamu kerjakan".

Manusia diberikan penglihatan, pendengaran dan hati kepada manusia agar manusia dapat bersyukur sehinggalah manusia mampu untuk belajar. Berfikir adalah sebagai media untuk mendekatkan diri kepada Allah SWT karena dengan berfikir, manusia dapat menyadari dan memahami betapa Maha Berkuasa Allah SWT dalam menciptakan alam semesta. Seperti yang telah dijelaskan dalam surat Arrad 19 yaitu:

Artinya: Adakah orang yang mengetahui bahwasanya apa yang diturunkan kepadamu dari Tuhanmu itu benar sama dengan orang yang buta? hanyalah orang-orang yang berakal saja yang dapat mengambil pelajaran.

Dalam ayat tersebut bahwa orang yang percaya dan mengetahui bahwa apa yang diturunkan oleh Allah SWT itu benar dan tanpa ada keraguan berbeda dengan orang yang buta hatinya terhadap kebenaran dan kekuasaan Allah SWT.

Sehingga hanya orang yang berakal yang dapat mengambil hikmah dari apa yang telah Allah SWT turunkan.

Manusia juga diwajibkan untuk menuntut ilmu, sebab menuntut ilmu menunjukkan kebenaran dan meninggalkan kebodohan. Seperti dalam hadis dibawah ini, yaitu:

مَنْ خَرَجَ فِي طَلْبِ الْعِلْمِ فَهُوَ فِي سَبِيلِ اللَّهِ حَتَّى يَرْجِعَ

Artinya : *"Barang siapa yang keluar untuk mencari ilmu maka ia berada di jalan Allah hingga ia pulang"*. (HR. Turmudzi)

Menuntut ilmu merupakan kewajiban dan berdosa bagi yang meninggalkannya. Keyakinan yang demikian telah membentuk dalam diri umat yang beriman. Seperti dalam salah satu ayat Al-Qur'an menjelaskan bahwa ketaatan dalam beriman dan yang berilmu akan dinaikkan derajatnya, yaitu surat Al-Mujaadila ayat 11:

.....

Artinya: *.....niscaya Allah akan meninggikan orang-orang yang beriman di antaramu dan orang-orang yang diberi ilmu pengetahuan beberapa derajat. dan Allah Maha mengetahui apa yang kamu kerjakan.*



BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian Pelaksanaan

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari 2019 di Laboratorium Instrumentasi Jurusan Kimia, Fakultas Sain dan Teknologi, Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang dan Laboratorium Parasitologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Gadjah Mada.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan diantaranya *96-well plate*, *Conical Tube*, *Yellow tip*, *Blue tip*, *Culture Dish*, *vortex*, mikropipet 100, 1000 μ L, *Hemocytometer*, *ELISA reader*, Instrument FTIR.

3.2.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah senyawa 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol dari penelitian sebelumnya, vanilin, anilin, PBS, tripsin-EDTA 1x (tripsin 0,25 %), media kultur DMEM, DMSO, MTT 5 mg/mL (50 mg MTT dan 10 mL PBS), SDS 10 % dalam 0,1 N HCl.

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif, yaitu untuk mengetahui aktivitas senyawa 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol sebagai antikanker dengan membandingkan dengan reaktannya yaitu vanilin dan anilin. Sampel dari hasil sintesis vanilin dengan anilin dilakukan identifikasi menggunakan FTIR untuk

mengetahui gugus fungsi senyawa 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol. Kemudian dilanjutkan uji aktivitas antikanker terhadap sel kanker payudara MCF-7 dengan metode MTT secara *in-vitro*. Kemudian analisis data dengan data sekunder berupa jurnal-jurnal penelitian tentang senyawa basa schiff.

3.4 Tahapan Penelitian

Tahapan penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Identifikasi senyawa 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol dengan FTIR.
2. Uji aktivitas antikanker dengan metode MTT.
3. Analisis data

3.5 Pelaksanaan Penelitian

3.5.1 Identifikasi Senyawa 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol dengan Spektrofotometri Infra Merah (Hanapi, 2017)

Senyawa basa schiff diperoleh dari hasil penelitian sebelumnya digerus dengan kalium bromida (KBr) dalam mortar agate, kemudian campuran dipres dan diletakkan pada *cell holder* yang dilewati berkas sinar. Selanjutnya dibuat spektra IR pada rentang bilangan gelombang $4000\text{ cm}^{-1} - 400\text{ cm}^{-1}$ dan dicatat hasil spektra yang dihasilkan dan dianalisis.

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

3.5.2.1 Penyiapan Sel

Sel kanker payudara MCF-7 diambil dari koleksi Universitas Gajah Mada (UGM). Sel kanker dikeluarkan dari *freezer* (-80°C), dihangatkan dalam penangas air pada suhu 37°C selama 2 – 3 menit. Setelah mencair, sel dipindahkan ke dalam *culture dish* yang telah berisi 10 ml media RPMI (Roswell Park Memorial

Institute), diinkubasi selama 3 – 4 jam pada suhu 37 °C/ 5 % CO₂, kemudian disentrifugasi untuk memisahkan sel kanker (pelet) dengan media RPMI. Pelet yang terbentuk diamati dibawah mikroskop untuk melihat apakah sel melekat di dasar *culture dish* dan bila jumlah sel di dalam *culture dish* mencapai 70 – 85 % (konfluen), dilakukan panen sel.

Tahapan panen sel yakni, dicuci sel 2 x dengan PBS (Phosphate Buffered Saline), ditambahkan trispsin-EDTA (EthyleneDiamineTetraAcetic) secara merata dan diinkubasi selama 3 menit, ditambahkan media RPMI 5 mL untuk menginaktifkan sel serta dilakukan resuspensi, diamati dibawah mikroskop *inverted* , kemudian diinkubasi dalam inkubator CO₂ selama 24 jam.

3.5.2.2 Perhitungan Sel Kanker

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

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

..... (3.1)

3.5.2.3 Peletakan Sel pada *Plate*

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

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

... (3.2)

Diletakkan sel dan ditambahkan media RPMI sesuai perhitungan ke dalam *plate 96-well* dan diinkubasi kembali selama 24 jam dalam inkubator CO₂, akan tetapi 12 sumuran bagian bawah disisakan untuk kontrol sel dan kontrol media.

3.5.2.4 Pembuatan Larutan Sampel dan Pemberian Larutan Sampel pada

Plate

Ditimbang larutan senyawa 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol, vanilin dan anilin sebanyak 20 mg dalam wadah dan vanilin sebanyak 10 mg, dilarutkan dalam 100 µL DMSO (Dimethyl Sulfoxide) dan diaduk dengan vortex agar lebih cepat dalam melarutkan sampel, sampel anilin dipipet sebanyak 50 µL, diambil sel dari inkubator, kemudian dibuang media sel dengan cara dibalikkan *plate* 180° di atas tempat pembuangan dan ditekan secara perlahan di atas tisu untuk meniriskan sisa cairan, dimasukkan 100 µL PBS ke dalam semua sumuran yang terisi sel dan dibuang kembali, lalu dimasukkan larutan sampel sebanyak 100 µL dengan konsentrasi 10.000; 5.000; 2.500; 1.250; 625 ppm dan diulang sebanyak 3 x (triplo), diinkubasi kembali selama 24 jam.

3.5.2.5 Pemberian Larutan MTT

Dibuang media sel dan dicuci dengan PBS, ditambahkan larutan MTT 100 µL ke setiap sumuran kecuali kontrol sel. Inkubasi kembali selama 4 jam di dalam inkubator (sampai terbentuk formazan). Apabila formazan telah terbentuk diamati kondisi sel dengan mikroskop *inverted*, lalu ditambahkan *stopper* SDS (Sodium Lauryl Sulfate) 10 % dalam 0,1 N HCl, dibungkus *plate* dengan aluminium foil dan diinkubasi kembali di tempat gelap (suhu ruangan) semalam.

Langkah selanjutnya yakni pembacaan nilai absorbansi dengan ELISA *reader* untuk mengetahui nilai IC₅₀ setiap ekstrak. Tahapan awalnya ini dihidupkan ELISA *reader* dan ditunggu hingga *prosessing* selesai, dibuka pembungkus *plate* kemudian dimasukkan ke ELISA *reader*, dibaca absorbansi masing-masing sumuran dengan panjang gelombang 595 nm, dimatikan kembali ELISA *reader*. Lalu dihitung prosentase sel hidup dengan persamaan sebagai berikut:

$$\text{prosentase sel hidup} = \frac{(\text{absorbansi perlakuan} - \text{absorbansi kontrol media})}{\text{absorbansi kontrol negatif} - \text{absorbansi kontrol media}} \times 100\%$$

..... (3.3)

Data dari prosentase sel hidup kemudian dianalisis untuk mengetahui nilai IC₅₀ dengan Microsoft Excel.

3.5.3 Analisis Data

Data yang diperoleh adalah spektrum FTIR dari senyawa 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol dan aktivitas antikanker payudara MCF-7. Selanjutnya data dianalisis menggunakan Microsoft Excel. Penggunaan Microsoft Excel adalah untuk mengetahui nilai IC₅₀ pada sampel.

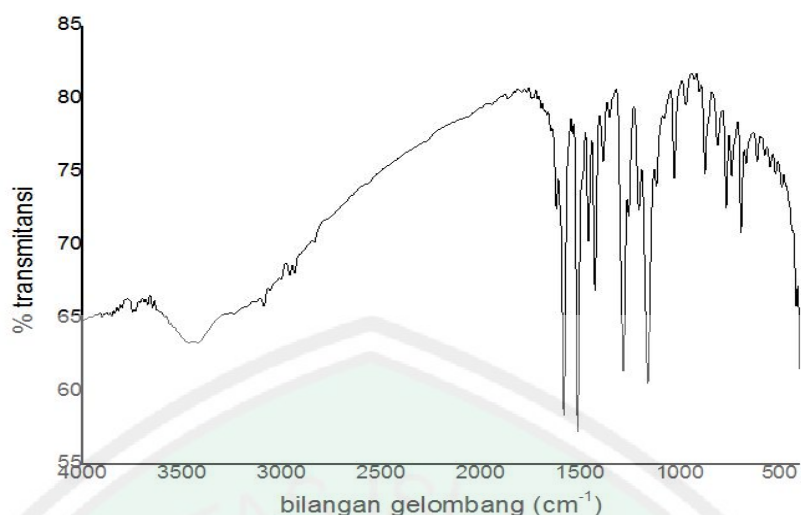
BAB IV

PEMBAHASAN

Bab ini menyajikan tentang hasil identifikasi dengan menggunakan instrumen FTIR untuk mengetahui struktur senyawa 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol yang digunakan dalam penelitian ini. Pelaksanaan dan hasil uji aktivitas sebagai antikanker dari senyawa 2-metoksi-4-((fenilimino)metil) juga dipaparkan dalam bab ini. Pembahasan selanjutnya adalah tentang pemanfaatan senyawa 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol sebagai obat dalam persepektif islam.

4.1 Identifikasi Senyawa 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol dengan Spektrofotometri Infra Merah

Identifikasi senyawa 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol dalam penelitian ini menggunakan instrumen FTIR. Identifikasi menggunakan instrumen FTIR dilakukan untuk mengetahui gugus fungsi yang terdapat dalam senyawa 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol yang telah disintesis dan disimpan selama \pm 1,5 tahun. Sampel dianalisis dengan menggunakan instrumen FTIR pada rentang bilangan gelombang $4000\text{cm}^{-1} - 400\text{cm}^{-1}$. Menurut Sastrohamidjojo (2013), kebanyakan senyawa organik dapat dicatat pada daerah dalam bilangan gelombang tersebut dimana serapan gugus fungsi pada umumnya seringkali terjadi. Hasil identifikasi menggunakan FTIR dalam penelitian ini disajikan pada Gambar 4.1 yang menunjukkan spektra dari senyawa 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol.



Gambar 4.1. Spektra FTIR Senyawa 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol

Hasil spektra pada gambar 4.1 menunjukkan adanya serapan gugus C=N - pada bilangan gelombang 1584 cm^{-1} , dimana bilangan gelombang tersebut merupakan serapan khas dari gugus C=N -. Hal ini sesuai dengan pendapat Purwono (2013) yang menyatakan bahwa serapan khas pada daerah 1581 cm^{-1} merupakan serapan dari gugus C=N -. Serapan gugus fungsi dari senyawa 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol ditunjukkan pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Gugus Fungsi dan Bilangan Gelombang

| No | Gugus Fungsi dan Vibrasi | bilangan gelombang (cm^{-1}) | No | Gugus Fungsi dan Vibrasi | bilangan gelombang (cm^{-1}) |
|----|--|---|----|---------------------------|---|
| 1 | O-H <i>stretch</i> | 3467 | 7 | CH ₃ | 1428 |
| 2 | C _{sp} ² -H <i>stretch</i> | 3060 | 8 | C-O-C eter <i>stretch</i> | 1285-1030 |
| 3 | C _{sp} ³ -H <i>stretch</i> | 2853 | 9 | O-H <i>tersier</i> | 1162 |
| 4 | C=N <i>stretch</i> | 1584 | 10 | cincin aromatis | 812 |
| 5 | C=C <i>stretch</i> aromatik | 1515 | 11 | Cincin aromatis | 875 |
| 6 | <i>overtone</i> | 200-1800 | | | |

Berdasarkan Tabel 4.1 tersebut, dapat dilihat munculnya serapan melebar yang khas pada daerah 3467 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus fungsi O-H dan pada daerah 1162 cm^{-1} adanya O-H tersier. Adanya pita serapan pada daerah sekitar 3060 cm^{-1} menunjukkan rentangan dari gugus $C_{sp^2}\text{-H}$ aromatik, dan hal ini didukung dengan terjadinya serapan pada daerah 1515 cm^{-1} dan sekitar 1461 cm^{-1} yang menunjukkan adanya gugus $C=C$ aromatik. Selain itu, serapan pada 812 cm^{-1} dan 875 cm^{-1} dari semua produk menunjukkan adanya cincin aromatis. Serapan lemah pada daerah sekitar 2853 cm^{-1} karena adanya rentangan gugus $C_{sp^3}\text{-H}$, dan ini didukung oleh serapan kuat pada daerah 1428 cm^{-1} yang menunjukkan adanya gugus $-\text{CH}_3$ (metil). Serapan kuat pada daerah sekitar $1285\text{-}1286\text{ cm}^{-1}$ dan 1026 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus $C\text{-O}\text{-C}$ eter pada semua produk dan adanya *overtone* pada daerah $2000\text{-}1800\text{ cm}^{-1}$.

4.2 Uji Aktivitas Antikanker dengan Metode MTT

Pengujian antikanker ini dilakukan untuk mengetahui potensi senyawa 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol dalam menghambat pertumbuhan sel kanker dalam variasi konsentrasi yaitu 10000; 5000; 2500; 1250; 625 $\mu\text{g/mL}$. Uji aktivitas antikanker ini dilakukan secara *in vitro* menggunakan sel kanker payudara MCF-7 dengan metode MTT (*Microculture tetrazolium*) assay. Menurut Goodwin, dkk (1995), Metode MTT merupakan pengujian aktivitas sel berdasarkan perubahan warna pada reduksi garam tetrazolium ke formazan. Perubahan warna yang terjadi yaitu dari berwarna kuning menjadi berwarna keunguan. Berdasarkan perubahan warna tersebut dapat diketahui jumlah sel hidup, semakin besar jumlah sel yang berwarna keunguan maka semakin banyak

jumlah sel yang hidup. Jika intensitas warna ungu semakin besar, maka jumlah sel hidup semakin banyak (Mosman, 1993).

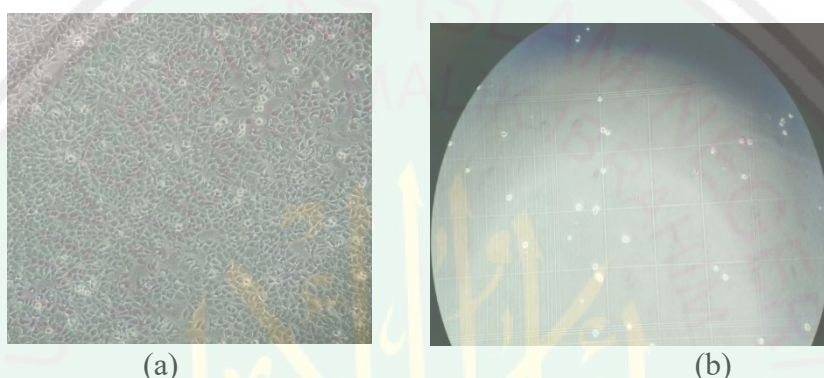
Pengujian aktivitas antikanker ini melalui lima tahap yaitu penyiapan sel kanker, panen sel, uji sitotoksitas, pemberian reagen MTT dan pembacaan absorbansi menggunakan *ELISA Reader*.

Penyiapan sel kanker merupakan tahap menghidupkan sel kembali yang inaktif serta ditumbuhkan kembali sehingga sel mencapai konfluen dengan menambahkan media DMEM. Sel dikatakan konfluen apabila sel sudah menempel dan berkembang memenuhi wadah kultur (Djati, 2006). Pada penelitian ini, sel menempel pada wadah kultur setelah diberikan media DMEM. Media DMEM ini berfungsi sebagai sumber nutrisi agar sel dapat bertahan hidup. Media kultur berfungsi sebagai sumber nutrisi dan respirasi, serta memberi dukungan pada kehidupan sel yang dibiakkan agar dapat tumbuh (Bambang, 2009).

Selanjutnya media kultur dibuang dan ditambahkan dengan PBS sebagai pencuci wadah kultur dari media DMEM yang mengandung serum FBS. Serum FBS ini adalah serum yang dapat menghambat kerja tripsin (Freshney, 2000). Kemudian diberikan tripsin pada sel yang berfungsi agar sel tidak dapat melekat pada dasar wadah kultur dan mengapung. Setelah sel dalam keadaan konfluen maka dapat dilakukan pemanenan sel.

Panen sel merupakan tahapan perhitungan sel hidup. Perhitungan sel hidup menggunakan alat *hemocytometer* dengan pengamatan dibawah mikroskop *inverted* untuk mengetahui jumlah sel yang akan dipakai untuk uji sitotoksitas. Hasil perhitungan sel hidup diperoleh sebanyak $72,5 \times 10^4$ mL dan sel yang

diletakkan pada *plate* sebanyak 1,37 mL, media DMEM ditambahkan pada sel sampai volume 10 mL yang dapat dilihat pada lampiran L.2. sel diletakkan pada sumuran sebanyak 100 μ L. Sel diletakkan di *incubator* selama 24 jam untuk menjaga kondisi sel. Penentuan waktu inkubasi adalah untuk mencegah berkurangnya ketersediaan nutrisi yang dikonsumsi oleh sel. Adapun morfologi dari sel MCF-7 ketika dihitung dengan *hemocytometer* dapat dilihat pada Gambar 4.2.

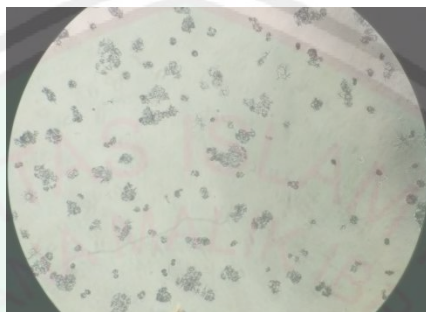


Gambar 4.2 (a) Morfologi sel MCF-7 sebelum dihitung dan gambar (b) Morfologi sel MCF-7 saat dihitung dengan *hemocytometer*

Tahapan pembuatan larutan sampel dilakukan dengan menggunakan pelarut Dimetilsulfoksida (DMSO) yang merupakan cairan tak berwarna yang memiliki rumus molekul $(\text{CH}_3)_2\text{SO}$, pelarut ini dapat melarutkan senyawa polar maupun nonpolar pada sampel (Morshed, dkk, 2012). Pelarut DMSO digunakan dalam penelitian ini bertujuan agar sampel dapat larut dalam media kultur. Pada penelitian ini menggunakan variasi konsentrasi yaitu 10000; 5000; 2500; 1250; 625 $\mu\text{g/mL}$. Menurut CCRC (2009) penentuan variasi konsentrasi ini harus merupakan kelipatan dari konsentrasi tersebut sehingga hasil yang diperoleh sesuai dengan standart. Kemudian dimasukkan larutan sampel sebanyak 100 μ L

kedalam *plate* yang berisi sel dan media DMEM. Diinkubasi kembali selama 24 jam untuk memaksimalkan interaksi antara sel dan sampel uji.

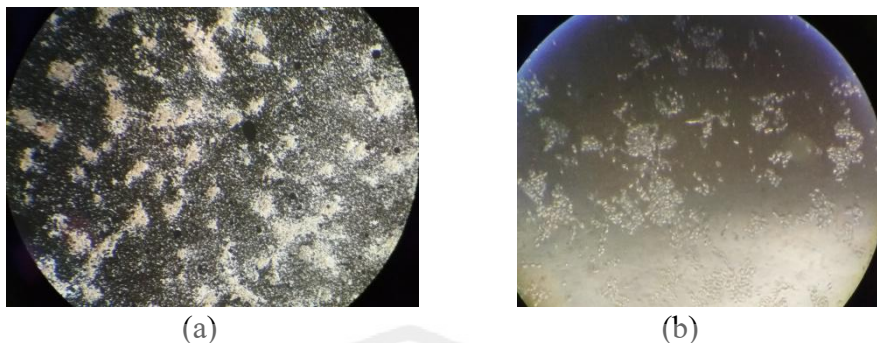
Sel diamati dibawah mikroskop *inverted* setelah diinkubasi untuk mengetahui sel yang telah bereaksi dengan sampel. Hasil pengamatan diketahui bentuk sel yang telah ditambahkan larutan sampel dapat dilihat pada Gambar 4.3.



Gambar 4.3 Morfologi Sel setelah Ditambahkan Sampel

Plate yang berisi sel dan larutan sampel ditambahkan larutan MTT sebanyak 100 μL pada semua sumuran termasuk kontrol sel dan kontrol media. Kemudian diinkubasi selama 4 jam untuk memaksimalkan terbentuknya kristal formazan. Setelah itu, ditambahkan SDS sebanyak 100 μL untuk melarutkan kristal formazan yang tidak larut dalam air dan diinkubasi kembali selama 24 jam dalam suhu ruang. Pembentukan kristal formazan diukur absorbansinya dengan menggunakan ELISA *reader* pada panjang gelombang 595 nm sesuai dengan CCRC (2009). Penggunaan pada panjang gelombang 595 nm karena warna yang tampak pada larutan adalah biru keunguan yang akan menyerap warna kuning dari spektrum sinar tampak (Effendy, 2007).

Pengamatan morfologi sel setelah diamati dibawah mikroskop *inverted* pada sampel senyawa dengan konsentrasi 10000 dan 625 $\mu\text{g/mL}$. Pada konsentrasi 10000 $\mu\text{g/mL}$ memiliki jumlah sel yang mati lebih banyak dibandingkan dengan konsentrasi 625 $\mu\text{g/mL}$. Hal ini dapat dilihat pada Gambar 4.4.



Gambar 4.4 Morfologi sel MCF-7 setelah diamati dibawah mikroskop *inverted*. (a) pada konsentrasi 10000 $\mu\text{g/mL}$ dan (b) pada konsentrasi 625 $\mu\text{g/mL}$

Aktivitas sampel uji dianalisis menggunakan Ms. Excel dengan analisis probit yang digunakan untuk menentukan nilai IC_{50} . Hasil yang diperoleh yaitu sebesar 2565,546 $\mu\text{g/mL}$. Hasil IC_{50} dari senyawa 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol dibandingkan dengan reaktannya yaitu vanilin dan anilin. Hasil IC_{50} yang diperoleh yaitu pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Nilai IC_{50} Uji Aktivitas Antikanker

| Sampel | IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$) |
|--------------------------------------|---------------------------------------|
| vanilin | 193,469 |
| anilin | -0,01106 |
| 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol | 2565,546 |

Berdasarkan nilai IC_{50} pada Tabel 4.2, senyawa 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol memiliki nilai IC_{50} lebih besar daripada reaktannya sehingga dapat dikatakan bahwa senyawa tersebut tidak toksik terhadap sel kanker payudara MCF-7. Hal ini dimungkinkan karena konsentrasi yang digunakan kurang tinggi sehingga senyawa tersebut tidak dapat menghambat kerja sel kanker. Berdasarkan kurva hubungan antara konsentrasi dengan persen sel hidup dapat diketahui bahwa semakin tinggi konsentrasi larutan uji maka semakin rendah persentase kehidupan sel kanker yang terjadi (Arifianti *et al*, 2014). Suatu

senyawa dikatakan toksik apabila senyawa tersebut mampu menghambat pertumbuhan sel sebanyak 50% dari populasi sel. Dalam penelitian yang lain tentang sintesis basa schiff sebagai ligan yang dilakukan oleh Shakir (2015) dan Zafar (2015) memiliki nilai IC_{50} rendah.

4.3 Pemanfaatan Senyawa 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol Sebagai Obat dalam Persepektif Islam

Penelitian ini mengkaji tentang senyawa 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol sebagai antikanker. Mengkaji lebih lanjut tentang ciptaanNya merupakan salah satu bentuk ibadah kepada Allah SWT yaitu dengan cara menjalankan perintahNya untuk memikirkan dan merenungkan hikmah yang terkandung dalam ciptaanNya. Gelar *Ulul Albab* diberikan oleh Allah SWT kepada orang yang berfikir melalui aspek mata akal (fikir dan nadzar), observasi (pengamatan), mata hati (dzikir) dan intropeksi (muhasabah, pengayatan dan perenungan) (Syafuruddin dalam Ahmad, 2003). Sebagaimana firman Allah SWT dalam surat al Imran ayat 190 yang berbunyi :

Artinya : “Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan silihbergantinya malam dan siang terdapat tanda-tanda bagi orang-orang yang berakal.”

Semua yang ada dan terjadi di muka bumi ini tidak berjalan dengan sendirinya, melainkan dengan kehendak Allah SWT seperti manfaat serta perubahan yang terkandung dalam ciptaanNya. Melalui berfikir, merenungkan

dan menganalisis ciptaan-ciptaan Allah SWT maka akan tumbuh rasa tawakal dan berserah diri terhadap kekuasaan dan kebesaran Allah SWT. Pada penelitian ini mengkaji tentang senyawa 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol yang berpotensi sebagai antikanker terhadap sel kanker MCF-7.

Salah satu bentuk berfikir adalah dengan adanya penelitian tentang manfaat senyawa 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol sebagai antikanker payudara MCF-7. Senyawa 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol memiliki nilai IC_{50} sebesar 2565,546 $\mu\text{g/mL}$ sehingga dapat dikatakan senyawa tersebut tidak toksik terhadap sel kanker payudara MCF-7, akan tetapi pada penelitian sebelumnya senyawa 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol diketahui memiliki nilai antioksidan yaitu 281 ppm. Allah SWT berfirman dalam surat Asy Syu'araa ayat 80 :

Artinya : *"dan apabila aku sakit, Dialah yang menyembuhkan Aku."*

Pada ayat tersebut menjelaskan bahwa betapa Allah SWT adil dalam memberikan suatu penyakit beserta penawarnya. Allah SWT menciptakan segala sesuatu sesuai dengan ketentuannya, dan disertai dengan hikmah didalamnya. Kanker payudara merupakan salah satu penyakit ganas yang menyebabkan kematian, sehingga penelitian ini dilakukan untuk mencari penawar dari kanker payudara. Pada penelitian ini senyawa 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol tidak dapat digunakan sebagai antikanker akan tetapi senyawa 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol dapat digunakan sebagai antioksidan.



BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

1. Identifikasi menggunakan spektrofotometer FTIR menunjukkan adanya serapan khas imina ($-C=N-$) yaitu pada 1584 cm^{-1} .
2. Aktivitas antikanker pada sel kanker payudara MCF-7 pada senyawa 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol yaitu $2565,546\text{ }\mu\text{g/mL}$ dan tidak toksik terhadap sel kanker.

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk sintesis senyawa kompleks dari senyawa basa Schiff dan diujikan sebagai senyawa antikanker.
2. Perlu dilakukan uji antikanker terhadap sel kanker payudara yang lainnya, seperti T47D.

DAFTAR PUSTAKA

- Abcam. 2007. *T47D (Human Ductal Breast Epithelial Tumor Cell Line) Whole Cell Lysate*. <http://www.abcam.com>. Diakses tanggal 18 Mei 2015.
- Al-Maraghi, A. M. 1974. *Tafsir al-maraghi juz 23*. Semarang: CV. Toha Putra Semarang.
- Arifianti, L *et al.* 2014. Uji Aktivitas Ekstrak Biji Sirsak (*Annona muricata* L.) Terhadap Sel Kanker Mamalia Secara In Vitro. *Jurnal Farmasi dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*. Vol. 1 - No. 2 / 2014-12.
- ATCC, 2010, *MCF-7 cells*, (online), (<http://www.atcc.org>, diakses 13 Februari 2018).
- Bambang, S.T. 2009. *Metode Dasar Kultur jaringan Hewan*. Jakarta: Universitas Trisakti
- Basmal, J., Amini, S., Sugiyono, & Murniyati. 2009. *Seminar Nasional Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*. Jakarta.
- Burdall, S.E., Hanby, A.M., Lansdown, M.R., dan Speirs, V. 2003. Breast cancer cell lines : friend or foe. *Breast Cancer Research*, 5, 89–95.
- Bell SC, Couklin GL, Childress SJ, 1963. Synthesis and Characterization of new Schiff Bases and Evaluation as Corrosion Inhibitors. Iraq : Department of Chemistry University of Basrah
- Cahyana, H, dan Pratiwi, P. 2015. Sintesis Ramah Lingkungan Senyawa Imina Turunan Vanilin dan 2-Hidroksi Asetofenon Serta Uji Aktivitas Biologi dan Antioksidan. Universitas Indonesia. Pharm Sci Res ISSN 2407-2354

- CCRC. 2009. *Prosedur Tetap Uji Sitotoksik Metode MTT*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi, UGM.
- Day, R.A., dan Underwood, A.L. 1999. *Analisis Kimia Kuantitatif*. Penerjemah: Puja Atmaka, A.H. Edisi ke V. Jakarta: Erlangga.
- Depkes RI. 2009. *Pencegahan Kanker Leher Rahim dan Kanker Payudara*. Handbook.
- Djati, M.S. 2006. *Teknologi Manipulasi dan Kultur Sel Jaringan Hewan*. Malang: UB Press.
- Doyle, A., and Griffiths, J. B., 2000, *Cell and Tissue Culture for Medical Research*, John Willey and Sons, Ltd., New York.
- Effendy. 2007. *Perspektif Baru Kimia Koordinasi Jilid I*. Malang: Banyu Media Publishing.
- Fatah, A. B. A. B. A. 2010. *Shahih Thibbun Nabawi Panduan dan Metode Pengobatan Nabi SAW*. Buku. Jakarta: Pustaka Imam Ahmad.
- Febrianti, Maya, Supriatama dan Rizky Abdullah. 2014. *Kandungan Kimia dan Aktivitas Sitotoksik Ekstrak dan Fraksi Herba Anting-anting terhadap Sel Kanker Payudara MCF-7*. Universitas Padjajaran
- Freshney, LA. 2000. *Culture of Animal Cells. A Manual of Basic Technique*. Edisi ke IV. Toronto: Willey-liss
- Gandjar, I. G., dan Rohman, A., 2007, *Kimia Farmasi Analisis*, Pustaka Pelajar, Yogyakarta.

- Goodwin, C.J., Holt, S.J., Downes, S, dan Marshall, N.J., 1995. Microculture Tetrazolium Assays: A comparison Between Two New Tetrazolium Salts, XTT and MTS, *Journal Immunol Methods*, Vol. 197, No. 1, Hal: 95 – 103.
- Hanahan, D., and Weinberg, R. A., 2000, The Halmarks of Cancer, *Cell*, 100, 57-70.
- Handayani, S., Arianingrum, R., and Haryadi, W. 2011. Vanillin Structure Modification of Isolated Vanilla Fruit (*Vanilla Planifolia* Andrews) to form Vanillinacetone. *Proceedings at 14th Asian Chemical Congress 2011*, 252-257.
- Husna, 2013. Studi Toksisitas Floroanilin Berdasarkan Hubungan Kuantitatif Struktur Aktifitas (HKSA) Beberapa Amina Aromatis. *Jurnal Kimia Unand*. ISSN No. 2330-3401, Vol. 2 No.4.
- Kementerian Kesehatan RI. (2013). Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS). Jakarta: Badan Litbang Kemenkes RI.
- Khopkar, S.M. 2008. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Jakarta: UI Press.
- King, R. J. B., 2000, *Cancer Biology*, Second Edition, Person Education Limited, London.
- Kumar, R., Sherma, P.K., dan Meshra, P.S. 2012. A Review on the Vanillin Derivates Showing Various Biological Activities. *International Journal of Pharm Tech Research*, Vol. 4, No. 1, page 266-279

Kusumaningtyas, E.D. 2008. Sitotoksisitas Ekstrak Etanolik Daun Sirih Merah (*Piper crocatum Ruiz & Pav*) Terhadap Kultur Sel Raji, *Skripsi*. Yogyakarta: Universitas Sanata Dharma.

Lindley and Michaud. 2005. *Pharmacotherapy: A Patophysiological Approach*. New York :McGraw Hill Company.

Lisdawati, V. 2002. *Berdasar Uji Penapisan Farmakologi pada Buah Mahkota Dewa*. Fakultas Kedokteran. Yogyakarta: UGM
<http://www.farmakologi.fk.ugm.ac.id/200/05/30/berdasar-uji-penapisan-farmakologi-pada-buah-mahkota-dewa/>. Diakses tanggal 9 Mei 2015.

Li, xin *at al.* 2015. *Synthesis Characterization and Anticancer Activity of Two Ternary Copper (II) Schiff Base Complexes*. *Inorganica Chimica Acta* 432 : 198-207.

Mangan, Y. 2010. *Solusi Sehat Mencegah dan Mengatasi Kanker*. Jakarta: Agromedia Pustaka.

Meiyanto, M., Kudo, G., Lee, Y., Yang, T.J., Gelboin, H.V., Gonzalez, F.J. 1999. Targeted Disruption of the Microsomal Epoxide Hydrolase Gene. *The Journal of Biological Chemistry*. 274. 23963-23968.

Morshed, H., *et al.* 2012. Antimicrobial and Cytotoxic of the Methanol Extract of (*Peaderia foetida Linn*). *Journal of Applied Parmaceutical Science*, 2(1): 77-80.

Mosman, T. 1983. Rapid Colorimetric Assay for Cellular Growth and Survival: Application to Proliferation and Cytotoxicity Assays. *Journal of Immunological Method*. Volume 16, (1-2): 55-63.

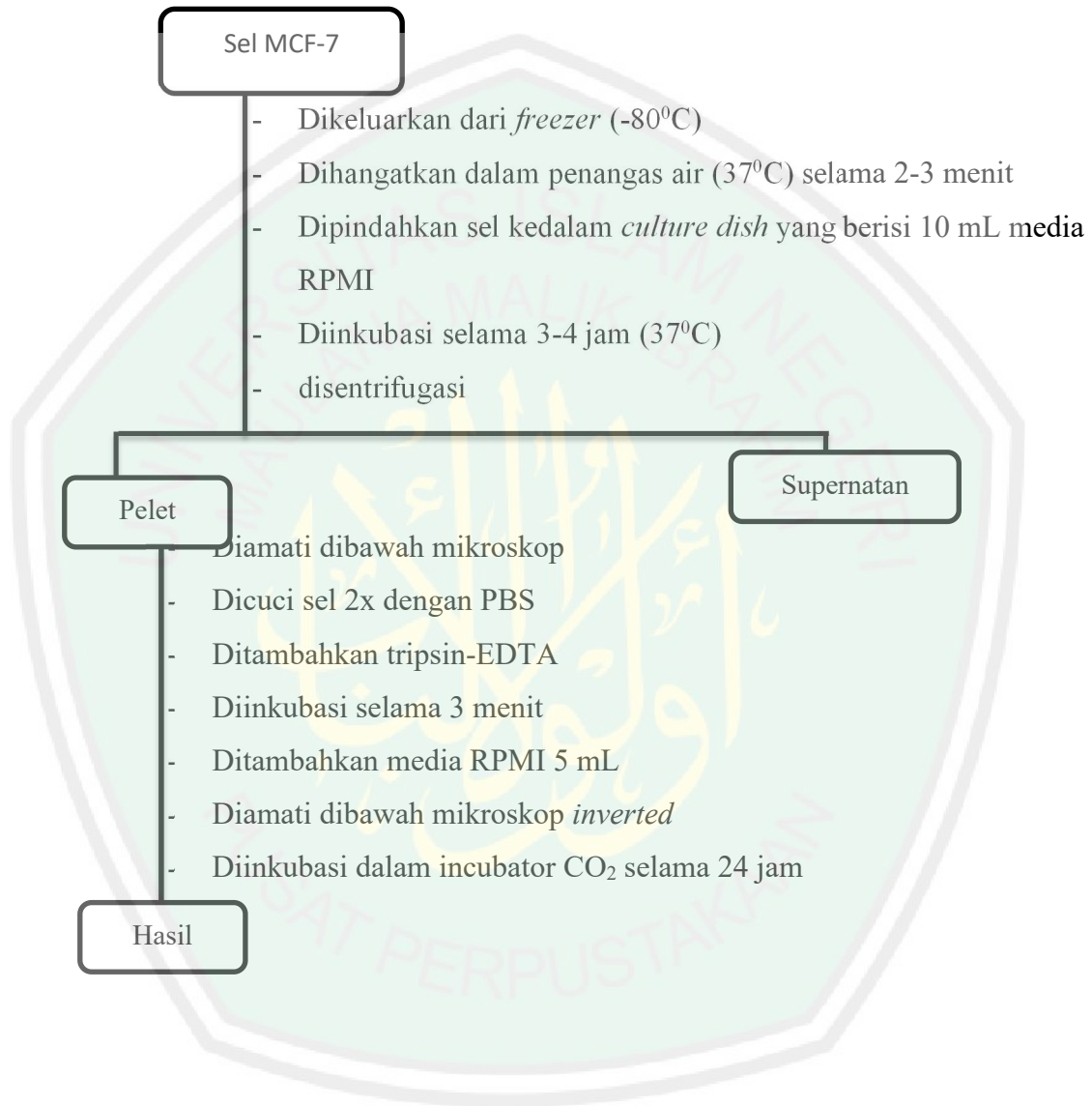
- O'Neil, M.J. 2013. *The Merck Index - An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals*. Cambridge. UK: Royal Society of Chemistry, p. 1843.
- Pfeiffer TJ. 2004. Phytoestrogens may inhibit proliferation of MCF-7 cells, an estrogen-responsive breast adenocarcinoma cell line [Tesis]. Worcester: Worcester Polytechnic Institute.
- Purwono. Bambang, *et al.* 2013. *Syntheses Of azo-Imine Derivatives From Vanilin As An Acid Base Indicator*. Indo. J. Chem. 13(1), 1-6.
- Shakir, M, *at al.* 2015. Synthesis, Characterization and Cytotoxicity of Rare Earth Metal ion Complexes of N,N'-bis-(2-thiophenecarboxaldimine)3,3'-diaminobenzidene, Schiff Base Ligan. *Journal of Molecular Structure* 1102 (2015) 108-116
- Sastrohamidjojo, hardjono. 2013. *Dasar-dasar Spektroskopi*. Yogyakarta : Universitas Gadjah Mada Press
- Underwood, A. L. dan Day, R. A. 2002. *Kimia Analisis Kuantitatif*. Jakarta: Erlangga
- Zafar, H, *at al.* 2014. Synthesis and Characterization of Schiff Base Octzamacrocylic Complexes and Their Biological studies. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 142 (2015) 8–19
- Zarei, M., and Jarrahpour, A. 2011. Green and Efficient Synthesis of Azo Schiff Bases. *Iranian Journal of Science & Technology* A3, 235-242.

LAMPIRAN

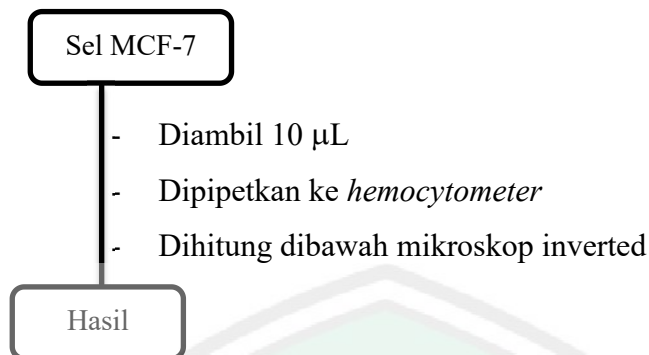
Lampiran 1. Diagram Alir

L.1 Uji Aktivitas Antikanker dengan Metode MTT

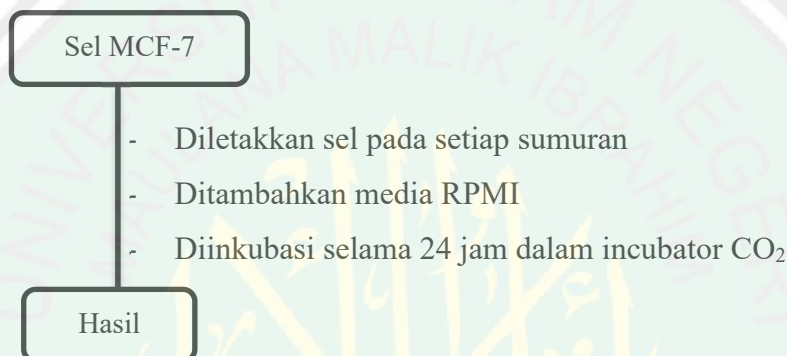
L.1.1 Penyiapan Sel



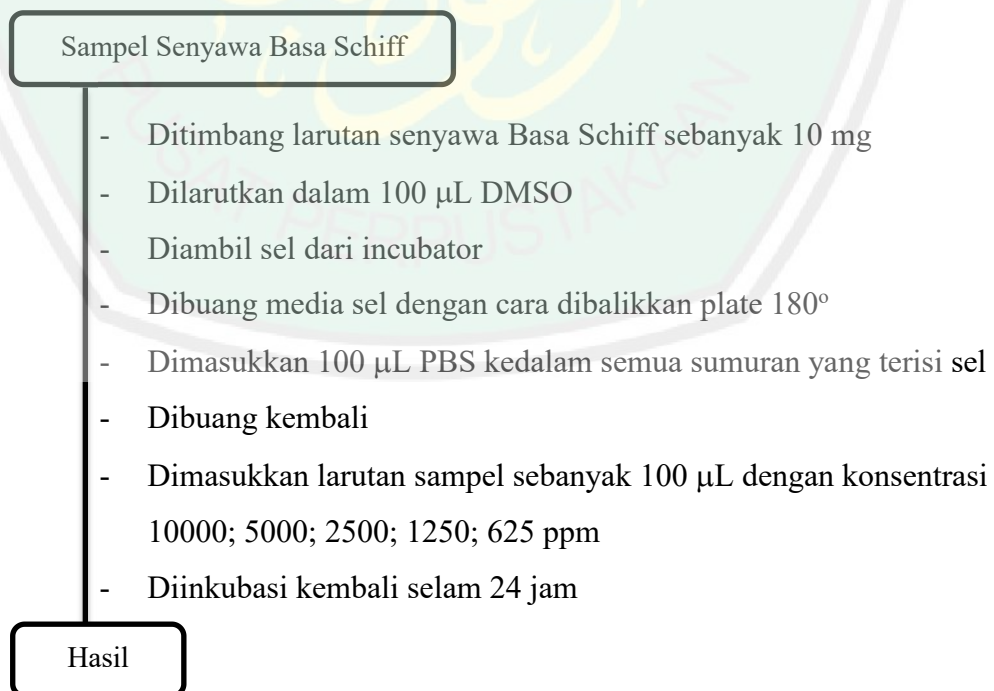
L.1.2 Perhitungan Sel Kanker



L.1.3 Peletakan Sel pada Plate



L.1.4 Pembuatan Larutan Sampel dan Pemberian Larutan Sampel pada Plate



L.1.5 Pemberian Larutan MTT

Sel MCF-7

- Dibuang media sel
- Dicuci dengan PBS
- Ditambahkan larutan MTT 100 μ L ke setiap sumuran kecuali kontrol sel
- Diinkubasi selama 3-4 jam
- Diamati kondisi sel dengan mikroskop *inverted*
- Ditambahkan *stopper* SDS 10% dalam 0,1 N HCl
- Dibungkus *plate* dengan aluminium foil
- Diinkubasi ditempat gelap (suhu ruang) semalam

Hasil

Lampiran 2. Perhitungan

A. Pembuatan Larutan

➤ Pembuatan Larutan SDS 10 %

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

Cara pembuatannya yakni ditimbang 10 gram SDS (*Sodium Deodecyl Sulphate*) dan dimasukkan dalam *beaker glass* 100 mL, lalu dilarutkan dalam 100 mL aquades.

➤ Pembuatan Larutan MTT (5 mg/mL)

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

➤ Pembuatan Larutan Stok 10000 ppm

$$\text{Berat ekstrak} = 20 \text{ mg}$$

$$\text{Volume pelarut} = 100 \mu\text{L DMSO}$$

$$M = 20 \text{ mg} = \frac{20000 \mu\text{g}}{100 \mu\text{L (0,1 mL)}} = 200.000 \mu\text{g/mL}$$

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

$$200.000 \mu\text{g/mL} \times V_1 = 1000 \mu\text{L} \times 10000 \mu\text{g/mL}$$

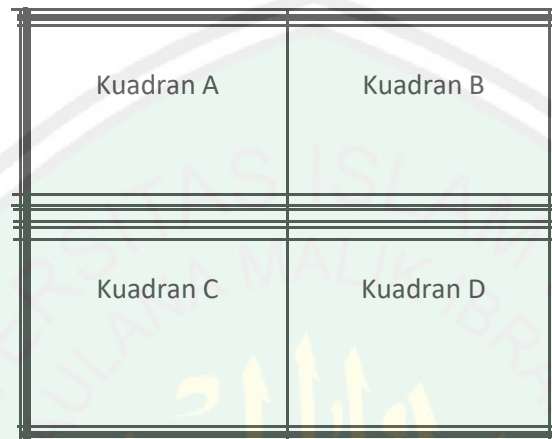
$$V_1 = 50 \mu\text{L}$$

Larutan stok 10000 ppm dibuat dengan mengambil 50 μL ekstrak yang telah dilarutkan dengan 100 μL DMSO menggunakan mikropipet, kemudian ditambahkan 950 μL media kultur DMEM dan diresuspensi hingga homogen.

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

B. Perhitungan konsentrasi sel

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



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

$$\begin{aligned}
 &= \frac{\sum \text{sel kuadran A} + \sum \text{sel kuadran B} + \sum \text{sel kuadran C} + \sum \text{sel kuadran D}}{4} \times 10^4 \\
 &= \frac{105 + 58 + 53 + 74}{4} \times 10^4 \\
 &= 72,5 \times 10^4
 \end{aligned}$$

- Jumlah mL panen sel yang ditransfer (konsentrasi sel)

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

$$= \frac{100 \times 10^4}{72,5 \times 10^4}$$

$$= 1,37 \text{ mL}$$

$$= 1,37 \text{ mL}$$

Volume panen sel yang ditransfer sebanyak 1,37 mL, ditambahkan hingga 10 mL media kultur DMEM (MK), jadi DMEM yang ditambahkan 8,6 mL.

Setiap sumuran akan diisi 100 μL MK berisi sel, sehingga total volume yang diperlukan untuk menanam sel = $100 \mu\text{L} \times 100 \text{ sumuran} = 10000 \mu\text{L}$ atau 10 mL.

C. Perhitungan Persentase Sel Hidup

1. Basa Schiff

➤ Data Uji Aktivitas Antikanker dengan Metode MTT

| No | Absorbansi Kontrol Sel | Absorbansi Kontrol Media |
|-----------|------------------------|--------------------------|
| 1. | 0,644 | 0,093 |
| 2. | 0,924 | 0,094 |
| 3. | 0,586 | 0,097 |
| Rata-rata | 0,718 | 0,0946 |

| Konsentrasi | Absorbansi | | | Rata-rata | % Hidup |
|-------------|---------------|---------------|---------------|-----------|---------|
| | Pengulangan 1 | Pengulangan 2 | Pengulangan 3 | | |
| 10000 | 0,110 | 0,116 | 0,145 | 0,124 | 28,269 |
| 5000 | 0,137 | 0,124 | 0,135 | 0,132 | 10,435 |
| 2500 | 0,333 | 0,487 | 0,187 | 0,336 | 38,723 |
| 1250 | 0,591 | 0,742 | 0,276 | 0,536 | 70,805 |
| 625 | 0,710 | 0,795 | 0,757 | 0,754 | 105,774 |

➤ 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)

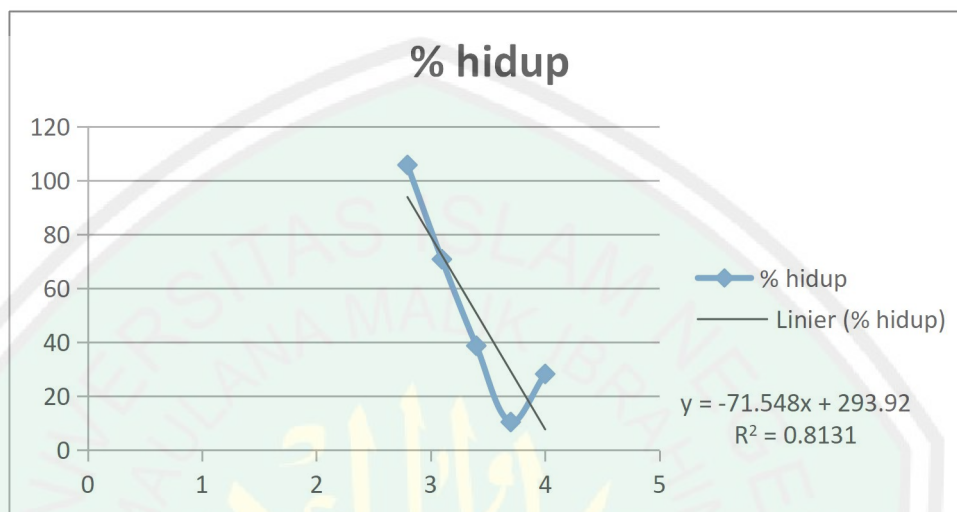
C = absorbansil kontrol negatif (sel + media kultur)

$$1. \text{ Konsentrasi } 10000 \rightarrow \% \text{ Hidup} = \frac{(0,124 - 0,0946)}{(0,1986 - 0,0946)} \times 100\% = 28,269\%$$

$$2. \text{ Konsentrasi } 5000 \rightarrow \% \text{ Hidup} = \frac{(0,132 - 0,0946)}{(0,453 - 0,0946)} \times 100\% = 10,435\%$$

3. Konsentrasi 2500 → % Hidup = $\frac{(0,336-0,0946)}{(0,718-0,0946)} \times 100\% = 38,723\%$
4. Konsentrasi 1250 → % Hidup = $\frac{(0,536-0,0946)}{(0,718-0,0946)} \times 100\% = 70,805\%$
5. Konsentrasi 625 → % Hidup = $\frac{(0,754-0,0946)}{(0,718-0,0946)} \times 100\% = 105,774\%$

➤ **Hasil Perhitungan IC₅₀ dengan MS Excel**



$$y = -71,548x + 293,92$$

$$50 = -71,548x + 293,92$$

$$x = \frac{-243,92}{-71,548}$$

$$x = 3,409$$

$$\text{antilog} = 2565,546 \mu\text{L/mL}$$

2. Vanilin

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

| No | Absorbansi Kontrol Sel | Absorbansi Kontrol Media |
|-----------|------------------------|--------------------------|
| 1. | 0,822 | 0,080 |
| 2. | 0,727 | 0,077 |
| 3. | 0,800 | 0,076 |
| Rata-rata | 0,783 | 0,0776 |

| Konsentrasi | Absorbansi | | | Rata-rata | % Hidup |
|-------------|---------------|---------------|---------------|-----------|---------|
| | Pengulangan 1 | Pengulangan 2 | Pengulangan 3 | | |
| 1000 | 0,419 | 0,240 | 0,086 | 0,248 | 24,156 |
| 500 | 0,562 | 0,283 | 0,082 | 0,309 | 32,804 |
| 250 | 0,669 | 0,397 | 0,084 | 0,383 | 43,294 |
| 125 | 0,689 | 0,583 | 0,086 | 0,452 | 53,076 |
| 62,5 | 0,721 | 0,618 | 0,188 | 0,509 | 61,156 |

➤ **Perhitungan Prosentase Sel Hidup**

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

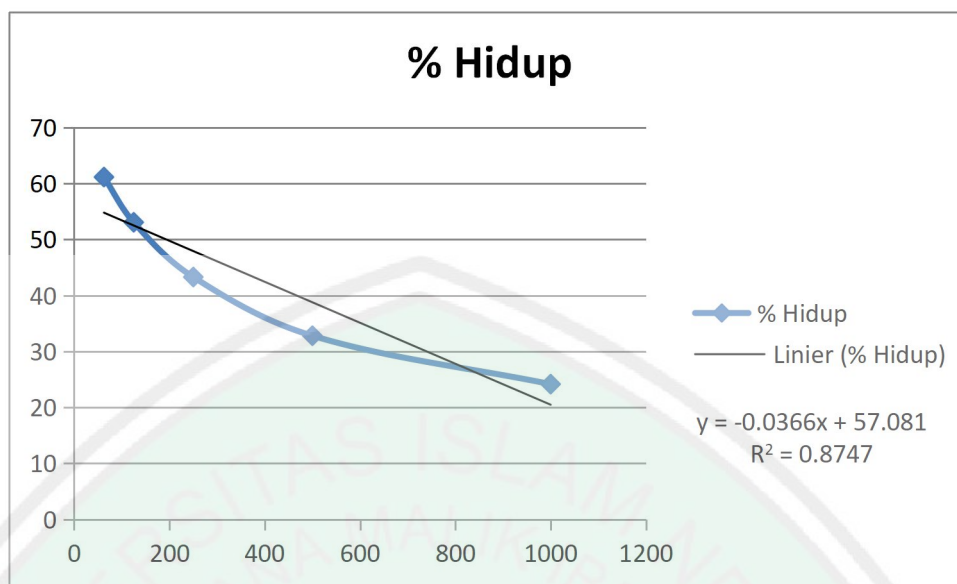
Keterangan : A = absorbansi perlakuan (sel + media kultur + sampel)

B = absorbansi kontrol media (media kultur)

C = absorbansi kontrol negatif (sel + media kultur)

1. Konsentrasi 1000 ➔ % Hidup = $\frac{(0,248-0,0776)}{(0,783-0,0776)} \times 100\% = 24,156\%$
2. Konsentrasi 500 ➔ % Hidup = $\frac{(0,309-0,0776)}{(0,783-0,0776)} \times 100\% = 32,804\%$
3. Konsentrasi 250 ➔ % Hidup = $\frac{(0,383-0,0776)}{(0,783-0,0776)} \times 100\% = 43,294\%$
4. Konsentrasi 125 ➔ % Hidup = $\frac{(0,452-0,0776)}{(0,783-0,0776)} \times 100\% = 53,076\%$
5. Konsentrasi 62,5 ➔ % Hidup = $\frac{(0,509-0,0776)}{(0,783-0,0776)} \times 100\% = 61,156\%$

➤ Hasil Perhitungan IC₅₀ dengan MS Excel



$$y = -0,0366x + 57,081$$

$$50 = -0,0366x + 57,081$$

$$x = \frac{-7,081}{-0,0366}$$

$$x = 193,469 \mu\text{L}/\text{Ml}$$

3. Anilin

➤ Data Uji Aktivitas Antikanker dengan Metode MTT

| No | Absorbansi Kontrol Sel | Absorbansi Kontrol Media |
|-----------|------------------------|--------------------------|
| 1. | 0,644 | 0,093 |
| 2. | 0,924 | 0,094 |
| 3. | 0,586 | 0,097 |
| Rata-rata | 0,718 | 0,0946 |

| Konsentrasi | Absorbansi | | | Rata-rata | % Hidup |
|-------------|---------------|---------------|---------------|-----------|---------|
| | Pengulangan 1 | Pengulangan 2 | Pengulangan 3 | | |
| 0,024 | 0,088 | 0,122 | 0,230 | 0,146 | 8,245 |
| 0,012 | 0,085 | 0,165 | 0,369 | 0,206 | 17,869 |
| 0,0061 | 0,079 | 0,235 | 0,402 | 0,238 | 23,002 |
| 0,00305 | 0,085 | 0,270 | 0,551 | 0,302 | 33,269 |
| 0,00152 | 0,102 | 0,398 | 0,515 | 0,338 | 39,043 |

➤ **Perhitungan Prosentase Sel Hidup**

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

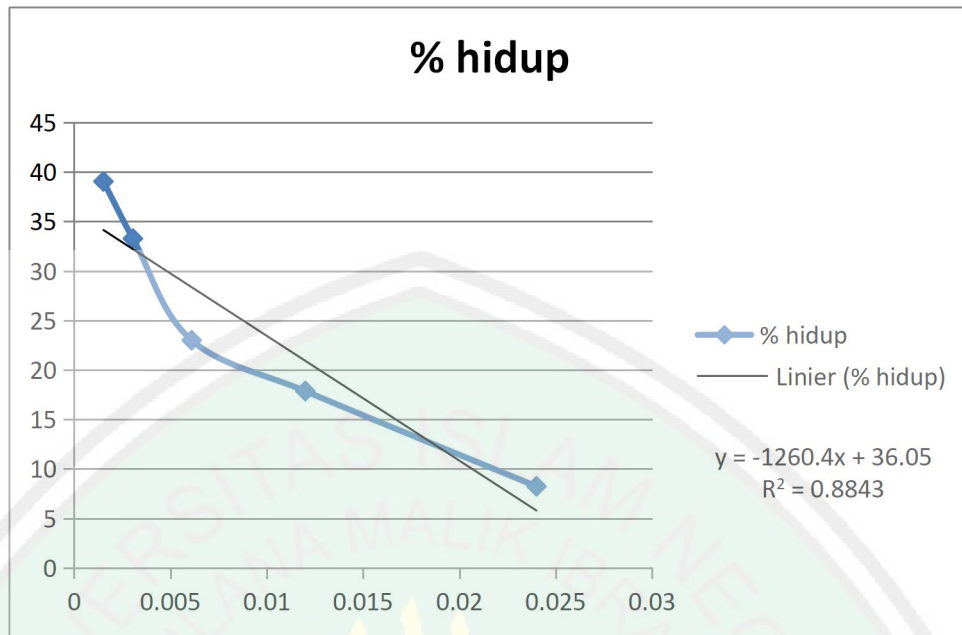
Keterangan : A = absorbansi perlakuan (sel + media kultur + sampel)

B = absorbansi kontrol media (media kultur)

C = absorbansi kontrol negatif (sel + media kultur)

1. Konsentrasi 2000 ➔ % Hidup = $\frac{(0,146-0,0946)}{(0,718-0,0946)} \times 100\% = 8,245\%$
2. Konsentrasi 1000 ➔ % Hidup = $\frac{(0,206-0,0946)}{(0,718-0,0946)} \times 100\% = 17,869\%$
3. Konsentrasi 500 ➔ % Hidup = $\frac{(0,238-0,0946)}{(0,718-0,0946)} \times 100\% = 23,002\%$
4. Konsentrasi 250 ➔ % Hidup = $\frac{(0,302-0,0946)}{(0,718-0,0946)} \times 100\% = 33,269\%$
5. Konsentrasi 125 ➔ % Hidup = $\frac{(0,338-0,0946)}{(0,718-0,0946)} \times 100\% = 39,043\%$

Hasil Perhitungan IC₅₀ dengan MS Excel



$$y = -1260,4x + 36,05$$

$$50 = -1260,4x + 36,05$$

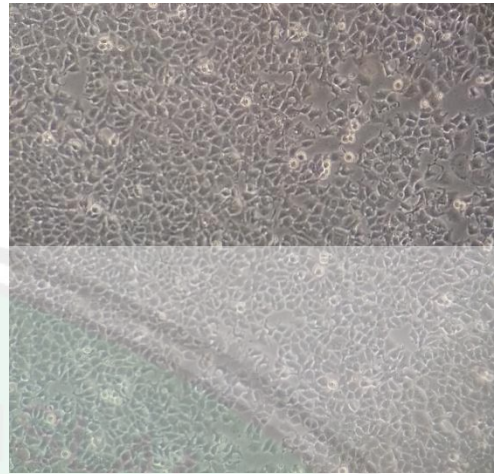
$$x = \frac{13,95}{-1260,4}$$

$$x = -0,01106 \mu\text{L/mL}$$

Lampiran 3. Dokumentasi



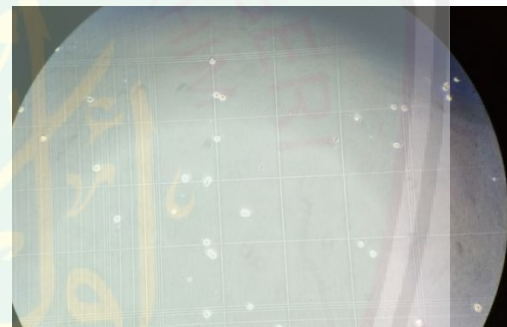
Media DMEM



sel kanker MCF-7



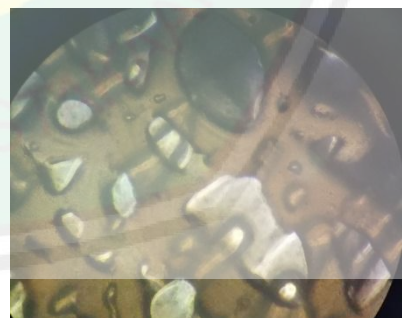
Sel kanker MCF-7 pada plate



hemocytometer



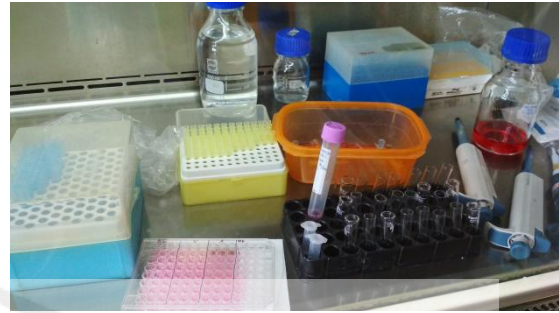
Elisa reader



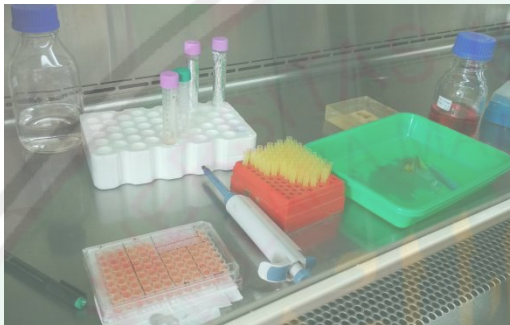
anilin 50



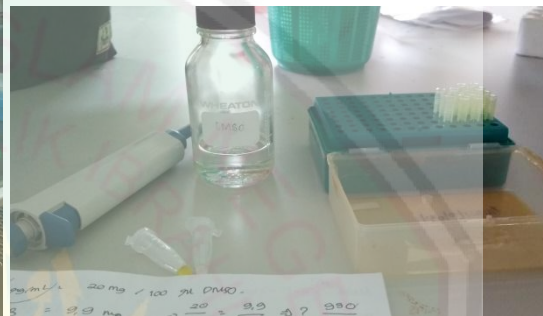
Anilin



penambahan sampel



Penambahan MTT



penambahan DMSO

