

**UJI AKTIVITAS ANTIKANKER EKSTRAK DAN ISOLAT TANIN
RUMPUT BAMBU (*Lophaterum gracile* B.) YANG DIEMBANKAN PADA
ZEOLIT NaX TERHADAP SEL KANKER PAYUDARA T47D DENGAN
METODE MTT**

SKRIPSI

Oleh :
SYAIFUD DINA FITRIANA
NIM. 14630066



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

**UJI AKTIVITAS ANTIKANKER EKSTRAK DAN ISOLAT TANIN
RUMPUT BAMBU (*Lophaterum gracile* B.) YANG DIEMBANKAN PADA
ZEOLIT NaX TERHADAP SEL KANKER PAYUDARA T47D DENGAN
METODE MTT**

SKRIPSI

Oleh :
SYAIFUD DINA FITRIANA
NIM. 14630066

Diajukan Kepada :
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri 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**

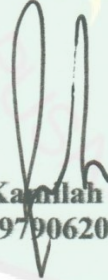
**UJI AKTIVITAS ANTIKANKER EKSTRAK DAN ISOLAT TANIN
RUMPUT BAMBU (*Lophaterum gracile* B.) YANG DIEMBANKAN PADA
ZEOLIT NaX TERHADAP SEL KANKER PAYUDARA T47D DENGAN
METODE MTT**

SKRIPSI


Oleh :
SYAIFUD DINA FITRIANA
NIM. 14630066

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji :
Tanggal, 22 Mei 2019

Pembimbing I


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

Pembimbing II


A. Ghanaim Fasya, M.Si
NIP. 19820616 200604 1 002

**Mengetahui,
Ketua Jurusan**


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

**UJI AKTIVITAS ANTIKANKER EKSTRAK DAN ISOLAT TANIN
RUMPUT BAMBU (*Lophaterum gracile* B.) YANG DIEMBANKAN PADA
ZEOLIT NaX TERHADAP SEL KANKER PAYUDARA T47D DENGAN
METODE MTT**

SKRIPSI

Oleh :
SYAIFUD DINA FITRIANA
NIM. 14630066

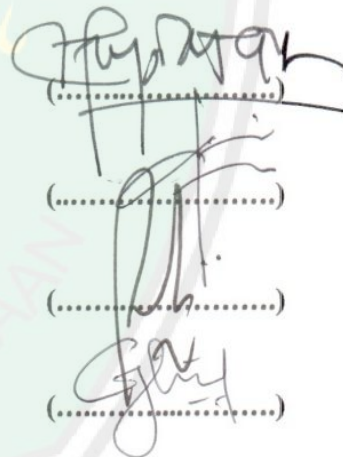
Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal, 22 Mei 2019

Penguji Utama : Dr. Anton Prasetyo, M.Si
NIP. 19770925 200604 1 003


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

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

Anggota Penguji : A. Ghanaim Fasya, M.Si
NIP. 19820616 200604 1 002



Mengesahkan,
Ketua Jurusan



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

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nam : Syaifud Dina Fitriana
NIM : 14630066
Jurusan : Kimia
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul : Uji Aktivitas Antikanker Ekstrak dan Isolat Tanin Rumput Bambu
(*Lophaterum gracile* B.) yang Diembankan pada Zeolit NaX
terhadap Sel Kanker Payudara T47D dengan Metode MTT

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini adalah benar-benar hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambil alihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan maka saya bersedia menerima sanksi perbuatan tersebut.

Yang membuat pernyataan

Malang, 10 Juni 2019



Syaifud Dina Fitriana

NIM. 14630066

PERSEMBAHAN

Skripsi ini penulis persembahkan untuk :

Bapakku Mochammad Shodiq dan Ibuku Nurul Azizah

Adik-adikku dan kakak-kakakku

Yang telah mendoakan dan memberikan semangat dan dukungan

Serta teman-temanku, Roma, Nana, Mbak Qori', Claudia, Echa, dan Una

Teman-teman kimia angkatan 2014, khususnya kelas C...

Semoga kita semua mendapatkan ilmu yang barokah dan manfaat, amin



KATA PENGANTAR

Segala puji bagi Allah yang maha pengasih lagi maha penyayang yang telah memberikan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Uji Aktivitas Antikanker Ekstrak dan Isolat Tanin Rumpun Bambu (*Lophaterum gracile* B.) yang Diimbangkan pada Zeolit NaX terhadap Sel Kanker Payudara T47D dengan Metode MTT” sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si). terselesaikannya penyusunan skripsi ini tak lepas dari bantuan dan dukungan berbagai pihak. Oleh karena itu, iringan do’a, ucapan terima kasih dan harapan *jazakumullah ahsanal jaza’* penulis sampaikan kepada:

1. Kedua orang tua penulis, yang senantiasa memberikan do’a, nasehat dan motivasi kepada penulis dalam menuntut ilmu.
2. Ibu Elok Kamilah Hayati, M.Si selaku Ketua Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang dan dosen pembimbing utama, yang telah memberikan dukungan, bantuan, nasehat dan bimbingan kepada penulis selama masa penelitian hingga menyelesaikan tugas akhir.
3. Ibu Susi Nurul Khalifah, M.Si selaku dosen konsultan dan Bapak A. Ghanaim Fasya, M.Si selaku dosen pembimbing agama, yang telah membimbing dan mengarahkan penulis dalam penulisan tugas akhir.
4. Ibu Dr. Sri Harini, M.Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.

5. Bapak Dr. Anton Prasetyo, M.Si selaku Wakil Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang dan penguji utama, terima kasih atas saran dan masukannya untuk perbaikan naskah ini.
6. Seluruh bapak-ibu dosen, segenap laboran dan staf administrasi Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang, terima kasih atas segenap ilmu dan bimbingannya.
7. Keluarga tim riset analitik 2018 dan teman-teman kimia angkatan 2014 yang telah memberikan motivasi, informasi dan bantuan selama penulisan laporan penelitian ini hingga selesai.

Penulis menyadari adanya kekurangan dan keterbatasan dalam skripsi ini. Oleh karena itu, dengan segala kerendahan hati, penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun dari semua pihak demi sempurnanya skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat memberikan kontribusi positif serta bermanfaat bagi kita semua, amin.

Malang, 10 Juni 2019

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR LAMPIRAN	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xiii
ABSTRAK	xiv
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.4 Batasan Penelitian	6
1.4 Manfaat Penelitian	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Pemanfaatan Tanaman sebagai Obat dalam Perspektif Islam	7
2.2 Rumput Bambu (<i>Lophaterum gracile</i> B.)	8
2.2.1 Klasifikasi Rumput Bambu	8
2.2.2 Morfologi Rumput Bambu	8
2.2.3 Kandungan Kimia Rumput Bambu	9
2.3 Tanin	10
2.3.1 Penggolongan Tanin	10
2.3.2 Tanin Berpotensi sebagai Antikanker	13
2.4 Pemisahan Senyawa Tanin pada Tanaman Rumput Bambu	15
2.4.1 Ekstraksi Maserasi	15
2.4.2 Ekstraksi Cair-Cair	17
2.4.3 Kromatografi Lapis Tipis	18
2.5 Zeolit NaX sebagai Sistem Penghantar Obat (<i>Drugs Delivery System</i>)	20
2.6 Uji Aktivitas Antikanker secara <i>In Vitro</i> dengan Metode MTT	25
2.6 Sel Kanker Payudara T47D	26
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	28
3.2 Alat dan Bahan Penelitian	28
3.2.1 Alat Penelitian	28
3.2.2 Bahan Penelitian	28
3.3 Rancangan Penelitian	29
3.4 Tahapan Penelitian	29
3.5 Pelaksanaan Penelitian	30
3.5.1 Preparasi dan Analisis Kadar Air Sampel Rumput Bambu	30
3.5.2 Ekstraksi Senyawa Aktif pada Sampel Rumput Bambu dengan	

Metode Maserasi dan Ekstraksi Cair-Cair	31
3.5.3 Uji Fitokimia Tanin pada Ekstrak dan Fraksi Air Rumput Bambu Menggunakan Reagen	32
3.5.4 Isolasi Senyawa Tanin dengan Metode KLTP	33
3.5.5 Pengukuran Molekul Tanin Menggunakan Aplikasi Hyperchem	34
3.5.6 Pengembangan Ekstrak dan Isolat Tanin Rumput Bambu pada Zeolit NaX dengan Metode Impregnasi Kering	35
3.5.7 Karakterisasi Menggunakan FTIR	36
3.5.8 Uji Aktivitas Antikanker Metode MTT	36
3.5.8.1 Kultur Sel	36
3.5.8.2 Pembuatan Larutan Uji	38
3.5.8.3 Uji Proliferasi Sel	38
3.5.8.1 Analisis Data	40
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Preparasi dan Analisis Kadar Air Sampel Rumput Bambu	41
4.2 Ekstraksi Senyawa Aktif pada Tanaman Rumput Bambu	41
4.3 Uji Fitokimia Tanin Menggunakan Reagen	44
4.4 Isolasi Senyawa Tanin dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis	47
4.5 Pengukuran Molekul Tanin	48
4.6 Pengembangan Ekstrak dan Isolat Tanin Rumput Bambu pada Zeolit NaX	51
4.7 Uji Aktivitas Antikanker secara <i>In Vitro</i> dengan Metode MTT	57
BAB V PENUTUP	
5.1 Kesimpulan	65
5.2 Saran	65
DAFTAR PUSTAKA	66
LAMPIRAN	72

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Diagram Alir Penelitian	72
Lampiran 2	Skema Kerja	73
Lampiran 3	Perhitungan dan Cara Pembuatan Larutan dan Reagen	82
Lampiran 4	Data Hasil Penelitian dan Perhitungan.....	85
Lampiran 5	Dokumentasi	95



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Rumput bambu (<i>Lophaterum gracile</i> B.).....	9
Gambar 2.2	Struktur standar tanin	10
Gambar 2.3	Struktur senyawa katekin: (a) Afzelekin, (b) Katekin dan (c) Galokatekin	11
Gambar 2.4	Komponen asam dari tannin terhidrolisiskan: (a) Asam galat, (b) Asam elagat, (c) Asam digalat, (c) Asam heksahidroksidifenat, dan (e) Asam kebulat	12
Gambar 2.5	Efek ekstrak etanolik biji pinang menginduksi apoptosis pada sel MCF-7 setelah 48 jam perlakuan menggunakan metode <i>double staining</i> dan dilihat dengan mikroskop fluoresensi.....	13
Gambar 2.6	Efek variasi kadar ekstrak etanolik biji buah pinang terhadap kinetika pertumbuhan sel kanker payudara MCF-7	14
Gambar 2.7	(a) Sangkar sodalit (β -cage), (b) <i>The Double Six Rings</i> (D6R), (c) Supercage, dan (d) Kerangka zeolit faujasit	20
Gambar 2.8	Spektrum zeolit NaX	22
Gambar 2.9	Pola difraksi sinar-X (a) Standar zeolit NaX dan (b) Zeolit NaX hasil sintesis	23
Gambar 2.10	Spektra hasil FTIR: (a) Zeolit NaX, (b) Ekstrak akar rumput bambu fraksi <i>n</i> -heksana, (c) Impregnasi 1:10, (d) Impregnasi 5:10, (e) Impregnasi 10:10	24
Gambar 2.11	Reaksi uji MTT	25
Gambar 4.1	Serbuk rumput bambu	41
Gambar 4.2	Ekstrak pekat hasil maserasi	42
Gambar 4.3	(a) Hasil partisi menggunakan pelarut kloroform, (b) Hasil Partisi menggunakan pelarut etil asetat, dan (c) Fraksi air rumput Bambu.....	43
Gambar 4.4	Hasil uji fitokimia tanin menggunakan reagen FeCl_3 dan gelatin: (a) Ekstrak rumput bambu, dan (b) Fraksi air rumput bambu	44
Gambar 4.5	Reaksi tanin dengan reagen FeCl_3	45
Gambar 4.6	Reaksi tanin dengan gelatin	46
Gambar 4.7	Kenampakan noda hasil pemisahan KLTP : (a) Sebelum disemprot reagen FeCl_3 , (b) Sesudah disemprot reagen FeCl_3 , (c) Di bawah lampu UV 254, dan (d) Di bawah lampu UV 366 nm	47
Gambar 4.8	Ukuran molekul senyawa trigalloyl-diglucosida	49
Gambar 4.9	Ukuran molekul senyawa katekin	49
Gambar 4.10	Ukuran molekul senyawa ellagic-acid-glucoside-2-ethyl-3,4,5-trimethyl-tetrahydrofuran	50
Gambar 4.11	Ukuran molekul senyawa trigalloyl(2R,3R)-tetrahydro-2H-pyran-2,4,5-tetraol	50
Gambar 4.12	Ukuran molekul senyawa ellagic acid-gallic acid galloyl.....	51
Gambar 4.13	Penampakan bentuk dan warna: (a) Zeolit NaX, (b) Hasil pengembunan ekstrak RB, dan (c) Hasil pengembunan isolat tanin RB	52
Gambar 4.14	Interaksi ekstrak dan isolat tanin RB dengan zeolit NaX.....	53

Gambar 4.15	Spektra FTIR (a) Zeolit NaX, (b) Ekstrak RB : zeolit NaX (5:10), dan (c) Ekstrak RB	54
Gambar 4.16	Spektra FTIR (a) Zeolit NaX, (b) Isolat tanin RB : Zeolit NaX (5:10), dan (c) Isolat tanin RB	54
Gambar 4.17	Kenampakan sel T47D hasil <i>treatment</i> pada konsentrasi 500 µg/mL: (a) Kontrol sel (tanpa <i>treatment</i>), (b) Ekstrak RB, (c) Isolat tanin RB, (d) Zeolit NaX, (e) Ekstrak RB : zeolit NaX, dan (f) Isolat tanin RB : zeolit NaX.....	59
Gambar L.5.1	(a) Pengeringan rumput Bambu, (b) Penguapan air dalam oven, dan (c) Penimbangan sampel	95
Gambar L.5.2	(a) Perendaman ekstraksi maserasi, (b) Pemisahan filtrat dan residu dengan penyaringan, (c) Pemekatan dengan <i>rotary vacuum evaporator</i>	95
Gambar L.5.3	(a) Hasil pemisahan senyawa tanin di bawah lampu UV 366 nm dan (b) Ilustrasi hasil pemisahan senyawa tanin di bawah lampu UV 366 nm	96
Gambar L.5.4	Proses pengembunan	96
Gambar L.5.5	(a) Kepadatan sel, (b) Penghitungan sel menggunakan hemasitometer, (c) Pembuatan larutan uji, (d) Peletakan larutan uji, (e) Sel kanker payudara T47D setelah <i>treatment</i> , dan (f) Sel kanker payudara T47D setelah pemberian MTT	97

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Keterangan R_1 dan R_3	10
Tabel 4.1 Hasil ekstraksi maserasi rumput bambu.....	42
Tabel 4.2 Hasil partisi ekstrak rumput bambu	43
Tabel 4.3 Hasil uji fitokimia tanin menggunakan reagen $FeCl_3$ dan gelatin	44
Tabel 4.4 Hasil pemisahan senyawa tanin pada fraksi air rumput bambu dengan KLTP.....	48
Tabel 4.5 Efisiensi hasil pengembanan	52
Tabel 4.6 Interpretasi spektra IR zeolit NaX, ekstrak RB, dan hasil pengembanan ekstrak RB.....	55
Tabel 4.6 Interpretasi spektra IR zeolit NaX, isolat tanin RB, dan hasil pengembanan isolat tanin RB	56
Tabel 4.7 Nilai IC_{50} hasil uji aktivitas antikanker.....	61



ABSTRAK

Fitriana, S.D. 2019. **Uji Aktivitas Antikanker Ekstrak dan Isolat Tanin Rumput Bambu (*Lophaterum gracile* B.) yang Diembankan pada Zeolit NaX terhadap Sel Kanker Payudara T47D dengan Metode MTT.** Skripsi. Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing I: Elok Kamilah Hayati, M.Si; Pembimbing II: A. Ghanaim Fasya, M.Si; Konsultan: Susi Nurul Khalifah, M.Si.

Kata Kunci : Rumput bambu (*Lophaterum gracile* B.), tanin, zeolit NaX, impregnasi kering, sel kanker payudara T47D, metode MTT

Tanaman rumput bambu mengandung senyawa tanin yang berpotensi sebagai antikanker. Perkembangan penelitian menunjukkan bahwa potensi senyawa antikanker dapat ditingkatkan melalui pengembanan pada zeolit sebagai sistem penghantar obat. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antikanker ekstrak dan isolat tanin rumput bambu yang diembankan pada zeolit NaX terhadap sel kanker payudara T47D.

Ekstraksi senyawa aktif rumput bambu dilakukan menggunakan pelarut aseton : air (7:3) dan asam askorbat 10 mM. Ekstrak yang didapat dipartisi menggunakan kloroform dan etil asetat. Hasil maserasi dan partisi diuji fitokimia untuk mengetahui kandungan tanin secara kualitatif. Isolasi senyawa tanin dilakukan dengan metode KLTP menggunakan eluen *n*-butanol : asam asetat : air (4:1:5). Ekstrak dan isolat tanin rumput bambu diembankan pada zeolit NaX dengan metode impregnasi kering dengan perbandingan 5:10. Hasil pengembanan dikarakterisasi menggunakan FTIR dan diuji aktivitas antikanker pada sel kanker payudara T47D dengan metode MTT.

Hasil uji fitokimia menunjukkan ekstrak dan fraksi air rumput bambu mengandung senyawa tanin. Munculnya beberapa pita serapan baru pada hasil karakterisasi FTIR sampel hasil pengembanan menunjukkan ekstrak dan isolat tanin rumput bambu telah teremban. Nilai IC₅₀ ekstrak, isolat tanin, zeolit NaX, hasil pengembanan ekstrak dan isolat tanin rumput bambu secara berturut-turut yaitu 107,240; 284,936; 751,380; 423,837; dan 560,262 µg/mL. Ekstrak dan isolat tanin rumput bambu yang diembankan pada zeolit NaX dalam penelitian ini kurang berpotensi aktif sebagai antikanker terhadap sel kanker payudara T47D.

ABSTRACT

Fitriana, S.D. 2019. **Anticancer Activity Test of Bamboo Grass Extract and Tannin Isolate (*Lophaterum gracile* B.) Loaded on NaX Zeolite against Breast Cancer Cells T47D by MTT Method.** *Thesis*. Chemistry Department, Science and Technology Faculty, Maulana Malik Ibrahim State Islamic University, Malang. Advisor I: Elok Kamilah Hayati, M.Sc; Advisor II: A. Ghanaim Fasya, M.Sc; Consultant: Susi Nurul Khalifah, M.Sc.

Keywords: Bamboo grass (*Lophaterum gracile* B.), tannin, NaX zeolite, dry impregnation, breast cancer cells T47D, MTT method

Bamboo grass (*Lophaterum gracile* B.) contains tannin compounds that has the potential as anticancer. The development of research shows that the potential of anticancer compounds can be increased through loading on zeolites as a drug delivery system. This study aimed to determine the anticancer activity of extracts and tannin isolate of bamboo grass which were loaded on NaX zeolite against breast cancer cells T47D.

Extraction of active compounds of bamboo grass was carried out using acetone: water (7:3) and 10 mM ascorbic acid. The extract obtained was partitioned using chloroform and ethyl acetate. The results of maceration and partition were phytochemicals tested to determine the tannin content qualitatively. Isolation of tannin compounds was carried out by the KLTP method using eluent *n*-butanol: acetic acid: water (4: 1: 5). Extracts and tannin isolate of bamboo grass were loaded on NaX zeolite using dry impregnation method with ratio of 5:10. The results were characterized using FTIR and tested for anticancer activity against breast cancer cells T47D by MTT method.

Phytochemical test results showed that extracts and water fractions of bamboo grass containing tannin compounds. The appearance of several new absorption bands in the results of FTIR characterization of the samples showed that extracts and tannin isolate of bamboo grass had been loaded. The IC₅₀ values of extracts, tannin isolate, NaX zeolite, the results of loading bamboo grass extracts and tannin isolates respectively are: 107,240; 284,936; 751,380; 423,837; and 560,262 µg/mL. Extract and tannin isolate of bamboo grass which were loaded on NaX zeolite in this study were less potential to be active as anticancer against breast cancer cells T47D.

مستخلص البحث

فطريانا، س. د. ٢٠١٩. اختبار النشاط المضاد للسرطان لمستخلصات وعزلات من التانين عشب الخيزران (لوبتيروم رشيقة ب) يشريب على الزيوليت NaX ضد خلايا سرطان الثدي T47D مع طريقة MTT. رسالة الليسانس. قسم الكيمياء، كلية العلوم والتكنولوجيا، جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج المشرفة الأولى: إيلوك كاملة حياتي، الماجستير؛ المشرف الثاني: أحمدغنائم فاشا، الماجستير؛ المستشار: سوسي نور الخليفة، الماجستير.

الكلمات الرئيسية: عشب الخيزران (لوبتيروم رشيقة ب)، التانين، زيوليت NaX، التشريب الجاف، خلايا سرطان الثدي T47D، طريقة MTT

تحتوي نباتات عشب الخيزران على مركبات التانين التي لديها القدرة على المضاد للسرطان. يظهر تطور الأبحاث أن إمكانات المركبات المضادة للسرطان يمكن زيادتها من خلال تشريب على الزيوليت كنظام توصيل الدواء. والهدف من البحث لتحديد النشاط المضاد للسرطان من مستخلصات وعزلات من التانين عشب الخيزران التي تشريب على زيوليت NaX ضد خلايا سرطان الثدي T47D.

تم تنفيذ استخراج المركبات النشطة من عشب الخيزران باستخدام الأستون: الماء (٧:٣) و ١٠ ملم حامض الاسكوريك. تم تقسيم المستخلص المتحصل عليه باستخدام كلوروفورم وأسيئات إيثيل. تم اختبار نتائج المواد الكيميائية المعالجة للتشتت والتقسيم لتحديد محتوى التانين نوعيا. تم تنفيذ عزل مركبات التانين بواسطة طريقة كروماتوغرافياطبقة رقيقة تحضيرية (KLTP) باستخدام إيلوين ن-بوتانول: حامض أسيئات: المياه (٤:١:٥). تمت خلاصات وعزلات من التانين عشب الخيزران تشريب على زيوليت NaX باستخدام طريقة التشريب الجاف مع نسبة ١٠:٥. تم تمييز نتائج التشريب باستخدام ادوات المقاييس الطبيعي بالاعشعة تحت الحمراء (FTIR) واختبارها لنشاط مضاد للسرطان في خلايا سرطان الثدي T47D باستخدام طريقة MTT.

وأظهرت نتائج الاختبار النباتية المستخلصات وأجزاء المياه من عشب الخيزران تحتوي على مركبات التانين. أظهر ظهور عدة نطاقات امتصاص جديدة في نتائج توصيف FTIR للعينات الناتجة أن مستخلصات وعزلات من عشب الخيزران قد شربت. قيم IC_{50} من المستخلصات، وعزلات التانين، والزيوليت NaX، ونتائج تشريب مستخلصات وعزلات تانين عشبية من الخيزران على التوالي ١٠٧،٢٤٠؛ ٢٨٤،٩٣٦؛ ٧٥١،٣٨٠؛ ٤٢٣،٨٣٧؛ و ٥٦٠،٢٦٢ ميكروغرام / مل. وكانت مقتطفات وعزلات من التانين عشب الخيزران التي تشريب على زيوليت NaX في هذا البحث أقل قدرة على أن تكون نشطة كما المضادة للسرطان ضد خلايا سرطان الثدي T47D.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Rumput bambu (*Lophaterum gracile* B.) merupakan tanaman yang keberadaannya melimpah di Indonesia. Penelitian Rohmaniyah (2016) dan Mabruroh (2015) menyebutkan rumput bambu memiliki kandungan senyawa aktif tanin, steroid dan triterpenoid. Senyawa tanin merupakan senyawa golongan polifenol yang memiliki potensi sebagai antikanker sel payudara. Hasil penelitian Firdaus (2016) diketahui ekstrak aseton : air (7:3) dan isolat tanin rumput bambu memiliki *Inhibitory Concentration* (IC₅₀) sebesar 5,144 µg/mL dan 2,046 µg/mL terhadap sel kanker payudara T47D. Sedangkan tanin terkondensasi dari *Leucaena leucocephala* memiliki nilai IC₅₀ sebesar 38,33 ± 2,08 µg/mL terhadap sel kanker payudara MCF-7 (Zarin, dkk., 2016). IC₅₀ merupakan bilangan yang menunjukkan konsentrasi ekstrak yang mampu menghambat proliferasi sel sebesar 50% dan menunjukkan potensi ketoksikan suatu senyawa terhadap sel kanker. Semakin kecil nilai IC₅₀ semakin tinggi aktivitas antikanker (Winarno, 2011). Tanin berpotensi menghambat proliferasi sel kanker payudara melalui mekanisme pengaktifan jalur apoptosis sel kanker (Meiyanto, dkk., 2008).

Kanker payudara merupakan penyakit dimana sel kelenjar air susu dan saluran kelenjar air susu tumbuh sangat cepat daripada sel normal, merusak jaringan sekitar, menyebar ke organ sekitar dan menyebabkan kegagalan fungsi organ-organ tersebut hingga dapat menyebabkan kematian (Soemitro, 2012). Data *Global Research Cancer* (GLOBOCAN) menyebutkan, kanker payudara

merupakan kanker yang paling sering terjadi pada perempuan dengan perkiraan persentase 14,7 % dari semua kasus kanker yang menyerang perempuan dan 522.000 kasus kematian yang didiagnosis pada tahun 2012 (Ferlay, dkk., 2015).

Pengobatan kanker payudara dapat dilakukan dengan beberapa tindakan, yaitu: operasi, radioterapi, kemoterapi, terapi hormon, dan pengobatan tradisional dengan pemberian ramuan tradisional dari tanaman-tanaman herbal yang memiliki khasiat antikanker (Subagja, 2014; Smart, 2010). Rasulullah SAW bersabda:

تَدَاوَوْا فَإِنَّ اللَّهَ لَمْ يَنْزِلْ دَاءً إِلَّا أَنْزَلَ مَعَهُ دَوَاءً غَيْرَ دَاءٍ وَاحِدٍ وَهُوَ الْهَرَمُ

“Berobatlah, karena tiada suatu penyakit yang diturunkan Allah, kecuali diturunkan pula obat penangkalnya, selain dari satu penyakit, yaitu ketuaan” (HR Abu Daud dan At Tirmidzi dari sahabat Nabi, Usamah bin Syuraik)

Rasulullah SAW telah memerintahkan bagi siapa saja yang sakit untuk berobat, karena Allah SWT telah menurunkan setiap penyakit dengan obatnya. Hal ini juga berlaku untuk penyakit kanker payudara. Allah SWT berfirman dalam al Qur’an surat asy Syu’ara [26] ayat 7:

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَيْفَ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ

“Apakah mereka tidak memperhatikan bumi? Berapa banyak kami tumbuhkan di bumi itu aneka ragam tumbuhan yang baik?”(QS. Asy Syu’ara[26]: 7)

Allah SWT menciptakan berbagai macam tumbuhan yang baik yang bermanfaat bagi makhluk hidup. Aneka ragam tumbuhan bermanfaat tersebut menunjukkan kekuasaan dan kebijaksanaan Allah SWT bagi kaum yang memikirkan dan merenungkannya. Tumbuhan tersebut tumbuh subur di bumi dengan memiliki manfaat masing-masing. Salah satu tumbuhan yang subur dan bermanfaat, khususnya berkhasiat sebagai antikanker adalah rumput bambu (*Lophaterum gracile* B.).

Perkembangan penelitian menunjukkan potensi senyawa antikanker dapat ditingkatkan melalui pengembanan senyawa antikanker pada zeolit. Zeolit merupakan bahan kristalin anorganik berpori yang tersusun atas silikon, aluminium, dan oksigen dalam struktur tiga dimensi (Amorim, dkk., 2012). Pengembanan obat ke dalam zeolit memiliki beberapa keuntungan antara lain: meningkatkan kemanjuran obat, menurunkan toksisitas, mengontrol laju pelepasan obat dan mencegah degradasi obat (Vilaca, dkk., 2013). Hasil penelitian Vilaca, dkk. (2013) menunjukkan pengembanan obat antikanker kolorektal 5-fluorouracil pada zeolit NaY mampu meningkatkan potensi obat menjadi 7,6 kali lipat dengan IC_{50} sebesar 0,08 mM, pada zeolit nanoNaY menjadi 2,9 kali lipat dengan IC_{50} sebesar 0,21 mM dan pada zeolit *Linde Type L* (LTL) menjadi 1,9 kali lipat dengan IC_{50} sebesar 0,31 mM. Pengembanan senyawa α -Cyano-4-hydroxynamic acid (CHC) pada zeolit NaY diketahui meningkatkan kemanjuran obat antara 119 hingga 585 kali dibandingkan dengan tanpa pengembanan (Amorim, dkk., 2012).

Pada penelitian ini rumput bambu diekstrak menggunakan metode maserasi. Adapun ekstrak yang didapat diekstraksi kembali menggunakan metode ekstraksi cair-cair dan tanin dalam fraksi air rumput bambu diisolasi menggunakan metode kromatografi lapis tipis. Pengembanan ekstrak dan isolat tanin rumput bambu pada zeolit NaX dilakukan dengan metode impregnasi kering. Pengembanan ekstrak daun sirsak pada zeolit NaX dengan perbandingan 5:10 dengan metode impregnasi basah dihasilkan nilai IC_{50} sebesar 71.076,923 $\mu\text{g/mL}$ (Laila, 2016). Sedangkan pengembanan dengan metode impregnasi kering didapatkan nilai IC_{50} sebesar 67,343 $\mu\text{g/mL}$ (Lilbaiq, 2017). Impregnasi kering menggunakan jumlah

pelarut yang lebih sedikit dibandingkan dengan impregnasi basah, sehingga memerlukan proses pengeringan dengan pemanasan yang lebih sebentar yang memungkinkan molekul senyawa yang diimbakan terhindar dari paparan suhu pemanasan yang lebih lama sehingga menurunkan resiko kerusakan senyawa. Hal ini menunjukkan metode impregnasi kering lebih efektif dibandingkan dengan metode impregnasi basah dalam pengembanan senyawa antikanker.

Sistem penghantar obat (*drugs delivery system*) yang digunakan dalam penelitian ini adalah zeolit NaX. Zeolit memiliki pori, saluran, dan rongga yang memungkinkan obat dapat berdifusi keluar dan masuk sehingga dapat mengontrol laju pelepasan obat (Auerbach, dkk., 2003). Laju pelepasan obat yang terkontrol dapat mengurangi efek samping dan meningkatkan efektivitas obat. Penelitian Vilaca, dkk. (2013) menunjukkan bahwa zeolit NaY mampu masuk ke dalam sitoplasma sel dan mengontrol pelepasan obat dengan pencapaian maksimal 80 % pelepasan selama 48 jam. Pemberian zeolit NaA dan NaY pada sel kanker kolon HCT-15 menunjukkan tidak adanya perbedaan viabilitas sel yang signifikan pada sel tanpa dan dengan pemberian zeolit NaA dan NaY. Hal ini menunjukkan bahwa zeolit NaA dan NaY tidak toksik terhadap sel selama periode waktu inkubasi dan pada konsentrasi tertentu sehingga aman digunakan sebagai sistem penghantar obat (Amorim, dkk., 2012).

Pengembanan ekstrak dan isolat tanin rumput bambu pada zeolit NaX dilakukan dengan perbandingan 5:10. Hasil penelitian Lilbaiq (2017) menunjukkan ekstrak daun sirsak yang diimbakan pada zeolit NaX dengan perbandingan 5:10 memiliki aktivitas antikanker terhadap sel kanker payudara T47D yang lebih efektif dengan nilai IC_{50} sebesar 67,343 $\mu\text{g/mL}$ dibandingkan

dengan perbandingan 1:10, 10:10 dan ekstrak yang tidak diembankan dengan nilai IC_{50} sebesar 1.699,802; 292,804; dan 83,6 $\mu\text{g/mL}$. Hasil penelitian Widayati (2017) juga menunjukkan pengembanan fraksi *n*-heksan rumput bambu pada zeolit NaX dengan perbandingan 5:10 memiliki aktivitas yang lebih baik yaitu 919,245 $\mu\text{g/mL}$ dibandingkan dengan perbandingan 1:10 dan 10:10 yang memiliki nilai IC_{50} sebesar 3.016 dan 1006,215 $\mu\text{g/mL}$.

Ekstrak dan isolat tanin rumput bambu yang telah diembankan pada zeolit NaX kemudian dikarakterisasi menggunakan *Fourier Transform Infra-Red* (FTIR) dan diuji aktivitas antikanker pada sel kanker payudara T47D secara *in vitro* dengan metode 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromid (MTT). Keunggulan metode MTT yaitu relatif cepat, sensitif, akurat, dapat digunakan untuk mengukur sampel dalam jumlah besar dan hasilnya bisa digunakan untuk memprediksi sifat sitotoksik suatu bahan (Doyle and Griffiths, 2000).

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah penelitian ini adalah bagaimana aktivitas ekstrak dan isolat tanin rumput bambu (*Lophaterum gracile* B.) yang diembankan pada zeolit NaX terhadap sel kanker payudara T47D?

1.3 Tujuan penelitian

Tujuan penelitian ini berdasarkan rumusan masalah tersebut adalah mengetahui aktivitas ekstrak dan isolat tanin rumput bambu (*Lophaterum gracile* B.) yang diembankan pada zeolit NaX terhadap sel kanker payudara T47D.

1.4 Batasan Penelitian

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Tanaman rumput bambu yang digunakan sebagai sampel penelitian diperoleh dari PT. Material Medika Kota Batu Jawa Timur.
2. Metode ekstraksi yang digunakan adalah metode maserasi menggunakan pelarut aseton : air (7:3) dengan penambahan asam askorbat dan metode ekstraksi cair-cair menggunakan pelarut kloroform dan etil asetat.
3. Isolasi senyawa tanin menggunakan metode kromatografi lapis tipis dengan eluen *n*-butanol: asam asetat: air (4:1:5).
4. Zeolit yang digunakan adalah zeolit NaX hasil sintesis Hasanah, dkk. (2018).
5. Metode pengembanan yang digunakan yaitu impregnasi kering dengan perbandingan 5:10.
6. Sel kanker yang digunakan adalah sel kanker payudara T47D.
7. Metode uji *in-vitro* yang digunakan adalah metode MTT.

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah:

1. Hasil penelitian dapat memberikan informasi ilmiah kepada masyarakat tentang pemanfaatan tanaman rumput bambu (*Lophaterum gracile* B.) dalam bidang pengobatan sebagai obat alternatif kanker payudara sehingga dapat meningkatkan nilai guna tanaman rumput bambu.
2. Hasil penelitian dapat digunakan sebagai salah satu referensi dan perbandingan dalam penelitian lebih lanjut.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pemanfaatan Tanaman dalam Perspektif Islam

Allah SWT menciptakan segala sesuatu yang ada di alam tidaklah sia-sia tanpa manfaat dan tujuan. Diciptakannya berbagai macam tanaman yang bermanfaat bagi manusia dan hewan merupakan salah satu bukti kekuasaan Allah SWT agar manusia selalu bersyukur dan mengingat keagungan Allah SWT. Diantaranya beberapa jenis tanaman yang diciptakan Allah SWT dan bermanfaat bagi manusia dan hewan telah disebutkan dalam al Qur'an surat 'Abasa [80] ayat 25-32.

أَنَا صَبَبْنَا الْمَاءَ صَبًّا (٢٥) ثُمَّ شَقَقْنَا الْأَرْضَ شَقًّا (٢٦) فَأَنْبَتْنَا فِيهَا حَبًّا (٢٧) وَ عِنَبًا وَ قَضَبًا (٢٨) وَ زَيْتُونًا وَ نَخْلًا (٢٩) وَ حَدَائِقَ عُلبًا (٣٠) وَ فَاكِهَةً وَ أَبًّا (٣١) مَتَاعًا لَكُمْ وَ لِأَنْعَامِكُمْ (٣٢)

“25. Sesungguhnya Kami benar-benar telah mencurahkan air (dari langit) 26. Kemudian Kami belah bumi dengan sebaik-baiknya 27. Lalu Kami tumbuhkan biji-bijian di bumi itu 28. Anggur dan sayur-sayuran 29. Zaitun dan kurma 30. Kebun-kebun (yang) lebat 31. Dan buah-buahan serta rumput-rumputan 32. Untuk kesenanganmu dan untuk binatang-binatang ternakmu” (QS. ‘Abasa [80]: 25-32)

Salah satu tanaman yang diciptakan Allah SWT dari jenis rumput-rumputan adalah rumput bambu (*Lophaterum gracile* B.). Rumput bambu diketahui mengandung beberapa senyawa metabolit sekunder, salah satunya adalah tanin yang memiliki khasiat sebagai antikanker. Adanya hikmah tersebut merupakan salah satu dari tanda-tanda kebesaran Allah SWT bagi kaum yang berfikir.

Manusia memiliki akal dan kemampuan untuk dapat memahami maksud dan tujuan segala ciptaan Allah SWT, salah satunya tanaman rumput bambu melalui proses penelitian ilmiah untuk terapi penyakit kanker. Allah SWT berfirman dalam al Qur'an surat asy Syu'ara [26] ayat 80:

وَ إِذَا مَرَضْتُ فَهُوَ يَشْفِينُ

“Dan apabila aku sakit, Dialah yang menyembuhkan aku” (QS. Asy Syu'ara [26]: 80)

Dalam ayat ini dikatakan bahwa apabila seseorang terkena penyakit, maka Allah lah yang berkuasa menyembuhkan penyakitnya (Depag RI, 1990). Allah SWT menyembuhkan penyakit manusia dapat melalui banyak perantara di antaranya melalui tanaman yang Allah SWT ciptakan dan tumbuhkan di muka bumi ini dengan berbagai kandungan yang memiliki banyak manfaat dan khasiat. Di antara banyak jenis tanaman terdapat tanaman rumput bambu.

2.2 Rumput Bambu (*Lophaterum gracile* B.)

2.2.1 Klasifikasi Rumput Bambu (*Lophaterum gracile* B.)

Adapun klasifikasi dari tanaman rumput bambu (*Lophaterum gracile* B.) adalah sebagai berikut (Cronquist, 1981):

Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Monocotyledoneae
Bangsa	: Poales
Suku	: Poaceae
Marga	: <i>Lophaterum</i>
Jenis	: <i>Lophaterum gracile</i> Brongn

2.2.2 Morfologi Rumpu Bambu (*Lophaterum gracile* B.)

Rumput bambu (*Lophaterum gracile* B.) merupakan tumbuhan rumput menahun, tinggi 40-100 cm, tumbuh liar di tempat rindang yang tidak terlalu

kering atau basah dari 200-1500 mdpl. Batang kecil, panjang, berongga, berambut, warna kuning beralur memanjang. Helai daun bentuk lanset atau lanset melebar, panjang 5-20 cm, lebar 2–3,5 cm, ujung runcing, tepi rata, pangkal menyempit, pertulangan sejajar, warna hijau, kedua permukaan berambut putih. Pelelah daun memeluk batang. Bunga majemuk keluar dari ujung batang, berkumpul dalam malai yang bertangkai panjang. Akar serabut menyebar dengan penebalan seperti umbi kecil-kecil berbentuk kerucut, mempunyai rimpang yang menyerupai kayu (Dalimartha, 2003). Adapun gambar tanaman rumput bambu ditampilkan pada Gambar 2.1.



Gambar 2.1 Rumput bambu (*Lophaterum gracile* B.) (Wijayakusuma, 2005)

2.2.3 Kandungan Kimia Rumput Bambu (*Lophaterum gracile* B.)

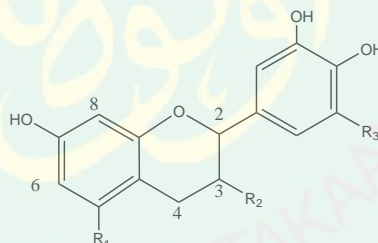
Hasil penelitian menunjukkan rumput bambu mengandung senyawa tanin (Mabruroh, 2015; Firdaus, 2016; Rohmaniyah, 2016), kumarin, dan flavonoid (Tang, dkk., 2014). Kandungan lain dari rumput bambu yaitu senyawa triterpenoid, steroid arundoin, cylindrin, friedelin, beta-sitosterol, stigmasterol, campesterol, taraxerol, Asam amino, dan asam lemak (Dalimartha, 2003). Hasil identifikasi senyawa dengan *Liquid Chromatography Mass Spectroscopy* (LC-MS) oleh Firdaus (2016) menunjukkan fraksi air rumput bambu mengandung

beberapa senyawa golongan tanin, yaitu *triagalloyl-digluco*se, *ellagic-acid-glucoside 2-ethyl-3,4,5-trimethyl-tetrahydrofuran*, *ellagic acid-gallic acid galloyl*, dan *trigalloyl(2R,3R)-tetrahydro-2H-pyran-2,4,5-tetraol*. Empat golongan senyawa tanin tersebut memiliki total persen luas area sebesar 43,32 % (Lebih besar dibandingkan dengan luas area senyawa golongan alkaloid dan steroid) sehingga tanin merupakan senyawa mayor dalam fraksi air rumput bambu.

2.3 Tanin

2.3.1 Penggolongan Tanin

Tanin merupakan senyawa polifenol dengan berat molekul 1000-3000 Da, memiliki rasa sepat dan dapat bereaksi dengan protein membentuk kompleks yang tak larut dalam air (Harborne, 1987). Tanin murni memiliki kelarutan yang rendah dalam air (Robinson, 1995). Struktur molekul tanin ditampilkan pada Gambar 2.2.

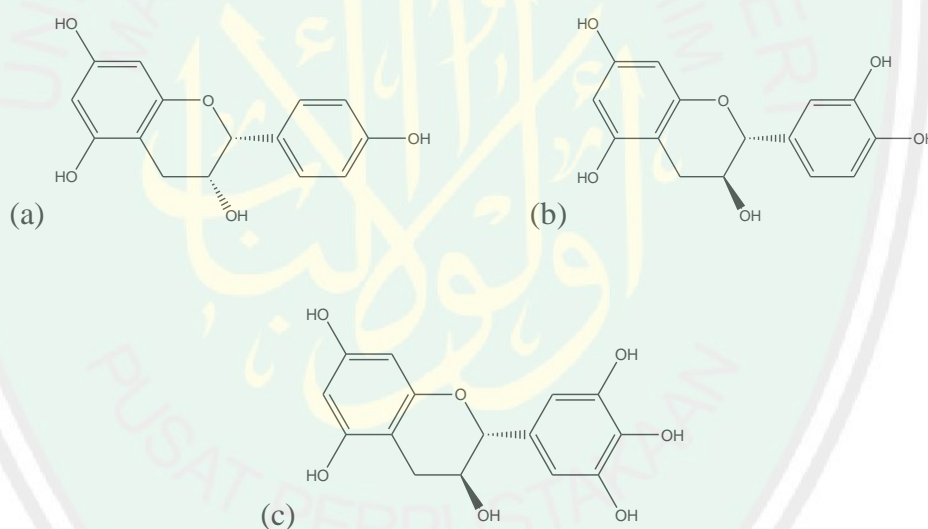


Gambar 2.2 Struktur standar tanin (Schofield, dkk., 2001; Marnoto, dkk., 2012)

Tabel 2.1 Keterangan R_1 dan R_3

R_1	R_3	Kelas
OH	H	Proantosianidin
OH	OH	Prodelfinidin
H	H	Profisetinidin
H	OH	Prorobinetinidin

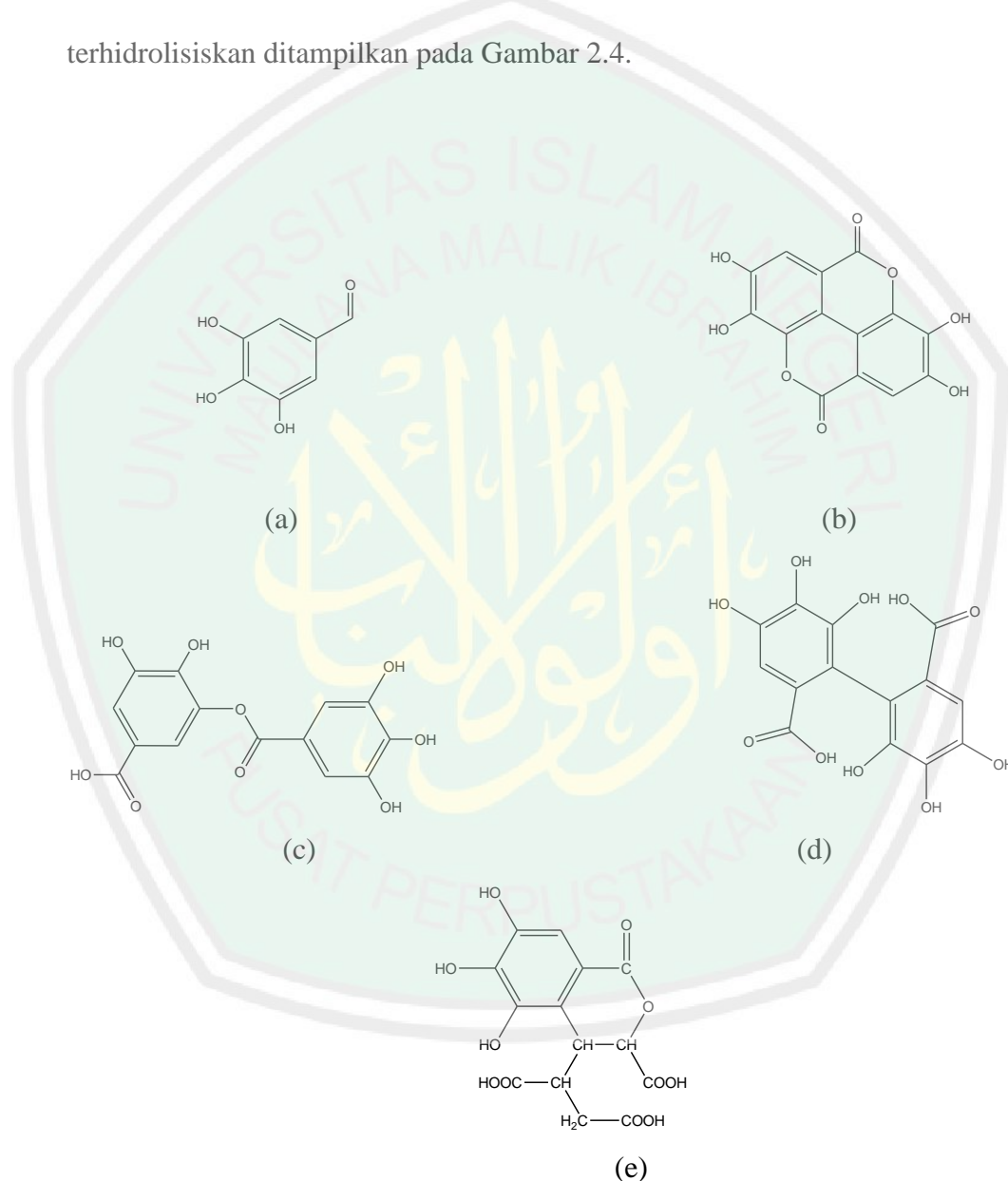
Secara kimia terdapat dua jenis tanin, yaitu tanin terkondensasi dan tanin terhidrolisis. Tanin terkondensasi atau flavolan secara biosintesis terbentuk dengan cara kondensasi katekin tunggal (galokatekin) yang membentuk senyawa dimer dan kemudian oligomer yang lebih tinggi. Nama lain untuk tanin terkondensasi ialah proantosianidin karena bila direaksikan dengan asam panas, beberapa ikatan karbon-karbon penghubung satuan terputus dan dibebaskanlah monomer antosianidin. Katekin terbagi menjadi 3 jenis diantaranya katekin, afzelekin dan galokatekin (Harborne, 1987). Gambar 2.3 menunjukkan 3 struktur senyawa katekin.



Gambar 2.3 Struktur senyawa katekin: (a) Afzelekin, (b) Katekin, dan (c) Galokatekin (Robinson, 1995)

Tanin terhidrolisis merupakan campuran yang terdiri atas beberapa asam fenolat yang berlainan teresterkan ke posisi berbeda pada molekul gula. Tanin terhidrolisis mengandung ikatan ester yang dapat terhidrolisis jika dididihkan dalam asam klorida encer. Bagian alkohol dari ester ini biasanya gula, seringkali

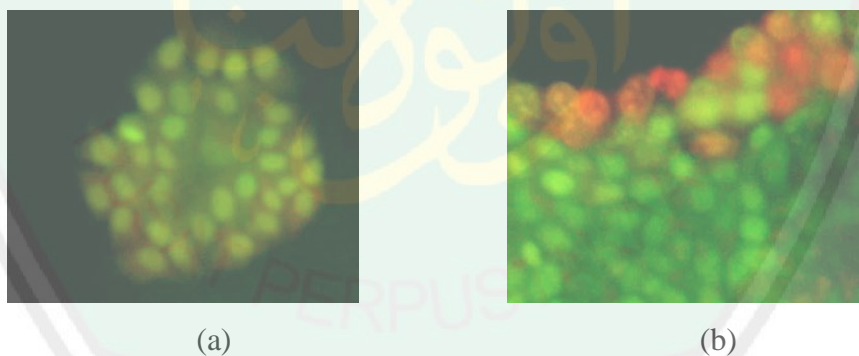
glukosa, tetapi dalam beberapa tanin mungkin saja gula lain, inositol, asam kuinat atau senyawa sejenis. Berdasarkan strukturnya, tanin terhidrolisis terbagi menjadi 2 kelas yaitu, ellagitanin dan gallotanin. Perbedaan struktur keduanya adalah adanya ester asam galat pada gallotanin dan ester asam heksahidroksidifenat (HHDP) pada ellagitanin (Robinson, 1995). Komponen asam dari tanin terhidrolisiskan ditampilkan pada Gambar 2.4.



Gambar 2.4 Komponen asam dari tanin terhidrolisiskan: (a) Asam galat, (b) Asam elagat, (c) Asam digalat, (c) Asam heksahidroksidifenat, dan (e) Asam kebulat (Robinson, 1995)

2.3.2 Tanin Berpotensi Sebagai Antikanker

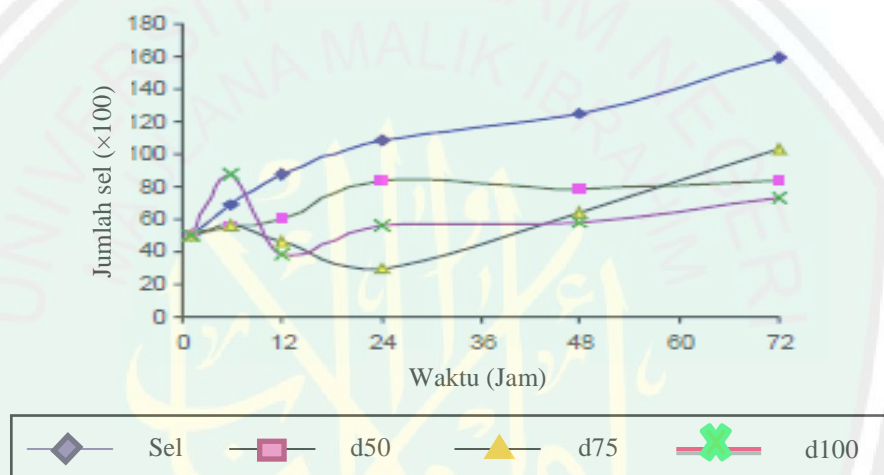
Tanin berpotensi sebagai antikanker berdasarkan pengaktifan jalur apoptosis sel kanker. Efek lainnya adalah tanin sebagai penghambat proliferasi sel kanker. Apoptosis merupakan kematian sel terprogram yang menghasilkan perubahan karakteristik morfologi dan biokimia sel (CCRC, 2009). Meiyanto, dkk. (2008) menguji ekstrak etanolik biji buah pinang terhadap sel kanker MCF-7. Ekstrak etanolik biji buah pinang (*Arecha catechu* L.) diketahui mengandung tanin terkondensasi, tanin terhidrolisis, flavan, dan senyawa fenolik. Hasil pengamatan apoptosis dengan metode *double staining* menggunakan *etidium bromide-acrydine orange* pada Gambar 2.5, menunjukkan bahwa perlakuan ekstrak etanolik biji pinang mengandung tanin pada sel kanker payudara MCF-7 menyebabkan terjadinya apoptosis.



Gambar 2.5 Efek ekstrak etanolik biji pinang menginduksi apoptosis pada sel MCF-7 setelah 48 jam perlakuan menggunakan metode *double staining* dan dilihat dengan mikroskop fluoresence. (a) Kontrol sel, (b) Ekstrak etanolik biji pinang 50 µg/mL. Perbesaran 100× (Meiyanto, dkk., 2008).

Berdasarkan pengamatan kinetika proliferasi sel kanker payudara MCF-7 pada Gambar 2.6, perlakuan ekstrak etanolik biji pinang dan kontrol sel

menunjukkan peningkatan jumlah sel seiring dengan bertambahnya waktu inkubasi. Akan tetapi jumlah sel mengalami penurunan secara signifikan dibandingkan kontrol sel pada jam ke 24, 48 dan 72. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanolik biji pinang yang mengandung tanin mampu mengurangi kecepatan proliferasi sel kanker payudara MCF-7 secara *time dependent* (Meiyanto, dkk., 2008).



Gambar 2.6 Efek variasi kadar ekstrak etanolik biji buah pinang terhadap kinetika pertumbuhan sel kanker payudara MCF-7. Pemberian dosis 50, 75, 100 $\mu\text{g/mL}$ dan masing-masing diukur absorbansinya pada jam ke-1, 6, 12, 24, 48 dan 72 (Meiyanto, dkk., 2008).

Obat antikanker yang genotoksik menyebabkan kerusakan kromosom DNA. Kondisi stres sebagaimana kerusakan DNA sel yang disebabkan senyawa toksik atau pemaparan sinar *Ultra-Violet* (UV) atau radiasi ionisasi (sinar gamma atau sinar-X), dapat menginduksi sel untuk memulai proses apoptosis. Signal akan ditransfer ke mitokondria oleh p53. Hal ini dapat menyebabkan pelepasan sitokrom C dari mitokondria ke sitoplasma. Pelepasan sitokrom C ke sitoplasma

kemudian akan berikatan dengan Apaf-1 membentuk *Caspase Recruitment Domain* (CARD). Beberapa CARD bergabung membentuk kompleks apoptosome kemudian mengikat pro-caspase 9 (*caspase inisiator*) dan mengaktifkannya menjadi caspase 9. Caspase 9 akan mengaktifkan procaspase 3 (*caspase efektor*) menjadi caspase 3 yang melaksanakan apoptosis. Caspase 3 yang berfungsi sebagai efektor yang akan membelah berbagai substrat yang mati yang pada akhirnya menyebabkan perubahan morfologi dan biokimia yang tampak pada sel yang mengalami apoptosis (CCRC, 2009).

Caspase memecah protein menyebabkan inti sel pecah. Protein yang merupakan target caspase biasanya terikat dengan protein lain, yaitu sebuah DNA endonuklease. Saat protein pecah, DNase bebas bermigrasi ke nukleus dan memecahnya. Perubahan membran terjadi saat caspase 3 memecah gelsolin, suatu protein yang terlibat dalam pemeliharaan morfologi sel. Gelsolin yang terpecah akan membelah filamen aktin di dalam sel. Caspase 3 juga mengaktifkan kinase yang disebut *p21-activated kinase 2* (PAK-2) melalui proteolisis. PAK termasuk protein yang dibutuhkan dalam membentuk *apoptotic body*. Sel yang terfragmentasi menjadi *apoptotic body* mengeluarkan sinyal “eat me” yang dikenali oleh fagosit sebagai sinyal untuk memulai proses apoptosis (CCRC, 2009).

2.4 Pemisahan Senyawa Tanin pada Tanaman Rumput Bambu

2.4.1 Ekstraksi Maserasi

Ekstraksi merupakan proses pemisahan, atau pengeluaran suatu komponen campuran dari campurannya. Biasanya menggunakan pelarut yang sesuai dengan komponen yang diinginkan, cairan dipisahkan, dan kemudian diuapkan pelarutnya

sampai kepekatan tertentu (HAM, 2012). Ekstraksi dilakukan dengan tujuan untuk mengambil zat atau senyawa aktif yang terdapat pada suatu bahan menggunakan pelarut tertentu (Hayati, dkk., 2012).

Maserasi adalah proses ekstraksi simplisia menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada suhu ruang. Secara teknologi, maserasi termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan. Proses ekstraksi komponen kimia dalam sel yaitu pelarut organik akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan larut dalam pelarut organik di luar sel, maka larutan terpekat akan berdifusi keluar sel dan proses ini akan berulang terus hingga terjadi keseimbangan antara konsentrasi cairan zat aktif di dalam dan di luar sel (Ansel, 1989).

Kelebihan dari metode maserasi adalah sederhana, relatif murah, tidak memerlukan peralatan yang rumit, terjadi kontak antara sampel dan pelarut yang cukup lama dan dapat menghindari kerusakan komponen senyawa yang tidak tahan panas. Kekurangan dari metode ini adalah membutuhkan waktu yang lama untuk mencari pelarut organik yang dapat melarutkan dengan baik senyawa yang akan diisolasi dan harus mempunyai titik didih yang tinggi pula sehingga tidak mudah menguap (Voight, 1995).

Ekstraksi tanin pada tanaman rumput bambu dilakukan menggunakan pelarut aseton: air (7:3) dengan penambahan asam askorbat. Tanin dapat larut dalam pelarut organik polar sampai batas tertentu, tetapi tak larut dalam pelarut organik nonpolar seperti benzena atau kloroform (Robinson, 1995). pelarut aseton termasuk dalam pelarut organik polar yang larut dalam air dengan titik didih

sebesar 56,2 °C. Sedangkan air merupakan pelarut polar dengan titik didih 100⁰C (HAM, 2012). Tanin dapat bereaksi dengan protein membentuk kompleks yang tak larut air (Harborne, 1987). Penggunaan pelarut aseton dapat meminimalkan interaksi antara tanin dengan protein. Tanin akan larut dalam air dan protein larut dalam aseton (Sa'adah, 2010).

Tanin termasuk senyawa polifenol, senyawa fenol mudah dioksidasi. Senyawa fenol yang dibiarkan terpapar udara dalam beberapa saat akan menjadi sangat berwarna karena terbentuknya produk oksidasi (Hart, dkk., 2003). Penambahan asam askorbat dalam proses maserasi diharapkan dapat meminimalkan oksidasi tanin dengan teroksidasinya asam askorbat. Sa'adah (2010) melakukan ekstraksi senyawa tanin pada daun belimbing wuluh menggunakan pelarut aseton: air (7:3) dengan penambahan asam askorbat, didapatkan rendemen sebanyak 10,78 %. Mabruroh (2015) mengekstrak senyawa tanin pada daun rumput bambu menggunakan pelarut aseton: air (7:3) dengan penambahan asam askorbat didapatkan rendemen sebesar 14,38%.

2.4.2 Ekstraksi Cair-Cair

Ekstraksi cair-cair adalah proses pemisahan suatu komponen dari satu fasa cair ke fasa cair lainnya (Helwani, 2007). Ekstraksi cair-cair digunakan untuk memisahkan senyawa atas dasar perbedaan kelarutan pada dua jenis pelarut yang berbeda yang tidak saling bercampur. Jika analit berada dalam pelarut polar, maka pelarut yang sebaiknya digunakan adalah pelarut non polar, dan sebaliknya (khamidinal, 2009). Kelebihan metode ini adalah dapat memperoleh komponen

bioaktif yang lebih spesifik dan waktu ekstraksinya cepat (Waktu total ekstraksi pendek) (Dewi, dkk., 2012).

Ekstraksi cair-cair sampel rumput bambu dilakukan melalui 2 tahap menggunakan pelarut berbeda, yaitu kloroform dan etil asetat. Kloroform merupakan senyawa non polar dengan densitas massa jenis sebesar $1,483 \text{ g/cm}^3$, sedangkan etil asetat merupakan senyawa semipolar dengan densitas sebesar $0,902 \text{ g/cm}^3$. Filtrat ekstrak kasar tanin diekstraksi cair-cair menggunakan pelarut kloroform hingga terbentuk 2 lapisan, yaitu lapisan air dan lapisan kloroform. Diambil lapisan air yang untuk diekstraksi cair-cair kembali menggunakan pelarut etil asetat. Dari 2 lapisan yang terbentuk (lapisan air dan lapisan etil asetat), diambil lapisan air yang diduga mengandung senyawa tanin yang bersifat polar (Sa'adah, 2010; Firdaus, 2016).

2.4.3 Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi adalah teknik pemisahan campuran yang didasarkan atas perbedaan distribusi dari komponen campuran tersebut di antara dua fase, yaitu fase diam dan fase bergerak. Dalam teknik kromatografi, sampel yang merupakan campuran dari berbagai macam komponen ditempatkan dalam situasi dinamis dalam sistem yang terdiri dari fasa diam dan fase gerak. Semua pemisahan pada kromatografi tergantung pada gerakan relatif dari masing-masing komponen di antara kedua fase tersebut. Senyawa atau komponen yang tertahan lebih lemah oleh fasa diam akan bergerak lebih cepat daripada komponen yang tertahan lebih kuat. Perbedaan gerakan antara komponen yang satu dengan yang lainnya disebabkan oleh perbedaan dalam adsorpsi, partisi, kelarutan atau penguapan di

antara kedua fase. Jika perbedaan-perbedaan ini cukup besar maka akan terjadi pemisahan secara sempurna (Yazid, 2005).

Penelitian ini menggunakan teknik kromatografi lapis tipis dengan fasa diam berupa plat silika F₂₅₄ dan fase gerak berupa pelarut campuran *n*-butanol: asam asetat: air dengan perbandingan 4:1:5. Puspawati, dkk. (2015) mengisolasi tanin dari ekstrak daun trembesi menggunakan eluen *n*-butanol : asam asetat : air (4:1:5), didapatkan pemisahan terbaik dengan nilai *retardation factor* (*R_f*) tanin sebesar 0,61 dan 0,65. Lestari dan Sidik (2013) melakukan isolasi tanin dari ekstrak air kulit batang kelapa gading menggunakan eluen *n*-butanol: asam asetat: air (4:1:5), didapatkan isolat tanin dengan *R_f* 0,67.

Nilai *R_f* bersifat karakteristik dan menunjukkan identitas masing-masing komponen. Nilai *R_f* dapat digunakan untuk identifikasi kualitatif dengan membandingkan terhadap harga *R_f* senyawa standar. Harga *R_f* untuk masing-masing noda hasil pemisahan ditentukan menggunakan Persamaan 2.1 (Yazid, 2005).

$$R_f = \frac{\text{jarak yang ditempuh komponen}}{\text{jarak yang ditempuh pelarut}} \dots\dots\dots (2.1)$$

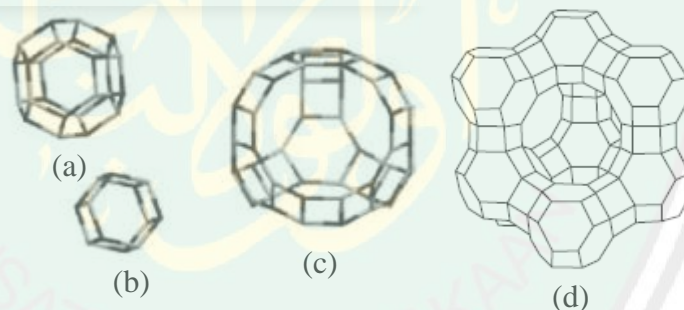
Kelebihan teknik kromatografi lapis tipis adalah waktu pemisahan lebih cepat, sensitif artinya meskipun jumlah cuplikan sedikit masih dapat dideteksi, dan resolusinya tinggi sehingga pemisahan lebih sempurna (Yazid, 2005).

Tanin termasuk senyawa fenolik. Deteksi adanya senyawa fenolik dilakukan dengan penyemprotan FeCl₃ dan memberikan hasil yang positif bila bercak mengalami pepadaman pada panjang gelombang UV 254 nm dan fluoresensi pada panjang gelombang 366 nm (Meiyanto, dkk., 2008). Tanin memberikan warna hijau atau tak berwarna pada panjang gelombang 254 nm dan

warna lembayung pada panjang gelombang 366 nm (Sa'adah, 2010; Firdaus, 2016).

2.5 Zeolit NaX Sebagai Sistem Penghantar Obat (*Drugs Delivery System*)

Zeolit NaX merupakan zeolit jenis faujasit (FAU) yang mempunyai kation penyeimbang berupa ion Natrium (Na^+). Kerangka zeolit jenis faujasit ditunjukkan pada Gambar 2.7. Kerangka faujasit terdiri dari sangkar sodalit yang terhubung melalui jembatan oksigen pada permukaan heksagonal. Zeolit X memiliki diameter pori sebesar $7,4 \text{ \AA}$ yang terbentuk oleh 12 cincin. Rongga bagian dalam (*supercage*) memiliki diameter 13 \AA dan dikelilingi oleh 10 sangkar sodalit (*β -cage*) (Rongchapo, dkk., 2018).



Gambar 2.7 (a) Sangkar sodalit (β -cage), (b) *The Double Six Rings* (D6R), (c) Supercage, dan (d) Kerangka zeolit faujasit (Auerbach, dkk., 2003; Lutz, 2014)

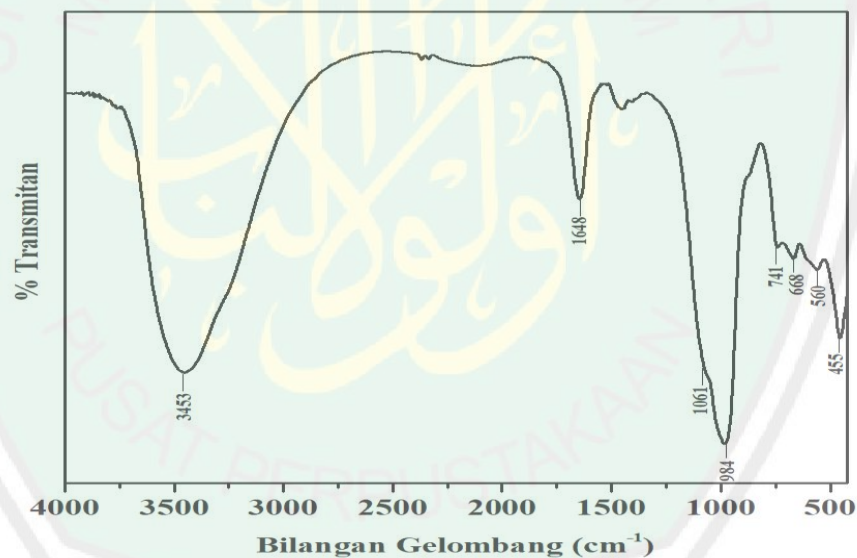
Penelitian Vilaca, dkk. (2013) menguji interaksi antara zeolit NaY dengan sel kanker kolon (*colorectal carcinoma*) dimana senyawa rhodamin B yang dapat berpendar diembankan pada zeolit NaY kemudian diinteraksikan dengan sel kanker kolon. Hasil pengamatan menggunakan mikroskop fluoresens

menunjukkan bahwa zeolit dapat masuk ke dalam sitoplasma sel sehingga zeolit dapat dimanfaatkan sebagai sistem penghantar obat. Sistem penghantar obat merupakan formulasi obat atau alat yang memungkinkan pemasukan obat ke dalam tubuh dan meningkatkan kemanjuran dan keamanan obat dengan mengontrol laju, waktu, dan situs lepas obat di dalam tubuh (Mustika dan Putra, 2016).

Impregnasi atau pengembanan adalah prosedur preparasi katalis dengan mengadsorpsikan komponen tertentu dalam larutan kepada padatan pengembanan. Padatan pengembanan direaksikan dengan sejumlah volume tertentu dari larutan yang mengandung senyawa yang akan diembankan. Metode impregnasi kering hanya menggunakan larutan impregnasi dengan jumlah yang tepat (1-1,2 kali volume pori) untuk mengisi keseluruhan volume pori padatan pengembanan. Metode impregnasi meliputi tiga tahap: (1) kontak pendukung dengan larutan dalam jangka waktu tertentu, (2) pengeringan pendukung, dan (3) aktivasi katalis dengan kalsinasi, reduksi atau perlakuan lain yang sesuai (A'yuni dan Muwarni, 2012). Impregnasi kering memiliki keuntungan menghindari penyaringan, meminimalkan kebutuhan larutan dan menyetorkan pemuatan senyawa yang diketahui ke padatan pendukung (Hong, 2015).

Zeolit hasil pengembanan ekstrak dan isolat tanin rumput bambu dikarakterisasi menggunakan instrumen FTIR untuk mengetahui adanya perubahan gugus fungsi zeolit setelah proses pengembanan. FTIR merupakan metode analisis menggunakan teknik spektroskopi inframerah dengan rentang frekuensi $4000-400\text{ cm}^{-1}$. Prinsip dasar dari metode ini adalah bila sinar inframerah dilewatkan melalui cuplikan senyawa, maka sejumlah frekuensi

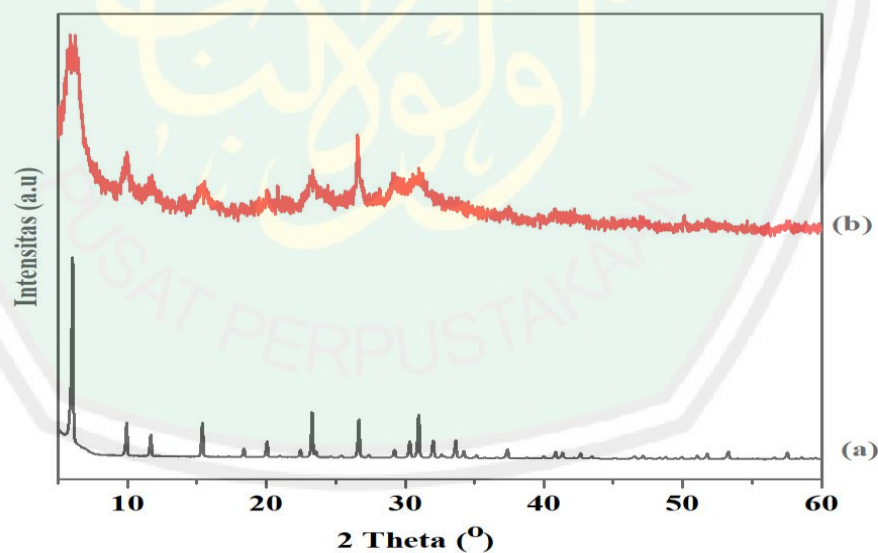
diserap sedang frekuensi yang lain diteruskan/ ditransmisikan. Frekuensi sinar inframerah yang diserap oleh molekul senyawa akan menyebabkan molekul tereksitasi ke tingkat energi yang lebih tinggi. Inti-inti atom yang terikat secara kovalen akan mengalami kenaikan amplitudo getaran. Setiap ikatan mempunyai frekuensi rentangan *stretching* dan *bending* yang karakteristik dan dapat menyerap sinar pada frekuensi tertentu (Sastrohamidjojo, 1991). Energi yang diserap akan dibuang dalam bentuk panas bila molekul itu kembali ke keadaan dasar. Panjang gelombang eksak dari absorpsi oleh suatu tipe ikatan, bergantung pada macam getaran dari ikatan tersebut (Supratman, 2010).



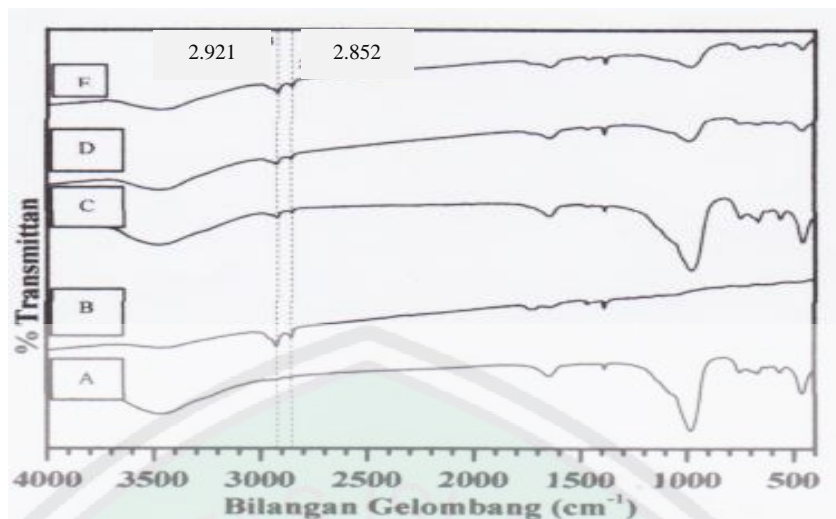
Gambar 2.8 Spektrum zeolit NaX

Zeolit NaX yang digunakan dalam penelitian ini merupakan zeolit hasil sintesis dari kaolin blitar dan memiliki rasio molar Si/Al 5. Adapun spektra FTIR dari zeolit NaX ditunjukkan pada Gambar 2.8. Pita serapan lebar pada bilangan

gelombang 3453 cm^{-1} menunjukkan adanya vibrasi regangan ikatan -OH. Serapan pada bilangan gelombang 1648 cm^{-1} merupakan serapan dari vibrasi tekukan -OH. Adanya pita serapan pada bilangan gelombang 1061 dan 984 cm^{-1} menunjukkan adanya regangan asimetris dari ikatan $T-O-T$ ($T=$ Si atau Al) tetrahedral eksternal dan internal. Sedangkan pita serapan pada bilangan gelombang 741 dan 668 cm^{-1} merupakan pita serapan dari regangan simetris ikatan $T-O-T$ eksternal dan internal. Pita serapan pada bilangan gelombang 560 cm^{-1} menunjukkan serapan dari regangan D6R yang merupakan serapan karakteristik zeolit faujasit (Hasanah, 2018). Adapun Gambar 2.9 menunjukkan difraktogram zeolit NaX hasil analisa *X-Ray Diffraction* (XRD). Puncak pada 2θ ($^{\circ}$) = 6,05; 9,98; 12,13; 15,39; 20,04; 23,29; 26,67; dan 30,96 sesuai dengan standar zeolit NaX (Arifah, 2018).



Gambar 2.9 Pola difraksi sinar-X (a) Standar zeolit NaX dan (b) Zeolit NaX hasil sintesis (Hasanah, 2018)



Gambar 2.10 Spektra hasil FTIR (a) Zeolit NaX, (b) Ekstrak akar rumput bambu fraksi *n*-heksana, (c) Impregnasi 1:10, (d) Impregnasi 5:10, dan (e) Impregnasi 10:10 (Widayati, 2017).

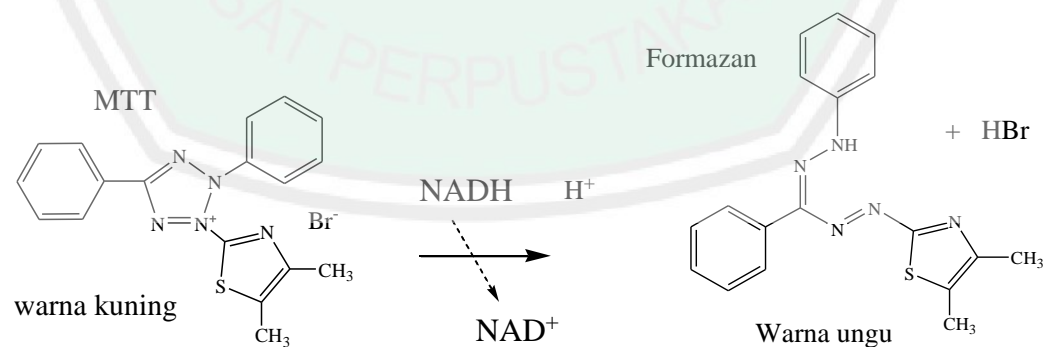
Penelitian Widayati (2017), berhasil mengembankan ekstrak akar rumput bambu fraksi *n*-heksana pada zeolit NaX. Hasil karakterisasi menggunakan FTIR pada Gambar 2.10 menunjukkan munculnya pita serapan baru pada bilangan gelombang 2.921 cm^{-1} dan 2.852 cm^{-1} yang merupakan pita serapan dari regangan asimetri ikatan $Csp_3\text{-H}$ dan regangan simetri ikatan $-\text{CH}_2$. Dimana keduanya merupakan ikatan yang terdapat dalam struktur senyawa organik yang terkandung dalam ekstrak akar rumput bambu fraksi *n*-heksana.

Penelitian Amorim, dkk. (2012) menyebutkan pengembanan senyawa CHC pada zeolit NaY dan NaA tidak mengubah struktur kerangka zeolit secara signifikan. Hal ini ditunjukkan oleh pola hasil XRD zeolit dimana tidak terdapat variasi perubahan pada puncak karakteristik zeolit sebelum dan sesudah proses pengembanan. Hasil yang sama juga ditunjukkan oleh pola FTIR dari zeolit NaY, MCM-41 dan SBA-15 sebelum dan sesudah pengembanan senyawa *salicylic acid*. Pola FTIR zeolit sebelum dan sesudah pengembanan tidak mengalami pergeseran

ataupun pelebaran pita serapan yang mengindikasikan bahwa tidak terjadi perubahan struktur kerangka dari zeolit (Vilaca, dkk., 2015).

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

Uji MTT merupakan uji warna/ kolorimetri yang digunakan untuk mengetahui aktivitas metabolisme sel. Prinsip uji MTT adalah mengukur aktivitas dehidrogenase mitokondria pada sel-sel hidup yang memiliki kemampuan mengkonversi/ mereduksi garam tetrazolium MTT menjadi kristal formazan berwarna ungu dan tidak larut air. Intensitas warna ungu yang terbentuk proporsional dengan jumlah sel hidup. Sehingga jika intensitas warna ungu semakin pekat, maka berarti jumlah sel hidup semakin banyak. Penambahan reagen *stopper* (bersifat deterjenik) akan melarutkan kristal berwarna ini yang kemudian diukur absorbansinya menggunakan *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) reader* (CCRC, 2009; Husni, dkk., 2013)). Reaksi uji MTT ditampilkan pada Gambar 2.11.



Gambar 2.11 Reaksi uji MTT (Sukhramani, dkk., 2011)

Pengukuran absorbansi larutan hasil uji dilakukan pada panjang gelombang 550 - 600 nm yang merupakan panjang gelombang dari warna komplementer ungu-kebiruan dengan warna yang diserap dari spektrum sinar tampak berupa warna kuning (Effendy, 2013). Data hasil uji MTT diolah menggunakan *Microsoft Excel* sehingga didapatkan persamaan regresi linear yang digunakan untuk menghitung nilai IC_{50} .

2.7 Sel Kanker Payudara T47D

Sel kanker payudara yang digunakan dalam penelitian ini adalah sel kanker payudara T47D. Sel kanker payudara T47D merupakan *continous cell line* yang diisolasi dari jaringan tumor duktal payudara seorang wanita berusia 54 tahun. *continous cell line* banyak 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, dkk., 2003).

Berdasarkan pada profil ekspresi gen dan ekspresi immunohistokimia dari *estrogen receptor* (ER α), *progesterone receptor* (PR), *human epidermal growth factor receptor 2* (HER2), Kanker payudara dibagi ke dalam 5 subtipe, yaitu : Luminal A, luminal B, basal, claudin-low atau normal, dan HER2. Sel kanker payudara T47D termasuk dalam subtipe Luminal A yang dapat memberikan indikasi dan respon terhadap terapi hormon karena memiliki profil imun (*immunoprofile*) ER+, PR+/-, dan HER2. Karakteristik lain dari sel kanker payudara T47D adalah memiliki Ki67 yang rendah, sistem endokrin yang

responsif dan biasanya responsif terhadap kemoterapi (Holliday dan Speirs, 2011).



BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Maret hingga November 2018 di Laboratorium Kimia Analitik Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang dan Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Umum Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

3.2.1 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan diantaranya seperangkat alat gelas, pisau, spatula, blender, gunting, ayakan 60 mesh, bola hisap, bejana pengembang, corong pisah, *counter*, desikator, kertas saring, lemari asam, mikroskop *inverted*, penggaris, pensil, plat kromatografi lapis tipis (KLT) silika G₆₀ F₂₅₄, *vacuum pump*, oven, loyang, neraca analitik, penjepit kayu, *shaker incubator*, klem dan statif, penyaring *buchner*, *rotary evaporator*, botol vial, oven, *vortex*, mikropipet, tabung reaksi, rak tabung reaksi, *sentrifuge*, 96-well plate, *conical tube*, *yellow tip*, *blue tip*, *culture dish*, *hemocytometer*, *incubator*, seperangkat lampu UV, seperangkat alat FTIR dan ELISA *reader*.

3.2.2 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman rumput bambu, akuades, asam askorbat 10 mM, zeolit NaX, KBr, asam asetat, asam klorida pekat, aseton, etil asetat, besi (III) klorida (FeCl₃) 1%, gelatin, kloroform,

n-butanol, dimetil sulfoksida (DMSO), media *Roswell Park Media Institute* (RPMI) 1640 (Gibco), *Phosphat Buffer saline* (PBS), MTT 5 mg/mL (50 mg MTT dan 10 mL PBS), *Sodium Dodecyl Sulfate* (SDS) 10% dalam 0,1 N HCl, tripsin-EDTA 1× dan sel kanker payudara T47D.

3.3 Rancangan Penelitian

Sampel rumput bambu dicuci, dikeringkan dan dihaluskan. Serbuk rumput bambu yang didapat dianalisis kadar airnya, kemudian diekstraksi maserasi menggunakan aseton : air (7:3). Ekstrak yang didapat dipekatkan menggunakan *rotary vacuum evaporator* dan dihitung rendemen yang didapat. Ekstrak pekat selanjutnya diekstraksi cair-cair menggunakan kloroform dan etil asetat sehingga dihasilkan fraksi air rumput bambu. fraksi air rumput bambu yang didapat dipekatkan kembali menggunakan *rotary vacuum evaporator*. Kemudian ekstrak hasil maserasi dan fase air diuji fitokimia menggunakan reagen FeCl₃ dan gelatin. Isolasi tanin dilakukan dengan metode Kromatografi Lapis Tipis Preparatif (KLTP) menggunakan eluen *n*-butanol : asam asetat : air (4:1:5). Ekstrak dan isolat tanin yang didapat diimbangkan pada zeolit NaX menggunakan metode impregnasi kering. Hasil impregnasi dikarakterisasi menggunakan FTIR dan selanjutnya diuji aktivitasnya sebagai antikanker sel payudara T47D menggunakan metode MTT.

3.4 Tahapan Penelitian

Tahapan pelaksanaan penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Preparasi sampel dan analisis kadar air

2. Ekstraksi senyawa tanin pada tanaman rumput bambu menggunakan metode maserasi dan ekstraksi cair-cair
3. Uji fitokimia senyawa tanin pada ekstrak dan fraksi air rumput bambu menggunakan reagen
4. Isolasi senyawa tanin dengan metode KLTP
5. Pengembanan ekstrak dan isolat tanin rumput bambu pada zeolit NaX menggunakan metode impregnasi kering
6. Karakterisasi zeolit hasil pengembanan menggunakan FTIR
7. Uji aktivitas ekstrak dan isolat tanin yang diembankan pada zeolit NaX terhadap sel kanker payudara T47D menggunakan metode MTT
8. Analisis Data

3.5 Pelaksanaan Penelitian

3.5.1 Preparasi Sampel dan Analisis Kadar Air Sampel Rumput Bambu

Tanaman rumput bambu dicuci bersih dan dipilah untuk menghilangkan kotoran, lalu dikeringkan menggunakan lampu bohlam 50 Watt selama 3 hari untuk menghilangkan kandungan air. Rumput bambu kering dihaluskan menggunakan blender hingga menjadi serbuk dan diayak menggunakan ayakan 60 mesh agar ukurannya kecil sehingga dapat memperbesar interaksi sampel dengan pelarut saat proses ekstraksi. Serbuk tanaman rumput bambu yang didapat merupakan sampel penelitian.

Analisis kadar air diawali dengan memanaskan cawan pada suhu 105 °C selama \pm 15 menit lalu didinginkan di dalam desikator selama 10 menit. Cawan ditimbang dan diulangi perlakuan sampai diperoleh berat konstan. Sampel ditimbang sebanyak 5 g diletakkan dalam cawan dan dipanaskan dalam oven pada

suhu 105 °C selama 30 menit untuk menguapkan kandungan air dalam sampel. Sampel kering kemudian didinginkan dalam desikator ± 15 menit dan ditimbang kembali. Perlakuan ini diulangi sampai tercapai berat konstan. Kadar air dalam sampel dihitung menggunakan Persamaan 3.1 (Hayati, dkk., 2015).

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

Dengan *a* adalah berat konstan cawan kosong, *b* adalah berat konstan cawan + sampel sebelum dikeringkan, dan *c* adalah berat konstan cawan + sampel setelah dikeringkan.

3.5.2 Ekstraksi Senyawa Aktif pada Sampel Rumput Bambu dengan Metode Maserasi dan Ekstraksi Cair-Cair

Ditimbang serbuk sampel rumput bambu sebanyak 60 g, dimasukkan dalam 2 tabung erlenmeyer 500 mL berbeda, masing-masing 30 g. Serbuk rumput bambu kemudian diekstraksi dengan perendaman menggunakan 200 mL pelarut aseton: air (7:3) dengan penambahan 3 mL asam askorbat 10 mM pada setiap erlenmeyer selama 24 jam, lalu diaduk dengan bantuan shaker berkecepatan 100 rpm selama 4 jam untuk mengoptimalkan proses ekstraksi. Kemudian disaring dengan corong Buchner untuk memisahkan residu dan ekstrak, residu yang diperoleh dimaserasi kembali sebanyak 2 kali. Filtrat atau ekstrak yang diperoleh digabung dan dipekatkan untuk memisahkan pelarut dengan menguapkannya menggunakan *rotary vacuum evaporator* suhu ± 50 °C sampai pelarut pada labu pemisah tidak menetes lagi sehingga dihasilkan ekstrak kasar tanin rumput bambu (Puspawati, dkk., 2015; Hayati, dkk., 2015; Firdaus, 2016; Elgailani dan Ishak, 2016).

Ekstrak kasar tanin yang didapat kemudian diekstraksi kembali dengan metode ekstraksi cair-cair menggunakan pelarut kloroform sebanyak 3 kali untuk memisahkan senyawa yang bersifat non polar dari ekstrak. Diambil fase air untuk kemudian diekstraksi kembali menggunakan pelarut etil asetat sebanyak 3 kali untuk memisahkan senyawa yang bersifat semipolar. Hasil fase air yang diduga mengandung senyawa tanin dipekatkan menggunakan *rotary vacuum evaporator* suhu $\pm 50\text{ }^{\circ}\text{C}$ untuk menguapkan pelarutnya sehingga didapatkan fraksi air rumput bambu (Husni, dkk., 2013). Persentase rendemen yang didapat berdasarkan berat ekstrak hasil ekstraksi dihitung menggunakan Persamaan 3.2 (Ngajow, dkk., 2013).

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

3.5.3 Uji Fitokimia pada Ekstrak dan Fraksi Air Rumput Bambu Menggunakan Reagen

Ekstrak hasil maserasi dan fraksi air rumput bambu masing-masing ditimbang seberat 0,01 g dan dilarutkan dalam 10 mL aquades. Sebanyak 3 mL larutan dari masing-masing sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berbeda. Pada tabung pertama, direaksikan dengan 3 tetes larutan FeCl_3 1%. Jika sampel positif mengandung tanin akan dihasilkan warna hijau kehitaman atau biru tinta. Pada tabung kedua, ditambahkan dengan larutan gelatin, jika terbentuk endapan putih maka sampel positif mengandung tanin (Ngajow, dkk., 2013; Elgailani dan Ishak, 2016).

3.5.4 Isolasi Senyawa Tanin dengan Metode KLTP

Isolasi senyawa tanin dengan metode KLTP dilakukan melalui beberapa tahapan berikut (Lestari dan Sidik, 2013; Sa'adah, 2010; Firdaus, 2016; Puspawati, 2015; Yazid, 2005):

1. Persiapan plat KLT

Plat KLT silika gel G60 F₂₅₄ dipotong seukuran 10 × 20 cm dan diberi penanda garis jarak 1 cm dari bagian tepi bawah dan atas plat menggunakan pensil sebagai penanda batas awal dan akhir proses elusi. Kemudian plat KLT diaktivasi dengan cara dioven pada suhu 105 °C selama ±10 menit.

2. Persiapan eluen

Eluen *n*-butanol: asam asetat: air (4:1:5) dimasukkan dalam bejana dan dijenuhkan dengan menutup rapat bejana selama 24 jam untuk menyetarakan tekanan uap dalam bejana.

3. Penotolan sampel

Sebanyak 0,015 g fraksi air rumput bambu dilarutkan dalam 1 mL pelarut aseton: air (7:3), kemudian ditotolkan pada plat KLT menggunakan pipa kapiler sepanjang garis penanda bawah yang berada pada jarak 1 cm dari tepi bawah plat KLT sebanyak 10×. Setiap kali penotolan dilakukan pengeringan dengan cara dikering-anginkan agar spot yang terbentuk tidak melebar.

4. Proses elusi

Plat KLT hasil penotolan dimasukkan ke dalam bejana pengembang berisi eluen *n*-butanol: asam asetat: air (4:1:5) yang telah dijenuhkan. Selanjutnya bejana ditutup rapat, proses elusi dihentikan saat eluen mencapai garis batas

atas plat KLT. Plat KLT diangkat dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan.

5. Identifikasi noda

Noda yang terbentuk pada plat KLT diperiksa di bawah lampu UV 254 nm dan 366 nm. Noda yang tampak ditandai dengan pensil, kemudian disemprot dengan reagen FeCl_3 1% dan diamati perubahan warnanya. Jika noda berwarna lembayung maka isolat positif tanin. Selanjutnya diamati bentuk masing-masing noda dan ditentukan nilai R_f -nya menggunakan Persamaan 3.3.

$$R_f = \frac{\text{jarak yang ditempuh komponen}}{\text{jarak yang ditempuh pelarut}} \dots\dots\dots (3.3)$$

Noda yang diduga senyawa tanin dikerok dan dilarutkan dalam etanol. Selanjutnya dipisahkan isolat dari silika menggunakan alat sentrifugasi hingga nampak warna silika putih terdapat di dasar tabung. Diambil dan dipisahkan supernatan dari silika (pelet). Selanjutnya supernatan yang diperoleh diuapkan pelarutnya dengan bantuan gas nitrogen.

3.5.5 Pengukuran Molekul Tanin Menggunakan Aplikasi Hyperchem

Molekul tanin yang akan diukur digambar terlebih dahulu menggunakan aplikasi ChemDraw 3D. Buka program ChemDraw 3D, kemudian pada menu *toolbar* pilih *ChemDraw*. Penggambaran molekul dilakukan menggunakan pilihan yang tersedia dalam kotak *main tools*, *general toolbar*, dan *style toolbar* disesuaikan dengan struktur molekul yang akan digambar. Gambar struktur molekul kemudian dipindahkan ke ChemDraw 3D, setelah muncul struktur

molekul tanin dalam bentuk 3 dimensi (3D) selanjutnya disimpan dalam format *.pdb.

Pengukuran molekul tanin dilakukan menggunakan aplikasi Hyperchem. Klik *file* pada *menu bar*, pilih *open*, pada kotak tipe *file* yang dicari pilih tipe *.pdb, klik *file* yang diinginkan maka akan muncul struktur molekul yang tersimpan. Klik *select* pada *menu toolbar* yang tersedia, kemudian klik atom pertama dan atom kedua yang ingin diketahui jaraknya. Jarak atau ukuran dari atom pertama ke atom kedua akan muncul pada pojok kiri bawah jendela HyperChem dengan satuan Angstrom (Å).

3.5.6 Pengembanan Ekstrak dan Isolat Tanin Rumput Bambu pada Zeolit NaX dengan Metode Impregnasi Kering

Ekstrak dan isolat tanin rumput bambu diembankan pada zeolit NaX menggunakan metode impregnasi kering. Zeolit NaX terlebih dahulu dikeringkan dalam oven suhu 105 °C selama ± 4 jam untuk menghilangkan kandungan air. Zeolit yang telah diaktivasi selanjutnya dikombinasikan dengan ekstrak dan isolat tanin rumput bambu. Ditimbang ekstrak atau isolat tanin rumput bambu dan zeolit NaX dengan perbandingan 5:10, lalu dicampurkan keduanya dalam 3 mL etanol. Masing-masing campuran diaduk menggunakan *stirer* pada suhu kamar selama 48 jam. Kombinasi ekstrak dan isolat tanin rumput bambu dengan zeolit NaX kemudian dioven pada suhu 40 °C sampai kering (± 2 jam) untuk menguapkan pelarut, selanjutnya ditimbang untuk mengetahui berat sampel yang teremban dan diuji aktivitas antikanker terhadap sel kanker T47D secara *in vitro* dengan metode MTT (Vilaca, dkk., 2013; Amorim, dkk., 2012; Rohmah, 2016). Efisiensi

pengambilan ekstrak dan isolat tanin rumput bambu dihitung menggunakan Persamaan 3.4.

$$\text{Efisiensi pengambilan} = \frac{\text{berat sampel yang teremban}}{\text{berat sampel yang diembankan}} \times 100\% \dots \dots \dots (3.4)$$

3.5.7 Karakterisasi Menggunakan FTIR

Karakterisasi menggunakan FTIR dilakukan dengan menghaluskan cuplikan sampel dan KBr dalam mortar batu agate hingga halus. Kemudian campuran diletakkan pada kaca preparat dan ditekan dengan alat *press* hingga berbentuk pellet. Selanjutnya sampel dimasukkan dalam *sample holder* dan dianalisa menggunakan FTIR pada bilangan gelombang 4000 – 400 cm^{-1} .

3.5.8 Uji Aktivitas Antikanker Metode MTT

Uji aktivitas antikanker metode MTT dilakukan melalui 4 tahapan utama, yaitu (Husni, dkk., 2013; CCRC, 2009):

3.5.8.1 Kultur Sel

(a) Penyiapan Sel

Sel kanker payudara yang digunakan yaitu sel T47D yang merupakan koleksi *Cancer Chemoprevention Research Center* (CCRC) dari Universitas Gajah Mada (UGM). Sel kanker dikeluarkan dari freezer ($-80\text{ }^{\circ}\text{C}$), dihangatkan dalam inkubator pada suhu $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ selama 2-3 menit. Setelah mencair, sel dipindahkan ke dalam *conical tube* yang telah berisi 10 mL Medium Komplit (MK), kemudian dipisahkan medium dan sel kanker menggunakan alat sentrifugasi dengan kecepatan 2000 rpm selama 5 menit. Supernatan (medium) dibuang, diambil pelet (sel kanker). Pelet ditambah 4 mL MK, kemudian dimasukkan dalam *culture dish*. Selanjutnya diinkubasi pada suhu

37 °C/ 5% CO₂ selama 3-4 jam dan kemudian diamati di bawah mikroskop untuk melihat apakah sel melekat di dasar *culture dish* dan membentuk lapisan monolayer. Medium pertumbuhan diganti sekali dalam dua hari dan bila jumlah sel di dalam *culture dish* mencapai 70-85%, dilakukan sub-kultur sel.

(b) Panen Sel

Medium yang terdapat di dalam *culture dish* dibuang, kemudian ditambahkan ± 5 mL PBS dan dihomogenkan untuk mencuci sel-sel mati kemudian dibuang. Selanjutnya ditambahkan ± 300-500 µL trypsin-EDTA untuk melepaskan sel dari *culture dish* dan melepaskan ikatan antar sel lalu dihomogenkan perlahan, diinkubasi selama 5 menit pada suhu 37 °C/ 5% CO₂, setelah itu diamati sel di bawah mikroskop *inverted*, jika sel masih menempel pada *culture dish*, waktu inkubasi ditambah (maksimal total 10 menit). Jika sel telah lepas dari dasar *culture dish*, ditambahkan minimal 5 mL MK untuk menghentikan kerja tripsin dan dihomogenisasi dengan mikropipet. Selanjutnya diambil sebanyak 10 µL dan dimasukkan ke dalam hemasitometer untuk dihitung jumlah sel-nya sedangkan sisanya dimasukkan dalam *conical tube* baru dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C/ 5% CO₂.

(c) Penghitungan Sel Kanker

Diambil 10 µL suspensi sel, dimasukkan pada kotak penghitungan sel hemasitometer. Dilakukan penghitungan sel di bawah mikroskop *inverted*. Dihitung jumlah sel kanker yang ada menggunakan Persamaan 3.5.

$$\Sigma \text{ sel panen} = \frac{\Sigma \text{ sel kuadran } a+b+c+d}{4} \times 10^4 \dots\dots\dots (3.5)$$

(d) Peletakan Sel pada Plate

Dibuat suspensi sel dalam medium dengan jumlah dan volume terukur menggunakan Persamaan 3.6.

$$\Sigma \text{ sel yang dibutuhkan (mL)} = \frac{\Sigma \text{ sel yang digunakan}}{\Sigma \text{ sel panen}} \dots\dots\dots (3.6)$$

Diambil sel kanker sebanyak jumlah yang dibutuhkan, kemudian dimasukkan dalam *conical tube* baru dan ditambah MK hingga total volume 10 mL, dihomogenkan. Kemudian dimasukkan ke dalam plat uji, masing-masing sumuran sebanyak 100 μ L, kecuali sumur yang digunakan sebagai kontrol sel diisi 200 μ L (MK+sel) dan kontrol medium diisi MK sebanyak 200 μ L. Kemudian sel diinkubasi pada suhu 37 °C/ 5% CO₂ selama 24 jam.

3.5.8.2 Pembuatan Larutan Uji

Sampel ditimbang sebanyak 10 mg kemudian dilarutkan dalam 100 μ L DMSO. Selanjutnya campuran dihomogenkan menggunakan *vortex* hingga larut. Sehingga didapatkan larutan stok sampel dengan konsentrasi 100.000 μ g/mL. Dibuat larutan sampel dari larutan stok dengan konsentrasi bertingkat, yaitu 500; 250; 125; 62,5; 31,25; 15,625 μ g/mL.

3.5.8.3 Uji Proliferasi Sel (Uji MTT)

(a) Peletakan Larutan Uji

Diambil plat uji berisi sel yang telah diinkubasi selama 24 jam, kemudian dibuang media sel dengan cara membalikkan plat uji 180° di atas tempat buangan dan ditekan secara perlahan di atas tisu untuk meniriskan sisa cairan. Selanjutnya dimasukkan 100 μ L PBS ke dalam semua sumuran yang terisi sel untuk mencuci dan membuang sel mati, lalu dibuang PBS dengan cara

membalik plate dan meniriskan kembali sisa cairan diatas tisu. Bagi plat uji menjadi 5 bagian menggunakan spidol di atas penutup plat. Setiap bagian digunakan untuk satu sampel dengan 3 kali pengulangan. Kemudian dimasukkan larutan uji masing-masing sampel sebanyak 100 μL pada tiap sumuran dengan konsentrasi bertingkat pada tiap-tiap bagian yang telah ditentukan. Selanjutnya plat kembali diinkubasi selama 24 jam dalam inkubator 37 $^{\circ}\text{C}$ / 5% CO_2 . Diamati perubahan yang terjadi pada sel setelah masa inkubasi.

(b) Peletakan Larutan MTT

Plat berisi sel yang telah diinkubasi dengan larutan uji dibuang medianya dengan cara dibalik dan dicuci dengan penambahan PBS pada tiap sumuran sebanyak 100 μL (hanya dilakukan jika hasil nampak keruh, sehingga dikhawatirkan mengganggu proses pengukuran absorbansi). Kemudian dibuang PBS dengan cara dibalik dan ditiriskan sisa cairan dengan tisu. Selanjutnya dimasukkan larutan MTT 0,5 mg/mL ke dalam tiap sumuran sebanyak 100 μL . Lalu plat diinkubasi selama 3-4 jam pada suhu 37 $^{\circ}\text{C}$ / 5% CO_2 . Setelah 3-4 jam, akan terlihat adanya endapan ungu kristal formazan. Kemudian ditambahkan 100 μL SDS 10% dalam 0,01 N HCl pada tiap sumuran untuk melarutkan kristal formazan dan bungkus plat dengan kertas atau *aluminium foil* lalu diinkubasi di tempat gelap pada suhu ruang selama 24 jam. Diukur serapannya dengan ELISA *reader* pada λ 550-600 nm (595 nm).

3.5.8.4 Analisis Data

Data absorbansi yang diperoleh dari pengukuran menggunakan ELISA reader digunakan untuk menentukan persentase sel hidup pada masing-masing konsentrasi sampel dengan menggunakan Persamaan 3.7.

$$\% \text{ viabilitas sel} = \frac{\text{absorbansi sel uji} - \text{absorbansi kontrol media}}{\text{absorbansi kontrol sel} - \text{absorbansi kontrol media}} \times 100\% \dots \dots \dots (3.6)$$

Dari persen viabilitas sel yang didapat dilakukan perhitungan IC_{50} . Hubungan antara konsentrasi larutan uji dengan persen viabilitas sel ditampilkan dalam bentuk grafik. Persamaan regresi linear dari grafik tersebut digunakan untuk menentukan nilai IC_{50} . Dimasukkan nilai $y = 50$ pada persamaan regresi linier dan dicari nilai x , sehingga diperoleh IC_{50} dari larutan uji (CCRC, 2009).



BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Preparasi dan Analisis Kadar Air pada Sampel Rumput Bambu

Sampel rumput bambu dipreparasi melalui 3 tahapan, yaitu: tahap pencucian, pengeringan dan penggilingan. Preparasi sampel bertujuan untuk menghilangkan debu dan kotoran, mengurangi kadar air, dan memperluas permukaan sampel. Serbuk rumput bambu hasil preparasi dapat dilihat pada Gambar 4.1. Hasil analisa kadar air dalam sampel rumput bambu sebanyak 6,644 %. Berdasarkan keputusan Menteri Kesehatan RI Nomor 661/MENKES/SK/VII/1994 tentang persyaratan sediaan obat tradisional, kandungan air dalam sediaan obat tradisional tidak boleh melebihi 10 %.



Gambar 4.1 Serbuk rumput bambu

4.2 Ekstraksi Senyawa Aktif pada Tanaman Rumput Bambu

Ekstraksi senyawa aktif pada tanaman rumput bambu dilakukan dengan 2 tahap, yaitu ekstraksi dengan metode maserasi, dilanjutkan partisi dengan metode ekstraksi cair-cair. Metode ekstraksi maserasi menguntungkan bagi ekstraksi senyawa aktif bahan alam yang mudah rusak akibat pemanasan karena prosesnya

dilakukan pada suhu ruang. Ekstraksi maserasi pada sampel rumput bambu dilakukan dengan pengulangan sebanyak 3 kali untuk mendapatkan hasil ekstrak yang maksimal. Hasil ekstraksi maserasi dapat dilihat pada Gambar 4.2 dan Tabel 4.1. Hasil maserasi serbuk rumput bambu sebanyak 60 g menggunakan pelarut aseton air, diperoleh rendemen sebanyak 17,999 % berwarna hijau pekat.



Gambar 4.2 Ekstrak pekat hasil maserasi

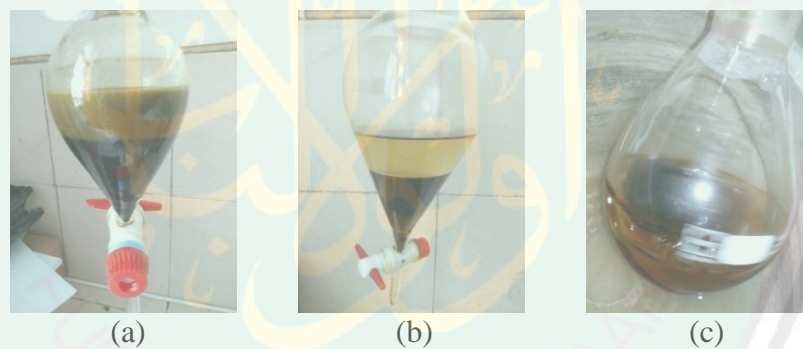
Tabel 4.1 Hasil ekstraksi maserasi rumput bambu

Massa sampel	Pelarut	Warna ekstrak	Massa ekstrak	Rendemen (b/b)
60 g	Aseton:air (7:3)	Hijau pekat	10,8 g	17,999 %

Partisi dengan metode ekstraksi cair-cair pada ekstrak hasil maserasi dilakukan untuk memisahkan senyawa tanin dengan senyawa lain berdasarkan perbedaan kepolarannya. Partisi dengan kloroform digunakan untuk memisahkan senyawa non polar seperti klorofil, triterpen, lemak dan senyawa non polar lain dari senyawa tanin yang bersifat polar. Sedangkan partisi dengan etil asetat digunakan untuk memisahkan senyawa semi polar. Hasil partisi menggunakan pelarut kloroform ditampilkan pada Gambar 4.3 (a), didapatkan 2 fase yang saling terpisah yaitu fase organik (kloroform) di bagian bawah yang berwarna hijau

kehitaman dan fase air yang berada di bagian atas berwarna hijau muda kecoklatan.

Hasil partisi fase air menggunakan pelarut etil asetat ditunjukkan pada Gambar 4.3 (b), fase air berada di bagian bawah berwarna coklat kehitaman sedangkan fase etil asetat berada di bagian atas berwarna kuning kehijauan. Fase air dipisahkan dari fase etil asetat dan diuapkan pelarutnya menggunakan *rotary vacuum evaporator*. Fraksi air rumput bambu hasil partisi menggunakan metode ekstraksi cair-cair ditampilkan pada Gambar 4.3 (c) dan Tabel 4.2, didapatkan rendemen berwarna hijau kecoklatan sebanyak 11,643 % dari partisi ekstrak rumput bambu sebanyak 4,990 g.



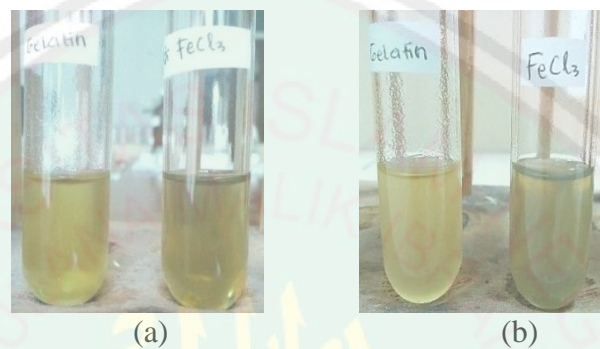
Gambar 4.3 (a) Hasil partisi menggunakan pelarut kloroform, (b) Hasil partisi menggunakan pelarut etil asetat, dan (c) Fraksi air rumput Bambu

Tabel 4.2 Hasil partisi ekstrak rumput bambu

Massa sampel	Pelarut	Warna ekstrak	Massa ekstrak	Rendemen (b/b)
4,990 g	Kloroform Etil asetat	Hijau kecoklatan	0,581 g	11,643 %

4.3 Uji Fitokimia Tanin Menggunakan reagen

Uji fitokimia dilakukan untuk menentukan adanya kandungan tanin secara kualitatif. Hasil uji fitokimia tanin menggunakan reagen FeCl_3 dan gelatin pada ekstrak dan fraksi air rumput bambu ditunjukkan pada Gambar 4.4 dan Tabel 4.3.



Gambar 4.4 Hasil uji fitokimia tanin menggunakan reagen FeCl_3 dan gelatin: (a) Ekstrak rumput bambu, dan (b) Fraksi air rumput bambu

Tabel 4.3 Hasil uji fitokimia tanin menggunakan reagen FeCl_3 dan gelatin

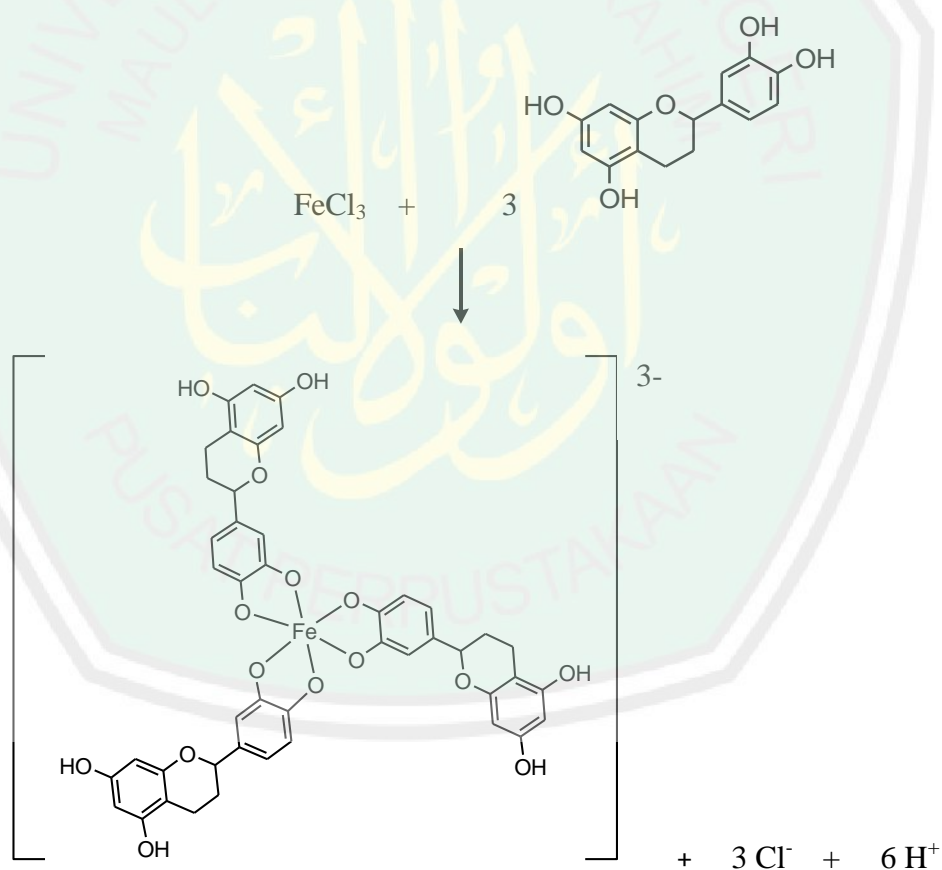
Sampel	Hasil uji reagen	
	FeCl_3	Gelatin
Ekstrak RB	++	+
Isolat tanin RB	++	++

Keterangan :

- +++ = mengandung senyawa lebih banyak (warna sangat pekat)
- ++ = mengandung senyawa lebih (warna cukup pekat)
- + = mengandung senyawa (berwarna)
- = tidak mengandung senyawa

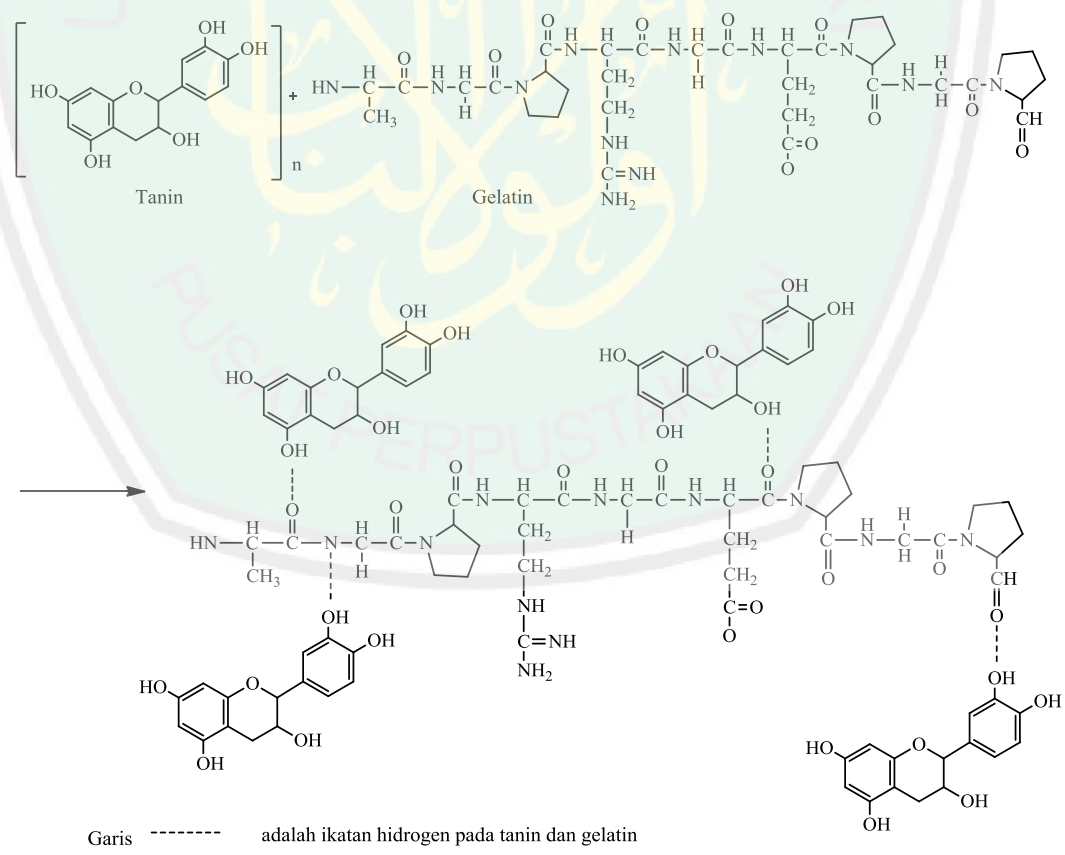
Ekstrak dan fraksi air rumput bambu yang direaksikan dengan FeCl_3 menunjukkan hasil positif mengandung tanin ditandai dengan munculnya warna biru kehitaman yang cukup pekat yang menunjukkan terbentuknya kompleks antara senyawa tanin yang terdapat dalam sampel dengan atom Fe. Uji kualitatif

menggunakan reagen FeCl_3 digunakan untuk mengidentifikasi adanya gugus fenol dalam sampel. Tanin merupakan senyawa polifenol yang akan bereaksi membentuk kompleks senyawa koordinasi berwarna biru tinta atau hijau kehitaman saat bereaksi dengan FeCl_3 . Tanin sebagai ligan akan mendonorkan elektron dari atom oksigen kepada atom pusat ion logam Fe^{3+} untuk membentuk ikatan kovalen koordinasi. Ion logam Fe^{3+} akan mengalami hibridisasi sp^3d^2 yang terisi 6 pasang elektron dari atom O. Reaksi tanin dengan FeCl_3 ditampilkan pada Gambar 4.5 (Brumaghim dan Perron, 2009; Effendy, 2013; Firdaus, 2016).



Gambar 4.5 Reaksi tanin dengan reagen FeCl_3

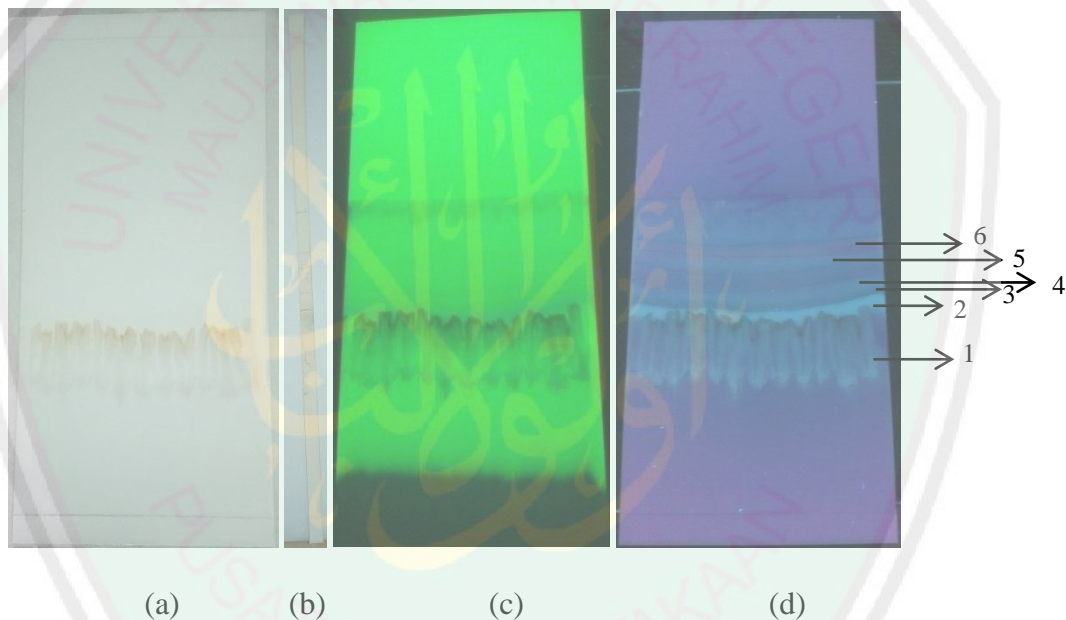
Hasil uji fitokimia tanin menggunakan reagen gelatin pada Gambar 4.4 dan Tabel 4.3, juga menunjukkan bahwa ekstrak dan fraksi air rumput bambu positif mengandung tanin ditandai dengan terbentuknya endapan putih cukup pekat pada fraksi air rumput bambu dan sedikit pada ekstrak rumput bambu. Hal ini dikarenakan tanin yang merupakan senyawa polifenol memiliki gugus hidroksi lebih dari satu yang akan berikatan hidrogen dengan gelatin yang merupakan protein yang tersusun dari monomer asam amino sehingga interaksi antara molekul air dengan gelatin minimal. Akibatnya, kelarutan gelatin dalam air akan berkurang sehingga membentuk endapan berwarna putih (Riswiyanto, 2009). Bentuk kompleks tanin dan gelatin ditunjukkan pada Gambar 4.6.



Gambar 4.6 Reaksi tanin dengan gelatin

4.4 Isolasi Senyawa Tanin Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis

Isolasi senyawa tanin dilakukan dengan metode kromatografi lapis tipis menggunakan eluen *n*-butanol: asam asetat: air (4:1:5). Selama proses pemisahan berlangsung senyawa terpisah akibat perbedaan kepolaran sehingga menyebabkan perbedaan distribusi senyawa pada fase gerak (eluen) dan fase diam (plat silika). Noda hasil pemisahan diidentifikasi di bawah lampu UV 254 dan 366 nm serta menggunakan reagen semprot FeCl_3 .



Gambar 4.7 Kenampakan noda hasil pemisahan KLTP: (a) Sebelum disemprot reagen FeCl_3 , (b) Sesudah disemprot reagen FeCl_3 , (c) Di bawah lampu UV 254, dan (d) Di bawah lampu UV 366 nm

Tabel 4.4 Hasil pemisahan senyawa tanin pada fraksi air Rumput Bambu (RB) dengan KLTP

Noda ke-	Nilai R_f	Warna noda dengan uji $FeCl_3$		Warna noda di lampu UV*	
		Sebelum	Sesudah	254 nm	366 nm
1	0,455	Coklat	Coklat	Coklat tua	Coklat kehijauan
2	0,607	Coklat kehijauan	Hitam pudar	Hijau pudar	Lembayung
3	0,66	Hijau muda	-	-	Hijau
4	0,705	-	-	-	Ungu
5	0,77	-	-	-	Ungu pudar
6	0,82	-	-	-	Merah

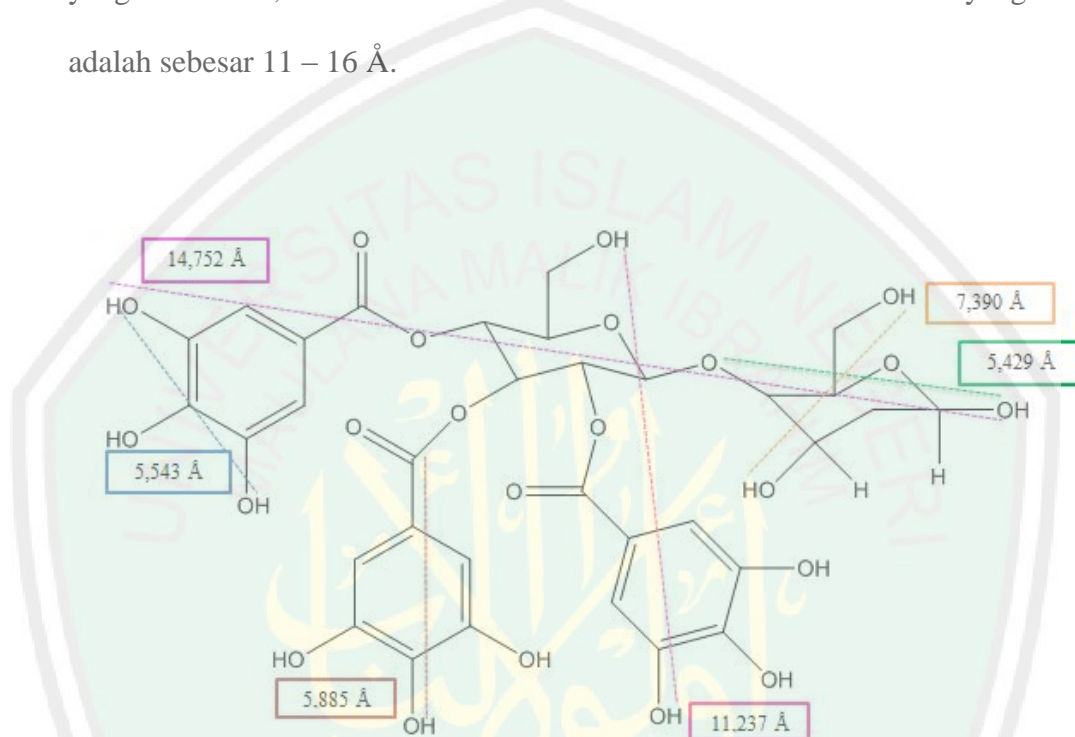
* sebelum disemprot $FeCl_3$

Pada Gambar 4.7 dan Tabel 4.4 menunjukkan hasil pemisahan senyawa tanin dengan metode kromatografi lapis tipis preparatif didapatkan 6 noda. Masing-masing noda dihitung nilai R_f -nya menggunakan Persamaan 3.3. Noda ke 2 dengan nilai R_f 0,607 diduga merupakan senyawa tanin karena menunjukkan warna lembayung saat berada di bawah lampu UV 366 nm dan menghasilkan warna hitam pudar setelah disemprot reagen $FeCl_3$. Tanin bereaksi membentuk kompleks berwarna biru tinta atau hijau kehitaman saat direaksikan dengan $FeCl_3$. Reaksi tanin dengan $FeCl_3$ ditampilkan pada Gambar 4.5. Noda ke 2 yang diduga senyawa tanin dipisahkan dari silika menggunakan alat sentrifugasi sehingga didapatkan isolat tanin rumput bambu.

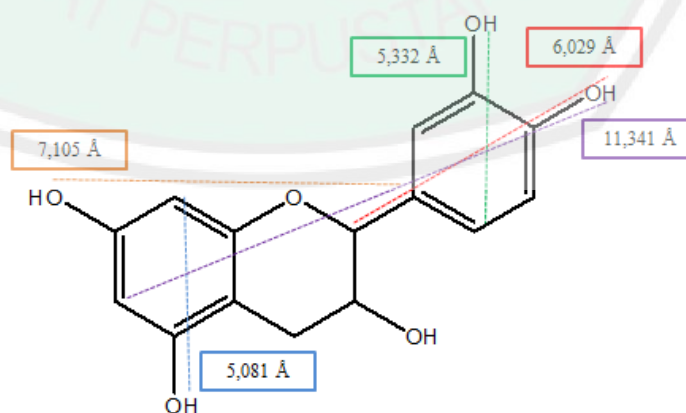
4.5 Pengukuran Molekul Tanin

Pengukuran molekul tanin dilakukan untuk mengetahui ukuran molekul tanin dan memperkirakan kemudahan molekul tanin untuk dapat teremban pada zeolit NaX berdasarkan ukuran molekul tanin dan ukuran pori zeolit NaX.

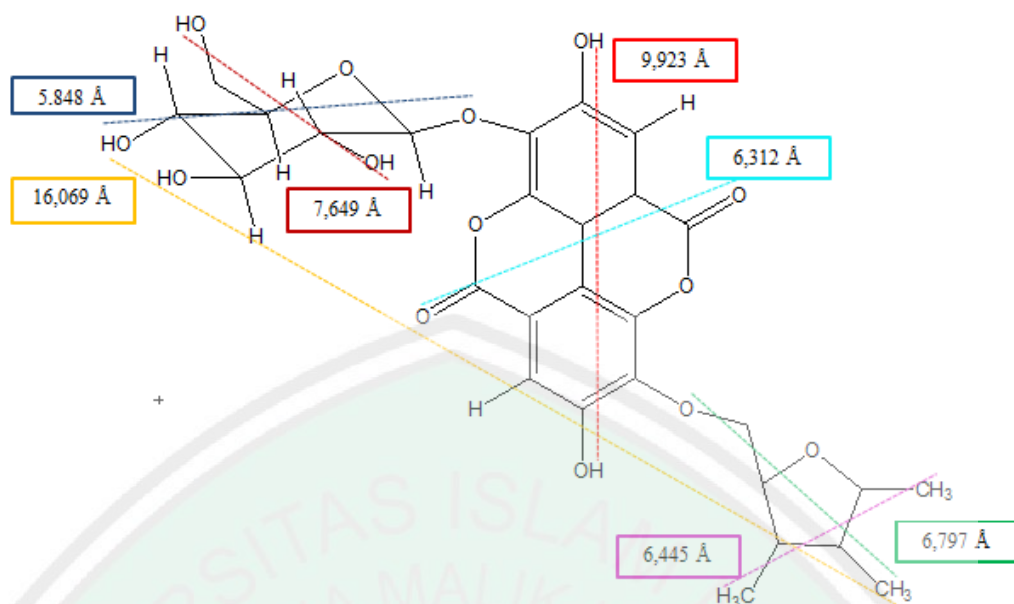
Pengukuran molekul tanin dilakukan menggunakan aplikasi HyperChem. Molekul tanin yang diukur merupakan senyawa tanin mayor yang terdapat pada fraksi air rumput bambu hasil penelitian Firdaus (2016). Hasil pengukuran molekul tanin ditampilkan pada Gambar 4.8, 4.9, 4.10, 4.11, dan 4.12. Dari hasil pengukuran yang dilakukan, diketahui bahwa ukuran rata-rata molekul tanin yang diukur adalah sebesar 11 – 16 Å.



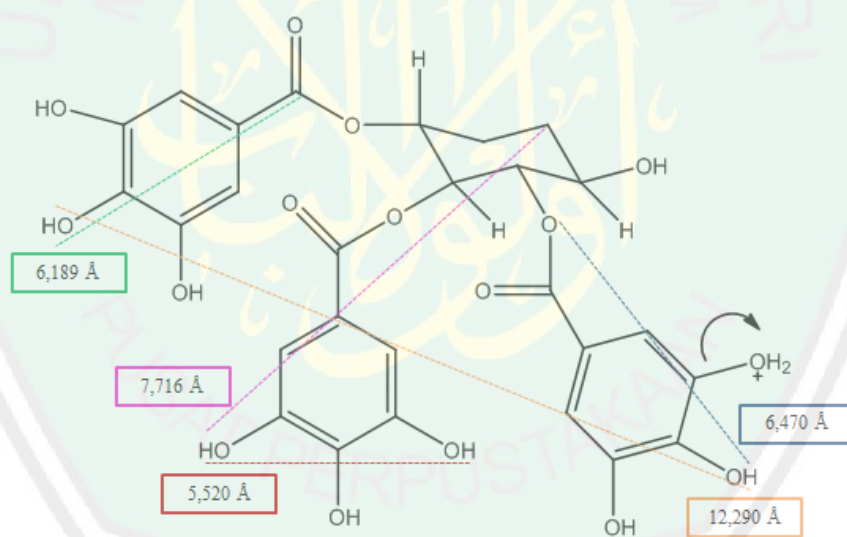
Gambar 4.8 Ukuran molekul senyawa trigalloyl-diglucosida



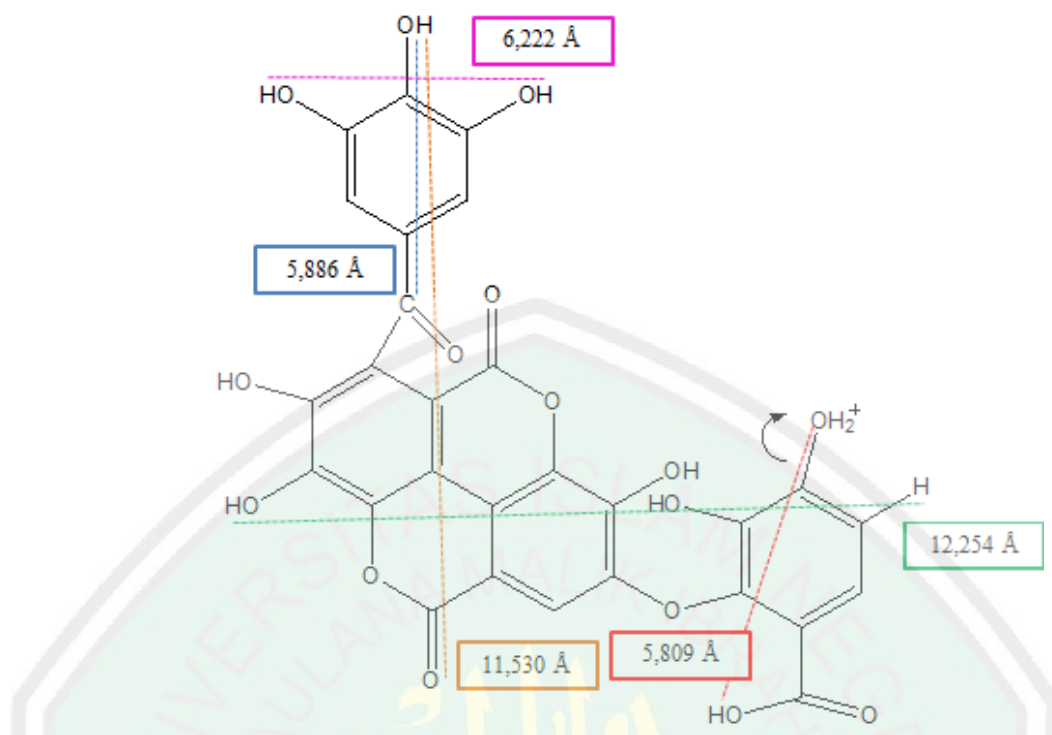
Gambar 4.9 Ukuran molekul senyawa katekin



Gambar 4.10 Ukuran molekul senyawa ellagic-acid-glucoside-2-ethyl-3,4,5-trimethyl-tetrahydrofuran



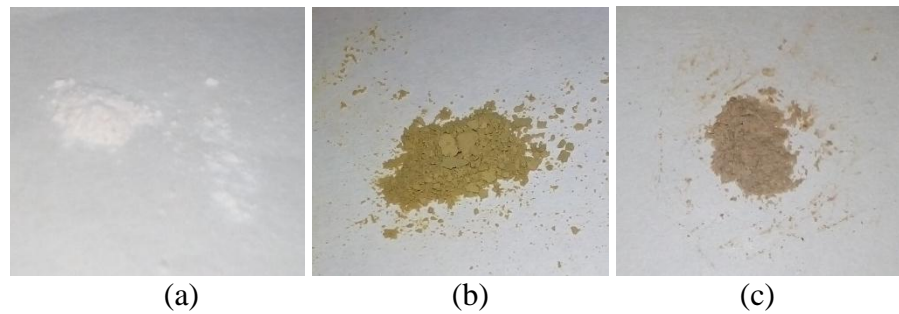
Gambar 4.11 Ukuran molekul senyawa trigalloyl(2R,3R)-tetrahydro-2H-pyran-2,4,5-tetraol



Gambar 4.12 Ukuran molekul senyawa ellagic acid-gallic acid galloyl

4.6 Pengembangan Ekstrak dan Isolat Tanin Rumpuk Bambu pada Zeolit NaX

Pengembangan ekstrak dan isolat tanin rumput bambu pada zeolit NaX dilakukan menggunakan metode impregnasi kering dengan perbandingan 5:10. Zeolit NaX yang digunakan merupakan hasil sintesis yang dilakukan oleh Hasanah, dkk. (2018). Hasil karakterisasi zeolit NaX telah ditampilkan pada Subbab 2.5. Kenampakan ekstrak dan isolat tanin rumput bambu yang telah diimbangkan pada zeolit NaX dapat dilihat pada Gambar 4.13. Kombinasi ekstrak rumput bambu dengan zeolit NaX berbentuk serbuk berwarna hijau pudar. Sedangkan kombinasi isolat tanin rumput bambu dengan zeolit NaX juga berbentuk serbuk berwarna coklat pudar. Hal ini menunjukkan bahwa secara fisik ekstrak dan isolat tanin telah teremban.



Gambar 4.13 Bentuk dan warna (a) Zeolit NaX, (b) Hasil pengembanan ekstrak RB, dan (c) Hasil pengembanan isolat tanin RB

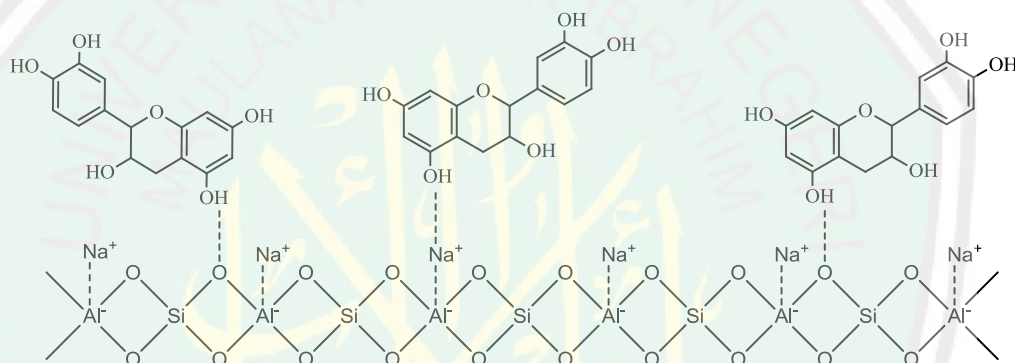
Efisiensi pengembanan digunakan untuk mengetahui berapa banyak sampel yang berhasil teremban pada zeolit NaX. Efisiensi pengembanan dihitung menggunakan Persamaan 3.4 dengan hasil perhitungan persentase efisiensi pengembanan ekstrak RB dan isolat tanin RB pada zeolit NaX ditampilkan pada Tabel 4.5. Berdasarkan hasil pengukuran molekul senyawa pada Gambar 4.8, 4.9, 4.10, 4.11, dan 4.12 dan ukuran pori dan *supercage* zeolit NaX yaitu sebesar 7,4 dan 13 Å maka molekul senyawa tanin yang diemban dimungkinkan menempel di permukaan pori zeolit NaX.

Tabel 4.5 Efisiensi hasil pengembanan

Pengembanan	Massa yang diemban (g)	Massa yang teremban (g)	Efisiensi pengembanan (%)
Ekstrak RB : NaX	0,0519	0,0425	81,888
Isolat tanin RB : NaX	0,0086	0,0083	96,512

Selama pengembanan, molekul senyawa yang terdapat dalam ekstrak dan isolat tanin rumput bambu mengalami gaya antarmolekul berupa interaksi ion-dipol dan interaksi hidrogen dengan zeolit NaX yang ditunjukkan pada Gambar

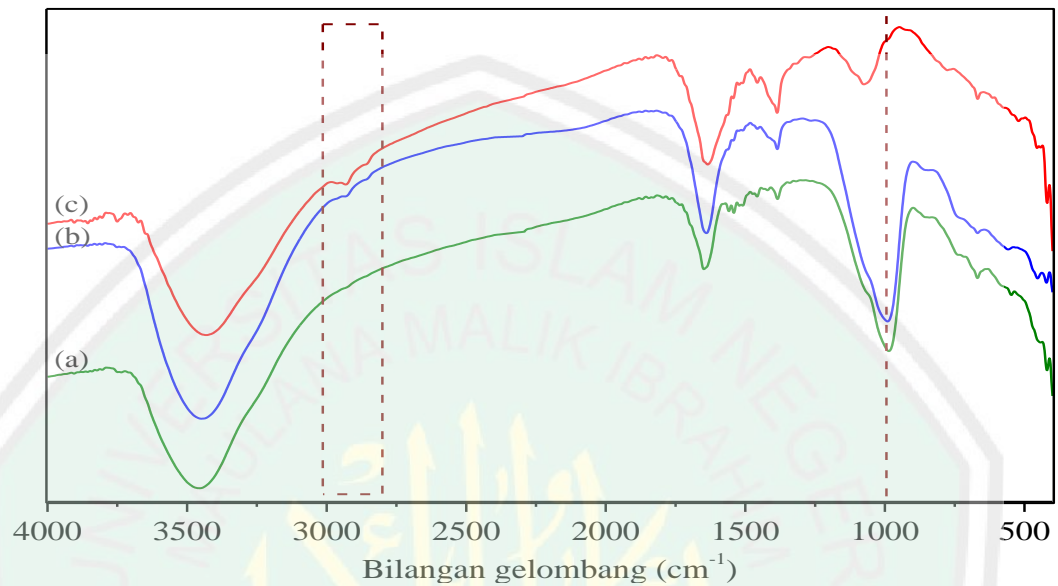
4.14. Interaksi ion-dipol merupakan interaksi yang terjadi antara suatu ion dengan molekul polar. Pada pengembangan ini, senyawa polar yang diimbangkan berinteraksi dengan ion Na^+ yang berfungsi sebagai kation penyeimbang pada kerangka zeolit. Kekuatan interaksi ini bergantung pada muatan dan ukuran ion dan pada besarnya momen dipol dan ukuran molekul (Chang, 2005). Adapun interaksi hidrogen terjadi antara atom hidrogen pada molekul senyawa polar yang diimbangkan dengan atom oksigen yang terdapat pada permukaan kerangka zeolit.



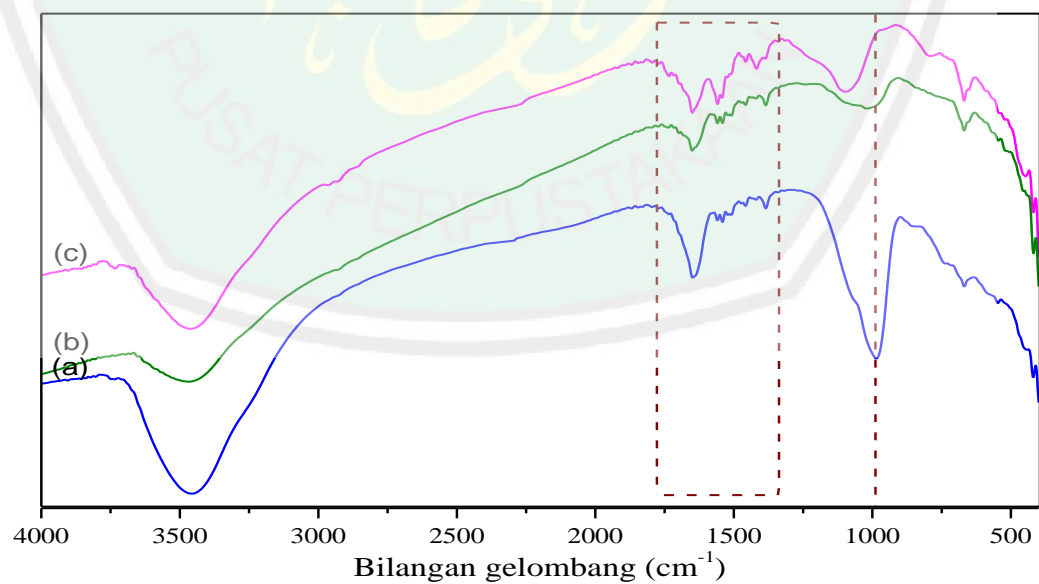
Gambar 4.14 Interaksi ekstrak dan isolat tanin RB dengan zeolit NaX

Hasil karakterisasi FTIR sampel zeolit NaX, ekstrak, isolat dan hasil pengembangan ekstrak dan isolat tanin rumput bambu ditampilkan pada Gambar 4.15 dan 4.16 dan identifikasi modus vibrasi *Infra Red* (IR) dirangkum pada Tabel 4.6 dan Tabel 4.7. Spektrum hasil pengembangan ekstrak rumput bambu pada Gambar 4.15 (b) menunjukkan keberadaan senyawa ekstrak rumput bambu pada zeolit NaX teridentifikasi pada modus vibrasi IR pada posisi 2923,899 dan 2851,870 cm^{-1} (Regangan asimetris $-\text{CH}_2-$ dan simetris $-\text{CH}_3$). Sedangkan modus

vibrasi pada posisi $990,293 \text{ cm}^{-1}$ adalah modus vibrasi khas zeolit NaX (vibrasi regangan asimetris ikatan O-T-O internal zeolit NaX).



Gambar 4.15 Spektra FTIR (a) Zeolit NaX, (b) Ekstrak RB : zeolit NaX (5:10), dan (c) Ekstrak RB



Gambar 4.16 Spektra FTIR (a) Zeolit NaX, (b) Isolat tanin RB : Zeolit NaX (5:10), dan (c) Isolat tanin RB

Pada Gambar 4.16 (b), diketahui bahwa pada spektrum hasil pengembangan isolat tanin rumput bambu munculnya modus vibrasi IR pada posisi 1562,337; 1541,120; 1460,110; dan 1390,673 cm^{-1} menunjukkan keberadaan isolat tanin rumput bambu (regangan C=C aromatik dan deformasi simetris $-\text{CH}_3$). Sedangkan zeolit NaX teridentifikasi pada modus vibrasi 1020,324 cm^{-1} yang merupakan vibrasi regangan asimetris ikatan O-T-O internal zeolit NaX.

Tabel 4.6 Interpretasi spektra IR zeolit NaX, ekstrak RB, dan hasil pengembangan ekstrak RB (Socrates, 2004; Sudiyono, 2016; Hasanah, dkk., 2018)

Sampel	Bilangan gelombang (cm^{-1})	Keterangan
Zeolit NaX	3453,000	Regangan O-H
	1648,000	Tekukan H-O-H
	1061,000	Regangan asimetris O-T-O eksternal
	984,000	Regangan asimetris O-T-O internal
	741,000	Regangan simetris O-T-O eksternal
	668,280	Regangan simetris O-T-O internal
		Tekukan H-O-H
	560,000	Cincin ganda (D6R/D4R)
	455,000	Tekukan T-O-T
Ekstrak RB	3431,543	Regangan O-H
	2931,049	Regangan asimetris $-\text{CH}_2-$
	2854,253	Regangan simetris $-\text{CH}_3$
	1634,634	
	1510,259	Regangan C=C aromatik
	1458,181	
	1385,991	Deformasi simetris $-\text{CH}_3$
	1075,587	Regangan C-O alkohol
	667,369	Regangan simetris O-T-O internal
	Tekukan H-O-H	
	521,121	-CH <i>out of plane</i> cincin aromatik
ERB : Zeolit NaX	3448,833	Regangan O-H
	2923,899	Regangan asimetris $-\text{CH}_2-$
	2851,870	Regangan simetris $-\text{CH}_3$
	1639,499	Regangan C=C aromatik
	1385,447	Deformasi simetris $-\text{CH}_3$
	990,293	Regangan asimetris O-T-O internal
	667,974	Regangan simetris O-T-O internal
		Tekukan H-O-H
	558,538	Cincin ganda (D6R/D4R)

Keterangan:

ERB = Ekstrak rumput bambu

T = Si atau Al

Tabel 4.7 Interpretasi spektra IR zeolit NaX, isolat tanin RB, dan hasil pengembangan isolat tanin RB (Socrates, 2004; Sudiyono, 2016; Hasanah, dkk., 2018)

Sampel	Bilangan gelombang (cm ⁻¹)	Keterangan
Zeolit NaX	3453,000	Regangan O-H
	1648,000	Tekukan H-O-H
	1061,000	Regangan asimetris O-T-O eksternal
	984,000	Regangan asimetris O-T-O internal
	741,000	Regangan simetris O-T-O eksternal
	668,280	Regangan simetris O-T-O internal
	560,000	Tekukan H-O-H
	455,000	Cincin ganda (D6R/D4R)
		Tekukan T-O-T
Isolat tanin RB	3463,911	Regangan O-H
	2931,793	Regangan asimetris -CH ₂ -
	2856,570	Regangan simetris -CH ₃
	1649,974	Tekukan H-O-H
	1558,960	
	1543,049	
	1462,039	Regangan C=C aromatik
	1418,526	
	1388,744	Deformasi simetris -CH ₃
	1098,322	Deformasi C-H aromatik
788,304	Tekukan -OH <i>out of plane</i>	
668,876	Regangan simetris O-T-O internal	
	Tekukan H-O-H	
ITRB : Zeolit NaX	3468,462	Regangan O-H
	2929,865	Regangan asimetris -CH ₂ -
	2852,712	Regangan simetris -CH ₃
	1650,422	Tekukan H-O-H
	1562,337	
	1541,120	Regangan C=C aromatik
	1460,110	
	1390,673	Deformasi simetris -CH ₃
	1020,324	Regangan asimetris O-T-O internal
	668,863	Regangan simetris O-T-O internal
	Tekukan H-O-H	
553,569	Cincin ganda (D6R/D4R)	

Keterangan:

ITRB = Isolat tanin rumput bambu

T = Si atau Al

4.7 Uji Aktivitas Antikanker secara *In Vitro* dengan Metode MTT

Uji aktivitas antikanker dilakukan untuk mengetahui potensi ekstrak dan isolat tanin rumput bambu yang diimbangkan pada zeolit NaX dalam menghambat atau membunuh sel kanker payudara T47D. Uji aktivitas antikanker dilakukan secara *in vitro* dengan metode MTT. Prinsip kerja metode MTT adalah mengukur aktivitas dehidrogenase mitokondria pada sel-sel hidup yang memiliki kemampuan untuk mengkonversi MTT menjadi formazan (Husni, dkk., 2013). Uji MTT dilakukan melalui 4 tahapan, yaitu: 1) Kultur sel, 2) Pembuatan larutan uji, 3) Uji proliferasi sel (uji MTT), dan 4) Analisis data.

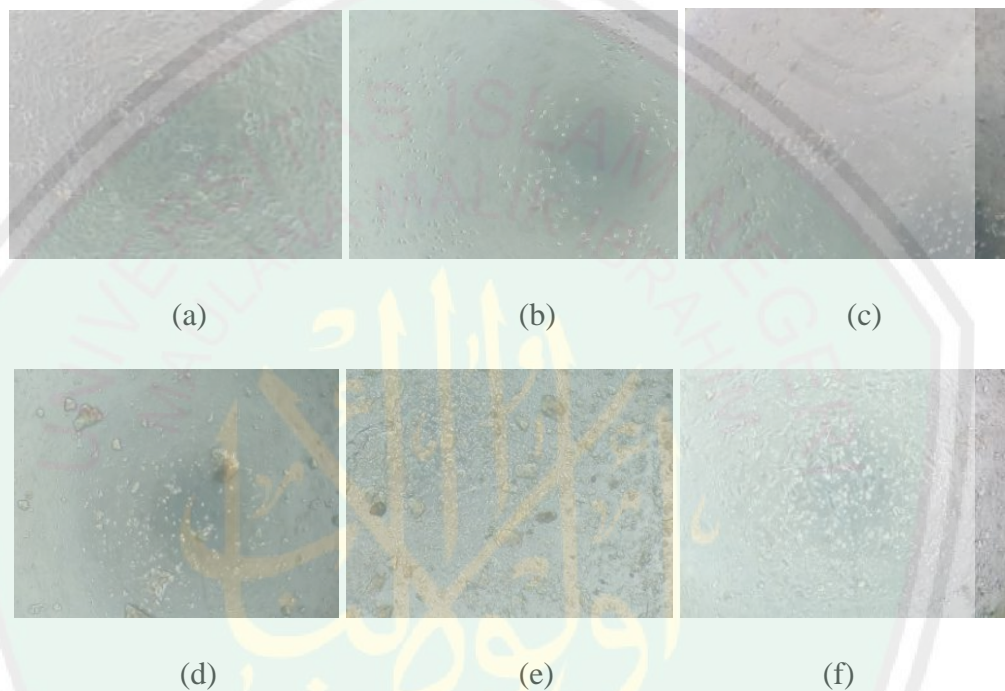
Tahap kultur sel, sel kanker payudara T47D *inaktif* dihidupkan kembali lalu ditumbuhkan dan dibiakkan dalam media kultur pada *culture dish* hingga mencapai kofluen 80%. Sel dikatakan kofluen jika sel tumbuh merata dan menempel membentuk lapisan monolayer pada wadah media kultur (CCRC,2009). Media kultur berfungsi untuk menyuplai nutrisi yang dibutuhkan oleh sel. Media kultur yang digunakan mengandung antibakteri yaitu penisilin dan streptomycin, obat antijamur amphotericin B, FBS dan media RPMI. Antibakteri dan antijamur ditambahkan untuk meminimalisir kontaminasi sel oleh bakteri dan jamur selama masa kultur. *Fetal Bovine Serum* (FBS) adalah serum fetus sapi yang berfungsi untuk mendukung pertumbuhan sel agar berlangsung optimal (Andiana, dkk., 2017). Media RPMI merupakan media kultur untuk sel kanker T47D karena mengandung nutrisi yang dibutuhkan oleh sel yaitu garam anorganik, glukosa, glutathione, fenol merah, asam amino, dan vitamin (Rosenberg, 1981).

Sel yang telah mencapai kofluen dipanen. Panen sel dilakukan dengan melepaskan ikatan antar sel dan ikatan sel dengan matriks tanpa merusak sel itu sendiri (CCRC, 2009). Sel yang dipanen dihitung jumlahnya menggunakan hemasitometer dan dibuat suspensi untuk sel uji. Perhitungan sel panen dilakukan dengan menghitung sel pada tiap kotak kamar dalam hemasitometer dengan bantuan mikroskop *inverted* lalu dihitung menggunakan persamaan 3.5. Hasil perhitungan didapatkan jumlah sel panen sebanyak 280×10^4 per mL. Sehingga dapat dihitung jumlah sel yang dibutuhkan untuk membuat suspensi sel uji dengan jumlah suspensi sel kanker tiap sumuran 100 μ L pada *plate 96 well* menggunakan persamaan 3.6 adalah sebanyak 0,357 mL. Selanjutnya sel kanker ditambahkan media kultur hingga total volume 10 mL untuk memenuhi jumlah suspensi sel yang dibutuhkan dalam satu plat uji yang digunakan.

Tahap pembuatan larutan uji dilakukan dengan melarutkan sampel ke dalam DMSO untuk membuat larutan stok sampel dengan konsentrasi 100.000 μ g/mL. DMSO adalah pelarut amfipatik yang dapat melarutkan senyawa polar maupun nonpolar (Costa, dkk., 2017). digunakan pelarut DMSO karena sampel yang diuji harus larut dalam media kultur sehingga dapat diserap oleh sel. Selanjutnya dibuat larutan uji dari larutan stok sampel menggunakan teknik pengenceran bertingkat dengan variasi konsentrasi 500; 250; 125; 62,5; 31,25; 15,625 μ g/mL.

Tahap uji proliferasi sel (uji MTT) dilakukan dengan meletakkan larutan uji sampel ke dalam masing-masing sumuran. setiap konsentrasi larutan uji dilakukan 3 kali pengulangan untuk mendapatkan hasil pengukuran yang akurat. Selanjutnya plat berisi sel kanker T47D yang telah diberi larutan uji diinkubasi selama \pm 24 jam untuk memaksimalkan reaksi atau respon sel terhadap *treatment* yang

diberikan. Kenampakan sel kanker T47D yang telah diberi *treatment* di bawah mikroskop *inverted* dapat dilihat pada Gambar 4.17. Sel yang masih hidup berbentuk lonjong, saling menempel satu sama lain, dan menempel di dasar wadah. Sedangkan sel yang mati berbentuk bulat dan mengapung di permukaan.



Gambar 4.17 Sel T47D hasil *treatment* pada konsentrasi 500 $\mu\text{g/mL}$ (a) Kontrol sel (tanpa *treatment*), (b) Ekstrak RB, (c) Isolat tanin RB, (d) Zeolit NaX, (e) Ekstrak RB : zeolit NaX, dan (f) Isolat tanin RB : zeolit NaX

Sel yang telah diinkubasi kemudian diberi larutan MTT dan diinkubasi kembali selama ± 3 jam untuk memaksimalkan reaksi. Selama inkubasi, garam tetrazolium MTT akan diserap oleh mitokondria sel kanker T47D yang masih hidup dan direduksi oleh NADH. Ion H^+ yang dilepas oleh NADH akan berikatan dengan tetrazolium sehingga mengakibatkan pemutusan ikatan N-N^+ dan

pembukaan cincin tetrazolium (berwarna kuning) membentuk kristal formazan (berwarna ungu) yang tidak larut air (Khadijah, 2017; Widayati, 2017).

Penambahan larutan SDS akan mendenaturasi rantai polipeptida pada membran sel melalui interaksi gugus sulfat dari struktur senyawa SDS yang bersifat hidrofilik dengan rantai samping asam amino, sedangkan gugus hidrofobik dari struktur senyawa SDS akan berinteraksi dengan gugus hidrofobik protein sehingga membran sel mengalami lisis. Kristal formazan yang terdapat dalam sel akan keluar dan larut (Widayati, 2017).

Pengukuran absorbansi larutan hasil uji dilakukan menggunakan ELISA *reader* pada panjang gelombang 595 nm. Panjang gelombang tersebut merupakan panjang gelombang dari warna komplementer ungu kebiruan sesuai dengan warna kristal formazan yang dianalisa. Data nilai absorbansi yang dihasilkan berkorelasi dengan jumlah sel hidup yang aktif melakukan metabolisme ditandai dengan terbentuknya kristal formazan berwarna ungu hasil reduksi garam MTT oleh enzim dehidrogenase. Sehingga semakin besar nilai absorbansi maka semakin banyak jumlah sel yang hidup.

Tahap analisis data merupakan tahap dimana data nilai absorbansi hasil pengukuran ELISA *reader* diolah menggunakan *Microsoft Excel* sehingga didapatkan nilai persentase sel hidup. Nilai persentase sel hidup digunakan untuk membuat grafik antara persentase sel hidup (persen viabilitas sel) dengan konsentrasi uji sehingga didapatkan persamaan regresi linear yang digunakan untuk menghitung nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} dari masing-masing sampel uji ditunjukkan pada Tabel 4.7.

Tabel 4.8 Nilai IC₅₀ hasil uji aktivitas antikanker

Sampel	IC ₅₀ (µg/mL)
Ekstrak rumput bambu	107,240
Isolat tanin rumput bambu	284,936
Zeolit NaX	751,380
Kombinasi ekstrak RB : zeolit NaX (5:10)	423,837
Kombinasi isolat tanin RB : zeolit NaX (5:10)	560,262

Menurut *National Cancer Institute* suatu senyawa dikatakan aktif memiliki aktivitas antikanker apabila memiliki nilai IC₅₀ < 30 µg/mL, moderat aktif apabila memiliki nilai IC₅₀ ≥ 30 µg/mL dan dikatakan tidak aktif apabila memiliki nilai IC₅₀ > 100 µg/mL (Rahmawati, dkk., 2013). Pada Tabel 4.8 hasil uji aktivitas antikanker ekstrak dan isolat tanin rumput bambu dalam penelitian ini memiliki nilai IC₅₀ lebih dari 100 µg/mL, yaitu sebesar 107,240 dan 284,936 µg/mL. Sehingga dapat diketahui bahwa ekstrak dan isolat tanin rumput bambu dalam penelitian ini tidak memiliki aktivitas antikanker terhadap sel kanker payudara T47D. Hasil uji aktivitas antikanker zeolit NaX memiliki nilai IC₅₀ sebesar 751,380 µg/mL yang juga menunjukkan bahwa zeolit NaX tidak memiliki aktivitas antikanker terhadap sel kanker payudara T47D.

Hasil uji aktivitas antikanker ekstrak dan isolat tanin rumput bambu yang diembankan pada zeolit NaX memiliki nilai IC₅₀ yang lebih besar ekstrak dan isolat tanin yang diuji tunggal. Hal ini dikarenakan konsentrasi ekstrak dan isolat tanin rumput bambu yang diembankan lebih sedikit bila dibandingkan dengan ekstrak dan isolat tanin rumput bambu yang diuji tunggal tanpa pengembanan (2 kali jumlah sampel yang diembankan). Karena berdasarkan hasil uji, zeolit NaX yang digunakan sebagai pengembanan tidak memiliki aktivitas antikanker. Selain

itu, dimungkinkan fungsi zeolit NaX sebagai sistem penghantar obat yang mengontrol laju pelepasan obat belum maksimal karena molekul-molekul senyawa dalam ekstrak dan isolat tanin tidak teremban secara maksimal. Hal ini berdasarkan pada hasil pengukuran molekul yang menunjukkan molekul-molekul senyawa tanin memiliki ukuran yang lebih besar yakni sekitar 11-16 Å dibandingkan dengan ukuran pori zeolit NaX sebesar 7,4 Å. Allah SWT berfirman dalam al Qur'an surat Ali Imran [3] ayat 190-191:

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضِ وَاجْتِذَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ لَآيَاتٍ لِّأُولِي الْأَلْبَابِ (١٩٠) الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَمًا وَتُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمُوتِ وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَطْلًا سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ (١٩١)

“(190) Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan silih bergantinya malam dan siang terdapat tanda-tanda (kebesaran Allah) bagi orang yang berakal, (191) (yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadaan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata): Ya Rabb kami, tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia, Maha Suci Engkau, maka peiharalah kami dari siksa neraka ” (QS. Ali Imran [3]: 190-191)

Memikirkan pergantian siang dan malam, mengikuti terbit dan terbenamnya matahari, siang lebih lama dari malam dan sebaliknya. Semuanya itu menunjukkan atas kebesaran dan kekuasaan Penciptanya bagi orang-orang yang berakal. Ciri khas dari orang yang berakal yaitu apabila ia memperhatikan sesuatu, selalu memperoleh manfaat dan faedah. Ia selalu mengingat Allah SWT di setiap waktu dan keadaan. Mengingat kebijaksanaan Allah SWT dan banyaknya nikmat yang telah diberikan kepadanya (Depag RI, 1990).

Allah menciptakan segala sesuatu yang ada di alam tidak sia-sia tanpa hikmah. Setiap hal yang ada di dunia ini diciptakan dengan manfaat masing-

masing seperti diantaranya adalah rumput bambu yang mengandung tanin dan berkhasiat sebagai antikanker dan zeolit NaX yang memiliki pori sehingga dapat dimanfaatkan sebagai sistem penghantar obat. Keduanya dikombinasikan dengan tujuan saling bersinergis dalam menghambat proliferasi dan membunuh sel kanker payudara T47D.

Hasil penelitian uji aktivitas ekstrak dan isolat tanin rumput bambu yang diembankan pada zeolit NaX ditampilkan pada Tabel 4.7. Berdasarkan hasil tersebut, maka dapat diketahui bahwa ekstrak RB, isolat tanin RB, zeolit NaX dan ekstrak dan isolat tanin RB hasil pengembanan memiliki aktivitas yang berbeda dalam menghambat pertumbuhan sel kanker payudara T47D yang ditunjukkan oleh nilai IC_{50} dari masing-masing sampel. Artinya, masing-masing sampel membutuhkan kadar atau konsentrasi yang berbeda untuk dapat menghambat proliferasi sel kanker payudara T47D sebesar 50 persen. Hal ini sesuai dengan firman Allah SWT dalam al Qur'an surat al Qomar [54] ayat 49:

إِنَّا كُلَّ شَيْءٍ خَلَقْنَاهُ بِقَدَرٍ

“*Sesungguhnya kami menciptakan segala sesuatu menurut ukuran*” (QS. Al-Qomar [54]: 49)

Kata (قدر) *qadar* pada ayat tersebut diperselisihkan maknanya oleh para ulama. Namun dari segi bahasa dapat berarti kadar tertentu yang tidak bertambah atau berkurang. Tidak ada satupun yang Allah ciptakan sia-sia atau tanpa tujuan yang benar dan kesemuanya diberi potensi yang sesuai dan dengan kadar yang cukup untuk melaksanakan fungsinya, dan semuanya saling berkaitan, saling menunjang dalam satu keseimbangan (Shihab, 2002). Tak terkecuali dalam hal ini kemampuan ekstrak dan isolat tanin yang diembankan pada zeolit NaX dalam

menghambat proliferasi sel kanker payudara T47D yang kurang berpotensi aktif sebagai antikanker terhadap sel kanker payudara T47D.



BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, ekstrak dan isolat tanin rumput bambu yang diimbangkan pada zeolit NaX memiliki nilai IC_{50} sebesar 423,837 dan 560,262 $\mu\text{g/mL}$, sehingga dapat diketahui bahwa ekstrak dan isolat tanin rumput bambu yang diimbangkan pada zeolit NaX dalam penelitian ini kurang berpotensi aktif sebagai antikanker terhadap sel kanker payudara T47D.

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan uji aktivitas antikanker pada ekstrak tunggal dan ekstrak yang diimbangkan dalam jumlah yang sama untuk mengetahui perbedaan aktivitas antikanker dari ekstrak yang diimbangkan dan tidak diimbangkan.
2. Perlu dilakukan uji pelepasan obat untuk mengetahui kinerja zeolit sebagai sistem penghantar obat yang mengontrol laju pelepasan obat.
3. Perlu dilakukan analisa menggunakan instrumen *Energy Dispersive X-Ray Spectroscopy* (EDS) untuk dapat mengetahui komponen unsur penyusun zeolit teremban.

DAFTAR PUSTAKA

- Amorim, dkk. 2012. Zeolit Structure Loading with an Anticancer Compound As Drug Delivery Systems. *The Journal of Physical Chemistry*, 116 (48): 25642-25650.
- Andiana, M., Rachmawati, Y., dan Andayani, S.S. 2017. Kultur Sel *Baby Hamster Kidney* (BHK) Menggunakan Media *Dulbecco's Modified Eagle Medium* (DMEM). *Biotropic*, 1(1): 10-17.
- Ansel, H.C. 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*, Edisi Keempat. Jakarta: UI Press.
- Arifah, A. 2018. Sintesis Zeolit Na-X dari Kaolin Blitar dengan Alkali Fusi Menggunakan Metode Hidrotermal dan Sonikasi Variasi Waktu Kristalisasi. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Auerbach, S.M., Carrado, K.A., dan Dutta, P.K. 2003. *Handbook of Zeolite Science and Technology*. New York: Marce Dekker, Inc.
- Brumaghim, J.L. dan Perron, N.R. 2009. A Review of the Antioxidant Mechanisms of Polyphenol Compounds Related to Iron Binding. *Cell Biochem Biophys*, 53: 75-100.
- Burdall, E.S., Hanby, A.M., Landsdown, M.R., dan Speirs, V. 2003. Breast cancer cell line. *Breast Cancer Researchers*, 5 (2): 89-95.
- CCRC. 2009. *Prosedur Tetap Uji Sitotoksik Metode MTT*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada.
- Chang, R. 2005. *Kimia Dasar Konsep-Konsep Inti*. Jakarta: Erlangga.
- Costa, dkk. 2017. Dimethyl Sulfoxide (DMSO) Decreases Cell Proliferation and TNF- α , IFN- γ , and IL-2 Cytokines Productions in Cultures of Peripheral Blood Lymphocytes. *Molecules*, 2017(22): 1-10.
- Cronquist, A. 1981. *An Integrated System of Clasification of Flowering Plants*. New York: Columbia University Press.
- Dalimartha, S. 2003. *Ramuan Tradisional untuk Pengobatan Kanker*. Jakarta: PT Penebar Swadaya.
- Departemen Agama Republik Indonesia (Depag RI). 1990. *Al Qur'an dan Tafsirannya*. Yogyakarta: PT. Dana Bhakti Wakaf.

- Dewi, J.R., Estiasih, T., dan Murtini, E.S. 2012. Aktivitas Antioksidan Dedak Sorgum Lokal Varietas Coklat (*Sorghum bicolor*) Hasil Ekstraksi Berbagai Pelarut. *Jurnal Teknologi Pertanian*, 8 (3): 188-197.
- Doyle, A. dan Griffiths, J.B. 2000. *Cell and Tissue Culture for Medical Research*. New York : John Willey and Sons Ltd.
- Effendy. 2013. *Kimia Koordinasi*, Jilid 1 Edisi 2. Malang: Indonesian Academic Publishing.
- Elgailani, I.E.H. dan Ishak, C.Y. 2016. Methods for Extraction and Characterization of Tannins from Some *Acacia* Species of Sudan. *Pakistan Journal Analytical Environment and Chemistry*, 17 (1): 43-49.
- Ferlay, dkk. 2015. Cancer incidence and mortality worldwide: Sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *International Journal of Cancer*, 136: E359-E386.
- Firdaus, I.A. 2016. Identifikasi Tanin pada Fraksi Air Tanaman Rumpun Bambu (*Lophaterum gracile* B.) dan Uji Aktivitas Antikanker Isolat Tanin Terhadap Sel Kanker Payudara T47D. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Fitriana, L. 2018. Sintesis dan Karakterisasi Zeolit NaX dari Kaolin Blitar dengan Pre-Treatment Alkali Fusi Menggunakan Metode Hidrotermal Variasi Suhu Kristalisasi. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- HAM, Mulyono. 2012. *Kamus Kimia*. Jakarta: Bumi Aksara.
- Hasanah, A.M. 2018. Sintesis dan Karakterisasi Zeolit NaX dari Kaolin Menggunakan Alkali Fusi dengan Variasi Rasio Berat NaOH/Kaolin. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Hayati, E.K., Budi, U.S., dan Hermawan, R. 2012. Konsentrasi Total Senyawa Antosianin Ekstrak Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.): Pengaruh Temperatur dan pH. *Jurnal Kimia*, 6 (2): 138-147.
- Hayati, E.K., Istiqomah, A., dan Muti'ah. 2015. Anticancer Activity against Breast Cancer Cells T47D and Identification of Its Compound from Extracts and Fraction of Leaves Bamboo Grass (*Lophaterum gracile* B.). *ALCHEMY*, 4 (1): 6-16.
- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia*, Edisi Kedua. Bandung: Institut Teknologi Bandung.

- Hart, H., Craine, L.E. dan Hart, D.J. 2003. *Kimia Organik*. Jakarta: Erlangga.
- Helwani, Z. dan Martunus. 2007. Ekstraksi Dioksin dalam Limbah Air Buangan Limbah Industri Pulp dan Kertas dengan Pelarut n-heksana. *Jurnal Institut Teknologi Nasional*, 10 (4): 168-173.
- Holliday, D.L. dan Speirs, V. 2011. *Choosing the right cell line for breast cancer research. Breast Cancer Research*. Leeds: Leeds Institute of Molecular Medicine, University of Leeds.
- Hong, N.K. 2015. Preparation of Pd-Pt/Al₂O₃ Bimetallic Catalyst With Charge Enhanced Dry Impregnation Method. *Thesis*. Perak: Majoring Chemical Engineering Faculty of Engineering and Science University Tunku Abdul Rahman Malaysia.
- Husni, E., Ilhami, F.Y., dan Wahyuni, F.S. 2013. Uji Efek Sitotoksik Hasil Fraksinasi Ekstrak Etanol Akar Asam Kandis (*Garcinia cowa* Roxb.) Terhadap Sel Kanker Payudara T47D dengan Metode MTT. *Prosiding Seminar Nasional Perkembangan terkini Sains Farmasi dan Klinik III*, ISSN: 2339-2592.
- Kalayci, T. dan Bardakci, B. 2014. Spectroscopic Investigation for The Adsorption of 4-nitrophenol onto Synthetic Zeolites. *Protection of Metals and Physical Chemistry of Surfaces*, 50(6): 709-714.
- Khadijah, S. 2017. Uji Aktivitas Antikanker Payudara dan Identifikasi Senyawa Aktif Akar dan Daun Anting-Anting (*Acalypha indica* L.). *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Khamidinal. 2009. *Teknik Laboratorium Kimia*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Kwakyee-Awuah, B., Von-Kiti, E., Nkrumah, I., Ikyreve, R.E., Radecka, I., dan Williams, C. 2016. Parametric, Equilibrium, and Kinetic Study of The Removal of Salt Ions from Ghanaian Seawater by Adsorption onto Zeolite X. *Desalination and Water Treatment*, (2016) 1-10: 1944-3986.
- Laila, A.K. 2016. Uji Aktivitas Antikanker Payudara (T47D) Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn) yang Diembankan pada Zeolit NaX. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Lestari, T. dan Sidik, Y. 2013. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Tanin dari Ekstrak Air Kulit Batang Kelapa Gading (*Cocos nucifera* var. *Eburnea*). *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada*. 9 (1): 22-27.
- Lilbaiq, F.Z. 2017. Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn) yang Diembankan pada Zeolit NaX Menggunakan Metode Impregnasi

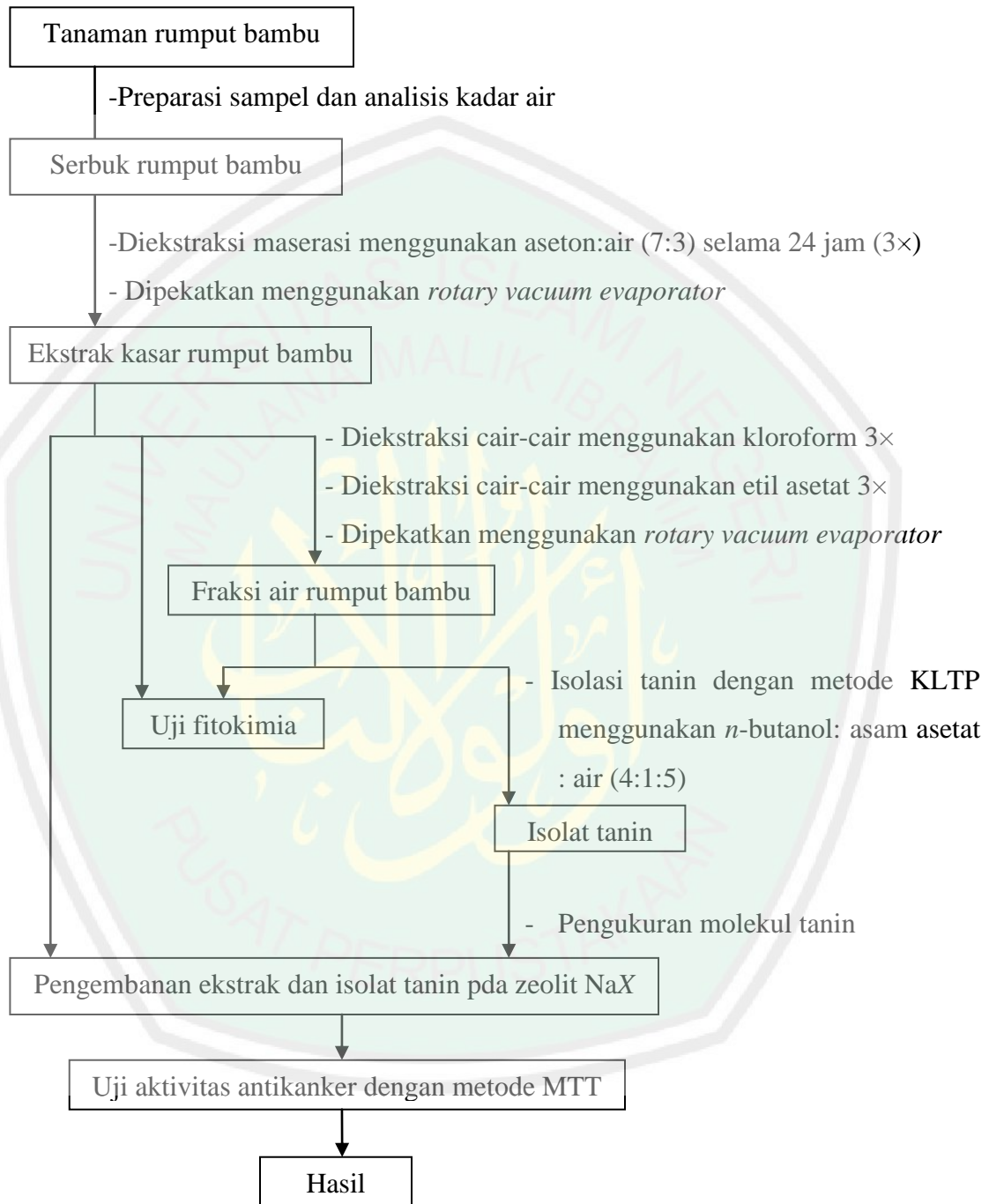
- Kering Sebagai Antikanker Payudara T47D. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Lutz, Wolfgang. 2014. Zeolit Y: Synthesis, Modification and Properties- a Case Revisited. *Review article*. Berlin: Hindawi Publishing Corporation.
- Mabruroh, A.I. 2015. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Tanin dari Daun Rumpuk Bambu (*Lophaterum gracile* Brongn) dan Identifikasinya. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Marnoto, T., Haryono, G., Gustinah, D., dan Putra, F.A. 2012. Ekstraksi Tanin sebagai Bahan Pewarna Alami dari Tanaman Putri Malu (*Mimosa pudica*) Menggunakan Pelarut Organik. *Reaktor*, 14 (1): 39-45.
- Meiyanto, E., Susidarti, R.A., Handayani, S., dan Rahmi, F. 2008. Ekstrak Etanolik Biji Buah Pinang (*Areca catechu* L.) Mampu Menghambat Proliferasi dan Memacu Apoptosis sel MCF-7. *Majalah Farmasi Indonesia*. 19 (1): 12-19.
- Mustika, I.G. dan Putra, I.M.W.A. 2016. Potensi Zat Aktif Antikanker Solasodin Terenkapsulasi pada Zeolit Klipnoptilolit sebagai Sistem Pengantar Obat (*Drug Delivery System*). *Cakra Kimia (Indonesian E-Journal of Applied Chemistry)*. 4 (2): 103-112.
- Ngajow, M., Abidjulu, J., dan Kamu, V.S. 2013. Pengaruh Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Matoa (*Pometia pinnata*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* secara *In vitro*. *Jurnal MIPA Universitas Sam Ratulangi*, 2(2): 128-132.
- Niraula, T. P., Bhattarai, A., dan Chatterjee, S. K. 2014. Sodium Dodecylsulphate: A very useful Surfactant for Scientific Investigations. *The Journal of Knowledge and Innovation*, 2 (1): 111-113, ISSN: 2350-8884(P).
- Pantoja-Castro, M.A. dan Gonzalez-Rodriguez, H. 2011. Study by Infrared Spectroscopy and Thermogravimetric Analysis of Tannins and Tannic Acid. *Revista Latinoamericana de Química*, 39(3): 107-112.
- Puspawati, N.M., Rita, W.S., dan Sari, P.P. 2015. Identifikasi dan Uji Aktivitas Senyawa Tanin dari Daun Trembesi (*Samanea saman* (Jacq.) Merr) Sebagai Anti Bakteri *Eschericia coli* (*E. Coli*). *Jurnal Kimia*, 9(1) : 27-34.
- Rahmawati, E., Sukardiman, dan Muti, A.F. 2013. Aktivitas Antikanker Ekstrak *n*-Heksana dan Ekstrak Metanol Herba Pacar Air (*Impatiens balsamina* Linn) Terhadap Sel Kanker Payudara T47D. *Media Farmasi*, 10 (2): 47-55.
- Riswiyanto. 2009. *KIMIA ORGANIK*. Jakarta: Penerbit Erlangga.

- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Terjemahan: Kosasih Padmawinata. Bandung: Penerbit ITB.
- Rohmaniyah, M. 2016. Uji Antioksidan Ekstrak Etanol 80 % dan Fraksi Aktif Rumpun Bambu (*Lophaterum gracile* Brongn) Menggunakan Metode DPPH Serta Identifikasi Senyawa Aktifnya. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Rosenberg, M. J (Brooklyn, NY). 1981. *Method for the extraction of a factor that mediates contact inhibition of cell growth*. United State: New York University
- Sa'adah, L. 2010. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Tanin dari Daun Belimbing Wuluh (*Averhoa bilimbi* L.). *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Sastrohamidjojo, H. 1991. *SPEKTROSKOPI*. Yogyakarta: Penerbit Liberty.
- Shihab, M.Q. 2002. *Tafsir Al-Misbah Pesan, Kesan dan Keserasian al-Qur'an*. Jakarta: Penerbit Lentera Hati.
- Smart, A. 2010. *Kanker Organ Reproduksi*. Jogjakarta: A Plus Books.
- Soemitro, M.P. 2012. *Blak-blakan Kanker Payudara: temukan sedini mungkin*. Bandung: Qanita.
- Socrates, G. 2004. *Infrared and Raman Characteristic Group Frequencis*. New York: John Wiley and Sons, Ltd.
- Subagja, H.P. 2014. *Waspada!!! Kanker-Kanker Ganas Pembunuh Wanita*. Jogjakarta: FlashBooks.
- Sudiyono, D.A. 2016. Sintesis and Karakterisasi Zeolit NaY sebagai Pengembangan Senyawa Antikanker Hasil Ekstrak Etanol Akar Rumpun Bambu (*Lophaterum gracile* B.). *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Sukhramani, P.S., Sukhramani, P.S., Tirthani, S.R., Desai, S.A., dan Suthar, M.P. 2011. Biological cytotoxicity evaluation of spiro [azetidine-2,3'-indole]-2',4(1'H)-dione derivatives for anti-lung and anti-breast cancer activity. *Der Pharmacia Lettre*, 3(5): 236-243.
- Supratman, U. 2010. *Elusidasi Struktur Senyawa Organik*. Bandung: Widya Padjadjaran.

- Tang, dkk. 2014. Simultaneous Determination of 10 Bioactive Components of *Lophaterum gracile* Brongn by HPLC-DAD. *Journal of Chromatographic Science*, 53: 963-967.
- Vilaca, N., dkk. 2013. Potentiation of 5-Fluorouracil Encapsulated in Zeolites As Drug Delivery Systems for *in Vitro* Models of Colorectal Carcinoma. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 112: 237-244.
- Vilaca, N., dkk. 2015. Micro- and Mesoporous Structures as Drug Delivery Carriers for Salicylic acid. *The Journal of Physical Chemistry*, 119 : 3589-3595.
- Vilaca, dkk. 2017. Comparison of Different Silica Microporous Structures as Drug Delivery System for *In Vitro* Models of Solid Tumors. *The Royal Society of Chemistry*, 2017(7): 13104-13111.
- Voight, R. 1995. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Diterjemahkan oleh Soedoni Noerono Suwandi. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada Press.
- Widayati, L. 2017. Uji Aktivitas Antikanker Ekstrak Akar Rumpun bambu (*Lophaterum gracile* B.) Fraksi N-heksan yang Diembankan pada Zeolit NaX terhadap Sel Kanker Payudara (T47D). *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Wijayakusuma, H. 2005. *Atasi Kanker dengan Tanaman Obat*. Jakarta: Puspa Swara.
- Winarno, E. 2011. Uji Sitoksisitas Ekstrak Kapang *Aspergillus sp.* Terhadap Sel Kanker Payudara T47D. *Skripsi*. Jakarta: Program Sarjana Universitas Indonesia.
- Yazid, E. 2005. *Kimia Fisika Untuk Paramedis*. Yogyakarta: Penerbit Andi.
- Zarin, M.A., Wan, H.Y., Isha, A., dan Armania, N. 2016. Antioxidant, antimicrobial and cytotoxic potential of condensed tannins from *Leucaena leucocephala* hybrid-Rendang. *Food Science and Human Wellness*, 5: 65-75.

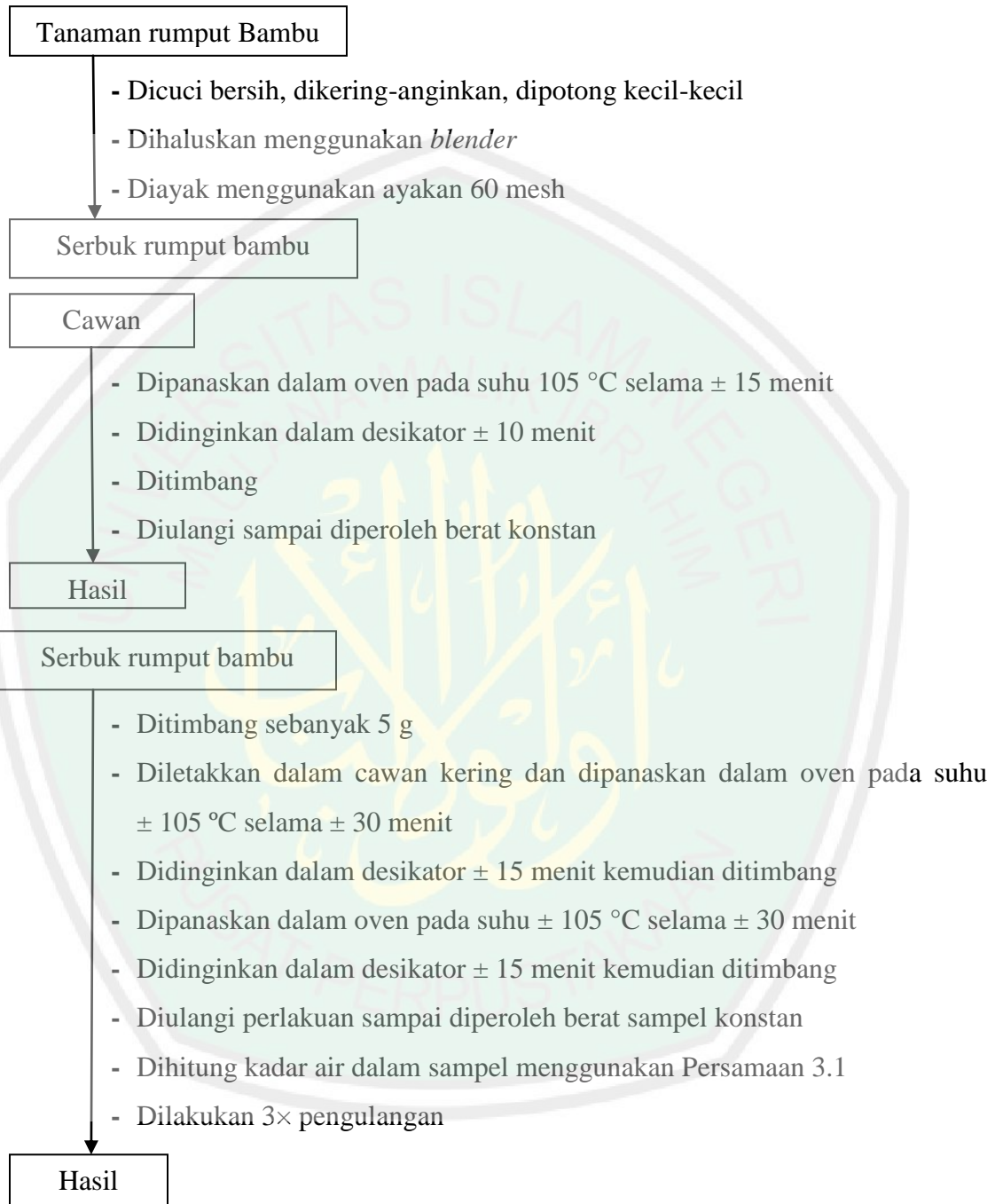
LAMPIRAN

Lampiran 1. Diagram Alir Penelitian

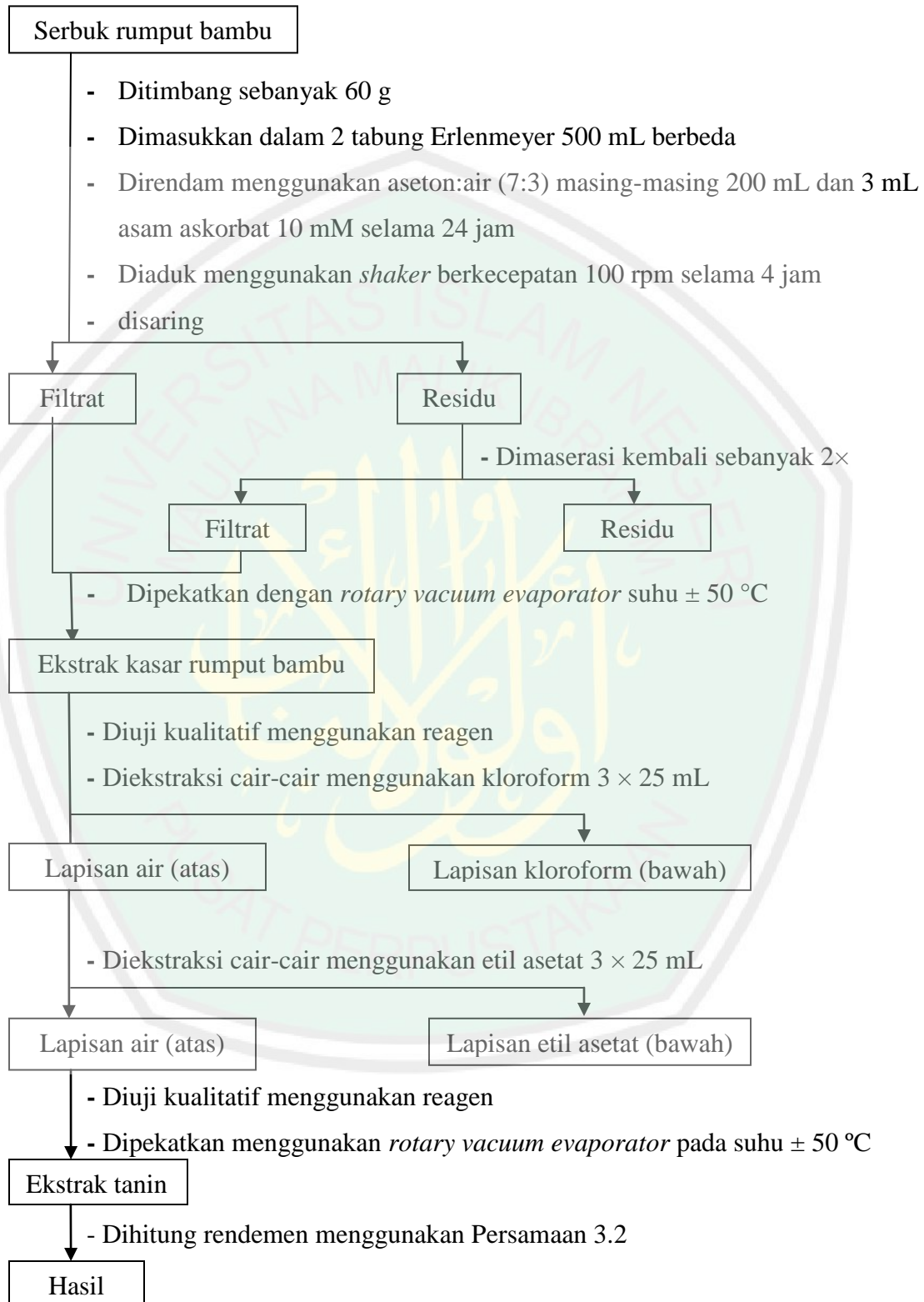


Lampiran 2. Skema Kerja

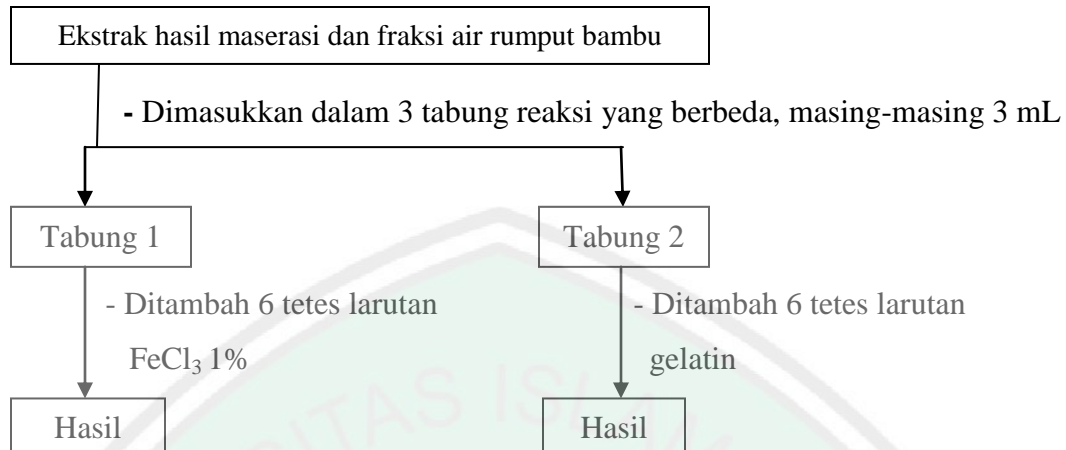
L.2.1 Preparasi dan Analisis Kadar Air Sampel Rumput Bambu



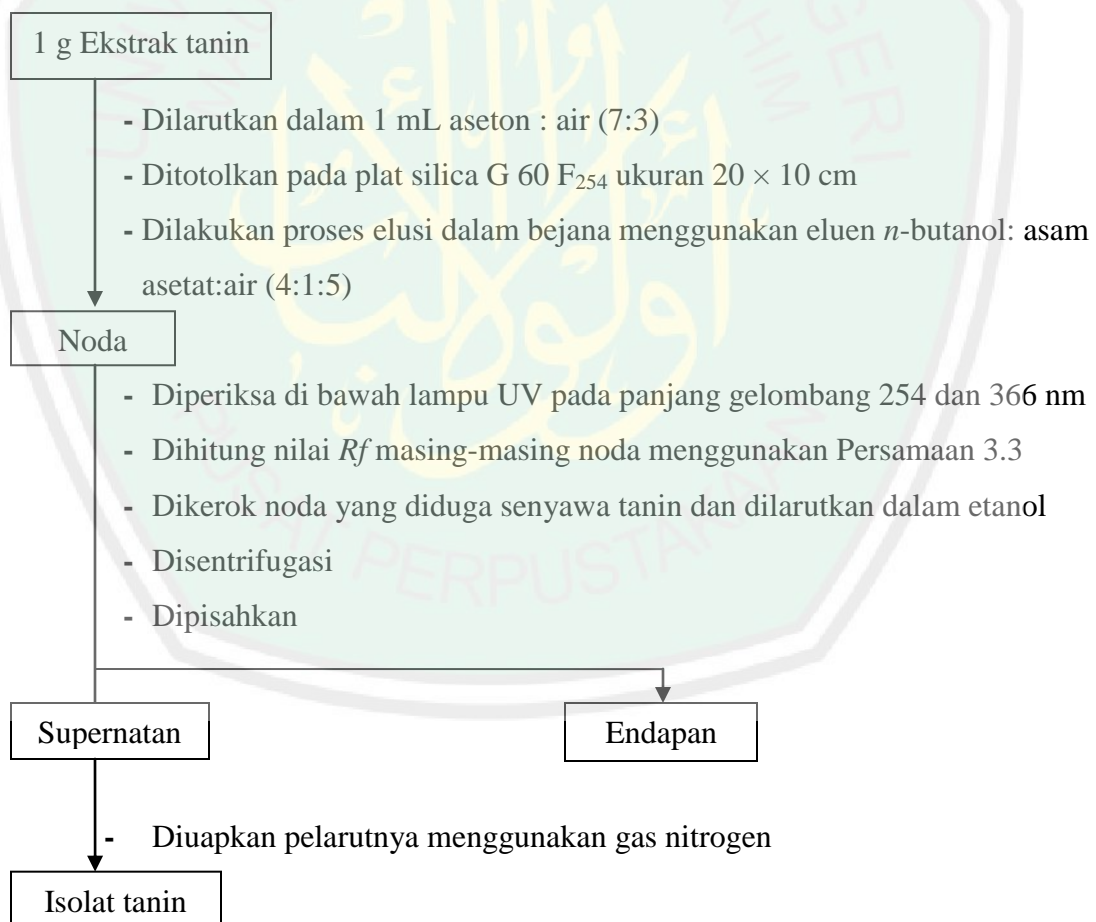
L.2.2 Ekstraksi Senyawa Aktif pada Sampel Rumput Bambu



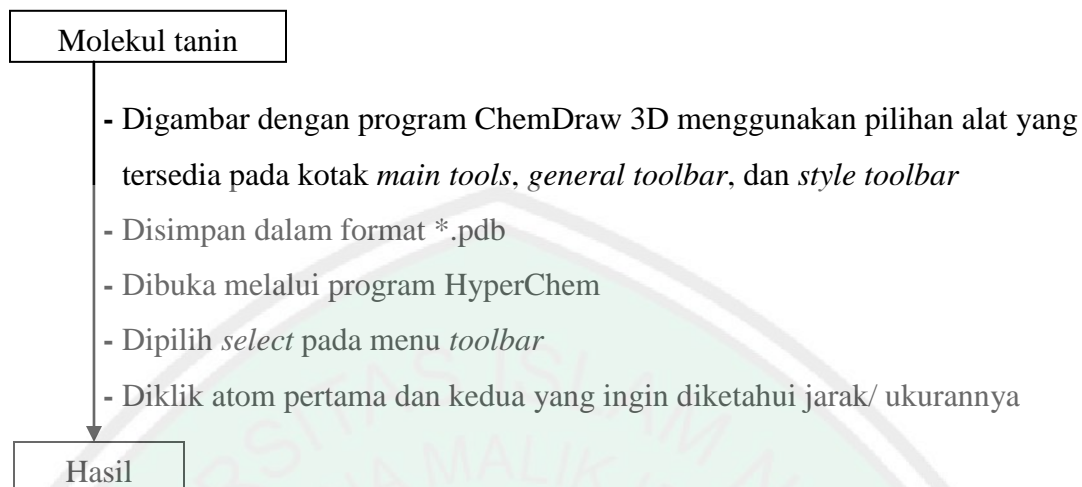
L.2.3 Uji Fitokimia Tanin pada Ekstrak dan Fraksi Air Rumput Bambu



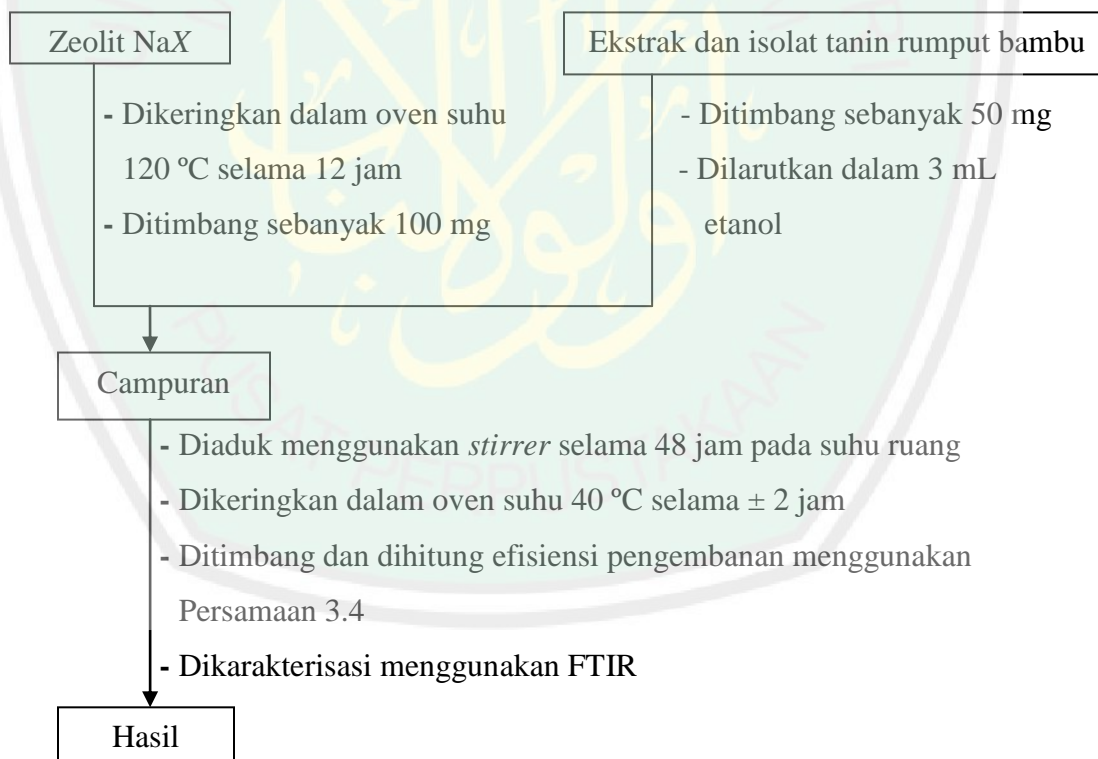
L.2.4 Isolasi Senyawa Tanin dengan Metode KLTP



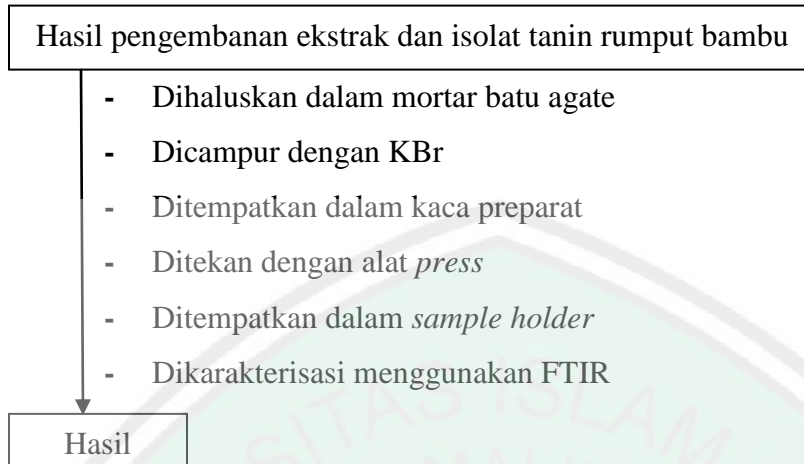
L.2.5 Pengukuran Molekul Tanin Menggunakan Aplikasi HyperChem



L.2.6 Pengembanan Ekstrak dan Isolat Tanin Rumpuk Bambu pada Zeolit NaX

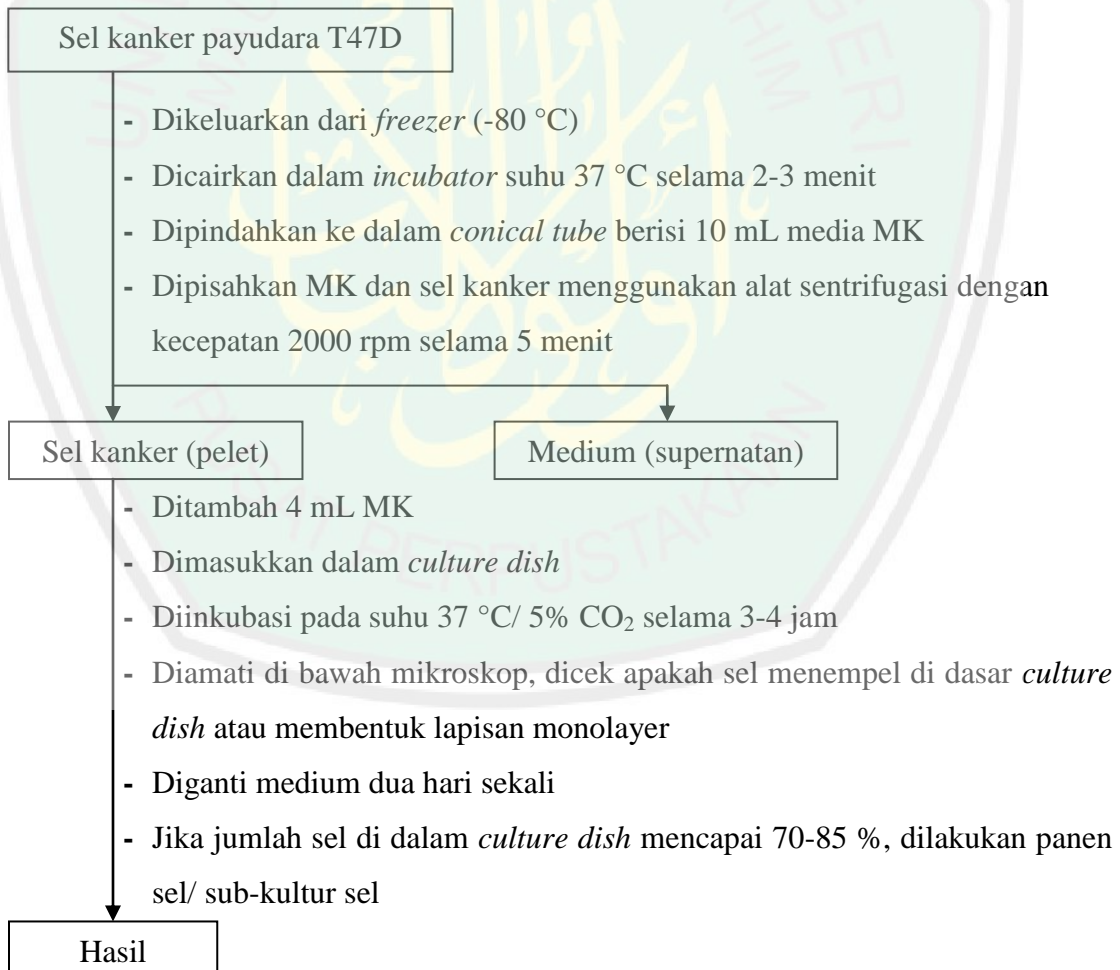


L.2.7 Karakterisasi Hasil Pengembunan Menggunakan FTIR

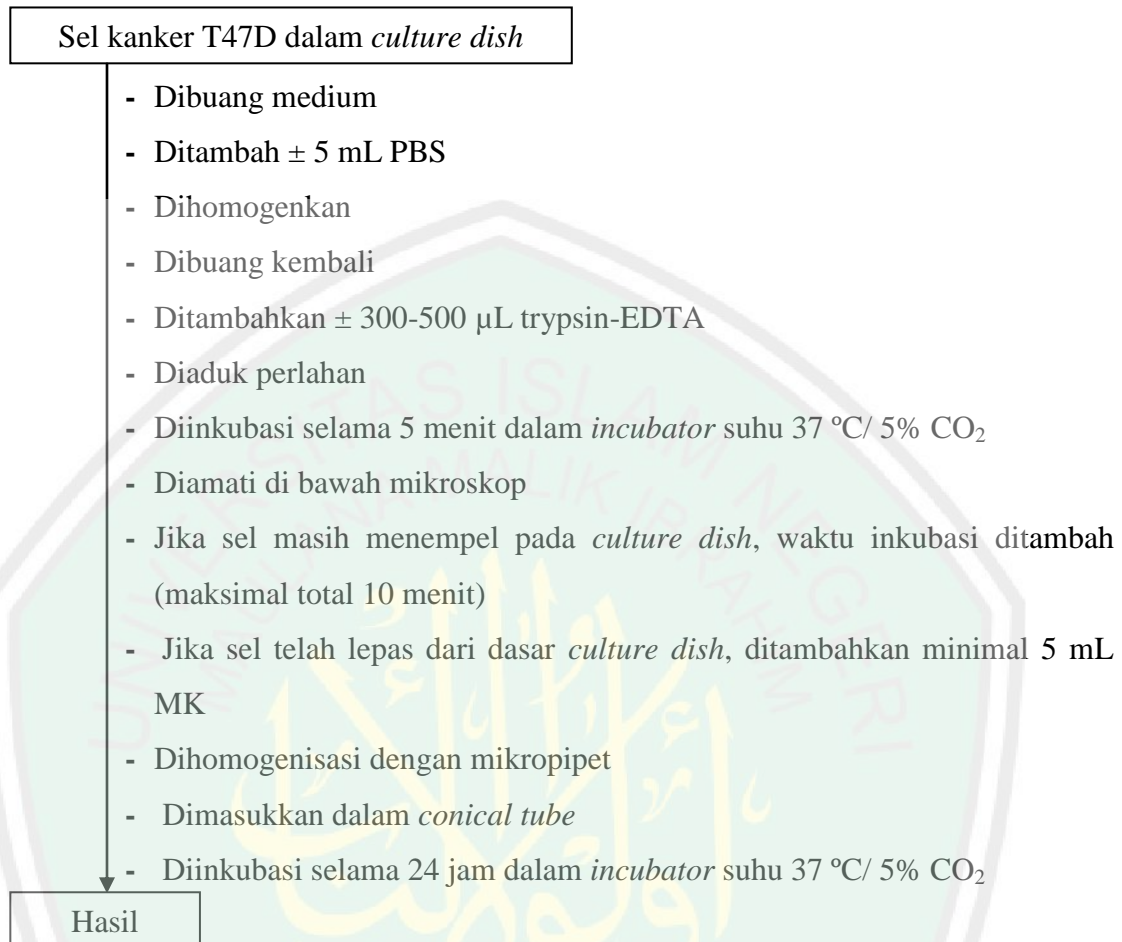


L.2.8 Uji Aktivitas Antikanker Metode MTT

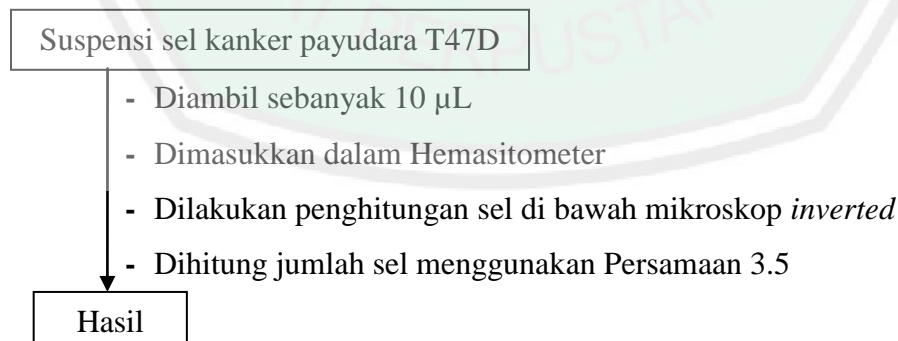
L.2.8.1 Kultur Sel



L.2.8.2 Panen Sel



L.2.8.3 Penghitungan sel kanker



L.2.8.4 Peletakan Sel pada Plat

Suspensi sel kanker payudara T47D

- Diambil sebanyak jumlah yang dibutuhkan (dihitung menggunakan Persamaan 3.6)
- dimasukkan dalam *conical tube*
- Ditambahkan medium MK hingga total volume 10 mL
- dicampur rata
- Dimasukkan ke dalam masing-masing sumuran sebanyak 100 μL , kecuali sumuran kontrol sel (200 μL) dan kontrol medium
- Diinkubasi pada suhu 37 °C, 5% CO₂ selama 24 jam

Hasil

L.2.8.5 Pembuatan Larutan Uji

Zeolit NaX, hasil pengembangan, ekstrak dan isolat tanin RB

- Ditimbang sebanyak 10 mg
- Dilarutkan dalam 100 μL DMSO
- Dihomogenkan menggunakan *vortex* hingga larut

Hasil

Larutan stok sampel 100.000 $\mu\text{g/mL}$

- Diambil sebanyak 5 μL
- Dilarutkan dalam 995 μL MK
- Dihomogenkan menggunakan *vortex* hingga larut
- Dilakukan pengenceran secara bertingkat dengan memindahkan 500 μL larutan uji dari tabung pertama ke tabung selanjutnya sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 500; 250; 125; 62,5; 31,25; 15,625 $\mu\text{g/mL}$

Hasil

L.2.8.6 Peletakan Larutan Uji

Plat uji berisi sel kanker

- Diambil dari *incubator*
- Dibuang media sel dengan cara dibalik 180° dan ditiriskan di atas tisu
- Dimasukkan PBS ke dalam semua sumuran
- Dibuang PBS dan ditiriskan dengan tisu
- Dibagi sel uji menjadi 4 bagian menggunakan spidol di atas penutup plat
- Dimasukkan sampel uji sebanyak 100 μL pada tiap sumuran dari masing-masing konsentrasi
- Diulang sebanyak 3 \times (triplo)
- Diinkubasi selama 24 jam dalam *incubator* suhu 37 °C/ CO₂ 5%

Hasil

L.2.8.7 Peletakan Larutan MTT

Plat hasil uji

- dibuang media sel
- Dicuci dengan PBS pada tiap sumuran 100 μL
- Dibuang PBS dan ditiriskan
- Ditambah MTT dengan konsentrasi 0,5 mg/mL sebanyak 100 μL pada tiap sumuran
- Diinkubasi selama 3-4 jam dalam *incubator* suhu 37 °C/ CO₂ 5%
- Ditambahkan 100 μL SDS 10 % 0,01 N HCl pada tiap sumuran
- Dibungkus *plate* dengan *aluminium foil*
- Diinkubasi pada *incubator* gelap suhu 37 °C/ CO₂ 5% selama 24 jam
- Diukur serapan sampel menggunakan *ELISA Reader* pada λ 595 nm

Hasil

L.2.8.8 Analisis Data

Data hasil pengukuran ELISA *reader*

- Dihitung nilai IC_{50} sampel menggunakan persamaan 3.7 dan persamaan regresi linear yang didapat dari perhitungan menggunakan *Microsoft Excel*

Hasil



Lampiran 3. Perhitungan dan Cara Pembuatan Larutan dan Reagen
L 3.1 Pembuatan Larutan Asam Askorbat 10 mM (0,01M)

$$Mr = 176 \text{ g/mol}$$

$$M \text{ C}_6\text{H}_8\text{O}_6 = \frac{m \text{ C}_6\text{H}_8\text{O}_6 \times 1000}{Mr \text{ C}_6\text{H}_8\text{O}_6 \times V}$$

$$0,01 \text{ M} = \frac{m \text{ C}_6\text{H}_8\text{O}_6 \times 1000}{176 \frac{\text{g}}{\text{mol}} \times 100 \text{ mL}}$$

$$\frac{0,01 \text{ M} \times 176 \frac{\text{g}}{\text{mol}} \times 100 \text{ mL}}{1000} = m \text{ C}_6\text{H}_8\text{O}_6$$

$$m \text{ C}_6\text{H}_8\text{O}_6 = 0,176 \text{ g}$$

Ditimbang asam askorbat seberat 0,176 g menggunakan gelas arloji pada neraca analitik. Dimasukkan dalam gelas beaker dan ditambahkan ± 20 mL aquades. Diaduk menggunakan batang pengaduk. Setelah larut dimasukkan dalam labu ukur 100 mL dan ditanda bataskan dengan aquades.

L.3.2 Pembuatan Reagen FeCl₃ 1%

$$\% \text{ Larutan} = \frac{m \text{ zat terlarut}}{m \text{ zat terlarut} + m \text{ pelarut}} \times 100\%$$

$$\text{Larutan FeCl}_3 \text{ 1\%} = \frac{1 \text{ g FeCl}_3}{1 \text{ g FeCl}_3 + m \text{ pelarut}} \times 100\%$$

$$1 \text{ g FeCl}_3 + m \text{ pelarut} = \frac{1 \text{ g FeCl}_3}{\text{FeCl}_3 \text{ 1\%}} \times 100\%$$

$$1 \text{ g FeCl}_3 + m \text{ pelarut} = 1 \times 100$$

$$m \text{ pelarut} = 100 \text{ g} - 1 \text{ g} = 99 \text{ g}$$

$$V \text{ pelarut} = \frac{m \text{ pelarut}}{Bj \text{ pelarut}}$$

$$V \text{ aquades} = \frac{99 \text{ g}}{1 \text{ g/mL}} = 99 \text{ mL}$$

Ditimbang $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ seberat 1 g menggunakan gelas arloji pada neraca analitik, kemudian dilarutkan dengan aquades sebanyak ± 10 mL dalam beaker glass 50 mL. Larutan dipindahkan ke dalam labu ukur 100 mL dan ditanda bataskan dengan aquades.

L.3.3 Pembuatan Larutan Gelatin

Ditimbang gelatin sebanyak 1,25 g menggunakan gelas arloji pada neraca analitik, kemudian dilarutkan dengan 20 mL larutan NaCl jenuh dalam beaker glass 50 mL dan dipanaskan hingga larut. Larutan gelatin didinginkan, kemudian dimasukkan dalam labu ukur 50 mL dan ditanda bataskan dengan larutan NaCl jenuh. Campuran dikocok hingga homogen.

L.3.4 Pembuatan Larutan Stok Sampel Uji konsentrasi 100.000 $\mu\text{g/mL}$

$$\frac{100.000 \mu\text{g}}{\text{mL}} = \frac{100.000 \mu\text{g}}{1000 \mu\text{L}} = \frac{10.000 \mu\text{g}}{100 \mu\text{L}} = \frac{10 \text{ mg}}{100 \mu\text{L}}$$

Ditimbang sampel seberat 10 mg, kemudian dimasukkan dalam conical tube dan ditambahkan 100 μL pelarut DMSO. Selanjutnya dihomogenkan menggunakan vortex.

L.3.5 Pembuatan larutan sampel 500 µg/mL

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$V_1 \times 100.000 \mu\text{g/mL} = 1000 \mu\text{L} \times 500 \mu\text{g/mL}$$

$$V_1 = 5 \mu\text{L}$$

Dipipet larutan stok sampel 100.000 µg/mL sebanyak 10 µL, dilarutkan dalam 990 µL medium komplit. Dihomogenkan.

L.3.6 Pembuatan larutan stok MTT (5 mg/mL)

Ditimbang 50 mg serbuk MTT, dilarutkan dalam 10 mL PBS di dalam *conical tube* dan dihomogenkan menggunakan *vortex*.

L.3.7 Pembuatan larutan uji MTT (0,5 mg/mL)

Diambil 1 mL larutan stok MTT 5 mg/mL kemudian ditambahkan medium komplit hingga 10 mL. Dihomogenkan.

L.3.8 Pembuatan larutan SDS 10%

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

Ditimbang 10 g serbuk SDS (*Sodium Dodecyl Sulphate*) dan dimasukkan dalam *conical tube*. Ditambahkan dengan 100 mL aquades dan dihomogenkan dengan *vortex*.

Lampiran 4. Data Hasil Penelitian dan Perhitungan
L.4.1 Perhitungan Analisa Kadar Air pada Sampel Rumput Bambu

(a) Massa cawan kosong

Cawan	Massa cawan kosong setelah pengeringan ke- (g)			Massa rata-rata (g)
	1	2	3	
Cawan 1	55,7755	55,7750	55,7748	55,7751
Cawan 2	49,8172	49,8171	49,8168	49,8170
Cawan 3	54,2356	54,2351	54,2350	54,2352

(b) Massa cawan + sampel (sebanyak 5 g) sebelum dikeringkan

Cawan	Massa (g)
Cawan 1 + sampel	60,7788
Cawan 2 + sampel	54,8176
Cawan 3 + sampel	59,2375

(c) Massa cawan + sampel (sebanyak 5 g) setelah dikeringkan

	Massa cawan + sampel setelah pengeringan ke- (g)			Massa rata-rata (g)
	1	2	3	
Cawan 1 + sampel	60,3896	60,3893	60,3892	60,3894
Cawan 2 + sampel	54,4323	54,4319	54,4315	54,4319
Cawan 3 + sampel	58,8532	58,8530	58,8527	58,8530

(d) Perhitungan analisis kadar air

$$\% \text{ Kadar air} = \frac{b - c}{b - a} \times 100\%$$

Dengan a adalah berat cawan kosong, b adalah berat cawan + sampel sebelum dikeringkan, dan c adalah berat cawan + sampel setelah dikeringkan.

$$\text{Faktor koreksi} = \frac{100}{100 - \% \text{ kadar air}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Kadar air terkoreksi} = \% \text{ kadar air} - \text{faktor koreksi}$$

➤ **Ulangan 1**

$$\% \text{ Kadar air} = \frac{60,7788 - 60,3894}{60,7788 - 55,7751} \times 100\% = 7,782 \%$$

$$\text{Faktor koreksi} = \frac{100}{100 - 7,782} \times 100\% = 1,084 \%$$

$$\% \text{ Kadar air terkoreksi} = 7,782 \% - 1,084 \% = 6,698 \%$$

➤ **Ulangan 2**

$$\% \text{ Kadar air} = \frac{54,8176 - 54,4319}{54,8176 - 49,8170} \times 100\% = 7,7713 \%$$

$$\text{Faktor koreksi} = \frac{100}{100 - 7,7713} \times 100\% = 1,0836 \%$$

$$\% \text{ Kadar air terkoreksi} = 7,713 \% - 1,0836 \% = 6,6294 \%$$

➤ **Ulangan 3**

$$\% \text{ Kadar air} = \frac{59,2375 - 58,8530}{59,2375 - 54,2352} \times 100\% = 7,6892 \%$$

$$\text{Faktor koreksi} = \frac{100}{100 - 7,6892} \times 100\% = 1,0833 \%$$

$$\% \text{ Kadar air terkoreksi} = 7,6892 \% - 1,0833 \% = 6,6059 \%$$

$$\text{Rata - rata kadar air} = \frac{7,782 \% + 7,713 \% + 7,6872 \%}{3} = 7,728 \%$$

$$\text{Rata - rata faktor terkoreksi} = \frac{1,084 \% + 1,0836 \% + 1,0833 \%}{3} = 1,0836 \%$$

$$\text{Rata - rata kadar air} = \frac{6,698 \% + 6,6294 \% + 6,6059 \%}{3} = 6,644 \%$$

Sampel	Kadar air yang terkandung dalam sampel (%)			
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Rata-rata
Rumput bambu	6,698	6,6294	6,6059	6,644

L.4.2 Perhitungan Rendemen Hasil Ekstraksi

(a) Rendemen hasil maserasi

Berat sampel rumput bambu = 60 g

Berat ekstrak = 10,8 g

$$\begin{aligned} \text{Persen rendemen} &= \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat sampel}} \times 100\% \\ &= \frac{10,8 \text{ g}}{60 \text{ g}} \times 100\% = 18\% \end{aligned}$$

(b) Rendemen hasil ekstraksi cair-cair

Berat sampel rumput bambu = 4,990 g

Berat ekstrak = 0,581 g

$$\begin{aligned} \text{Persen rendemen} &= \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat sampel}} \times 100\% \\ &= \frac{0,581 \text{ g}}{4,990 \text{ g}} \times 100\% = 11,643\% \end{aligned}$$

L.4.3 Perhitungan nilai Rf hasil KLTP

$$Rf = \frac{\text{jarak tempuh noda}}{\text{jarak tempuh pelarut}}$$

(a) Nilai Rf noda 1 = $\frac{5,1}{11,2} = 0,455$

(b) Nilai Rf noda 1 = $\frac{6,8}{11,2} = 0,607$

(c) Nilai Rf noda 1 = $\frac{7,4}{11,2} = 0,66$

(d) Nilai Rf noda 1 = $\frac{7,9}{11,2} = 0,705$

(e) Nilai Rf noda 1 = $\frac{8,6}{11,2} = 0,77$

(f) Nilai Rf noda 1 = $\frac{9,2}{11,2} = 0,82$

L.4.4 Perhitungan Efisiensi Pengembanan

(a) Efisiensi pengembanan ekstrak RB

Massa ekstrak RB sebelum diembankan = 0,052 g

Massa ekstrak RB sesudah diembankan = 0,043 g

$$\begin{aligned} \text{Efisiensi pengembanan} &= \frac{\text{massa ekstrak RB sebelum diembankan}}{\text{massa ekstrak RB sesudah diembankan}} \\ &= \frac{0,043 \text{ g}}{0,052 \text{ g}} \times 100\% = 82,692 \% \end{aligned}$$

(b) Efisiensi pengembanan isolat tanin RB

Massa ekstrak RB sebelum diembankan = 0,0086 g

Massa ekstrak RB sesudah diembankan = 0,0083 g

$$\begin{aligned} \text{Efisiensi pengembanan} &= \frac{\text{massa isolat tanin RB sebelum diembankan}}{\text{massa isolat tanin RB sesudah diembankan}} \\ &= \frac{0,0083 \text{ g}}{0,0086 \text{ g}} \times 100\% = 96,512 \% \end{aligned}$$

L.4.5 Perhitungan Data dan Hasil Uji Aktivitas Antikanker Payudara T47D

(a) Penghitungan sel kanker

Pengamatan jumlah sel panen dengan hemasitometer di bawah mikroskop inverted

Kuadran A 304	Kuadran B 254
Kuadran C 229	Kuadran D 333

$$\begin{aligned}
 \text{Jumlah sel hidup} &= \frac{\Sigma \text{ sel kuadran } A + B + C + D}{4} \times 100\% \\
 &= \frac{304+254+229+333}{4} \times 100\% \\
 &= 280 \times 10^4 \text{ per mL}
 \end{aligned}$$

(b) Peletakan sel pada plat

$$\begin{aligned}
 \text{Jumlah sel yang dibutuhkan} &= \frac{\Sigma \text{ sel yang digunakan}}{\Sigma \text{ sel panen}} \\
 &= \frac{100 \times 10^4}{280 \times 10^4} = 0,357 \text{ mL}
 \end{aligned}$$

Setiap sumuran pada plat uji akan diisi 100 μL larutan MK berisi sel. Total volume suspensi sel yang diperlukan untuk menanam sel pada plat uji 96 *well* yaitu sebanyak 100 μL \times 100 sumuran = 100.000 μL atau 10 mL, sehingga sel panen sebanyak 0,4 mL ditambahkan MK hingga total volume 10 mL dan dihomogenkan.

(C) Perhitungan persen sel hidup

$$\text{persentase sel hidup} = \frac{c - b}{a - b}$$

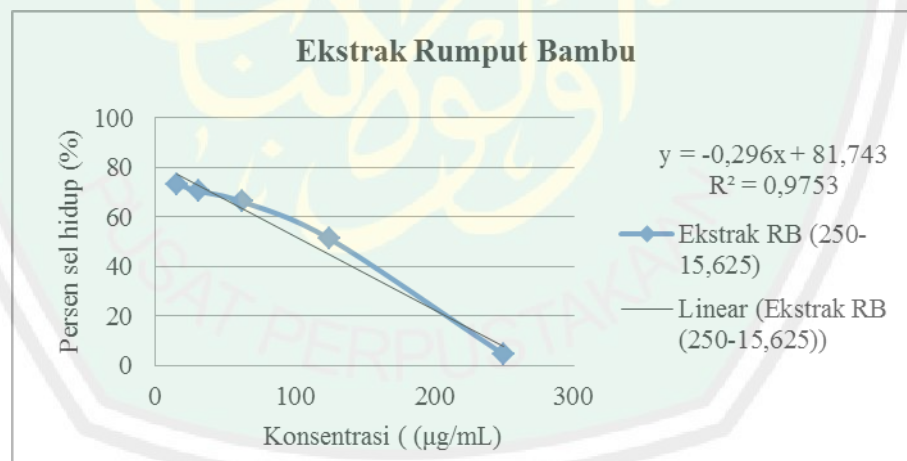
Dengan *a* adalah absorbansi kontrol sel (media kultur + sel), *b* adalah absorbansi kontrol media (media kultur), dan *c* adalah absorbansi sampel (media kultur + sel + sampel)

	Absorbansi			Rata-rata	% Sel hidup
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3		
Kontrol sel	0,739	0,833	0,779	0,784	100
Kontrol medium	0,352	0,351	0,372	0,358	0

(1) Ekstrak rumput bambu**➤ Perhitungan persen sel hidup**

- Konsentrasi 250 $\mu\text{g/mL}$ \rightarrow % *Sel hidup* = $\frac{0,377-0,358}{0,784-0,358} \times 100\% = 4,310 \%$
- Konsentrasi 12,5 $\mu\text{g/mL}$ \rightarrow % *Sel hidup* = $\frac{0,576-0,358}{0,784-0,358} \times 100\% = 51,176 \%$
- Konsentrasi 62,5 $\mu\text{g/mL}$ \rightarrow % *Sel hidup* = $\frac{0,640-0,358}{0,784-0,358} \times 100\% = 66,144 \%$
- Konsentrasi 31,25 $\mu\text{g/mL}$ \rightarrow % *Sel hidup* = $\frac{0,658-0,358}{0,784-0,358} \times 100\% = 70,455 \%$
- Konsentrasi 15,625 $\mu\text{g/mL}$ \rightarrow % *Sel hidup* = $\frac{0,670-0,358}{0,784-0,358} \times 100\% = 73,276 \%$

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi				% Sel hidup
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Rata-rata	
250	0,366	0,385	0,379	0,377	4,310
125	0,548	0,581	0,599	0,576	51,176
62,5	0,617	0,66	0,642	0,640	66,144
31,25	0,625	0,702	0,647	0,658	70,455
15,625	0,665	0,697	0,648	0,670	73,276

➤ Perhitungan IC_{50} 

$$y = -0,296x + 81,743$$

$$x = \frac{50 - 81,743}{-0,296}$$

$$(IC_{50})x = 107,24 \mu\text{g/mL}$$

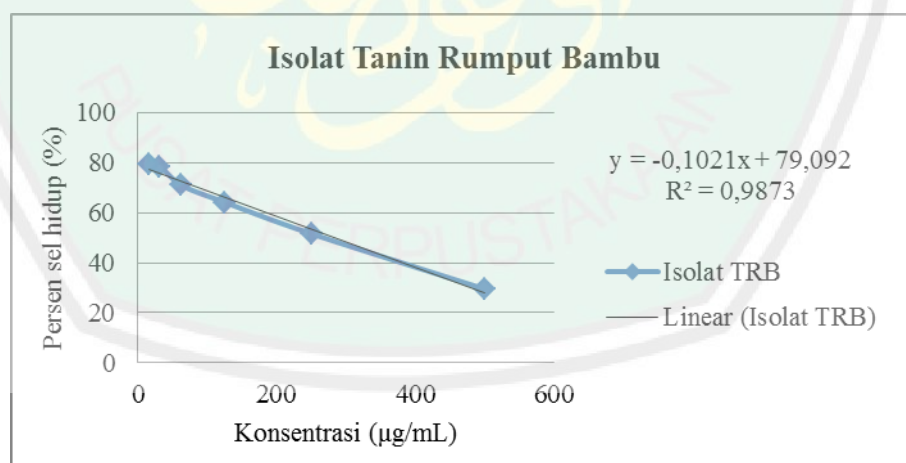
(2) Isolat tanin rumput bambu

➤ Perhitungan persen sel hidup

- Konsentrasi 500 $\mu\text{g/mL}$ \rightarrow % *Sel hidup* = $\frac{0,484-0,358}{0,784-0,358} \times 100\% = 29,545 \%$
- Konsentrasi 250 $\mu\text{g/mL}$ \rightarrow % *Sel hidup* = $\frac{0,578-0,358}{0,784-0,358} \times 100\% = 51,646 \%$
- Konsentrasi 12,5 $\mu\text{g/mL}$ \rightarrow % *Sel hidup* = $\frac{0,631-0,358}{0,784-0,358} \times 100\% = 64,185 \%$
- Konsentrasi 62,5 $\mu\text{g/mL}$ \rightarrow % *Sel hidup* = $\frac{0,660-0,358}{0,784-0,358} \times 100\% = 71,003 \%$
- Konsentrasi 31,25 $\mu\text{g/mL}$ \rightarrow % *Sel hidup* = $\frac{0,692-0,358}{0,784-0,358} \times 100\% = 78,527 \%$
- Konsentrasi 15,625 $\mu\text{g/mL}$ \rightarrow % *Sel hidup* = $\frac{0,695-0,358}{0,784-0,358} \times 100\% = 79,154 \%$

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi				% Sel hidup
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Rata-rata	
500	0,506	0,466	0,48	0,484	29,545
250	0,603	0,566	0,565	0,578	51,646
125	0,637	0,61	0,647	0,631	64,185
62,5	0,653	0,652	0,676	0,660	71,003
31,25	0,701	0,703	0,673	0,692	78,527
15,625	0,682	0,708	0,695	0,695	79,154

➤ Perhitungan IC_{50}



$$y = -0,1021x + 79,092$$

$$x = \frac{50 - 79,092}{-0,1021}$$

$$(IC_{50})x = 284,936 \mu\text{g/mL}$$

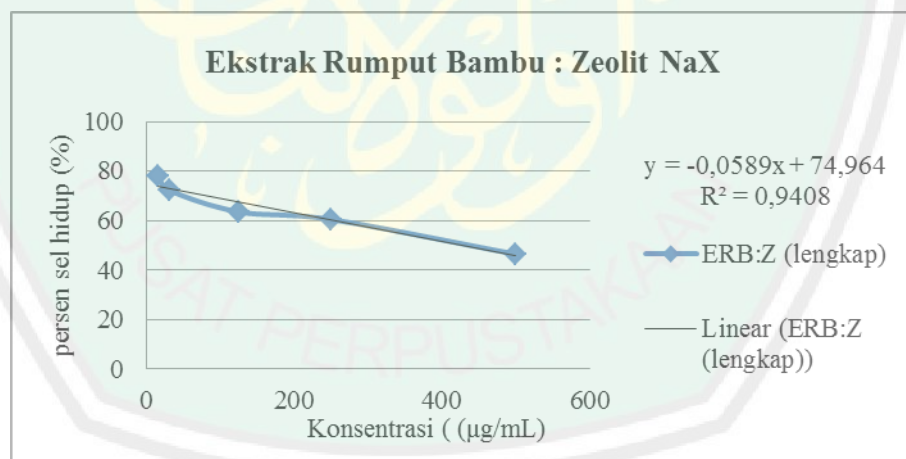
(3) Ekstrak rumput bambu : zeolit NaX

➤ Perhitungan persen sel hidup

- Konsentrasi 500 $\mu\text{g/mL}$ \rightarrow % *Sel hidup* = $\frac{0,556-0,358}{0,784-0,358} \times 100\% = 46,395 \%$
- Konsentrasi 250 $\mu\text{g/mL}$ \rightarrow % *Sel hidup* = $\frac{0,615-0,358}{0,784-0,358} \times 100\% = 60,423 \%$
- Konsentrasi 12,5 $\mu\text{g/mL}$ \rightarrow % *Sel hidup* = $\frac{0,628-0,358}{0,784-0,358} \times 100\% = 63,480 \%$
- Konsentrasi 31,25 $\mu\text{g/mL}$ \rightarrow % *Sel hidup* = $\frac{0,665-0,358}{0,784-0,358} \times 100\% = 72,179 \%$
- Konsentrasi 15,625 $\mu\text{g/mL}$ \rightarrow % *Sel hidup* = $\frac{0,690-0,358}{0,784-0,358} \times 100\% = 78,056 \%$

Konsentrasi		Absorbansi				% Sel hidup
($\mu\text{g/mL}$)	(Log)	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Rata-rata	
500	2,699	0,554	0,559	0,554	0,556	46,395
250	2,398	0,595	0,618	0,633	0,615	60,423
125	2,097	0,615	0,623	0,647	0,628	63,480
31,25	1,495	0,657	0,7	0,639	0,665	72,179
15,625	1,194	0,719	0,706	0,646	0,690	78,056

➤ Perhitungan IC_{50}



$$y = -0,0589x + 74,964$$

$$x = \frac{50 - 74,964}{-0,0589}$$

$$(IC_{50})x = 2,728 (\log) = 423,837 \mu\text{g/mL}$$

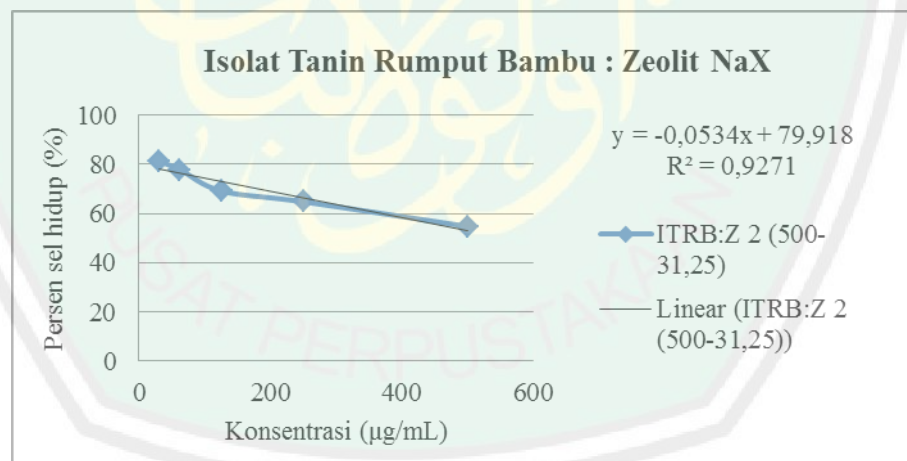
(4) Isolat tanin rumput bambu : zeolit NaX

➤ Perhitungan persen sel hidup

- Konsentrasi 500 $\mu\text{g/mL}$ \rightarrow % *Sel hidup* = $\frac{0,591-0,358}{0,784-0,358} \times 100\% = 54,781 \%$
- Konsentrasi 250 $\mu\text{g/mL}$ \rightarrow % *Sel hidup* = $\frac{0,634-0,358}{0,784-0,358} \times 100\% = 64,812 \%$
- Konsentrasi 12,5 $\mu\text{g/mL}$ \rightarrow % *Sel hidup* = $\frac{0,653-0,358}{0,784-0,358} \times 100\% = 69,201 \%$
- Konsentrasi 62,5 $\mu\text{g/mL}$ \rightarrow % *Sel hidup* = $\frac{0,689-0,358}{0,784-0,358} \times 100\% = 77,821 \%$
- Konsentrasi 31,25 $\mu\text{g/mL}$ \rightarrow % *Sel hidup* = $\frac{0,704-0,358}{0,784-0,358} \times 100\% = 81,270 \%$

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi				% Sel hidup
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Rata-rata	
500	0,577	0,587	0,61	0,591	54,781
250	0,643	0,658	0,601	0,634	64,812
125	0,657	0,641	0,66	0,653	69,201
62,5	0,684	0,667	0,717	0,689	77,821
31,25	0,678	0,692	0,742	0,704	81,270

➤ Perhitungan IC_{50}



$$y = -0,0534x + 79,918$$

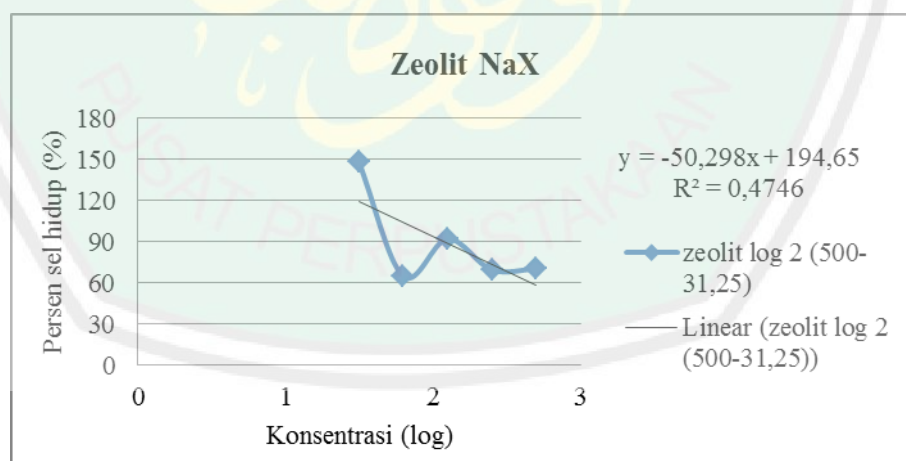
$$x = \frac{50 - 79,918}{-0,0534}$$

$$(IC_{50})x = 560,262 \mu\text{g/mL}$$

(5) Zeolit NaX**➤ Perhitungan persen sel hidup**

- Konsentrasi 500 $\mu\text{g/mL}$ \rightarrow % *Sel hidup* = $\frac{0,658-0,358}{0,784-0,358} \times 100\% = 70,455 \%$
- Konsentrasi 250 $\mu\text{g/mL}$ \rightarrow % *Sel hidup* = $\frac{0,655-0,358}{0,784-0,358} \times 100\% = 69,671 \%$
- Konsentrasi 12,5 $\mu\text{g/mL}$ \rightarrow % *Sel hidup* = $\frac{0,751-0,358}{0,784-0,358} \times 100\% = 92,241 \%$
- Konsentrasi 62,5 $\mu\text{g/mL}$ \rightarrow % *Sel hidup* = $\frac{0,635-0,358}{0,784-0,358} \times 100\% = 65,125 \%$
- Konsentrasi 31,25 $\mu\text{g/mL}$ \rightarrow % *Sel hidup* = $\frac{0,990-0,358}{0,784-0,358} \times 100\% = 148,433\%$
- Konsentrasi 15,625 $\mu\text{g/m}$ \rightarrow % *Sel hidup* = $\frac{0,635-0,358}{0,784-0,358} \times 100\% = 65,047 \%$

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi (Log)	Absorbansi			Rata-rata	% Sel hidup
		Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3		
500	2,699	0,655	0,672	0,647	0,658	70,455
250	2,398	0,66	0,646	0,658	0,655	69,671
125	2,097	0,689	0,685	0,878	0,751	92,241
62,5	1,796	0,628	0,648	0,63	0,635	65,125
31,25	1,495	0,802	1,351	0,816	0,990	148,433
15,625	1,194	0,645	0,634	0,626	0,635	65,047

➤ Perhitungan IC_{50} 

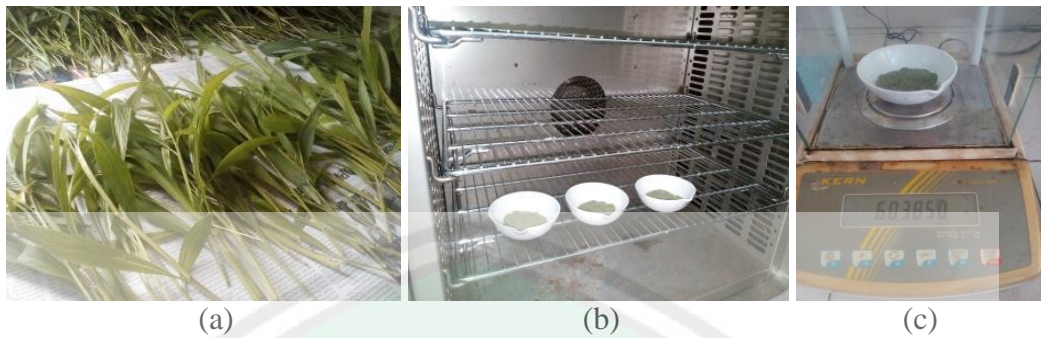
$$y = -50,289x + 194,65$$

$$x = \frac{50 - 194,65}{-50,289}$$

$$(IC_{50})x = 2,876 (\log \quad) = 751,380 \mu\text{g/mL}$$

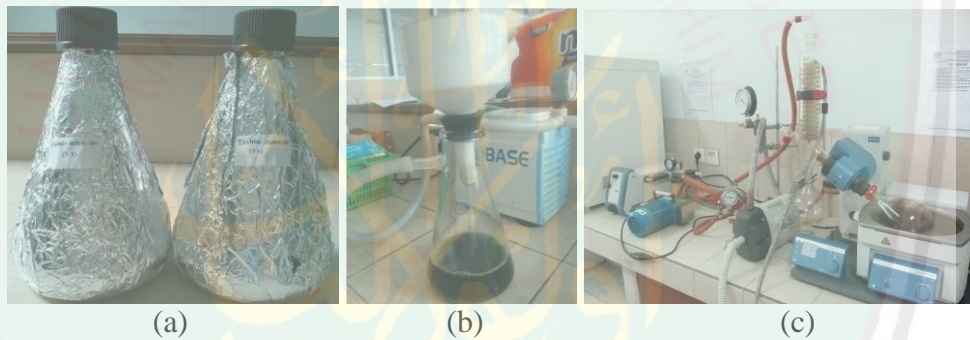
Lampiran 5. Dokumentasi

L.5.1 Preparasi dan Analisis Kadar Air Sampel Rumput Bambu



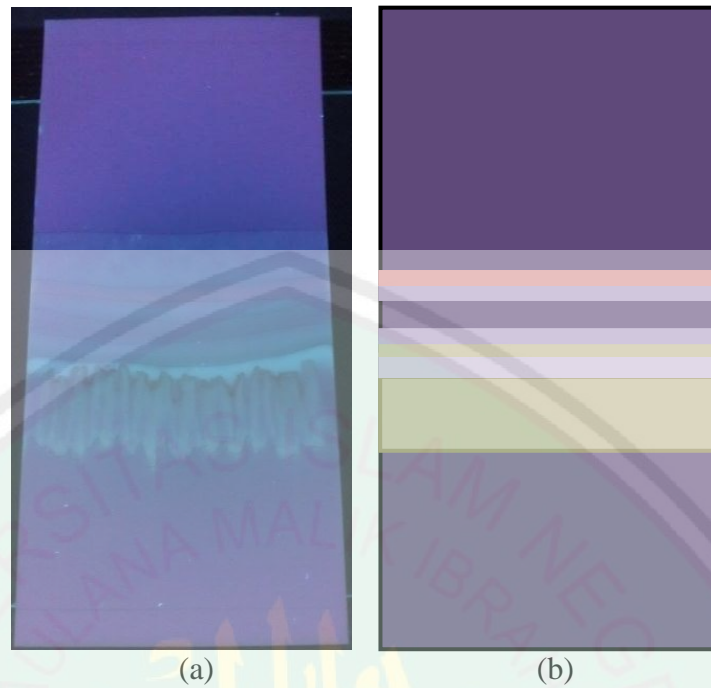
Gambar L.5.1 (a) Pengeringan rumput Bambu, (b) Penguapan air dalam oven, dan (c) Penimbangan sampel

L.5.2 Ekstraksi Senyawa Aktif pada Sampel Rumput Bambu



Gambar L.5.2 (a) Perendaman ekstraksi maserasi, (b) Pemisahan filtrat dan residu dengan penyaringan, (c) Pemekatan dengan *rotary vacuum evaporator*

L.5.3 Isolasi Senyawa Tanin dengan KLTP



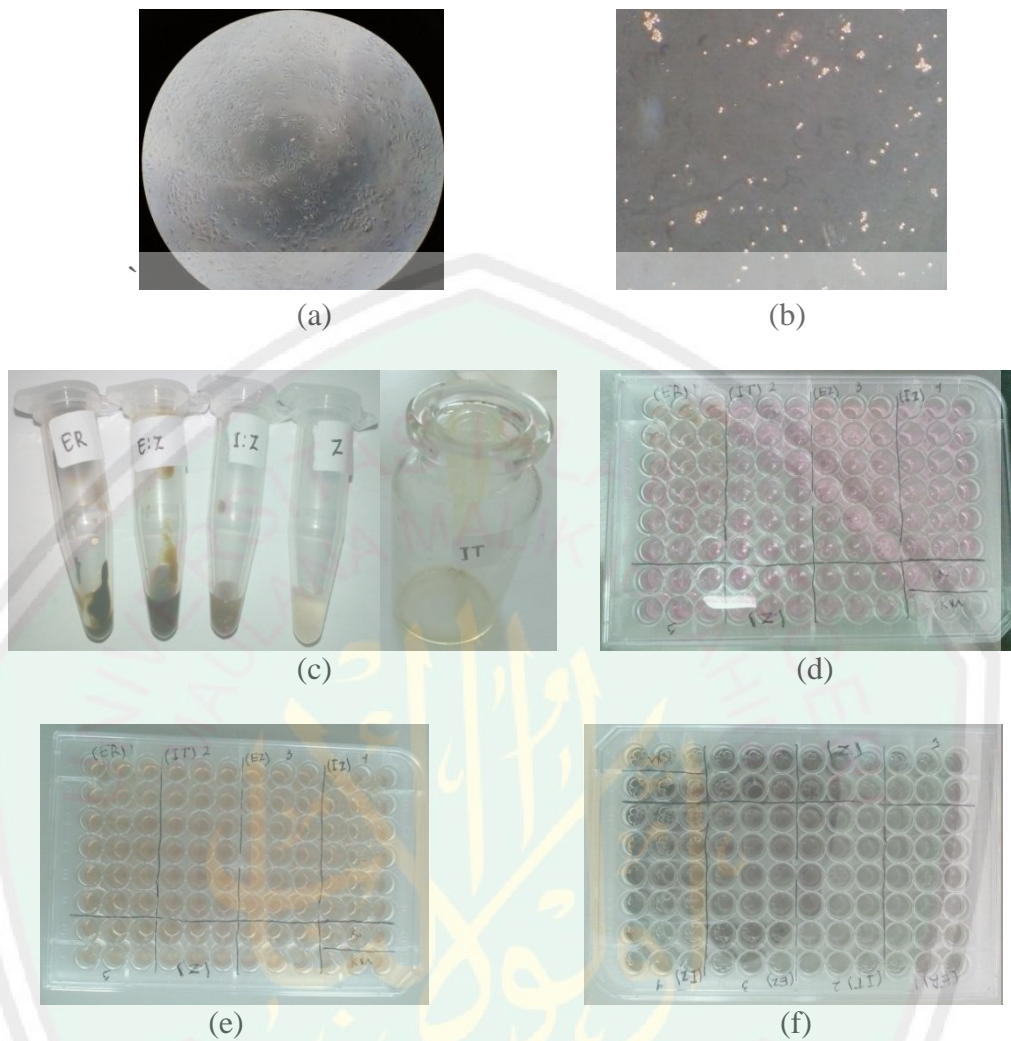
Gambar L.5.3 (a) Hasil pemisahan senyawa tanin di bawah lampu UV 366 nm dan (b) Ilustrasi hasil pemisahan senyawa tanin di bawah lampu UV 366 nm

L.5.4 Pengembanan Ekstrak dan Isolat Tanin RB pada Zeolit NaX



Gambar L.5.4 Proses pengembanan

L.5.5 Uji Aktivitas Antikanker dengan Metode MTT



Gambar L.5.5 (a) Kepadatan sel, (b) Penghitungan sel menggunakan hemacytometer, (c) Pembuatan larutan uji, (d) Peletakan larutan uji, (e) Sel kanker payudara T47D setelah *treatment*, dan (f) Sel kanker payudara T47D setelah pemberian MTT