

**UJI AKTIVITAS ANTIKANKER EKSTRAK TANAMAN RUMPUT
BAMBU (*Lophatherum Gracile* B.) METODE ULTRASONIK TERHADAP
SEL KANKER PAYUDARA T47D**

SKRIPSI

Oleh:
QURROTUL A'YUN
NIM. 15630106



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2020**

**UJI AKTIVITAS ANTIKANKER EKSTRAK TANAMAN RUMPUT
BAMBU (*Lophatherum Gracile* B.) METODE ULTRASONIK TERHADAP
SEL KANKER PAYUDARA T47D**

SKRIPSI

Oleh:
QURROTUL A'YUN
NIM. 15630106

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

JURUSAN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2020

**UJI AKTIVITAS ANTIKANKER EKSTRAK TANAMAN RUMPUT
BAMBU (*Lophatherum Gracile* B.) METODE ULTRASONIK TERHADAP
SEL KANKER PAYUDARA T47D**

SKRIPSI

Oleh:
QURROTUL A'YUN
NIM. 15630106

Telah Diperikas dan Disetujui untuk Diuji
Tanggal: 23 Desember 2020

Pembimbing I


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

Pembimbing II


Ahmad Hanapi, S.Si., M.Sc
NIDT.19851225 201608011 069

Mengetahui,
Ketua Jurusan,


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

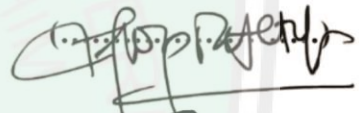
**UJI AKTIVITAS ANTIKANKER EKSTRAK TANAMAN RUMPUT
BAMBU (*Lophatherum Gracile* B.) METODE ULTRASONIK TERHADAP
SEL KANKER PAYUDARA T47D**

SKRIPSI

Oleh:
QURROTUL A'YUN
NIM. 15630106

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: 23 Desember 2020

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



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



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



Anggota Penguji : Ahmad Hanapi, S.Si., M.Sc
NIDT. 19851225 20160801 1 069



Mengetahui,
Ketua Jurusan,



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

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Qurrotul A'yun

NIM : 15630106

Fakultas/Jurusan : Sains dan Teknologi/Kimia

Judul Penelitian : Uji Aktivitas Antikanker Ekstrak Tanaman Rumpun Bambu (*Lophatherum Gracile* B.) Metode Ultrasonik Terhadap Sel Kanker Payudara T47D.

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa hasil penelitian saya ini tidak terdapat unsur-unsur penjiplakan karya penelitian atau karya ilmiah yang pernah dilakukan atau dibuat oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis dikutip dalam naskah ini dan disebutkan dalam sumber kutipan dan daftar pustaka. Apabila ternyata hasil penelitian ini terbukti terdapat unsur-unsur penjiplakan, maka saya bersedia untuk mempertanggung jawabkan, serta diproses sesuai peraturan yang berlaku.

Malang, 28 Desember 2020
Yang Membuat Pernyataan



Qurrotul A'yun
Qurrotul A'yun
NIM. 15630106

MOTTO

Kerendahan Hati – Taufik Ismail

Kalau kita tak mampu menjadi beringin yang tegak di puncak bukit. Jadilah belukar, tetapi belukar yang baik, yang tumbuh di tepi danau.

Kalau kita tak mampu menjadi belukar. Jadilah saja rumput, tetapi rumput yang baik, yang memperkuat tanggul di pinggiran jalan.

Kalau kita tak mampu menjadi jalan raya. Jadilah saja jalan kecil, tetapi jalan setapak yang membawa orang ke mata air.

Tidaklah semua menjadi kapten, tentu harus ada awak kapalnya.

Bukan besar kecilnya tugas yang menjadikan tinggi rendahnya dirimu. Jadilah saja dirimu, sebaik-baik dari dirimu.

Si Tou Timou Tumou Tou – Memanusiakan manusia.

Terus bertumbuh, karena hari ini adalah hari esok untuk hari kemarin.

LEMBAR PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya selesaikan dengan penuh perjuangan. Syukur alhamdulillah atas bantuan dan ridlo Allah SWT serta semua pihak yang telah memberikan bantuannya. Skripsi sederhana ini saya persembahkan untuk kedua orang tua saya, semua keluarga, para dosen yang dengan sabar memberikan saran dalam naskah, sahabat Kimia C 2015 dan teman-teman Kimia angkatan 2015, almamater tercinta yaitu UIN Maulana Malik Ibrahim Malang, dan semua pihak yang telah membantu saya menyelesaikan skripsi ini.



KATA PENGANTAR



Puji syukur Alhamdulillah penulis haturkan kehadiran Allah SWT atas segenap limpahan rahmat, taufik, serta hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan laporan Proposal Penelitian ini yang berjudul **“UJI AKTIVITAS ANTIKANKER EKSTRAK TANAMAN RUMPUT BAMBU (*Lophatherum Gracile* B.) METODE ULTRASONIK TERHADAP SEL KANKER PAYUDARA T47D”**. Shalawat serta salam semoga senantiasa tercurahkan kepada Nabi Muhammad SAW beserta keluarga dan sahabatnya. Karena beliau adalah yang menuntun umat manusia dari jaman jahiliyah menuju jaman yang penuh dengan ilmu pengetahuan.

Skripsi ini merupakan salah satu studi yang harus ditempuh untuk syarat menyelesaikan program S-1 (Strata-1) di Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.

Penulisan skripsi ini tidak luput dari bantuan semua pihak, baik secara langsung maupun tidak langsung. Oleh karena itu, dengan ketulusan hati, serta iringan doapenulis ingin mengucapkan terimakasih sebesar-besarnya kepada:

1. Kedua Orang tua saya, Almarhum Bapak Abdul Mukid, S.Pd dan Ibu Khalifah. Adik-adik saya, Mahsusotur Rohamnia dan Khoiro Amalia beserta keluarga besar yang selalu memberi kasih sayang, do'a, dan nasehat yang membangun tiada henti.
2. Bapak Prof. Dr. Abdul Haris, M.Ag selaku Rektor Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Ibu Dr. Sri Harini, M.Si, selaku dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Ibu Elok Kamilah Hayati, M.Si selaku ketua jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang dan dosen pembimbing yang telah memberikan bimbingan, pengarahan, dan nasehat kepada penulis dalam menyelesaikan proposal ini.
5. Ibu Dewi Yuliani M,Si. selaku konsultan yang telah memberikan bimbingan, pengarahan, dan nasehat kepada penulis dalam menyelesaikan proposal ini. Bapak Ahmad Hanapi, S.Si., M.Sc selaku dosen pembimbing agama dan Bapak Dr. Anton Prasetyo, M.Si selaku dosen penguji.

6. Almarhum Bapak Prof. dr. Supargiyono, DTM&H., SU., Phd selaku pembimbing Laboratorium Parasit di Fakultas Kedokteran UGM, terimakasih telah membimbing dan memberikan pengalaman yang luar biasa kepada penulis.
7. Seluruh dosen jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah mengalirkan ilmu, pengetahuan, pengalaman, wacana dan wawasannya, sebagai pedoman dan bekal bagi penulis.
8. Semua rekan-rekan dan semua pihak, khususnya angkatan 2015, sahabat-sahabat Kimia C, sahabat seperjuangan Organisasi Daerah IMKB (Ikatan Mahasiswa Kalimantan Barat), sahabat seperjuangan FOB (Forum Orda Bersama) yang tidak dapat disebutkan satu per satu. Terimakasih tiada tara atas segala bantuan, semangat, motivasi, dan pengalaman yang tak pernah terlupakan.

Semoga amal perbuatan Bapak/Ibu serta semua pihak yang membantu dalam proses penyelesaian proposal ini diridhoi oleh Allah SWT dan dicatat sebagai amal sholeh Bapak/Ibu/Saudara sekalian. Penulis menyadari adanya kekurangan dan keterbatasan dalam proposal ini. Oleh karena itu, dengan segala kerendahan hati penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun dari semua pihak demi penyempurnaan penelitian ini. Akhir kata, penulis berharap proposal penelitian ini dapat bermanfaat bagi kita semua, yaitu bagi penulis pada khususnya dan bagi pembaca pada umumnya. Amin.

Wassalamualaikum Wr. Wb.

Malang, Desember 2020

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	iv
MOTTO	v
HALAMAN PERSEMBAHAN	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR LAMPIRAN	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR PERSAMAAN.....	xiv
ABSTRAK.....	xv
ABSTRACT	xvi
المستخلص	xvii
 BAB I PENDAHULUAN	 1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan	5
1.4 Batasan Masalah.....	5
1.5 Manfaat Penelitian.....	6
 BAB II TINJAUAN PUSTAKA	 7
2.1 Tanaman Rumput Bambu	7
2.1.1 Morfologi Tanaman Rumput Bambu	7
2.1.2 Senyawa Aktif pada Rumput Bambu	9
2.2 Ekstraksi Senyawa Aktif dengan Metode Ekstraksi Ultrasonik	10
2.3 Sel Kanker Payudara T47D.....	11
2.4 Uji Fitokimia Senyawa Aktif	12
2.4.1 Senyawa Tanin	12
2.4.2 Senyawa Flavonoid	13
2.4.3 Senyawa Alkaloid	14
2.4.4 Senyawa Triterpeoid.....	14
2.4.5 Senyawa Steroid.....	15
2.4.6 Senyawa Saponin	15
2.5 Uji Aktivitas Antikanker secara <i>In-Vitro</i> dengan Metode MTT	15
2.6 Penentuan Nilai IC ₅₀ menggunakan ELISA Reader	17
2.7 Pemisahan Senyawa Tanin menggunakan KLTP	17
2.8 Karakterisasi menggunakan Spektrofotometri FTIR.....	19
 BAB III METODOLOGI PENELITIAN	 20
3.1. Waktu dan Tempat Penelitian	20
3.2 Alat dan Bahan Penelitian.....	20

3.2.1 Alat Penelitian.....	20
3.2.3 Bahan Penelitian.....	20
3.3 Rancangan Penelitian.....	21
3.4 Tahapan Penelitian	21
3.5 Pelaksanaan Penelitian.....	21
3.5.1 Preparasi Sampel.....	21
3.5.2 Ekstraksi Senyawa Aktif	22
3.5.3 Uji Fitokimia dengan Uji Reagen	22
3.5.3.1 Uji Tanin	22
3.5.3.2 Uji Alkaloid	23
3.5.3.3 Uji Flavonoid.....	23
3.5.3.4 Uji Saponin.....	23
3.5.3.5 Uji Triterpenoid dan Steroid.....	24
3.5.4 Uji Aktivitas Antikanker dengan Metode MTT.....	24
3.5.4.1 Penyiapan Sel	24
3.5.4.2 Perhitungan Sel Kanker.....	25
3.5.4.3 Peletakan Sel pada <i>Plate</i>	25
3.5.4.4 Pembuatan dan Pemberian Larutan Sampel pada <i>Plate</i>	26
3.5.4.5 Pemberian Larutan MTT	26
3.5.4.6 Analisis Data	27
3.5.5 Identifikasi Senyawa Tanin	28
3.5.5.1 Pemisahan Senyawa Tanin menggunakan KLT Preparatif.....	28
3.5.5.2 Uji FTIR Isolat Tanin.....	30
BAB IV PEMBAHASAN.....	31
4.1 Preparasi Sampel	31
4.2 Ekstraksi Senyawa Aktif Tanaman Rumput Bambu dengan Ultrasonik	31
4.3 Uji Fitokimia Ekstrak Rumput Bambu dengan Reagen	34
4.4 Uji Aktivitas Ekstrak Tanaman Rumput Bambu.....	35
4.5 Pemisahan Senyawa Tanin dengan Kromatografi Lapis Tipis Preparatif ..	38
4.6 Identifikasi Isolat Tanin Ekstrak Etanol 80% menggunakan Spektrofotometer FTIR.....	41
4.7 Pemanfaatan Rumput Bambu dalam Perspektif Islam	43
BAB V PENUTUP	46
5.1 Kesimpulan	46
5.2 Saran	46
DAFTAR PUSTAKA.....	47
LAMPIRAN	53

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Rancangan Penelitian	53
Lampiran 2 Diagram Alir	54
Lampiran 3 Perhitungan dan Cara Pembuatan Larutan	64
Lampiran 4 Data dan Perhitungan Hasil Penelitian.....	71
Lampiran 5 Spektrum FTIR Isolat Tanin.....	76
Lampiran 6 Dokumentasi	77



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Tanaman Rumput Bambu	7
Gambar 2.2 Reaksi Senyawa Tanin dengan Pereaksi FeCl_3	12
Gambar 2.3 Reaksi Senyawa Flavonoid dengan HCl dan Mg	13
Gambar 2.4 Reaksi Uji Mayer.....	14
Gambar 2.5 Reaksi Reduksi MTT menjadi Formazan	16
Gambar 2.6 Hasil KLTA Tanin dengan Eluen <i>n</i> -Butanol: Asam Asetat: Air (4: 1: 5): (a) Hasil pengamatan di bawah sinar UV pada λ 254 nm sebelum disemprot reagen FeCl_3 , (b) Hasil pengamatan di bawah sinar UV pada λ 366 nm sebelum disemprot reagen FeCl_3 , (c) Hasil pengamatan di bawah sinar UV pada λ 254 nm setelah disemprot reagen FeCl_3 , (d) Hasil pengamatan di bawah sinar UV pada λ 366 nm setelah disemprot reagen FeCl_3	18
Gambar 4.1 Hasil pengamatan sel kanker payudara T47D dibawah mikroskop inverted: (a) Sel kanker sebelum dilakukan treatment (b) Sel kanker setelah dilakukan treatment	35
Gambar 4.2 Hasil KLTA Tanin dengan Eluen <i>n</i> -Butanol: Asam Asetat: Air (4: 1: 5): (a) Hasil pengamatan di bawah sinar UV pada λ 254 nm sebelum disemprot reagen FeCl_3 , (b) Hasil pengamatan di bawah sinar UV pada λ 366 nm sebelum disemprot reagen FeCl_3 , (c) Hasil pengamatan di bawah sinar UV pada λ 254 nm setelah disemprot reagen FeCl_3 , (d) Hasil pengamatan di bawah sinar UV pada λ 366 nm setelah disemprot reagen FeCl_3	39
Gambar 4.3 Spektrum IR Dugaan Isolat Tanin Ekstrak Etanol 80%	42

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Hasil Pemisahan Senyawa Tanin Tanaman Rumput Bambu.....	19
Tabel 2.2 Spektrum IR Isolat Tanin Tanaman Rumput Bambu Fraksi <i>n</i> -Heksana	19
Tabel 4.1 Hasil Ekstraksi Ultrasonik Tanaman Rumput Bambu	31
Tabel 4.2 Hasil Uji Kandungan Senyawa Aktif Ekstrak Etanol 80%, Kloroform, dan <i>n</i> -Heksana Tanaman Rumput Bambu	34
Tabel 4.3 Hasil Persentase Sel Hidup Uji Aktivitas Antikanker.....	36
Tabel 4.4 Hasil IC ₅₀ Uji Aktivitas Antikanker	37
Tabel 4.5 Hasil Pemisahan Senyawa Tanin Tanaman Rumput Bambu Ekstrak Etanol 80%	40
Tabel 4.6 Spektrum IR dugaan Isolat Tanin Ekstrak Etanol 80%	42

DAFTAR PERSAMAAN

Persamaan 3.1 Rendemen	22
Persamaan 3.2 Jumlah Sel Kanker	25
Persamaan 3.3 Jumlah Panenan Sel yang Ditransfer	25
Persamaan 3.4 Persentase Sel Hidup	27
Persamaan 3.5 Faktor Retensi (R_f).....	29



ABSTRAK

A'yun, Qurrotul. 2020. Uji Aktivitas Antikanker Ekstrak Tanaman Rumput Bambu (*Lophatherum Gracile* B.) Metode Ultrasonik Terhadap Sel Kanker Payudara T47D. Skripsi. Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing I: Elok Kamilah Hayati, M.Si.; Pembimbing II: Ahmad Hanapi, S.Si., M.Sc.; Konsultan: Dewi Yuliani, M.Si.

Kata Kunci: Tanaman rumput bambu (*Lophatherum gracile* B.), sel kanker payudara T47D, ekstraksi ultrasonik, KLTP dan metode MTT.

Tanaman rumput bambu (*Lophatherum gracile* B.) merupakan salah satu tanaman gulma yang bisa dimanfaatkan sebagai obat. Hampir seluruh bagian tumbuhan ini mengandung senyawa metabolit sekunder yang memiliki potensi sebagai obat herbal. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas antikanker payudara T47D dari tanaman rumput bambu menggunakan metode ekstraksi ultrasonik.

Pelarut yang digunakan pada penelitian ini adalah etanol 80%, *n*-heksana dan kloroform. Ekstrak hasil ultrasonik diuji fitokimia. Hasil ekstrak etanol 80% dilakukan pemisahan senyawa tanin dengan KLTP menggunakan pelarut *n*-butanol: asam asetat: air (4: 1: 5). Hasil pemisahan senyawa tanin diidentifikasi menggunakan FTIR. Seluruh hasil ekstrak diuji aktivitas antikanker payudara T47D dengan metode MTT.

Nilai IC₅₀ ketiga ekstrak tanaman rumput bambu yaitu etanol 80%, *n*-heksana dan kloroform berturut-turut. 218,081; 292,412; 395,144 µg/mL. Berdasarkan hasil uji fitokimia ekstrak etanol 80% mengandung senyawa tanin. Hasil indentifikasi dengan instrumen FTIR juga menunjukkan serapan penting adanya senyawa tanin yakni serapan gugus O-H alkohol, C-O alkohol sekunder, C-H alifatik, C=C alkena dan cincin aromatis tersubstitusi posisi orto dengan bilangan gelombang berturut-turut 3455; 1094; 2963; 2929; 1650 dan 780 cm⁻¹.

ABSTRACT

A'yun, Qurrotul. 2020. Anticancer Activity Test of Bamboo Grass Extract (*Lophatherum Gracile* B.) Ultrasonic Method Against T47D Breast Cancer Cells. Essay. Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, State Islamic University of Maulana Malik Ibrahim Malang. Supervisor I: Elok Kamilah Hayati, M.Si.; Supervisor II: Ahmad Hanapi, S.Si., M.Sc; Consultant: Dewi Yuliani, M.Si.

Key Words: Bamboo grass (*Lophatherum gracile* B.), T47D breast cancer cells, ultrasonic extraction, KLTP and MTT method

Bamboo grass (*Lophatherum gracile* B.) is a weed plant that can be used as medicine. Almost all parts of this plant contain secondary metabolite compounds which can be used as breast cancer drug T47D. This research was conducted to determine the anticancer activity of T47D breast cancer from the bamboo grass plants using the ultrasonic extraction method.

The solvents used in this study were 80% ethanol, *n*-hexane and chloroform. The ultrasonic extract was tested for phytochemistry. The result of 80% ethanol extract was carried out by separating tannin compounds by TLC using *n*-butanol: acetic acid: water (4: 1: 5) solvent. The results of the separation of tannin compounds were identified using FTIR. All extracts were tested for T47D breast anticancer activity using the MTT method.

The IC₅₀ values of the three bamboo grass extracts were 80% ethanol, *n*-hexane and chloroform, respectively. 218,081; 292,412; 395,144 µg / mL. Based on the results of the phytochemical test, 80% ethanol extract contained tannin compounds. The identification results with the FTIR instrument also showed the important absorption of tannins, namely the absorption of O-H groups of alcohol, C-O of secondary alcohol, aliphatic C-H, C=C of alkenes and ortho-position substituted aromatic rings with successive wave numbers of 3455; 1094; 2963; 2929; 1650 and 780 cm⁻¹.

المستخلص

أعيون، قرعة. ٢٠٢٠. اختبار النشاط المضاد للسرطان لمستخرج نبات عشب الخيزران (*Lophatherum Gracile* B.) بطريقة الموجات فوق الصوتية ضد خلايا سرطان الثدي T47D. البحث. شعبة الكيمياء كلية العلوم و التكنولوجيا جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية بمالانج. المشرفة الأولى : إيلوك كاملة حياتي الماجستير.؛ المشرف الثاني: أحمد حنفي الماجستير؛ المستشار: دوي يوليانتني الماجستير.

الكلمات المفتاحية : نبات عشب الخيزران (*Lophatherum Gracile* B.)، خلايا سرطان الثدي T47D مستخرج فوق الصوتية، KLTP و طريق MTT.

نبات عشب الخيزران (*Lophatherum Gracile* B.) هو نبات عشبي يمكن استخدامه كدواء. تحتوي جميع أجزاء هذا النبات تقريبًا على مركبات مستقلب ثانوية لها إمكانات كدواء عشبي. جرت هذا البحث لتعريف النشاط المضاد للسرطان في الثدي T47D من نبات عشب الخيزران باستخدام طريقة الاستخراج بالموجات فوق الصوتية.

كانت المذيبات المستخدمة في هذه الدراسة ٨٠٪ إيثانول ، n- هكسان و كلوروفورم. نتائج الموجات فوق الصوتية للكيمياء النباتية. تم إجراء نتائج ٨٠٪ من مستخرج الإيثانول عن طريق فصل مركبات التانين بطريقة TLC باستخدام البيوتانول: حمض الخليك: الماء (٤ : ١ : ٥). تم نتائج فصل مركبات التانين باستخدام تقنية FTIR. تم اختبار جميع المستخرجات لمعرفة نشاط المضاد للسرطان الثدي T47D باستخدام طريقة MTT.

كانت قيمة IC_{50} من ثلاث مستخرجات عشب الخيزران هي ٨٠٪ إيثانول و n- هكسان و كلوروفورم على التوالي. ٢١٨.٠٨١ ؛ ٢٩٢٤١٢ ؛ ٣٩٥١٤٤ ميكروجرام / مل. بناءً على نتائج الاختبار الكيميائي النباتي ، يحتوي مستخرج الإيثانول بنسبة ٨٠٪ على مركبات التانين. أظهرت نتائج التعريف باستخدام طريقة FTIR أيضًا الامتصاص المهم للعفص ، أي امتصاص مجموعات O-H من الكحول ، و C-O الكحول الثانوي ، و C-H من الميثيلين ، و C=C من الألكينات ، وحلقات عطرية مستبدلة في موضع ortho بأرقام موجية متتالية تبلغ ٣٤٥٥. ١٠٩٤ ؛ ٢٩٦٣ ؛ ٢٩٢٩ ؛ ١٦٥٠ و ٧٨٠ سم^{-١}.

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kanker adalah penyakit yang disebabkan adanya pertumbuhan sel yang tidak normal pada jaringan tubuh yang mengalami mutasi dan perubahan struktur biokimia. Menurut Kementerian Kesehatan RI (2011) kanker payudara merupakan salah satu jenis kanker yang sering dialami pada perempuan di Indonesia. Kanker payudara bahkan mendominasi sebesar 30% dan mengalahkan kanker serviks yang mendominasi sebesar 24%. Berdasarkan data Riset Kesehatan Dasar tahun 2013, prevalensi pengidap kanker payudara di Indonesia mencapai 0,5 per 1000 perempuan (Kemenkes RI, 2015).

Salah satu jenis pengobatan untuk memusnahkan sel kanker yaitu dengan cara kemoterapi. Akan tetapi, kemoterapi masih memiliki efek samping yang dapat mempengaruhi jaringan sel normal lainnya. Menurut Lander, dkk. (2001), kemoterapi mampu merusak sel-sel normal dengan tingkat proliferasi cepat, seperti sumsum tulang belakang, folikel rambut, dan sel-sel saluran pencernaan. Oleh karena itu, obat yang selektif membunuh sel kanker tanpa mempengaruhi sel normal sangat dibutuhkan, salah satunya dengan menggunakan agen antikanker dari bahan alam.

Pemanfaatan bahan alam sebagai bahan aktif antikanker dapat meminimalisir efek samping yang ditimbulkan. Bahan alam yang bisa dimanfaatkan salah satunya yakni tanaman rumput bambu (*Lophatherum gracile* B.). Menurut Kusumawati, dkk. (2003), *Lophathereum gracile* Brongn termasuk dalam jenis tanaman gulma yang memiliki potensi sebagai obat herbal

penyembuhan penyakit tertentu, seperti antiinflamasi. Untuk itu peneliti mencoba mencari tau potensi lain dari tanaman ini, salah satunya pengujian sebagai obat antikanker payudara T47D.

Allah SWT menciptakan alam beserta isinya di muka bumi ini untuk menyeimbangkan kehidupan dan menunjang kebutuhan manusia. Sumber daya alam yang melimpah patut kita syukuri karena hal itu merupakan nikmat yang Allah berikan kepada manusia, dalam surah as Syu'ara ayat 7, Allah SWT berfirman:

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿٧﴾

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

Shihab (2002) menerangkan bahwa Allah telah menciptakan tanaman dalam keadaan yang subur, baik, dan bermanfaat. Jadi, tumbuh-tumbuhan yang telah Allah SWT ciptakan memiliki banyak manfaat, hal ini bergantung pada kemauan manusia untuk mencari tau atau tidak. Salah satunya upaya eksploarsi pemanfaatan sebagai obat antikanker payudara adalah tanaman rumput bambu.

Potensi tanaman rumput bambu sebagai antikanker payudara terbukti pada hasil penelitian Istiqomah, (2015). Hasil penelitian menunjukkan nilai IC₅₀ antikanker payudara T47D pada daun rumput bambu fraksi *n*-heksana sebesar 300,7 µg/mL, ekstrak etanol 80% sebesar 321,4 µg/mL, ekstrak fraksi kloroform sebesar 177,8 µg/mL, dan ekstrak hasil hidrolisis sebesar 428,580 µg/mL.

Berdasarkan nilai IC_{50} tersebut, tanaman rumput bambu memiliki potensi sebagai obat antikanker payudara.

Metabolit sekunder dalam tanaman rumput bambu bermacam-macam. Ekstrak etanol dari daun rumput bambu menunjukkan adanya kandungan terpenoid, tanin, dan alkaloid (Sari, 2014). Hasil penelitian Auwaliah (2015), pada daun rumput bambu hasil ekstrak etanol 80% dan etanol terhidrolisis mengandung senyawa alkaloid, tanin, dan triterpenoid, sedangkan hasil ekstrak kloroform dan *n*-heksana mengandung senyawa steroid dan tanin.

Senyawa metabolit sekunder tidak hanya terkandung pada daun, namun juga pada akar. Hasil uji fitokimia pada bagian akar menunjukkan adanya senyawa tanin dalam ekstrak *n*-heksana (Hasanah, 2015) dan fraksi *n*-heksana (A'ilah, 2015). Berdasarkan hasil penelitian tersebut dapat dikatakan bahwa salah satu senyawa yang terkandung pada tanaman rumput adalah senyawa tanin. Tanin merupakan senyawa aktif metabolit sekunder yang mempunyai khasiat diantaranya sebagai antikanker payudara T47D. Hal ini dibuktikan pada penelitian Firdaus (2016) yang menunjukkan nilai IC_{50} isolat tanin terhadap sel kanker payudara T47D sebesar 2,046 $\mu\text{g/mL}$.

Upaya untuk memperoleh senyawa tanin pada tanaman rumput bambu dilakukan dengan proses ekstraksi. Metode ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini yaitu metode ultrasonik. Prinsip dasar metode ini yakni peningkatan proses ekstraksi disebabkan adanya gelembung kavitasi yang dihasilkan dari gelombang ultrasonik. Gelembung kavitasi yang dihasilkan menumbuk sampel secara terus-menerus sehingga proses ekstraksi relatif lebih cepat dibandingkan dengan metode konvensional (metode maserasi).

Beberapa penelitian membuktikan adanya hasil uji aktivitas yang lebih baik dengan metode ekstraksi ultrasonik dibandingkan ekstraksi maserasi. Hasil penelitian dari Ouhida, dkk. (2017) menunjukkan bahwa nilai IC_{50} uji aktivitas antioksidan dan ekstrak daun kurma terhadap HClO dengan metode ekstraksi maserasi sebesar 86,12 $\mu\text{g/mL}$, dengan metode ultrasonik sebesar 78,27 $\mu\text{g/mL}$ dan dengan metode ekstraksi soxhlet sebesar 103,87 $\mu\text{g/mL}$. Hal ini menunjukkan bahwa metode ekstraksi ultrasonik dapat memberikan hasil yang terbaik.

Penelitian yang dilakukan oleh Khacha-ananda, dkk. (2013) juga membuktikan bahwa metode ultrasonik memberikan nilai IC_{50} yang lebih baik dibandingkan metode maserasi. Pengujian ekstrak propolis terhadap antikanker sel paru-paru A549 dengan metode maserasi pada variasi waktu 24, 48, dan 72 jam masing-masing menghasilkan nilai IC_{50} sebesar 104,55; 96,11; 85,05 $\mu\text{g/mL}$, sedangkan dengan metode ekstraksi ultrasonik diperoleh nilai IC_{50} sebesar 93,96; 81,99; dan 85,05 $\mu\text{g/mL}$. Kemudian pada sel hela dengan metode maserasi selama 24, 48, dan 72 jam masing-masing diperoleh nilai IC_{50} sebesar 80,96; 83,89; dan 79,83 $\mu\text{g/mL}$, sedangkan dengan metode ultrasonik diperoleh nilai IC_{50} sebesar 58,77; 58,66; dan 59,61 $\mu\text{g/mL}$. Berdasarkan hasil penelitian tersebut, hasil ekstraksi ultrasonik memberikan nilai IC_{50} yang relatif lebih baik dibanding metode ekstraksi maserasi.

Pada penelitian ini proses ekstraksi ultrasonik tanaman rumput bambu dilakukan dengan variasi pelarut berupa etanol 80%, kloroform, dan *n*-heksana. Seluruh hasil ekstrak diuji aktivitas antikanker payudara T47D menggunakan metode *Microculture Tetrazolium Salt* (MTT) secara *in vitro*. Prinsip dasar metode tersebut yakni berdasarkan reaksi reduksi antara enzim reduktase terhadap

garam tetrazolium [3-(4,5-dimetiltiazol- 2-yl)-2,5 difeniltetrazolium bromide] (MTT) yang menyebabkan terjadinya perubahan warna kuning menjadi biru keungunan. Metode MTT umum digunakan karena memiliki kelebihan yakni relatif cepat, sensitif, dan akurat. Hasil pengujian antikanker terbaik dilakukan pemisahan senyawa tanin dengan Kromatografi Lapis Tipis Preparatif (KLTP) dan diidentifikasi isolat tanin menggunakan *Fourier Transform Infra Red* (FTIR).

1.2 Rumusan Masalah

- a). Bagaimana aktivitas antikanker dari ekstrak tanaman rumput bambu dengan ekstraksi metode Ultrasonik?
- b). Bagaimana hasil identifikasi isolat tanin menggunakan FTIR?

1.3 Tujuan

Berdasarkan rumusan masalah tersebut, diharapkan tercapainya tujuan sebagai berikut:

- a). Untuk mengetahui aktivitas antikanker ekstrak tanaman rumput bambu dengan metode ekstraksi ultrasonik.
- b). Untuk mengetahui hasil identifikasi isolat tanin menggunakan FTIR.

1.4 Batasan Masalah

- a). Sampel tanaman rumput bambu yang berasal dari daerah perkebunan Bumiaji, Batu.
- b). Metode ekstraksi yang digunakan adalah ekstraksi ultrasonik.
- c). Sel kanker yang digunakan adalah sel kanker payudara T47D.
- d). Pengujian antikanker dilakukan dengan metode MTT secara *in-vitro*.

e). Identifikasi senyawa menggunakan FTIR.

1.5 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan memberikan informasi tentang pemanfaatan tanaman rumput bambu sebagai obat antikanker payudara T47D dengan metode ultrasonik dan sebagai pembanding serta referensi dalam penelitian lanjutan.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Rumput Bambu

2.1.1 Morfologi Tanaman Rumput Bambu

Tanaman rumput bambu (*Lophatherum gracile* B.) merupakan tanaman rumput-rumputan yang memiliki daun pendek dengan banyak cabang, bertangkai banyak, berakar serabut dan memiliki tinggi sekitar 0,5-1,2 m. Tanaman ini memiliki daun berwarna hijau tua, dengan lebar 10-55 m dan panjangnya 10-30 cm, serta tumbuh di tempat yang rindang (Heyne, 1987). Tanaman rumput bambu ditampilkan pada Gambar 2.1. Adapun klasifikasi tanaman rumput bambu yakni sebagai berikut (Cronquist, 1981):

Divisi	: <i>Spermatophyta</i>
Sub Divisi	: <i>Angiosperma</i>
Kelas	: <i>Monocotyledoneane</i>
Bangsa	: <i>Poales</i>
Suku	: <i>Poaceae</i>
Marga	: <i>Lophatherum</i>
Jenis	: <i>Lophatherum gracil</i> Brongn



Gambar 2.1 Tanaman rumput bambu

Tumbuh-tumbuhan yang Allah SWT ciptakan, mulai dari tumbuhan di dataran tinggi sampai dataran rendah, tumbuhan yang berbuah maupun yang tidak berbuah, semuanya memiliki manfaat dalam menyeimbangkan kelangsungan hidup manusia. Hal ini termaktub dalam firman Allah pada surat ‘Abasa ayat 31-32 yang bunyinya:

وَفِكْمَةً وَأَبَا ۖ مَتَعَا لَكُمْ وَلِأَنْعَمِ كُمْ ۝ (31)

“(31) dan buah-buahan serta rumput-rumputan. (32) Untuk kesenanganmu dan untuk binatang-binatang ternakmu”. (Q.S. ‘Abasa (80): 31-32).

Kalimat “*wa faakihatan wa abban*” ditafsirkan sebagai segala bentuk buah-buahan dan rumput-rumputan yang dimakan binatang (Jazairi, 2009), sementara tafsir Al-Misbah menafsirkan kalimat tersebut sebagai buah-buahan yang dimakan manusia dan rerumputan yang dimakan binatang ternak. Al Qarni (2007) menafsirkan kata “*abbaa*” sebagai rumput yang dimakan oleh hewan ternak, yang memiliki warna hijau segar dan menyenangkan bagi setiap orang yang melihatnya. Objek kajian dalam penelitian ini yaitu tanaman rumput bambu, dimana tumbuhan ini merupakan tanaman liar yang biasa digunakan sebagai pakan ternak.

Selanjutnya disinggung pula pada ayat 32, dimana manusia diperintahkan oleh Allah untuk memanfaatkan rumput-rumputan (Ash Shiddieqy, 2000). Penggunaan tanaman rumput bambu sebagai sampel uji merupakan upaya untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam tanaman rumput bambu serta mencari potensi pemanfaatannya sebagai obat antikanker.

2.1.2 Senyawa Aktif pada Rumput Bambu

Seluruh bagian tanaman rumput bambu mengandung banyak senyawa kimia. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, tanaman rumput bambu mengandung senyawa metabolit sekunder. Menurut Wijayakusuma (2005), senyawa triterpenoid dan steroid terdapat pada seluruh bagian tanaman yakni pada akar, batang, dan daun.

Penelitian yang telah dilakukan oleh Kusumawati, dkk. (2003) juga menyatakan bahwa akar tanaman rumput bambu mengandung triterpenoid, steroid, dan flavonoid. Ekstrak etanol pada daun rumput bambu menunjukkan adanya kandungan terpenoid, tanin, dan alkanoid (Sari, 2014). Pada ekstrak etanol 80% dan etanol terhidrolisis dari daun rumput bambu mengandung senyawa tanin, alkaloid, dan triterpenoid, sedangkan pada *n*-heksana dan kloroform mengandung senyawa tanin dan steroid (Auwaliah, 2015). Pada bagian akar rumput bambu terdapat senyawa triterpenoid, tanin dan saponin (A'ilah, 2015). Hasil penelitian Hasanah (2015), juga menyatakan bahwa pada bagian akar terdapat senyawa tanin dalam ekstrak *n*-heksana.

Metabolit sekunder yang dihasilkan dari tumbuh-tumbuhan memiliki peranan yang beragam. Pada umumnya senyawa metabolit sekunder berfungsi untuk membantu proses pertahanan diri dari lingkungannya (Ergina, dkk. 2014). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa tanaman rumput bambu memiliki beberapa manfaat, salah satunya hasil riset farmakologi dimana ekstrak daun rumput bambu dapat digunakan sebagai antipiretik, antidiuretik, antibakteri, antitumor, dan efek hiperglikemia (Jing, dkk.2009). Metabolit sekunder dari

tanaman rumput bambu juga berpotensi sebagai antioksidan (Shao, dkk. 2014) dan antikanker payudara (Firdaus, 2016).

2.2 Ekstraksi Senyawa Aktif dengan Metode Ekstraksi Ultrasonik

Penggunaan ekstraksi ultrasonik memiliki prinsip dasar yaitu peningkatan proses ekstraksi yang disebabkan adanya gelembung kavitasi yang dihasilkan dari gelombang ultrasonik. Saat gelombang ultrasonik merambat, gelembung kavitasi (gelembung uap) mulai terbentuk. Gelembung ini memberikan tumbukan yang terus-menerus pada sampel yang dilewatinya sehingga mengakibatkan pori-pori dinding sel dari sampel mengalami pembengkakan. Pembengkakan pori yang lebih besar menyebabkan komponen di dalamnya lebih mudah terekstrak (Thompson dan Doraiswamy, 1999).

Metode ini menggunakan gelombang ultrasonik yang memiliki frekuensi antara 20 kHz hingga 500 MHz. Salah satu kelebihan dari metode ultrasonik yakni mampu meningkatkan rendemen hasil ekstraksi dan lebih hemat waktu dibandingkan dengan metode ekstraksi konvensional. Hal ini dibuktikan melalui hasil penelitian ekstraksi ultrasonik pada kulit jeruk mandarin kinnow menggunakan pelarut etanol 80% memberikan hasil sebesar 19,24%, sedangkan dengan metode ekstraksi maserasi memberikan hasil sebesar 18,46% (Safdar, dkk, 2017). Penelitian serupa juga dilakukan oleh Cameron dan Wang (2006) yang melakukan ekstraksi pati jagung menggunakan metode ultrasonik dan maserasi. Rendemen pati jagung dengan ekstraksi maserasi selama 1 jam diperoleh hasil sebesar 53,4%, hasil tersebut tidak berbeda jauh pada rendemen ekstraksi ultrasonik selama 1 jam yaitu sekitar 55,2 – 67,8%.

Berdasarkan hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa metode ekstraksi ultrasonik mampu meningkatkan jumlah senyawa yang terekstrak dalam jangka waktu yang lebih singkat. Menurut Zou TB, dkk. (2014), ekstraksi ultrasonik juga memiliki kelebihan yakni suhu operasi dapat diatur pada saat melakukan ekstraksi, sehingga cocok untuk digunakan pada sampel ekstrak yang tidak tahan panas seperti senyawa bioaktif pada tanaman.

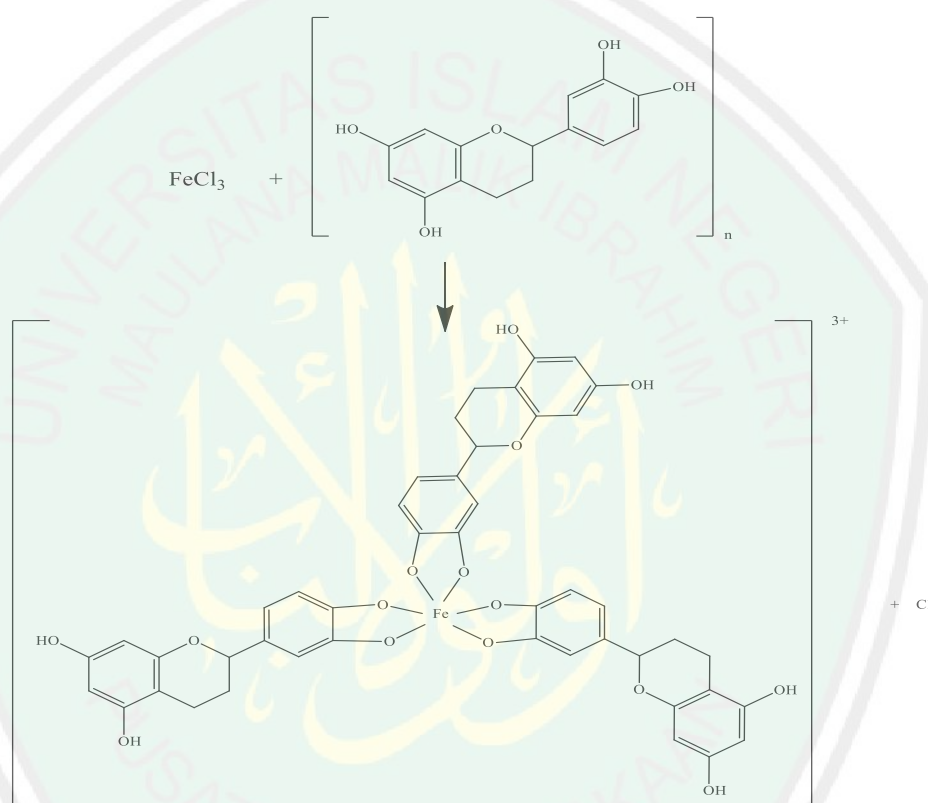
Adapun pelarut yang digunakan untuk mengekstrak tanaman rumput bambu pada penelitian ini yakni etanol 80%, *n*-heksana, dan kloroform. Pelarut tersebut memiliki kepolaran yang berbeda sehingga senyawa metabolit sekunder akan terekstraksi secara keseluruhan berdasarkan tingkat kepolarannya. Menurut Guenther (1987), pelarut-pelarut tersebut mudah diuapkan tanpa menggunakan suhu tinggi, titik didihnya rendah, harga cukup terjangkau, tidak bereaksi dengan komponen ekstrak (*inert*), dan bisa melarutkan senyawa yang sesuai dengan cukup cepat.

2.3 Sel Kanker Payudara T47D

Sel kanker yang digunakan pada penelitian ini yakni sel kanker payudara T47D. Sel kanker payudara T47D merupakan sel kanker yang diambil dari jaringan payudara seorang wanita remaja maupun dewasa yang mengalami *ductal carcinoma in situ* (DCIS). DCIS merupakan keadaan dimana seseorang mengalami terbentuknya sel kanker dalam sel tubuhnya akan tetapi belum menyebar. Kelebihan pengujian aktivitas antikanker terhadap kanker payudara T47D yakni sel kultur memiliki kemampuan replikasi yang baik, penanganannya lebih mudah, homogenitas atau keseragaman sel tinggi, dan mudah diganti dengan *frozen stock* apabila terjadi kontaminasi (Burdall, dkk. 2003).

2.4 Uji Fitokimia Senyawa Aktif

Uji fitokimia merupakan pengujian untuk mendeteksi adanya kandungan senyawa metabolit sekunder di dalam tumbuhan. Tumbuhan pada umumnya mengandung senyawa aktif dalam bentuk metabolit sekunder seperti flavonoid, tanin, alkaloid, triterpenoid, steroid dan saponin (Lenny, 2006).

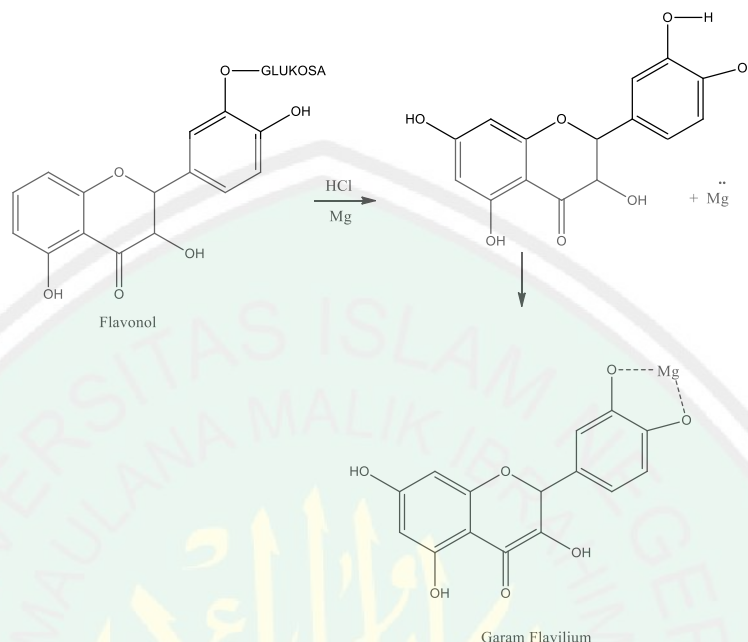


Gambar 2.2 Reaksi senyawa tanin dengan pereaksi FeCl_3 (Harborne, 1987)

2.4.1 Senyawa Tanin

Tanin merupakan senyawa aktif golongan fenol yang memiliki struktur terpolimerisasi (Stankovic, 2012). Robinson (1995) mengatakan bahwa reagen FeCl_3 telah luas digunakan untuk mengidentifikasi senyawa tanin. Harborne (1989) juga menjelaskan bahwa cara untuk mendeteksi senyawa tanin, yaitu dengan menambahkan larutan FeCl_3 1% pada masing-masing ekstrak. Senyawa

tanin ditandai dengan terbentuknya warna hijau kehitaman. Adapun reaksi yang terbentuk tercantum pada Gambar 2.2.



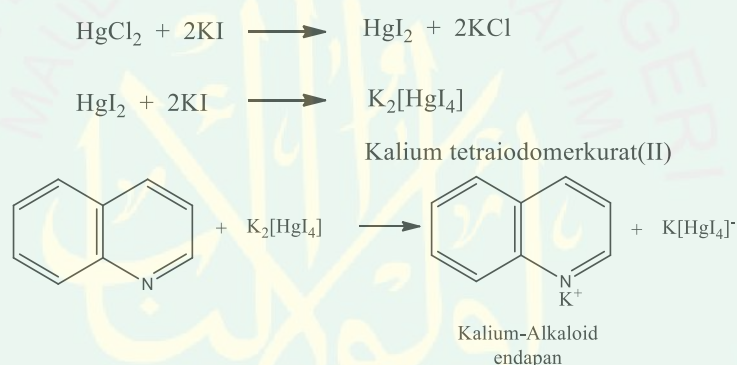
Gambar 2.3 Reaksi senyawa flavonoid dengan HCl dan Mg (Fauzia, 2008)

2.4.2 Senyawa Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa golongan fenol yang bersifat polar dan memiliki banyak gugus O-H. Adanya gugus hidroksil dapat mempermudah terbentuk ikatan hidrogen dengan etanol, sehingga senyawa mudah larut dalam etanol (Harborne, 1987). Identifikasi senyawa flavonoid dapat dilakukan dengan metode Wilstater (Dermawan, 2012). Adanya flavonoid ditandai dengan terbentuknya warna merah tua dan jingga. Harborne (1996) juga menjelaskan bahwa hasil positif terjadinya reaksi oksidasi reduksi antara logam Mg dan flavonoid ditandai terbentuknya buih dengan jumlah yang banyak serta menimbulkan warna jingga. Kemungkinan reaksi yang terjadi tercantum pada Gambar 2.3.

2.4.3 Senyawa Alkaloid

Alkaloid adalah suatu golongan senyawa metabolit sekunder yang mengandung paling sedikit satu atom nitrogen. Atom nitrogen ini merupakan bagian dari cincin heterosiklik pada struktur alkaloid (Lenny, 2006). Alkaloid bisa dideteksi menggunakan pereaksi Dragendoff (kalium tetraiodobismutat) dan pereaksi Mayer. Hasil positif alkaloid pada uji Dragendorff (kalium tetraiodobismutat) ditandai dengan terbentuknya endapan cokelat muda sampai kuning. Hasil positif pada uji Mayer ditandai dengan terbentuknya endapan putih (Nair, dkk. 2013). Perkiraan reaksi senyawa alkaloid yakni pada Gambar 2.4.



Gambar 2.4 Reaksi uji Mayer (Svehla, 1985)

2.4.4 Senyawa Triterpeoid

Triterpenoid adalah senyawa dengan kerangka karbon yang disusun dari 6 unit isoprena. Sebagian besar senyawa tersebut merupakan suatu alkohol, aldehid atau asam karboksilat (Sirait, 2007). Triterpenoid dapat dideteksi dengan pereaksi Lieberman-Burchard. Adanya senyawa triterpenoid ditandai dengan perubahan warna menjadi merah atau cokelat (Harborne, 1996).

2.4.5 Senyawa Steroid

Steroid adalah golongan senyawa yang memiliki sebuah cincin siklopentana dan 3 cincin sikloheksana yang terikat pada inti siklopentana perhidrofenantren (Harborne, 1996). Reagen yang digunakan untuk mendeteksi adanya senyawa steroid adalah Lieberman-Buchard (Robinson, 1995). Sampel ekstrak ditambahkan asam asetat glasial dan H_2SO_4 pekat. Selanjutnya, larutan dikocok secara perlahan. Adanya senyawa steroid ditunjukkan dengan terbentuknya warna biru, ungu atau hijau (Harborne, 1996).

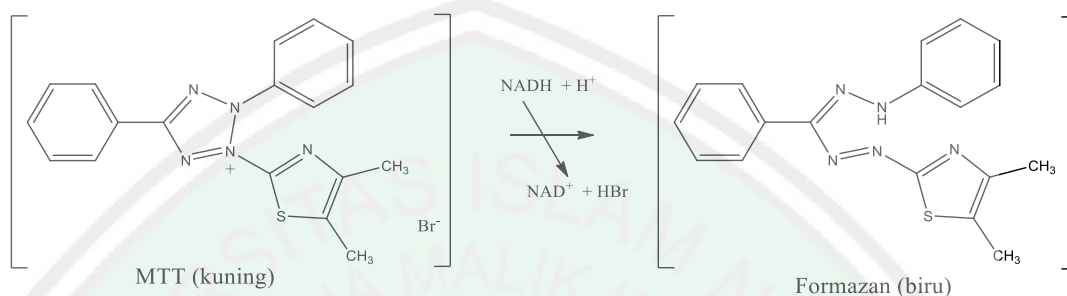
2.4.6 Senyawa Saponin

Saponin merupakan senyawa glikosida kompleks yang memiliki kelompok gula pada posisi C_3 . Senyawa saponin memiliki dua rantai gula yang menempel pada posisi C_3 dan C_7 (Vincken, dkk. 2007). Uji fitokimia senyawa saponin dapat dilakukan dengan uji forth, yakni dengan cara penambahan air panas dan HCl 1 N, larutan dikocok secara kuat dan didiamkan selama 10 menit. Sampel positif mengandung saponin bila terdapat buih dengan intensitas yang banyak dan konsisten (Harborne, 1996).

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

Metode MTT adalah suatu metode yang digunakan untuk menganalisa tingkat toksisitas suatu sampel terhadap aktivitas antikanker. Prinsip metode MTT melibatkan reaksi reduksi seluler pada perubahan garam tetrazolium [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5 diphenyltetrazolium bromide] (MTT) berwarna kuning menjadi kristal formazan berwarna biru keunguan (Mosman, 1983; Chapdelaine, 2001). Padmi (2008) menjelaskan bahwa, MTT diserap oleh sel hidup dan

dipecah melalui reaksi reduksi oleh enzim suksinat dehidrogenase dalam rantai respirasi mitokondria sehingga terbentuk formazan yang memberikan warna biru. Menurut Mosman (1983), reaksi dalam sel melibatkan reaksi enzimatik dengan NADH. Reaksi reduksi MTT dapat dilihat pada Gambar 2.5.



Gambar 2.5 Reaksi reduksi MTT menjadi formazan (Wyllie, dkk. 1980).

Beberapa penelitian telah menggunakan metode MTT untuk mengetahui aktivitas antikanker dari suatu senyawa. Intensitas warna yang dihasilkan digunakan sebagai analisis jumlah kematian sel, semakin pekat warnanya maka semakin banyak jumlah sel hidup yang bereaksi dengan MTT.

Konsentrasi formazan ditentukan secara spektrofotometri visibel menggunakan ELISA reader. Hasil yang diperoleh berbanding lurus dengan jumlah sel hidup. Reaksi reduksi oksidasi hanya terjadi pada sel kanker yang masih hidup. Kelebihan uji antikanker dengan metode MTT yakni pengujiannya tidak membutuhkan waktu yang lama, akurat, sensitif, dan hasilnya bisa memprediksi sifat sitotoksik suatu bahan, serta bisa digunakan untuk menguji sampel dalam jumlah besar.

2.6 Penentuan Nilai IC₅₀ menggunakan ELISA Reader

Aktivitas antikanker hasil ekstrak tanaman rumput bambu terhadap kanker payudara T47D dapat ditentukan nilai IC₅₀ (konsentrasi yang dapat menghambat sel kanker payudara sebesar 50%) dengan instrumen *Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) reader*. Menurut Asensio, dkk. (2008), ELISA *reader* merupakan suatu metode pengukuran yang melibatkan suatu reaksi antara antigen (Ag) berupa partikel virus, sel bakteri, jamur, maupun sel kanker dengan antibodi (Ab) berupa senyawa yang berasal dari sampel uji yang menghasilkan perubahan warna. Perubahan warna terbentuk akibat hidrolisis enzimatis pada reaksi yang terjadi saat pengujian antikanker dengan metode MTT, sehingga hasil pengukuran dengan ELISA lebih peka dan dapat dikuantifikasi (Converse dan Martin, 1990).

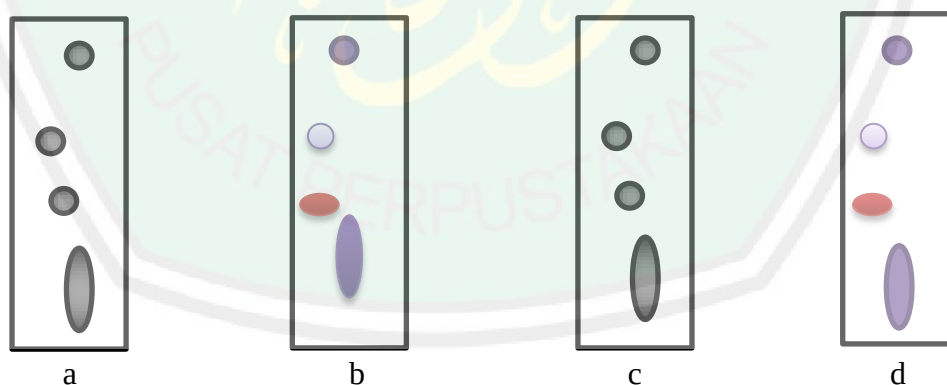
Prinsip dasar pengukuran ELISA *reader* yakni interaksi radiasi elektromagnetik dengan materi berupa senyawa berwarna. Absorbansi hasil pengukuran pada sampel berbanding lurus dengan banyaknya jumlah sel hidup (Crowther, 2001). Warna yang terlihat dari larutan adalah ungu kebiruan, sinar tampak akan menyerap warna kuning sehingga pengukuran dilakukan pada panjang gelombang 595 nm (Effendy, 2007). Keuntungan yang diperoleh dari teknik analisis menggunakan ELISA *reader* ini antara lain pengujiannya sangat sensitif dan spesifik. Selain itu, proses analisisnya cepat baik pada sampel tunggal maupun banyak (Iromo dan Farizah, 2014).

2.7 Pemisahan Senyawa Tanin menggunakan KLTP

Kromatografi Lapis Tipis Preparatif (KLTP) merupakan metode pemisahan senyawa kimia berdasarkan prinsip adsorpsi dan partisi yang

ditentukan oleh fase diam (adsorben) dan fase gerak (eluen). Komponen kimia bergerak naik mengikuti fase gerak. Daya serap adsorben terhadap senyawa-senyawa kimia tidak sama, sehingga jarak antar senyawa berbeda berdasarkan tingkat kepolarannya (Stahl, 2013). Fasa diam pada analisis KLT yakni plat KLT berupa plat silika gel F₂₅₄, sedangkan fasa geraknya berupa eluen yang berada dalam bejana pengembang.

Pada penelitian ini, hasil pengujian antikanker terbaik akan dianalisis keberadaan senyawa tanin dengan menggunakan KLTP. Beberapa penelitian menunjukkan adanya eluen terbaik untuk mendeteksi senyawa tanin, diantaranya adalah penelitian Hayati, dkk. (2010); Sari, dkk. (2015); Firdaus (2016), variasi eluen *n*-butanol: asam asetat: air dengan perbandingan 4: 1: 5 merupakan eluen yang mampu memberikan pemisahan terbaik dibandingkan dengan variasi lainnya. Adapun hasil pemisahan plat KLTA pada penelitian terdahulu ditampilkan pada Gambar 2.6 dan dirangkum pada Tabel 2.1.



Gambar 2.6 Hasil KLTA senyawa tanin dengan eluen *n*-butanol: asam asetat: air (4: 1: 5) (Firdaus, 2016): (a) Hasil pengamatan di bawah sinar UV pada λ 254 nm sebelum disemprot reagen FeCl₃, (b) Hasil pengamatan di bawah sinar UV pada λ 366 nm sebelum disemprot reagen FeCl₃, (c) Hasil pengamatan di bawah sinar UV pada λ 254 nm setelah disemprot reagen FeCl₃, (d) Hasil pengamatan di bawah sinar UV pada λ 366 nm setelah disemprot reagen FeCl₃.

Tabel 2.1 Hasil KLTA senyawa tanin tanaman rumput bambu eluen *n*-butanol: asam asetat: air (4: 1: 5) (Firdaus, 2016).

R_f Noda	Noda UV λ 254 nm		Noda UV λ 366 nm		Positif Tanin
	X	Y	X	y	
0,31	-	-	Ungu	Ungu pudar	Tanin
0,75	Hitam	Hitam	Merah	Merah Kehitaman	-
0,83	Hitam	Hitam	Ungu	Ungu Pudar	Tanin
0,89	Hitam	Hitam	Ungu	Ungu	Tanin

Keterangan: x: sebelum disemprot FeCl_3 ; y: setelah disemprot FeCl_3
 R_f : jarak tempuh

2.8 Karakterisasi menggunakan Spektrofotometri IR

FTIR merupakan alat untuk mendeteksi gugus fungsional suatu senyawa. Prinsip kerjanya yakni interaksi sinar inframerah dengan gugus fungsi suatu senyawa yang diuji. Pola absorbansi yang diserap oleh setiap senyawa berbeda-beda (Sankari, 2010).

Identifikasi isolat tanin menggunakan FTIR dilakukan pada bilangan gelombang 4000-400 cm^{-1} . Spektra ikatan khas yang dimiliki senyawa terdapat dalam rentang yang disebut dengan daerah “sidik jari”. Spektra IR suatu sampel dapat diketahui melalui letak pita serapan yang dikaitkan dengan adanya suatu gugus fungsional tertentu (Day dan Underwood, 1999). Adapun tabel hasil identifikasi FTIR isolat tanin pada penelitian terdahulu dirangkum pada Tabel 2.2.

Tabel 2.2 Spektrum IR isolat tanin tanaman rumput bambu fraksi *n*-heksana (Istiqomah, 2015).

Vibrasi	Bilangan Gelombang (cm^{-1})	Standar Kisaran Pita (cm^{-1})
O-H alkohol	3482	3500-2500
C-H alifatik	2926 dan 2895	2920
C-H metil	1458 dan 1384	1444
C=C alkena	1649	1675-1500

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada tahun 2019 di Laboratorium Anorganik, Laboratorium Organik, Laboratorium Riset Analitik Jurusan Kimia Fakultas Saintek UIN 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 penelitian yang digunakan pada penelitian ini meliputi alu dan mortar, bejana pengembang, *blender*, bola hisap, corong Buchner, desikator, kertas saring, lemari asam dan pipa kapiler. Selain itu juga digunakan neraca analitik, oven, pisau, tabung reaksi, rak tabung reaksi, spatula, seperangkat alat gelas, *vacuum rotary evaporator* dan ekstraktor ultrasonik serta inkubator.

3.2.3 Bahan Penelitian

Tanaman rumput bambu yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Kota Batu. Bahan-bahan kimia yang digunakan meliputi akuades, etanol 80%, *n*-heksana, kloroform, trispsin-EDTA, dimetil sulfoksida (DMSO), *Phosphat Buffered Saline* (PBS). Selain itu juga digunakan larutan MTT, media *Rosewell Park Memorial Institute* (RPMI), SDS 10%, 0,1 N HCl, Mg, HCl pekat, HCl 2%, reagen Dragendroff, reagen Mayer, FeCl₃ 1%, HCl 1 N, *n*-butanol, H₂SO₄, CH₃COOH, 5% CO₂.

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian diawali dengan melakukan ekstraksi ultrasonik senyawa aktif tanaman rumput bambu dengan pelarut etanol 80%, *n*-heksana, dan kloroform. Kemudian, ekstrak dipekatkan dengan *vacuum rotary evaporator*. Selanjutnya dilakukan identifikasi senyawa aktif dengan penambahan reagen.

Langkah berikutnya yakni uji aktivitas antikanker hasil ketiga ekstrak terhadap sel kanker payudara T47D menggunakan metode MTT secara *in-vitro*. Nilai IC₅₀ terbaik dari ketiga sampel uji dilakukan pemisahan senyawa tanin dengan KLTP. Isolat tanin hasil KLTP diidentifikasi menggunakan spektrofotometri FTIR.

3.4 Tahapan Penelitian

Tahapan-tahapan pada penelitian ini meliputi:

- a). Preparasi sampel
- b). Ekstraksi metode ultrasonik dengan pelarut etanol 80%, kloroform, dan *n*-heksana.
- c). Uji fitokimia kandungan senyawa aktif dengan penambahan reagen
- d). Uji aktivitas antikanker payudara T47D secara *in vitro* dengan metode MTT
- e). Pemisahan golongan senyawa tanin hasil uji antikanker terbaik dengan dengan KLTP
- f). Karakterisasi isolat tanin hasil pemisahan KLTP dengan FTIR

3.5 Pelaksanaan Penelitian

3.5.1 Preparasi Sampel

Tanaman rumput bambu dicuci bersih dengan air mengalir dan dipotong kecil-kecil. Sampel dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Sampel yang

sudah kering dihaluskan menggunakan *blender*, serbuk halus diseragamkan ukurannya menggunakan ayakan 60 *mesh*. Serbuk hasil ayakan digunakan sebagai sampel penelitian.

3.5.2 Ekstraksi Senyawa Aktif

Sampel yang telah dipreparasi diekstraksi menggunakan ekstraksi ultrasonik. Serbuk tanaman rumput bambu dimasukkan ke dalam 3 erlenmeyer 250 mL masing-masing sebanyak 10 gr. Kemudian, ditambahkan 100 mL etanol 80% ke dalam erlenmeyer pertama, 100 mL *n*-heksana ke dalam erlenmeyer kedua, dan 100 mL kloroform ke dalam erlenmeyer ketiga. Selanjutnya, sampel diekstraksi menggunakan ekstraksi ultrasonik pada suhu 25 °C dengan frekuensi 42 kHz selama 20 menit. Hasil ekstrak disaring dengan corong Buchner, kemudian dipekatkan menggunakan *vacuum rotary evaporator* pada suhu 40 °C. Ekstrak pekat ditimbang serta dihitung rendemennya menggunakan Persamaan 3.1 (A'ilah, 2015; Erviani dan Arif, 2017; Hasrini, dkk. 2017).

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

3.5.3 Uji Fitokimia dengan Uji Reagen

Uji fitokimia dilakukan pada ketiga ekstrak. Ekstrak pekat dilarutkan dengan sedikit masing-masing pelarutnya, kemudian dilakukan uji alkaloid, flavonoid, saponin, triterpenoid, steroid dan tanin menggunakan reagen yang sesuai.

3.5.3.1 Uji Tanin

Larutan ekstrak pekat tanaman rumput bambu 10000 ppm pada masing-masing pelarut diambil sebanyak 0,5 mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi.

Kemudian, ditambahkan 2-3 tetes larutan FeCl_3 1% ke dalamnya. Jika larutan menghasilkan warna hijau kehitaman atau biru tua, maka ekstrak tersebut mengandung tanin (Robinson, 1995; Sa'adah, 2010).

3.5.3.2 Uji Alkaloid

Larutan ekstrak pekat 10000 ppm sebanyak 0,5 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian, larutan HCl 2% ditambahkan sebanyak 0,5 mL dan larutan dibagi dua. Tabung pertama ditambahkan 2-3 tetes reagen Dragendroff, tabung kedua ditambahkan dengan 2-3 tetes reagen Mayer. Adanya senyawa alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan berwarna merah bata, merah, jingga (dengan reagen Dragendroff) dan endapan putih atau kekuning-kuningan (dengan reagen Mayer) (Nair, dkk. 2013).

3.5.3.3 Uji Flavonoid

Larutan ekstrak pekat tanaman rumput bambu 10000 ppm pada masing-masing pelarut dimasukkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 0,5 mL. Sampel dilarutkan dengan 1-2 mL metanol 50% hangat, setelah itu ditambah logam Mg dan 4-5 tetes HCl pekat. Adanya flavonoid dalam sampel ditandai dengan perubahan warna merah atau jingga (Harborne, 1996; Fauzia, 2018).

3.5.3.4 Uji Saponin

Larutan ekstrak pekat tanaman rumput bambu 10000 ppm pada masing-masing pelarut dimasukkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 0,5 mL. Kemudian, sampel ditambah air (1:1) sambil dikocok secara perlahan selama 1 menit, jika menghasilkan busa maka sampel ditambahkan HCl 1 N. Apabila busa yang

terbentuk dapat bertahan selama 10 menit dengan ketinggian 1-3 cm, maka ekstrak positif mengandung saponin. (Rusdi, 1990; Huliselan, dkk. 2015).

3.5.3.5 Uji Triterpenoid dan Steroid

Larutan ekstrak pekat tanaman rumput bambu 10000 ppm diambil sebanyak 0,5 mL dan dimasukkan dalam tabung reaksi. Kemudian sampel ditambahkan kloroform dan asam asetat anhidrat sebanyak 0,5 mL secara bergantian. Selanjutnya 1-2 mL H_2SO_4 pekat ditambahkan melalui dinding tabung reaksi. Ekstrak menunjukkan adanya triterpenoid jika terbentuk cincin violet atau kecoklatan diantara dua pelarut, sedangkan apabila hasil yang diperoleh berupa warna hijau kebiruan maka ekstrak tersebut mengandung senyawa steroid (Huliselan, dkk. 2015).

3.5.4 Uji Aktivitas Antikanker dengan Metode MTT

3.5.4.1 Penyiapan Sel

Sel kanker payudara T47D berasal dari koleksi Universitas Gadjah Mada (UGM). Sel kanker yang baru dikeluarkan dari *freezer* ($-80\text{ }^{\circ}\text{C}$) dihangatkan pada menggunakan penangas air dengan suhu $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ selama 2-3 menit. Jika sudah mencair, sel langsung dipindahkan ke dalam *culture dish* yang sudah berisi 10 mL media *Rosewell Park Memorial Institute* (RPMI). Selanjutnya, sel kanker diinkubasi selama 3-4 jam pada suhu $37\text{ }^{\circ}\text{C}/5\%\text{ CO}_2$.

Setelah itu, sel kanker dikeluarkan dari inkubator dan disentrifugasi untuk memisahkan sel dengan media RPMI. Hasil sentrifugasi berupa pelet diamati di bawah mikroskop untuk melihat apakah sel melekat di dasar *culture dish*. Apabila jumlah sel di dalam *culture dish* mencapai 70-85% (konfluen), maka sel bisa dipanen (CCRC, 2009).

Pada tahapan panen sel, media kultur dibuang terlebih dahulu. Selanjutnya sel di cuci dengan ± 5 mL *Phosphat Buffered Saline* (PBS) sebanyak 3 kali (pencucian dilakukan secara homogenkan kemudian PBS dibuang). Selanjutnya, sel ditambah dengan tripsin-EDTA secara merata dan diinkubasi selama 3 menit. Media RPMI 5 mL ditambah ke dalam sel untuk menginaktifkan sel serta dilakukan resuspensi, diamati di bawah mikroskop *inverted*, kemudian diinkubasi dalam inkubator CO₂ selama 24 jam (CCRC, 2009).

3.5.4.2 Perhitungan Sel Kanker

Panen sel kanker diambil sebanyak 10 μ L dan dimasukkan ke dalam *hemacytometer*. Sel kanker diamati di bawah mikroskop *inverted* dan dihitung menggunakan *counter*. Jumlah sel kanker dapat diketahui melalui perhitungan menggunakan Persamaan 3.2.

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

3.5.4.3 Peletakan Sel pada Plate

Banyaknya jumlah panen sel yang akan diletakkan ke dalam setiap sumuran dihitung terlebih dahulu menggunakan Persamaan 3.3. Sel kanker yang sudah dihitung diletakkan ke dalam *plate 96-well* dan ditambahkan media RPMI, serta disisakan 12 sumuran bagian bawah untuk digunakan sebagai kontrol pelarut, kontrol sel dan kontrol media. Selanjutnya, sel kanker tersebut diinkubasi selama 24 jam dalam inkubator CO₂.

$$\text{Jumlah Panenan sel yang di transfer} = \frac{\Sigma \text{total sel yang diperlukan}}{\Sigma \text{sel yang terhitung /mL}} \dots \dots \dots (3.3)$$

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

Sampel ekstrak tanaman rumput bambu diambil sebanyak 10 mg dan dimasukkan ke dalam wadah yang berbeda. Kemudian, masing-masing sampel dilarutkan dengan dimetil sulfoksida (DMSO) sebanyak 100 μ L dan diaduk dengan *vortex* agar lebih cepat dalam melarutkan sampel. Sel diambil dari inkubator kemudian media sel dibuang dengan cara membalikkan *plate* 180° di atas tempat pembuangan dan ditekan secara perlahan di atas tisu untuk meniriskan sisa cairan. Kemudian, semua sumuran yang terisi sel dicuci dengan 100 μ L PBS dan dibuang kembali secara perlahan. Selanjutnya larutan sampel dengan konsentrasi 1000; 500; 250; 125; dan 62,5 μ g/mL dimasukkan ke dalam sumuran dan dilakukan pengulangan pada masing-masing konsentrasi sebanyak 3 kali, kemudian diinkubasi selama 24 jam.

3.5.4.5 Pemberian Larutan MTT

Media sel pada *plate* dibuang dan dicuci menggunakan PBS. Larutan MTT sebanyak 100 μ L ditambahkan ke setiap sumuran kecuali sumuran kontrol sel. Selanjutnya diinkubasi kembali selama 3-4 jam di dalam inkubator (sampai terbentuk formazan). Apabila formazan telah terbentuk diamati kondisi sel dengan mikroskop *inverted*, kemudian tambahkan SDS 10%, *plate* dibungkus aluminium foil dan diinkubasi kembali di tempat gelap pada suhu ruang semalaman.

Setelah itu, absorbansi diukur dengan ELISA *reader* untuk mengetahui nilai IC₅₀ sampel. Tahapan awal pengukuran yakni dihidupkan ELISA *reader* dan ditunggu hingga *progressing* selesai. Penutup *plate* dibuka kemudian dimasukkan ke dalam ELISA *reader*, pengukuran absorbansi masing-masing sumuran

dilakukan pada panjang gelombang 595 nm. Setelah analisa selesai, ELISA reader kembali dimatikan. Selanjutnya, persentase sel hidup dihitung dengan Persamaan 3.4. Hasil persentase sel hidup kemudian dianalisis untuk mengetahui nilai IC_{50} dengan *microsoft excel*.

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

dengan A adalah absorbansi perlakuan dimana sumuran berisi sel kanker, media kultur, dan sampel. B adalah absorbansi kontrol media (media kultur). C adalah absorbansi kontrol negatif dimana sumuran berisi sel kanker dan media kultur.

3.5.4.6 Analisis Data

Potensi ekstrak tanaman rumput bambu dalam menghambat sel kanker payudara T47D diketahui berdasarkan nilai IC_{50} . Penggunaan data absorbansi yang diperoleh dari pengukuran masing-masing konsentrasi (1000; 500; 250; 125; dan 62,5µg/mL) dapat ditentukan angka persentase sel hidup dengan menggunakan Persamaan 3.4.

Data yang diperoleh dibuat dalam bentuk tabel. Data yang dimasukkan merupakan data hubungan antara konsentrasi dengan persentase sel hidup dengan nilai maksimum sebesar 100%. Selanjutnya, dilakukan analisa regresi menggunakan *microsoft excel* yang akan memberikan hasil IC_{50} tiap ekstrak dan grafik.

3.5.5 Identifikasi Senyawa Tanin

3.5.5.1 Pemisahan Senyawa Tanin menggunakan KLT Preparatif

Pemisahan senyawa tanin pada ekstrak terbaik uji antikanker dilakukan dengan metode KLTP dilakukan dengan beberapa persiapan diantaranya:

a). Persiapan Plat KLTP

Plat KLTP yang digunakan adalah plat silika $G_{60}F_{254}$ sebagai dengan ukuran 10 x 20 cm sebagai fasa diamnya. Selanjutnya, diberi penanda garis pada tepi bawah plat dengan jarak 1 cm sebagai posisi penotolan sampel, dan 1 cm pada bagian tepi atas sebagai batas dari proses elusi. Sebelum digunakan, plat silika diaktivasi pada suhu 100 °C selama 10 menit dengan menggunakan oven.

b). Persiapan Fase Gerak (Eluen)

Eluen terbaik yang digunakan sebagai fasa gerak dalam pemisahan senyawa tanin yakni *n*-butanol: asam asetat: air (4: 1: 5) (Hayati, dkk. 2010; Sari, dkk. 2015; Firdaus, 2016). Eluen dimasukkan ke dalam bejana dan dijenuhkan terlebih dahulu selama 24 jam untuk mempermudah proses elusi.

c). Penotolan Sampel

Sampel ekstrak dibuat pada konsentrasi 15000 ppm. Kemudian, sampel ditotolkan pada plat KLTP dengan jarak 1 cm dari tepi bawah plat. Penotolan pada spot yang sama dilakukan sebanyak 10 kali penotolan dengan pipa kapiler, setiap totolan dilakukan pengeringan menggunakan *hair dryer* (Hayati, dkk. 2010).

d). Proses Elusi

Ekstrak yang telah ditotolkan pada plat KLTP kemudian dielusi dengan fasa gerak. Plat KLT preparatif dimasukkan dalam *chamber* yang berisis fasa gerak yang telah dijenuhkan, kemudian *chamber* ditutup hingga larutan pengembang (eluen) mencapai batas garis tepi atas pada plat. Selanjutnya plat KLTP diangkat dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan (Hayati, dkk. 2010).

e). Identifikasi Noda

Noda hasil pemisahan KLTP diamati di bawah sinar UV 254 dan 366 nm (Hayati dkk. 2010; Nahari, 2015). Noda yang tampak ditandai dengan pensil, kemudian disemprot dengan reagen FeCl_3 1% , perubahan warna diamati kembali di bawah sinar UV.

Adanya senyawa tanin ditandai dengan terbentuknya warna lembayung setelah penyemprotan reagen FeCl_3 1% (Harborne, 1996; Hayati, dkk. 2010; Umarudin, dkk. 2012; Nahari, 2015). Tahap selanjutnya diamati bentuk masing-masing noda dan diukur jarak tempuhnya, kemudian dihitung nilai Faktor Retensi (R_f) menggunakan Persamaan 3.5 (Soebagio, dkk. 2005).

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh komponen (cm)}}{\text{Jarak yang ditempuh elun (cm)}} \dots\dots\dots(3.5)$$

f). Pengelupasan Noda

Bercak noda senyawa tanin yang dihasilkan dikerok dan dilarutkan dalam etanol p.a. Selanjutnya, larutan disentrifugasi untuk mengendapkan silika. Proses sentrifugasi dilakukan sampai plat silika berwarna putih kemudian keduanya

dipisah. Plat silika dibuang dan pelarut diuapkan dengan didiamkan dalam suhu kamar hingga diperoleh isolat.

3.5.5.2 Uji FTIR Isolat Tanin

Isolat hasil KLTP yang diduga senyawa tanin diidentifikasi dengan menggunakan spektrofotometer FTIR. Pelet KBr sebanyak 0,2 gr ditambahkan dengan isolat tanin, kemudian diidentifikasi dengan spektrofotometer FTIR dengan panjang gelombang $4000-400\text{ cm}^{-1}$.



BAB IV

PEMBAHASAN

4.1 Preparasi Sampel

Preparasi sampel merupakan tahapan awal sebelum dilakukan proses ekstraksi. Preparasi sampel yang meliputi proses pencucian, pengeringan, dan penghalusan. Sampel dicuci untuk menghilangkan pengotor berupa tanah ataupun sampah-sampah yang menempel pada permukaan tanaman rumput bambu. Setelah pencucian, tanaman rumput bambu dikeringkan pada suhu ruang. Sampel yang sudah kering dihaluskan menggunakan *blender*, kemudian ukuran sampel diseragamkan menggunakan ayakan 60 *mesh*.

4.2 Ekstraksi Senyawa Aktif Tanaman Rumput Bambu dengan Ultrasonik

Tanaman rumput bambu sebanyak 10 gram diekstraksi dalam 100 mL pelarut. Ekstraksi ultrasonik dilakukan selama 20 menit pada suhu 25 °C dengan frekuensi 42 kHz. Hasil ekstrak dari tanaman rumput bambu ditunjukkan pada Tabel 4.1 dengan perhitungan rendemen berat ekstrak pekat pada Lampiran 4.

Tabel 4.1 Hasil ekstraksi ultrasonik tanaman rumput bambu

Pelarut	Perubahan warna		Berat ekstrak pekat (g)	Rendemen (%) (b/b)
	Filtrat	Ekstrak pekat		
Etanol 80%	Hijau kehitaman	Hijau kehitaman	0,38	3,8%
Kloroform	Hijau kehitaman	Hijau kehitaman	0,42	4,2%
<i>n</i> -Heksana	Kuning bening	Hijau kecoklatan	0,14	1,4%

Berdasarkan data pada Tabel 4.1, rendemen yang dihasilkan dari masing-masing pelarut berbeda-beda. Pelarut kloroform memiliki rendemen paling tinggi

yakni sebesar 4,2%, sedangkan pelarut *n*-heksana memiliki rendemen terendah yakni 1,4%.

Salah satu faktor yang mempengaruhi rendemen adalah sifat kepolaran pelarut. Kloroform memiliki sifat nonpolar, hal ini menunjukkan bahwa sebagian besar senyawa yang terdapat pada tanaman rumput bambu memiliki kepolaran yang sama dengan kloroform, sehingga kloroform mampu mengekstrak lebih banyak komponen dibanding pelarut yang lain. Pelarut *n*-heksana memiliki rendemen yang paling rendah, hal ini dikarenakan senyawa yang berada pada tanaman rumput bambu tidak memiliki kepolaran yang sama dengan *n*-heksana, sehingga hasil ekstraknya paling rendah.

Selain itu, faktor yang dapat mempengaruhi perbedaan rendemen dan jenis komponen yang diekstrak pada masing-masing pelarut yakni waktu ekstraksi. Pada penelitian ini waktu ekstraksi yang digunakan yakni selama 20 menit. Waktu ekstraksi menentukan seberapa lama kontak yang terjadi antara bahan dan pelarut. Waktu ekstraksi yang terlalu singkat akan menyebabkan komponen bioaktif yang terekstrak dari bahan tidak maksimal. Hal tersebut dikarenakan pori-pori dinding sel tidak mengalami pembengkakan yang maksimal sehingga proses difusi tidak berlangsung secara optimal. Akan tetapi, waktu ekstraksi yang terlalu lama dan melebihi batas optimum juga bisa menyebabkan rusaknya senyawa. Kelarutan bahan akan terus meningkat seiring lamanya waktu ekstraksi sampai pelarut mengalami kejenuhan. Selama ekstraksi tidak dihentikan, energi yang dihasilkan dari ekstraksi ultrasonik akan merusak senyawa pada larutan sehingga komponen yang diperoleh rendah.

Faktor lain yang mempengaruhi jumlah dan jenis komponen yang terekstrak yakni frekuensi. Kemampuan ultrasonik menghasilkan gelembung kavitasi bergantung pada frekuensi ultrasonik. Menurut Wang, dkk. (2016), meningkatnya frekuensi akan memperkecil tekanan minimum sehingga diperlukan energi yang lebih besar untuk pembentukan kavitasi dalam sistem dan menyebabkan produksi gelembung kavitasi menurun. Penggunaan frekuensi yang terlalu tinggi, menyebabkan waktu yang dibutuhkan untuk pembentukan gelembung kavitasi hingga ukuran yang cukup terlalu singkat. Hal tersebut mempengaruhi proses difusi dan menyebabkan senyawa tidak terekstrak dengan maksimal.

Penelitian pada tanaman yang sama juga telah dilakukan dengan metode ekstraksi yang berbeda yakni ekstraksi maserasi, salah satunya oleh Wulandari (2017). Pada penelitian tersebut, 200 gr tanaman rumput bambu diekstraksi dalam 800 mL pelarut etanol 80% selama 24 jam dan diperoleh rendemen sebesar 10,79%, sedangkan pada penelitian ini, rendemen yang dihasilkan oleh 10 gram sampel dalam 100 mL etanol 80% selama 20 menit yakni sebesar 3,4%. Apabila dibandingkan hasil keduanya dari jumlah sampel, jumlah pelarut, dan lamanya waktu ekstraksi. Metode ekstraksi ultrasonik mampu memberikan hasil yang lebih baik daripada ekstraksi maserasi. Metode ekstraksi ultrasonik memberikan efisiensi lebih besar dibanding metode maserasi, dimana sampel dan pelarut yang digunakan lebih hemat, laju difusi ekstraksi lebih cepat sehingga waktu ekstraksi lebih singkat.

4.3 Uji Fitokimia Ekstrak Rumput Bambu dengan Reagen

Uji fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa yang berada di dalam tanaman rumput bambu. Sejumlah reagen yang sesuai ditambahkan pada masing-masing ekstrak kasar tanaman rumput bambu. Hasil identifikasi kandungan senyawa aktif yang terdapat pada ekstrak tanaman rumput bambu ditunjukkan dalam Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Hasil uji kandungan senyawa aktif ekstrak etanol 80%, kloroform, dan *n*-heksana tanaman rumput bambu.

Golongan senyawa aktif	Etanol 80%	Kloroform	<i>n</i> -Heksana	Keterangan hasil positif
Alkaloid				
(Mayer)	-	-	-	-
(Dragendorf)	-	-	-	-
Flavonoid	+	+	-	Jingga
Tanin	+	+	-	Hijau kehitaman
Saponin	-	-	-	-
Triterpenoid	+	+	-	Cincin coklat
Steroid	+	+	+	Hijau kebiruan

Keterangan: + = mengandung senyawa; - = tidak mengandung senyawa

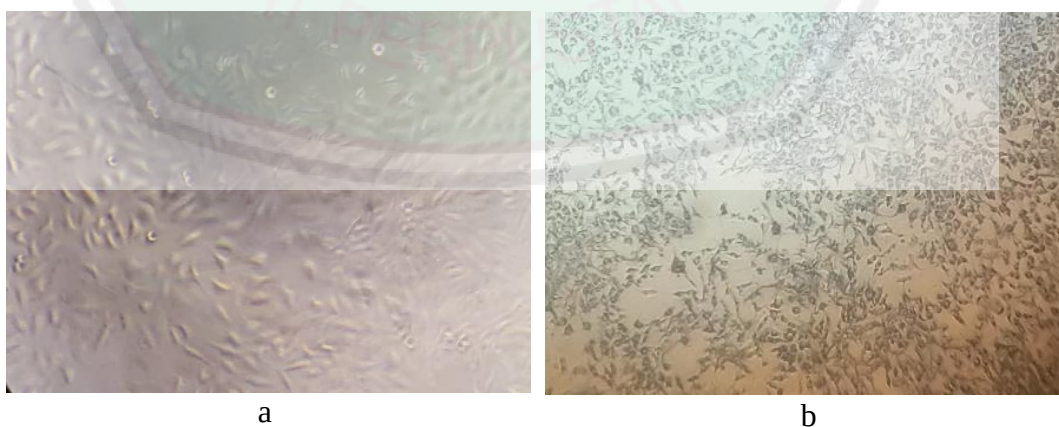
Berdasarkan hasil pengamatan uji fitokimia yang tertera pada Tabel 4.2 didapatkan bahwa ekstrak etanol dan kloroform mengandung senyawa tanin, flavonoid, triterpenoid, dan steroid. Pelarut *n*-heksana mengandung senyawa yang paling sedikit daripada ekstrak etanol 80% dan ekstrak kloroform. Hal ini berkesesuaian dengan hasil rendemen yang tertera pada Tabel 4.1, dimana ekstrak *n*-heksana memiliki rendemen paling rendah yakni sebesar 1,4%. Faktor yang mempengaruhi jenis senyawa yang terekstrak antara lain adalah jenis pelarut, waktu ekstraksi, dan frekuensi ekstraksi.

Adanya variasi senyawa dalam tanaman juga dipengaruhi oleh kondisi umur tanaman, perlakuan selama masa tumbuh, lingkungan tempat tumbuh,

kondisi geografis, iklim, dan cuaca. Faktor-faktor tersebut menyebabkan kandungan senyawa dalam tanaman tidak terjamin selalu sama. Salah satu contoh pada penelitian Wulandari (2017), dimana hasil uji fitokimia pada tanaman rumput bambu dengan etanol 80% mengandung senyawa tanin, dan triterpenoid. Pada penelitian ini, ekstrak etanol 80% mengandung senyawa flavonoid, tanin, triterpenoid, dan steroid.

4.4 Uji Aktivitas Antikanker Ekstrak Tanaman Rumput Bambu

Terdapat beberapa tahapan dalam pengujian aktivitas antikanker diantaranya penyiapan sel kanker, panen sel, uji sitotoksisitas, pemberian reagen MTT, dan pembacaan absorbansi. Pada tahapan uji sitotoksisitas meliputi preparasi sampel dan *treatment* sel. Sampel ekstrak dipreparasi dengan cara dilarutkan menggunakan dimetil sulfoksida (DMSO). Setelah itu dilakukan *treatment* sel, pada tahapan ini sampel yang telah dipreparasi dengan berbagai konsentrasi ditambahkan ke dalam sumuran pada plat. Morfologi sel kanker payudara T47D sebelum dan setelah dilakukan *treatment* ditunjukkan pada Gambar 4.1.



Gambar 4.1 Hasil pengamatan sel kanker payudara T47D dibawah mikroskop *inverted*: (a) Sel kanker sebelum dilakukan *treatment* (b) Sel kanker setelah dilakukan *treatment*.

Berdasarkan Gambar 4.1, sel kanker payudara sebelum dan sesudah *treatment* dapat teramati dengan jelas. Sel kanker sebelum *treatment* berbentuk lonjong, bervolume, dan menempel pada dasar wadah kultur sel, sedangkan sel mati (setelah *treatment*) berbentuk seperti jarum, volume berkurang, dan ukurannya menyusut. Selanjutnya sel kanker hasil *treatment* ditambah dengan reagen MTT, Sel kanker yang masih hidup mampu mengabsorpsi MTT dan mengalami perubahan warna menjadi ungu. Intensitas warna yang dihasilkan ditetapkan absorbansinya menggunakan ELISA reader. Nilai absorbansi yang diperoleh berhubungan persentase sel hidup, semakin besar absorbansi menunjukkan semakin banyak jumlah sel hidup. Adapun persentase sel hidup yang diperoleh ditampilkan pada Tabel 4.3.

Tabel 4.3 Hasil persentase sel hidup uji aktivitas antikanker

Konsentrasi Sampel ($\mu\text{g/mL}$)	Persentase Sel Hidup (%)		
	Etanol 80%	Kloroform	<i>n</i> -Heksana
1000	16,068	12,065	13,184
500	11,300	34,785	45,203
250	49,793	67,157	83,225
125	72,984	75,220	86,462
62,5	80,988	80,929	79,046

Berdasarkan Tabel 4.3 menunjukkan bahwa persentase sel hidup semakin kecil seiring bertambahnya konsentrasi sampel. Konsentrasi sampel yang tinggi mampu membunuh sel kanker lebih banyak dibanding konsentrasi yang lebih rendah. Jika kita amati persentase sel hidup secara keseluruhan dari masing-masing ekstrak. Beberapa hasil tidak sesuai dengan semestinya. Hal ini dimungkinkan terjadi karena adanya kontaminasi seperti masuknya bahan yang tidak diinginkan ke dalam sumuran maupun sampel sehingga mempengaruhi uji aktivitas sel kanker. Adapun hasil IC_{50} tiap sampel ditunjukkan pada Tabel 4.4.

Tabel 4.4 Hasil IC₅₀ uji aktivitas antikanker

Sampel	IC ₅₀ (µg/mL)
Ekstrak etanol 80%	218,081
Ekstrak kloroform	292,412
Ekstrak <i>n</i> -heksana	395,144
Doksorubisin	1,544

Berdasarkan Tabel 4.4, nilai IC₅₀ pada ekstrak etanol 80%, ekstrak kloroform, dan ekstrak *n*-heksana berturut-turut yakni 218,081; 292,412; 395,144 µg/mL. Nilai IC₅₀ adalah konsentrasi yang dapat menghambat pertumbuhan sel sebanyak 50%. Semakin kecil nilainya, semakin baik aktivitas antikankernya. Ekstrak etanol 80% memberikan hasil terbaik, sedangkan ekstrak *n*-heksana memberikan hasil terendah. Apabila diamati berdasarkan hasil uji fitokimia pada Tabel 4.2, terdapat beberapa variasi senyawa yang terkandung pada masing-masing ekstrak. Ekstrak etanol 80% dan ekstrak kloroform mengandung senyawa metabolit sekunder lebih banyak dibandingkan ekstrak *n*-heksana.

Kandungan senyawa dalam sampel tersebut mempengaruhi potensi suatu sampel dalam menghambat sel kanker. Menurut Caesar dan Nadja (2019), banyaknya kandungan dan variasi senyawa yang ada dalam ekstrak, memungkinkan senyawa-senyawa yang ada saling bersinergi, mengantagonis, ataupun berbagai aktivitas yang terjadi sehingga mempengaruhi tingkat ketoksikan dari sampel.

Adanya efek sinergis yang terjadi antar senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak mengakibatkan aktivitas antikanker meningkat, sedangkan adanya efek antagonis yang terjadi antar senyawa menyebabkan penurunan terhadap aktivitas antikanker. Ekstrak *n*-heksana hanya mengandung senyawa steroid, hal ini

dimungkinkan senyawa dalam keadaan tunggal memiliki efek yang lemah dalam menghambat antikanker sehingga hasil IC_{50} yang diperoleh paling besar.

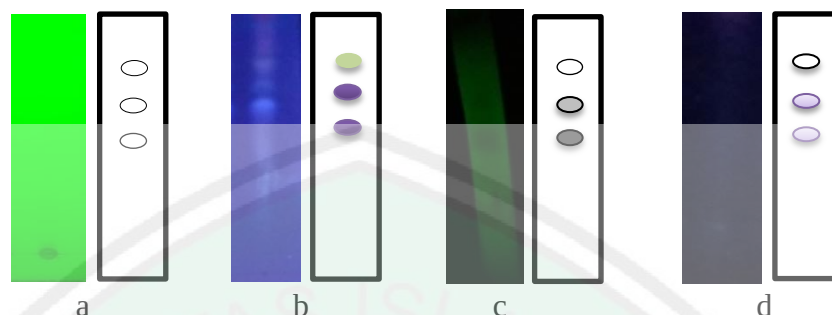
Nilai IC_{50} dari doksorubisin yakni sebesar 1,544 $\mu\text{g/mL}$. Hasil ini berbeda jauh jika dibandingkan dengan IC_{50} pada ketiga ekstrak. Hal ini dikarenakan sampel yang diujikan merupakan ekstrak kasar dari tanaman, sehingga dimungkinkan banyak senyawa lain turut mempengaruhi aktivitas antikanker yang mengakibatkan kemampuan dalam penghambatan pertumbuhan sel kanker lebih lambat. Hal ini didukung oleh penelitian yang telah dilakukan oleh Alsayari, dkk (2018), bahwa isolat senyawa cucurbitacin E pada tanaman *Cucumis prophetarum* var. memiliki hasil yang lebih baik dalam menghambat sel kanker payudara MCF-7 dibanding hasil ekstrak pada fraksi etil asetat. Hasil isolat senyawa cucurbitacin E diperoleh IC_{50} sebesar 7,2 $\mu\text{g/mL}$, sedangkan ekstrak fraksi etil asetat diperoleh IC_{50} sebesar 17,5 $\mu\text{g/mL}$.

Pada penelitian yang telah dilakukan oleh Istiqomah (2015), nilai IC_{50} ekstrak etanol 80% dengan menggunakan metode ekstraksi maserasi sebesar 321,4 $\mu\text{g/mL}$. Apabila dibandingkan pada penelitian ini, dimana metode ekstraksi yang digunakan adalah metode ultrasonik menunjukkan bahwa nilai IC_{50} pada ekstrak etanol 80% memberikan hasil yang lebih baik daripada ekstraksi maserasi.

4.5 Pemisahan Senyawa Tanin dengan Kromatografi Lapis Tipis Preparatif

Pemisahan senyawa tanin hasil ekstraksi etanol 80% menggunakan eluen *n*-butanol: asam asetat: air (BAA) dengan perbandingan 4: 1: 5. Penjenuhan pada eluen dilakukan selama 24 jam. Larutan sampel ditotolkan pada plat silika sebanyak 5 kali penotolan pada sepanjang plat. Noda hasil pemisahan dideteksi dengan menyemprotkan reagen FeCl_3 pada permukaan plat, kemudian diperiksa di

bawah sinar UV dengan panjang gelombang 254 dan 366 nm. Hasil pemisahan senyawa tanin dapat dilihat pada Gambar 4.2.



Gambar 4.2 Hasil pemisahan senyawa tanin dengan eluen *n*-butanol: asam asetat: air (4: 1: 5): (a) Hasil pengamatan di bawah sinar UV pada λ 254 nm sebelum disemprot reagen FeCl_3 (b) Hasil pengamatan di bawah sinar UV pada λ 366 nm sebelum disemprot reagen FeCl_3 (c) Hasil pengamatan di bawah sinar UV pada λ 254 nm setelah disemprot reagen FeCl_3 (d) Hasil pengamatan di bawah sinar UV pada λ 366 nm setelah disemprot reagen FeCl_3 .

Apabila diamati pada Gambar 4.2, sebelum disemprot reagen FeCl_3 , tampak 3 noda yang terlihat pada UV 366 nm. Noda ke-1 dan ke-2 berwarna ungu, sedangkan noda ke 3 berwarna hijau. Setelah disemprot reagen FeCl_3 , pada UV 254 nm noda ke-1 memberikan warna hitam, noda ke-2 memberikan warna hitam pudar, sedangkan noda ke-3 tidak tampak. Selanjutnya, pada UV 366 nm, noda ke 1 dan ke 2 memberikan warna ungu pudar, sedangkan noda ke 3 tidak tampak. Hasil pemisahan golongan senyawa tanin dari ekstrak etanol 80% diperoleh 3 noda dengan R_f yang berbeda. Hasil perhitungan nilai R_f tertera pada Tabel 4.5.

Tabel 4.5 Hasil pemisahan senyawa tanin tanaman rumput bambu ekstrak etanol 80%

Nilai R_f	Warna noda di bawah lampu UV 254 nm		Warna noda di bawah lampu UV 366 nm		Dugaan Positif Tanin
	Sebelum disemprot FeCl_3	Sesudah disemprot FeCl_3	Sebelum disemprot FeCl_3	Sesudah disemprot FeCl_3	
0,62	Hitam	Ungu	Ungu	Ungu pudar	Tanin
0,7	Hitam pudar	Ungu	Ungu	Ungu pudar	Tanin
0,78	-	-	Hijau	-	Flavonoid

Keterangan: R_f jarak tempuh

Noda yang diasumsikan sebagai senyawa tanin ialah noda 1 dan 2 yang memiliki nilai R_f 0,62 dan 0,7. Dugaan tersebut berdasarkan warna ungu yang dihasilkan di bawah sinar UV 366 nm. Hal ini diperkuat oleh Firdaus (2016) yang melakukan pemisahan senyawa tanin pada fraksi air tanaman rumput bambu menggunakan eluen yang sama, dihasilkan penampakan noda yang berwarna ungu di bawah sinar UV 366 nm baik sebelum dan sesudah disemprot reagen FeCl_3 . Penelitian Umarudin dkk. (2012), juga menyebutkan bahwa senyawa tanin yang terkandung dalam tanaman seledri menghasilkan warna lembayung pada UV 366 nm. Adanya perbedaan R_f yang dihasilkan dari kedua noda tersebut menunjukkan bahwa ada dua jenis tanin yang memiliki sifat kepolaran yang berbedda. Tanin pada R_f 0,7 bersifat lebih polar karena cenderung berinteraksi dengan fasa gerak berupa eluen BAA (4: 1: 5) sedangkan tanin pada R_f 0,62 cenderung berinteraksi pada fasa diam berupa plat silika. Kemudian, noda ke-3 memberikan warna hijau muda di bawah sinar UV 366 nm. Noda tersebut diduga sebagai senyawa flavonoid. Hal ini didukung oleh penelitian Pradana (2014), pemisahan yang dilakukan pada ekstrak umbi binahong menggunakan eluen BAA (4: 1: 5) mengandung senyawa flavonoid yang memberikan penampakan noda berwarna hijau pada UV 366 nm. Berdasarkan hasil penelitian tersebut dugaan golongan

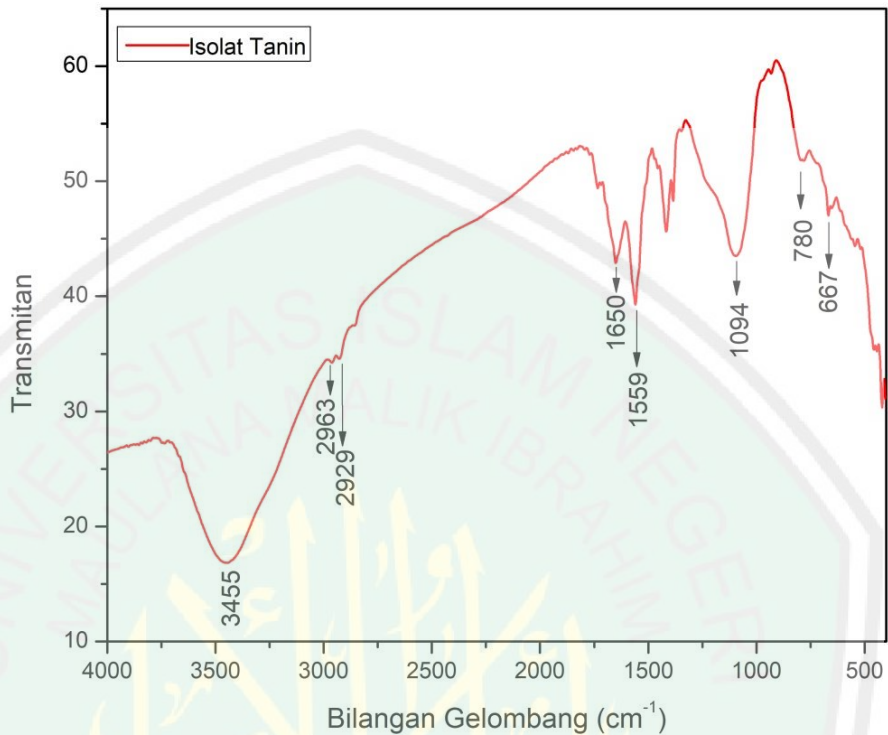
senyawa tanin adalah noda 1 dan 2 yang memiliki warna ungu di bawah sinar UV 366 nm.

Noda-noda yang diduga senyawa tanin dikerok kemudian dilarutkan dalam etanol p.a. Selanjutnya larutan disentrifugaasi untuk memisahkan silika gel dengan senyawa aktif yang akan terlarut pada etanol. Kemudian filtrat diuapkan untuk mendapat isolat. Isolat yang diperoleh diidentifikasi menggunakan Spektrofotometer FTIR.

4.6 Identifikasi Isolat Tanin Ekstrak Etanol 80% menggunakan Spektrofotometer FTIR

Isolat hasil KLTP yang diduga senyawa tanin diidentifikasi menggunakan spektrofotometer FTIR. Hasil spektrum FTIR yang terdapat pada Gambar 4.3 memberikan beberapa serapan penting. Pada bilangan gelombang 3455 cm^{-1} terdapat pita serapan gugus O-H alkohol dengan intensitas yang kuat sebagai akibat dari vibrasi ikatan hidrogen intramolekul. Adanya alkohol juga didukung oleh serapan pita C-O alkohol sekunder pada serapan 1094 cm^{-1} . Selain itu pada bilangan gelombang 2963 dan 2929 cm^{-1} menunjukkan serapan ulur C-H alifatik. Pada bilangan gelombang 1650 dan 1559 cm^{-1} menunjukkan serapan C=C pada rantai cincin aromatis. Dugaan senyawa tanin diperkuat dengan serapan cincin aromatis yang tersubstitusi pada posisi orto pada daerah sidik jari, yakni pada bilangan gelombang 780 cm^{-1} . Hal ini juga didukung oleh penelitian Fathurrahman (2018), dimana hasil identifikasi tanin pada daun belimbing wuluh dan daun trembesi menyebutkan adanya senyawa tanin diperkuat dengan cincin aromatis yang tersubstitusi pada posisi orto dibilangan gelombang $782,5\text{ cm}^{-1}$. Selanjutnya pada bilangan gelombang 667 dan 544 cm^{-1} diduga sebagai substituen

penyusun aromatis yang lain. Hasil interpretasi IR dugaan isolat tanin juga didukung oleh spektra pustaka yang ditampilkan pada Tabel 4.6.



Gambar 4.3 Spektrum IR isolat tanin ekstrak etanol 80%

Tabel 4.6 Spektrum IR dugaan isolat tanin ekstrak etanol 80%

No.	Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)		Intensitas	Jenis Vibrasi
	Spektra Isolat	Spektra Pustaka (Silverstein, 2005)		
1.	3455	3550-3200	Kuat	O-H ulur
2.	2963	2940-2860	Sedang	C-H ulur alifatik aromatis
3.	2929	2940-2860	Sedang	C-H ulur alifatik aromatis
4.	1650	2000-1550	Lemah	C=C ulur cincin aromatis
5.	1559	2000-1550	Sedang	C=C ulur cincin aromatis
6.	1094	1125-1085	Sedang	C-O ulur alkohol sekunder
7.	780	800-600	Lemah	Cincin aromatis yang tersubstitusi posisi orto
8.	667; 544	600~	Lemah	Substituen penyusun aromatis

4.7 Pemanfaatan Tanaman Rumput Bambu dalam Perspektif Islam

Penciptaan hewan, tumbuhan, manusia dan semua yang ada di alam ini merupakan suatu kebenaran yang tidak akan sia-sia. Allah SWT menciptakan alam beserta isinya di muka bumi ini untuk menyeimbangkan kehidupan dan menunjang kebutuhan manusia. Begitu pula Allah SWT telah menciptakan tumbuh-tumbuhan dengan sempurna yang dapat kita manfaatkan. Allah SWT memerintahkan hambaNya untuk mempelajari dan memanfaatkan segala hal yang telah diciptakan yang tertera dalam surat ali 'Imran (3): 191:

الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَمًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ
وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَطْلًا سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ ﴿١٩١﴾

“(yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata): “Ya Tuhan kami, tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia, Maha Suci Engkau, maka peliharalah kami dari siksa neraka.” (Q.S. ali 'Imran (3): 191).

Tafsir al Mahalli dan as Suyuthi (2011) menafsirkan بَاطِلًا yang berarti “dengan sia-sia”. Menurut al-Maraghi dan Ahmad (1989), juga menafsirkan bahwa Allah menciptakan apa yang ada di langit dan di bumi tidak ada yang sia-sia. Dengan bekal akal yang diberikan Allah, manusia diwajibkan untuk berpikir, merenungi, dan memahami kebermanfaatan dan hikmah-hikmah yang telah ditunjukkan oleh-Nya, Allah SWT benar-benar menciptakan itu semua agar manusia berfikir dan beramal dengan melakukan ketaatan.

Hasil penelitian uji aktivitas antikanker diperoleh nilai IC_{50} ekstrak etanol 80%, ekstrak kloroform, dan ekstrak *n*-heksana, berturut-turut 218,081; 292,412; 395,144 $\mu\text{g/mL}$. Nilai yang diperoleh menunjukkan bahwa tanaman rumput bambu memiliki nilai IC_{50} yang jauh dari doksorubisin, yang artinya kemampuan sampel dalam menghambat sel kanker masih lemah. Hasil yang demikian bukan berarti tanaman rumput bambu tidak memiliki manfaat. Kita sebagai manusia tentu harus terus mencari tau, barangkali tanaman rumput bambu memiliki kebermanfaat dalam pengobatan penyakit yang lain. Firman Allah SWT dalam Q.S. al Furqan (25): 2, yakni:

الَّذِي لَهُ مُلْكُ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَلَمْ يَتَّخِذْ وَلَدًا وَلَمْ يَكُن لَّهُ شَرِيكٌ فِي الْمُلْكِ
وَخَلَقَ كُلَّ شَيْءٍ فَقَدَرَهُ تَقْدِيرًا ﴿٢﴾

“yang kepunyaan-Nya-lah kerajaan langit dan bumi, dan Dia tidak mempunyai anak, dan tidak ada sekutu bagi-Nya dalam kekuasaan(Nya), dan dia telah menciptakan segala sesuatu, dan Dia menetapkan ukuran-ukurannya dengan serapi-rapinya”. (Q.S. al Furqan (25): 2).

Berdasarkan ayat diatas, dapat diketahui bahwa segala sesuatu yang diciptakan Allah SWT kapasitas kemampuan dan ukuran masing-masing. Allah memberikan batas-batas tertentu dalam kemampuan maksimalnya karena sesungguhnya semua yang ada di langit dan di bumi merupakan milik Allah semata. Begitu pula dengan nilai aktivitas yang diperoleh dari ekstrak tanaman rumput bambu. Nilai IC_{50} yang diperoleh merupakan ukuran yang telah ditetapkan oleh Allah SWT.

Pemanfaatan rumput bambu sebagai penyembuhan kanker merupakan salah satu bentuk usaha kita sebagai manusia. Allah yang memberikan cobaan berupa penyakit, maka Allah juga yang akan bertanggung jawab memberikan kesembuhan. Hal ini merupakan janji Allah yang termaktub dalam surah asy Syu'ara (26): 80:

وَإِذَا مَرِضْتُ فَهُوَ يَشْفِينِ ﴿٨٠﴾

“dan apabila aku sakit, Dialah Yang menyembuhkan aku”. (Q.S. asy Syu'ara (26): 80).

Allah SWT memberikan suatu penyakit pasti beserta penawarnya (obat). Manusia sebagai ciptaan yang diberikan akal olehNya selalu diperintahkan untuk memahami dan terus belajar. Pengetahuan yang diperoleh akan menuntun manusia untuk menemukan penawar yang tersedia di alam.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

- a).Ketiga ekstrak tanaman rumput bambu yaitu etanol 80%, *n*-heksana, dan kloroform memiliki nilai IC_{50} berturut-turut 218,081; 292,412; 395,144 $\mu\text{g/mL}$. Ketiga ekstrak memiliki potensi yang lemah dalam menghambat dan membunuh sel kanker payudara T47D.
- b).Hasil identifikasi senyawa tanin dengan instrument FTIR menunjukkan adanya serapan serapan gugus O-H alkohol, C-O alkohol sekunder, C-H alifatik, C=C alkena dengan bilangan gelombang berturut-turut 3455; 1094; 2963; 2929; dan 1650 cm^{-1} . Kemudian diperkuat dengan serapan cincin aromatis yang tersubstitusi pada posisi orto pada pada bilangan gelombang 780 cm^{-1} .

5.2 Saran

- a).Nilai IC_{50} dan jumlah komponen yang diperoleh menggunakan metode ekstraksi ultrasonik memberikan hasil yang lebih baik dibandingkan dengan metode ekstraksi maserasi. Metode ekstraksi ultrasonik lebih disarankan untuk digunakan karena memberikan efisiensi yang besar, lebih hemat waktu, sampel, dan pelarut.
- b).Paparan energi yang dihasilkan dari gelombang ultrasonik mampu mempengaruhi perubahan struktur molekul dan menurunkan jumlah senyawa aktif yang terekstrak. Untuk itu perlu dilakukan optimasi proses ekstraksi ultrasonik berdasarkan parameter yang mempengaruhi seperti frekuensi, suhu, dan waktu ekstraksi agar diperoleh hasil ekstraksi yang maksimal.

DAFTAR PUSTAKA

- A'ilah, Anis Farhatul. 2015. Uji Aktivitas Antikanker Terhadap Sel Kanker Payudara T47D dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktif Dari Ekstrak dan Fraksi Akar Rumput Bambu (*Lophatherum gracile* Brongn). *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia FSAINTEK UIN Malang.
- Al Jazairi, A.B.K. 2007. *Tafsir Al-Qur'an Al-Aisar*. Terjemahan oleh Hatim, A dan Mukti, A. Jakarta: Darus Sunnah Press.
- Al Mahalli, Imam Jalaluddin, dan as-Suyuthi. 2011. *Tafsir Jalalain*. Terjemahan Bahrin Abu Bakar. Bandung: Sinar Baru Algensindo.
- Al Maraghi dan Ahmad Mustafa. 1989. *Terjemahan Tafsir Al-Maraghi*. Semarang: CV. Toha Putra.
- Alsayari, Abdulrhman, Lucas Kopel, Mahmoud Salama Ahmed, dkk. 2018. Isolation of Anticancer Constituents from *Cucumis prophetarum* var. *Prophetarum* through Bioassay-Guided Fractionation. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 18: 1-12.
- Al Qarni, Aidh. 2007. *Tafsir Muyassar*. Jakarta: Qisthi Press.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemistry). 1995. *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical*. Washington D.C.
- Asensio, L., Isabel G., Teresa G., dan Rosario, M. 2008. Determination of food Authenticity by Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA). *Journal Food Control*, 19: 1-8.
- Ash Shiddieqy, T.M. Hasbi. 2000. *Tafsir Al-Qur'anul Majid An Nur, Cetakan II*. Semarang: Pustaka Rizki.
- Auwaliyah, F. 2015. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Rumput Bambu (*Lophatherum gracile* Brongn) dengan Metode DPPH dan Identifikasi Senyawa Aktifnya. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia FSAINTEK UIN Malang.
- Basset, J. 1987. *Buku Ajar Vogel Kimia Analisis Kuantitatif Anorganik*. Jakarta: Buku kedokteran EGC.
- Burdall, E.S., Hanby M.A., Landsdown, R.J.M., dan Speirs, V. 2003. Breast Cancer Cell Line: Friend or Foe?. *Breast Cancer Research*, 5 (2): 89-95.
- Caesar, Lindsay K dan Nadja B. Chech. 2019. Synergy and antagonism in natural product extracts: when 1 + 1 does not equal 2. *Natural Product Report*, 36: 869-888.

- Cameron, D.K. dan J.Y. Wang. 2006. Application of Protease and High Intensity Ultrasound in Corn Starch Isolation from Degermed Corn Flour. *Journal Food Science University of Arkansas*, 84 (5): 505-509.
- CCRC (Community College Research Center). 2009. *Prosedur Tetap Uji Sitotoksik Metode MTT*. Yogyakarta: UGM Press.
- Chapdelaine Joan .M. 2001. MTT Reduction-A Tetrazolium-Based Colorimetric Assay for Cell Survival and Proliferation. *Pharmakon Research International*: 1-6.
- Converse, R.H. and R.R Martin. 1990. *ELISA Methods for Plant Viruses*. In: *Serological Methods for Detection and Identification of Viral and Bacterial Plant Pathogens* (Hampton, R., E. Ball, and S. De Boer, ed). USA: APS Press.
- Cronquist, A. 1981. *An Integrated System of Classification of Flowering Plants*. New York: Columbia University Press.
- Crowther, John R. 2001. *The ELISA Guide Book, Second Edition*. New Jersey: Humana Press.
- Day, R.A. dan Underwood, A.L. 1999. *Analisis Kimia Kuantitatif Edisi 6*. Jakarta: Erlangga.
- Dermawan, R. 2012. *Metode Analisis Uji Warna Senyawa Metabolit Sekunder. Makalah Kimia Organik Analisis*. Makassar: Jurusan Kimia FMIPA Universitas Hasanuddin.
- Effendy. 2007. *Perspektif Baru Kimia Koordinasi Jilid 1*. Malang: Banyu Media Publishing.
- Ergina, Siti Nuryanti dan Indarini Dwi Puspita Sari. 2014. Uji Kualitatif Senyawa Metabolit Sekunder Pada Daun Palado (*Agave angustifolia*) yang di Ekstraksi dengan Pelarut Air dan Etanol. *Jurnal Kimia*, 3 (3): 165-172.
- Erviani, Andi Evi dan Abdur Rahman Arif. 2017. Rendemen Analysis and Phytochemical Screening of *Perinereis aibuhitensi* Extracts. *International Journal of Current Research and Academic Review*, 5 (11): 25-29.
- Fathurrahman, Nazilla Reshka dan Ida Musfiroh. 2018. Artikel Tinjauan: Teknik Analisis Instrumentasi Senyawa Tanin. *Farmaka*, 16 (2): 449-456.
- Fauzia, Astari Larasati. 2008. Uji Efek Ekstrak Air dari Daun Avokad (*Persea gratissima*) terhadap *Streptococcus Mutans* dari Saliva dengan Kromatografi Lapisan Tipis (TLC) dan Konsentrasi Hambat Minimum (MIC). *Majalah Kedokteran Nusantara*, 41 (3): 173-178.

- Firdaus, Intan Asyqotul. 2016. Identifikasi Tanin pada Frakni Air Tanaman Rumput Bambu (*Lophatherum gracile* B.) dan Uji Aktivitas Antikanker Isolat Tanin Terhadap Sel Kanker Payudara T47D. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia FSAINTEK UIN Malang.
- Guenther, Ernest. 1987. *Buku Teks Minyak Atsiri, Penerjemah R.S Ketaren: Pendamping R. Mulyono J.* Jakarta: UI Press.
- Harborne, J.B. 1996. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Penerjemah Padmawinata K, Soedira I.* Bandung: Penerbit Institut Teknologi Bandung.
- Hasanah, U. 2015. Penentuan Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH dan Uji Golongan Senyawa Aktif Akar Rumput Bambu (*Lophatherum gracile* Brongn). *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia FSAINTEK UIN Malang.
- Hasrini, Reno Fitri, dkk. 2017. Mikroenkapsulasi Minyak Sawit Mentah dengan Penyalut Maltodekstrin dan Isolat Protein Kedelai. *Jurnal Teknik dan Industri Pangan*, 28 (1): 10-19.
- Hayati, E.K., Fasyah, A.G., dan Sa'adah, L. 2010. Fraksinasi dan Identifikasi Senyawa Tanin pada Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.). *Jurnal Alchem*, 4 (2): 193-200.
- Heyne, K. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia*. Jakarta: Badan Litbang Kehutanan.
- Huliselan, Yosina M. 2015. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol, Etil Asetat, dan *n*-Heksana dari Daun Sesewanua (*Clerodendron squamatum* Vahl.). *Pharmacon Jurnal Ilmiah Farmasi-UNSRAT*, 4 (3): 155-163.
- Iromo, Heppi dan Nuril Farizah. 2014. Analisis Kandungan Hormon Tiroksin dengan Metode ELISA pada Induk Betina Kepiting Bakau (*Scylla serrata*). *Jurnal Harpodon Borneo*, 7 (1): 116-122.
- Istiqomah, Alfi. 2015. Identifikasi Dan Uji Aktivitas Antikanker Dari Ekstrak Daun Rumput Bambu (*Lophatherum gracile* Brongn) Terhadap Sel Kanker Payudara T47D. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia FSAINTEK UIN Malang.
- Jing, Z., Ying, W., Xiao-Qi, Z., Qing-Wen, Z., dan Wen-Cai, Y. 2009. Chemical Constituents from the Leaves of *Lophatherum gracile* Brongn. *Chinesse Journal of Natural Medicines*, 7 (6): 428-431.
- Kementerian Kesehatan RI. 2011. *Pusat Data dan Informasi*. Jakarta Selatan.
- Kementerian Kesehatan RI. 2015. *Pusat Data dan Informasi (Stop Kanker)*. Jakarta Selatan.

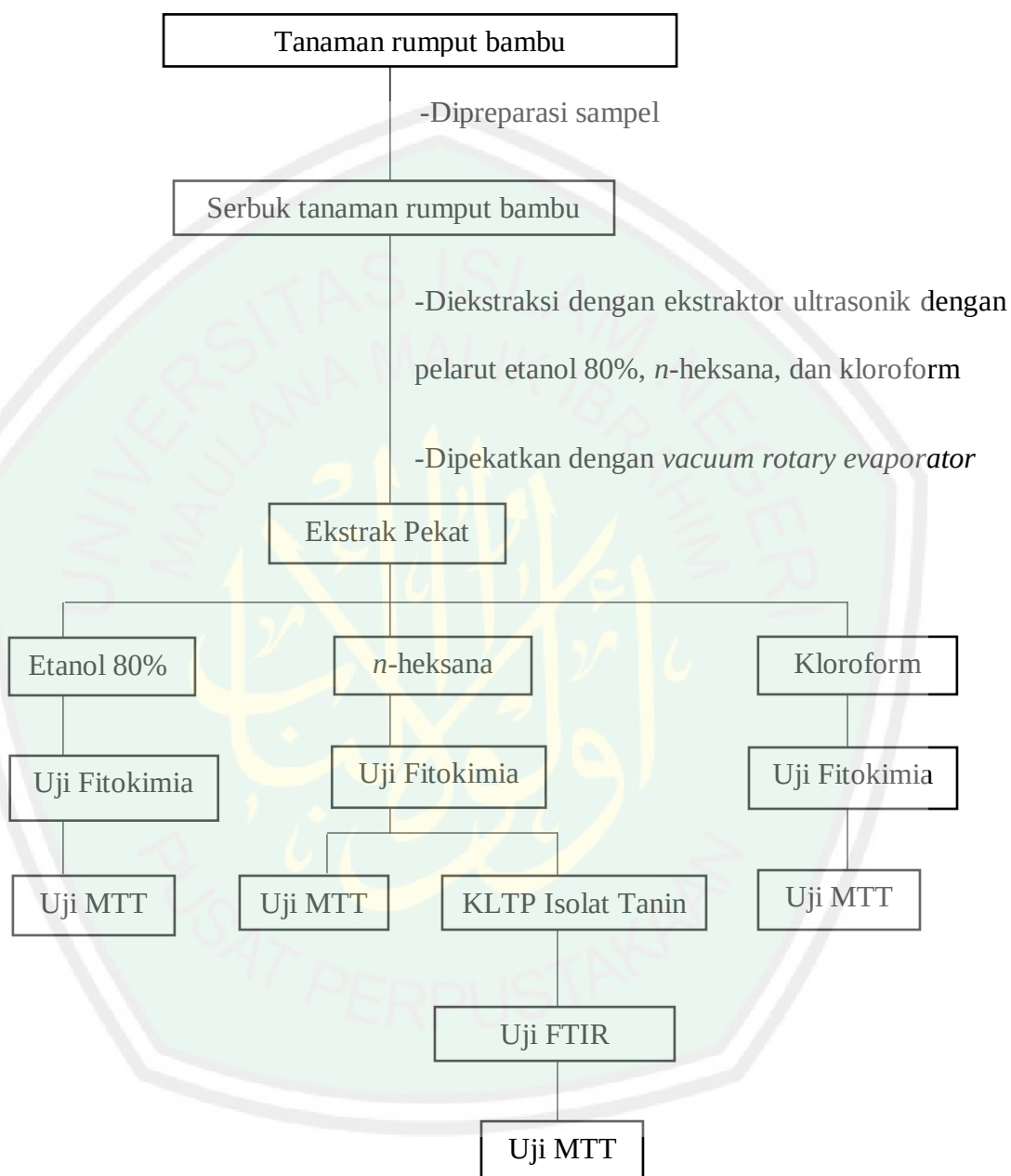
- Khacha-ananda, Supakit, dkk. 2014. Antioxidant and Anti-cancer Cell Proliferation Activity of Propolis Extracts from Two Extraction Methods. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 14 (11): 6991-6995.
- Kusumawati, I., Djatmiko, W., dan Rahman, A. 2003. Eksplorasi Keanekaragaman dan Kandungan Kimia Tumbuhan Obat di Hutan Tropis Gung Arjuno. *Jurnal Bahan Alam Indonesia*, 2 (3): 100-107.
- Lander, Eric S., Linton LM, Birren B, Nusbaum C, Zody MC, Baldwin J. 2001. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature Journal*. 409(6822):860–921.
- Lenny, S. 2006. *Senyawa Terpenoida dan Steroida. Karya Ilmiah*. Medan: FMIPA Universitas Sumatera Utara.
- Mosmann, T. 1983. Rapid Colorimetric Assay for Cellular Growth and Survival: Application to Proliferation and Cytotoxicity Assay. *Journal of Immunological Method*, 65 (1-2): 55-63.
- Nahari, D.S. 2015. Pemisahan Golongan Senyawa Aktif dan Penentuan Kandungan Fenolik Total dari Ekstrak Etanol Umbi Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steen) serta Efek Terapinya terhadap Aktivitas Seperoksida Dismutase Hati Tikus Diabetes. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia FSAINTEK UIN Malang.
- Nair, Vijay Mala dan Roopalatha U C. 2013. Phytochemical Analysis of Successive Reextracts of The Leaves of *Moringa oleifera* LAM. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 5: 629-634.
- Ouhida, Dia, dkk. 2017. Comparative Study of Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of Leaf Extract from Algerian *Phoenix Dactylifera* L Obtained by Different Methods. *International Journal of Pharmaceutical and Phytopharmacological Research (eIJPPR)*, 7 (3): 1-8.
- Padmi, Anggrianti. 2008. Uji Sitotoksisitas Ekstrak Etanol 70% Buah Kemukus (*Piper cubeba* L) terhadap sel Hela. *Skripsi*. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Pradana, Ferry. 2014. Identifikasi Flavonoid dengan Pereaksi Geser dan Pengaruh Ekstrak Etanol 70% Umbi Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Induksi Aloksan. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia FSAINTEK UIN Malang.
- Robinson T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi (Penerjemah Kosasih Padmawinata)*. Bandung: Penerbit ITB.

- Rusdi. 1990. *Tetumbuhan Sebagai Sumber Bahan Obat*. Padang: Pusat Penelitian Universitas Andalas.
- Safdar, M.N., Kausar, T., Jabbar, S., dkk. 2017. Extraction and Quantification of Polyphenols from Kinnow (*Citrus reticulata* L.) Peel Using Ultrasound and Maceration Techniques. *Journal of Food and Drug Analysis*, 25 (3): 488-500.
- Sankari, G., dkk. 2010. Analysis of Serum Immunoglobulins Using Fourier Transform Infrared Spectral Measurements. *Biology and Medicine*, 2 (3): 42-48.
- Sari, Putu Puspita, Wiwik Susanah Rita, dan Ni Made Puspawati. 2015. Identifikasi dan Uji Aktivitas Senyawa Tanin dari Ekstrak Daun Trembesi (*Samanea saman* (Jacq.) Merr) Sebagai Antibakteri *Escherichia coli* (*E. coli*). *Jurnal Kimia*, 9 (1): 27-34.
- Sari, S. P. 2014. Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Kasar Daun Rumput Bambu (*Lopatherum gracile* B.) terhadap Larva Udang *Artemiasalina leach* dan Identifikasi Awal Senyawa Aktifnya. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia FSAINTEK UIN Malang.
- Shao, Ying., Qi-na Wu., Jin-ao Duah., dkk. 2014. Optimisation of the Solvent Extraction of Bioactive Compounds from *Lophaterum gracile* Brongn using Resonse Surface Methodology and HPLC-PAD Coupled with Pre-Column Antioxidant Assay. *Royal Society of Chemistry*, 6: 170-177.
- Shihab, Q. 2002. *Tafsir Al-Mishbah Pesan, Kesan, dan Keserasian Al-Qur'an Vol. 7 dan 10*. Jakarta: Penerbit Lentera Hati.
- Silverstein, R.M., Webster, F.X. dan Kiemle, D.J. 2005. *Spectrometric. Identification of Organic Compounds, Seventh Edition*. United States of America: John Wiley and Sons, Ltd.
- Sirait, M. 2007. *Penuntuk Fitokimia Dalam Farmasi*. Bandung: ITB.
- Soebagio, dkk. 2005. *Buku Kimia Analitik II*. Malang: Universitas Negeri Malang Press.
- Stahl, Egon. 2013. *Thin-Layer Chromatography: A Laboratory Handbook*. Springer.
- Stankovic, M.S., dkk. 2012. Antioxidant activity, total phenolic content and flavonoid concentrations of different plant parts of *Teucrium polium* L. subsp. *polium*. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, 81 (2): 117-122.
- Suparman, Erna dan Eddy Suparman. 2014. Peran Estrogen dan Progesteron Terhadap Kanker Payudara. *Jurnal Biomedik*, 6 (3): 141-148.

- Svehla, G. (1985). *Buku Analisis Anorganik Kualitatif Makro dan Semimikro, Edisi kelima, Bagian I*. Jakarta: Kalman Media Pusaka.
- Thompson, L.H., dan Doraiswamy, L.K. 1999. Sonochemistry: Science Engineering. *Industrial and Engineering Chemistry Research*, 38 (4): 1215-1249.
- Umarudin, Susanti, R. dan Yuniastuti, A. 2012. Efektivitas Ekstrak Tanin Seledri terhadap Profil Lipid Tikus Putih Hiperkolesterolemi. *Unnes Journal of Life Science*, 1 (2): 78-85.
- Utami, P. 2008. *Buku Pintar Tanaman Obat*. Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Vincken, J.P., L. Henf, A., De Groot dan J.H. Gruppen. 2007. Saponins Classification and Occurrence in the Plant Kingdom. *Phytochemistry Journal*, 68 (3): 275-297.
- Wang, Wenjie, Jooyeoun Jung, Elizabeth Tomasino, dan Yanyun Zhao. 2016. Optimization of Solvent and Ultrasound-assisted Extraction for Different Anthocyanidin Rich Fruit and Their Effects on Anthocyanin Compositions. *LWT-Food Science and Technology*, 72: 229-238.
- Wijayakusuma, H. 2005. *Atasi Kanker dengan Tanaman Obat*. Jakarta: Puspa Swara.
- Wulandari, Ella. 2017. Uji Aktivitas Ekstrak Kasar Etanol dan Fraksi *n*-Heksana Tanaman Rumpun Bambu (*Lophatherum gracile* B.) sebagai Antimalaria Pada Parasit *Plasmodium falcifarum* Strain 3D7. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia FSAINTEK UIN Malang.
- Wyllie, A.H., Kerr, J.F., Curie, A.R. 1980. Cell Death: The Significance of Apoptosis. *International Review Cytology*: 251-306.
- Zou Tang Bin, En-Qin Xia, Tai-Ping He, dkk. 2014. Ultrasound-Assisted Extraction of Mangeferin from Mango Leaves using Response Surface Methodology. *Journal Molecules*, 19 (2): 1411-1421.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Rancangan Penelitian



Lampiran 2. Diagram Alir

L.2.1 Preparasi Sampel

Tanaman Rumput Bambu

- Dicuci bersih dengan air mengalir
- Dipotong kecil-kecil
- Dikeringkan menggunakan oven pada suhu 105 °C selama 15 menit
- Dianalisis kadar airnya dengan metode gravimetri
- Di sterilisasi pada suhu 121 °C selama 15 menit
- Dihaluskan dengan alu dan mortar
- Diayak dengan ayakan 60 *mesh*
- Diekstraksi

Hasil

L.2.2 Ekstraksi Senyawa Aktif

Tanaman Rumput Bambu

- Ditimbang serbuk tanaman rumput bambu sebanyak 10 gr
- Dimasukkan ke dalam 3 erlenmeyer 250 mL masing-masing 10 gr
- Ditambah 100 mL etanol ke dalam erlenmeyer pertama, 100 mL *n*-heksana ke dalam erlenmeyer kedua dan 100 mL kloroform ke dalam erlenmeyer ketiga
- Diekstraksi ultrasonik selama 20 menit pada suhu kamar dengan frekuensi 42 kHz
- Diperoleh ekstrak dan dipisahkan dengan corong buchner
- Dipekatkan ekstrak etanol menggunakan *vacuum rotary evaporator* pada suhu 40 °C
- Ditimbang dan dihitung rendemennya

Hasil

L.2.3 Uji Fitokimia dengan Uji Reagen

L.2.3.1 Uji Flavonoid

Larutan Ekstrak 10000

- Diambil 0,5 mL larutan ekstrak 10000 ppm ke dalam tabung reaksi
- Dilarutkan 1-2 mL metanol panas 50
- Ditambah logam Mg dan 4-5 tetes HCl pekat
- Dilihat perubahan warna yang terjadi

Hasil

L.2.3.2 Uji Alkaloid

Larutan Ekstrak 10000 ppm

- Diambil 0,5 mL larutan ekstrak ke dalam tabung reaksi
- Diambil 0,5 mL HCl 2% dan dibagi larutan menjadi 2 tabung
- Ditambahkan 2-3 tetes reagen Dragendroff (uji positif ditandai perubahan warna menjadi merah bata, merah, jingga)
- Ditambahkan 2-3 tetes reagen Mayer (uji positif ditandai dengan terbentuknya endapan putih atau kekuning-kuningan)
- Diamati perubahan warna yang terjadi

Hasil

L.2.3.3 Uji Tanin

Larutan Ekstrak 10000

- Dimasukkan 0,5 mL larutan ekstrak dan fraksi ke dalam tabung reaksi
- Ditambah 2-3 tetes larutan FeCl_3 1%
- Diamati perubahan yang terjadi (uji positif ditandai dengan perubahan warna hijau kehitaman atau biru tua)

Hasil

L.2.3.4 Uji Triterpenoid dan Steroid

Larutan Ekstrak 10000 ppm

- Dimasukkan 0,5 mL larutan ekstrak dan fraksi ke dalam tabung reaksi
- Dilarutan dalam 0,5 mL kloroform
- Ditambah 0,5 mL asam asetat anhidrat
- Ditambah 1-2 mL H_2SO_4 pekat melalui dinding
- Diamati perubahan yang terjadi
- Uji positif terpenoid ditunjukkan adanya cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan dua pelarut
- Uji positif steroid ditandai dengan terbentuknya warna hijau kebiruan

Hasil

L.2.4 Uji aktivitas Antikanker dengan Metode MTT

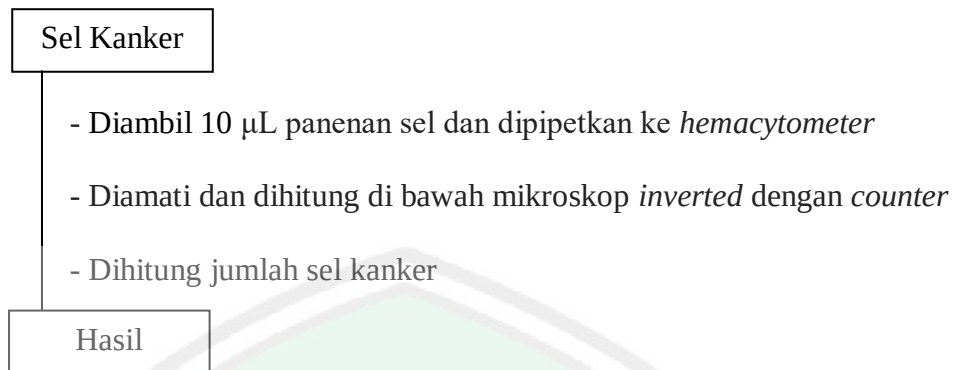
L.2.4.1 Penyiapan Sel

Sel Kanker

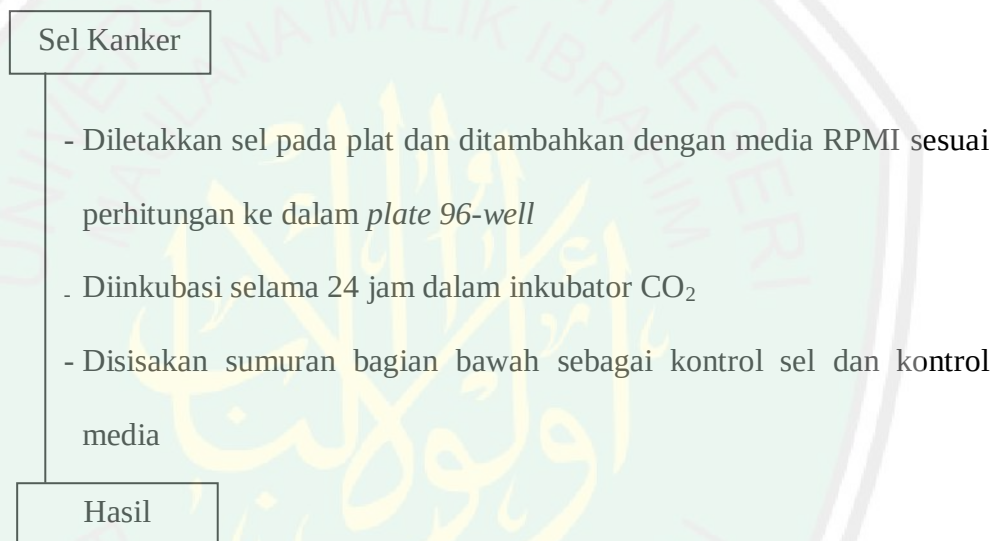
- Diambil sel kanker payudara T47D
- Dikeluarkan dari freezer (-80°C)
- Dihangatkan dalam penangas air pada suhu 37°C selama 2-3 menit
- Dipindahkan ke dalam *culture dish* yang telah berisi 10 mL media RPMI
- Diinkubasi selama 3-4 jam pada suhu 37°C / 5% CO_2
- Disentrifugasi untuk memisahkan sel kanker (pelet) dengan media RPMI
- Diamati pelet yang terbentuk di bawah mikroskop
- Dilihat apakah sel melekat di dasar *culture dish*
- Dipanen sel jika jumlah *culture dish* mencapai 70-80 (konflun)
- Dicuci sel 2 kali dengan PBS
- Ditambah tripsin-EDTA secara merata dan diinkubasi selama 3 menit
- Ditambah media RPMI 5 mL untuk menginaktifkan sel
- Dilakukan resuspensi
- Diamati di bawah mikroskop *inverted*
- Diinkubasi dalam inkubator CO_2 selama 24 jam

Hasil

L.2.4.2 Perhitungan Sel Kanker



L.2.4.3 Peletakan Sel Pada *Plate*



L.2.4.4 Pembuatan Larutan Sampel dan Pemberian Larutan Sampel pada *Plate*

Ekstrak dan Partisi Sampel

- Diambil 10 mg sampel ekstrak tanaman rumput bambu
- Dimasukkan ke dalam wadah yang berbeda
- Dilarutkan masing-masing sampel dalam 100 μ L DMSO dan diaduk dengan *vortex*
- Diambil sel dari inkubator kemudian dibuang media sel dengan membalikkan *plate* 180⁰ di atas pembuangan
- Ditekan secara perlahan di atas tisu untuk meniriskan sisa cairan
- Dimasukkan 100 μ L PBS ke dalam semua sumuran yang terisi sel dan dibuang kembali
- Dimasukkan larutan sampel sebanyak 1000; 500; 250; 125; 62,5 μ g/mL
- Dilakukan pengulangan penambahan konsentrasi sebanyak 3 kali
- Diinkubasi selama 24 jam

Hasil

L.2.4.5 Pemberian Larutan MTT

Media Sel

- Dibuang media sel dan dicuci menggunakan PBS
- Ditambahkan larutan MTT 100 μ L ke setiap sumuran kecuali sumuran kontrol sel
- Diinkubasi kembali selama 3-4 jam di dalam inkubator sampai terbentuk formazan
- Diamati kondisi sel jika formazan sudah terbentuk dengan mikroskop *inverted*
- Ditambah *stopper* SDS 10 dalam 0,1 N HCl
- Dibungkus *plate* dengan aluminium foil
- Diinkubasi kembali ditempat gelap (suhu ruangan) semalaman

Hasil

L.2.4.6 Pembacaan nilai absorbansi dengan ELISA reader

ELISA Reader

- Dihidupkan ELISA reader dan ditunggu hingga *progressing* selesai
- Dibuka pembungkus *plate* kemudian dimasukkan ke ELISA reader
- Dibaca absorbansi masing-masing sumuran dengan panjang gelombang 595 nm
- Dimatikan ELISA reader
- Dihitung persentase sel hidup

Hasil

L.2.5 Pemisahan Senyawa Tanin

L.2.5.1 Persiapan Plat KLTP

Plat KLT G₆₀F₂₅₄

- Diberi penanda pada plat KLTP ukuran 1x10 cm pada tepi bawah plat dengan jarak 1 cm sebagai posisi pentotolan
- Diberi penanda pada bagian tepi atas sebagai batas proses elusi
- Diaktivasi plat silika dengan di oven pada suhu 100 °C selama 10 menit

Hasil

L.2.5.2 Persipana Fasa gerak

Eluen

- Dimasukkan eluen *n*-butanol: asam asetat: air (4: 1: 5) ke dalam bejana
- Dijenuhkan selama 24 jam

Hasil

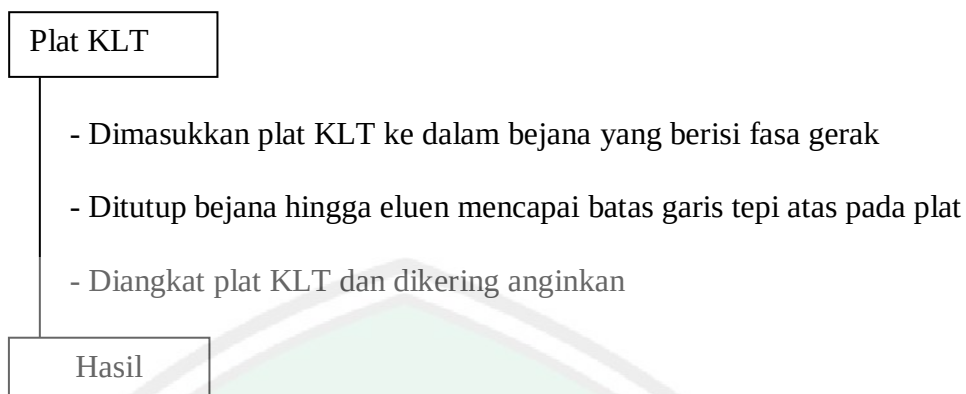
L.2.5.3 Penotolan Sampel

Sampel etanol 80%

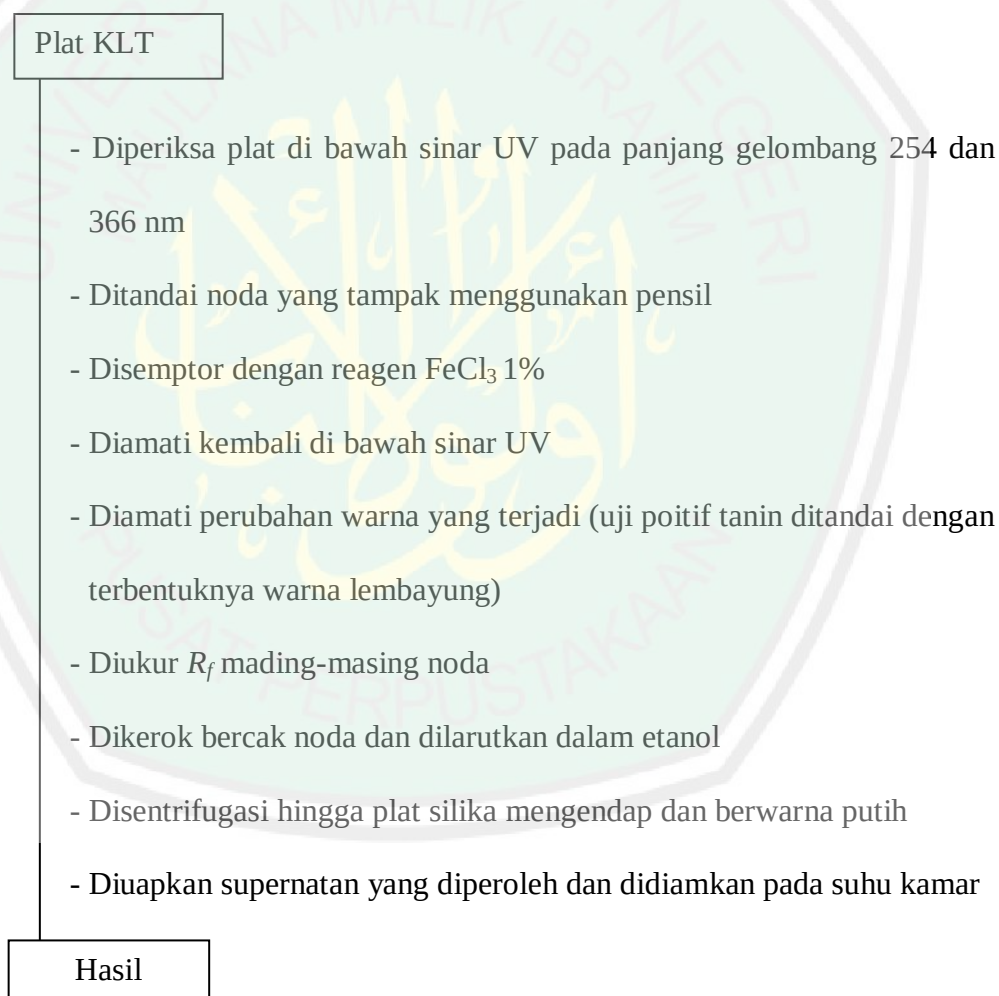
- Dibuat larutan ekstrak etanol 80% sebanyak 15000 ppm
- Ditotolkan pada plat KLT di garis tepi bawah plat
- Dilakukan penotolan dengan pipa kapiler sebanyak 10 kalo ditempat yang sama dikeringanginkan

Hasil

L.2.5.4 Proses Elusi



L.2.5.5 Identifikasi Noda



Lampiran 3. Perhitungan Serta Cara Pembuatan Reagen dan Larutan**L.3.1 Pembuatan Larutan Etanol 80%**

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

$$96\% \times V_1 = 80\% \times 500 \text{ mL}$$

$$V_1 = 417 \text{ mL}$$

Cara pembuatannya yakni dipipet etanol 96% sebanyak 417 mL dan dimasukkan pada labu ukur 500 mL. Kemudian ditanda bataskan dengan akuades dan dikocok hingga homogen.

L.3.2 Pembuatan Larutan FeCl_3 1% (b/v)

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

Cara pembuatannya yakni dengan menimbang serbuk $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ sebanyak 1 gr. Kemudian dimasukkan ke dalam labu takar 100 mL. Ditanda bataskan dengan akuades dan dihomogenkan.

L.3.3 Pembuatan Larutan HCl 2%

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

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

$$V_1 = 0,5 \text{ mL}$$

Cara pembuatannya yakni HCl pekat (37%) dipipet sebanyak 0,5 mL dengan pipet volume dan dimasukkan dalam labu ukur 10 mL yang sudah berisi

akuades ± 5 mL. Kemudian ditanda bataskan dengan akuades dan dikocok hingga homogen. Pembuatan larutan ini dilakukan di dalam lemari asap.

L.3.4 Pembuatan Larutan HCl 1 N

$$\rho = 1,267 \text{ gr/mL}$$

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

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

$$n = 1 \text{ (jumlah mol ion H}^+\text{)}$$

$$\text{mol} = \frac{\text{g HCl}}{\text{Mr HCl}} = \frac{37 \text{ gr HCl}}{36,5 \text{ gr/mol}} = 1,014 \text{ mol}$$

$$100 \text{ gr larutan} = \frac{100 \text{ gr}}{1,267 \text{ gr/mL}} = 78,9 \text{ mL} = 0,0789 \text{ L}$$

$$\text{Molaritas} = \frac{\text{mol}}{\text{L}} = \frac{1,014 \text{ mol}}{0,0789 \text{ L}} = 12,85 \text{ M}$$

$$\text{Normalitas} = n \times \text{Molaritas}$$

$$= 1 \times 12,85 \text{ M} = 12,85 \text{ N}$$

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

$$12,85 \text{ N} \times V_1 = 1 \text{ N} \times 100 \text{ mL}$$

$$V_1 = 7,8 \text{ mL}$$

Cara pembuatannya yakni HCl pekat 37% dipipet sebanyak 7,8 mL menggunakan pipet ukur dan dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL yang berisi

± 50 mL akuades. Kemudian ditanda bataskan dengan akuades dan dikocok hingga homogen. Pembuatan larutan dilakukan di lemari asap.

L.3.5 Pembuatan Larutan Metanol 50%

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

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

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

Cara pembuatannya yakni metanol 99,99% dipipet sebanyak 5 mL menggunakan pipet volume dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL yang berisi ± 3 mL akuades. Kemudian ditanda bataskan dengan akuades dan dikocok hingga homogen.

L.3.6 Pembuatan Larutan HCl 0,1 N

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

$$12,07 \text{ N} \times V_1 = 0,1 \text{ N} \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = 0,10 \text{ mL (2 tetes)}$$

Cara pembuatannya yakni akuades dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL sebanyak ± 5 mL, lalu ditetaskan HCl pekat 37% sebanyak 2 tetes. Kemudian ditanda bataskan dengan akuades dan dikocok hingga homogen. Pembuatan larutan dilakukan di lemari asap.

L.3.7 Pembuatan Reagen Dragendorf

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

Larutan II = 6 g KI dalam 10 mL H_2O

Cara pembuatannya yakni larutan I dicampur dengan larutan II. Kemudian, larutan tersebut ditambah dengan 7 mL HCl pekat dan 15 mL H_2O serta diaduk hingga homogen. Reagen ini disimpan di dalam botol yang berwarna gelap.

L.3.8 Pembuatan Reagen Mayer

Larutan I = HgCl_2 1,358 g dalam akuades 60 mL

Larutan II = 5 g KI dalam auades 10 mL

Cara pembuatannya adalah larutan I dituangkan ke dalam larutan II. Kemudian, larutan dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL. Selanjutnya, larutan ditanda bataskan dengan akuades serta dikocok hingga homogen.

L.3.9 Pembuatan Larutan Stok 100000 ppm Ekstrak Tanaman Rumpun Bambu

Berat ekstrak = 10 mg

Volume pelarut = 100 μL (DMSO)

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

Larutan stok 100000 ppm dibuat dengan cara menimbang 10 mg sampel dan ditambah dengan 100 μL DMSO.

L.3.10 Pembuatan Larutan 1000 ppm Ekstrak Tanaman Rumput Bambu

Larutan stok ekstrak daun sirsak = 100000 ppm

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

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

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

Larutan ekstrak tanaman rumput bambu 100000 ppm diambil sebanyak 10 μL menggunakan mikropipet. Kemudian ditambahkan 999 μL media kultur RPMI. Selanjutnya larutan diresuspensi hingga homogen.

L.3.11 Pembuatan Larutan Stok Ekstrak Kasar Tanaman Rumput Bambu 10000 ppm

$$10000 \text{ ppm} = \frac{10000 \text{ mg}}{1 \text{ L}} = \frac{10000 \text{ mg}}{1000 \text{ mL}} = \frac{100 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} = \frac{50 \text{ mg}}{5 \text{ mL}}$$

Ekstrak pekat yang diperoleh ditimbang sebanyak 50 mg. Kemudian diencerkan dengan 5 mL pelarut masing-masing ekstrak. Selanjutnya, larutan dihomogenkan dengan batang pengaduk dan diperoleh ekstrak dengan konsentrasi 10000 ppm (ekstrak yang diperoleh lebih encer sehingga mempermudah dalam identifikasi kualitatif dengan reagen tertentu).

L.3.10 Pembuatan Larutan Ekstrak Kasar Tanaman Rumput Bambu Fraksi *n*-Heksana 15000 ppm

$$15000 \text{ ppm} = \frac{15000 \text{ mg}}{1 \text{ L}} = \frac{15000 \text{ mg}}{1000 \text{ mL}} = \frac{150 \text{ mg}}{10 \text{ mL}}$$

Ekstrak pekat yang diperoleh ditimbang sebanyak 150 mg. Kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL. Selanjutnya, ditanda bataskan dengan

pelarut *n*-heksana, kemudian larutan dihomogenkan. Diperoleh ekstrak dengan konsentrasi 15000 ppm (ekstrak yang diperoleh lebih encer sehingga mempermudah dalam identifikasi kualitatif dengan reagen tertentu).

L.3.12 Pembuatan Larutan Stok MTT (5 mg/mL)

Serbuk MTT ditimbang sebanyak 50 mg, lalu ditambah dengan 10 mL PBS dan diaduk meggunakan *vortex*.

L.3.13 Pembuatan Larutan SDS 10% (b/v)

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

Cara pembuatannya yakni dengan menimbang 10 gr *Sodium Dodecyl Sulphate* (SDS). Kemudian dimasukkan dalam labu ukur 100 mL. Selanjutnya ditanda bataskan dengan akuades dan dihomogenkan.

L.3.14 Pembuatan Larutan PBS

Larutan PBS dapat dibuat dari 0,1 gr KCl, 0,1 gr KH₂PO₄, 4 gr NaCl dan 1,08 gr Na₂HPO₄.H₂O yang dilarutkan dengan 250 mL akuades steril menggunakan *beaker glass* 500 mL. Kemudian larutan dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer*. pH larutan diatur hingga mencapai 7,2 ± 0,2 dengan penambahan HCl 0,1 N atau dengan NaOH 0,1 N. Selanjutnya, larutan dipindahkan ke dalam labu ukur 500 mL, ditanda bataskan dengan akuades steril, dan dihomogenkan.

L.3.15 Pembuatan Media Kompleks RPMI

Fetal Bovine Serum (FBS) 10% dan penisilin streptomisin dicairkan terlebih dahulu pada suhu kamar. Kemudian, FBS diambil sebanyak 10 mL dan dimasukkan ke dalam botol duran 100 mL. Penisilin streptomisin 1 mL ditambahkan ke dalam botol duran. Selanjutnya ditambah fungizon 0,5 mL dan media cair (RPMI) sampai volume mencapai 100 mL.

L.3.16 Pembuatan Larutan DMSO 0,1%

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

$$99\% \times V_1 = 0,1\% \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = 0,01 \text{ mL} = 10 \text{ }\mu\text{L}$$

Larutan DMSO 99% diambil sebanyak 10 μL dengan mikropipet. Kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL. Ditanda bataskan dengan akuades dan dihomogenkan.

Lampiran 4. Data dan Perhitungan Hasil Penelitian

L.4.1 Perhitungan Rendemen

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{Berat filtrat (g)}}{\text{Berat sampel (g)}} \times 100$$

$$\text{Rendemen(\%)} = \frac{0,38 \text{ g}}{10 \text{ g}} \times 100\% = 3,8\%$$

Pelarut	Berat filtrat (g)	Berat sampel (g)	Rendemen (%) (b/b)
Etanol 80%	3,8	10	3,8
Kloroform	0,42	10	4,2
<i>n</i> -heksana	0,14	10	1,4

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

L.4.2.1 Perhitungan konsentrasi sel

a). Pengamatan jumlah sel dengan *hemocytometer* di bawah mikroskop *inverted*

Kuadran A	Kuadran B
41	48
Kuadran C	Kuadran D
59	61

b). Jumlah sel yang dihitung

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

$$= \frac{41+48+59+61}{4} \times 10^4 = 52 \times 10^4 / \text{mL}$$

c). Jumlah mL panen sel yang ditransfer (konsentrasi sel)

$$\Sigma \text{Panenan sel yang di transfer} = \frac{\Sigma \text{total sel yang diperlukan}}{\Sigma \text{sel yang terhitung /mL}}$$

$$\Sigma \text{Panenan sel yang di transfer} = \frac{100 \times 10^4}{52 \times 10^4 / \text{mL}} = 1,9 = 2 \text{ mL} = 200 \mu\text{L}$$

Volume panen sel yang ditransfer sebanyak 200 μL , ditambahkan hingga 800 μL media kultur RPMI karena setiap sumuran akan diisi 100 μL MK berisi sel, sehingga total volume yang diperlukan untuk menanam sel = 100 x 100 sumuran = 10000 μL atau 10 mL.

L.4.2.2 Perhitungan Hasil Uji Aktivitas Antikanker

1. Perhitungan Persentase Sel Hidup

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

dengan A adalah absorbansi perlakuan dimana sumuran berisi sel kanker, media kultur, dan sampel. B adalah absorbansi kontrol media (media kultur). C adalah absorbansi kontrol negatif dimana sumuran berisi sel kanker dan media kultur.

a). Absorbansi Kontrol Sel dan Kontrol Media

No.	Absorbansi Kontrol Sel	Absorbansi Kontrol Media
1.	0,686	0,135
2.	0,684	0,151
3.	0,784	0,169
Rata-Rata	0,718	0,151

b). Absorbansi dan Persentase Sel Hidup Ekstrak Etanol 80%

Konsentrasi	Absorbansi			Rata-rata	%Sel Hidup
	1	2	3		
1000	0,235	0,238	0,255	0,242	16,068
500	0,208	0,211	0,228	0,215	11,300
250	0,440	0,424	0,437	0,433	49,793
125	0,571	0,583	0,541	0,565	72,984
62,5	0,614	0,624	0,593	0,610	80,988

c). Absorbansi dan Persentase Sel Hidup Ekstrak Kloroform

Konsentrasi	Absorbansi			Rata-rata	%Sel Hidup
	1	2	3		
1000	0,211	0,219	0,230	0,220	12,065
500	0,355	0,325	0,366	0,348	34,785
250	0,526	0,495	0,575	0,532	67,157
125	0,579	0,576	0,578	0,577	75,220
62,5	0,623	0,599	0,608	0,61	80,929

d). Absorbansi dan Persentase Sel Hidup Ekstran *n*-Heksana

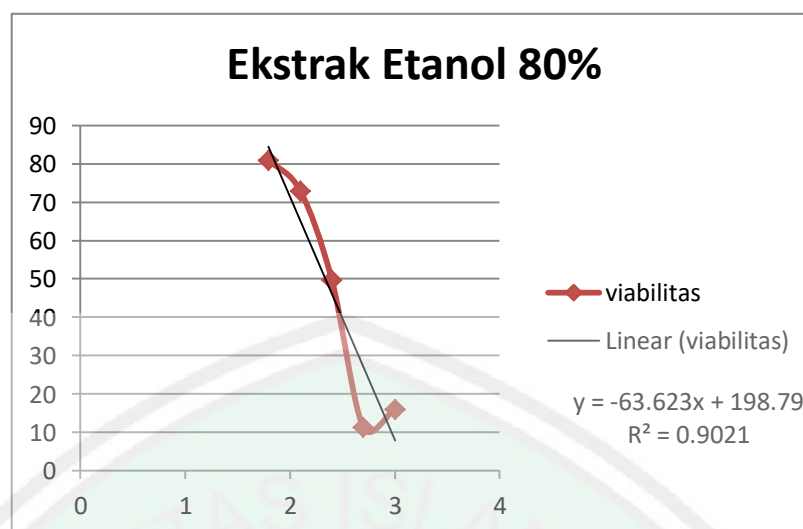
Konsentrasi	Absorbansi			Rata-rata	%Sel Hidup
	1	2	3		
1000	0,206	0,271	0,202	0,226	13,184
500	0,333	0,387	0,503	0,407	45,203
250	0,612	0,637	0,62	0,623	83,225
125	0,614	0,647	0,663	0,641	86,462
62,5	0,598	0,592	0,608	0,599	79,046

$$\text{Konsentrasi 1000} \rightarrow \% \text{Hidup} = \frac{0,242-0,151}{0,718-0,151} \times 100\% = 16,068$$

3. Perhitungan IC₅₀ dengan *Microsoft Excel*

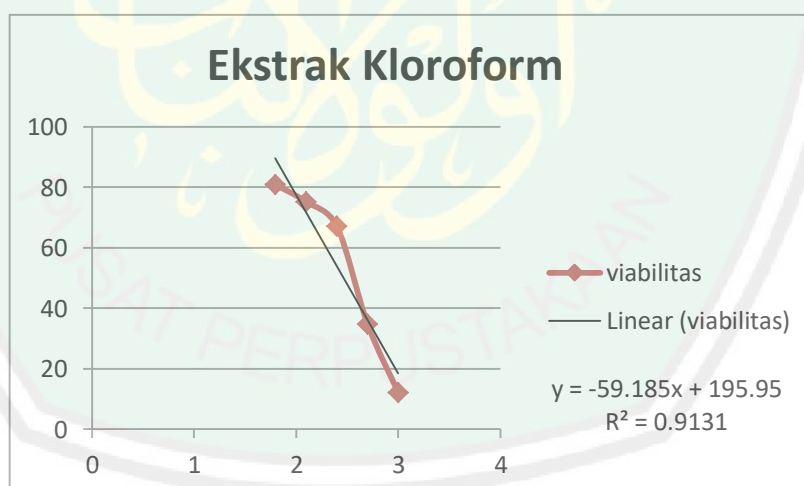
a). Ekstrak Etanol 80%

Log konsentrasi	% Sel Hidup
3	16,068
2,698	11,300
2,397	49,793
2,096	72,984
1,795	80,988

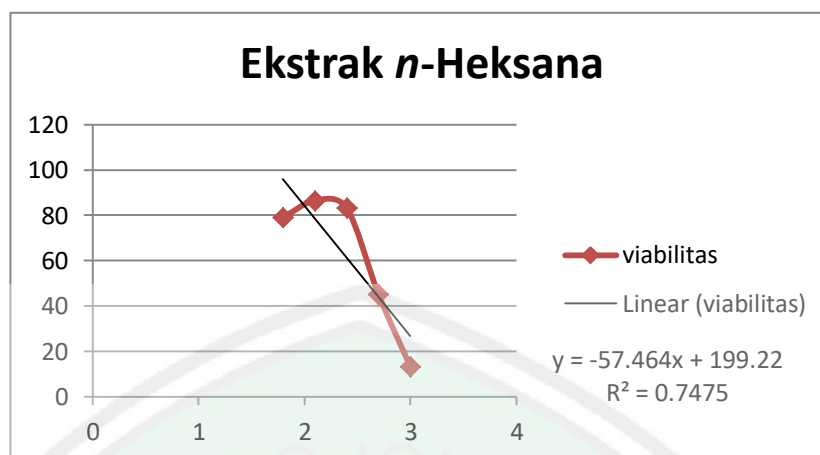


b). Ekstrak Kloroform

Log konsentrasi	% Sel Hidup
3	12,065
2,698	34,785
2,397	67,157
2,096	75,220
1,795	80,929

c). Ekstrak *n*-Heksana

Log konsentrasi	% Sel Hidup
3	13,184
2,698	45,203
2,397	83,225
2,096	86,462
1,795	79,046



Pelarut	Persamaan Regresi	Nilai x	Anti log x
Etanol 80%	$y = -63,623 x + 198,79$	2,338	218,0819
Kloroform	$y = -59,185 x + 195,95$	2,465	292,4128
<i>n</i> -Heksana	$y = -57,464 x + 199,22$	2,596	395,1448

Perhitungan $IC_{50} \rightarrow y = 50$

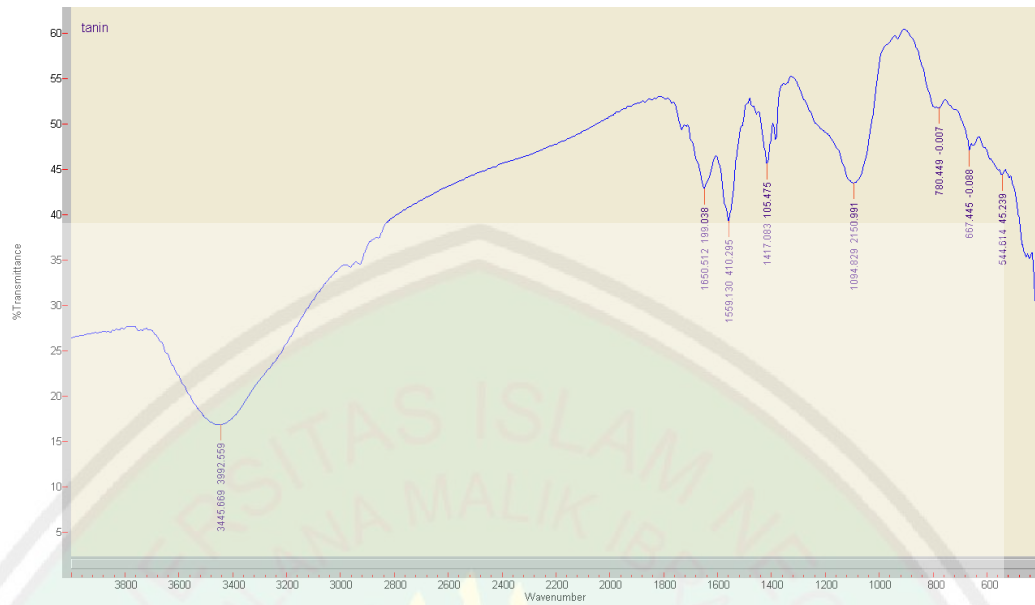
$$y = -63,623 x + 198,79$$

$$50 = -63,623 x + 198,79$$

$$x = (50 - 198,79) / (-63,623) = 2,338$$

$$\text{Antilog } 2,338 = 218,0819$$

Lampiran 5. Spektrum FTIR Isolat Tanin



Lampiran 6. Dokumentasi

L.6.1 Preparasi Sampel



Serbuk tanaman rumput bambu

L.6.2 Ekstraksi Tanaman Rumput Bambu



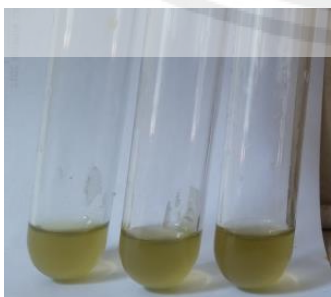
Proses Ekstraksi Ultrasonik



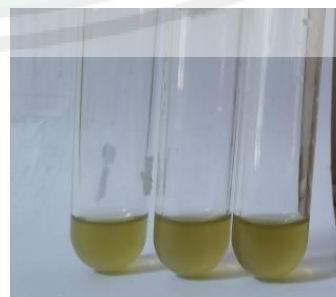
Pemekatan dengan vacuum rotary evaporator

L.6.3 Uji Fitokimia

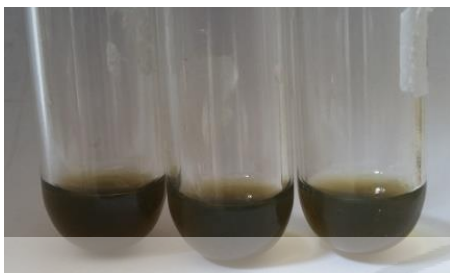
L.6.3.1 Uji Fitokimia Ekstrak Etanol 80%



Uji Alkaloid (Reagen Dragendorf)



Uji Alkaloid (Reagen Mayer)



Uji Tanin



Uji Flavonoid

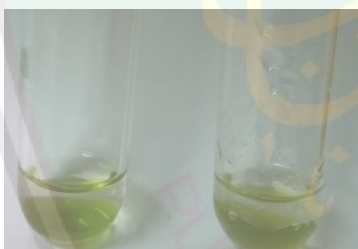


Uji Saponin



Uji Triterpenoid dan Steroid

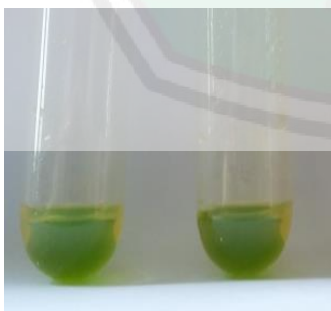
L.6.3.2 Uji Fitokimia Ekstrak Kloroform



Uji Alkaloid (Reagen Dragendorf)



Uji Alkaloid (Reagen Mayer)



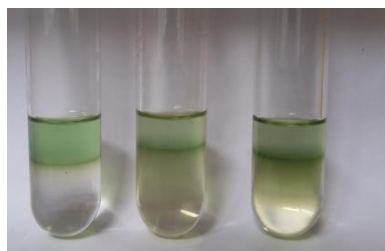
Uji Tanin



Uji Flavonoid

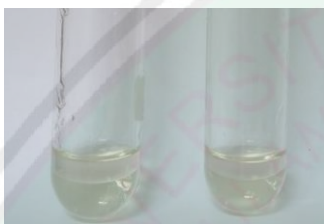


Uji Saponin

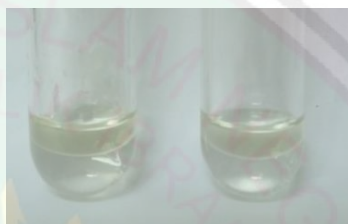


Uji Triterpenoid dan Steroid

L.6.3.3 Uji Fitokimia *n*-Heksana



Uji Alkaloid (Reagen Dragendorf)



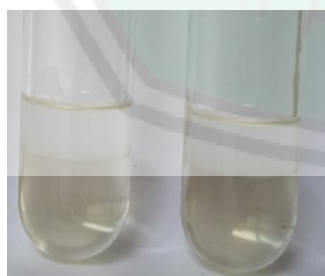
Uji Alkaloid (Reagen Mayer)



Uji Tanin



Uji Flavonoid



Uji Triterpenoid dan Steroid

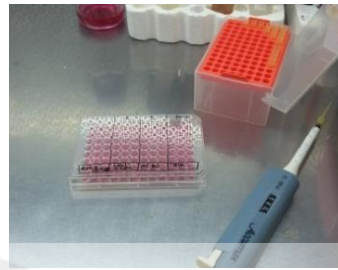


Uji Saponin

L.6.4 Uji Aktivitas Antikanker secara *In-Vitro*



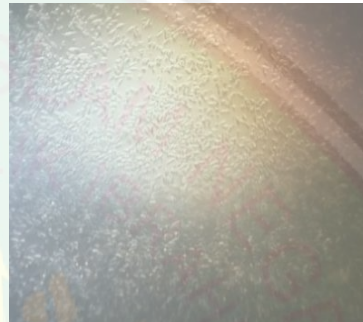
Perhitungan sel



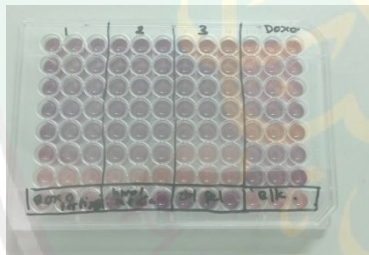
Penanaman sel pada *plate*



Morfologi sel T47D sebelum pemberian tripsin



Morfologi sel T47D setelah pemberian tripsin

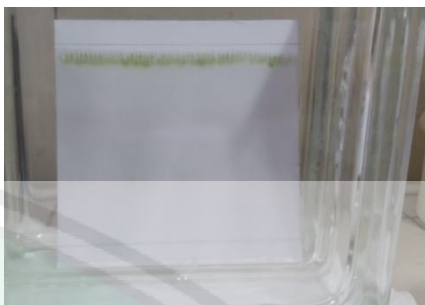


Setelah pemberian MTT dan *stopper* SDS

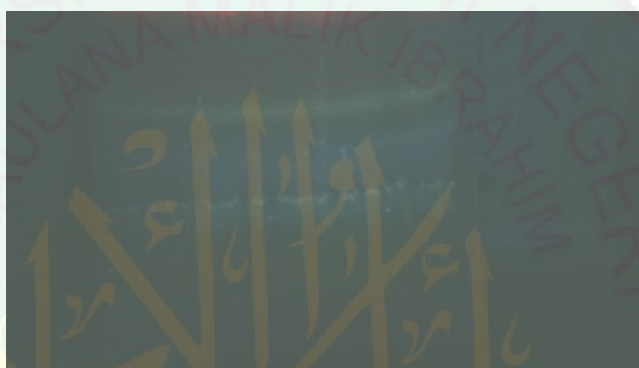
L.6.5 Pemisahan Senyawa Aktif dengan KLTP



Penotolan plat KLTP



Proses Elusi



Pengamatan di bawah sinar UV pada λ 366 nm