

**UJI AKTIVITAS ANTIKANKER PAYUDARA (T47D) EKSTRAK
ETANOL DAUN SIRSAK (*Annona Muricata* Linn) YANG DIEMBANKAN
PADA ZEOLIT NaX**

SKRIPSI

Oleh :

**ALIF KHUMAIRATUL LAILA
NIM. 12630054**



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2016**

**UJI AKTIVITAS ANTIKANKER PAYUDARA (T47D) EKSTRAK
ETANOL DAUN SIRSAK (*Annona Muricata Linn*) YANG DIEMBANKAN
PADA ZEOLIT NaX**

SKRIPSI

Oleh :

**ALIF KHUMAIRATUL LAILA
NIM. 12630054**

Diajukan Kepada:

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

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2016**

**UJI AKTIVITAS ANTIKANKER PAYUDARA (T47D) EKSTRAK
ETANOL DAUN SIRSAK (*Annona Muricata Linn*) YANG DIEMBANKAN
PADA ZEOLIT NaX**

SKRIPSI

Oleh :

**ALIF KHUMAIRATUL LAILA
NIM. 12630054**

**Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji:
Tanggal: 03 Oktober 2016**

Pembimbing I

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

Pembimbing II

**Ahmad Hanapi, M.Sc
NIDT. 19851225 20160801 1 069**

**Mengetahui,
Kepala Jurusan Kimia**



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

**UJI AKTIVITAS ANTIKANKER PAYUDARA (T47D) EKSTRAK
ETANOL DAUN SIRSAK (*Annona Muricata* Linn) YANG DIEMBANKAN
PADA ZEOLIT NaX**

SKRIPSI

Oleh :

ALIF KHUMAIRATUL LAILA
NIM. 12630054

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

Penguji Utama	: A. Ghannim Fasya, M.Si NIP. 19820616 200604 1 003	(.....)
Ketua Penguji	: Susi Nurul Khalifah, M.Si NIPT. 20130902 2 317	(.....)
Sekretaris Penguji	: Elok Kamilah Hayati, M.Si NIP. 19790620 200604 2 002	(.....)
Anggota Penguji	: Ahmad Hanapi, M.Sc NIDT. 19851225 20160801 069	(.....)

Mengesahkan,
Ketua Jurusan Kimia



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

PERSEMBAHAN

Karya kecil ini kupersembahkan kepada:

Abah Sumiadi dan Ibu Dewi Zainab tercinta yang selalu memberi dukungan, motivasi dan juga doa yang selalu dipanjatkan. Adik kecilku Ahmad Zubairi Rahman yang sudah jarang bersua karena ada di perantauan.

Keluarga besar Mbah Sori dan Mbah Trimman yang selalu member motivasi untuk selalu maju dan mengikuti perkembangan ilmu pengetahuan

Teman-teman seperjuangan khususnya tim antikancker Nilnaa, Intan, Habibah, dan Mbak Leli. Keluarga kedua di malang, para penghuni KBI Adek (ais), mba ilil, mba arin, mba iim, mba yerry, mba itna, mba rifa, mba maya, mami, mba arum, mba pink, aulin, dila, mba nonik, dek marah dan lidia. Anak-anak Kos Bu Fatimah, imas, aini, mba nit, siro, danis, anis, tiwi dan sas. mereka yang selalu support saat down, tempat susah senang bareng ☺. Teman mulai kecil sampe sekarang yang masih sering support si yuk jum, yuk is dan sepupunya :D.

Segenap Guru-guru dan Dosen-dosen yang ku sebut pahlawan tanpa tanda jasa karena telah membimbing dan memberikan ilmu pengetahuan dengan penuh keikhlasannya

Segenap Kawan-kawan C3Jf8 kimia 2012, dan seluruh warga kimia Fakultas sains dan teknologi UIN Malang yang telah berbagi pengalaman, berjuang bersama demi tegaknya pengetahuan

Para pembaca, terlebih orang-orang yang berkemauan dalam melanjutkan karya kecil ini (penelitian lebih lanjut) guna perluasan ilmu dan perkembangan pengetahuan.

MOTTO

أَلَمْ نَشْرَحْ لَكَ صَدْرَكَ ﴿١﴾ وَوَضَعْنَا عَنْكَ وِزْرَكَ ﴿٢﴾ الَّذِي أَنْقَضَ ظَهْرَكَ ﴿٣﴾

وَرَفَعْنَا لَكَ ذِكْرَكَ ﴿٤﴾ فَإِنَّ مَعَ الْعُسْرِ يُسْرًا ﴿٥﴾ إِنَّ مَعَ الْعُسْرِ يُسْرًا ﴿٦﴾ فَإِذَا

فَرَغْتَ فَأَنْصَبْ ﴿٧﴾ وَإِلَىٰ رَبِّكَ فَارْغَبْ ﴿٨﴾

1. Bukankah Kami telah melapangkan untukmu dadamu?,
2. dan Kami telah menghilangkan daripadamu bebanmu,
3. yang memberatkan punggungmu?
4. dan Kami tinggikan bagimu sebutan (nama)mu,
5. karena Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan,
6. Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan.
7. Maka apabila kamu telah selesai (dari sesuatu urusan), kerjakanlah dengan sungguh-sungguh (urusan) yang lain,
8. dan hanya kepada Tuhanmulah hendaknya kamu berharap.

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Alif Khumairatul Laila

NIM : 12630054

Fakultas/Jurusan : Sains dan Teknologi/Kimia

Judul Penelitian : “Uji Aktivitas Antikanker Payudara T47D Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona Muricata Linn*) yang Diimbangkan Pada Zeolit NaX”

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 jiplakan, maka saya bersedia untuk mempertanggung jawabkan, serta diproses sesuai peraturan yang berlaku.

Malang, 5 Oktober 2016
Yang Membuat Pernyataan,



Alif Khumairatul Laila
NIM. 12630054

KATA PENGANTAR

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Puji syukur alhamdulillah, atas kehendak Allah S.W.T yang telah mengizinkan penulis untuk menyelesaikan penulisan skripsi dengan judul “Uji Aktivitas Antikanker Payudara T47D Kombinasi Ekstrak Daun Sirsak (*Annona Muricata* Linn) yang Diimbangkan pada Zeolit NaX”. Skripsi ini sebagai salah satu syarat dalam mendapatkan gelar Sarjana Sains (S.Si).

Penulis menyadari akan keterbatasan pengetahuan dan kemampuan yang penulis miliki, tentunya tanpa ada kontribusi dan dukungan baik moral maupun spiritual, penulis merasa kesulitan dalam menyelesaikan skripsi ini. Maka dari itu, dengan segala kerendahan dan ketulusan hati penulis mengucapkan terima kasih tak terhingga kepada:

1. Kedua orang tua yang telah memberikan perhatian, nasihat, doa, serta dukungan moril dan materil sehingga penyusunan skripsi ini dapat terselesaikan.
2. Rektor Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang Bapak Prof. H. Mudjia Raharjo, M.Si.
3. Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Ibrahim Malang Ibu Dr. Drh. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si.
4. Ketua jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang Ibu Elok Kamilah Hayati, M.Si.
5. Dosen pembimbing utama Ibu Elok Kamilah Hayati, M.Si., dan dosen pembimbing agama Bapak Ahmad Hanapi, M.Sc., karena atas bimbingan,

pengarahan, dan nasehat sehingga penulis dapat menyelesaikan dalam penyusunan skripsi ini.

6. Ibu Susi Nurul Khalifah M.Si, selaku konsultan dan juga dosen penguji Bapak Ghanaim Fasya,M.Si. dan Ibu Eny Yulianti,M.Si., karena atas masukan dan sarannya, skripsi ini menjadi lebih baik.
7. Segenap dosen-dosen, staff laboratorium, dan staff administrasi Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah menyampaikan pengajaran, mendidik, membimbing, serta mengamalkan ilmunya dengan ikhlas.
8. Segenap guru-guru MI MATHLABUN NAJIHIN, Asatidz-Asatidzah MTs. Dan SMA Al-Multazam Mojokerto yang telah menjadi pahlawan tanpa tanda jasa. Semoga ilmu pengetahuan yang diberikan bermanfaat bagi kehidupan.
9. Teman-teman kimia angkatan 2012 yang telah saling memotivasi dan membantu terselesainya skripsi ini.
10. Semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu persatu.

Semoga skripsi ini dapat bermanfaat dan menambah khasanah ilmu pengetahuan.

Malang, 10 Agustus 2016

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN PERSEMBAHAN	vi
HALAMAN MOTTO	vii
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	x
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
ABSTRAK	xv
 BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	6
1.3 Tujuan Penelitian	7
1.4 Batasan Masalah	7
1.5 Manfaat Penelitian	8
 BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Penyakit Kanker Payudara	9
2.2 Tanaman Sirsak	11
2.2.1 Kandungan Daun Sirsak (<i>Annona Muricata Linn</i>)	12
2.2.2 Potensi daun Sirsak sebagai Antikanker	16
2.3 Zeolit	17
2.3.1 Zeolit Sintetik	18
2.3.2 Zeolit X	20
2.3.3 Potensi Zeolit Sebagai Antikanker dan <i>Drug Delivery System</i>	26
2.4 Senyawa Antikanker yang Diembangkan pada Zeolit	28
2.5 Metode Impregnasi	29
2.6 Metode Ekstraksi Maserasi	31
2.7 Uji Aktivitas Antikanker secara <i>In-Vitro</i> dengan Metode MTT	32
2.8 Fourier Transform Infra-Red	33
 BAB III METODOLOGI PENELITIAN	
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	36
3.2 Alat dan Bahan Penelitian	36
3.2.1 Alat Penelitian	36
3.2.2 Bahan Penelitian	36
3.3 Rancangan Penelitian	37
3.4 Tahapan Penelitian	37
3.5 Pelaksanaan Penelitian	38
3.5.1 Preparasi Sampel	38
3.5.2 Analisis Kadar Air	38

3.5.3	Ekstraksi Senyawa Aktif	39
3.5.4	Pengembangan Ekstrak Etanol Daun Sirsak dengan Zeolit NaX	39
3.5.5	Karakterisasi hasil Impregnasi Menggunakan FTIR	40
3.5.6	Uji Aktivitas Antikanker dengan Metode MTT	40
3.5.5.1	Penyiapan Sel	40
3.5.5.2	Penghitungan Sel Kanker	41
3.5.5.3	Peletakan Sel pada <i>Plate</i>	41
3.5.5.4	Pembuatan Larutan Sampel dan Pemberian Larutan Sampel pada <i>Plate</i>	42
3.5.5.5	Pemberian Larutan MTT	42
3.6	Analisis data	43
 BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN		
4.1	Preparasi Sampel	44
4.2	Analisis Kadar Air	45
4.3	Ekstraksi Maserasi	46
4.4	Pengembangan Ekstrak Etanol Daun Sirsak Dengan Zeolit NaX menggunakan Metode Impregnasi	49
4.5	Karakterisasi Hasil Impregnasi Menggunakan FTIR	52
4.6	Uji Aktivitas Antikanker Menggunakan Metode MTT	53
4.7	Pemanfaatan Tanaman Sebagai Obat Dalam Prepektif Islam	61
 BAB V PENUTUP		
5.1	Kesimpulan	65
5.2	Saran	66
 DAFTAR PUSTAKA		67
LAMPIRAN		72

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Presentase kasus baru dan kematian akibat kanker pada penduduk perempuan).....	11
Gambar 2.2	Struktur umum dari <i>Annonaceous Acetogenin</i>	14
Gambar 2.3	Struktur kimia zeolit.....	19
Gambar 2.4	Unit struktural dari zeolit A, sodalite, dan faujasite.....	19
Gambar 2.5	Bentuk zeolit X.....	20
Gambar 2.6	Hasil difraktogram sintesis zeolit X variasi suhu 75, 90 dan 100 °C pada rasio Si/Al 2	21
Gambar 2.7	Spektra infra merah zeolit X pada suhu 75, 90, dan 100 °C serta suhu 100 °C	23
Gambar 2.8	Difusi 5-fluorouracil dalam zeolit a). BEA, b).NaX.....	29
Gambar 2.9	Reaksi Reduksi MTT menjadi Formazan.....	33
Gambar 2.10	Spektra FTIR Zeolit X	35
Gambar 4.1	Hasil Impregnasi.....	50
Gambar 4.2	Spektra FTIR Ekstrak Daun sirsak, Zeolit NaX, dan hasil Impregnasi 1:10, 5:10, 10:10	52
Gambar 4.3	Pengamatan Jumlah sel dengan <i>Hemacytometer</i> dibawah Mikroskop.....	57
Gambar 4.4	Morfologi sel T47D setelah di <i>treatment</i>	57

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 <i>Annonaceous Acetogenin</i> dari <i>Annona muricata</i> ..	15
Tabel 2.2 Jenis <i>Annonaceous Acetogenin</i> dalam daun <i>Annona muricata</i>	16
Tabel 2.3 Rumus oksida beberapa jenis zeolit sintetik.....	18
Tabel 2.4 Hasil analisis kuantitatif komposisi penyusun produk sintesis.....	23
Tabel 2.5 Interpretasi IR produk hasil sintesis zeolit X dengan bilangan gelombang dari gugus-gugus yang ada pada zeolit X	24
Tabel 2.6 Ketentuan IR Umum	35
Tabel 4.1 Hasil Analisa Kadar Air Serbuk Daun Sirsak	46
Tabel 4.2 Hasil Maserasi Serbuk Daun Sirsak	48
Tabel 4.3 Hasil Impregnasi Pengembunan Ekstrak pada Zeolit.....	51
Tabel 4.4 Nilai IC50 Uji Aktivitas Antikanker Sampel.....	58

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Diagram Alir Penelitian	73
Lampiran 2 Skema kerja.....	74
L.2.1 Preparasi Sampel	74
L.2.2 Analisis Kadar Air.....	74
L.2.3 Ekstraksi Komponen Aktif.....	75
L.2.4. Kombinasi Ekstrak Daun Sirsak dengan Zeolit NaX	75
L.2.5 Uji Aktivitas Antikanker dengan Metode MTT	76
L.2.5.1 Penyiapan Sel	76
L.2.5.2 Penghitungan Sel Kanker	76
L.2.5.3 Peletakan Sel pada <i>Plate</i>	77
L.2.5.4 Pembuatan Larutan Sampel dan Pemberian Larutan Sampel pada <i>Plate</i>	77
L.2.5.5 Pemberian Larutan MTT	78
Lampiran 3 Perhitungan Serta Cara Pembuatan Reagen dan Larutan.....	79
L.3.1 Pembuatan larutan Etanol 95 %.....	79
L.3.2 Pembuatan Larutan SDS 10%.....	79
L.3.3 Pembuatan Larutan Stok MTT.....	79
L.3.4 Pembuatan Larutan Stok 500 ppm Ekstrak Daun Sirsak	80
Lampiran 4 Data dan Perhitungan Hasil Penelitian	81
L.4.1 Perhitungan Kadar Air	81
L.4.2 Perhitungan Rendemen	83
L.4.3 Perhitungan pengembanan Ekstrak daun sirsak pada zeolit NaX menggunakan metode impregnasi.....	83
L.4.4 Perhitungan Data dan Hasil Uji Aktivitas Antikanker secara <i>In-Vitro</i>	84
Lampiran 5 Dokumentasi	90

ABSTRAK

Laila, A. K. 2016. Uji Aktivitas Antikanker Payudara T47D Ekstrak Daun Sirsak yang Diembankan pada Zeolit NaX. Skripsi. Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Malang. Pembimbing I: Elok Kamilah Hayati, M.Si.; Pembimbing II: Ahmad Hanapi, M.Sc.; Konsultan: Susi Nurul Khalifah, M.Si.,

Kata kunci: *Annona Muricata Linn*, Zeolit NaX, Impregnasi, MTT

Daun sirsak (*Annona Muricata Linn*) diketahui memiliki aktivitas antikanker secara *in-vitro*. Disamping itu, zeolit diketahui mampu mengemban senyawa karena strukturnya yang berpori dan memiliki ruang kosong yang bisa diisi oleh molekul lain. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak etanol daun sirsak yang diembankan pada zeolit. Selain itu, untuk mengetahui rasio impregnasi paling efektif dalam menghambat pertumbuhan sel kanker secara *in vitro*.

Serbuk daun sirsak diekstraksi maserasi menggunakan pelarut etanol 95%. Ekstrak etanol daun sirsak yang diembankan pada zeolit NaX dengan menggunakan metode impregnasi basah. Variasi rasio ekstrak yang diembankan pada zeolit NaX yang digunakan yaitu 1:10, 5:10, dan 10:10. Masing-masing sampel hasil impregnasi, ekstrak etanol daun sirsak, dan zeolit NaX di uji aktivitas antikanker terhadap sel T47D secara *in-vitro* menggunakan metode MTT. Analisis FTIR juga dilakukan pada sampel hasil pengembanan untuk mengetahui perbedaan struktur zeolit sebelum dan setelah dilakukan pengembanan.

Hasil uji aktivitas antikanker menggunakan metode MTT menunjukkan nilai IC_{50} sampel ekstrak etanol daun sirsak sebesar 240,165 $\mu\text{g/mL}$. Pengembanan yang dilakukan belum memberikan pengaruh yang baik, karena sampel zeolit dan sampel hasil impregnasi memiliki nilai $IC_{50} > 1000$ ppm. Hal itu menunjukkan bahwa sampel tidak memiliki aktivitas menghambat pertumbuhan sel kanker T47D. Hasil analisis menggunakan FTIR menunjukkan bahwa spektra semua sampel hasil pengembanan di dominasi oleh spektra zeolit NaX. Muncul serapan baru pada bilangan gelombang 1380 cm^{-1} yang menunjukkan serapan gugus C-H dari ekstrak etanol daun sirsak. Pada sampel 5:10 dan 10:10 ada spektra yang mengalami pelebaran pita dan peningkatan intensitas serapan.

ABSTRACT

Laila, A. K. 2016. The Breast (T47D) Anticancer Activity Test of Ethanol Extract of Soursop Leaf (*Annona Muricata* Linn) Impregnated to Zeolite NaX. Thesis. Chemistry Department, Science and Technology Faculty of State Islamic University of Malang. Supervisor I : Elok Kamilah Hayati, M.Si .; Supervisor II: Ahmad Hanapi, M.Sc.; Consultant : Susi Nurul Khalifah, M.Si.,

Keywords: *Annona muricata* Linn, Zeolite NaX, impregnation, MTT Essay.

The Soursop leaf (*Annona muricata* Linn) is known to have in vitro anticancer activity. Beside that, zeolites can carry anticancer compounds because the porous and the space of the zeolite structure that can filled with another compound. This study aims to know the influence of ethanol extract of soursop leaf that impregnated to zeolite NaX. Beside that to know which ratio are most effective in inhibiting the growth of cancer cells.

The soursop leaf powder was extracted using ethanol 95 %. The ethanol extract of soursop leaf was loaded to zeolite NaX using impregnation method. Variations of soursop leaf extract that loaded to NaX zeolite used are 1:10, 5:10, and 10:10. Each impregnated sampel, ethanol extract of soursop leaf, and zeolite NaX were tested the anticancer activity to T47D cell line *in vitro* using MTT method. FTIR analysis also performed on the impregnated sampel to determine the differences of zeolite structure before and after impregnated.

The results of the anticancer activity test using MTT method showed that the IC_{50} value of ethanol extract of soursop leaf is 240,165 $\mu\text{g} / \text{mL}$. The impregnation showed negative influence to the anticancer activity, because the IC_{50} value of the NaX zeolite and impregnated sample was higher than 1000 ppm. It shows that the samples had no activity in inhibiting the growth of T47D cancer cell. The FTIR analysis showed that the spectra of all impregnated sample was dominated by the spectra of NaX zeolite structure. A new absorption appear at 1380 cm^{-1} indicates the C-H group absorption from ethanol extract of soursop leaf. The spectra of sample ratio 5:10 and 10:10 there a band broadening and increase absorption intensity.

ملخص

لبلة، ألف خميرة. ٢٠١٦. اختبار نشاط مضاد سرطان الثدي T47D بخلاصة ورقة سيرساکمحل في زيوليت NaX. البحث الجامعي. قسم علم الكيمياء. كلية العلوم والتكنولوجيا. جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج. المشرفة ١: إيلوك كاملة حياتي الماجستير. المشرف ٢: أحمد حنفي الماجستير. المستشار: سوسي نور الخالفة الماجستير.

الكلمة الرئيسية: *Annona Muricata* Linn، زيوليت NaX، التصميم، MTT

كانت ورقة سيرساک (*Annona Muricata* Linn) معروفة لها نشاط مضاد السرطان بطريقة *in-vitro*. بالإضافة إلى ذلك، يُعرف زيوليت يستطيع أن يتحمل المجمع لأن له البنية المسامية والفضاء فيه الجزئيات الأخرى. يهدف هذا البحث لمعرفة تأثير خلاصة إيتانول ورقة السيرساک المتحلل في زيوليت ونسبة التصميم الفعال في ضغط نمو خلية السرطان بطريقة *in-vitro*. كان دُقائق ورقة السيرساک خُصص بالتغميس استخدام إيتانول ٩٥ ٪. خلاصة إيتانول ورقة سيرساک التي حُملت على زيوليت NaX بمنهج التصميم. أنواع نسبة الخلاصة المحمل على زيوليت NaX المستخدمة وهي ١٠:١ و ١٠:٥ و ١٠:١٠. كل العينات من نتيجة التصميم، وخلاصة إيتانول ورقة سيرساک، و زيوليت NaX تختبر مضاد السرطان بطريقة *in-vitro* بمنهج MTT. وقِيمَ بالتحليل ب FTIR على العينات من نتيجة التحميل لمعرفة فرق تركيب زيوليت قبل أن قِيمَ بالتحميل وبعده. كان نتائج اختبار نشاط مضاد السرطان بمنهج MTT تدل على نتيجة IC_{50} في عينة خلاصة إيتانول ورقة السيرساک وهي $165240 \mu g/mL$. وقيام التحمل لم يدل على التأثير الجيد، بسبب عينة زيوليت والعينة من نتيجة التصميم لها $IC_{50} > 1000 ppm$. يدل على أن العينة ليس لها النشاط في ضغط نمو خلية السرطان T47D. نتيجة التحليل ب FTIR تدل على الرسم البياني في جميع العينات من نتيجة التحمل يهيمن على زيوليت NaX. وظهر الرقم الجديد في الموجة $1380 cm^{-1}$ الذي يدل على مجموعة C-H من خلاصة إيتانول ورقة السيرساک. وفي عينة ١٠:١ و ١٠:٥ و ١٠:١٠ وجود الرسم البياني المتوسع وزيادة الكثافة في الأرقام.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit kanker adalah penyakit yang timbul akibat pertumbuhan tidak normal sel jaringan tubuh yang berubah menjadi sel kanker. Penyakit kanker merupakan salah satu penyebab utama kematian di seluruh dunia. Kanker payudara adalah salah satu jenis kanker penyebab kematian terbesar setiap tahunnya (Kemenkes RI, 2015). Berdasarkan data *International Agency for Research on Cancer* (IARC), pada tahun 2012 diketahui bahwa penyakit kanker payudara pada penduduk perempuan memiliki presentase kasus baru tertinggi dari pada kasus baru pada penyakit kanker yang lain yaitu sebesar 43,3 %. Sedangkan presentase kasus kematian akibat kanker payudara sebesar 12,9 %.

Seiring dengan meningkatnya tingkat kematian akibat kanker, proses pengobatan juga berkembang lebih luas dengan pengobatan secara medis dan juga pengobatan secara tradisional. Kemoterapi merupakan salah satu pengobatan medis yang banyak diikuti oleh penderita kanker. Namun, pengobatan secara medis memiliki banyak efek samping yang dialami penderita kanker seperti mual dan muntah, lemas, diare, sariawan, mudah terkena infeksi, dan lain-lain (Maharani, 2009). Sedangkan pengobatan tradisional tidak memiliki efek samping jika digunakan dengan dosis yang sesuai, waktu penggunaan yang sesuai, ketepatan cara penggunaan, ketepatan telaah informasi, dan tanpa penyalahgunaan obat itu sendiri (Lusia, 2006).

Pengobatan tradisional banyak dilakukan dengan memanfaatkan tanaman-tanaman yang mengandung senyawa aktif sebagai obat. Dalam al Quran juga telah dijelaskan bahwa bagian tumbuhan yang dapat dimanfaatkan sebagai obat tercantum dalam Q.S. Assyu'ara: 7 (Savitri E, 2008):

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 tumbuhan-tumbuhan yang baik?” (Q.S. assyuara 7)

Tumbuhan yang baik dalam hal ini adalah tumbuhan yang bermanfaat bagi makhluk hidup, termasuk tumbuhan yang dapat digunakan sebagai pengobatan. Tumbuhan yang bermacam-macam jenisnya dapat digunakan sebagai obat berbagai penyakit, dan ini merupakan anugerah Allah SWT yang harus dipelajari dan dimanfaatkan seperti disebutkan dalam Q.S. Al-Jaatsiyah : 13 (Savitri E, 2008):

وَسَخَّرَ لَكُم مَّا فِي السَّمَوَاتِ وَمَا فِي الْأَرْضِ جَمِيعًا مِّنْهُ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يَتَفَكَّرُونَ ﴿١٣﴾

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

Ash-Shiddieqy (2000) menjelaskan bahwa Allah menundukkan segala yang di langit dan di bumi untuk kemaslahatan manusia. Manusia dengan kekuatan akal dan pikiran yang diberikan kepada Allah dapatlah memanfaatkan alam untuk mencapai tujuan-tujuannya. Sesungguhnya yang demikian itu terdapat tanda-tanda kekuasaan Allah bagi orang yang suka berfikir. Sehingga kita yang menuju insan Ulul Albab hendaknya memiliki pemahaman yang mendalam serta berfikiran tajam terhadap apa yang telah Allah anugerahkan. Penundukan tersebut secara potensial terlaksana melalui hukum-hukum alam yang ditetapkan Allah SWT dan kemampuan yang dianugerahkan-Nya kepada manusia. Ini berarti manusia berpotensi mengetahui rahasia alam raya dan mengantarkan manusia untuk memanfaatkan alam yang telah ditundukkan oleh Allah (Shihab, 2002).

Salah satu tanaman yang bermanfaat sebagai antikanker yaitu daun sirsak. Sirsak (*Annona Mucirata L*) digunakan sebagai tanaman obat. Salah satu family *annonaceae* ini mengandung senyawa *acetogenin* yang diduga memiliki potensi sitotoksik yang juga dapat berpotensi sebagai antikanker. *Acetogenin* merupakan inhibitor kuat dari kompleks I mitokondria atau NADH dehidrogenase. Zat ini akan mengakibatkan penurunan produksi ATP yang akan menyebabkan kematian sel kanker (Retnani, 2011). Selain itu, daun sirsak juga mengandung alkaloid, tannin dan flavonoid yang merupakan senyawa setabolit sekunder yang berpotensi menghambat pertumbuhan sel kanker (Lim, 2012 dalam Arifanti, 2014).

Rachmani (2012) melakukan penelitian tentang aktivitas daun sirsak pada sel kanker T47D. Hasil penelitiannya menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun sirsak memiliki aktivitas sitotoksik pada sel kanker T47D dengan IC_{50} sebesar 17,149 $\mu\text{g/mL}$ dan fraksinasi menggunakan etil asetat memiliki nilai IC_{50} sebesar

31,268 $\mu\text{g/mL}$. Gavamukulya (2014) juga melakukan penelitian tentang ekstrak daun sirsak sebagai antikanker dan antioksidan yang hasilnya juga positif menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun sirsak mempunyai sifat sitotoksik pada sel kanker carcinoma dan payudara dengan nilai IC_{50} sebesar 335,85 $\mu\text{g/mL}$ dan 248,77 $\mu\text{g/mL}$. Tanaman srikaya yang juga family *annonaceae* terbukti memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel T47D dengan nilai IC_{50} sebesar 74,989 $\mu\text{g/mL}$ (Rachma, 2012). Bagian tanaman sirsak yang sering di manfaatkan adalah daunnya. Hal ini dikarenakan jumlahnya yang banyak sehingga lebih mudah untuk didapatkan.

Selain tumbuhan, telah dilakukan penelitian mengenai potensi zeolit sebagai antikanker. Zeolit merupakan kelompok mineral aluminum silikat terhidrasi dari logam alkali dan alkali tanah yang sering digunakan sebagai katalis, untuk menyerap ion dan juga menukar ion. Zeolit alam dan zeolit sintetis umumnya memiliki sifat fisika dan sifat kimia yang sama (Saputra, 2005).

Micronized Zeolite Clinoptilolite (MZ) yang merupakan zeolit alam dengan struktur nano kristal telah digunakan untuk penelitian secara *in-vitro* dengan langsung menambahkan MZ ke dalam media sel kanker HeLa dan MiaPaca-2. Hasil penelitiannya menunjukkan bahwa MZ dapat menghambat proliferasi sel meskipun dengan konsentrasi yang sangat sedikit (Zarkovic, 2003). Penelitian lain dengan menggunakan zeolit sintetis X dan Y telah dilakukan oleh Ghazi (2013), zeolit X dan Y dapat menghambat proliferasi sel kanker dan mengurangi sel viability secara *in- vitro*. Sel kanker dibudidayakan dan diobati dengan 50mg/ml zeolit X dan Y dengan penambahan 5 % suplemen FBS (*fetal bovine*

serum) memberikan aktivitas yang tinggi dalam penghambatan proliferasi sel kanker dan mengurangi sel viabilitas secara *in-vitro* yaitu sebesar 70,6 %.

Zeolit dapat digunakan sebagai *Drug Delivery System* atau sistem pembawa obat karena zeolit mempunyai struktur dan komposisi yang teratur dengan rongga dan saluran. Adanya pori, saluran dan rongga menyebabkan zeolit dapat digunakan sebagai pengemban atau matriks molekul obat. Amorin (2012) telah melakukan penelitian dengan menggunakan zeolit NaY dan NaA sebagai pengemban senyawa kanker CHC (*α -cyano-4-hydroxycinnamic acid*) dan diujikan terhadap sel kanker carcinoma. Berdasarkan hasil penelitian Amorin, dapat dibandingkan efektivitas kemampuan antara zeolit NaY, senyawa CHC, dan senyawa CHC yang diemban oleh Zeolit dalam menghambat pertumbuhan sel kanker. Hasil yang didapatkan menunjukkan bahwa zeolit NaY sebagai kontrol dengan konsentrasi sebesar 0,25 ppm mampu menghambat viabilitas sel sebesar 5-10 %. Senyawa CHC yang tidak diemban zeolit dengan konsentrasi 0,03 ppm mampu menghambat viabilitas sel sebesar 30 %. Sedangkan saat senyawa CHC diemban dalam Zeolit NaY 0,05 mg/ml, konsentrasi yang dibutuhkan oleh senyawa CHC untuk menghambat 26% viabilitas sel hanyalah 5×10^{-5} ppm. Penelitian yang dilakukan amorin ini menggunakan 3 variasi perbandingan yaitu CHC@NaY 1:10 mampu menghambat viabilitas sel sebesar 48 %, sedangkan CHC@NaY 2:10 dan CHC@NaY 5:10 mampu menghambat 40 %.

Efektivitas zeolit dengan konsentrasi tetap dan senyawa CHC dalam menghambat viabilitas sel semakin meningkat dengan semakin besarnya konsentrasi senyawa yang CHC yang ditambahkan. Kombinasi dengan konsentrasi CHC 0,11 mg/mL dalam 0,05 mg/mL NaY mampu menghambat

viabilitas sel sebesar 40 % (dari 100 % menjadi 60 %) dan dengan konsentrasi zeolit yang sama yang mengemban senyawa CHC 0,28 mg/mL mampu menghambat viabilitas sel sebesar 48 % (Amorin, 2012). Begitu pula saat zeolit NaY mengemban suatu obat kanker 5-fluorouracil dan di ujikan terhadap sel kanker HTC-15, aktivitasnya dalam menghambat pertumbuhan sel kanker lebih besar daripada saat obat tidak di emban dalam zeolit. Hal tersebut ditunjukkan dengan nilai IC₅₀ obat 5-FU@NaY sebesar 0,31 mM, sedangkan nilai IC₅₀ obat 5-FU sebesar 0,61 mM (vilaca, 2013). Berdasarkan hasil tersebut diketahui bahwa senyawa zeolit sangat berpengaruh dalam proses penghambatan pertumbuhan sel kanker.

Penelitian lebih lanjut mengenai aktivitas kombinasi zeolit dengan senyawa lain perlu dilakukan. Oleh karena itu, dilakukan penelitian uji aktivitas kombinasi ekstrak etanol daun sirsak dengan zeolit untuk mengetahui aktivitas kombinasi dalam menghambat pertumbuhan sel kanker secara *in-vitro*. Penelitian ini dilakukan dengan membuat ekstrak daun sirsak dengan pelarut etanol. Kemudian diembankan pada zeolit yang berperan sebagai pengemban ekstrak atau *Drug Delivery System* (system pembawa obat). Setelah itu secara *in-vitro* dilakukan uji aktivitasnya sebagai antikanker pada sel kanker T47D.

1.2 Rumusan masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan di atas, rumusan masalah pada penelitian ini antara lain:

1. Bagaimana pengaruh ekstrak daun sirsak yang diembankan pada Zeolit NaX terhadap sel kanker payudara T47D?

2. Perbandingan rasio ekstrak daun sirsak yang diimbangkan pada zeolit NaX berapa yang efektif menghambat pertumbuhan sel kanker T47D?

1.3 Tujuan penelitian

Berdasarkan rumusan masalah di atas, maka tujuan penelitian ini antara lain:

1. Untuk mengetahui pengaruh ekstrak daun sirsak yang diimbangkan pada zeolit NaX sebagai antikanker payudara T47D.
2. Untuk mengetahui rasio ekstrak daun sirsak yang diimbangkan pada zeolit NaX yang efektif menghambat pertumbuhan sel kanker T47D.

1.4 Batasan Masalah

Batasan masalah pada penelitian ini adalah:

1. Sampel yang digunakan adalah daun sirsak (*Annona Mucirata L*) yang didapatkan dari perkebunan di Malang Jawa Timur.
2. Metode ekstraksi yang digunakan adalah metode ekstraksi maserasi.
3. Ekstrak daun sirsak yang digunakan adalah ekstrak kasar dan tidak ditentukan struktur senyawanya.
4. Zeolit yang digunakan adalah zeolit sintetis yang didapatkan dari peneliti di Laboratorium Kimia Anorganik UIN Maliki Malang.
5. Perbandingan rasio ekstrak daun sirsak (EDS) yang diimbangkan pada zeolit NaX yang digunakan adalah EDS@NaX1:10, EDS@NaX 5:10, EDS@NaX 10:10.

1.5 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah kepada masyarakat mengenai kemampuan daun sirsak dan juga zeolit sebagai agen antikanker sehingga dapat dikembangkan sebagai obat antikanker.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Penyakit Kanker Payudara

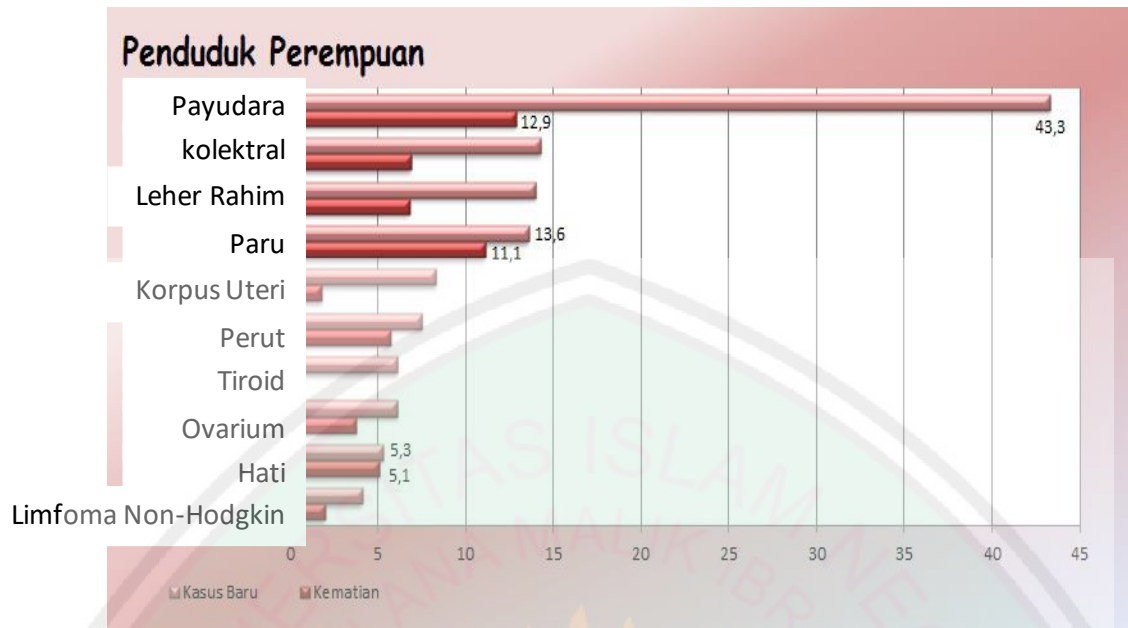
Penyakit kanker merupakan salah satu penyebab kematian utama di seluruh dunia. Pada tahun 2012, sekitar 8,2 juta kematian disebabkan oleh kanker. Penyakit kanker yang sering menyebabkan kematian pada tiap tahunnya adalah kanker paru, kanker hati, perut, kolorektal, dan kanker payudara (Kemenkes RI, 2015). Kanker adalah suatu penyakit akibat pertumbuhan abnormal sel-sel jaringan tubuh. Pertumbuhan sel kanker terjadi sangat cepat, tidak terkendali dan terus membelah diri. Sel kanker tersebut kemudian menyusup dan menyerang jaringan-jaringan sekitarnya melalui jaringan ikat, darah serta organ-organ penting dan saraf tulang belakang. Kanker dapat terjadi di berbagai jaringan dalam berbagai organ di setiap tubuh, mulai dari kaki sampai kepala. Bila kanker terjadi di bagian permukaan tubuh, akan mudah diketahui dan diobati. Namun, bila terjadi di dalam tubuh, kanker itu akan sulit diketahui dan kadang-kadang tidak memiliki gejala dan gejala muncul jika sudah mencapai stadium lanjut sehingga sulit diobati (Maharani, 2009).

Proses pengobatan Kanker berkembang lebih luas dengan adanya pengobatan secara medis dan juga pengobatan secara tradisional. Kemoterapi merupakan salah satu pengobatan medis yang banyak diikuti oleh penderita kanker. Namun, pengobatan secara medis memiliki banyak efek samping yang dialami penderita kanker seperti mual dan muntah, lemas, diare, sariawan, mudah terkena infeksi, dan lain-lain. Sedangkan pengobatan tradisional tidak memiliki

efek samping jika digunakan dengan dosis yang sesuai, waktu penggunaan yang sesuai, ketepatan cara penggunaan, ketepatan telaah informasi, dan tanpa penyalahgunaan obat itu sendiri (Lusia, 2006).

Kanker payudara adalah penyakit yang ditandai dengan terjadinya pertumbuhan berlebihan atau perkembangan tidak terkendali dari sel-sel atau jaringan payudara. Gejala awal kanker payudara ini biasanya diketahui saat adanya benjolan aneh disekitar jaringan payudara atau salah satu payudara tampak lebih besar. Pada mulanya tidak timbul rasa sakit pada benjolan ini, namun saat benjolan mulai membesar akan timbul rasa sakit dan nyeri yang tidak kunjung hilang saat benjolan ditekan. Salah satu tanda penting adanya kanker payudara adalah puting susu yang mengkerut ke dalam. Puting itu juga semula berwarna merah muda, tapi kemudian menjadi kecoklatan dan membengkak (Maharani, 2009).

Kanker payudara merupakan penyakit kanker yang menjadi penyebab kematian paling tinggi di Indonesia. Kanker payudara ini banyak menyerang perempuan berusia antara usia 18 sampai 54 dan banyak kematian akibat kanker payudara terjadi pada perempuan usia 45-50 (Lee, 2008). Menurut data GLOBOCAN (IARC) tahun 2012 diketahui bahwa penyakit kanker payudara pada penduduk perempuan memiliki presentase kasus baru tertinggi dari pada kasus baru pada penyakit kanker yang lain yaitu sebesar 43,3 %. Sedangkan presentase kasus kematian akibat kanker payudara sebesar 12,9% seperti yang terlihat pada Gambar 1.1.



Gambar 2.1 Presentase kasus baru dan kematian akibat kanker pada penduduk perempuan. Sumber: globocan, IARC, 2012

2.2 Tanaman Sirsak

Sirsak, nangka belanda, atau durian belanda (*annona muricata*) adalah tumbuhan berguna yang berasal dari Karibia, Amerika Tengah, dan Amerika Selatan. Pohon tanaman sursak mencapai 3-8 m, daun memanjang, bentuk lanset atau bulat telur terbalik, ujung meruncing pendek, seperti kulit dengan panjang 6-18 cm. Daun kelopak dan daun mahkota yang terluar dalam kuncup tersusun seperti katup dengan benang sari sangat banyak. Memiliki biji buah berwarna hitam dan daging buah berwarna putih. Buah majemuk tidak beraturan dengan bentuk telur miring atau bengkok dan panjang buah 10-15 cm (Steenis, 2006).

Menurut putri (2013) klasifikasi ilmiah atau taksonomi tanaman sirsak (*annona muricata*) adalah sebagai berikut :

Kingdom : Plantae (tumbuhan)

Subkingdom : tracheobionta (tumbuhan berpembuluh)

Divisi	: Spermatophyta (menghasilkan biji)
Sub divisi	: Angiospermae (tumbuhan berbunga)
Kelas	: Dicotyledonae (berkeping dua/dikotil)
Ordo	: Polycarpiceae
Familia	: Annonaceae
Genus	: Annona
Spesies	: Annona muricata L.

Morfologi dari daun sirsak adalah berbentuk bulat dan panjang, dengan bentuk daun menyirip dengan ujung daun meruncing, permukaan daun mengkilap, serta berwarna hijau muda sampai hijau tua. Terdapat banyak putik di dalam satu bunga sehingga diberi nama bunga berpistil majemuk. Sebagian bunga terdapat dalam lingkaran, dan sebagian lagi membentuk spiral atau terpencah, tersusun secara hemisiklis. Mahkota bunga yang berjumlah 6 sepalum yang terdiri dari dua lingkaran, bentuknya hampir segitiga, tebal, dan kaku, berwarna kuning keputih-putih, dan setelah tua mekar dan lepas dari dasar bunganya. Bunga umumnya keluar dari ketiak daun, cabang, ranting, atau pohon bentuknya sempurna (hermaprodit) (Sunarjono, 2005).

2.2.1 Kandungan Daun Sirsak (*Annona Muricata* Linn)

Buah sirsak memang menawarkan berbagai kandungan positif bagi kesehatan manusia, mulai dari buahnya, daunnya, bahkan pohonnya. Telah banyak diketahui bahwa buah sirsak banyak mengandung vitamin C, kandungan serat dan nutrisi penting lainnya banyak terkandung dalam buah yang banyak ditemui di Negara tropis ini. Indonesia merupakan salah satu Negara yang mempunyai pohon

sirsak yang banyak. Tapi pemanfaatannya hanya sebatas pada buahnya saja, ini karena kurangnya pengetahuan tentang manfaat lain dari bagian tumbuhan sirsak (Sunarjono, 2005).

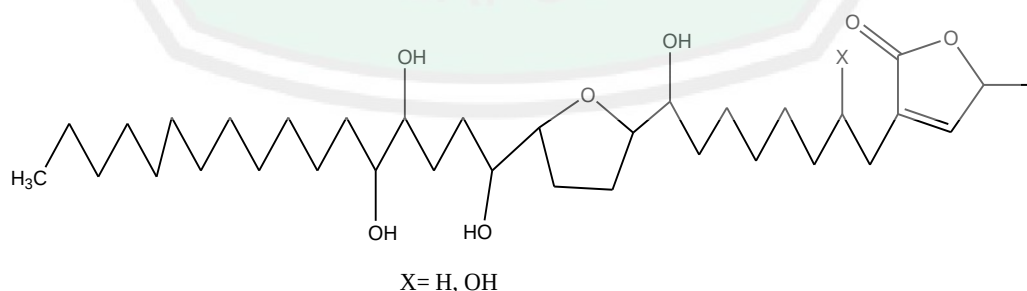
Menurut Mangan (2009) kandungan daun sirsak meliputi alkaloid, flavonoid, tannin, kalsium, fosfor, hidrat arang, vitamin (A, B, dan C), fitosterol dan Ca-oksalat. Daun sirsak mengandung senyawa *acetogenin*, minyak esensial, reticuline, loreximine, coclaurine, annomurine, higenamin. Febriani (2015) melakukan penelitian dengan mengkarakterisasi ekstrak etanol 95 % daun sirsak melalui uji fitokimia. Hasil yang dilakukan menunjukkan ekstrak etanol daun sirsak mengandung alkaloid, flavonoid, tannin, kuinon, triterpenoid, steroid dan polifenolat.

Acetogenins merupakan senyawa yang memiliki potensi sitotoksik. Senyawa sitotoksik adalah senyawa yang dapat bersifat toksik untuk menghambat dan menghentikan pertumbuhan sel kanker (Mardiana, 2011). *Acetogenins* merupakan inhibitor kuat dari kompleks I mitokondria atau *NADH dehidrogenase*. Zat ini akan mengakibatkan penurunan produksi ATP yang akan menyebabkan kematian sel kanker, lalu kemudian memicu terjadinya aktivasi jalur apoptosis serta mengaktifkan p53 yang dapat menghentikan siklus sel untuk mencegah terjadinya proliferasi tak terkendali (Retnani, 2011).

Annonaceae merupakan family terbesar dari Ordo magnoliales yang menghasilkan berbagai tumbuhan buah seperti sirsak, *paw-paw*, *ylang-ylang*, *cherimoya*, dan *lancewood*. *Annonaceae* memiliki lebih dari 2100 spesies dan tumbuh di sepanjang Negara tropis yang berupa dataran rendah pada hutan hujan tropis di Asia dan Afrika. Tanaman ini memiliki hama yang sedikit dan spesifik,

hal ini dikarenakan kandungan acetogenin yang cukup tinggi dan beracun sehingga tanaman ini dapat melindungi diri mereka sendiri. Salah satu jenis hama ini adalah kupu-kupu berjenis *Eurytides Marcellus* dimana larvanya memakan daun yang mengandung *annonaceous acetogenin* ini kemudian diambil dari daun *Asimina triloba*. Studinya menunjukkan bahwa kupu-kupu ini memiliki pertahanan diri secara kimia terhadap predator burung karena memakan kandungan daun yang mengandung *annonaceous acetogenin* (Martin dkk, 1999 dalam Villo, 2008).

Annonaceous acetogenin merupakan kelompok dari produk alami poliketida yang diisolasi dari tanaman famili *Annonaceae*. Sifat umum dari molekul ini adalah berupa rantai panjang asam lemak sepanjang 35 atau 37 karbon yang diakhiri oleh sebuah γ -lakton. Secara biogenetik, *annonaceous acetogenin* diturunkan dari asam lemak dengan 32 atau 24 karbon yang kemudian ditambahkan dua unit 2-propanol untuk membentuk lakton pada ujung molekul (Zang *et al*, 1996 dalam Wijaya, 2012). Gambar struktur umumnya data dilihat pada Gambar 2.2.



Gambar 2.2 Struktur Umum dari *Annonaceous Acetogenin* (Sumber: Gorman, 2008)

Tambahan lainnya seperti ikatan ganda atau tripel, olefin, hidroksil, keton atau separuh epoksida seperti cincin tetrahydrofuran (THF) atau tetrahidropiran

(THP) (Gallimore, 2008 dalam Wijaya, 2012). *Annonaceous acetogenin* dihipotesis diturunkan dari poliketida, dimana cincin THF, THP, dan epoksida berasal dari ikatan ganda yang terisolasi karena reaksi epoksidasi dari reaksi siklik (Alali *et al*, 1999 dalam Wijaya, 2012).

Beberapa penemuan *annonaceous acetogenin* dari daun sirsak dapat dilihat pada Tabel 2.1 dan 2.2.

Tabel 2.1 *Annonaceous Acetogenin* dari *Annona muricata*

Sumber	Nama
Biji	Epomuricenin-A (or epoxymurin-A)
	Epomuricenin-B
	Diepomuricanin-A
	Corepoxylone
	Solamin
	Murisolin
	Corossolin
	Corossolone
	Gigantetrocin-B
	Muricatetrocin-A/B
Kulit Kayu	Epoxymurin-A (or epomuricenin-A)
	Epoxymurin-B
	Muricatin-C, B, A
Daun	Annomuricin-A
	Annomuricin- B

(Sumber: Zafra-polo *et al*, 1996)

Tanaman sirsak ini telah ditemukan mengandung lebih dari 50 jenis *annonaceous acetogenin* dari 18 jenis di antaranya ditemukan pada bagian daun sirsak (Geum Soog *et al*, 1998 dalam Wijaya, 2012). *Annonaceous acetogenin* dari daun ini telah diteliti sifat sitotoksiknya oleh peneliti luar negeri dan dalam negeri. Sifatnya yang sitotoksik terhadap beberapa jenis sel kanker, seperti kanker paru-paru, usus besar, pancreas, dan prostat telah diteliti dan diterapkan pada berbagai pengobatan tradisional terutama di Indonesia (Lu Zeng *et al*, 1996 dalam Sudjari *et al*, 2005).

Tabel 2. 2 Jenis Annonaceous Acetogenin dalam daun *Annona muricata*

No	Nama	Rumus Molekul	Berat Molekul
1	Annomutacin	$C_{37}H_{68}O_7$	624
2	Annomuricin-A/B	$C_{35}H_{64}O_8$	612
3	Muricatocin-B	$C_{35}H_{64}O_8$	612
4	Annomuricin-C	$C_{35}H_{64}O_8$	612
5	Annohexocin	$C_{35}H_{64}O_9$	628
6	Muricatocin-E	$C_{35}H_{64}O_8$	619
7	Muricapentocin	$C_{35}H_{64}O_8$	619
8	Murihexocin -A/B	$C_{35}H_{65}O_9$	635
9	Annopentocin-A/B/C	$C_{35}H_{64}O_8$	613
10	Miricoreacin	$C_{35}H_{65}O_9$	635
11	Murihexocin-C	$C_{35}H_{65}O_9$	635
12	Cis-Annomuricinone-D	$C_{35}H_{64}O_8$	613
13	Trans-Annomuricinone-D	$C_{35}H_{64}O_8$	613

(Sumber: Bermejo, 2005)

2.2.2 Potensi Daun Sirsak Sebagai Antikanker

Daun sirsak dimanfaatkan sebagai pengobatan alternatif untuk pengobatan kanker, yakni dengan mengkonsumsi air rebusan daun sirsak. Selain untuk pengobatan kanker, tanaman sirsak juga dimanfaatkan untuk pengobatan demam, diare, anti kejang, anti jamur, anti parasit, anti mikroba, sakit pinggang, asam urat, gatal-gatal, bisul, flu, dan lain lain (Mardiana, 2011). Allah telah berfirman dalam al Quran surat Luqman ayat 10 (Shihab, 2002):

خَلَقَ السَّمَوَاتِ بِغَيْرِ عَمَدٍ تَرْوَاهَا ۚ وَالْأَرْضِ رَوْسِي أَنْ تَمِيدَ بِكُمْ وَبَثَّ

فِيهَا مِنْ كُلِّ دَابَّةٍ ۚ وَأَنْزَلْنَا مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿١٠﴾

“Dia menciptakan langit tanpa tiang yang kamu melihatnya dan Dia meletakkan gunung-gunung (di permukaan) bumi supaya bumi itu tidak menggoyangkan kamu; dan memperkembang biakkan padanya segala macam jenis binatang dan Kami turunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan padanya segala macam tumbuh-tumbuhan yang baik” (QS. Luqman: 10).

Kata (كَرِيم) *karîm* pada ayat di atas digunakan untuk mensifati segala sesuatu yang baik sesuai objeknya. Rizqi yang *karîm* adalah yang banyak, halal dan bermanfaat. Sehingga pasangan kata tumbuhan yang *karim* adalah tumbuhan yang tumbuh subur dan menghasilkan apa yang diharapkan dari penanamnya (Shihab, 2002). Salah satu hal yang diharapkan dari tanaman adalah manfaatnya sebagai tanaman obat. Tumbuhan yang bermacam-macam jenisnya dapat digunakan sebagai obat berbagai penyakit, begitupun tanaman sirsak yang juga bermanfaat untuk mengobati berbagai penyakit.

Penelitian-penelitian tentang daun sirsak juga telah banyak dilakukan salah satunya yang telah dilakukan Rachmani (2012) tentang aktivitas daun sirsak pada sel kanker T47D. Hasil penelitiannya menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun sirsak memiliki aktivitas sitotoksik pada sel kanker T47D dengan IC_{50} sebesar 17,149 $\mu\text{g/mL}$ dan fraksinasi menggunakan etil asetat memiliki potensi sitotoksik sebesar 31,268 $\mu\text{g/mL}$. Gavamukulya (2014) juga melakukan penelitian tentang ekstrak etanol daun sirsak sebagai antikanker dan antioksidan yang hasilnya juga positif menunjukkan bahwa ekstrak daun sirsak mempunyai sifat sitotoksik pada sel kanker carcinoma dan payudara dengan nilai IC_{50} sebesar 335,85 $\mu\text{g/mL}$ dan 248,77 $\mu\text{g/mL}$.

2.3 Zeolit

Zeolit adalah mineral kristal alumina silikat berpori terhidrat yang mempunyai struktur kerangka tiga dimensi terbentuk dari tetrahedral $[\text{SiO}_4]^{4-}$ dan $[\text{AlO}_4]^{5-}$. Kedua tetrahedral di atas dihubungkan oleh atom-atom oksigen, menghasilkan struktur tiga dimensi terbuka dan berongga yang didalamnya diisi

oleh atom-atom logam biasanya logam-logam alkali atau alkali tanah dan molekul air yang dapat bergerak bebas (Breck, 1974; Chetam, 1992; Scot *et al.*, 2003).

Ada dua jenis zeolit yaitu :

2.3.1 Zeolit Sintetik

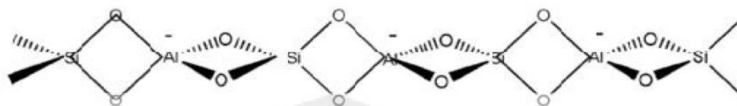
Zeolit sintetik adalah zeolit yang dibuat secara rekayasa yang sedemikian rupa sehingga didapatkan karakter yang lebih baik dari zeolit alam. Prinsip dasar produksi zeolit sintetik adalah komponennya yang terdiri dari silika dan alumina, sehingga dapat disintesis dari berbagai bahan baku yang mengandung kedua komponen di atas. Komponen minor dalam zeolit juga dapat ditambahkan dengan mudah menggunakan senyawa murni, sehingga zeolit sintetik memiliki komposisi yang tetap dengan tingkat kemurnian yang tinggi. Dengan perkembangan penelitian, dewasa ini telah dikenal beragam zeolit sintetik, dan beberapa diantaranya disajikan dalam Tabel 2.3.

Tabel 2.3. Rumus oksida beberapa jenis zeolit sintetik (Georgiev *et al.*, 2009)

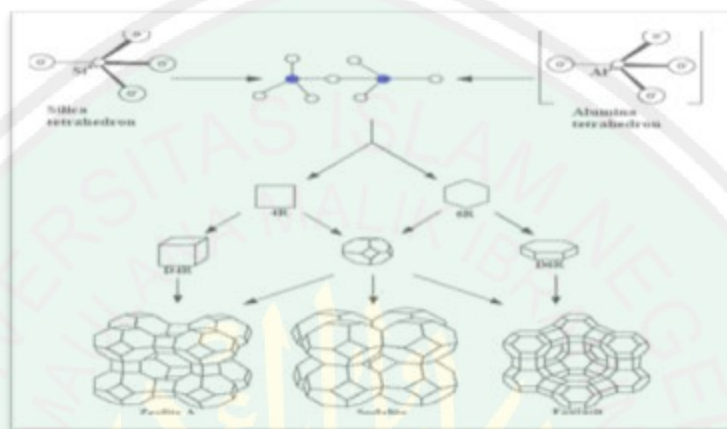
Zeolit	Rumus Oksida
Zeolit A	$\text{Na}_2\text{O} \cdot \text{Al}_2\text{O}_3 \cdot 2\text{SiO}_2 \cdot 4,5\text{H}_2\text{O}$
Zeolit N-A	$(\text{Na}, \text{TMA})_2\text{O} \cdot \text{Al}_2\text{O}_3 \cdot 4,8\text{SiO}_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ TMA – $(\text{CH}_3)_4\text{N}^+$
Zeolit H	$\text{K}_2\text{O} \cdot \text{Al}_2\text{O}_3 \cdot 2\text{SiO}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$
Zeolit L	$(\text{K}_2\text{Na}_2)\text{O} \cdot \text{Al}_2\text{O}_3 \cdot 6\text{SiO}_2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$
Zeolit X	$\text{Na}_2\text{O} \cdot \text{Al}_2\text{O}_3 \cdot 2,5\text{SiO}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$
Zeolit Y	$\text{Na}_2\text{O} \cdot \text{Al}_2\text{O}_3 \cdot 4,8\text{SiO}_2 \cdot 8,9\text{H}_2\text{O}$
Zeolit P	$\text{Na}_2\text{O} \cdot \text{Al}_2\text{O}_3 \cdot 2-5\text{SiO}_2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$
Zeolit O	$(\text{Na}, \text{TMA})_2\text{O} \cdot \text{Al}_2\text{O}_3 \cdot 7\text{SiO}_2 \cdot 3,5\text{H}_2\text{O}$ TMA – $(\text{CH}_3)_4\text{N}^+$
Zeolit Ω	$(\text{Na}, \text{TMA})_2\text{O} \cdot \text{Al}_2\text{O}_3 \cdot 7\text{SiO}_2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ TMA – $(\text{CH}_3)_4\text{N}^+$
Zeolit ZK-4	$0,85\text{Na}_2\text{O} \cdot 0,15(\text{TMA})_2\text{O} \cdot \text{Al}_2\text{O}_3 \cdot 3,3\text{SiO}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$
Zeolit ZK-5	$(\text{R}, \text{Na}_2)\text{O} \cdot \text{Al}_2\text{O}_3 \cdot 4-6\text{SiO}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$

Umumnya struktur zeolit adalah suatu polimer anorganik berbentuk tetrahedral unit TO_4 , dimana T adalah Si^{4+} atau Al^{3+} dengan atom O berada

diantara dua atom T, seperti ditunjukkan dalam Gambar 2.3 dan Pembentukan SBU zeolit faujasit pada Gambar 2.4.



Gambar 2.3 Struktur kimia zeolit (Haag, 1984)

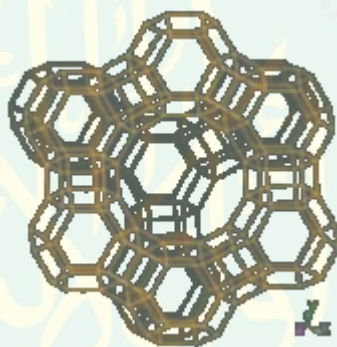


Gambar 2.4 Unit struktur zeolit A, sodalit dan faujasit (Masoudian, dkk., 2013)

Struktur zeolit *faujasite* terdiri dari muatan negatif, kerangka tiga dimensi *tetrahedral* SiO_4 dan AlO_4 yang bergabung membentuk *oktahedral* terpancung (*sodalite*). Jika 6 buah *sodalite* terhubung oleh prisma *hexagonal* akan membentuk tumpukan *tetrahedral*. Jenis tumpukan ini membentuk lubang besar (*supercages*) dan berdiameter $13\text{\AA}$. Lubang-lubang (*supercages*) dapat terbentuk dari 4 kristal *tetrahedral* yang tersebar, yang masing-masing mempunyai 12 cincin oksigen dan berdiameter $7,4\text{ \AA}$. Lubang-lubang tersebut bila saling bersambung (12) maka akan membentuk sistem pori-pori yang besar dari zeolit. Setiap atom aluminium di koordinat *tetrahedral* dalam kerangka membawa muatan negatif (Szostak, 1989).

2.3.2 Zeolit X

Zeolit X merupakan tipe zeolit sintetis yang termasuk dalam kelompok Faujasit (FAU) karena mempunyai topologi struktur kerangka yang sama walaupun keduanya merupakan spesi zeolit dengan karakteristik yang berbeda (Kurniawan, 2006). Menurut Widati, dkk. (2010) rumus molekul dari zeolit X sintesis adalah $\text{Na}_{86}[(\text{AlO}_2)_{86}(\text{SiO}_2)_{106}]\cdot 264\text{H}_2\text{O}$. Zeolit X dapat digunakan pada berbagai aplikasi terutama dalam industri karena stabilitas yang sangat baik dari struktur kristalnya serta jumlah pori dan luas permukaan yang besar (Kwakye, 2008). Struktur zeolit X sebagai berikut dalam gambar 2.3.



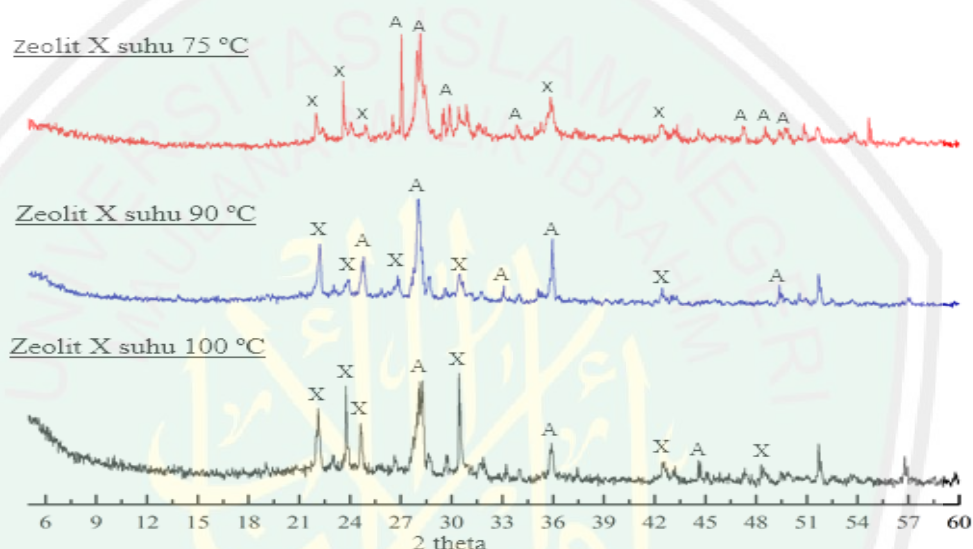
Gambar 2.5 Bentuk Zeolit X (Riyanto, 2007)

Karakterisasi zeolit X yang akan digunakan antara lain:

1. X-ray Diffraction (XRD)

XRD dapat digunakan untuk analisis komposisi fasa atau senyawa pada material dan juga karakterisasi kristal. Prinsip dasar XRD adalah mendifraksi cahaya yang melalui celah kristal. Difraksi cahaya oleh kisi-kisi atau kristal ini dapat terjadi apabila difraksi tersebut berasal dari radius yang memiliki panjang gelombang yang setara dengan jarak antar atom, yaitu sekitar 1 Angstrom (Alfaruqi, 2008). Fase padatan sintesis diidentifikasi dengan membandingkan

langsung dengan referensi yang diambil dari *collection of simulated XRD powder patterns for zeolites* (Treacy dan Higgins, 2001; Cheng, dkk., 2005). Analisis XRD dilakukan pada kondisi operasi radiasi $\text{CuK}\alpha$ pada sudut $2\theta = 5 - 60^\circ$. Hasil XRD dari sintesis zeolit X dengan variasi suhu hidrotermal pada rasio $\text{SiO}_2/\text{Al}_2\text{O}_3$ 2 ditunjukkan pada Gambar 2.4



Gambar 2.6 Hasil difraktogram sintesis zeolit X variasi suhu 75, 90 dan 100 °C pada rasio $\text{SiO}_2/\text{Al}_2\text{O}_3$ sebesar 2 (Sumber: Aditama, 2016)

Berdasarkan Gambar 2.6 menunjukkan hasil analisis XRD yang mempunyai tingkat kemurnian yang berbeda setiap suhu hidrotermalnya. Gambar 2.6 menunjukkan bahwa keempat produk hasil sintesis zeolit yang mendominasi zeolit X yaitu pada suhu 100 °C. Selain itu, pada suhu ini juga memiliki puncak zeolit X dengan intensitas relatif yang tinggi sebesar 100 % dibandingkan dengan suhu 75 dan 100 °C. Intensitas paling tinggi adalah produk hasil sintesis zeolit pada suhu 90 °C dari yang lain. Namun, secara kualitatif dapat disimpulkan bahwa puncak zeolit X yang semakin banyak seiring dengan bertambah besarnya suhu proses kristalisasi (Aditama, 2016).

Analisis kualitatif zeolit X, tingkat kemurnian berkaitan dengan jumlahnya puncak zeolit X yang terbentuk. Semakin banyak puncak zeolit X yang terbentuk, maka semakin besar juga kemurniannya. Namun, Analisis Kuantitatif komposisi penyusun terbentuknya zeolit juga perlu dilakukan untuk mengetahui persentase kemurnian dari tipe zeolit. Berdasarkan data hasil analisis XRD diperoleh bahwa semua produk sintesis terbentuk dua tipe zeolit yaitu zeolit A dan zeolit X. Hasil analisis kuantitatif komposisi penyusun produk sintesis ditunjukkan pada Tabel 2.4 (Aditama, 2016).

Tabel 2.4 Hasil analisis kuantitatif komposisi penyusun produk sintesis (Aditama, 2016)

Produk Sintesis	Komposisi Penyusun (%)	
	Zeolit A	Zeolit X
Zeolit pada suhu 75 °C	74,39	25,71
Zeolit pada suhu 90 °C	55,27	44,73
Zeolit pada suhu 100 °C	29,74	70,26

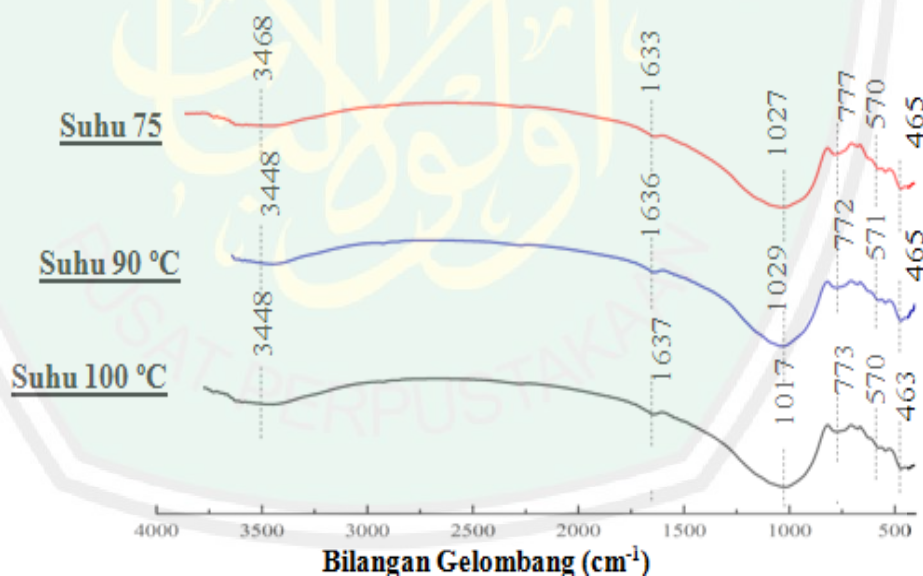
Berdasarkan Tabel 2.4 diperoleh persentase komposisi penyusun pada setiap produk sintesis berbeda-beda. Persentase kemurnian paling tinggi yaitu pada suhu 100 °C sebesar 70,26 % dibandingkan dengan kondisi suhu yang lain dan ukuran kristalnya 164,22 nm (Aditama, 2016).

2. *Fourier Transform Infra-Red (FTIR)*

FTIR adalah kependekan dari *Fourier Transform Infra-Red*, yaitu metode analisis material dengan menggunakan spektroskopi sinar infra merah. Sinar infra merah memiliki rentang panjang gelombang dari 2.5 μm sampai 25 μm . Adapun frekuensi sinar infra merah memiliki rentang dari 400 cm^{-1} sampai 4000 cm^{-1} . Pengujian FTIR memiliki 3 fungsi, yaitu (1) untuk mengidentifikasi material yang

belum diketahui, (2) untuk menentukan kualitas sampel, dan (3) untuk menentukan intensitas suatu komponen dalam sebuah campuran. FTIR menghasilkan data berupa grafik intensitas dan frekuensi. Intensitas menunjukkan tingkatan jumlah senyawa sedangkan frekuensi menunjukkan jenis senyawa yang terdapat dalam sebuah sampel (Alfaruqi, 2008).

Hasil spektra IR zeolit X hasil sintesis dapat ditunjukkan pada Gambar 2.7. Berdasarkan Gambar 2.7 menunjukkan bahwa hasil keempat spektra produk hasil sintesis zeolit X tidak jauh berbeda atau memiliki kemiripan. Hal ini karena pada dasarnya bahan penyusun zeolit X sama. Zeolit terdiri dari beberapa gugus seperti O-Si-O dan O-Al-O yang membentuk struktur tetrahedral yang saling berhubungan dengan lainnya membentuk kisi kristal zeolit (Aditama, 2016).



Gambar 2.7 Spektra infra merah zeolit X pada suhu 75, 90, dan 100 °C (Aditama, 2016).

Perbedaan intensitas serapan puncak-puncak (Gambar 2.7) juga menunjukkan adanya perbedaan dari pembentukan zeolit. Semakin tajam intensitas serapan maka menunjukkan semakin tinggi struktur atau gugus fungsi

yang terbentuk (Purbaningtyas dan Prasetyoko, 2010). Untuk suhu 100 °C (pada bilangan gelombang 1017 cm^{-1}) memiliki intensitas serapan yang paling tajam dibandingkan dengan suhu 75 dan 90 °C. Bilangan gelombang tersebut terjadi pembentukan ikatan O-T-O tetrahedral yang maksimal, dengan T bisa berupa Si atau Al. Hasil perbandingan interpretasinya dapat ditunjukkan pada Tabel 2.8.

Tabel 2.5 Interpretasi IR produk hasil sintesis zeolit X dengan bilangan gelombang dari gugus-gugus yang ada pada zeolit X

Interpretasi	Bilangan gelombang cm^{-1}			
	Zeolit X	75°C	90°C	100°C
Tekukan O-T-O (T= Si/Al)	420-500 ¹	465	465	463
Cincin ganda	565-580 ²	570	571	570
Regangan Simetri T-O (internal)	670-725 ³	777	772	773
Regangan Asimetri T-O (internal)	970-1020 ⁴	1027	1029	1017
Tekukan H-O-H	1600-1650 ⁵	1633	1636	1637
O-H	3100-3600 ⁶	3468	3448	3448

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

Berdasarkan Tabel 2.5 menunjukkan bahwa serapan pada hasil sintesis zeolit X pada suhu 75, 90, 100 °C yaitu dengan bilangan gelombang 570, 571, dan 570 cm^{-1} yang berada pada spektra jenis cincin ganda zeolit. Spektra pada daerah 500 – 650 cm^{-1} merupakan puncak yang sensitif terhadap perubahan struktur dan komposisi kerangka dari suatu zeolit (Sriatun, 2004). Daerah ini merupakan cincin ganda dan setiap zeolit memiliki cincin ganda yang berbeda-beda. zeolit A memiliki cincin ganda 4 (D4R) dan untuk zeolit X memiliki cincin ganda 6 (D6R).

Daerah 1650 – 1600 cm^{-1} merupakan serapan gugus O–H dari molekul air yang terserap zeolit (Tafarel dan Rubio, 2001). Vibrasi regangan dari gugus –OH ditunjukkan pada daerah bilangan gelombang 3700–3400 cm^{-1} . Adanya gugus –

OH pada kerangka zeolit menyebabkan terjadinya ikatan hidrogen dengan silika. Pita serapan yang menunjukkan serapan O–H pada silika terjadi pada daerah bilangan gelombang 3400 cm^{-1} (Socrates, 1994).

2.3.3 Potensi Zeolit Sebagai Antikanker dan *Drug Delivery System*

Seiring dengan banyaknya proses biokimia yang prosesnya berkaitan dengan pertukaran ion, penyerapan dan katalisis, zeolit alam dan zeolit sintetis dipercaya dapat memberikan kontribusi dalam bidang industri farmasi obat. Zeolit telah banyak digunakan sebagai antibakteri dan antidiare, zeolit juga dapat menyembuhkan beberapa penyakit dan luka. Selain itu, zeolit juga efektif dalam menyerap glukosa sehingga dapat digunakan untuk penderita diabet (Zarkovic, 2003).

Diketahuinya kontribusi zeolit diberbagai bidang merupakan salah satu hasil usaha manusia yang mampu berfikir mengenai segala sesuatu yang telah diciptakan oleh Allah. Sehingga, bahan alam yang ada menjadi sesuatu yang lebih bermanfaat. Sebagai manusia yang bertakwa kepada Allah, manusia hendaknya selalu senantiasa memperhatikan, merenungkan dan memikirkan segala bentuk ciptaan-Nya baik di langit, bumi maupun di antara keduanya. Hal ini dipertegas oleh firman Allah dalam Q.S Ali Imran Ayat 190 – 191.

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَآخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ لَآيَاتٍ لِّأُولِي الْأَلْبَابِ
 الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَمًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ
 السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَطْلًا سُبْحَنَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ

“Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan silih bergantinya malam dan siang terdapat tanda-tanda bagi orang-orang yang berakal.”(190)“(yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadaan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata): "Ya Tuhan Kami, Tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia, Maha suci Engkau, Maka peliharalah Kami dari siksa neraka.”(191)

Ulul albab (orang-orang yang berakal) Yang dimaksud adalah orang-orang yang mendalami pemahamannya, berpikir tajam, serta mau menggunakan pikirannya, mengambil manfaat dari apa yang telah diciptakan oleh Allah Swt dan senantiasa mengingat Allah Swt dalam keadaan apapun, baik dalam keadaan berdiri, duduk maupun berbaring (Shihab, 2002). Selain itu, ayat tersebut juga menerangkan bahwa tidak ada ciptaan Allah Swt yang sia-sia atau tidak memiliki manfaat termasuk zeolit yang tidak hanya bermanfaat untuk katalis, tapi juga dapat digunakan sebagai obat.

Micronized Zeolite Clinoptilolite (MZ) yang merupakan zeolit alam dengan struktur nano kristal telah digunakan untuk perawatan tikus dan anjing yang terkena kanker. MZ diketahui dapat memperpanjang hidup dengan mengurangi ukuran tumor dan juga dapat mengurangi oksidasi lipid. Studi tersebut kemudian dilanjutkan secara *in vitro* dengan langsung menambahkan MZ ke dalam media sel kanker HeLa dan MiaPaca-2. Hasil penelitiannya menunjukkan bahwa MZ dapat menghambat proliferasi sel meskipun dengan konsentrasi yang sangat sedikit (Zarkovic, 2003). Penelitian lain dengan menggunakan zeolit sintetis X dan Y telah dilakukan oleh Ghazi (2013), zeolit

X dan Y dapat menghambat proliferasi sel kanker dan mengurangi sel viabilitas secara *in vitro*. Sel kanker dibudidayakan dan diobati dengan 50mg/ml zeolit X dan Y dengan penambahan 5 % suplemen FBS (*fetal bovine serum*) memberikan aktivitas yang tinggi dalam penghambatan proliferasi sel kanker dan mengurangi sel viabilitas *in vitro* yaitu sebesar 70,6 %.

Penelitian lain juga telah dilakukan dengan mengkombinasikan zeolit X dengan obat antikanker 5-fluorouracil. Hasil yang didapatkan menunjukkan bahwa zeolit mempunyai sifat sitotoksik pada sel kanker secara *in vitro* (Spanikis,dkk, 2013). Amorin (2013) juga melakukan penelitian mengenai kombinasi zeolit dengan obat antikanker dalam proses pengangkutan obat. Zeolit dan obat dikombinasikan dengan membentuk kapsul seperti obat biasanya dimana zeolit yang dibentuk seperti kapsul. Hasil yang didapatkan menunjukkan bahwa zeolit dapat menghambat pertumbuhan viabilitas sel sebanyak 585 kali saat dikombinasikan dengan obat berupa serbuk. Hal ini menunjukkan potensi zeolit untuk menghambat dan membunuh sel kanker.

Penelitian Amorin (2012) menggunakan zeolit NaY dan NaA sebagai pengemban senyawa antikanker CHC (α -cyano-4-hydroxycinnamic acid) dan di uji aktivitasnya dalam menghambat pertumbuhan sel kanker karsinoma secara *in-vitro*. Hasil yang didapatkan menunjukkan bahwa zeolit NaY lebih efektif digunakan sebagai DDS daripada zeolit NaA. Beberapa hal yang mempengaruhi hal tersebut antara lain ukuran pori zeolit, kemampuan zeolit dalam mengemban ekstrak, dan kemurnian zeolit. Pertama, ukuran zeolit NaY (10,6 Å) lebih besar daripada zeolit NaA (4,2 Å) sehingga akses senyawa antikanker CHC lebih mudah masuk ke struktur zeolit NaY daripada NaX. Hal

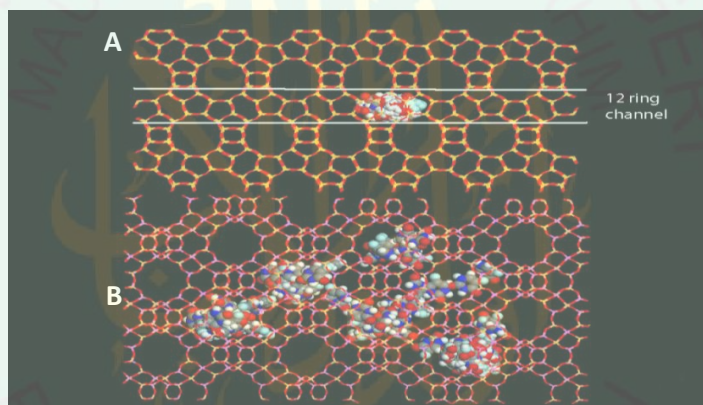
itu juga berpengaruh pada proses difusi senyawa CHC yang lebih bebas keluar dari struktur zeolit menuju ke sel target. Kedua, kemampuan zeolit NaY dan NaA dalam mengemban senyawa diketahui dari rendemen hasil impregnasi. Zeolit NaY mampu mengemban sebesar 85% senyawa CHC, sedangkan zeolit NaA hanya mampu mengemban 67-76% senyawa CHC. Ketiga, kemurnian zeolit dilihat dari hasil analisa XRD menunjukkan bahwa zeolit NaY adalah murni dan zeolit NaA masih ada pengotornya dengan adanya puncak yang tidak teridentifikasi.

2.4 Senyawa Antikanker yang Diembankan Pada Zeolit

Zeolit dapat digunakan sebagai sistem pembawa obat (*Drug Delivery System (DDS)*) dan agen pengontrol pelepasan obat. Hal ini dipengaruhi oleh sifat zeolit yang memiliki arsitektur dan komposisi pori yang teratur dengan rongga dan saluran (Baerlocher, dkk., 2007). Sifat zeolit pada dasarnya ditentukan oleh karakteristik unik strukturnya, seperti ukuran pori, ruang kosong yang dapat diakses, sistem saluran, situs aktif dan jenis kation tambahan (Cundy, dkk., 2003). Adanya pori, saluran dan rongga, menyebabkan zeolit dapat digunakan sebagai pengemban/ matriks molekul obat. Molekul obat yang terdapat didalam pori, berdifusi keluar dari sistem saluran dengan perlahan, sehingga dapat mengontrol laju pelepasan obat. Pelepasan obat yang terkontrol dapat meningkatkan efisiensi obat dan mengurangi efek samping.

Beberapa penelitian telah dilaporkan tentang penggunaan zeolit sebagai pengemban senyawa antikanker, diantaranya zeolit NaY dan NaA digunakan untuk enkapsulasi CHC (*α -Cyano-4-hydroxycinnamic acid*) yang merupakan obat

antikanker. Pengaruh enkapsulasi CHC dalam zeolit pada sel kanker HTC-15 menunjukkan penghambatan sel 585 kali lipat, jika dibandingkan dengan obat tanpa enkapsulasi (Amorim, dkk., 2012). Spanakis, dkk., (2013) juga telah melaporkan penggabungan obat antikanker 5-fluorouracil dengan zeolit BEA (rasio Si/Al 250) dan zeolit NaX (rasio Si/Al <1,5). Hasil impregnasi 5-fluorouracil dalam zeolit NaX menunjukkan penurunan viabilitas sel Caco-2 yang lebih baik dibandingkan zeolit BEA. Hal ini disebabkan zeolit NaX lebih hidofilik dibandingkan dengan BEA. Difusi 5-fluorouracil dalam zeolit BEA dan NaX ditunjukkan pada Gambar 2.8.



Gambar 2.8 Difusi 5-fluorouracil dalam zeolit a). BEA, b).NaX (Spanakis dkk., 2013)

2.5 Metode Impregnasi

Salah satu metode dalam preparasi katalis adalah impregnasi. Impregnasi adalah preparasi katalis dengan mengadsorpsikan garam prekursor yang mengandung komponen aktif logam di dalam larutan kepada padatan pengemban. Impregnasi sendiri memiliki definisi yang luas, arti impregnasi dalam suatu penelitian bisa jadi berbeda dengan penelitian lainnya. Namun, impregnasi dilakukan manakala pada pengemban tidak terdapat anion atau kation yang dapat

dipertukarkan. Impregnasi dibedakan menjadi dua, yaitu impregnasi basah dan impregnasi kering (Herlina, 2013).

Perbedaan impregnasi kering dan basah didasarkan pada perbandingan volume larutan prekursor dengan volume pori pengemban. Untuk impregnasi kering, volume larutan berkisar 1-1,2 kali dari volume pori pengemban. Karena diharapkan nantinya jumlah antara larutan prekursor dengan pori yang tersedia pada pengemban adalah sama. Sedangkan, untuk impregnasi basah, volume larutan prekursor lebih dari 1,5 kali dari volume pori pengemban. Oleh karenanya, untuk impregnasi kering, diawal perlu diketahui volume pori pengemban untuk menentukan volume larutan prekursor yang sesuai (Herlina, 2013).

Salah satu yang mendasari pemilihan metode impregnasi adalah bahwa didalam pengemban tidak terdapat anion atau kation yang dapat dipertukarkan (karena kalau ada anion atau kation yang dapat dipertukarkan metodenya disebut pertukaran ion). Metode tersebut bergantung pada kation logam yang ingin diimbangkan, jika ion kompleks yang sukar mengalami pertukaran kation, maka metode yang tepat adalah impregnasi, sedangkan untuk kation tersolvasi yang lebih mudah mengalami pertukaran kation, metode yang tepat adalah pertukaran ion (Herlina, 2013).

2.6 Metode Ekstraksi Maserasi

Ekstraksi maserasi dilakukan dengan cara perendaman dalam cairan (pelarut). Pelarut akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan larut, karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan yang di luar sel, maka

larutan yang terpekat didesak ke luar. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar dan di dalam sel (Baraja, 2008).

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

Pemilih pelarut organik yang akan digunakan dalam ekstraksi komponen aktif merupakan faktor penting untuk mencapai tujuan ekstraksi komponen, karena senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam bahan alam dapat larut dalam pelarut yang memiliki perbedaan sifat kepolarannya (Septyaningsih, 2010). Pemilihan pelarut untuk proses maserasi akan memberikan efektivitas yang tinggi dengan memperhatikan kelarutan senyawa bahan alam pelarut tersebut.

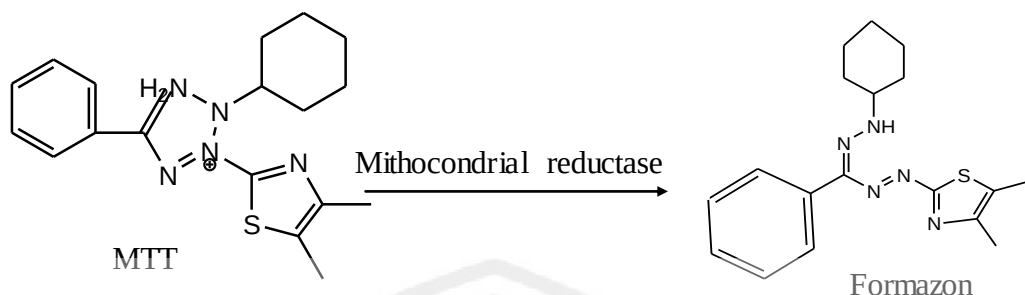
Pelarut yang umum digunakan untuk mendapatkan ekstrak senyawa aktif dalam daun sirih adalah etanol, kloroform dan n-heksana. Berdasarkan penelitian yang dilakukan Galih (2013) dalam menentukan variabel yang berpengaruh terhadap ekstrak daun sirih dengan melihat kadar fenol yang merupakan salah satu gugus fungsi penyusun acetogenin. Pelarut yang digunakan sebagai variasi adalah etanol dan n-heksana. Hasil yang didapatkan menunjukkan ekstraksi menggunakan pelarut etanol memiliki kadar fenol yang lebih tinggi daripada menggunakan pelarut n-heksana. Kadar fenol dengan ekstraksi menggunakan pelarut etanol yaitu sebesar 1,36% dengan waktu maserasi 2 hari. Sedangkan kadar

fenol saat ekstraksi menggunakan n-heksana <1 % dengan waktu maserasi yang sama.

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

Metode uji MTT digunakan dalam penelitian ini karena memiliki kelebihan yaitu relatif cepat, sensitif, akurat, digunakan untuk mengukur sampel dalam jumlah besar dan hasilnya bisa untuk memprediksi sifat sitotoksik suatu bahan. Dasar uji enzimatik MTT adalah dengan mengukur kemampuan sel hidup berdasarkan aktivitas mitokondria dari kultur sel. Uji MTT merupakan uji yang sensitif, reaksi MTT merupakan reaksi reduksi selular yang didasarkan pada pemecahan garam tetrazolium MTT berwarna kuning menjadi kristal formazan berwarna biru keunguan (Basmal, 2009). Prinsip uji MTT adalah mengukur aktivitas selular berdasarkan kemampuan enzim mitokondria reduktase pada mitokondria dalam mereduksi garam Methylthiazol Tetrazolium (MTT) membentuk kristal formazan berwarna biru. Konsentrasi formazan yang berwarna biru dapat ditentukan secara spektrofotometri visibel dan berbanding lurus dengan jumlah sel hidup karena reduksi hanya terjadi ketika enzim reduktase yang terdapat dalam jalur respirasi sel pada mitokondria aktif (Mosman, 1983).

Intensitas warna ungu yang terbentuk proporsional dengan jumlah sel hidup, sehingga jika intensitas warna biru semakin besar, maka jumlah sel hidup semakin banyak (Mosman, 1983). Absorbansi larutan berwarna ini kemudian dapat diukur menggunakan ELISA *reader* pada panjang gelombang antara 500 dan 600 nm, yang mana semakin besar absorbansi menunjukkan semakin banyak jumlah sel yang hidup. Reaksi reduksi MTT dapat dilihat pada Gambar 2.9 (Meiyanto, dkk., 1999):



Gambar 2.9 Reaksi Reduksi MTT menjadi Formazan (Mosman, 1983)

Uji MTT digunakan untuk menentukan parameter nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} menunjukkan nilai konsentrasi yang menghasilkan hambatan proliferasi sel 50 % dan menunjukkan potensi ketoksikan suatu senyawa terhadap sel. Nilai tersebut merupakan patokan untuk melakukan uji pengamatan kinetika sel. Nilai IC_{50} menunjukkan potensi suatu senyawa sebagai sitostatik. Semakin besar harga IC_{50} maka senyawa tersebut semakin tidak toksik. Menurut Lisdawati (2002), suatu ekstrak dianggap toksik terhadap sel kanker jika memiliki nilai IC_{50} kurang dari 1000 ppm.

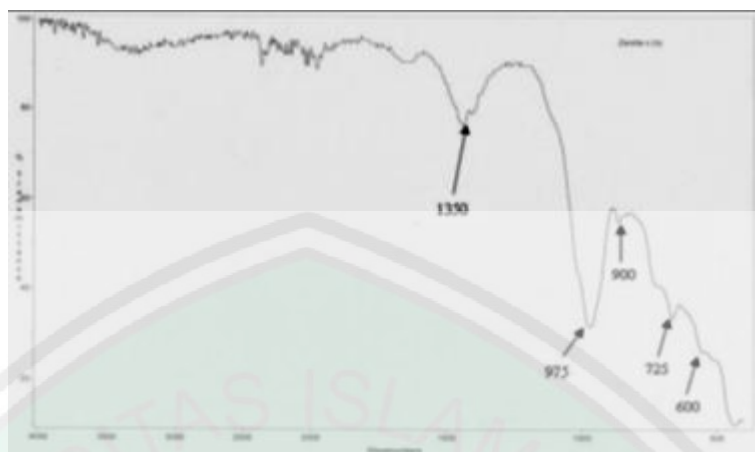
2.8 Fourier Transform Infra-Red (FTIR)

FTIR adalah kependekan dari *Fourier Transform Infra-Red*, yaitu metode analisis material dengan menggunakan spektroskopi sinar infra merah. Sinar infra merah memiliki rentang panjang gelombang dari 2.5 μm sampai 25 μm . Adapun frekuensi sinar infra merah memiliki rentang dari 400 cm^{-1} sampai 4000 cm^{-1} . Pengujian FTIR memiliki 3 fungsi, yaitu (1) untuk mengidentifikasi material yang belum diketahui, (2) untuk menentukan kualitas sampel, dan (3) untuk menentukan intensitas suatu komponen dalam sebuah campuran. FTIR

menghasilkan data berupa grafik intensitas dan frekuensi. Intensitas menunjukkan tingkatan jumlah senyawa sedangkan frekuensi menunjukkan jenis senyawa yang terdapat dalam sebuah sampel (Alfaruqi, 2008).

Spektroskopi inframerah seperti halnya dengan tipe penyerapan energi yang lain, maka molekul akan tereksitasi ke tingkatan energi yang lebih tinggi bila menyerap radiasi inframerah. Inti-inti atom yang terikat secara kovalen akan mengalami getaran bila molekul menyerap radiasi inframerah dan energi yang diserap menyebabkan kenaikan pada amplitudo getaran atom-atom yang terikat. Panjang gelombang serapan oleh suatu tipe ikatan tertentu bergantung pada macam ikatan tersebut, oleh karena itu tipe ikatan yang berlainan akan menyerap radiasi inframerah pada panjang gelombang karakteristik yang berlainan. Akibatnya setiap molekul akan mempunyai spektrum inframerah yang karakteristik pada konsentrasi ukur tertentu, yang dapat dibedakan dari spektrum lainnya melalui posisi dan intensitas pita serapan, sehingga dapat digunakan untuk penjelasan struktur, identifikasi dan analisis kuantitatif (Sastrohamidjojo, 1992).

Gambar 2.10 merupakan gambar spektrum IR zeolit X yang menunjukkan adanya serapan IR yang kuat di daerah spektral bawah 1200 cm^{-1} . Puncak yang kuat diamati pada daerah 480 cm^{-1} yang bergeser ke 600 cm^{-1} . Puncak lainnya yang dapat diamati di daerah 975 dan 1600 cm^{-1} . Hal ini seperti yang disajikan oleh Kwakye (2008) dalam Tabel 2.6, dimana T merupakan Si atau Al.



Gambar 2.10 Spektra FTIR zeolit X (Kiti, 2012)

Tabel 2.6 Ketentuan IR secara umum (Flanigen, dkk., 1991)

Vibrasi internal	
<i>Asymmetric Stretch</i>	1250 – 950
<i>Symmetric Stretch</i>	720 – 650
Ikatan T – O	500 – 420
Vibrasi eksternal	
Cincin Ganda	650 – 500
Pori Terbuka	420 – 300
<i>Symmetric Stretch</i>	750 – 820
<i>Asymmetric Stretch</i>	1150 – 1050

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Pelaksanaan Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret - juli 2016 di laboratorium Kimia Organik dan Kimia Analitik Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang, dan pada 18-22 Juli di laboratorium Parasitologi Jurusan Kedokteran Umum, Fakultas Kedokteran, Universitas Gadjah Mada.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan diantaranya seperangkat alat gelas, blender, gunting, ayakan 60 mesh, oven, Loyang, cawan penguap, desikator, neraca analitik, penjepit kayu, *shaker incubator*, kertas saring, botol vial, penyaring Buchner, *rotary evaporator*, vortex, stirrer, *hot plate*, mikropipet 200-1000 μ L, tabung reaksi kecil, 96-well plate, *Conical Tube*, *Yellow tip*, *Blue tip*, *Culture dish*, *Hemocytometer*, dan Elisa reader.

3.2.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun sirsak, zeolit NaX, etanol 95%, aquades, PBS, tripsin-EDTA 1x (tripsin 0,25 %), media kultur RPMI, DMSO, MTT 5 mg/mL (50 mg MTT dan 10 mL PBS), dan SDS 10 % dalam 0,1 N HCl.

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan melalui pengujian eksperimental di laboratorium. Tahapan awal yang dilakukan yaitu sampel yang berupa daun sirsak (*Annona Muricata L*) dicuci bersih, ditiriskan dan dipotong kecil-kecil, lalu potongan sampel dikering anginkan kemudian diblender dan diayak. Serbuk yang diperoleh di analisis kadar airnya. Setelah itu, diekstraksi maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 95%, perlakuan ini dilakukan berulang sebanyak 3x, lalu disaring menggunakan corong Buchner dan pelarut diuapkan menggunakan *rotary evaporator vacuum* sehingga didapatkan sampel yang etanol pekat. Ekstrak yang didapatkan dikombinasikan dengan zeolit menggunakan metode impregnasi. Kombinasi dilakukan dengan variasi perbandingan ekstrak etanol daun sirsak (EDS) dan zeolit NaX 1:10, 5:10, dan 10:10, lalu campuran distirer selama 48 jam. Setelah homogen, sampel disaring dan dioven untuk menguapkan pelarutnya. Setelah itu sampel zeolit NaX, dan sampel kobinasi di uji aktivitas antikanker terhadap sel kanker payudara T47D dengan metode MTT (secara *in-vitro*). Sampel hasil impregnasi di analisis menggunakan Fourier Transform Infra Red FTIR.

3.4 Tahapan Penelitian

Tahapan penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Preparasi sampel
2. Analisis kadar air
3. Ekstraksi senyawa aktif
4. Impregnasi ekstrak dengan zeolit

5. Karakterisasi Hasil Impregnasi menggunakan FTIR
6. Uji aktivitas antikanker dengan metode MTT

3.5 Pelaksanaan Penelitian

3.5.1 Preparasi Sampel

Diambil sampel daun sirsak, dicuci hingga bersih untuk menghilangkan pengotor yang masih menempel pada sampel, dan dikering anginkan. Kemudian sampel dipotong kecil-kecil. Setelah itu, sampel kering dihaluskan dengan blender hingga halus (serbuk) dan diayak dengan ayakan 60 mesh. Serbuk yang diperoleh merupakan sampel penelitian yang kemudian ditentukan kadar airnya.

3.5.2 Analisis Kadar Air

Sampel kering yang telah dipreparasi, dianalisis kandungan kadar airnya dengan analisis gravimetri metode penguapan. Langkah awal yaitu dipanaskan cawan pada suhu 105 °C selama ±15 menit untuk menghilangkan kadar airnya, lalu didinginkan di dalam desikator selama 10 menit. Cawan ditimbang dan diulangi perlakuan sampai diperoleh berat konstan. Sampel ditimbang sebanyak 5 g dan dipanaskan dalam oven pada suhu 105 °C selama 1 jam untuk menguapkan air yang terkandung pada sampel. Sampel kering kemudian didinginkan dalam desikator selama ±15 menit dan ditimbang kembali. Perlakuan ini diulangi sampai tercapai berat konstan. Kadar air dihitung menggunakan rumus berikut:

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

Keterangan: a = berat konstan cawan kosong

b = berat cawan + sampel sebelum dikeringkan

c = berat konstan cawan + sampel setelah dikeringkan

$$\text{Faktor koreksi} = \frac{100}{100 - \% \text{ kadar air}} \dots\dots\dots (3.2)$$

$$\% \text{ Kadar air terkoreksi} = \text{Kadar air} - \text{Faktor koreksi} \dots\dots\dots (3.3)$$

3.5.3 Ekstraksi Senyawa Aktif

Sampel yang telah dipreparasi dan diuji kadar airnya, dilakukan tahap selanjutnya, yaitu tahap ekstraksi. Langkah awal yang dilakukan yaitu ditimbang serbuk daun sirsak sebanyak 60 gr, dimasukkan kedalam 3 erlenmeyer 1000 ml masing-masing 20 gr, lalu ditambahkan 200 ml pelarut etanol 95%. Sampel didiamkan selama 24 jam kemudian dikocok dengan shaker selama 3 jam dan dibiarkan sampai terjadi pemisahan, fraksi terlarut dalam etanol dipisahkan dan dimasukkan ke dalam labu. Ekstraksi menggunakan etanol diulangi sebanyak tiga kali. Ketiga filtrat dari 4 erlenmeyer digabung menjadi satu dan dipekatkan dengan rotary evaporator vakum. Ekstrak pekat yang diperoleh ditimbang dan dihitung rendemennya dengan persamaan 3.4

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{Berat sampel}} \times 100 \% \dots\dots\dots (3.4)$$

3.5.4 Pengembanan Ekstrak Etanol Daun Sirsak dengan Zeolit NaX

Pengembanan senyawa antikanker pada zeolit NaX dilakukan sesuai dengan penelitian yang dilakukan Amarin dkk (2012) menggunakan metode impregnasi. Ekstrak pekat yang didapatkan akan dikombinasikan dengan zeolit dengan perbandingan sebagai berikut:

1. Ekstrak pekat daun sirsak 100 mg : Zeolit NaX 500 mg
2. Ekstrak pekat daun sirsak 250 mg : Zeolit NaX 500 mg
3. Ekstrak pekat daun sirsak 500 mg : Zeolit NaX 500 mg

Masing masing campuran di stirrer selama 48 jam pada suhu ruang. Kemudian disaring menggunakan corong Buchner dan endapan dikeringkan dalam oven pada suhu 60°C untuk menguapkan pelarutnya. Masing masing campuran akan di uji aktivitas antikanker menggunakan metode MTT.

3.5.5 Karakterisasi Hasil Impregnasi menggunakan FTIR

Karakterisasi dengan FTIR dilakukan terhadap masing-masing hasil impregnasi ekstrak etanol daun sirsak dengan zeolit NaX 1:10, 5:10, dan 10:10. Mula-mula cuplikan dihaluskan hingga menjadi serbuk yang halus menggunakan mortar batu agate dengan dicampurkan padatan KBr, kemudian ditempatkan pada preparat dan dipress dengan alat pengepres untuk membentuk pellet. Selanjutnya, sampel ditempatkan pada *sampel holder* dan dianalisa menggunakan FTIR.

3.5.6 Uji Aktivitas Antikanker dengan Metode MTT (CCRC, 2009; Ilhamy, dkk, 2013).

3.5.6.1 Penyiapan Sel

Sel kanker payudara T47D diambil dari koleksi Universitas Gajah Mada (UGM). Sel kanker dikeluarkan dari *freezer* (-80 °C), dihangatkan dalam penangas air pada suhu 37 °C selama 2 – 3 menit. Setelah mencair, sel dipindahkan kedalam *culture dish* yang telah berisi 10 ml media RPMI, diinkubasi selama 3 – 4 jam pada suhu 37 °C/ 5 % CO₂, kemudian disentrifugasi untuk memisahkan sel kanker (pelet) dengan media RPMI. Pelet yang terbentuk diamati dibawah mikroskop untuk melihat apakah sel melekat di dasar *culture dish* dan bila jumlah sel di dalam *culture dish* mencapai 70 – 85 % (konfluen), dilakukan panen sel.

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

3.5.6.2 Perhitungan Sel Kanker

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

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

3.5.6.3 Peletakan Sel pada *Plate*

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

$$\text{Panenan mL panen sel yang ditransfer} = \frac{\text{total sel yang diperlukan}}{\text{Sel yang terhitung}}$$

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

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

Ditimbang sampel ekstrak daun sirsak 10 mg, zeolit NaX 10 mg, hasil impregnasi ekstrak etanol daun sirsak dengan zeolit (10:10, 5:10, 1:10) masing-masing 10 mg dan sampel obat 10 mg, kemudian dilarutkan masing-masing

sampel dalam 100 μL DMSO dan diaduk dengan vortex agar lebih cepat dalam melarutkan sampel, diambil sel dari inkubator, kemudian dibuang media sel dengan cara dibalikkan *plate* 180° di atas tempat pembuangan dan ditekan secara perlahan di atas tisu untuk meniriskan sisa cairan, dimasukkan 100 μL PBS ke dalam semua sumuran yang terisi sel dan dibuang kembali, lalu dimasukkan larutan sampel sebanyak 100 μL dengan konsentrasi 500; 250; 125; 62,5; 31,25; 15,625 ppm dan diulang sebanyak 3x (triplo), diinkubasi kembali selama 24 jam.

3.5.6.5 Pemberian Larutan MTT

Dibuang media sel dan dicuci dengan PBS, ditambahkan larutan MTT 100 μL ke setiap sumuran kecuali kontrol sel. Inkubasi kembali selama 3 – 4 jam di dalam inkubator (sampai terbentuk formazan). Apabila formazan telah terbentuk diamati kondisi sel dengan mikroskop *inverted*, lalu ditambahkan *stopper* SDS 10 % dalam 0,1 N HCl, dibungkus *plate* dengan aluminium foil dan diinkubasi kembali di tempat gelap (suhu ruangan) semalam. Langkah selanjutnya yakni pembacaan nilai absorbansi dengan ELISA *reader* untuk mengetahui nilai IC_{50} setiap ekstrak. Tahapan awalnya ini dihidupkan ELISA *reader* dan ditunggu hingga *processing* selesai, dibuka pembungkus *plate* kemudian dimasukkan ke ELISA *reader*, dibaca absorbansi masing-masing sumuran dengan panjang gelombang 550 – 600 nm, dimatikan kembali ELISA *reader*. Lalu dihitung prosentase sel hidup dengan persamaan sebagai berikut:

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

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

3.6 Analisis Data

Potensi ekstrak dalam menghambat atau membunuh sel kanker payudara T47D dapat diketahui dengan melakukan uji IC_{50} , menggunakan analisa *regression* linier di Microsoft Excel untuk masing-masing konsentrasi 500, 250, 125, 62,5, 31,25 dan 15,625 $\mu\text{g/mL}$.

Data yang diperoleh merupakan data hubungan antara konsentrasi dengan prosentase sel hidup, kemudian dibuat grafik dengan *chart type scatter*. Selanjutnya dicari persamaan regresi linier dari grafik tersebut dengan menampilkan *add trendline-regresi linier*. Dimasukkan $y = 50\%$ pada persamaan regresi linier dan cari x nya sehingga diperoleh IC_{50} .

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Preparasi Sampel

Sampel Daun Sirsak diambil dari perkebunan di Batu, Malang. Preparasi sampel adalah tahap awal analisis yang meliputi tiga tahapan antara lain pencucian, pengeringan, dan penghalusan. Tahap pencucian ini bertujuan untuk menghilangkan kotoran atau debu yang menempel pada sampel daun sirsak. Kemudian dilakukan pengeringan untuk mengurangi kadar air sampel agar terhindar dari pertumbuhan mikroba, meminimalkan kerusakan akibat degradasi oleh mikroorganisme atau tumbuhnya jamur, dan sampel akan dapat disimpan dalam jangka waktu yang lama (Baraja, 2008).

Pengeringan dilakukan di dalam suhu ruang agar tidak merusak senyawa yang terkandung dalam sampel. Proses pengeringan daun sirsak dilakukan dengan cara memotong kecil-kecil sampel terlebih dahulu kemudian dikering anginkan. Hernani dan Nurjannah (2009) menjelaskan bahwa pengeringan tumbuhan obat yang senyawa metabolit sekundernya tidak tahan panas sebaiknya dilakukan dengan cara dikering anginkan dan tidak menggunakan sinar matahari, karena sinar matahari dapat merusak kandungan senyawa metabolit sekunder dalam sampel. Setelah kering sampel dihaluskan dengan menggunakan penggilingan agar sampel yang didapatkan ukurannya kecil kecil sehingga memiliki luas permukaan yang besar dan memudahkan proses ekstraksi. Sampel yang berupa serbuk kemudian diayak menggunakan ayakan 60 mesh. Tujuan dari pengayakan adalah untuk menseragamkan ukuran serbuk agar saat ekstraksi pelarut mudah teradsorpsi dalam seluruh bagian sel terutama dinding sel sehingga memudahkan

menyerapnya pelarut dan meminimalkan penguapan zat ekstraktif selama proses ekstraksi (Dewi, 2007). Serbuk yang didapatkan halus dan seragam kemudian diekstraksi menggunakan etanol 95%.

4.2 Analisis Kadar Air

Sampel daun sirsak yang telah dikeringkan dan diserbukkan di analisis kadar airnya karena kadar air sampel mempengaruhi daya tahan sampel tersebut. Prinsip analisis kadar air yaitu penghilangan air yang terkandung dalam sampel dengan cara pemanasan menggunakan oven pada suhu di atas titik didih air yaitu 105°C (Winarno, 2002). Sebelum sampel di analisis kadar airnya, cawan porselin terlebih dahulu di panaskan dalam oven pada suhu 105°C selama 15 menit untuk menguapkan sisa air yang menempel pada cawan. Kemudian diletakkan dalam desikator yang berisi silika gel selama 10 menit dan ditimbang beratnya. Perlakuan ini di ulangi sampai di peroleh berat cawan yang konstan. Selanjutnya 5 gram sampel yang telah di preparasi, dipanaskan dalam oven pada suhu 105°C selama 15 menit. Kemudian sampel kering didinginkan dalam desikator selama 10 menit dan ditimbang kembali. Perlakuan ini diulangi sampai tercapai berat konstan.

Hasil analisis kadar air sampel kering daun sirsak diperoleh kadar air yang cukup baik yaitu sebesar 4,8781% sebagaimana ditunjukkan pada Tabel 4.1 dan perhitungan di lampiran 4.1

Tabel 4.1 Hasil analisis kadar air serbuk daun sirsak

Sampel	Kadar air yang terkandung dalam sampel			
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Rata-Rata
Daun sirsak	4,7827 %	5,1725 %	4,6792 %	4,8781 %

Menurut puspita (2009), kadar air yang kurang dari 10 % maka kestabilan optimum bahan akan dapat dicapai, pertumbuhan mikroba dapat dikurangi dan proses ekstraksi dapat berjalan lancar. Selain itu dengan kadar air yang kecil ini diharapkan tidak akan mempengaruhi konsentrasi atau pelarut saat ekstraksi maserasi. Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi maserasi adalah etanol 95% yang bersifat polar.

4.3 Ekstraksi Maserasi

Ekstraksi merupakan proses pemisahan senyawa campuran berdasarkan perbedaan kelarutannya terhadap dua cairan tidak saling larut dengan menggunakan pelarut yang sesuai (Harbone, 1987). Ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini adalah ekstraksi maserasi. Ekstraksi maserasi dilakukan dengan cara perendaman dalam cairan (pelarut). Pelarut akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan larut, karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan yang di luar sel, maka larutan yang terpekat didesak ke luar. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar dan di dalam sel (Baraja, 2008).

Pemilihan pelarut untuk proses maserasi akan memberikan efektifitas yang tinggi dengan memperhatikan kelarutan senyawa bahan alam dalam pelarut tersebut. Secara umum pelarut-pelarut golongan alkohol merupakan pelarut yang

paling banyak digunakan dalam isolasi senyawa bahan alam, karena dapat melarutkan seluruh senyawa metabolit sekunder (Lenny, 2006). Serbuk kering daun sirsak ditimbang sebanyak 60 gram dan dibagi menjadi tiga bagian masing-masing sebanyak 20 gr kemudian dimasukkan ke dalam Erlenmeyer tutup 1000 mL. Selanjutnya dimaserasi menggunakan etanol 95% masing-masing Erlenmeyer sebanyak 200 mL selama 24 jam dengan 3 jam pengocokan menggunakan *shaker* dengan kecepatan 120 rpm. Perlakuan ekstraksi ini dilakukan dengan 3 kali pengulangan. Pada setiap pengulangan, sampel di saring terlebih dahulu menggunakan *corong Buchner* dengan bantuan pompa vakum. Kemudian filtrat dimasukkan ke dalam botol sedangkan ampasnya dimasukkan kembali ke dalam erlenmeyer untuk dimaserasi lagi menggunakan pelarut yang baru.

Selama proses maserasi pelarut akan menembus dinding dan membran sel kemudian masuk ke dalam rongga (sitoplasma) sel yang mengandung senyawa metabolit sekunder akan terlarut dikarenakan adanya perbedaan konsentrasi antara larutan senyawa-senyawa metabolit sekunder di dalam dan di luar sel, hal ini mengakibatkan cairan hipertonis akan masuk ke cairan yang hipotonis sehingga terjadi keseimbangan sedangkan pengocokan diperlukan untuk meratakan konsentrasi larutan di luar serbuk sampel sehingga tetap terjaga adanya derajat perbedaan konsentrasi yang sekecil-kecilnya antara larutan didalam dan di luar sel (Baraja, 2008).

Filtrat yang di dapatkan dari proses maserasi merupakan campuran pelarut dengan senyawa metabolit sekunder yang terlarut. Pemisahan dilakukan dengan menguapkan pelarut menggunakan alat *rotary evaporator vacuum*. Prinsip utama

alat ini terletak pada penurunan tekanan sehingga pelarut akan menguap pada suhu dibawah titik didihnya. Alat ini sering digunakan dalam proses pemisahan atau penguapan pelarut dikarenakan memberikan keuntungan terhadap hasil ekstrak yang dihasilkan karena pelarut menguap dibawah suhu titik didihnya maka ekstrak tidak akan mengalami kerusakan akibat panas dari titik didih pelarut. Filtrat yang akan di uapkan dimasukkan ke dalam labu alas bulat 1000 mL. kemudian *waterbath* dinyalakan sesuai dengan suhu pelarut yang digunakan yaitu berkisar antara 40-60 °C. setelah suhu tercapai, labu alas bulat yang berisi sampel dipasang pada ujung rotor yang telah otomatis terhubung dengan kondensor.

Pelarut yang menguap pada suhu dibawah titik didihnya ini dikarenakan adanya pompa vakum yang berfungsi untuk menurunkan tekanan. Penurunan tekanan ini secara otomatis akan menurunkan titi didih pelarut sehingga pelarut akan lebih mudah menguap. Pelarut yang terkena panas dari *waterbath* dibawah suhu titik didihnya akan menguap, uap pelarut akan terkondensasi menjadi wujud cair dan tertampung dalam labu destilat dan ekstrak tertampung dalam labu alas bulat. Penguapan pelarut dihentikan jika di ekstrak yang diperoleh sudah pekat yang ditandai dengan berhentinya penetesannya uap pelarut yang terkondensasi di labu penampung. Hasil maserasi serbuk daun sirsak ditunjukkan pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Hasil maserasi serbuk daun sirsak

Pelarut	Warna ekstrak	Berat sampel	Berat ekstrak	Randemen
Etanol 95%	Hijau tua	59,9981 gram	8,0271 gram	13,3789 %

Berdasarkan Tabel 4.2 diketahui rendemen ekstrak etanol daun sirsak sebesar 13,3789%. Hasil ekstrak etanol daun sirsak ini sebagian akan di uji aktivitas antikankernya dan sebagian yang lain akan diimbangkan pada zeolit NaX menggunakan metode impregnasi kemudian di uji aktivitasnya.

4.4 Pengembanan Ekstrak Etanol Daun Sirsak dengan Zeolit NaX menggunakan Metode Impregnasi

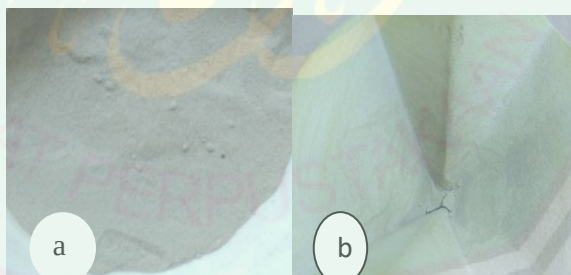
Zeolit dapat digunakan sebagai sistem pembawa obat (*Drug Delivery System*) (*DDS*) dan agen pengontrol pelepasan obat. Adanya pori, saluran dan rongga, menyebabkan zeolit dapat digunakan sebagai pengemban/matriks molekul obat. Molekul obat yang terdapat didalam pori, berdifusi keluar dari sistem saluran dengan perlahan, sehingga dapat mengontrol laju pelepasan obat. Pelepasan obat yang terkontrol dapat meningkatkan efisiensi obat dan mengurangi efek samping.

Zeolit yang digunakan pada penelitian ini adalah zeolit NaX hasil sintesis dari abu vulkanik gunung kelud yang dilakukan oleh mahasiswa riset anorganik. Sintesis dilakukan pada suhu 100°C dengan rasio Si/Al yang digunakan sebesar 2. Pengembanan ekstrak daun sirsak pada zeolit digunakan variasi kombinasi yaitu 1:10, 5:10, dan 10:10. Variasi kombinasi ini dilakukan untuk mengetahui kombinasi yang paling efektif menghambat pertumbuhan sel kanker saat dilakukan uji antikanker.

Zeolit di panaskan dalam oven pada suhu 120°C selama 12 jam sebelum digunakan, hal ini bertujuan untuk menguapkan air yang terserap dalam zeolit karena adanya air dapat mengganggu proses absorpsi ekstrak oleh zeolit. Ekstrak

dan zeolit ditimbang sesuai dengan variasi perbandingan yang telah ditentukan. Pada perbandingan 1:10 ditimbang ekstrak daun sirsak dan zeolit NaX dan dilarutkan dalam pelarut etanol kemudian diaduk menggunakan stirrer selama 48 jam pada suhu ruangan. Pengadukan dilakukan untuk mengoptimalkan reaksi antara zeolit dengan ekstrak sehingga proses pengembanan ekstrak dengan zeolit terjadi secara maksimal. Setelah 48 jam, dihentikan pengadukan kemudian disaring hingga di dapatkan endapan, endapan dikeringkan didalam oven pada suhu 60°C . pengeringan dilakukan untuk menguapkan air dan pelarut sisa pengadukan dan pembentukan kristal garam pada permukaan pori (Tsani, 2011).

Zeolit mampu mengemban ekstrak daun sirsak dapat diketahui secara kualitatif dengan melihat perubahan warna zeolit sebelum dan setelah dilakukan metode impregnasi. Warna zeolit yang mulanya abu-abu kecoklatan berubah mengikuti warna ekstrak daun (hijau), hasil yang didapatkan zeolit berwarna abu-abu kehijauan seperti pada Gambar 4.1.



Gambar 4.1. a) zeolit sebelum di impregnasi b) endapan hasil impregnasi

Setelah kering ditimbang endapan dan dapat diketahui rendemen ekstrak yang terabsorpsi kedalam zeolit. Pada perhitungan dilampiran 4.3 dapat diketahui besar ekstrak yang terabsorpsi kedalam zeolit pada perbandingan rasio 1:10, 5:10, dan 10:10 berturut-turut adalah 74,5535%; 56,743%, dan 54,4% seperti pada

Tabel 4.3. Hal ini dipengaruhi dengan kapasitas pori zeolit dalam mengabsorpsi ekstrak dan juga panjang senyawa yang terkandung dalam ekstrak daun sirsak.

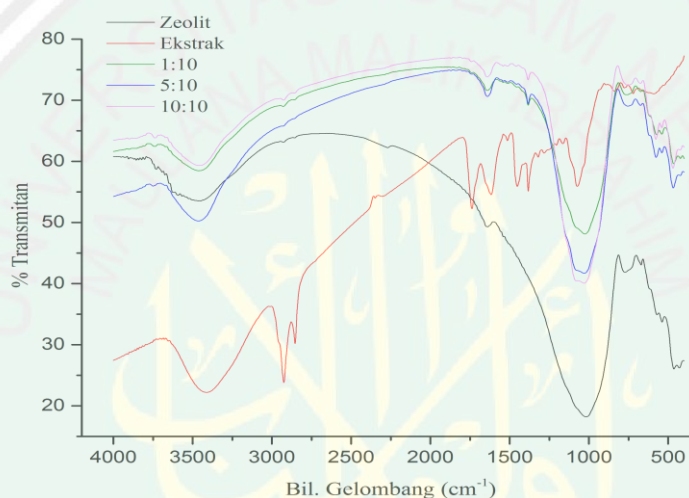
Tabel 4.3 Hasil Impregnasi pengembanan ekstrak pada zeolit NaX

Sampel	Rendemen
Perbandingan ekstrak dengan Zeolit NaX 1:10	74,5535%
Perbandingan ekstrak dengan Zeolit NaX 5:10	56,7432 %
Perbandingan ekstrak dengan Zeolit NaX 10:10	54,4%

Besarnya nilai rendemen menunjukkan banyaknya ekstrak yang teremban ke dalam zeolit. Rendemen terbesar terdapat pada sampel perbandingan zeolit dan ekstrak 1:10. Proses pengembanan ekstrak daun sirsak dengan zeolit NaX masih kurang maksimal jika dilihat dari besarnya nilai rendemen sampel. Hal ini dimungkinkan saat impregnasi pada tahap penyaringan terdapat zeolit yang ikut tersaring masuk kedalam filtrat sehingga jumlah zeolit berkurang dan hasil presentase ekstrak yang terembankan kecil. Ekstrak daun sirsak tidak mampu masuk ke dalam pori-pori zeolit karena ukuran senyawa aktif dalam ekstrak lebih besar dibandingkan ukuran pori-pori zeolit. Ekstrak dan zeolit tidak mengalami reaksi, tetapi berinteraksi secara elektrostatis dan terjadi ikatan Van Der Waals. Kation – kation logam seperti Na^+ yang menetralkan atom Al yang negatif dalam kerangka zeolit ini berinteraksi secara Van Der Waals. Adanya kation Na^+ juga yang memungkinkan zeolit dapat mengabsorpsi molekul.

4.6 Karakterisasi Hasil Impregnasi menggunakan FTIR

Analisis FTIR ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pengembanan terhadap gugus fungsi zeolit X. pengaruh dapat dilihat dengan cara membandingkan spektra FTIR zeolit NaX sebelum dan sesudah mengemban ekstrak etanol daun sirsak. Spektra zeolit NaX, ekstrak daun sirsak dan sampel hasil impregnasi dapat dilihat pada Gambar 4.2 Berikut ini:



Gambar 4.2 Spektra FTIR ekstrak daun sirsak, zeolit NaX, Hasil Impregnasi 1:10; 5:10; dan 10:10

Spektra FTIR sampel ekstrak daun sirsak:zeolit 1:10, 5:10, dan 10:10 (Gambar 4.2) menunjukkan spektra yang hamper sama. Spektra yang terbentuk di dominasi oleh vibrasi zeolit NaX. Pada bilangan gelombang 1383 cm^{-1} pada spektra hasil impregnasi 1:10, 5:10, dan 10:10 muncul pita serapan baru yang sesuai dengan serapan gugus C-H pada spektra ekstrak daun sirsak. Pita vibrasi zeolit NaX pada bilangan gelombang 1028 cm^{-1} dan 1029 cm^{-1} mengalami pelebaran setelah pengembanan dengan rasio 5:10 dan 10:10. Pelebaran pita dan meningkatnya intensitas serapan setelah pengembanan yang terjadi dimungkinkan karena adanya pengaruh dari gugus pada senyawa aktif sehingga menyebabkan

perubahan struktur zeolit. Berbeda dengan dengan spektra ekstrak daun sirsak : zeolit 1:10, spektra yang dihasilkan tidak menunjukkan adanya pelebaran atau pergeseran yang berarti bahwa pengembanan tidak sampai merubah struktur zeolit. Pengembanan yang baik apabila tidak merubah struktur *framework* dari zeolit seperti penelitian Amorin (2012) yang menjadikan zeolit NaY sebagai pengemban senyawa antikanker CHC, hasil FTIR menunjukkan bahwa pengembanan tidak merubah struktur zeolit dan menunjukkan serapan baru dari senyawa antikanker.

4.6 Uji Aktivitas Antikanker menggunakan Metode MTT

Uji antikanker ini dilakukan untuk mengetahui potensi ekstrak daun sirsak, zeolit NaX dan kombinasi ekstrak daun sirsak dengan zeolit dalam mengambat pertumbuhan atau membunuh sel kanker dengan berbagai variasi konsentrasi yaitu 500, 250, 125, 62.5, 31.25, 15.625 ppm. Uji aktivitas antikanker ini dilakukan secara *in-Vitro* dengan menggunakan metode MTT (*Microculture tetrazolium*). Metode MTT merupakan pengujian aktivitas sel berdasarkan perubahan warna atau reaksi kolorimetri pada *bio-reduction* garam tetrazolium ke formazan (Goodwin, dkk., 1995).

Sel kanker yang digunakan pada penelitian ini adalah sel kanker T47D. Sel T47D merupakan *continuous cell line* yang di isolasi dari jaringan tumor ductal payudara seorang wanita berusia 54 tahun. *Continuous cell line* sering di pakai dalam penelitian kanker secara *in vitro* karena mudah penanganannya, memiliki kemampuan dalam replikasi yang tidak terbatas, homogenitasnya yang tinggi serta mudah diganti *frozen stock* jika terjadi kontaminasi (AATC, 2015).

Pengujian aktivitas antikanker ini melalui beberapa tahapan yaitu : 1) penyiapan sel kanker, 2) panen sel, 3) uji sitotoksitas, 4) pemberian reagen MTT dan 5) pembacaan absorbansi. Tahapan penyiapan sel kanker meliputi penghidupan kembali sel yang telah ditidurkan (inaktif sel) dan ditumbuhkan hingga mencapai konfluen. Konfluenitas sel merupakan tumbuhnya sel secara homogen atau meratanya sel sebagai sel monolayer sampai menutupi *cover glass*. Sel dikatakan konfluen apabila sel tersebut sudah menempel dan berkembang memenuhi wadah kultur (Djati, 2006).

Sel T47D yang digunakan di kultur dalam media RPMI dan diinkubasi dalam inkubator CO₂ pada suhu 37°C (Nursid, dkk. 2010). Kultur sel adalah teknik yang biasa digunakan untuk mengembangkan sel diluar tubuh (*in vitro*). Keuntungan penggunaan kultur sel adalah lingkungan tempat hidup sel dapat di control dan diatur sehingga kondisi fisiologis dari kultur relative konstan. Kelemahan teknik tersebut adalah sel yang dikultur mengalami perubahan sifat karena perkembangbiakan sel di dalam tubuh (*in vivo*) bekerja secara terintegrasi dalam satu jaringan, sedangkan dalam kultur sel terpisah-pisah. Kondisi lingkungan kultur harus dibuat semirip mungkin dengan lingkungan awal di dalam tubuh supaya sel tumbuh dengan baik (Zarisman, 2006).

Panen sel adalah tahapan penumbuhan dan pengembangbiakkan sel dengan penambahan media kultur. Media kultur berfungsi sebagai sumber nutrisi dan respirasi, serta memberi dukungan pada kehidupan sel yang dibiakkan agar dapat tumbuh (Bambang, 2009). Media kultur yang digunakan pada penelitian ini adalah RPMI karena mengandung nutrisi yang dibutuhkan sel seperti asam amino, vitamin, garam-garam anorganik, glukosa dan serum. Serum yang digunakan

adalah FBS (*Fetal Bovine Serum*), mengandung hormon yang dapat memacu pertumbuhan sel, albumin sebagai protein transpor, lipid yang diperlukan sel untuk pertumbuhannya dan mineral sebagai kofaktor enzim (Freshney, 2000).

Panen sel dilakukan ketika sel sudah konfluen. Sel memiliki sifat adhesif yaitu mampu melekat pada substrat sehingga sel menempel pada dasar wadah kultur (*Culture dish*). Sel yang menempel pada dasar wadah tersebut ditambahkan tripsin-EDTA agar terlepas. Sebelum ditambahkan tripsin, media RPMI di buang terlebih dahulu agar kandungan FBS di dalamnya tidak menghambat kerja tripsin. Panenan sel diambil sebanyak 10 μL dan di pipetkan ke *hemacytometer* untuk dihitung jumlah selnya dibawa mikroskop *inverted*. Morfologi sel T47D akan terlihat lonjong seperti daun ketika menempel pada wadah kultur, sedangkan sel yang lepas dari wadah kultur akan terbentuk bulat – bulat dan terlihat mengapung dipermukaan.

Perhitungan sel dilakukan untuk mengetahui konsentrasi sel yang akan digunakan untuk uji toksisitas. Pada wadah *hemacytometer*, sel terlihat pada 4 bagian kuadran (daerah) seperti pada Gambar 4.2. Sel yang berada dibatas luar disebelah atas dan di sebelah kanan tidak dihitung, sedangkan sel dibatas kiri dan batas bawah ikut dihitung. Diketahui pada kuadran A, B, C, dan D jumlah sel terhitung berturut-turut sebesar 246, 218, 148, dan 154. Hasil perhitungan sel yang diperoleh adalah $191,5 \times 10^4/\text{mL}$.

Tahapan uji sitoksisitas meliputi preparasi sampel dan *treatment* sel. Masing masing sampel ekstrak daun sirsak, zeolit dan sampel kombinasi ekstrak dengan zeolit yang telah ditimbang 10 mg dilarutkan dalam 100 μL DMSO. *Dimetilsulfoksida* (DMSO) merupakan cairan tak berwarna yang memiliki rumus

(CH₃)₂SO dan juga berfungsi sebagai *buffer* agar ekstrak dapat larut dengan baik. DMSO merupakan pelarut yang dapat melarutkan senyawa polar maupun nonpolar (Morshed, dkk. 2012). Selanjutnya masing-masing larutan sampel di buat seri konsentrasi dengan konsentrasi 500, 250, 125, 62.5 , 31.25, 15,625 ppm dan di ulang sebanyak 3 x (triplo) sebagai *treatment* sel. Kontrol sel dan kontrol media juga ditambahkan. *Treatment* sel di dilakukan selama 24 jam. Setelah itu, diamati morfologi sel dibawah mikroskop *inverted* setelah di *treatment* menggunakan ekstrak etanol daun sirsak konsentrasi 500 ppm dan 15,625 ppm. Pada konsentrasi 500 ppm jumlah sel yang mati lebih banyak dibandingkan jumlah sel yang mati pada konsentrasi 15,625 ppm. Sel mati akan terlihat bulat jernih dan tersebar, sedangkan sel hidup akan terlihat lonjong seperti daun. Hal ini terlihat pada gambar 4.4 dan lampiran 5. analisa merupakan analisa awal sebelum sel ditambahkan reagen MTT.

Kuadran A 246 sel	Kuadran B 218 sel
Kuadran C 148 sel	Kuadran D 154 sel

Gambar 4.3. Pengamatan jumlah sel dalam *hemocytometr* dibawah mikroskop *inverted*



Gambar 4.4 Morfologi sel T47D setelah di *treatment* a) ekstrak etanol daun sirsak 500 ppm b) 15,625 ppm.

Penambahan reagen MTT dilakukan untuk menganalisa perubahan warna akibat terjadinya reaksi kolorimetri. Setelah penambahan reagen MTT dapat diamati secara kasat mata sel yang mati dan sel yang hidup. Sel yang hidup akan mengadsorpsi garam tetrazolium (reagen MTT) dan di pecah menjadi kristal formazan oleh system suksinat tetrazolium reduktase yang terdapat dalam jalur respirasi sel, sehingga reagen MTT yang awalnya berwarna kuning akan berubah menjadi ungu (formazan), sedangkan sel yang mati akan tetap berwarna kuning. Hal ini ditunjukkan pada lampiran 5.

Reaksi antara reagen MTT dengan sel dihentikan dengan penambahan *stopper* SDS 10 % dalam 0,1 N HCl karena zat berwarna ungu yang dihasilkan digunakan sebagai analisis kualitatif kematian sel, semakin pekat warna ungu yang dihasilkan maka semakin banyak jumlah sel hidup yang bereaksi dengan reagen MTT, sebaliknya jika warnanya semakin pudar (kuning) semakin sedikit sel yang bereaksi dengan reagen MTT atau sel mati. Intensitas warna ungu tersebut ditetapkan nilai absorbansinya menggunakan *ELISA reader* pada panjang gelombang 595 nm. Penggunaan panjang gelombang 595 nm karena warna yang tampak pada larutan adalah ungu kebiruan yang akan menyerap warna kuning dari spektra sinar tampak (Effendy, 2007). Output data yang dihasilkan berkorelasi langsung dengan jumlah sel yang aktif melakukan metabolisme, sehingga berkorelasi dengan viabilitas sel (kehidupan), yang artinya dari nilai absorbansi sudah dapat diketahui potensi sampel dalam menghambat kanker karena semakin besar nilai absorbansi menunjukkan semakin banyaknya sel yang masih hidup (Meiyanto, dkk. 1999). Potensi aktivitas sampel uji dianalisis menggunakan menggunakan program Microsoft Excel melalui persamaan regresi linier dari

grafik konsentrasi vs persentase sel hidup untuk mengetahui nilai IC_{50} pada setiap sampel. hasil IC_{50} ditunjukkan pada Tabel 4.4:

Tabel 4.4 Nilai IC_{50} uji aktivitas antikanker sampel

Sampel	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
Ekstrak etanol 95 %	240,165
Zeolit NaX	1032,25
Kombinasi EDS:NaX 1:10	1743,738
Kombinasi EDS:NaX 5:10	71.076,923
Kombinasi EDS:NaX 10:10	5235,135

Berdasarkan Tabel 4.4 Dapat diketahui bahwa ekstrak etanol daun sirsak memiliki nilai IC_{50} terendah, yang artinya dalam konsentrasi 240,165 $\mu\text{g/mL}$ mampu menghambat proliferasi sel sebanyak 50 %. Menurut *National Cancer Institute* (NCI) dalam Rachmawati (2013) suatu ekstrak dinyatakan aktif memiliki aktivitas antikanker apabila memiliki nilai $IC_{50} < 30 \mu\text{g/mL}$, moderat aktif apabila memiliki nilai $IC_{50} < 100$, dan dinyatakan tidak aktif apabila nilai $IC_{50} > 100$. Namun, karena nilai IC_{50} ekstrak etanol 95% daun sirsak 240,165 $\mu\text{g/mL}$ bukan berarti tidak memiliki aktivitas antikanker. Banyak penelitian tentang ekstrak daun sirsak mempunyai aktivitas sebagai antikanker seperti penelitian Rachmani (2012) bahwa ekstrak etanol daun sirsak memiliki aktivitas antikanker terhadap sel T47D dengan nilai IC_{50} 17,149 $\mu\text{g/mL}$. Peneliti lain juga melakukan uji sitotoksik ekstrak etanol daun sirsak terhadap sel T47D dan didapatkan ekstrak etanol daun sirsak memiliki aktivitas antikanker nilai IC_{50} 31,014 $\mu\text{g/mL}$ (Anjelisa, 2016). Penelitian Sagita (2013) juga menunjukkan hasil yang baik yaitu ekstrak metanol daun sirsak memiliki aktivitas antikanker T47D dengan nilai IC_{50} 22,471

$\mu\text{g/mL}$. Penyebab kurang maksimalnya aktivitas ekstrak etanol 95% daun sirsak pada penelitian ini dimungkinkan karena konsentrasi pelarut yang digunakan.

Uji pendahuluan yang dilakukan dengan menggunakan pelarut etanol p.a (98%) sebagai pelarut dalam ekstraksi maserasi daun sirsak didapatkan nilai IC_{50} ekstrak daun sirsak sebesar $47,739 \mu\text{g/mL}$, sedangkan pada penelitian ini digunakan pelarut etanol 95% dan didapatkan nilai IC_{50} yang lebih besar yaitu $240,165 \mu\text{g/mL}$. konsentrasi pelarut diketahui berpengaruh terhadap hasil ekstraksi. Semakin tinggi konsentrasi pelarut maka jenis senyawa yang terekstrak sesuai kepolarannya juga semakin banyak. Tingginya konsentrasi pelarut juga menunjukkan turunya polaritas pelarut yang merupakan campuran etanol dan air (Ramadan, 2010).

Hasil uji aktivitas antikanker zeolit NaX didapatkan nilai IC_{50} sebesar $1032,25 \mu\text{g/mL}$ yang berarti bahwa zeolit tidak memiliki aktivitas sebagai antikanker. Akan tetapi, zeolit NaX diketahui memiliki fungsi sebagai sistem pembawa obat (*Drug Delivery System*) atau pengemban. Berdasarkan hasil nilai IC_{50} yang didapatkan, sampel dengan perbandingan 1:10 memiliki nilai IC_{50} $1743,738 \mu\text{g/mL}$ yang lebih kecil dibandingkan sampel dengan perbandingan 5:10 dan 10:10. Hal ini menunjukkan bahwa sampel dengan perbandingan 1:10 mampu mengemban lebih banyak ekstrak daun sirsak. Nilai IC_{50} sampel dengan perbandingan 5:10 dan 10:10 berturut-turut adalah $71.076,923 \mu\text{g/mL}$ dan $5235,135 \mu\text{g/mL}$. Nilai IC_{50} sampel hasil pengembanan diketahui tidak lebih kecil daripada ekstrak dan zeolit tunggal $\mu\text{g/mL}$. Hal ini dimungkinkan karena zeolit sebagai DDS dapat mengontrol laju pelepasan senyawa (*controlled release*).

Kemampuan zeolit untuk mengontrol pelepasan senyawa menyebabkan proses *treatment* sel kanker oleh ekstrak daun sirsak tunggal lebih cepat menghambat pertumbuhan sel kanker daripada sampel yang diimbangkan. Hal ini dikarenakan ekstrak daun sirsak tanpa pengembunan tidak mampu mengontrol pelepasan senyawa ketika menghambat pertumbuhan sel kanker. Sedangkan, pada sampel ekstrak yang diimbangkan pada zeolit dimungkinkan ada senyawa yang teremban belum *terelease* untuk menghambat pertumbuhan sel kanker. *Controlled release* menunjukkan bahwa pelepasan obat terjadi sesuai dengan yang direncanakan, dapat diramalkan dan lebih lambat dari biasanya (Ansel, 1995). Adanya *control Release* mampu mencegah timbulnya efek farmakologi obat yang berlebihan atau bisa disebut efek toksik yang disebabkan karena dosis relatif terlalu besar jika pelepasan obat tidak dikontrol. Selain itu, dengan mengontrol pelepasan senyawa secara perlahan, zat aktif masih tersedia dalam jangka waktu tertentu sehingga efek terapeutik dapat dicapai lebih lama dan efek merugikan dari obat dapat dihindari karena berkurangnya frekuensi pemberian obat.

Kemampuan zeolit dalam mengontrol pelepasan obat selain dipengaruhi ukuran pori, juga dipengaruhi oleh sifat zeolit. Rasio Si/Al zeolit diketahui berpengaruh terhadap sifat zeolit hidrofob atau hidrofil (Spanakis, 2013). Zeolit NaX pada penelitian ini dimungkinkan bersifat hidrofob karena rasio Si/Al 2 dan jumlah Al⁻nya lebih sedikit sehingga berpengaruh pada pelepasan senyawa yang lebih lama karena diduga tidak ada molekul air yang tertampung dipermukaan zeolit yang membantu difusi senyawa keluar dari pori zeolit. Semakin kecil rasio Si/Al menunjukkan bahwa jumlah Al⁻ lebih banyak dan zeolit bersifat hidrofil

karena molekul air dapat tertampung dipermukaan zeolit sehingga mempermudah pelepasan obat (Spanakis, 2013).

Selain kurang maksimalnya proses maserasi dan impregnasi, keadaan sel juga berpengaruh terhadap hasil yang didapatkan. Sel siap ditreatment jika keadaan sel sudah konfluen. Konfluen adalah keadaan dimana sel telah homogen dan menempel memenuhi wadah kultur. Sebaliknya, jika belum konfluen maka sel harus diinkubasi kembali di inkubator CO₂. Saat sel belum konfluen sel mengalami perubahan sifat karena perkembangbiakan dalam tubuh (in vivo) bekerja secara integritas dalam suatu jaringan, sedangkan dalam kultur bekerja secara terpisah.

4.7 Pemanfaatan Tanaman Sebagai Obat Dalam Prespektif Islam

Penelitian ini mengkaji tentang senyawa kimia yang terkandung dalam daun sirsak (*Annona Muricata Linn*) sebagai antikanker. Menurut imam al Ghazali jalan untuk mengenal Allah dan mengagungkanNya adalah memikirkan hikmah yang terkandung dalam setiap ciptaanNya. Memikirkan dan merenungkan keajaiban serta memahami hikmah yang terkandung dalam setiap segala yang ada. Allah memberikan gelar *Ulul Albab* pada orang yang berfikir melalui aspek mata akal (fikir dan nadzar), jalan observasi (pengamatan), mata hati (dzikir) dan intropeksi (muhasabah, penghayatan dan perenungan) (Syafuruddin dalam Ahmad, 2003). Sebagaimana firman Allah surat al Imran ayat 190 yang berbunyi:

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَآخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ لَآيَاتٍ لِّأُولِي الْأَلْبَابِ



‘‘ Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan silih bergantinya malam dan siang terdapat tanda-tanda bagi orang-orang yang berakal’’(190)

Salah satu karunia Allah untuk direnungkan adalah ragam tanaman dengan segala macam manfaatnya. Banyaknya tanaman yang tumbuh di bumi ini benar-benar menjadi bukti jelas sempurnanya kekuasaan Allah, tidak ada yang mampu menambahkannya kecuali Allah Tuhan semesta alam, sebagaimana difirmankan Allah SWT pada QS.Asy Syu'ara ayat 7 yang berbunyi

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 pelbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?’’(7)

Kata *ila* pada ayat ini merupakan makna batas akhir. *Ila* berfungsi memperluas arah pandangan hingga batas akhir, dengan demikian ayat ini mengundang manusia untuk mengarahkan pandangannya hingga batas kemampuannya, dengan aneka tanah dan tumbuhannya, dan aneka keajaiban yang terhampar pada tumbuhan-tumbuhan. Kata *zauj* berarti pasangan, pasangan yang dimaksud pada ayat ini adalah pasangan tumbuh-tumbuhan, karena tumbuhan muncul di celah-celah tanah yang terhampar di bumi, dengan demikian ayat ini mengisyaratkan bahwa tumbuh-tumbuhan memiliki pasangan (benang sari dan putik) guna pertumbuhan dan perkembangannya. Kata *karim* antara lain digunakan untuk menggambarkan segala sesuatu yang baik bagi setiap objek yang disifatinya. Tumbuhan yang baik adalah tumbuhan yang subur dan bermanfaat (Shihab, 2002). Berdasarkan firman Allah tersebut jelas bahwa Allah menciptakan bumi yang didalamnya banyak terdapat tumbuhan yang baik, yang dapat dimanfaatkan oleh makhluk hidup, termasuk tumbuhan yang dapat digunakan

sebagai pengobatan. Tumbuh-tumbuhan tersebut bisa juga buah-buahan yang tersirat dalam Alqur'an surah 'Abasa ayat 25

أَنَا صَبَبْنَا الْمَاءَ صَبًّا ﴿٢٥﴾ ثُمَّ شَقَقْنَا الْأَرْضَ شَقًّا ﴿٢٦﴾ فَأَنْبَتْنَا فِيهَا حَبًّا ﴿٢٧﴾
وَعِنَبًا وَقَضْبًا ﴿٢٨﴾ وَزَيْتُونًا وَنَخْلًا ﴿٢٩﴾ وَحَدَائِقَ غُلْبًا ﴿٣٠﴾ وَفَيْكَةً وَأَبًّا ﴿٣١﴾
مَّتَعًا لَكُمْ وَلَا نَعْمَكُمْ ﴿٣٢﴾

“ Sesungguhnya Kami benar-benar telah mencurahkan air (dari langit)(25) kemudian Kami belah bumi dengan sebaik-baiknya,(26) lalu Kami tumbuhkan biji-bijian di bumi itu,(27) anggur dan sayur-sayuran,(28) zaitun dan kurma (29) kebun-kebun (yang) lebat,(30) dan buah-buahan serta rumput-rumputan,(31) untuk kesenanganmu dan untuk binatang-binatang ternakmu (32).”

Kekuasaan Allah dalam tumbuh-tumbuhan terlihat pada modifikasi tumbuh-tumbuhan sesuai dengan berbagai kondisi lingkungan. Semua tumbuhan memiliki susunan dan bentuk luar yang berbeda dengan tumbuhan lain. Setiap tanaman yang ditumbuhkan oleh Allah tentunya memiliki kegunaan yang berbeda-beda, sebagaimana tanaman padi yang dapat digunakan sebagai salah satu makanan pokok, begitu juga dengan buah sirsak termasuk buah-buahan yang dapat digunakan sebagai obat herbal.

Menurut Savitri (2008) bagian tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai obat adalah daun, akar, batang, rimpang, bunga, buah dan bijinya. Jika buah sirsak dapat dimanfaatkan sebagai obat, maka bagian tanaman sirsak yang lain juga dapat dimanfaatkan sebagai obat. Salah satu bagian tanaman sirsak yang dimanfaatkan dalam penelitian ini yaitu bagian daunnya. Berdasarkan penelitian yang dilakukan Rachmani (2012) ekstrak daun sirsak memiliki aktivitas sebagai antikanker terhadap sel T47D dengan nilai IC₅₀ 17,149 µg/mL. Pada penelitian ini

juga diketahui ekstrak etanol daun sirsak mampu menghambat pertumbuhan sel kanker T47D dengan nilai IC_{50} 148,796 $\mu\text{g/mL}$.

Pemanfaatan tumbuh-tumbuhan sebagai obat sudah diajarkan dalam islam sejak dahulu. Rasulullah telah memberikan petunjuk tentang cara mengobati diri beliau, keluarganya dan para sahabat yaitu menggunakan jenis obat yang tidak ada campuran kimia. Pengobatan nabi menggunakan tiga jenis obat yaitu obat alamiah, obat ilahiyah, dan kombinasiantara obat alamiyah dan ilahiyah. Pengobatannya berdasarkan wahyu Allah tentang apa yang bermanfaat dan yang tidak berbahaya, misalnya melakukan pengobatan dengan tumbuh-tumbuhan.



BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

1. Penambahan zeolit NaX terhadap aktivitas ekstrak daun sirsak (*Annona Muricata Linn*) sebagai antikanker sel payudara (T47D) secara *in vitro* belum memberikan hasil yang signifikan. Nilai IC_{50} yang didapatkan mempunyai nilai $> 1000 \mu\text{g/mL}$ yang berarti sampel ekstrak etanol daun sirsak yang diembankan zeolit tidak mampu menghambat pertumbuhan sel kanker. Nilai IC_{50} untuk masing-masing rasio 1:10; 5:10; dan 10:10 sangat besar, secara berturut-turut adalah sebesar $1.743,738 \mu\text{g/mL}$, $71.076,923 \mu\text{g/mL}$, dan $5.235,135 \mu\text{g/mL}$. Sedangkan untuk ekstrak tunggal akar rumput bambu dan zeolit NaX sebesar $\mu\text{g/mL}$ dan $1.032,25 \mu\text{g/mL}$.
2. Perbandingan antara ekstrak daun sirsak dengan zeolit NaX yang memiliki nilai IC_{50} paling kecil dari penelitian ini adalah 1:10 dengan nilai IC_{50} sebesar $1.743,738 \mu\text{g/mL}$. Namun, nilai IC_{50} tidak lebih baik daripada nilai IC_{50} zeolit tunggal.

5.2 Saran

1. Zeolit yang digunakan dalam penelitian ini mampu mengemban ekstrak, namun belum menunjukkan aktivitas dalam menghambat pertumbuhan sel kanker. perlu dilakukan penelitian lebih lanjut menggunakan zeolit yang murni atau menggunakan tipe zeolit lain yaitu NaY.

2. Metode pengembanan yaitu impregnasi basah diketahui kurang maksimal, sehingga perlu dilakukan penelitian menggunakan metode impregnasi kering.
3. Diperlukan penelitian lebih lanjut tentang proses laju pelepasan obat untuk mengetahui waktu yang dibutuhkan untuk merelease keseluruhan senyawa yang teremban.



DAFTAR PUSTAKA

- Aditama N.S. (2016). Sintesis dan Karakterisasi zeolit X dari Abu Vulkanik Gunung Kelud dengan Variasi Suhu Hidrotermal Menggunakan Metode Sol-Gel. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- A'llah, A. F. (2015). *Uji Aktivitas Antikanker Terhadap Sel Kanker Payudara T47D dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktif dari Ekstrak dan Fraksi Akar Rumput Bambu (Lopatherum Gracile Brogn)*. Malang: Jurusan Kimia FSAINTEK UIN Malang.
- Alali, F. K. (1998). *Phytochemistry*. New York: vol 49, No.2, pp 565-571.
- Alfaruqi, M. (2008). *Pengaruh Konsentrasi Hidrogen Klorida (HCl) dan Temperatur Perlakuan Hidrotermal terhadap Kristalinitas Material Mesopori Silika SBA-15 [Skripsi]*. Jakarta: Universitas Indonesia.
- Arifanti, L. S. (2014). *Uji Aktivitas Ekstrak Biji Sirsak (Annona Murcata L) Terhadap Sel Kanker Mamaliasecara In Vitro*. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Baerlocher, C. M. (2001). *Atlas of Zeolite Framework Types Fifth Revised Edition*. Elsevier.
- Baraja, M. (2008). *Uji Toksisitas Daun Ficu selastica Nois ex Blume terhadap Artemia*.
- Basmal, J. A. (2009). *Seminar Nasional Pengolahan Produk dan Bioteknologi kelautan dan Perikanan*. Jakarta.
- Bermejo, A. F.-P. (2005). *Acetogenin from Annonaceae: Recent progress in Isolation, Synthesis, and Mechanism of Action*. National Product Reports. 22, 269-303.
- Cheng, Y. W. (2005). *Preparation and Characterization of Nanosized ZSM-5 Zeolite in The Absence Of Organic Template*. Materials Letters. Volume 59: 3427-3430.
- Cronquist, A. (1981). *An Integrated System of Clasification of Flowering Plants*. New York: Columbia University Press.

- Cundy, C. d. (2005). *The Hydrothermal Synthesis of Zeolites : Precursors, Intermediates and Reaction Mechanism*”, *Microporous and Mesoporous Materials*. Vol. 82, hal. 1–78.
- Flanigen, E. d. (1974). *Infrared Structural Studies of Zeolite Frameworks. In Molecular Sieve Zeolites-I*. American Chemical Society. Washington: doi: 10.1021/ba-1971-0101.ch016.
- Galih, P. L. (2013). *Ekstraksi Daun Sirsak (Annona Muricata) Menggunakan Pelarut Etano*. Jurnal Teknologi Kimia dan Industri. Vol 2. No 2.
- Gavamukulya, Y. F. (2014). *Photochemical Screening Anti-Oxidant Activity an In Vitro Anticancer Potential of Ethanolic And Water Leave Extract of Annona Muricata (graviola)*. Cairo: Asian Pac J Trop Med 2014:7 (suppl 1): S355-S363.
- Geum-soog Kim, L. Z.-E. (1998). *Journal Of Natural Product*. 62, 432-436.
- Ghazi, N. H. (2013). *The Effect Of Zeolite X and Y on Cancer Cell Lines*. Malaysia: Universiti Teknologi Malaysia.
- GLOBOCAN. (2012). *Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC Cancer Base No.10*. Lyon: IARC Pres.
- Gorman, J. (2006). *Transition Metal-Mediated Cyclization and Synthesis of Annonaceous Acetogenin Analog*. Doctor of Philosophy, University of Texas.
- Harborne, J. (1996). *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Padmawinata K, Soedira I, penerjemah. Bandung: Penerbit Institut Teknologi Bandung. Terjemahan dari: Phytochemical methods.
- Herlina, i. (2013). *Antara Impregnasi Kering, Impregnasi Basah, dan Pertukaran Ion*. Herlinaisra.blogspot.co.id. di akses tanggal 22 mei 2015.
- Jing, Z. Y.-Q.-W.-C. (2009). *Chemical Constituents from the Leaves of Lophatherium gracile*. Chinese Journal of Natural Medicines. 7(6): 428-431.
- K., H. (1987). *Tumbuhan Berguna Indonesia*. Jakarta: Badan Litbang Kehutanan.
- Kemenkes, R. (2015). *Pusat Data dan Informasi*. Jakarta Selatan: Jl. HR Rasuna Said.

- Kusumawati, I. D. (2003). *Eksplorasi Keanekaragaman dan Kandungan Kimia Tumbuhan Obat di Hutan Tropis Gunung Arjuno*. Jurnal Bahan Alam Indonesian ISSN 1412-2855. Volume2, Nomor3.
- Kwaky-Awuah, B. (2008). *Production of Silver-Loaded Zeolites and Investigation of Their Antimicrobial Activity [Tesis]*. U.K: University of Wolverhampton.
- Lee, J. R. (2008). *Kanker Payudara Pencegahan dan pengobatannya*. Jakarta: Daras Books.
- Lim, T. K. (2012). *Annona Muricata*. In : *Edible Medicine and Non Medicine, Vol.1 Fruits*, Lim, T.K. (edt). Dondherect Hold berg London New York: Springer Science and Bussiness media BV, P. 190-200.
- Lisdawati, V. (2002). *Berdasar Uji Penapisan Farmakologi pada Buah Mahkota Dewa*. Fakultas Kedokteran. Yogyakarta: UGM <http://www.farmakologi.fk.ugm.ac.id/200/05/30/berdasar-uji-penapisan-farmakologi-pada-buah-mahkota-dewa/>. Di akses tanggal 22 mei 2015.
- Lu Zeng, W. F. (1996). *Journal Of Natural Product*. 59, 1035-1042.
- Luna, J. D. (2006). *Acetogenins in Annona Muricata L, (Annonaceae) Leaves are Potent Mollucicides*. National Product Research. 20 (3), 253-56.
- Lusia, O. (2006). *Pemanfaatan Obat Tradisional dengan Pertimbangan Manfaat dan Keamanannya*. ISSN: 1693-9883 Majalah Ilmu Kefarmasian, Vol III, No.1, April 2006, 01-07.
- Maharani, S. (2009). *Kanker.Mengenal 13 Jenis Kanker dan Pengobatannya*. Yogyakarta: Katahati Press.
- Mardiana, L. (2011). *Kanker pada Wanita Pencegahan dan Pengobatan dengan Tanaman Obat*. Bogor: Penerbit Swadaya.
- Martin, J. M.-M. (1999). *Chemical Defence in the Zebra Swallowtail Butterfly, Eurytides Marcellus, Involving Annonaceous Acetogenin*. J. Nat. Prad. 62, 2-4.
- Meiyanto, M. K. (1999). *Targeted Disruption of the Microsomal Epoxide Hydrolase Gene*. The Journal of Biological Chemistry. 274. 23963-23968.

- Mosman, T. (1983). *Rapid Colorimetric Assay for Cellular Growth and Survival: Application to Proliferation and Cytotoxicity Assays*. Journal of Immunological Method. Volume 16, (1-2): 55-63.
- Putri, L. (2013). *Uji Toksisitas Ekstrak Bunga Sirsak (Annona Muricata L) dengan Metode BSLT (Brine Shrimp Lethaly Test) dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktifnya*. Malang: Universitas islam negeri Maulana malik Ibrahim Malang Press.
- Rachmani, E. A. (2012). *The Breast Of Anticancer From Leaf Extract Of Annona Muricata Againts Cell Line In T47D*. Jakarta: Department of Medicine Jendral Soedirman University Indonesia.
- Rachmayanti, H. H. (2012). *Uji Sitotoksik Fraksi Non Polar Ekstrak Etanol Kulit kayu Srikaya (Annona Muricata L) Terhadap Sel T47D*. Surakarta: Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Ramadhan. (2010). *Pengaruh Konsentrasi Etanol, Suhu dan Jumlah Stage Pada Ekstraksi Oleoresin Jahe (Zingiber Officinale Rosc) Secara Batch*. Semarang: Universitas Diponegoro.
- Retnani, V. (2011). *Pengaruh Suplementasi Ekstrak Daun Annona Muricata Terhadap Kejadian Displasia Epitel Kelenjar Payudara T47D Sprague Dawley yang diinduksi 7,12 Dimethylbenzena Anthracoa*. Semarang: UNDIP Press.
- Ricardo Amorim, N. V. (2012). *Zeolite Structure Loading with an Anticancer Compound as Drug Delivery System*. portugal: The Journal of Physical Chemistry, vol.116, hal, 25642-25650.
- Rios, C. W. (2012). *Crystallization of Low Silica Na-A and Na-X Zeolites from Transformation of Kaolin and Obsidian by Alkaline Fusion*. Jurnal Materials Engineering. Volume 14, Nomor 2: 125-137.
- Riyanto. Ari, F. (2007). *Studi Reaksi Katalitik O-Metlasi Fenoldan Metanol Menjadi Anisol dengan Menggunakan Katalis Zeolt X dalam Fasa Cair*. Depok: Departemen Kimia UI.
- Sari, S. P. (2014). *Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Kasar Daun Rumput Bambu (Lophatherum gracile Brongn) Terhadap Larva Ugang Artemia Salina Leach Dan Identifikasi Awal Senyawa Aktifnya*. Skripsi. Diterbitkan. Jurusan Kimia FSAINTEK UIN Malang.

- Savitri, E. S. (2008). *Rahasia Tumbuhan Berkhasiat Obat Prespektif Islam*. Malang: UIN-Malang Press.
- Septyaningsih, D. (2010). *Isolasi dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Biji Buah Merah (Pandanus conoideus Lamk)*. Surakarta: Universitas Sebelas Maret Press.
- Smart, L. E. (2012). *Fourth Edition Solid State Chemistry an Introduction*. France: CRC Press.
- Socrates, G. (1994). *Infrared Spectroscopy*. Chicester: John Willey & Sons Ltd.
- Spanakis, M. B. (2013). *Controlled Release of 5-fluorouracil from Microporous Zeolite*. Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine.
- Sriatun. (2004). *Sintesis Zeolit A dan Kemungkinan Penggunaannya sebagai Penukar Kation*. No. Artikel: JKSA. Vol. VII (3): 66-72.
- Steenis, C. (2006). *Flora*. Jakarta. PT. Pradaya Paramita.
- Sudjari, K. U. (2005). *Efek Biji Sirsak (Annona Muricata L) sebagai Larvasida Aedes sp.* Malang: Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
- Sunarjono, H. (2005). *Sirsak Srikaya*. Bogor: Penerbit Swadaya.
- Taffarel, S. d. (2010). *Adsorption of Sodium Dodecyl Benzene Sulfonate from Aqueous Solution using a Modified Natural Zeolite with CTAB*. Minerals Engineering 23: 771–779.
- Treacy, M. d. (2001). *Collection of Simulated XRD Powder Patterns for Zeolites, 4th ed.* New York: Elsevier Science Publishers B.V.
- Utami, P. (2008). *Buku Pintar Tanaman Obat*. Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Vilaca, N. d. (2011). *Encapsulation of α -Cyano-4-Hydroxycinnamic Acid into a NaY Zeolite*. J. Mater Sci (2011) 46: 7511-7516.
- Villo, P. V. (2008). *Synthesis of Acetogenin Analogues*. Master Thesis in Organic Chemistry, University of Tartu.
- Voight, R. (1995). *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi. Diterjemahkan oleh Soedani Noerono Soewandi, Apt.* Yogyakarta: Universitas Gajah Mada press.

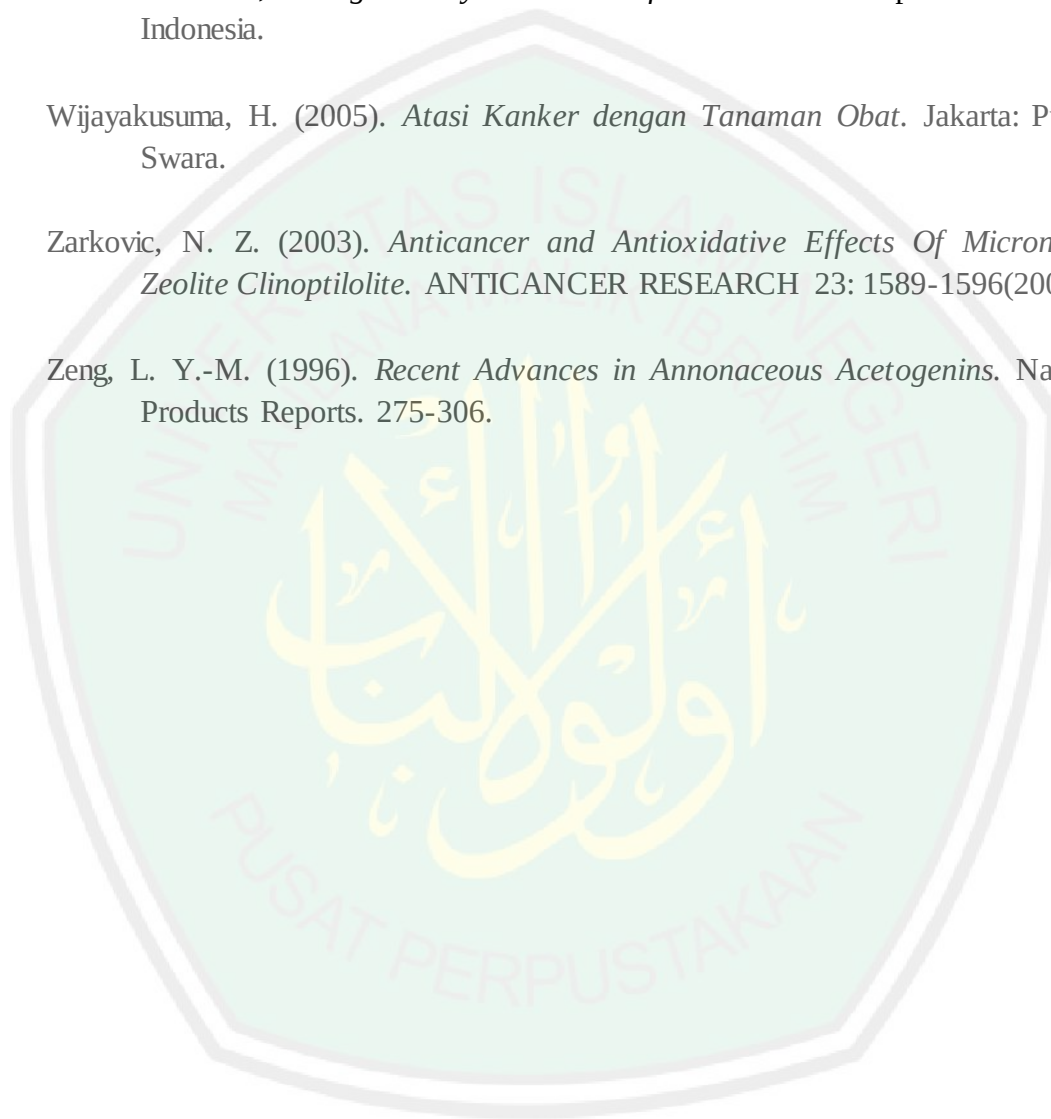
Widati, A. B. (2010). *Synthesis of Zeolite a from Baggase and Its Antimicrobial Activity on Candida albicans*. Jurnal MIPA. 15 (2): 78-81.

Wijaya, M. (2012). *Ekstraksi Annonaceous Acetogenin dari Daun SIrsak, Annona Muricata, sebagai Senyawa Bioaktif Antikanker*. Depok: Universitas Indonesia.

Wijayakusuma, H. (2005). *Atasi Kanker dengan Tanaman Obat*. Jakarta: Puspa Swara.

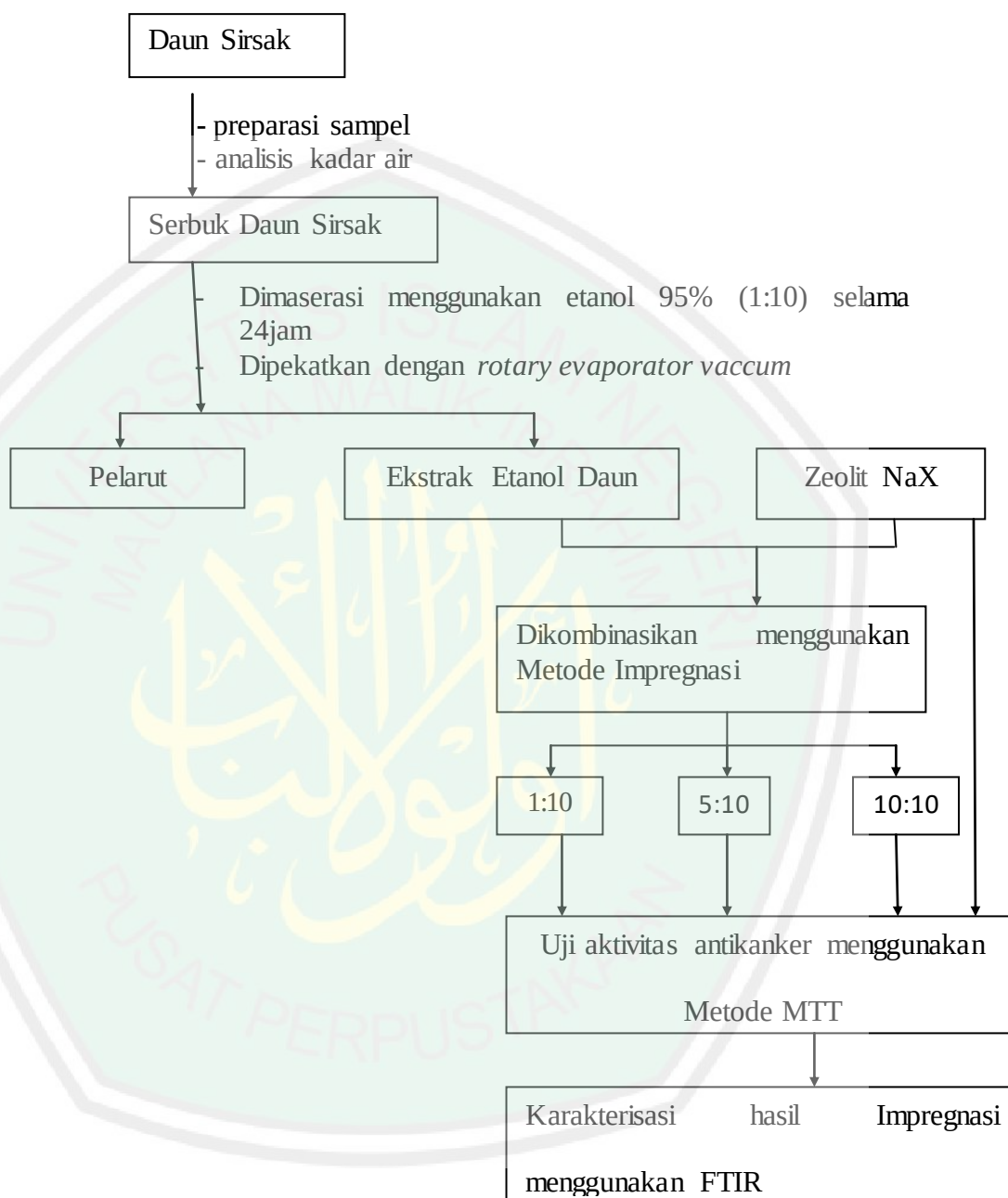
Zarkovic, N. Z. (2003). *Anticancer and Antioxidative Effects Of Micronized Zeolite Clinoptilolite*. ANTICANCER RESEARCH 23: 1589-1596(2003).

Zeng, L. Y.-M. (1996). *Recent Advances in Annonaceous Acetogenins*. Natural Products Reports. 275-306.



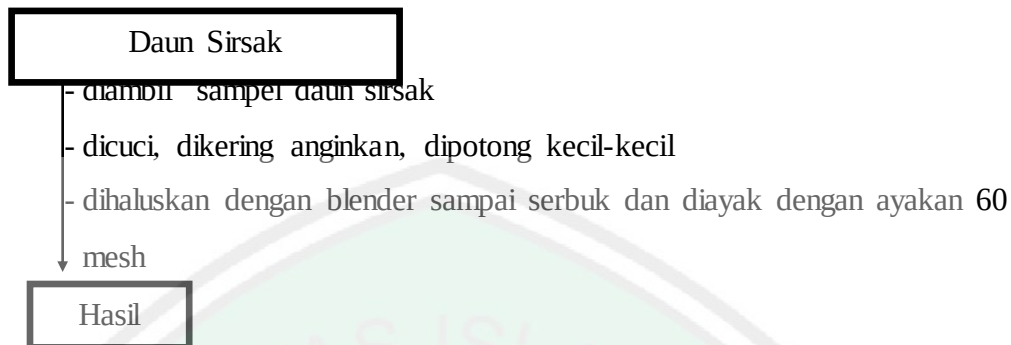
LAMPIRAN

L.1 Diagram Alir Penelitian

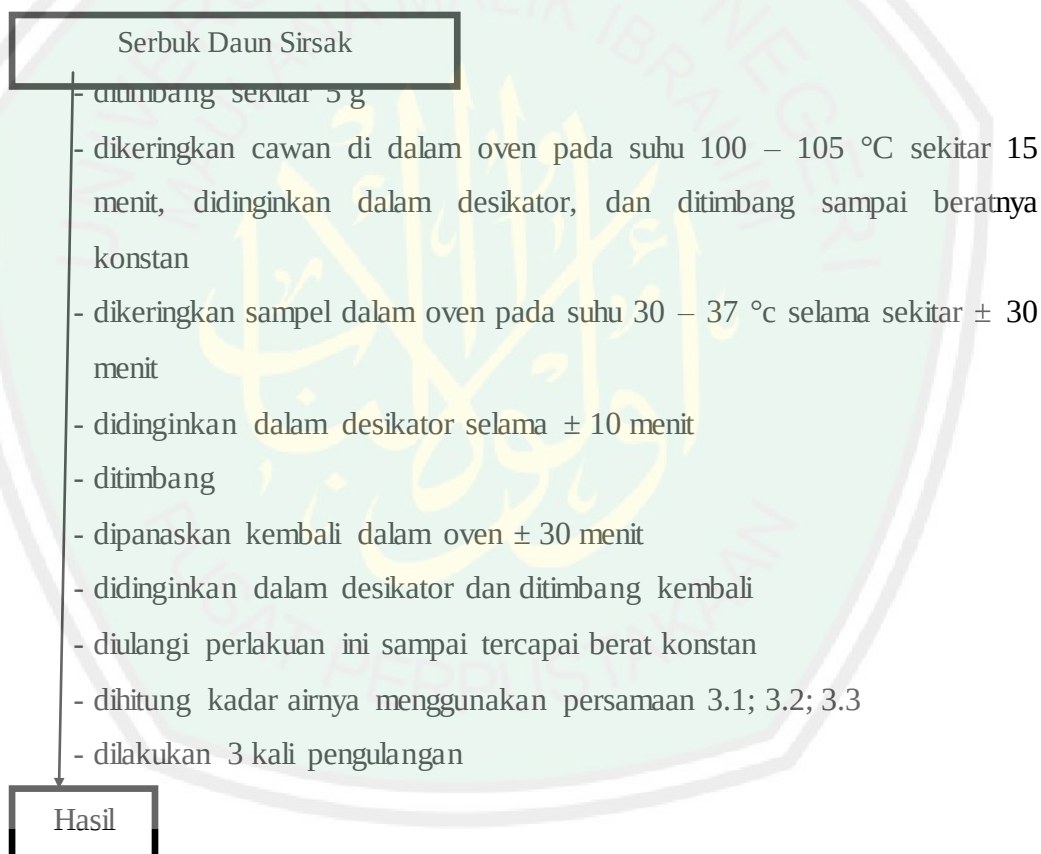


Lampiran 2. Skema Kerja

L.2.1 Preparasi Sampel



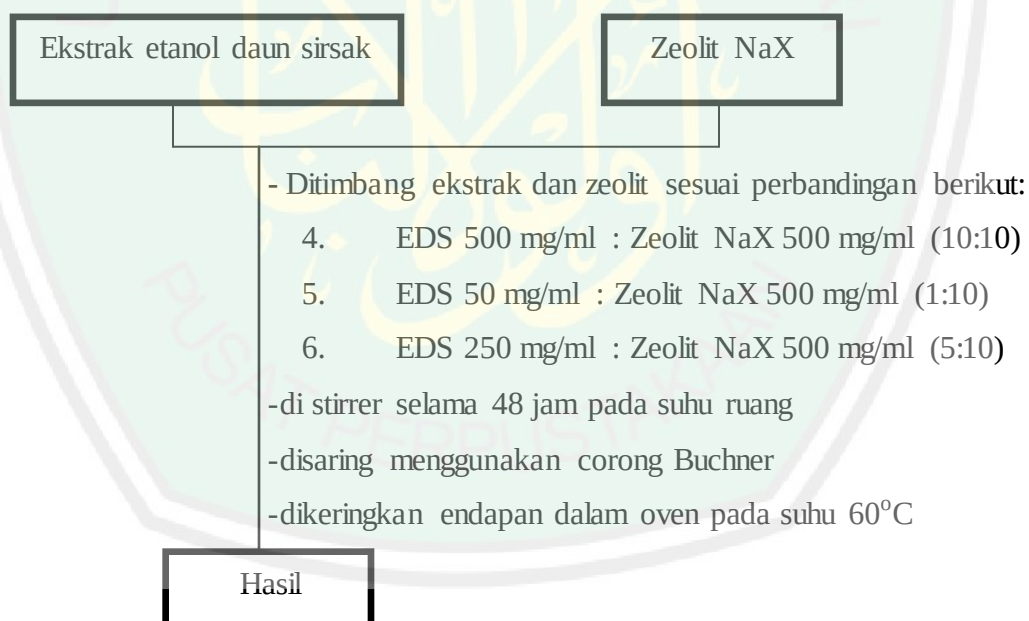
L.2.2 Analisa Kadar Air



L.2.3 Ekstraksi Komponen Aktif

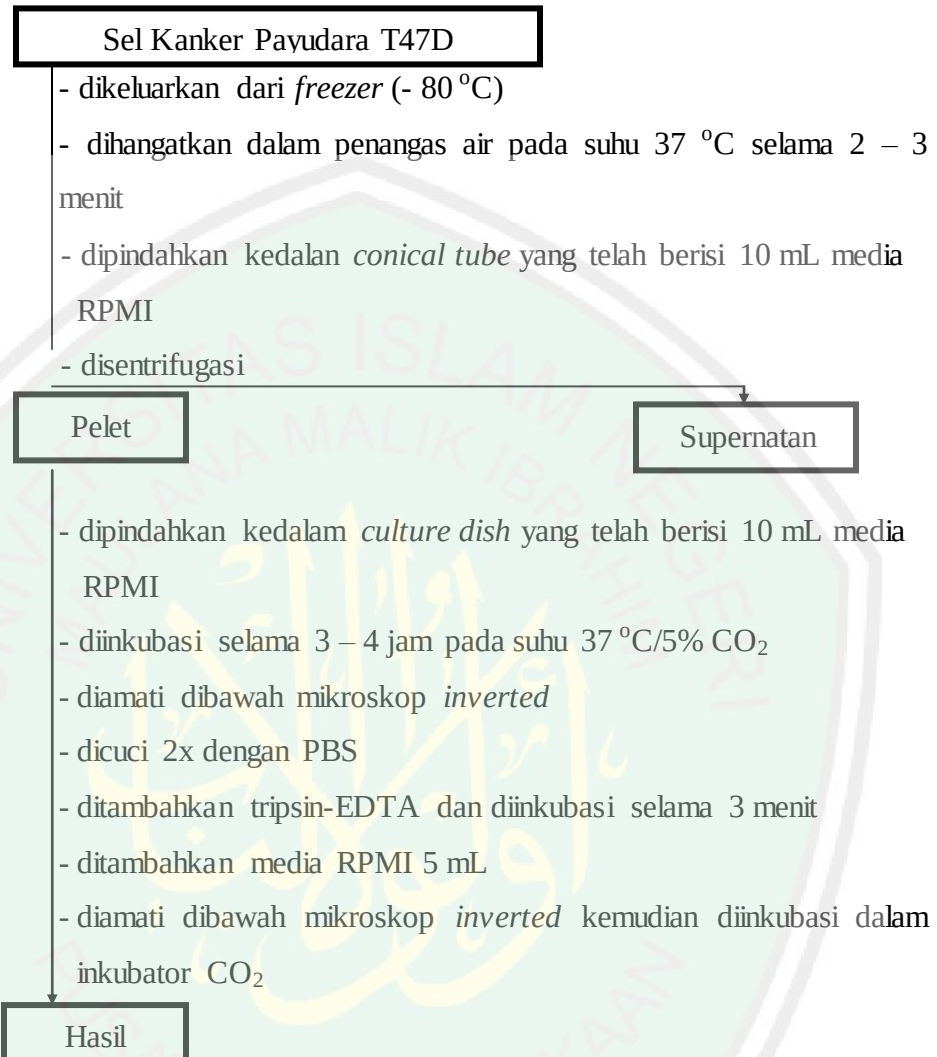


L.2.4 Kombinasi Ekstrak Daun sirsak dengan Zeolit NaX

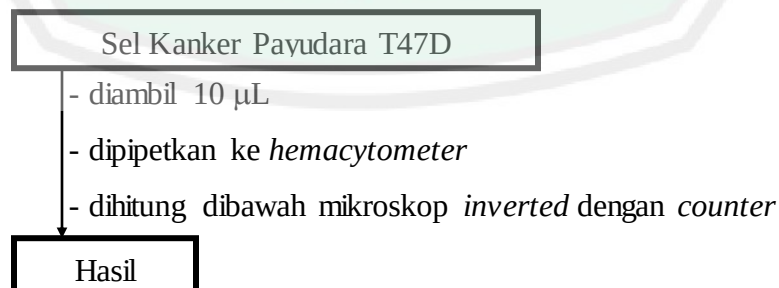


L.2.5 Uji Aktivitas Antikanker dengan Metode MTT

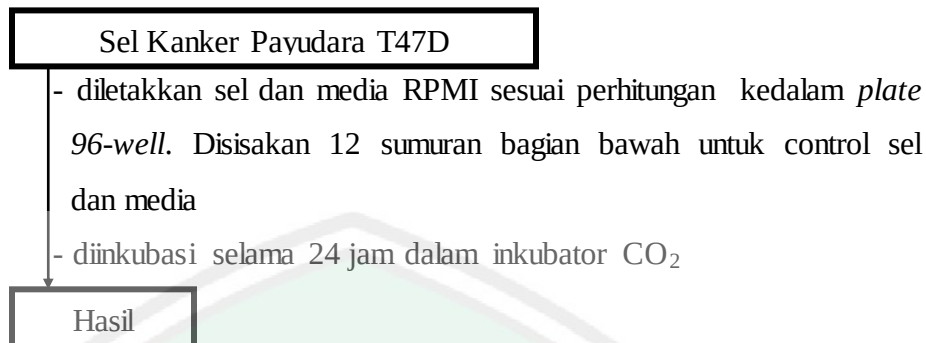
L.2.5.1 Penyiapan Sel



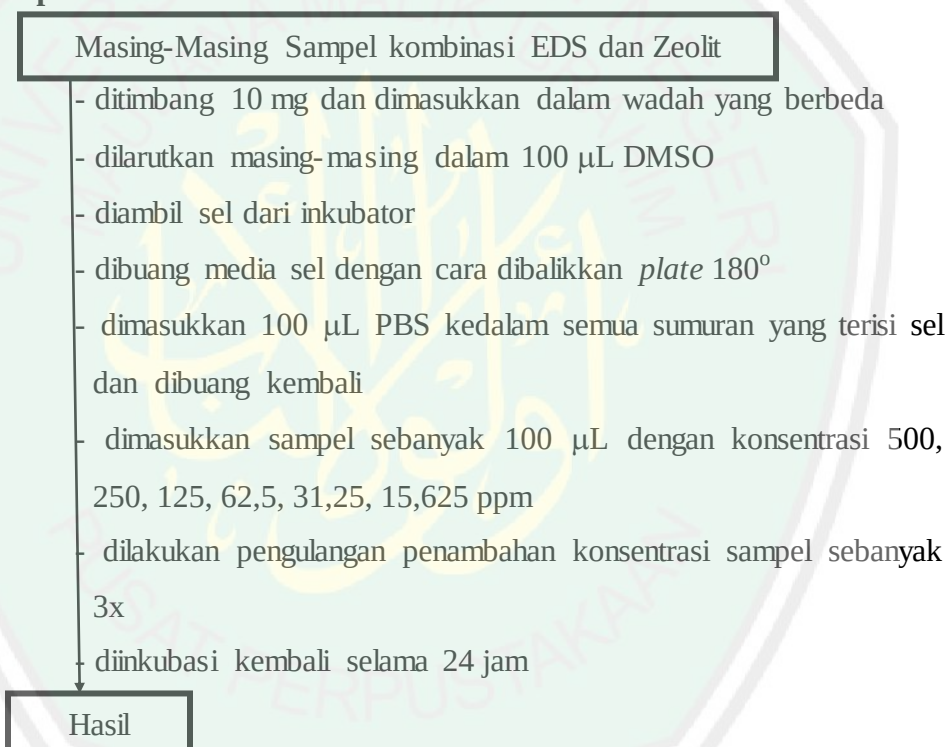
L.2.5.2 Penghitungan Sel Kanker



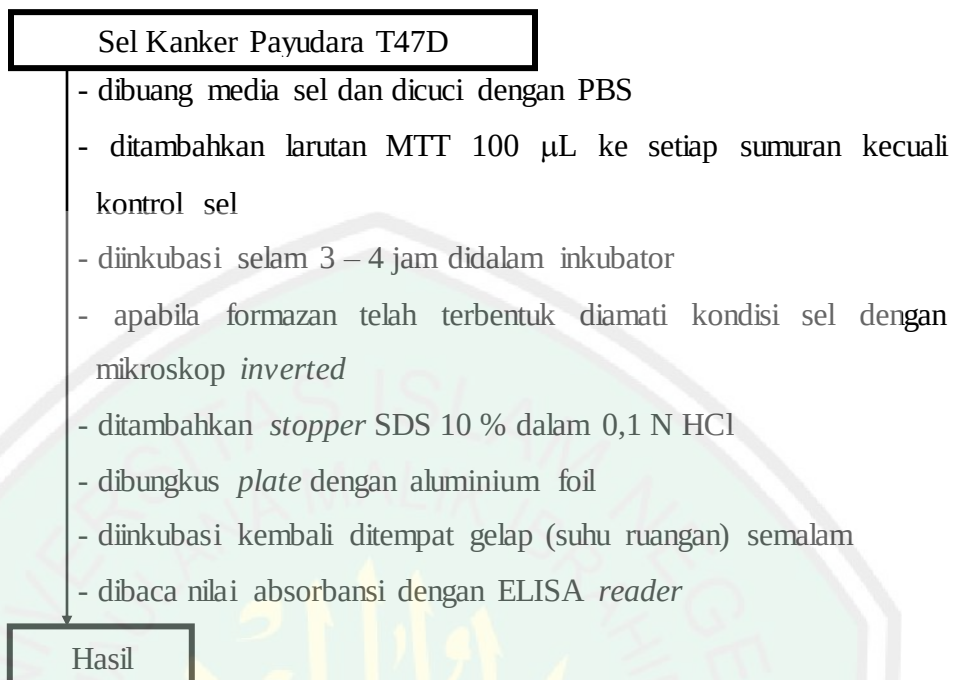
L.2.5.3 Peletakan Sel pada *Plate*



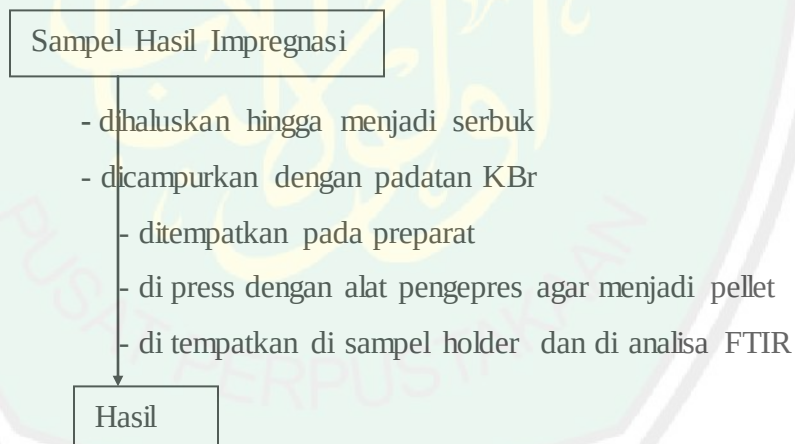
L.2.5.4 Pembuatan Larutan Sampel dan Pemberian Larutan Sampel pada *Plate*



L.2.5.5 Pemberian Larutan MTT



L.2.5.6 Karakterisasi Hasil Impregnasi Menggunakan FTIR



Lampiran 3. Perhitungan Serta Cara Pembuatan Larutan dan Reagen

L.3.1 Pembuatan Larutan Etanol 95%

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

$$96\% \times V_1 = 95\% \times 1000 \text{ mL}$$

$$V_1 = 989,58 \text{ mL} \quad 990 \text{ mL}$$

Cara pembuatannya adalah di isi labu takar 1000 mL dengan 10 mL aquades, kemudian ditambahkan 990 mL etanol p.a (96%) secara perlahan didalam lemari asap. Digoyangkan sebentar lalu ditambahkan aquades kembali hingga tanda batas. Selanjutnya dikocok hingga homogen.

L.3.2 Pembuatan Larutan SDS 10%

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

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

L.3.3 Pembuatan Larutan Stok MTT (5 mg/mL) (CCRC, 2009)

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

L.3.4 Pembuatan Larutan Stok 500 ppm Sampel (ekstrak daun sirsak, zeolit NaX, kombinasi Ekstrak dan zeolit)

$$\text{Berat sampel} = 10 \text{ mg}$$

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

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

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

$$1 \text{ mL} \times 500 \text{ } \mu\text{g/mL} = 100000 \text{ } \mu\text{g/mL} \times V_2$$

$$V_2 = 0,005 \text{ mL} = 5 \text{ } \mu\text{L}$$

Larutan stok 500 ppm dibuat dengan cara mengambil 5 μL sampel yang telah dilarutkan dengan 100 μL DMSO menggunakan mikropipet. Kemudian ditambahkan 995 μL media kultur RPMI dan diresuspensi hingga homogen.

Lampiran 4. Data dan Perhitungan Hasil Penelitian

L.4.1 Perhitungan Kadar Air

A. Data Pengukuran Kadar Air Sampel Kering Daun Sirsak (*Annona Muricata L*)

Ulangan perlakuan	Berat cawan kosong (g)		
	Cawan 1	Cawan 2	Cawan 3
P1	24,9165	17,4936	19,1449
P2	24,9175	17,4940	19,1454
P3	24,9168	17,4934	19,1442
Rata-Rata Berat Konstan	24,9169	17,4936	19,1448

Berat cawan + sampel sebelum dioven:

- Cawan 1 = 27,4166 g
- Cawan 2 = 19,9940 g
- Cawan 3 = 21,6448 g

Ulangan perlakuan	Berat cawan + Sampel (g)		
	Cawan 1	Cawan 2	Cawan 3
P1	27,2702	19,8381	21,5015
P2	27,2700	19,8379	21,5015
P3	27,2715	19,8380	21,5011
Rata-rata berat konstan	27,2705	19,8380	21,5013

B. Perhitungan Kadar Air Sampel Kering Daun Sirsak (*Annona Muricata L*)

Adapun rumus perhitungan kadar air adalah :

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

Keterangan: a = berat konstan cawan kosong

b = berat cawan + sampel sebelum dikeringkan

c = berat konstan cawan + sampel setelah dikeringkan

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

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

❖ Ulangan ke 1

$$\begin{aligned} \text{Kadar air} &= \frac{(27,4166 - 27,2705)}{(27,4166 - 24,9169)} \times 100 \% \\ &= \frac{0,1461}{2,4997} \times 100 \% \\ &= 5,8447 \% \end{aligned}$$

$$\text{Faktor koreksi} = \frac{100}{100 - 5,8447 \%}$$

$$= \frac{100}{94,1553 \%}$$

$$= 1,0620\%$$

$$\% \text{ kadar air terkoreksi} = 5,8447 \% - 1,062 \%$$

$$= 4,7827 \%$$

❖ **Ulangan ke 2**

$$\text{Kadar air} = \frac{(19,9940 - 19,8380)}{(19,9940 - 17,4936)} \times 100 \%$$

$$= \frac{0,156}{2,5004} \times 100 \%$$

$$= 6,239 \%$$

$$\text{Faktor koreksi} = \frac{100}{100 - 6,239\%}$$

$$= \frac{100}{93,761 \%}$$

$$= 1,0665 \%$$

$$\% \text{ kadar air terkoreksi} = 6,239 \% - 1,0665 \%$$

$$= 5,1725 \%$$

❖ **Ulangan ke 3**

$$\text{Kadar air} = \frac{(21,6448 - 21,5013)}{(21,6448 - 19,1448)} \times 100 \%$$

$$= \frac{0,1435}{2,5} \times 100 \%$$

$$= 5,74 \%$$

$$\text{Faktor koreksi} = \frac{100}{100 - 5,74 \%$$

$$= \frac{100}{94,26 \%}$$

$$= 1,0608 \%$$

$$\% \text{ kadar air terkoreksi} = 5,74\% - 1,0608 \%$$

$$= 4,6792 \%$$

Hasil rata-rata kadar air dari ulangan ke 1 sampai ulangan ke 3 adalah :

$$\text{Rata-rata kadar air} = \frac{5,8447 \% + 6,239\% + 5,74\%}{3}$$

$$= 5,9412 \%$$

Hasil rata-rata faktor koreksi dari ulangan ke 1 sampai ulangan ke 3 adalah :

$$\text{Rata-rata faktor koreksi} = \frac{1,062 \% + 1,0665 \% + 1,0608 \%}{3}$$

$$= 1,0631 \%$$

Hasil rata-rata kadar air terkoreksi dari ulangan ke 1 sampai ulangan ke 3 adalah :

$$\text{Rata-rata kadar air terkoreksi} = \frac{4,7827\% + 5,1725\% + 4,6792}{3}$$

$$= 4,8781\%$$

Kadar air yang terkandung pada sampel kering daun sirsak (*Annona Muricata L*) pada setiap pengulangannya adalah :

Sampel	Kadar air yang terkandung dalam sampel			
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Rata-Rata
Daun sirsak	4,7827 %	5,1725 %	4,6792 %	4,8781 %

L.4.2 Perhitungan Rendemen

1. Ekstrak Etanol 80 %

Berat sampel = 59,9981 g

Berat ekstrak pekat = 8,0271 g

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

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{8,0271 \text{ g}}{59,9981 \text{ g}} \times 100 \% = 13,3789 \%$$

L.4.3 Perhitungan pengembanan Ekstrak daun sirsak pada zeolit NaX menggunakan metode impregnasi

$$\% \text{ impregnasi} = \frac{\text{berat endapan hasil impregnasi}}{\text{berat awal sebelum di impregnasi}} \times 100 \%$$

- **Kombinasi Ekstrak Etanol daun sirsak dengan zeolit NaX 1:10**

Berat Zeolit NaX : 0,1015 gram

Berat Ekstrak Daun sirsak = 0,0105 gram

Berat kertas saring = 0,5424 gram

Berat endapan + berat kertas saring = 0,6259 gram

Berat endapan = 0,0835 gram

$$\% \text{ hasil impregnasi} = \frac{0,0835 \text{ gr}}{0,1120 \text{ gr}} \times 100 \% = 74,5535 \%$$

- **Berat endapan = 0,1136 Kombinasi Ekstrak Etanol daun sirsak dengan zeolit NaX 5:10**

Berat Zeolit NaX : 0,1500 gram

Berat Ekstrak Daun sirsak = 0,0502 gram

Berat kertas saring = 0,5379 gram

Berat endapan + berat kertas saring = 0,6515 gram

Berat endapan = 0,1136 gram

$$\% \text{ hasil impregnasi} = \frac{0,1136 \text{ gr}}{0,2002 \text{ gr}} \times 100 \% = 56,7432 \%$$

- **Kombinasi Ekstrak Etanol daun sirsak dengan zeolit NaX 10:10**

Berat Zeolit NaX : 0,1000 gram

Berat Ekstrak Daun sirsak = 0,1000 gram

Berat kertas saring = 0,5875 gram

Berat endapan + berat kertas saring = 0,6963 gram

Berat endapan = 0,1088 gram

$$\% \text{ hasil impregnasi} = \frac{0,1088 \text{ gr}}{0,2000 \text{ gr}} \times 100 \% = 54,4 \%$$

L.4.4 Perhitungan Data dan Hasil Uji Aktivitas Antikanker secara *In-Vitro*

A. Perhitungan konsentrasi sel

➤ Jumlah sel yang dihitung (mL^{-1})

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

$$= \frac{246 + 218 + 148 + 154}{4} \times 10^4$$

$$= 191,5 \times 10^4 / \text{mL}$$

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

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

$$= \frac{100 \times 10^4}{191,5 \times 10^4 / \text{mL}}$$

$$= \frac{100 \times 10^4}{191,5 \times 10^4 / \text{mL}}$$

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

Volume panen sel yang ditransfer sebanyak 0,6 mL, ditambahkan hingga 9,4 mL media kultur RPMI (MK) karena setiap sumuran akan diisi 100 μL MK berisi sel, sehingga total volume yang diperlukan untuk menanam sel = 100 μL x 100 sumuran = 10000 μL atau 10 mL (berisi MK 9,4 mL dan sel 0,6 mL).

B. Perhitungan Prosentase Sel Hidup

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

No.	Absorbansi kontrol sel	Absorbansi kontrol media
1.	0.778	0.112
2.	0.639	0.416
3.	0.778	0.116
Rata –Rata:	0.731	0.115

1. Ekstrak etanol Daun sirsak

Konsentrasi	Absorbansi			Rata-rata	% Hidup
	Pengulangan 1	Pengulangan 2	Pengulangan 3		
500	0.188	0.157	0.155	0.166667	8.387446
250	0.131	0.129	0.133	0.131	2.597403
125	0.48	0.652	0.438	0.523333	66.28788
62.5	0.698	0.738	0.677	0.704333	95.671
31.25	0.727	0.895	0.861	0.827667	115.6926
15.625	0.852	0.935	0.905	0.897333	127.0022

2. Kombinasi Ekstrak dengan zeolit 1:10

konsentrasi	Absorbansi			Rata-rata	% Hidup
	Pengulangan 1	Pengulangan 2	Pengulangan 3		
500	0.816	0.799	0.869	0.828	115.7468
250	0.949	0.912	0.877	0.912667	129.4913
125	0.987	0.979	1.04	1.002	143.9935
62.5	0.92	0.895	0.981	0.932	132.6299
31.25	0.958	0.998	1.012	0.989333	141.9372
15.625	0.947	0.958	1.087	0.997333	143.2359

3. Kombinasi Ekstrak dengan zeolit 5:10

konsentrasi	Absorbansi			Rata-rata	% Hidup
	Pengulangan 1	Pengulangan 2	Pengulangan 3		
500	0.927	0.973	1.052	0.984	141.0714
250	0.999	1.001	0.998	0.999333	143.5606
125	1.001	1.001	0.998	1	143.6688
62.5	0.985	1	0.895	0.96	137.1753
31.25	1.04	0.997	1.018	1.018333	146.645
15.625	0.982	0.97	0.999	0.983667	141.0173

4. Kombinasi Ekstrak dengan Zeolit NaX 10:10

konsentrasi	Absorbansi			Rata-rata	% Hidup
	Pengulangan 1	Pengulangan 2	Pengulangan 3		
500	1.015	0.936	0.946	0.965667	138.0952
250	1.012	1.013	0.842	0.955667	136.4719
125	1.085	1.079	1.052	1.072	155.3571
62.5	1.036	1.019	0.986	1.013667	145.8874
31.25	0.987	1.003	0.975	0.988333	141.7749
15.625	1.097	1.022	0.912	1.010333	145.3463

5. Zeolit NaX

konsentrasi	Absorbansi			Rata-rata	% Hidup
	Pengulangan 1	Pengulangan 2	Pengulangan 3		
500	0.656	0.681	0.686	0.674333	90.80087
250	0.68	0.926	0.842	0.816	113.7987
125	0.782	0.533	0.52	0.611667	80.62771
62.5	1.021	0.627	1.092	0.913333	129.5996
31.25	0.619	0.482	1.082	0.727667	99.45887
15.625	0.908	1.085	1.219	1.070667	155.1407

➤ Perhitungan Prosentase Sel Hidup

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

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

B = absorbansi kontrol media (media kultur)

C = absorbansi kontrol negatif (sel + media kultur)

1. Ekstrak etanol 95 %

$$\text{❖ Konsentrasi 500} \rightarrow \% \text{ Hidup} = \frac{0,166 - 0,115}{0,731 - 0,115} \times 100 \% = 8,3874\%$$

$$\text{❖ Konsentrasi 250} \rightarrow \% \text{ Hidup} = \frac{0,131 - 0,115}{0,731 - 0,115} \times 100 \% = 2,5974 \%$$

- ❖ Konsentrasi 125 → % *Hidup* = $\frac{0,523-0,115}{0,731-0,115} \times 100 \% = 57.177 \%$
- ❖ Konsentrasi 62,5 → % *Hidup* = $\frac{0,704-0,115}{0,731-0,115} \times 100 \% = 77.704 \%$
- ❖ Konsentrasi 31,25 → % *Hidup* = $\frac{0,827-0,115}{0,731-0,115} \times 100 \% = 91.530 \%$
- ❖ Konsentrasi 15,625 → % *Hidup* = $\frac{0,897-0,115}{0,731-0,115} \times 100 \% = 103.298 \%$

2. Kombinasi Ekstrak dengan Zeolit NaX 1:10

- ❖ Konsentrasi 500 → % *Hidup* = $\frac{0,828-0,115}{0,616-0,115} \times 100 \% = 115.746 \%$
- ❖ Konsentrasi 250 → % *Hidup* = $\frac{0,912-0,115}{0,616-0,115} \times 100 \% = 129.383 \%$
- ❖ Konsentrasi 125 → % *Hidup* = $\frac{0,1002-0,115}{0,616-0,115} \times 100 \% = 143.993 \%$
- ❖ Konsentrasi 62,5 → % *Hidup* = $\frac{0,932-0,115}{0,616-0,115} \times 100 \% = 132.629 \%$
- ❖ Konsentrasi 31,25 → % *Hidup* = $\frac{0,989-0,115}{0,616-0,115} \times 100 \% = 141.883 \%$
- ❖ Konsentrasi 15,625 → % *Hidup* = $\frac{0,997-0,115}{0,616-0,115} \times 100 \% = 141.871 \%$

3. Kombinasi Ekstrak dengan Zeolit NaX 5:10

- ❖ Konsentrasi 500 → % *Hidup* = $\frac{0,984-0,115}{0,616-0,115} \times 100 \% = 141,071 \%$
- ❖ Konsentrasi 250 → % *Hidup* = $\frac{0,996-0,115}{0,616-0,115} \times 100 \% = 143,019 \%$
- ❖ Konsentrasi 125 → % *Hidup* = $\frac{1,000-0,115}{0,616-0,115} \times 100 \% = 143.668 \%$
- ❖ Konsentrasi 62,5 → % *Hidup* = $\frac{0,96-0,115}{0,616-0,115} \times 100 \% = 137.175 \%$
- ❖ Konsentrasi 31,25 → % *Hidup* = $\frac{1,018-0,115}{0,616-0,115} \times 100 \% = 146.590 \%$
- ❖ Konsentrasi 15,625 → % *Hidup* = $\frac{0,983-0,115}{0,616-0,115} \times 100 \% = 140.909 \%$

4. Kombinasi Ekstrak dengan Zeolit NaX 10:10

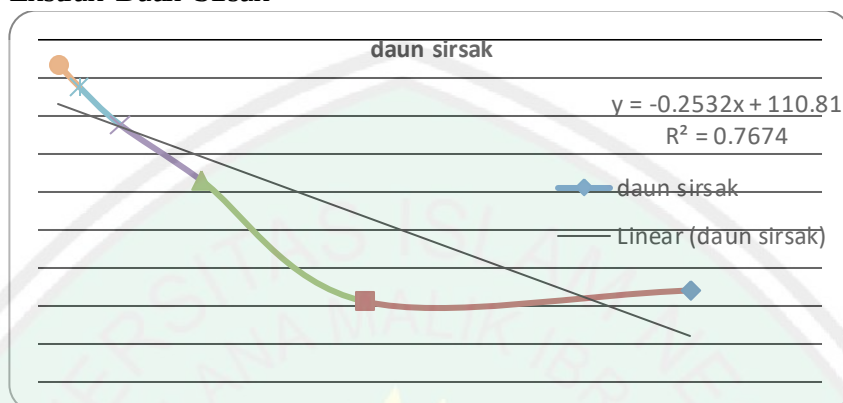
- ❖ Konsentrasi 500 → % *Hidup* = $\frac{0,965-0,115}{0,616-0,115} \times 100 \% = 137.987 \%$
- ❖ Konsentrasi 250 → % *Hidup* = $\frac{1,001-0,115}{0,616-0,115} \times 100 \% = 143.831 \%$
- ❖ Konsentrasi 125 → % *Hidup* = $\frac{1,072-0,115}{0,616-0,115} \times 100 \% = 155.387 \%$
- ❖ Konsentrasi 62,5 → % *Hidup* = $\frac{1,013-0,115}{0,616-0,115} \times 100 \% = 145.779 \%$
- ❖ Konsentrasi 31,25 → % *Hidup* = $\frac{0,988-0,115}{0,616-0,115} \times 100 \% = 141.720 \%$
- ❖ Konsentrasi 15,625 → % *hidup* = $\frac{1,010-0,115}{0,616-0,115} \times 100 \% = 145.292 \%$

5. Zeolit NaX

- ❖ Konsentrasi 500 → % *hidup* = $\frac{0,674-0,115}{0,616-0,115} \times 100 \% = 90.746 \%$
- ❖ Konsentrasi 250 → % *hidup* = $\frac{0,815-0,115}{0,616-0,115} \times 100 \% = 113.63 \%$
- ❖ Konsentrasi 125 → % *Hidup* = $\frac{0,611-0,115}{0,616-0,115} \times 100 \% = 80.519 \%$
- ❖ Konsentrasi 62,5 → % *Hidup* = $\frac{0,913-0,115}{0,616-0,115} \times 100 \% = 129.545 \%$
- ❖ Konsentrasi 31,25 → % *Hidup* = $\frac{0,727-0,115}{0,616-0,115} \times 100 \% = 99.350 \%$
- ❖ Konsentrasi 15,625 → % *Hidup* = $\frac{1,070-0,115}{0,616-0,115} \times 100 \% = 155.032 \%$

C. Hasil perhitungan IC₅₀ dengan Microsoft Excel

➤ Ekstrak Daun Sirsak



$$y = -0,253x + 110,8$$

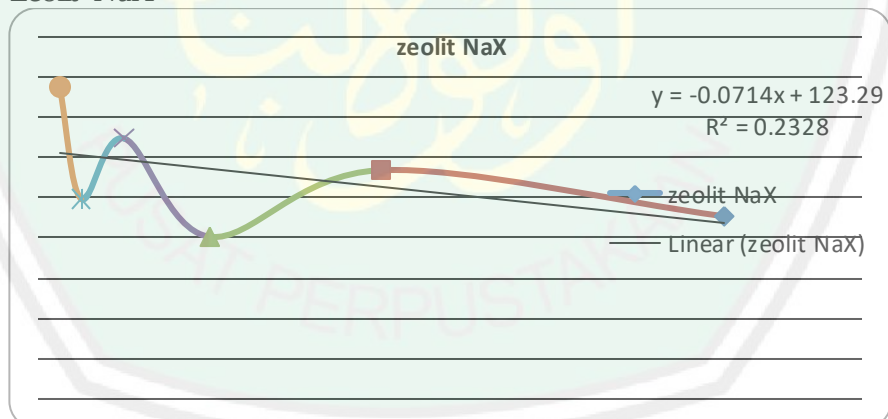
$$50 = -0,253x + 110,8$$

$$50 - 110,8 = -0,253x$$

$$-60,8 / -0,253 = x$$

$$240,165 \text{ ppm} = x$$

➤ Zeolit NaX



$$y = -0,071x + 123,2$$

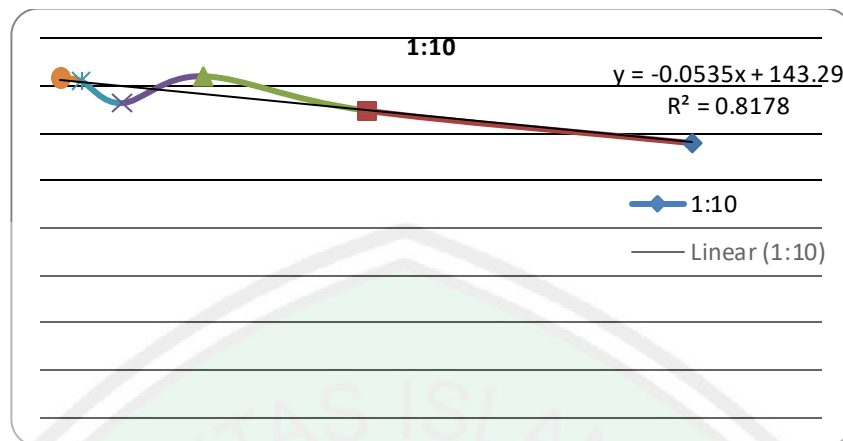
$$50 = -0,071x + 123,2$$

$$50 - 123,2 = -0,071x$$

$$-73,2 / -0,072 = x$$

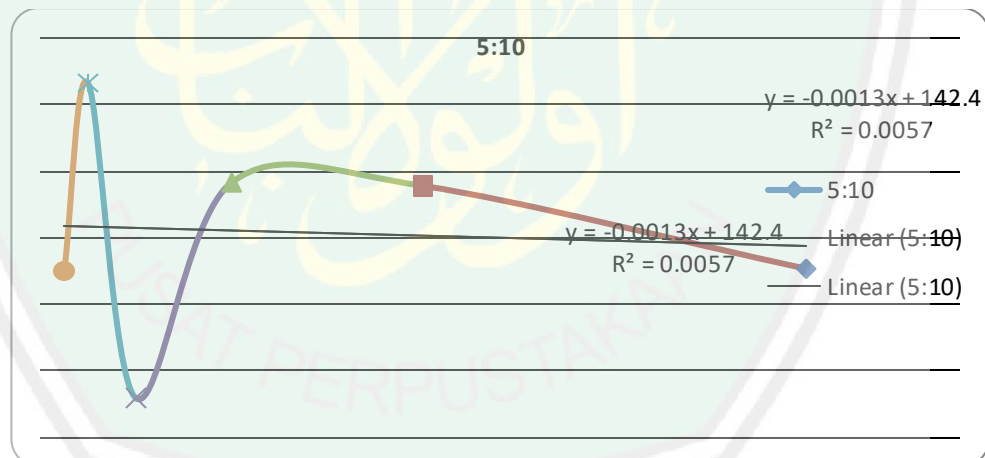
$$1032,25 = x$$

➤ Hasil Impregnasi Ekstrak : Zeolit 1:10



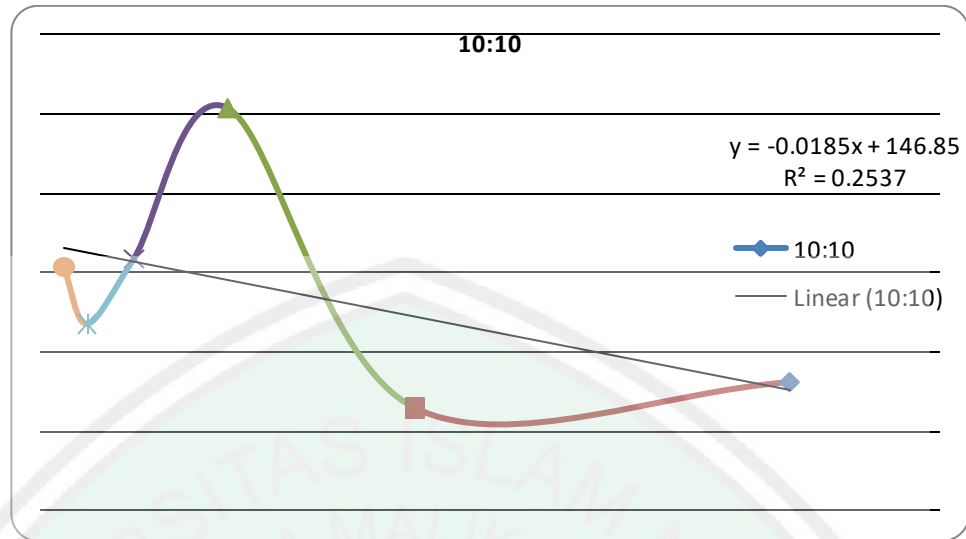
$$\begin{aligned}
 y &= -0,053x + 143,2 \\
 50 &= -0,053x + 143,2 \\
 50 - 143,2 &= -0,053x \\
 -93,2 / -0,053 &= x \\
 1743,738 &= x
 \end{aligned}$$

➤ Hasil Impregnasi Ekstrak : Zeolit 5:10



$$\begin{aligned}
 y &= -0,001x + 142,4 \\
 50 &= -0,001x + 142,4 \\
 50 - 142,4 &= -0,001x \\
 -92,4 / -0,001 &= x \\
 71076,923 &= x
 \end{aligned}$$

➤ Hasil Impregnasi Ekstrak : Zeolit 10 :10



$$\begin{aligned}
 y &= -0,018x + 146,8 \\
 50 &= -0,018x + 146,8 \\
 50 - 146,8 &= -0,018x \\
 -96,8 / -0,018 &= x \\
 5235,135 \text{ ppm} &= x
 \end{aligned}$$

Lampiran 5. Dokumentasi



Serbuk daun sirih



Proses maserasi



Ampas hasil maserasi



Filtrate hasil maserasi



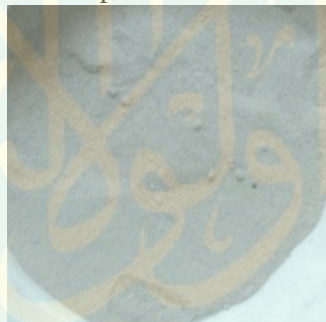
Proses pemisahan



Proses penguapan pelarut



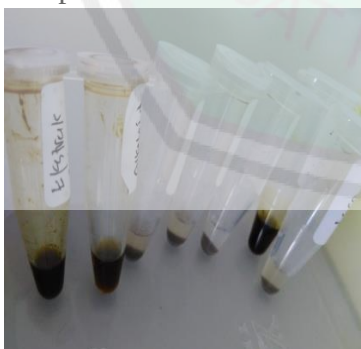
Sampel di analisis kadar air



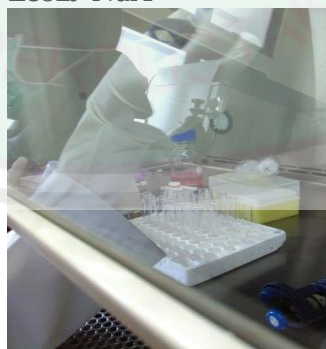
Zeolit NaX



Hasil impregnasi



larutan stok sampel



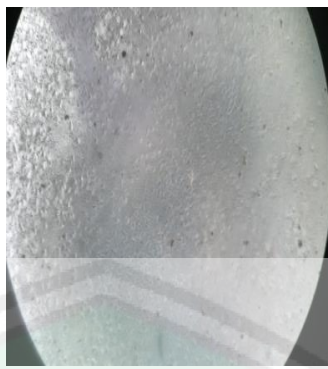
Pengenceran sampel



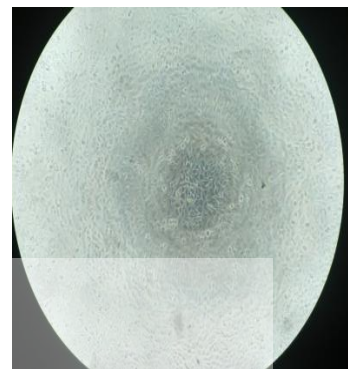
Plate berisi sel dan sampel



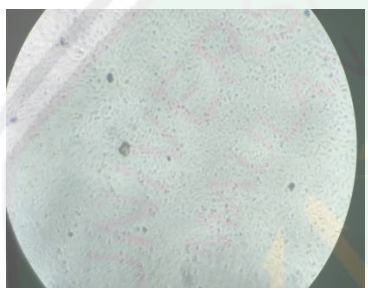
Morfologi sel setelah di treatment ekstrak daun sirsak konsentrasi 500 ppm



Morfologi sel setelah di treatment ekstrak daun sirsak konsentrasi 15,625 ppm



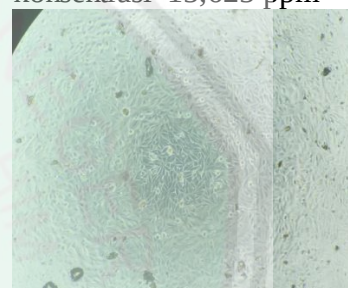
Morfologi sel setelah di treatment sampel kombinasi 1:10 konsentrasi 15,625 ppm



Morfologi sel setelah di treatment sampel kombinasi 1:10 konsentrasi 500 ppm



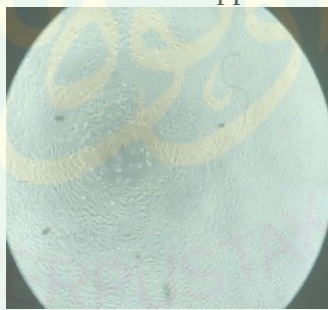
Morfologi sel setelah di treatment sampel kombinasi 5:10 konsentrasi 500 ppm



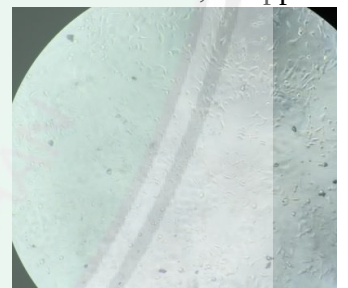
Morfologi sel setelah di treatment sampel kombinasi 5:10 konsentrasi 15,625 ppm



Morfologi sel setelah di treatment sampel kombinasi 10:10 konsentrasi 15,625 ppm



Morfologi sel setelah di treatment sampel kombinasi 10:10 konsentrasi 500 ppm



Morfologi sel setelah di treatment sampel zeolit konsentrasi 15,625 ppm

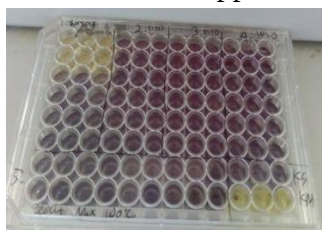


Plate yang akan di analisis ELISA reader



KEMENTERIAN AGAMA RI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI (UIN) MALIK MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

JURUSAN KIMIA

Gedung Sains dan Teknologi UIN Malang Lt.2 Jl. Gajayana 50 Malang Telp./Fax +62341558933
www.uin-malang.ac.id Email: info_uin@uin-malang.ac.id, kimia@uin-malang.ac.id

KARTU KONSULTASI PENELITIAN

Nama
IM
Judul Skripsi

Pembimbing Utama
Pembimbing Agama
Konsultan

: Alif Khumairatul Laila
: 12630054
: Uji Aktivitas Antikanker (ayuda) (T97D)
: Kombinasi ekstrak etanol Daun Sirsak dengan
: Zeolit Nux
: Elok Kamillah Hidayati, M.Si.
:
:

No	Tanggal	Materi Konsultasi	Catatan (ditulis tangan)	Tanda tangan (Pembimbing)
1	30-11-2015	Bab I		
2	12-01-2016	Bab I & II	Paksi 1 Pelant 4. Kombinasi	
3	19-01-2016	Bab I, II & III	+ Keunggulan Perbandingan Obat & T. Sirsak	
4	27-01-2016	Bab I & II (30 Sirsak)	Bab 2 ditambah hasil karakterisasi Sirsak Zeolit X - Yagunhi X	
5	4-02-2016	Bab I, II & III (busu + t. Sirsak)	Sistematisasi Perulangan	
6	9-02-2016	Bab I, II & III	Revisi bab II	
7	05-02-2016	Bab I, II & III	ACC	
8	05-02-2016	Bab I, II & III	ACC	
9		Bab I & II Agama	Ayat	
10		Revisi Bab I & II "	Ayat + Tafsir	
11		Bab IV Agama	"	
12		Revisi bab IV "	"	
13		Bab IV		
14		Revisi Bab IV		
15		Revisi "		
16		Bab IV & V		
17		Revisi Bab IV & V		
18		ACC		