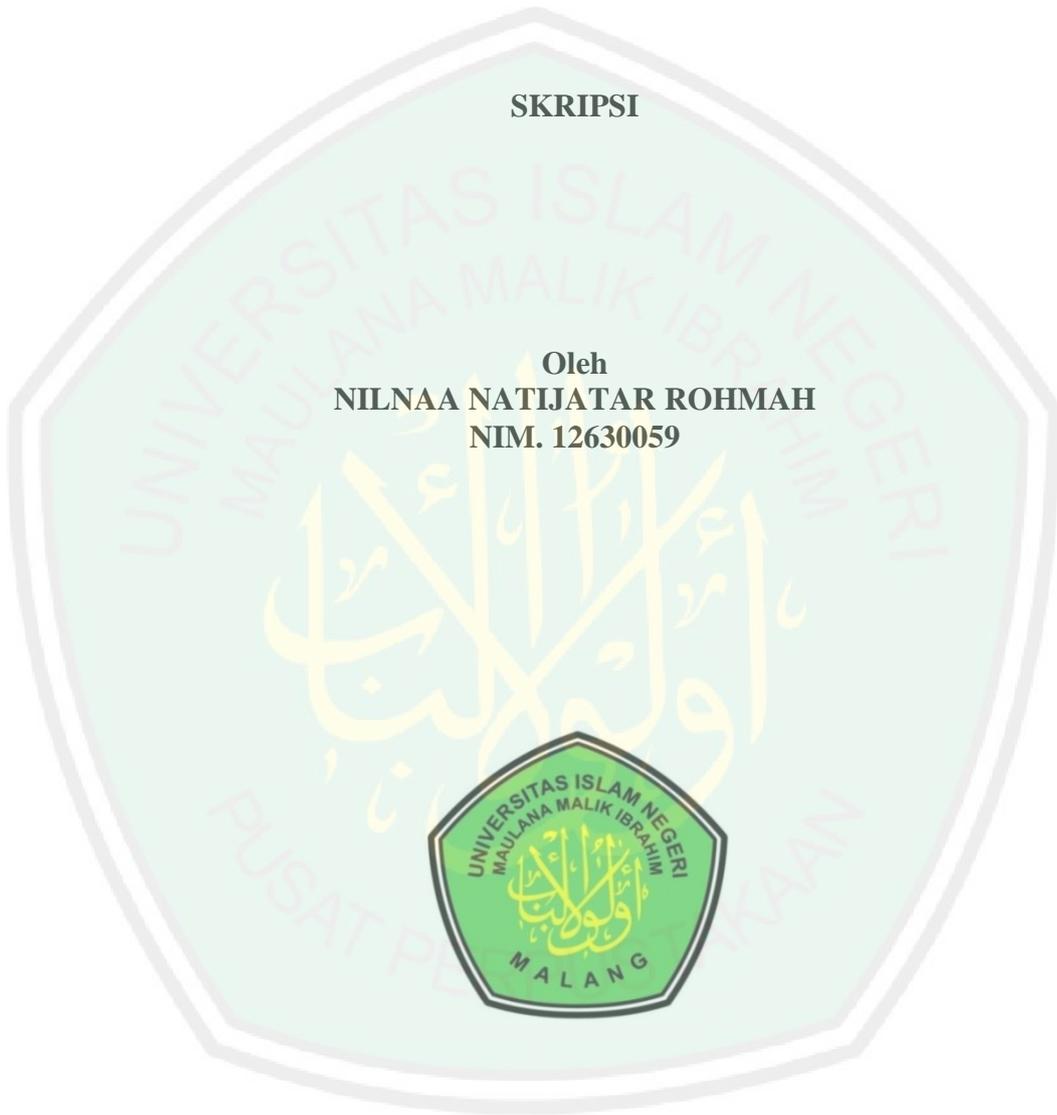


**UJI AKTIVITAS ANTIKANKER EKSTRAK AKAR RUMPUT BAMBU
(*Lophatherum gracile* B.) YANG DIEMBANKAN PADA ZEOLIT NaX
TERHADAP SEL KANKER PAYUDARA (T47D)**

SKRIPSI

Oleh
NILNAA NATIJATAR ROHMAH
NIM. 12630059



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

**UJI AKTIVITAS ANTIKANKER EKSTRAK AKAR RUMPUT BAMBU
(*Lophatherum gracile* B.) YANG DIEMBANKAN PADA ZEOLIT NaX
TERHADAP SEL KANKER PAYUDARA (T47D)**

SKRIPSI

Oleh
NILNAA NATIJATAR ROHMAH
NIM. 12630059

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

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

**UJI AKTIVITAS ANTIKANKER EKSTRAK AKAR RUMPUT BAMBU
(Lophatherum gracile B.) YANG DIEMBANKAN PADA ZEOLIT NaX
TERHADAP SEL KANKER PAYUDARA (T47D)**

SKRIPSI

Oleh
NILNAA NATIJATAR ROHMAH
NIM. 12630059

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji :
Tanggal, 19 September 2016

Pembimbing I


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

Pembimbing II


Umaivatus Svarifah, M.A
NIP. 198209252009012005

Mengetahui,
Ketua Jurusan Kimia


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

**UJI AKTIVITAS ANTIKANKER EKSTRAK AKAR RUMPUT BAMBU
(Lophatherum gracile B.) YANG DIEMBANKAN PADA ZEOLIT NaX
TERHADAP SEL KANKER PAYUDARA (T47D)**

SKRIPSI

Oleh
NILNAA NATIJATAR ROHMAH
NIM. 12630059

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: 16 September 2016

Penguji Utama	: Diana Candra Dewi, M.Si NIP. 19770720 200312 2 001	(.....)
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	: Umayyatus Syarifah, M.A NIP. 198209252009012005	(.....)

Mengesahkan,
Ketua Jurusan Kimia



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

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Nilnaa Natijatar Rohmah
NIM : 12630059
Jurusan : Kimia
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Penelitian : Uji Aktivitas Antikanker Ekstrak Akar Rumput Bambu
(*Lophatherum gracile* B.) yang Diembankan pada Zeolit
NaX Terhadap Sel Kanker Payudara (T47D)

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

Malang, 20 September 2016
Yang membuat pernyataan



Nilnaa Natijatar Rohmah
NIM. 12630059

PERSEMBAHAN

Skripsi ini penulis persembahkan untuk:

Ayahanda Imam Mujiono dan Ibunda Handriana yang senantiasa dengan ikhlas mendoakan, memberi dukungan, motivasi baik secara moril maupun material, dan memenuhi semua kebutuhan penulis dalam menuntut ilmu hingga dapat menyelesaikan tulisan ini.

Untuk adik tercinta M. Mishbakhul Muttaqin dan Mas Ibrahim yang selalu memberikan doa memotivasi kepada penulis.

Untuk seluruh teman-teman seperjuangan (Alif, Intan, Habibah) dan seluruh teman-teman santri PONPES Sabilurrosyad KB1 (Rifa, Dila, Aisyah, Arini, Ilil, Nonik, Firoh, Fifit, Arum, Aulin, Yerry, Maya, Mar'ah, Lidia, Narim, Iim dan Isna) serta seluruh guru dan dosen yang memberikan dukungan dan doa dan ilmunya kepada penulis.

KATA PENGANTAR

Assalamua'alaikum Wr. Wb.

Alhamdulillahirabbil'alamin, segala puji bagi Allah SWT pencipta seluruh alam semesta yang telah memberikan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis mampu menyelesaikan skripsi berjudul “Uji Aktivitas Antikanker Ekstrak Akar Rumput Bambu (*Lophatherum Gracile* Brongn) yang Diembankan pada Zeolit NaX terhadap Sel Kanker Payudara (T47D)” sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si) dengan semaksimal mungkin. Penulis menyadari bahwa dalam laporan hasil penelitian ini masih terdapat banyak kesalahan dan kekurangan, akan tetapi semoga segala usaha yang dilakukan dapat bermanfaat bagi semua, sebagai ilmu yang bermanfaat dan barokah.

Penulis menyadari bahwa selama berlangsungnya penyusunan laporan hasil penelitian ini tak lepas dari dukungan serta bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu iringan do'a dan ucapan terimakasih penulis sampaikan kepada:

1. Ibu Elok Kamilah Hayati, M.Si, selaku dosen pembimbing utama.
2. Ibu Susi Nurul Khalifah, M.Si, selaku dosen konsultan.
3. Ibu Umaiatus Syarifah, M.A, selaku dosen pembimbing agama.
4. Ibu Diana Candra Dewi, M.Si, selaku penguji utama.

Yang telah meberikan banyak dukungan, nasihat, dan motivasi sehingga dapat menyelesaikan penulisan skripsi ini dengan sempurna.

Penulis juga menyampaikan ucapan terimakasih kepada pihak-pihak yang selalu mendukung baik secara moril dan material hingga terselesaikannya skripsi, yaitu kepada:

1. Kedua orang tua, Bapak saya Imam Mujiono dan Ibu saya Handriana serta saudara tercinta saya M. Mishbakhul M. yang telah memberikannasihat, do'a, dan dukungan moril maupun material untuk penulis dalam menuntut ilmu, sehingga penyusunan skripsi ini dapat terselesaikan.
2. Bapak Prof. Dr. H. Mudjia Raharjo, M.Si, selaku rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Ibu Dr. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, drh., M.Si, selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Ibu Elok Kamilah Hayati, M.Si, selaku ketua Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
5. Segenap dosen Jurusan Kimia atas segala ilmu dan bimbingannya.
6. Seluruh staf administrasi dan laboran atas bantuan dan layanan dalam melaksanakan penelitian ini.
7. Teman-teman angkatan 2012 yang telah saling memotivasi dan membantu terselesainya skripsi ini.
8. Seluruh pihak yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu.

Semoga laporan hasil penelitian ini dapat bermanfaat dan menambah khasanah ilmu pengetahuan. *Amin yaa robbal alamiin.*

Wa'alaikumus salam Wr. Wb.

Malang, September 2016

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
ABSTRAK	xiv
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	8
1.3 Tujuan Penelitian	9
1.4 Batasan Masalah	9
1.5 Manfaat Penelitian	10
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Pemanfaatan Tanam dalam Perspektif Islam	11
2.2 Tanaman Rumput Bambu (<i>Lopatherum gracile</i> B.)	14
2.2.1 Morfologi dan Klasifikasi Tanaman Rumput Bambu	14
2.2.2 Manfaat Tanaman Rumput Bambu	15
2.2.3 Kandungan Kimia Tanaman Rumput Bambu	16
2.3 Metode Pemisahan Senyawa Aktif Akar Rumput Bambu	17
2.3.1 Ekstraksi Maserasi	17
2.3.2 Ekstraksi Cair-Cair (Partisi)	19
2.4 Uji Aktivitas Antikanker secara <i>In-Vitro</i> dengan Metode MTT	20
2.4.1 Mekanisme Antikanker Terhadap Siklus Sel	22
2.4.2 Apoptosis	24
2.5 Kanker	25
2.5.1 Kanker Payudara	26
2.5.2 Sel Kanker Payudara T47D	26
2.5.3 Perawatan Dan Pengobatan Terhadap Kanker	26
2.6 Zeolit NaX	27
2.6.1 Sintesis Zeolit NaX	31
2.6.2 Hasil Karakterisasi Sintesis Zeolit X dengan XRD	32
2.6.2.1 Jarak Antarpartikel	34
2.6.2.2 Ukuran Kristal	35
2.6.3 Hasil Karakterisasi Sintesis Zeolit X dengan FTIR	35
2.6.4 Zeolit sebagai Antikanker	36
2.7 Senyawa Antikanker yang Diambil pada Zeolit	37
2.7.1 Mekanisme Zeolit Terhadap Sel	39
2.8 Metode Impregnasi	40

BAB III METODOLOGI	
3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian	42
3.2 Alat dan Bahan	42
3.2.1 Alat	42
3.2.2 Bahan	42
3.3 Rancangan Penelitian	43
3.4 Tahapan Penelitian	43
3.5 Pelaksanaan Penelitian	44
3.5.1 Preparasi Sampel	44
3.5.2 Ekstraksi Komponen Aktif Akar Rumput Bambu dengan Maserasi	43
3.5.3 Uji Fitokimia dengan Reagen	45
3.5.3.1 Uji Flavonoid	45
3.5.3.2 Uji Alkaloid	45
3.5.3.3 Uji Tanin	46
3.5.3.4 Uji Saponin	46
3.5.3.5 Uji Terpenoid dan Steroid	46
3.5.4 Pengembunan Ekstrak Akar Rumput Bambu pada Zeolit NaX secara Impregnasi	46
3.5.5 Uji Aktivitas Antikanker Metode MTT	47
3.5.5.1 Penyiapan Sel	47
3.5.5.2 Penghitungan Sel Kanker	48
3.5.5.3 Peletakan Sel pada Plate	48
3.5.5.4 Pembuatan Larutan Sampel dan Pemberian Larutan Sampel pada Plate	49
3.5.5.5 Pemberian Larutan MTT	49
3.5.6 Analisis Data	50
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Preparasi Sampel	52
4.2 Ekstraksi Senyawa Aktif Akar Rumput Bambu dengan Maserasi	52
4.3 Uji Fitokimia dengan Reagen	56
4.3.1 Golongan Senyawa Alkaloid	57
4.3.2 Golongan Senyawa Saponin	59
4.3.3 Golongan Senyawa Tanin	59
4.3.4 Golongan Senyawa Terpenoid	60
4.4 Pengembunan Ekstrak Akar Rumput Bambu pada Zeolit NaX secara Impregnasi	62
4.5 Uji Aktivitas Antikanker dengan Metode MTT	64
BAB V PENUTUP	
5.1 Kesimpulan	78
5.2 Saran	78

DAFTAR PUSTAKA	79
LAMPIRAN.....	89



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Rumput bambu (<i>Lophatherum gracile</i> Brongn)	15
Gambar 2.2 Senyawa Triterpenoid	17
Gambar 2.3 Reaksi reduksi MTT	21
Gambar 2.4 Kerangka <i>faujasite</i> dan unit penyusunnya: (a) <i>faujasite</i> (b) rongga <i>faujasite</i> (c) <i>window</i>	27
Gambar 2.6 Unit struktural dari zeolit A, sodalite, dan <i>faujasite</i>	29
Gambar 2.6 (a) Struktur zeolit X dan (b) Kerangka zeolit X	30
Gambar 2.7 Hasil analisis fase mineral abu vulkanik	32
Gambar 2.8 Difraktogram zeolit X rasio molar Si/Al 1,5	33
Gambar 2.9 Hasil spektra FTIR zeolit X rasio molar Si/Al 1,5	35
Gambar 2.10 Penghambatan sel kanker AsPC-1 pada zeolit X dengan Y (5mg/ml)	36
Gambar 2.11 Difusi 5-fluorouracil dalam zeolit a) BEA b) NaX	38
Gambar 3.1 Tabel data	51
Gambar 4.1 Dugaan reaksi senyawa alkaloid dengan reagen Mayer	58
Gambar 4.2 Dugaan reaksi senyawa alkaloid dengan reagen Dragendroff	58
Gambar 4.3 Dugaan reaksi senyawa saponin	59
Gambar 4.4 Dugaan reaksi senyawa tanin	60
Gambar 4.5 Dugaan reaksi senyawa terpenoid	61
Gambar 4.6 Ilustrasi interaksi antara zeolit NaX dengan senyawa terpenoid	64
Gambar 4.7 (a) Morfologi sel T74D ketika dihitung dengan <i>hemocytometer</i> (b) Morfologi sel T47D setelah disubkultur	66
Gambar 4.8 Morfologi sel T47D setelah di treatment (a) Sel + ekstrak tunggal konsentrasi 500 µg/mL (b) Sel + zeolit NaX konsentrasi 500 µg/mL (c) Sel + kombinasi ekstrak dengan zeolit (1:10) konsentrasi 500 µg/mL	67

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Data hasil uji fitokimia dengan reagen	17
Tabel 2.2 Data nilai IC ₅₀ uji aktivitas antikanker.....	22
Tabel 2.3 Hasil analisis kuantitatif komposisi zeolit sintesis.....	33
Tabel 2.4 Hasil perhitungan nilai d_{hkl} dari zeolit X rasio 1,5.....	34
Tabel 2.5 Ukuran kristal zeolit X sintesis	34
Tabel 2.6 Interpretasi spektra FTIR zeolit X sintesis rasio 1,5.....	35
Tabel 4.1 Hasil maserasi serbuk akar rumput bambu (<i>Lophatherum gracile</i> B.).....	55
Tabel 4.2 Hasil partisi serbuk akar rumput bambu (<i>Lophatherum gracile</i> B.).....	56
Tabel 4.3 Data hasil uji fitokimia dengan reagen	56
Tabel 4.4 Hasil perbandingan ekstrak akar rumput bambu dengan zeolit NaX.....	63
Tabel 4.5 Data nilai IC ₅₀ uji aktivitas antikaker.....	70



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Tahapan Penelitian	87
Lampiran 2. Skema Kerja	88
Lampiran 3. Pembuatan Larutan dan Reagen	93
Lampiran 4. Data dan Perhitungan Hasil Penelitian	98
Lampiran 5. Dokumentasi	107



ABSTRAK

Rohmah, N.R. 2016. **Uji Aktivitas Antikanker Ekstrak Akar Rumput Bambu (*Lopatherum gracile* Brongn) yang Diimbangkan pada Zeolit NaX terhadap Sel Kanker Payudara (T47D)**. Skripsi. Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing I: Elok Kamilah Hayati, M.Si; Pembimbing II: Umaiatus Syarifah, M.A.

Kata Kunci : Antikanker, Rumput Bambu, Zeolit NaX, Sel T47D

Upaya untuk mengobati kanker payudara salah satunya menggunakan obat herbal antikanker yaitu akar rumput bambu dan zeolit NaX. Tumbuhan ini berpotensi sebagai obat antikanker dan zeolit NaX berperan sebagai sistem pembawa obat. Surat Luqman (3:10) menjelaskan bahwa Allah SWT menciptakan segala macam tumbuhan yang memiliki banyak manfaat. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi aktivitas ekstrak akar rumput bambu yang diimbangkan pada zeolit NaX sebagai antikanker sel payudara (T47D) secara *in vitro* dan mengetahui nilai IC_{50} yang berpotensi sebagai antikanker sel payudara (T47D).

Tahapan penelitian adalah ekstraksi akar rumput bambu menggunakan pelarut alkohol 80% dan ekstraksi cair-cair dengan n-heksana. Zeolit NaX yang digunakan adalah zeolit sintesis dari abu vulkanik Gunung Kelud. Pengembunan ekstrak akar rumput bambu pada zeolit NaX menggunakan metode impregnasi dengan perbandingan ekstrak:zeolit yaitu 1:10 dan 10:10. Metode uji aktivitas antikanker yang digunakan adalah metode MTT (*Microculture tetrazolium*) berdasarkan reaksi kolorimetri. Selanjutnya dihitung prosentase sel hidup tiap sampel dan dianalisis menggunakan SPSS probit sehingga diketahui nilai IC_{50} .

Hasil penelitian didapatkan bahwa perbandingan yang berpotensi dalam menghambat pertumbuhan sel kanker adalah 10:10 dengan nilai IC_{50} sebesar 2.192,42 $\mu\text{g/mL}$. Hasil nilai IC_{50} menunjukkan bahwa ekstrak akar rumput bambu tunggal lebih efektif berpotensi sebagai antikanker sel payudara (T47D) daripada zeolit NaX yaitu 49,52 $\mu\text{g/mL}$.

ABSTRACT

Rohmah, N.R, 2016. **Test of Activity Anticancer of Bamboo Grass Root Extract (*Lophatherum gracile* Brongn) which Loading on Zeolite NaX to Breast Cells (T47D).**Thesis.Chemistry Department, Faculty of Science and Technology of the Islamic State University of Maulana Malik Ibrahim Malang. Advisor I: Elok Kamilah Hayati, M.Si; Advisor II: Umaiatus Syarifah, M.A.

Keyword: Anticancer, Bamboo Grass, Zeolite NaX, T47D Cells

One of efforts to treat of breast cancer is to use herbal medicine anticancer, they are bamboo grass root extract and zeolite NaX. This plant is potentially as anticancer and zeolite NaX as drug delivery system. In Surat Luqman (3:10) explains that Allah SWT creates many kinds of plant has may function. This study aimed to know the potential of activity bamboo grass root extract which loading on zeolite NaX as anticancer of breast cancer (T47D) *in vitro* and to know the value IC_{50} has potential as anticancer of breast cancer (T47D).

Stages of the study is the extraction of bamboo grass roots using 80% alcohol solvent and liquids extraction with n-hexane. NaX zeolite used is synthesis of volcanic ash from Mount Kelud. The loading of bamboo grass root extract into zeolite NaX using impregnation method with a comparison of 1:10 and 10:10. Anticancer activity test method used is the MTT (*Microculture tetrazolium*) based colorimetric reaction. Furthermore, the percentage of living cells was calculated for each sample and analyzed using probit so known IC_{50} .

The result showed potential of comparison to inhibit of growth of cancer cell is 10:10 with value of IC_{50} is 2.192,42 $\mu\text{g/mL}$. The result of value of IC_{50} for bamboo grass root extract more effective as anticancer of breast cell (T47D) than zeolite NaX with value of IC_{50} 49,52 $\mu\text{g/mL}$.

ملخص البحث

الرحمة، لنا نتيجة. ٢٠١٦. اختبار نشاط مضاد السرطان بخلصة جذر عشبة الخيزران
(Lopatherum gracile Brongn) المتحمّل في zeoliteNaX على خلية
 الثديي (T47D). البحث الجامعي. قسم علم الكيمياء. كلية العلوم والتكنولوجيا. جامعة
 مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج. المشرفة الأولى: إيلوك كاملة حياتي الماجستير.
 المشرفة الثانية: أمية الشريفة الماجستير.

الكلمة الرئيسية: مضاد السرطان، جذر العشبة، zeolitNaX، Sel T47D.

كانت المحاولات لمعالجة سرطان الثدي منها استهلاك الدواء العشبي لمضاد السرطان
 جذر عشبة الخيزران و zeolitNaX. تحتل تلك العشبة كالدواء لمضاد السرطان ويساعد
 zeolitNaX على نظام حامل الدواء. كانت سورة لقمان في الآية العاشرة تشرح أن الله يخلق
 النبات المتنوعة ولها الفوائد الكثيرة. يهدف هذا البحث لمعرفة قوّة نشاط خلاصة جذر عشبة
 الخيزران المتحمّل على zeolitNaX كمضاد سرطان خلية الثديي (T47D) بطريقة in
 vitro، ولمعرفة قيمة IC₅₀ المحتملة لمضاد سرطان الثديي (T47D).

مرحلة البحث هي استخراج جذر العشبة المتحمّل على باستخدام مسيل الكحول ٨٠ %
 واستخلاص السائل بـ n-heksana zeolitNaX المستخدم هو zeolite الإصطناعي من
 دخان البركان لجبل كلود kelud. تحمّل خلاصة جذر عشبة الخيزران في zeolitNaX
 تستخدم منهج تصميم بمقارنة ١:١٠؛ ١:٥؛ ١:١٠. كان منهج اختبار مضاد السرطان
 المستخدم هو منهج MTT (*Microculture tetrazolium*) حسب باستجابة تغيير
 اللون. والتالي، تحسب نسبة مئوية من الخلية الحياة لكل العينة و تحلّل باستخدام SPSS بروبيت
 حتى تُعلم نتيجة IC₅₀.

كانت نتائج البحث هي وجود المقارنة المتحملة لضغط نموّ خلية الثديي وهو ١٠:١٠ بقيمة
 IC₅₀ ٢.١٩٢،٤٢ µg/mL. وتدلّ نتيجة قيمة IC₅₀ أن خلاصة جذر عشبة الخيزران الفرد
 فعالية لمضاد سرطان خلية الثديي (T47D) من zeolit NaX وهو ٤٩،٥٢ µg/mL.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kanker adalah penyakit yang ditandai dengan mekanisme tidak normal dan tidak terkontrol pada pengaturan kelangsungan hidup, proliferasi dan diferensiasi sel. Jika penyebaran kanker tidak terkontrol maka dapat menyebabkan kematian (Hondermarck, 2003). Kasus kanker terbanyak yang terjadi adalah kanker paru-paru, perut, hati, usus, dan payudara. Jenis kanker terbanyak yang terjadi berbeda untuk setiap jenis kelamin. Hampir 70% angka kematian tersebut terjadi pada negara berpenghasilan rendah dan menengah termasuk negara-negara berkembang di daerah Asia Tenggara.

Salah satu jenis kanker yang paling banyak menyebabkan kematian adalah kanker payudara. Berdasarkan data kematian KEMENKES (2012) menyatakan bahwa jumlah penyakit kanker payudara mencapai 4,3 banding 1000 orang. Data sebelumnya menyatakan bahwa jumlahnya hanya 1 banding 1000 orang. Badan Kesehatan Dunia (WHO) dan Serikat Pengendalian Kanker Internasional (UICC) (2012) menyatakan bahwa penderita kanker payudara sebesar 40% dan akan terjadi lonjakan 30% pada tahun 2030. Jumlah tersebut 70% terjadi di negara berkembang seperti Indonesia.

Kanker payudara merupakan salah satu jenis kanker yang ditandai dengan perubahan yang tidak terkontrol dari sel-sel maupun jaringan-jaringan payudara. Kanker ini termasuk dalam kanker yang berbahaya karena menyebabkan kematian. Kanker ini berada dalam urutan kelima setelah kanker paru-paru, kanker rahim, kanker hati, dan kanker usus (Maharani, 2009). Kanker payudara

merupakan jenis kanker umum yang sering terjadi pada wanita. Hal ini berdasarkan penelitian di Amerika menunjukkan bahwa sepertiga kanker yang didiagnosa pada wanita adalah kanker payudara (Diananda, 2007). Sehingga kematian yang terjadi pada wanita sebagian besar diakibatkan oleh kanker payudara.

Sel kanker payudara T47D sering digunakan dalam penelitian. Hal ini dikarenakan jenis kanker ini memiliki sel kultur yang mudah penanganannya, kemampuan replikasinya yang tidak terbatas, homogenitas yang tinggi serta dengan mudah diganti *frozen stock* jika terjadi kontaminasi (Burdall dkk., 2003).

Pengobatan kanker secara medis memerlukan biaya yang sangat tinggi. Praktisi medis saat ini memiliki tiga metode pengobatan kanker, yaitu tindakan bedah, radiasi, dan kemoterapi (Sukardja, 2000). Namun, usaha-usaha tersebut belum memperoleh hasil yang maksimal, bahkan efek kegagalan pembedahan dapat menyebabkan kanker menyebar ke jaringan tubuh lain dengan kondisi yang lebih parah (Nafrialdi dan Gunawan, 2007).

Hal ini mendorong untuk dikembangkannya obat baru yang mempunyai efek terapi yang baik. Efek terapi tersebut dapat ditemukan dalam obat herbal antikanker salah satunya dengan menggali senyawa-senyawa alam yang berasal dari tumbuhan. Tumbuhan yang digunakan adalah tumbuhan yang sebagian masyarakat telah mempercayai bahwa tumbuhan tersebut dapat digunakan sebagai obat tradisional (Mangan, 2010).

Allah SWT menciptakan alam semesta ini sebagai bukti keagungan penguasaan-Nya dan kasih sayang-Nya kepada manusia. Penciptaan lainnya adalah tumbuhan. Berbagai tumbuhan telah diciptakan-Nya, mulai dari tumbuhan tingkat

rendah sampai tumbuhan tingkat tinggi. Semuanya memiliki banyak manfaat yang dapat diambil darinya, karena tidak ada satu pun ciptaan Allah yang itu yang sia-sia. Hal sekecil pun dari ciptaan-Nya pasti mempunyai manfaat bagi kelangsungan makhluk hidup lainnya, terutama manusia. Sebagaimana firman Allah SWT yang telah dijelaskan dalam Surat Luqman (31):10 berikut ini:

خَلَقَ السَّمَوَاتِ بِغَيْرِ عَمَدٍ تَرَوْنَهَا ۚ وَالْأَرْضِ رَواسِيَ أَنْ تَمِيدَ بِكُمْ وَبَثَّ فِيهَا
 مِنْ كُلِّ دَابَّةٍ ۚ وَأَنْزَلْنَا مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿١٠﴾

Artinya:

“ Dia menciptakan langit dan bumi 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).

Lafadz زَوْجٍ mempunyai arti jenis. Sedangkan lafadz كَرِيمٍ mempunyai arti

mulia dan banyak manfaatnya (Mustafa, 1992). Allah SWT menurunkan air dari langit, yakni air hujan, sehingga dengan adanya air hujan berbagai macam tumbuhan dapat tumbuh dan berkembang. Tumbuhan-tumbuhan yang telah tumbuh tersebut akan mempunyai banyak manfaat bagi makhluk hidup lainnya.

Menurut Shihab (2002), lafadz كَرِيمٍ dalam Surat Luqman digunakan untuk

menyifati segala sesuatu yang baik sesuai objeknya. Segala macam tumbuhan yang baik adalah tumbuh subur dan menghasilkan apa yang diharapkan dari hasil penanamannya. Salah satu hasil yang diharapkan dari tanaman adalah pemanfaatannya sebagai obat herbal. Seperti halnya tanaman gulma yaitu rumput

bambu (*Lophatherum gracile*B.) yang memiliki potensi sebagai obat herbal, terutama potensinya sebagai obat antikanker.

Tanaman gulma ini merupakan tanaman yang jarang dimanfaatkan oleh manusia. Padahal tanaman ini banyak mengandung banyak manfaat, khususnya dalam bidang kesehatan yaitu untuk mengobati demam, infeksi saluran kencing kemih, dan lain sebagainya (Wijayakusuma, 2005). Efektivitas rerumputan ini dikarenakan adanya struktur sel-sel yang ada didalamnya seperti pada bagian akar rumput bambu. Bagian akar berfungsi sebagai penyerap sari-sari makanan dan berperan sebagai sistem pertahanan tubuh tumbuhan, sehingga mengandung cukup banyak metabolit sekunder yang memiliki potensi sebagai obat.

Tanaman rumput bambu (*Lophatherum gracile* Brongn) ini merupakan tanaman yang dapat digunakan sebagai alternatif obat tradisional untuk pengobatan kanker. Penelitian tentang kandungan fitokimia dalam ekstrak tanaman ini menunjukkan bahwa hasil isolasi keseluruhan bagian tumbuhan akar rumput bambu ini mengandung senyawa flavonoid dan terpenoid (Jing, 2009). Penelitian A'ilah (2015), menyatakan bahwa ekstrak etanol 80 % dan ekstrak etanol hasil hidrolisis mengandung golongan senyawa saponin dan triterpenoid, fraksi n-heksana mengandung golongan senyawa tanin dan triterpenoid, dan fraksi kloroform mengandung golongan senyawa triterpenoid.

Penelitian Selina (2013) menyatakan nilai LC_{50} dari ekstrak n-heksan, kloroform dan etanol 80% daun rumput bambu secara berturut-turut adalah 90,7896 ; 83,4150 dan 25,2189 ppm. Suatu ekstrak dianggap sangat toksik apabila memiliki nilai LC_{50} di bawah 30 ppm, dianggap toksik bila memiliki LC_{50} 30-1000 ppm, dan dianggap tidak toksik bila memiliki nilai LC_{50} lebih dari 1000

(Risky, 2014). Penelitian tersebut menunjukkan bahwa ekstrak etanol 80% merupakan ekstrak yang bersifat sangat toksik dan ekstrak n-heksan dan kloroform bersifat toksik, sehingga ketiga ekstrak tersebut sangat berpotensi digunakan sebagai bahan aktif antikanker.

Penelitian A'ilah menyatakan bahwa nilai IC_{50} dari ekstrak etanol 80%, ekstrak etanol hasil hidrolisis, fraksi n-heksana, dan kloroform berturut-turut adalah 143,28 ; 428,580 ; 65,461 ; dan 72,757 ppm. Suatu ekstrak dianggap toksik apabila memiliki nilai $IC_{50} < 1000 \mu\text{g/mL}$. Nilai IC_{50} menunjukkan konsentrasi dalam penghambatan pertumbuhan sel sebesar 50 % dari populasi sel, sehingga semakin kecil nilai IC_{50} sampel tersebut semakin toksik (NCI dalam Rahmawati, dkk., 2013). Penelitian tersebut menunjukkan bahwa fraksi n-heksana dan fraksi kloroform memiliki sifat toksisitas yang tinggi dibandingkan dengan ekstrak etanol 80% dan ekstrak etanol hidrolisis sebagai bahan aktif penghambatan sel kanker payudara T47D.

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).

Penelitian Septiani (2013) mengenai potensi zeolit sebagai katalis sintesis senyawa antimikroba menunjukkan bahwa zeolit mempunyai peranan yang efektif sebagai antikanker, antibakteri, menyerap glukosa sehingga dapat digunakan oleh penderita diabetes, zeolit ini berperan sebagai adsorben. 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).

Salah satu keunggulan dari kombinasi ini adalah menggunakan ekstrak dari tumbuhan yang diimbangkan dengan zeolit. Ekstrak ini tidak memiliki efek samping yang berbahaya jika dikonsumsi oleh tubuh, sehingga aman digunakan. Sedangkan, pada penelitian sebelumnya masih menggunakan obat sintesis yang memiliki efek samping yang lebih berbahaya dari ekstrak tumbuhan tersebut. Selain itu, hasil kombinasi obat maupun ekstrak juga memiliki efektivitas yang lebih baik dalam menghambat pertumbuhan sel kanker daripada obat atau ekstrak yang tidak diimbangkan dengan zeolit.

Penelitian yang mendukung tentang kombinasi ini antara lain adalah Micronized Zeolit Clinoptilolite (MZ) yang merupakan zeolit alam dengan struktur nano kristal telah digunakan untuk perawatan tikus dan anjing yang terkena kanker. Zeolit ini merupakan zeolit alam yang berupa klinoptilolit. 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, et al, 2003).

Menurut Amorim, dkk (2012), zeolit memiliki peranan dalam membawa atau mengangkut obat ke dalam sel kanker melalui permukaannya yaitu berupa

makropori. Sehingga memiliki potensi lebih besar dalam menghambat pertumbuhan sel kanker. Penelitian ini dilakukan secara enkapsulasi, yaitu α -siano-4-Asam hydroxycinnamic (CHC) dengan zeolit dalam bentuk natrium (NaY dan NaA). Zeolit tersebut sebagai pengemban obat antikanker CHC dan diujikan terhadap sel kanker *carcinoma* yaitu berupa sel kanker usus HCT-15. Hasil penelitiannya menyatakan bahwa obat dengan kombinasi zeolit memiliki nilai viabilitas sel 585 kali lipat terhadap sel kanker usus HCT-15, jika dibandingkan obat tanpa enkapsulasi.

Penelitian Amorim, dkk (2012) dilakukan berdasarkan variasi kombinasi CHC dengan zeolit NaY dan NaA. Hasil penelitian ini menyatakan bahwa zeolit NaY lebih efektif dalam mengemban obat CHC daripada zeolit NaA. Hal ini dikarenakan ukuran zeolit NaY yang lebih besar, sehingga CHC dapat dengan bebas berdifusi ke arah sel. Hasil pengembanan zeolit NaY dengan senyawa CHC pada konsentrasi 0,05 ppm dapat menghambat sel kanker dengan meningkatkan efisiensi obat sebesar 119 kali dan 585 kali dengan jumlah konsentrasi senyawa CHC secara berturut-turut adalah 0.054 dan 0.011 mM dengan perbandingan CHC:zeolit NaY yaitu 1:10 dan 5:10.

Zeolit juga berperan sebagai katalis dalam mempercepat pelepasan 5-fluorourasil (5-FU) dari NaX-FU yang merupakan salah satu obat antikanker (Spanakis, dkk, 2013). Hasil impregnasi 5-fluorourasil dalam zeolit NaX-FU menunjukkan penurunan viabilitas sel Caco-2. Sehingga zeolit ini berfungsi menghambat pertumbuhan sel lebih cepat dalam obat tersebut.

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 dalam 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 viability *in vitro* yaitu sebesar 70,6 %.

Hasil penelitian pendahuluan tentang kombinasi ekstrak akar rumput bambu fraksi n-heksana dengan zeolit NaY dengan metode MTT memiliki nilai IC_{50} 954,467 $\mu\text{g/mL}$. Sedangkan nilai IC_{50} untuk ekstrak akar rumput bambu fraksi n-heksana adalah sebesar 127,595 $\mu\text{g/mL}$. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat potensi aktivitas antikanker dalam kombinasi ekstrak dengan zeolit dengan ditunjukkan nilai IC_{50} -nya $<1000 \mu\text{g/mL}$.

Berdasarkan uraian diatas, maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui aktivitas akar rumput bambu (*Lophatherum gracile* B.) yang dikombinasikan dengan zeolit NaX sebagai antikanker. Zeolit NaX memiliki sifat yang sama dengan zeolit NaY, hanya berbeda pada perbandingan rasio Si/Al. Hal ini dilakukan agar dapat ditemukan obat-obatan tradisional yang dikombinasikan dengan bahan alam berdasarkan perbandingan ekstrak dan zeolit tersebut menghambat aktivitas kanker payudara T47D tanpa harus merusak jaringan sehat lainnya.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Bagaimana potensi ekstrak akar rumput bambu (*Lophatherum gracile* B.) yang diembankan pada zeolit NaX sebagai antikanker sel payudara (T47D) secara *in vitro*?

2. Berapa nilai IC_{50} dari perbandingan ekstrak akar rumput bambu (*Lophatherum gracile* B.) dengan zeolit NaX yang berpotensi sebagai antikanker sel payudara (T47D)?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini berdasarkan rumusan masalah tersebut adalah:

1. Mengetahui potensi aktivitas ekstrak akar rumput bambu (*Lophatherum gracile* B.) yang diimbangkan pada zeolit NaX sebagai antikanker sel payudara (T47D) secara *in vitro*.
2. Mengetahui nilai IC_{50} dari perbandingan ekstrak akar rumput bambu (*Lophatherum gracile* B.) dengan zeolit NaX yang berpotensi sebagai antikanker sel payudara (T47D).

1.4 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Akar rumput bambu (*Lophatherum gracile* B.) diperoleh dari Kota Malang.
2. Pelarut yang digunakan pada proses ekstraksi adalah n-heksan dan etanol 80%.
3. Ekstraksi yang digunakan adalah maserasi.
4. Ekstrak akar rumput bambu (*Lophatherum gracile* B.) yang digunakan adalah ekstrak kasarnya.
5. Zeolit yang digunakan adalah zeolit NaX hasil sintesis yang dilakukan di bidang Kimia Anorganik.
6. Perbandingan kombinasi ekstrak pekat dengan zeolit NaY adalah 1:10; 5:10; dan 10:10.

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah:

1. Hasil penelitian uji aktivitas antikanker dengan zeolit NaX dapat dijadikan sebagai salah satu upaya untuk mengembangkan tanaman akar rumput bambu (*Lophatherum gracile* B.) menjadi salah satu tanaman yang memiliki khasiat sebagai antikanker dan zeolit sebagai bahan organik yang bermanfaat.
2. Sebagai salah satu referensi dan perbandingan dalam penelitian lebih lanjut.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pemanfaatan Tanaman dalam Perspektif Islam

Al Quran telah menyebutkan tentang manfaat dari tanaman sebagaimana firman Allah SWT dalam Surat al Anam (6):99:

وَهُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ فَأَخْرَجْنَا مِنْهُ خَضِرًا خُجْرًا مِنْهُ حَبًّا مُتَرَاكِبًا وَمِنَ النَّخْلِ مِنَ طَلْعِهَا قِنْوَانٌ دَانِيَةٌ وَجَنَّاتٍ مِّنْ أَعْنَابٍ وَالزَّيْتُونَ وَالرُّمَّانَ مُشْتَبِهًا وَغَيْرَ مُتَشَبِهٍ ۗ انظُرُوا إِلَى ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَيَنْعِهِ ۗ إِنَّ فِي ذَٰلِكُمْ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يُؤْمِنُونَ ﴿٩٩﴾

Artinya:

“Dan Dialah yang menurunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan dengan air itu segala macam tumbuh-tumbuhan. Maka Kami keluarkan dari tumbuh-tumbuhan itu tanaman yang menghijau. Kami keluarkan dari tanaman yang menghijau itu butir yang banyak, dan dari mayang korma mengurai tangkai-tangkai yang menjulai, dan kebun-kebun anggur, dan (kami keluarkan pula) zaitun dan delima yang serupa dan yang tidak serupa. Perhatikanlah buahnya di waktu pohonnya berbuah dan (perhatikan pulalah) kematangannya. Sesungguhnya pada yang demikian itu ada tanda-tanda (kekuasaan Allah SWT) bagi orang-orang yang beriman”(QS. al Anam: 99).

Lafadz مُتَرَاكِبًا mempunyai arti bulir yang banyak yang satu sama

lainnya bersusun seperti bulirnya gandum dan sebagainya (Mahalli dan Suyuti, 2009). Allah SWT telah menurunkan air hujan dan dari air hujan tersebut tumbuhlah tanaman-tanaman yang hijau dengan berbagai macam, bentuk, ciri

khasnya, serta berbeda-beda tingkatan kemanfaatannya. Beberapa tanaman tersebut ada yang berbatang ataupun tidak berbatang.

Menurut Mustafa (1992), tanaman yang tidak berbatang itu ditumbuhkan menjadi tanaman yang hijau subur, seperti rerumputan. Sedangkan yang berbatang akan bercabang dari pokok tanaman serta akan menghasilkan biji yang akan menjadi gugusan biji seperti gandum, padi, dan lain sebagainya. Semua tumbuhan yang diciptakan Allah SWT pasti mempunyai manfaat masing-masing bagi makhluk hidup lainnya.

Surat al Anam tersebut menggambarkan segala sesuatu yang baik bagi setiap obyek yang diciptakan-Nya. Tumbuhan yang baik merupakan tumbuhan yang bermanfaat bagi makhluk hidup termasuk tumbuhan yang dapat digunakan sebagai pengobatan (Savitri, 2008). Manfaat dari tumbuhan itu dapat diketahui secara akal melalui penelitian dan pemahaman rahasia di dalamnya. Sehingga dapat meningkatkan keimanan terhadap Allah SWT.

Menurut Shihab (2002), aneka tumbuhan dengan bermacam-macam jenis bentuk dan rasanya itu merupakan hal-hal yang sungguh menakjubkan lagi membuktikan betapa agung pencipta-Nya. Setiap macam tumbuhan diciptakan Allah SWT untuk kemaslahatan umat manusia, diantaranya sebagai salah satu sumber pangan bagi hasilnya untuk memenuhi kebutuhan manusia. Manfaat tumbuhan ini salah satunya digunakan sebagai tanaman obat. Sebagaimana firman Allah SWT dalam Surat Thaha (20):53 berikut ini:

الَّذِي جَعَلَ لَكُمُ الْأَرْضَ مَهْدًا وَسَلَكَ لَكُمْ فِيهَا سُبُلًا وَأَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً
فَأَخْرَجْنَا بِهِ أَزْوَاجًا مِّن نَّبَاتٍ شَتَّى ﴿٥٣﴾

Artinya:

“Bagimu bumi sebagai hamparan dan yang telah menjadikan bagimu di bumi itu jalan-jalan, dan menurunkan dari langit air hujan. Maka kami tumbuhkan dengan air hujan itu berjenis-jenis dari tumbuh-tumbuhan yang bermacam-macam (QS.Thaha : 53).”

Lafadz **مِنْ نَبَاتٍ شَتَّى** mempunyai arti tumbuh-tumbuhan yang beraneka

ragam. Lafadz **شَتَّى** menjadi kata sifat dari lafadz **أَزْوَاجًا** maksudnya yang berbeda-

beda warna dan rasa serta ciri khasnya (Mahalli dan Suyuti, 2009). Tumbuhan yang diciptakan Allah SWT beraneka ragam, baik dari warna, bentuk, rasa serta kemanfaatannya.

Lafadz **مِنْ نَبَاتٍ شَتَّى** mempunyai maksud Allah SWT menurunkan air

hujan untuk menumbuhkan berbagai jenis tumbuhan, seperti palawija, buah-buahan, rerumputan baik yang masam maupun yang manis. Tumbuhan tersebut memiliki berbagai manfaat, warna aroma, dan bentuk (Mustafa, 1992). Sebagian tumbuhan itu cocok untuk manusia, dan sebagian lain cocok untuk hewan. Akan tetapi ada yang cocok untuk manusia dan hewan, salah satu contohnya adalah rumput bambu yang biasanya sebagai bahan pokok makanan hewan tetapi juga dapat dimanfaatkan sebagai obat herbal oleh manusia. Hal inilah menunjukkan bahwa Allah SWT melimpahkan nikmat-nikmat-Nya kepada para makhluk-Nya.

Pemanfaatan bahan alam sebagai obat tradisional di Indonesia akhir-akhir ini meningkat, bahkan beberapa bahan alam telah diproduksi secara pabrikasi

dalam skala besar. Penggunaan obat tradisional dinilai memiliki efek samping yang lebih kecil dibandingkan dengan obat yang berasal dari bahan kimia, disamping itu harganya lebih terjangkau. Selain itu keuntungan lain penggunaan obat tradisional adalah bahan bakunya mudah diperoleh dan harganya yang relatif murah (Putri, 2010). Hasil penelitian eksplorasi keanekaragaman dan kandungan kimia tumbuhan obat di hutan tropis Gunung Arjuna menyatakan bahwa tanaman *Lophatherum gracile* Brongn merupakan salah satu dari tiga belas jenis tanaman yang sangat berpotensi untuk digunakan sebagai obat herbal penyembuhan penyakit tertentu, seperti antiinflamasi maupun antikanker (Kusumawati dkk., 2003).

2.2 Tanaman Rumput Bambu (*Lophatherum gracile* Brongn)

2.2.1 Morfologi dan Klasifikasi Tanaman Rumput Bambu (*Lophatherum gracile* Brongn)

Tanaman rumput bambu (*Lophatherum gracile* Brongn) tersebar di beberapa daerah di Indonesia seperti di Sunda yang dikenal dengan nama Jukut Awi. Selain itu, diluar negeri rumput ini telah dikenal terutama di Inggris dan Tionghoa, seperti di Inggris dengan nama *sasagrass* dan di Tionghoa dengan nama *zhu ye* (Wijayakusuma, 2005).

Lophatherum gracile Brongn (Famili: Gramineae) merupakan rumput-rumputan yang menahun, tingginya 0,5 – 1,2 m bertangkai banyak, dengan rimpang pendek bercabang-cabang, berakar serabut yang tumbuh menjadi umbi-umbi. Tumbuh di atas 1500 m di atas permukaan laut dengan lokasi senantiasa rindang, khususnya dalam hutan alam. Batang-batangnya tegak, mampat tidak berbulu, daun-daunnya bertangkai jelas, terbangun lancet garis, berurat melintang di antara lidinya yang membujur, lembut, berwarna hijau tua panjang 10 – 30 cm dan lebarnya 10 – 55 mm. Bunga majemuknya berupa sebuah malai bertangkai

panjang dan terdiri atas bulir-bulir yang panjangnya 1 – 15 cm (Heyne, 1987).

Morfologi rumput bambu dapat dilihat pada gambar 2.1 berikut:



Gambar 2.1 Rumput bambu (*Lophatherum gracile* Brongn) (Wijayakusuma, 2005)

Klasifikasi rumput bambu (*Lophatherum gracile* Brongn) (Cronquist, 1981):

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

2.2.2 Manfaat Tanaman Rumput Bambu (*Lophatherum gracile* Brongn)

Rumput bambu (*Lophatherum gracile* Brongn) memiliki beberapa manfaat diantaranya sebagai obat demam, infeksi saluran kencing, kemih berdarah, bisul, perasaan gelisah dan obat jika merasa kehausan terus menerus (Utami, 2008).

Rumput bambu juga memiliki beberapa manfaat lain sebagai obat untuk mengatasi kanker, tumor, buang air kecil tidak lancar dan terasa sakit, mimisan, sakit tenggorokan, sariawan dan gusi bengkak (Wijayakusuma, 2005). Menurut Jing (2009), riset farmakologi dari ekstrak daun rumput bambu (*Lophatherum*

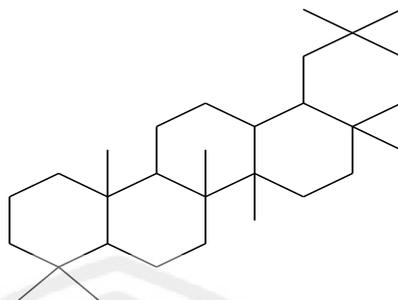
gracile Brongn) dapat digunakan sebagai antipiretik, antideuritik, antibakteri, antitumor, dan efek hiperglesimik.

2.2.3 Kandungan Kimia Rumput Bambu (*Lophatherum gracile* Brongn)

Kandungan pada seluruh bagian tanaman ini antara lain akar, batang, dan daun mengandung triterpenoid dan steroid arundoin, cylindrin, friedelin, beta-sitosterol, stigmasterol, campesterol, taraxerol, asam amino, dan asam lemak. (Wijayakusuma, 2005).

Penelitian farmakologi China menyatakan bahwa ekstrak daun *Lophatherum gracile* Brongn mengandung senyawa aktif flavonoid dan triterpenoid yang dapat dimanfaatkan sebagai antipiretik, diuretik, antibakteri, antitumor dan efek hiperglikemia (Jing, 2009). Menurut penelitian Sari (2014) ekstrak daun tanaman rumput bambu (*Lophatherum gracile* Brongn) fraksi etanol ditemukan tiga golongan senyawa yakni alkaloid, tanin dan triterpenoid. Hasil penelitian lainnya menyebutkan tumbuhan ini juga mengandung flavonoid pada bagian daun dan steroid atau triterpenoid pada bagian akar (Kusumawati, 2003).

Berdasarkan penelitian A'ilah (2015) menyatakan bahwa kandungan senyawa kimia yang terdapat dalam akar rumput bambu (*Lophatherum gracile* B.) adalah senyawa triterpenoid. Hasil penelitiannya positif dengan ditunjukkan terbentuknya cincin kecoklatan. Triterpenoid adalah senyawa yang kerangka karbonnya terdiri dari enam buah isoprena dan secara biosintesis diturunkan dari hidrokarbon C-30 asiklik. Senyawa ini tidak berwarna, berbentuk kristal, mempunyai titik leleh tinggi, dan bersifat optis aktif. Senyawa ini umum ditemukan dalam tumbuhan berbiji dan sebagai glikosida. Struktur senyawa triterpenoid ditunjukkan pada gambar 2.2 (Harbone, 1987):



Gambar 2.2 Senyawa triterpenoid

Uji triterpenoid dilakukan dengan penambahan kloroform sebagai pelarut senyawa triterpenoid karena memiliki sifat kepolaran yang sama (nonpolar). Selanjutnya adalah penambahan asam asetat anhidrat untuk membentuk turunan senyawa asetil kloroform, lalu penambahan asam kuat yaitu asam sulfat pekat melalui dinding tabung reaksi mengakibatkan senyawa triterpenoid mengalami dehidrasi. Akhirnya akan membentuk garam yang akan memberikan sejumlah warna reaksi (Mukhlis, 2010). Berdasarkan penelitian Anis (2015) menyatakan bahwa uji triterpenoid ini pada tabel 2.1.

Tabel 2.1 Data hasil uji fitokimia dengan reagen

	Ekstrak etanol 80 %	Ekstrak etanol hasil hidrolisis	Fraksi n-Heksana	Fraksi kloroform
Triterpenoid	+++	+	+++	+++

Keterangan: +++ = Kandungan senyawa lebih banyak (warna sangat pekat)
 ++ = Mengandung senyawa (warna cukup pekat)
 + = Mengandung senyawa (berwarna)
 - = Tidak terkandung senyawa

2.3 Metode Pemisahan Senyawa Aktif Daun Rumput Bambu (*Lophatherum gracile* Brongn)

2.3.1 Ekstraksi Maserasi

Ekstraksi adalah salah satu metode pemisahan suatu komponen dari campurannya dengan menggunakan pelarut berdasarkan perbedaan distribusi fasa.

Tujuan ekstraksi adalah memisahkan suatu komponen dari campurannya menggunakan pelarut tertentu (Soebagio, 2003). Salah satu metode ekstraksi adalah maserasi. Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam 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. Pelarutan dengan maserasi, perlu dilakukan pengadukan untuk meratakan konsentrasi larutan diluar butir serbuk simplisia, sehingga dengan pengadukan tersebut tetap terjaga adanya derajat perbedaan konsentrasi yang sekecil-kecilnya antara larutan di dalam sel dengan larutan di luar sel (Baraja, 2008).

Proses maserasi ini sangat menguntungkan dalam isolasi senyawa bahan alam, karena akan terjadi kontak sampel dan pelarut yang cukup lama. Terdistribusinya pelarut organik yang terus menerus ke dalam sel tumbuhan mengakibatkan perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel sehingga pemecahan dinding dan membran sel dan metabolit sekunder yang berada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik. Ekstraksi senyawa akan sempurna dengan variasi lama perendaman (Baraja, 2008).

Kelebihan dari metode maserasi adalah sederhana, relatif murah, tidak memerlukan peralatan yang rumit, terjadi kontak antara sampel dan pelarut yang cukup lama dan dapat menghindari kerusakan komponen senyawa yang tidak tahan panas. Kekurangan dari metode ini adalah membutuhkan waktu yang lama untuk mencari pelarut organik yang dapat melarutkan dengan baik senyawa yang

akan diisolasi dan harus mempunyai titik didih yang tinggi pula sehingga tidak mudah menguap (Voight, 1995). Pemilihan pelarut organik yang akan digunakan dalam ekstraksi komponen aktif merupakan faktor penting dan menentukan untuk mencapai tujuan dan sasaran ekstraksi komponen. Semakin tinggi nilai konstanta dielektrik, titik didih dan kelarutan dalam air, maka pelarut akan bersifat makin polar (Sudarmadji, *et al.*, 2007).

Pelarut yang digunakan pada penelitian ini yaitu n-heksana dan etanol didasarkan pada pemilihan variasi pelarut yang sesuai. Pelarut-pelarut tersebut memiliki titik didih yang cukup rendah, dapat mudah diuapkan tanpa menggunakan suhu yang tinggi, bersifat inert, dapat melarutkan senyawaan yang sesuai dengan cukup cepat serta memiliki harga yang terjangkau (Guenther, 2006). Kelarutan terhadap air dari pelarut-pelarut tersebut juga semakin tinggi dengan semakin tingginya tingkat kepolarannya (Nur Adijuwana, 1989; Sudarmadji, dkk, 2007).

2.3.2 Ekstraksi Cair-Cair (Partisi)

Ekstraksi cair-cair ditentukan oleh distribusi Nerts yang menyatakan bahwa “pada konsentrasi dan tekanan yang konstan, analit akan terdistribusi dalam jumlah yang selalu sama terhadap pelarut yang tidak campur”. Analit-analit yang mudah terekstrak pada pelarut organik adalah molekul netral yang berikatan senyawa kovalen dengan substansi yang bersifat nonpolar atau semi polar. Sedangkan senyawa-senyawa yang mudah terionisasi akan bertahan pada fase air (Rohman dan Gandjar, 2007). Prinsip kerja dari metode ini adalah *like dissolve like* yaitu senyawa polar akan larut dalam pelarut polar dan senyawa nonpolar akan larut dalam senyawa nonpolar.

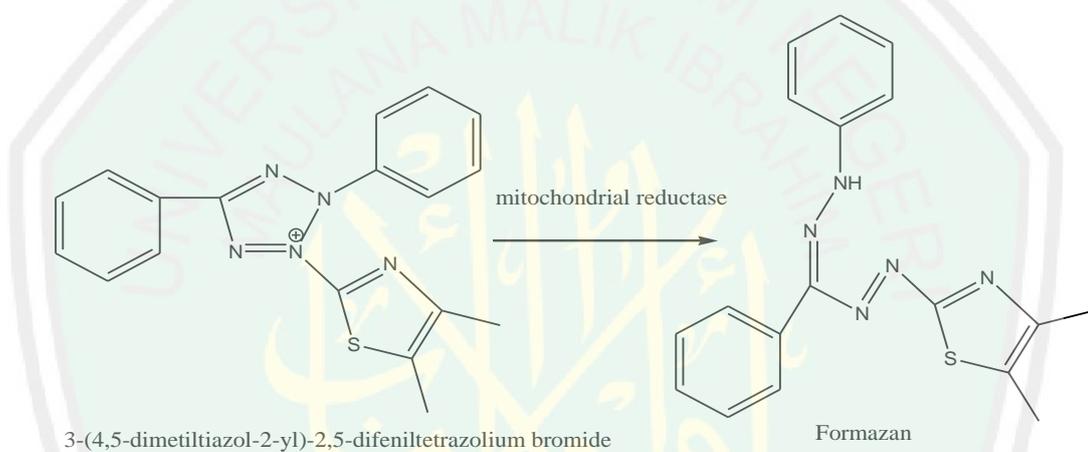
Pelarut organik yang dipilih untuk proses ekstraksi adalah pelarut yang memiliki kelarutan yang rendah dalam air (0,1%). Hal ini bertujuan untuk memudahkan penghilangan pelarut organik setelah ekstraksi. Selain itu, hasil ekstraksi memiliki kemurnian tinggi untuk meminimalisir terjadinya kontaminasi pada sampel (Rohman dan Gandjar, 2007). Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah n-heksana, karena perbedaan tingkat kepolaran. Sehingga dapat memisahkan senyawa aktif dalam ekstrak berdasarkan kepolarannya. Selain itu, pelarut ini memiliki titik didih yang rendah. Sifat ketosikannya juga cukup rendah dibandingkan dengan pelarut nonpolar lainnya yaitu 47702 mg/kg dan nilai kelarutannya dalam air adalah 2,0. Sehingga dimungkinkan akan lebih mudah mendapatkan senyawa murninya (Guather, 2006).

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

Antikanker dapat dilakukan dengan uji MTT yang merupakan salah satu metode yang digunakan dalam uji sitotoksik. Metode MTT (*Microculture Tetrazolium*) banyak dimanfaatkan untuk menyelidiki mekanisme aktivasi sel dan kerusakan sel yang mana pengujiannya secara kolorimetri dan didasarkan pada *bioreduction* garam tetrazolium ke formazan. Dalam penelitian ini digunakan uji MTT karena memiliki kelebihan yaitu relatif cepat, sensitif, akurat, digunakan untuk mengukur sampel dalam jumlah besar dan hasilnya bisa untuk memprediksi sifat sitotoksik suatu bahan (Goodwin, dkk., 1995).

Metode ini merupakan metode kolorimetri, dimana pereaksi atau reagen MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difeniltetrazolium bromide) ini merupakan garam tetrazolium yang diadsorpsi dan dipecah menjadi kristal formazan oleh sistem suksinat tetrazolium reduktase yang terdapat dalam jalur respirasi sel pada

mitokondria yang aktif pada sel yang masih hidup. Kristal formazan ini memberi warna ungu yang dapat dibaca absorbansinya (Pamilih, 2009). Absorbansi larutan berwarna ini kemudian dapat diukur menggunakan *Enzyme-linked Immunosorbent Assay (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 2.3 berikut (Meiyanto, dkk., 1999):



Gambar 2.3 Reaksi reduksi MTT

Uji sitotoksik ini digunakan untuk menentukan nilai IC_{50} (*Inhibitory Concentration*). Nilai IC_{50} menunjukkan nilai konsentrasi yang menghasilkan hambatan proliferasi sel 50% dan menunjukkan potensi ketoksikan suatu senyawa terhadap sel. Nilai ini 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 (Meiyanto, dkk., 1999, dan Padmi, 2008).

Penelitian A'ilah (2015) menyatakan bahwa fraksi n-heksan memiliki potensi penghambatan pertumbuhan sel kanker payudara T47D lebih baik daripada menggunakan ekstrak yang lain dengan ditunjukkan nilai IC_{50} paling

rendah. Nilai IC_{50} menunjukkan konsentrasi yang menyebabkan penghambatan pertumbuhan sel sebesar 50 % dari populasi sel, sehingga semakin kecil nilai IC_{50} sampel tersebut semakin toksik. Sifat sitotoksik memiliki tiga tingkatan menurut *National Cancer Institute* (NCI), yaitu sangat aktif apabila nilai $IC_{50} < 30 \mu\text{g/mL}$, moderate aktif dengan nilai $IC_{50} 30 - 100 \mu\text{g/mL}$, dan nilai $IC_{50} > 100 \mu\text{g/mL}$ dinyatakan tidak aktif (NCI dalam Rahmawati, dkk., 2013). Menurut Kamubhawa, dkk (2000) ekstrak uji dengan nilai $IC_{50} < 100 \mu\text{g/mL}$ tetap dinyatakan toksik dan memiliki antiproliferasi (menghambat pertumbuhan sel) meskipun nilainya kecil. Nilai IC_{50} dibawah $100 \mu\text{g/mL}$ menunjukkan adanya potensi ekstrak uji sebagai agen kemoprevensi, yang artinya kandungan senyawa dalam ekstrak dapat menghambat dan menekan proses karsinogenesis pada manusia sehingga pertumbuhan kanker dapat dicegah (Meiyanto, dkk., 2008 dan Kakizoe, 2003).

Hasil IC_{50} tiap sampel dari akar bambu pada penelitian A'ilah (2015) ditunjukkan pada Tabel 2.2.

Tabel 2.2 Data nilai IC_{50} uji aktivitas antikanker

Sampel	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
Ekstrak etanol 80 %	143,281
Ekstrak etanol hasil hidrolisis	428,580
Fraksi n-Heksana	65,461
Fraksi kloroform	72,757

Sumber: A'ilah, 2015

Perbedaan potensi suatu sampel dalam menghambat kanker dipengaruhi oleh kandungan senyawa dalam sampel tersebut. Hasil uji fitokimia dari fraksi n-heksana mengandung tanin dan triterpenoid. Menurut Crowell (1999) golongan terpenoid mempunyai aktivitas antikanker, salah satu diantaranya yaitu limonen.

2.4.1 Mekanisme Antikanker Terhadap Siklus Sel

Mekanisme kerja golongan terpenoid dengan cara memblokir siklus sel pada fase M (mitosis atau pembelahan sel) dengan menstabilkan benang-benang *spindle*. Benang – benang *spindle* (tubulin) berfungsi untuk mempertahankan bentuk sel dan mengatur pergerakan kromosom dalam pembelahan sel serta pergerakan organel, sehingga ketika sel kanker berinteraksi dengan senyawa terpenoid akan menyebabkan tahapan mitosis terhambat yang selanjutnya akan terjadi penghambatan proliferasi sel (perkembangan sel) dan memicu terjadinya apoptosis (kematian sel). Senyawa terpenoid juga menghambat enzim topoisomerase pada sel mamalia. Enzim topoisomerase adalah enzim yang berperan penting dalam proses pembentukan DNA. Inhibitor enzim topoisomerase akan menstabilkan kompleks topoisomerase dan DNA terpotong, sehingga dapat menyebabkan terjadinya kerusakan DNA. Adanya kerusakan DNA dapat menyebabkan terekspresinya protein proapoptosis sehingga dapat memacu terjadinya apoptosis (Setiawati, dkk., 2010).

Salah satu penyebab menyebabkan perbedaan ketoksikan suatu senyawa terhadap sel yaitu kemudahan senyawa dalam melewati struktur membran sel. Senyawa – senyawa nonpolar yang terlarut dalam n-heksana memiliki ukuran partikel yang lebih kecil sehingga lebih mudah untuk masuk dalam membran sel melalui daerah ekor yang bersifat hidrofobik, sedangkan senyawa –senyawa polar yang terlarut dengan ukuran kecil akan lebih mudah masuk ke dalam membran sel melalui daerah kepala yang bersifat hidrofilik (Fahri, dkk., 2010).

Perbedaan kemampuan senyawa dalam menembus sel kanker juga dipengaruhi oleh adanya target yang berbeda pada setiap sel kanker. Golongan senyawa triterpenoid (steroid) yang umumnya memiliki kemiripan struktur

membran molekul target sehingga memudahkan senyawa tersebut untuk melewati membran sel (Awad dan Fink, 2000). Adanya kemudahan senyawa dalam melewati struktur membran ini dapat dianalogkan seperti model gembok – kunci (*lock – key*), hal ini menyebabkan senyawa tersebut akan lebih mudah masuk dan mempengaruhi aktivitas yang terjadi di dalam sel (Ernawati, 2010). Secara keseluruhan proses metabolisme molekul obat baik obat kimia maupun obat herbal dari senyawa aktif dan senyawa endogen, seperti protein, lemak, dan steroid (terpenoid) hanya melibatkan sejumlah kecil tipe-tipe reaksi kimia dan melibatkan sejumlah besar sistem enzim (Siswandono, 2008).

2.4.2 Apoptosis

Apoptosis adalah mekanisme kematian sel yang terprogram yang penting dalam berbagai proses biologi. Proses apoptosis yang tidak sempurna dapat menyebabkan timbulnya penyakit yang sangat bervariasi. Terlalu banyak apoptosis menyebabkan sel mengalami kekacauan, sebagaimana terlalu sedikit apoptosis juga menyebabkan proliferasi sel yang tidak terkontrol (kanker).

➤ **Fungsi apoptosis**

- a. Sel yang rusak atau terinfeksi
- b. Respon terhadap stress atau kerusakan DNA
- c. Homeostasis

➤ **Mekanisme Apoptosis (CCRC, 2009)**

1) **Signal Penginduksi Apoptosis**

Signal penginduksi apoptosis biasa berasal dari ekstraseluler dan intraseluler yang bertemu di dalam sel menjadi famili protein pekekseseksi utama.

2) Signal kematian oleh tahap integrasi atau pengaturan.

Molekul regulator positif atau negatif yang dapat menghambat, memacu, mencegah apoptosis sehingga menentukan apakah sel tetap hidup atau mengalami apoptosis (mati).

3) Tahap Pelaksanaan Apoptosis

Jalur ekstrinsik (ekstraseluler) diinisiasi melalui stimulasi dari reseptor kematian (*death receptor*) sedangkan jalur intrinsik diinisiasi melalui pelepasan faktor signal dari mitokondria dalam sel. Peristiwa apoptosis jalur ekstrinsik dimulai dari adanya pelepasan molekul signal yang disebut ligan oleh sel lain tetapi bukan berasal dari sel yang akan mengalami apoptosis. Ligan tersebut berikatan dengan *death receptor* yang terletak pada transmembran sel target yang menginduksi apoptosis.

Stress mitokondria yang menginduksi apoptosis jalur intrinsik disebabkan oleh senyawa kimia atau kehilangan faktor pertumbuhan, sehingga menyebabkan gangguan pada mitokondria dan terjadi pelepasan sitokrom c dari intermembran mitokondria. Riset mengindikasikan keterlibatan mitokondria dalam jalur apoptotik. Sitokrom C yaitu suatu heme protein yang bertindak sebagai suatu pembawa elektron dalam fosforilasi oksidasi mitokondria, pemberhenti elektron cytochrome C oxidase atau kompleks IV, keluar intermembran dan mengikat protein sitoplasmik.

4) Tahap Fagositosis

Sel yang terfragmentasi menjadi *apoptotic body* mengeluarkan signal “*eat me*” yang dikenali oleh fagosit. Ada 2 macam fagosit, yaitu :

- Fagosit professional, contohnya sel makrofag.

- Fagosit semiprofesional, sel tetangga dari sel yang mengalami apoptosis.

2.5 Kanker

Kanker merupakan suatu keadaan dimana sel abnormal melakukan pembelahan diri tidak terkontrol, menyerang ataupun merusak jaringan di dekatnya, dan kadang bermetastasis atau dapat menyebar ke jaringan lainnya. Sel kanker dapat menyebar ke jaringan lain melalui sistem darah dan sistem limfa. Sifat inilah yang membedakan kanker dengan tumor yang tak berbahaya, karena tidak merusak jaringan lain. Ilmu yang mempelajari tentang kanker disebut onkologi (Maharani, 2009).

2.5.1 Kanker Payudara

Kanker payudara bermula pada sel epitel sehingga dikelompokkan sebagai karsinoma (keganasan tumor epitelial). Kanker payudara umumnya berupa *ductal breast cancer* yang invasif dalam pertumbuhan singkat. Sel kanker payudara dapat tumbuh menjadi benjolan sebesar 1 cm² dalam waktu 8-12 tahun (Tambunan, 2003). Sebagian besar (70%) ditandai dengan adanya gumpalan yang terasa sakit pada payudara dan juga rasa panas pada jaringan payudara (Lindley dan Michaud, 2005).

2.5.2 Sel Kanker Payudara T47D

Sel kanker payudara yang sering digunakan dalam penelitian adalah MCF-7 dan T47D. Sel MCF-7 merupakan sel kanker payudara yang diperoleh dari pasien wanita Kaukasian dengan dasar penumbuh media DMEM terformulasi. Sel T47D adalah sel kanker payudara yang diperoleh dari jaringan payudara seorang wanita remaja maupun dewasa yang terkenal *ductal carcinoma* dengan media dasar RPMI (*Roswell Park Memorial Institute*) (ATCC, 2008).

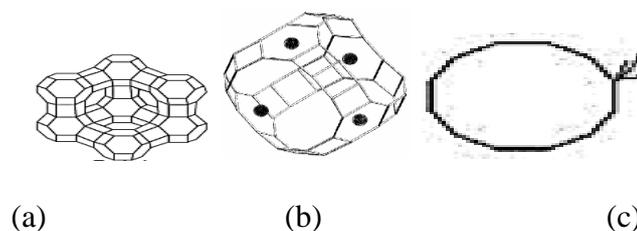
2.5.3 Perawatan dan Pengobatan Terhadap Kanker

Tujuan pengobatan adalah untuk membuang atau merusak seluruh sel kanker dan semua daerah yang terjaring tumor. Upaya pengobatan bervariasi dari perawatan standar yaitu operasi, radiasi, kemoterapi sampai pada pengobatan baru termasuk agen biologi, imunoterapi, dan molekul kecil yang sangat spesifik. Pengobatan ini tergantung dari stadium kankernya. Semakin tinggi stadium dari kankernya, maka semakin bervariasi upaya pengobatan yang akan dilakukan (Maharani, 2009).

Penderita kanker diperkirakan dapat disembuhkan melalui modalitas terapi yang bersifat lokal, yaitu bedah, radiasi dan kemoterapi. Akan tetapi, pengobatan melalui kemoterapi yang diterapkan pada penderita kanker memiliki efek samping pada penderitanya yaitu membunuh sel tubuh yang normal lainnya seperti jaringan rambut (Wijaya, 2012). Obat antikanker yang ideal seharusnya dapat mematikan sel kanker tanpa membahayakan jaringan yang sehat. salah satu sumber obat-obatan yang berpotensi sebagai kemoterapi adalah dari tumbuh-tumbuhan (Sukardima, 2006).

2.6 Zeolit NaX

Setiap zeolit dibedakan berdasarkan komposisi kimia, struktur, sifat kimia dan sifat fisika yang terkait dengan strukturnya. *Faujasite* merupakan jenis zeolit yang tersusun dari 10 unit sangkar beta sebagai unit pembangun sekundernya (Gambar 2.4a). Perbedaan *faujasite* dengan jenis zeolit yang lain adalah pada komposisi dan distribusi kation, rasio Si/Al dan keteraturan Si/Al pada pusat *tetrahedral* (Salaman, 2004).



Gambar 2.4 Kerangka *faujasite* dan unit penyusunnya: (a) *faujasite* (b) rongga *faujasite* (c) *window* (Salaman, 2004)

Zeolit X merupakan salah satu jenis *faujasite*. *Faujasite* adalah satu dari beberapa zeolit yang dapat disintesis dari bahan alam. Rumus umum *faujasite* adalah $\text{Na}_j[(\text{AlO}_2)_j(\text{SiO}_2)_{192-j}].z\text{H}_2\text{O}$. Zeolit *faujasite* dibagi menjadi 2 yaitu zeolit *faujasite* kaya silikon (zeolit Y) dan zeolit *faujasite* yang kaya alumunium (zeolit X) (Kasmui, dkk., 2008). Zeolit sintesis dibuat dengan rekayasa yang sedemikian rupa sehingga mendapatkan karakter yang sama dengan zeolit alam (Saputra, 2006). Struktur zeolit *faujasite* terdiri dari muatan negatif, kerangka tiga dimensi *tetrahedral* SiO_4 dan AlO_4 yang bergabung membentuk *oktahedral* terpancung (*sodalite*), seperti pada Gambar 2.4a.

Berikut penggolongan zeolit sintesis yang bergantung pada jumlah Al dan Si (Saputra, 2006):

Zeolit sintesis dibuat dengan rekayasa yang sedemikian rupa sehingga mendapatkan karakter yang sama dengan zeolit alam. Zeolit sintesis sangat bergantung pada jumlah Al dan Si, sehingga ada 3 kelompok zeolit sintesis (Saputra, 2006) :

1. Zeolit Sintesis dengan Kadar Si Rendah

Zeolit jenis ini banyak mengandung Al, berpori,. Volume porinya dapat mencapai $0,5 \text{ cm}^3$ tiap cm^3 volume zeolit dan perbandingan Si/Al 1 – 1,5. Contoh zeolit ini adalah zeolit A dan X.

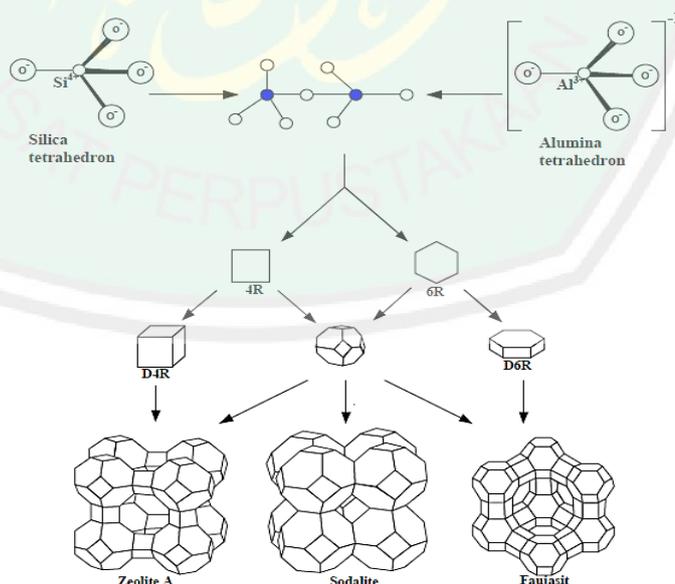
2. Zeolit Sintesis dengan Kadar Si Sedang

Jenis zeolit modernit mempunyai perbandingan $\text{SiO}_2/\text{Al}_2\text{O}_3 = 5$ sangat stabil, maka diusahakan membuat zeolit Y dengan perbandingan $\text{SiO}_2/\text{Al}_2\text{O}_3 = 1-3$. Contoh zeolit sintesis jenis ini adalah zeolit omega.

3. Zeolit Sintesis dengan Kadar Si Tinggi

Zeolit jenis ini sangat higroskopis dan menyerap molekul non polar sehingga baik untuk digunakan sebagai katalisator asam untuk hidrokarbon. Zeolit jenis ini misalnya, zeolit ZSM-5, ZSM-11, ZSM-21, dan ZSM-24.

Rumus molekul dari zeolit X sintesis adalah $\text{Na}_{86}[(\text{AlO}_2)_{86}(\text{SiO}_2)_{106}] \cdot 264\text{H}_2\text{O}$ (Widati, dkk., 2010). Menurut Thammavong (2003) Zeolit X mempunyai diameter α -cage (*supercage*) 13 \AA dan diameter β -cage (kerangka sodalit) $6,6 \text{ \AA}$ dengan diameter pori $7,4 \text{ \AA}$ membentuk struktur tiga dimensi dengan rasio Si/Al $1,0 - 1,5$ (Wang, dkk., 2013). Hal ini dapat dilihat pada Gambar 2.5.

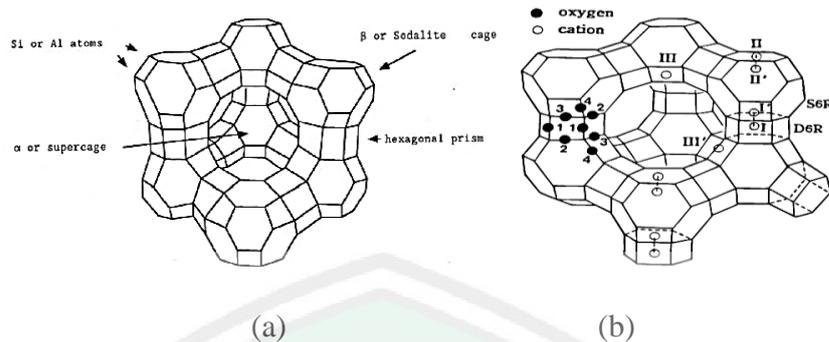


Gambar 2.5 Unit struktural dari zeolit A, sodalite dan faujasite (Wang, dkk., 2013)

Struktur zeolit *faujasite* terdiri dari muatan negatif, kerangka tiga dimensi *tetrahedral* SiO_4 dan AlO_4 yang bergabung membentuk *oktahedral* terpancung (*sodalite*), seperti pada Gambar 2.2.a. Jika 6 buah *sodalite* terhubung oleh prisma *hexagonal* akan membentuk tumpukan *tetrahedral*. Jenis tumpukan ini membentuk lubang besar (*supercages*) dan berdiameter 13\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. Muatan negatif dalam kerangka ini digantikan oleh kation yang berada diposisi kerangka non spesifik (Szostak, 1989).

Peningkatan laju kristalisasi tersebut mengakibatkan pembentukan kerangka silika alumina cenderung mengarah ke struktur silika alumina yang memiliki kestabilan relatif lebih tinggi dan lebih mudah terbentuk. Sedangkan proses pembentukan kerangka faujasit membutuhkan laju kristalisasi yang relatif lambat dengan rasio Si/Al sistem gel silika-alumina relatif tinggi (Feijen, dkk., 1994).

Kerangka dari zeolit X didasarkan atas unit pembangun kedua yaitu cincin ganda lingkaran 6 (unit D6R) (Widayat, dkk., 2012), seperti yang terlihat pada Gambar 2.6.



Gambar 2.6 (a) Struktur zeolit X (Kenneth dan Kieu, 1991) dan (b) Kerangka zeolit X (Yeom, dkk., 1997)

Zeolit X digunakan secara komersial sebagai penukar ion untuk pengolahan air dan juga dapat berfungsi sebagai katalis. Ebitani, dkk. (2000) telah melakukan penelitian penggunaan katalis zeolit X yang dikapsulkan dengan tembaga /kupri klorida untuk proses oksidasi senyawa amina. Proses oksidasi dilangsungkan dengan adanya molekul oksigen.

Semakin banyak jumlah pori zeolit, luas permukaannya semakin besar sehingga laju reaksinya semakin besar. Luas permukaan yang besar ini menguntungkan dalam pemanfaatan zeolit baik sebagai adsorben atau sebagai katalis heterogen (Lestari, 2010).

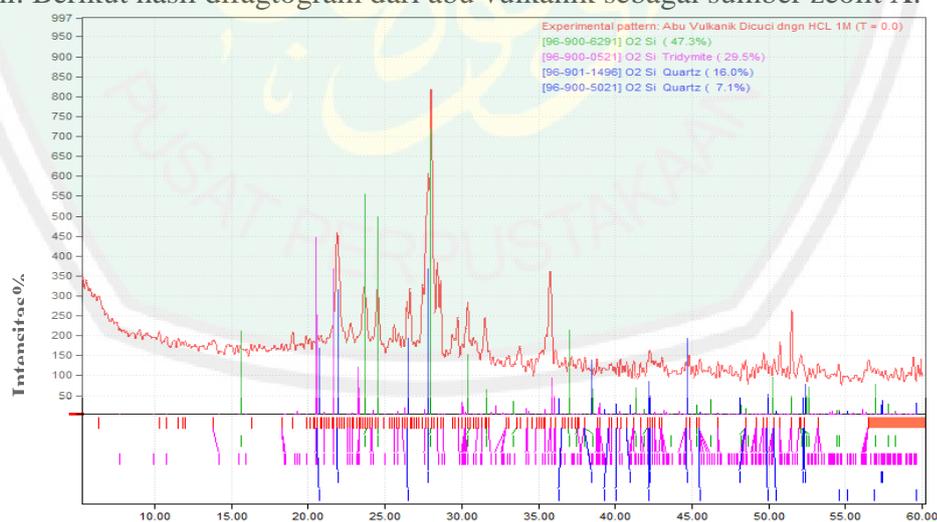
2.6.1 Sintesis Zeolit NaX

Metode digunakan dalam sintesis zeolit X ialah mencampurkan semua bahan sehingga membentuk gel yang disebut dengan sol gel. Proses sol gel merupakan proses pembentukan senyawa anorganik melalui reaksi kimia dalam larutan pada suhu rendah, dimana dalam proses tersebut terjadi perubahan fasa dari suspensi koloid (sol) membentuk fasa cair kontinyu (gel) (Fernandez, 2011). Pemanasan dengan menggunakan hidrotermal melibatkan air dan panas. Larutan prekursor dipanaskan pada temperature relatif tinggi (± 100 °C) dalam wadah tertutup agar terjadi kesetimbangan (Oye, dkk., 2001).

Menurut Bahri (2015), penelitian tentang sintesis zeolit X dengan variasi molar Si/Al sebesar 1; 1,5 dan 2 untuk mengetahui pengaruh variasi sintesis zeolit X. Zeolit X ini disintesis dari abu vulkanik Gunung Kelud menggunakan metode sol-gel. Bahan-bahan sintesis dilarutkan dalam aquades dan NaOH kemudian dilakukan pemeraman selama 1 jam pada suhu ruang. Selanjutnya gel yang diperoleh dilakukan proses hidrotermal pada suhu 75 °C selama 4 jam. Tahap akhirnya adalah pengeringan pada suhu 120 °C dan menghasilkan warna zeolit sintesis sesuai warna silika yaitu abu-abu. Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa zeolit X murni paling baik diperoleh pada rasio molar Si/Al sebesar 1,5.

2.6.2 Hasil Karakterisasi Sintesis Zeolit X dengan X-Ray Diffraction

Berdasarkan hasil difraktogram pada penelitian Bahri (2015) diketahui bahwa zeolit sintesis yang didapat merupakan zeolit campuran, ditandai dengan adanya puncak zeolit X dan zeolit A, sehingga zeolit X yang disintesis belum murni. Berikut hasil difraktogram dari abu vulkanik sebagai sumber zeolit X.



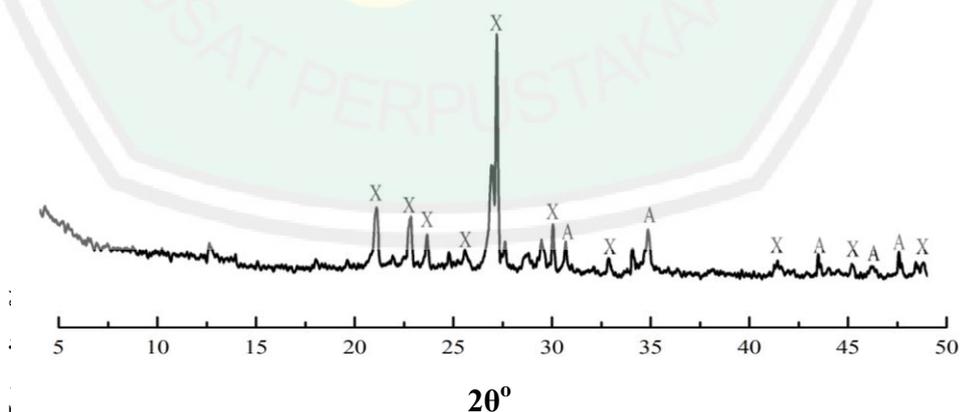
20

Gambar 2.7 Hasil analisis fase mineral abu vulkanik

Puncak-puncak yang intensitasnya tinggi mempunyai fase mineral *quartz* pada $2\theta = 21,89^\circ$; $27,86^\circ$; dan $28,04^\circ$. Fase mineral *tridymite* terdapat pada 2θ

$=35,82^\circ$. Puncak pada $2\theta = 23,83^\circ; 24,57^\circ$; dan $30,41^\circ$ merupakan SiO_2 . Hasil ini menunjukkan bahwa SiO_2 dalam abu vulkanik bersifat semi amorf, karena puncak SiO_2 kristalin berjumlah sedikit. Silika amorf memiliki susunan atom dan molekul berbentuk pola acak dan tidak beraturan, sehingga dalam berbagai kondisi silika amorf lebih reaktif daripada silika kristalin karena adanya gugus hidroksil (silanol) (Kirk dan Othmer, 1984). Oleh karena itu, silika abu vulkanik dapat dijadikan sumber silika dalam sintesis zeolit X.

Zeolit X merupakan fase yang paling dominan terbentuk pada setiap rasio zeolit sintesis. Jumlah puncak zeolit X yang terbentuk semakin berkurang dengan bertambahnya rasio molar Si/Al. Jumlah puncak zeolit X pada rasio 1; 1,5; dan 2 berturut-turut berjumlah 12, 10, dan 8. Puncak zeolit A juga yang semakin berkurang intensitasnya seiring dengan bertambahnya rasio molar Si/Al. Akan tetapi, pada rasio 1,5 mempunyai jumlah campuran zeolit A paling sedikit, sehingga zeolit X paling murni didapat pada rasio 1,5. Berikut hasil difraktogram zeolit sintesis dengan rasio 1,5 ditunjukkan pada gambar 2.8.



Gambar 2.8 Difraktogram zeolit X rasio molar Si/Al 1,5

Kristalinitas zeolit X semakin tinggi dengan bertambahnya rasio molar Si/Al. Akan tetapi, menurut Bahri (2015), kristalinitas zeolit X tertinggi terjadi

pada rasio 1,5. Sampel yang mampu memantulkan sinar lebih banyak akan menghasilkan intensitas yang tinggi, sehingga kristalinitas dari zeolit X semakin meningkat (Armaroli, dkk., 2006). Analisis kualitatif zeolit sintesis berkaitan dengan jumlah puncak zeolit yang terbentuk. Semakin banyak puncak zeolit X yang terbentuk maka semakin besar kemurnian dari zeolit X. Berdasarkan data hasil XRD diperoleh bahwa semua produk sintesis terbentuk dua tipe zeolit yaitu zeolit X dan A. Hasil analisis kuantitatif komposisi zeolit sintesis ditunjukkan pada Tabel 2.3.

Tabel 2.3 Hasil analisis kuantitatif komposisi zeolit sintesis

Produk	Komposisi Zeolit Sintesis (%)	
	Zeolit A	Zeolit X
Zeolit Sintesis Rasio 1,5	21,940	78,060

Sumber: Bahri, 2015

Analisis kuantitatif dilakukan untuk mengetahui persentase komposisi penyusun dari zeolit sintesis. Berdasarkan Tabel 2.4 diperoleh persentase kemurnian zeolit X tertinggi terdapat pada rasio 1,5 yaitu sebesar 78,060 %. Secara umum, persentase kemurnian dari zeolit X berkurang seiring dengan bertambahnya rasio Si/Al, hal ini dikarenakan semakin berkurangnya jumlah puncak dari zeolit X yang terbentuk. Akan tetapi, pada rasio 1,5 mempunyai jumlah puncak zeolit A paling sedikit, sehingga persentase zeolit X tertinggi terdapat pada rasio 1,5.

2.6.2.1 Jarak Antartikel

Jarak antartikel dihitung menurut pada hukum Bragg. Difraksi sinar-X dapat terjadi ketika hukum Bragg telah terpenuhi. Berdasarkan Tabel 2.4 memiliki jarak antartikel kecil. Semakin kecil jarak antartikel menunjukkan struktur

kristal yang dimiliki semakin rapat dan teratur. Hal ini menyebabkan struktur kristal yang terbentuk mempunyai kristalinitas yang tinggi.

Tabel 2.4 Hasil perhitungan nilai d_{hkl} dari zeolit X rasio 1,5

Produk	Jarak Antartikel
Zeolit X rasio 1,5	3,16813 Å

Sumber: Bahri, 2015

2.6.2.2 Ukuran Kristal

Ukuran kristal dari zeolit X sintesis berdasarkan perhitungan menggunakan persamaan *Debye Schererr* disajikan dalam Tabel 2.5. Berdasarkan hasil tersebut diketahui bahwa ukuran kristal zeolit X sintesis berada pada kisaran 100 – 200 nm.

Tabel 2.5 Ukuran Kristal zeolit X sintesis

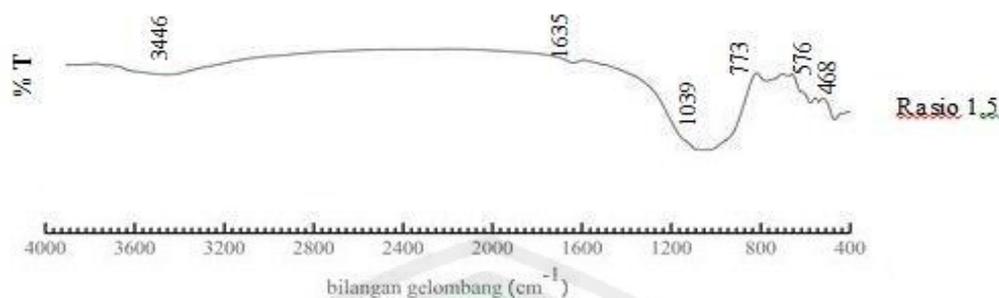
Produk	Ukuran Kristal (nm)
Zeolit X rasio 1,5	122,495 nm

Sumber: Bahri, 2015

Menurut Du dan Wu (2007), ukuran kristal yang kecil, jarak antartikel menjadi kecil, struktur kristal yang terbentuk menjadi semakin rapat dan teratur, sehingga derajat kristalinitasnya tinggi. Semakin kecil ukuran zeolit, semakin luas permukaan zeolit dan laju reaksinya semakin besar.

2.6.3 Hasil Analisis Zeolit Sintesis dengan *Fourier Transform Infra-Red*

Zeolit secara umum mempunyai daerah serapan inframerah yang khas di sekitar bilangan gelombang 1200-300 cm^{-1} karena pada daerah ini memuat vibrasi fundamental kerangka tetrahedral ($\text{SiO}_4/\text{AlO}_4$) yang merupakan satuan-satuan pembangun kerangka zeolit (Murni dan Helmawati, 2006). Hasil spektra FTIR zeolit X rasio 1,5 dapat dilihat pada gambar 2.9:



Gambar 2.9 Hasil spektra FTIR zeolit X rasio molar Si/Al 1,5

Tabel 2.6 Interpretasi spektra FTIR zeolit X sintesis rasio 1,5

No	Bilangan Gelombang (cm ⁻¹) Zeolit X rasio 1,5	Bilangan Gelombang (cm ⁻¹) Referensi*	Keterangan
1.	468	540 – 440	Tekukan O-T-O (T= Si atau Al)
2	576	650 – 500**	Cincin ganda Rentangan
3	773	820 – 750**	simetris O-T-O eksternal
4	1039	1120 – 1000	Rentangan asimetris O-T-O internal
5	1635	1650 – 1600	Tekukan H-O-H
6	3446	3600 – 3100	O-H

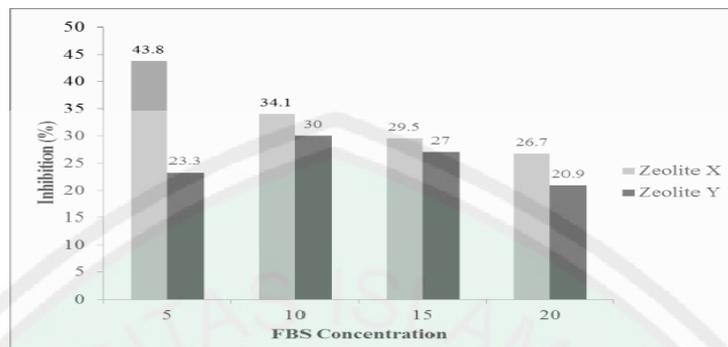
*Socrates (1994) dan **Flanigen, dkk. (1971)

Berdasarkan hasil spektra pada Gambar 2.8 diketahui bahwa absorpsi yang kuat muncul di daerah bilangan gelombang 1039. Absorpsi yang kuat pada daerah bilangan gelombang 1100 cm⁻¹ ini merupakan ciri khas adanya zeolit (Byrappa dan Kumar, 2007).

2.6.4 Zeolit sebagai Antikanker

Zeolit mempunyai kemampuan sebagai pembawa obat, salah satunya obat antikanker atau antitumor. Selain itu zeolit juga mempunyai potensi sebagai pengirim obat ke sel-sel kanker untuk menginduksi kematian sel. Menurut Amorim, dkk (2012), zeolite padat yang tersusun tiga komponen tersebut membentuk saluran dan struktur nano yang berukuran subnanometer yang disebut

mikropori mempunyai kemampuan lebih besar dalam mengangkut obat antikanker daripada obat *non-capsuled*.



Gambar 2.10 Penghambatan sel kanker AsPC-1 pada zeolit X dengan Y (5mg/ml)

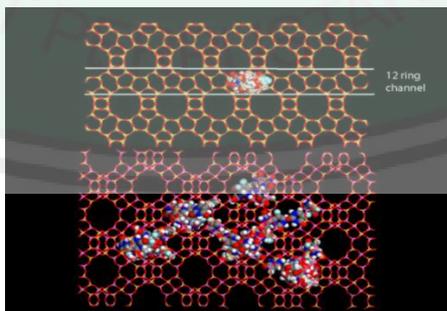
Berdasarkan gambar 2.9 dapat diketahui bahwa pada zeolit X dan zeolit Y dapat digunakan dalam menghambat sel kanker AsPC-1. Zeolit dapat digunakan sebagai agen antikanker dan antioksidatif pada beberapa sel kanker manusia karena memiliki kemampuan dalam menghambat poliferasi sel kanker. Efek zeolit X terhadap poliferasi sel kanker *human pancreatic tumor* (AsPC-1) secara in vitro dapat menurunkan kemampuan hidup sel kanker pada konsentrasi 5 mg/ml dibandingkan zeolit Y. Hal ini dikarenakan zeolit X mempunyai kemampuan lebih besar dalam mengadsorpsi komponen sel kanker dibandingkan dengan zeolit Y (Ghazi, 2013).

2.7 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 struktur dan komposisi pori yang teratur dengan rongga pori (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.

Penelitian tentang penggunaan zeolit sebagai pengemban senyawa antikanker, diantaranya zeolit NaY dan NaA digunakan untuk enkapsulasi α -cyano-4-hydroxycinnamic acid (CHC) yang merupakan obat antikanker. Pengaruh enkapsulasi CHC dalam zeolit pada sel kanker HTC-15 menunjukkan penghambatan sel 585 kali lipat (Amorim, dkk., 2012). Spanakis, dkk., (2013) membuktikan 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 daripada zeolit BEA. Hal ini disebabkan zeolit NaX lebih hidofilik dibandingkan dengan BEA. Difusi 5-fluorouracil dalam zeolit BEA dan NaX ditunjukkan pada Gambar 2.10.



Gambar 2.11 Difusi 5-fluorouracil dalam zeolit a) BEA b) NaX (Spanakis dkk., 2013)

Penelitian lain menunjukkan bahwa obat anti kanker α -cyano-4-hydroxycinnamic acid (CHC) dapat diimbangkan dalam zeolit NaY tanpa adanya perubahan struktur atau hilangnya kristalinitas kerangka zeolit, sedangkan obat

antikanker sendiri dapat dipertahankan integritas molekulnya. Molekul obat yang diembankan pada zeolit NaY menyebabkan penghambatan sehingga 110 kali lipat jika dibandingkan dengan obat yang tidak diembankan dengan zeolit. Hasil ini menunjukkan potensi zeolit untuk pembawa obat sel-sel kanker (Vilaca, dkk., 2011).

Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa zeolit NaY lebih efektif digunakan sebagai DDS daripada zeolit NaA (Amorim, 2012). Hasil ini dipengaruhi beberapa hal, antara lain ukuran pori, kemampuan zeolit dalam mengemban ekstrak, dan kemurnian zeolit. Ukuran zeolit NaY (10,6 Å) lebih besar daripada zeolit NaA (4,2 Å), sehingga memudahkan senyawa antikanker CHC untuk masuk ke dalam struktur zeolit NaY daripada NaX.

Kemampuan zeolit NaY dan NaA dalam mengemban senyawa dapat diketahui dari rendemen hasil impregnasi. Hal ini dipengaruhi oleh ukuran dari zeolit, semakin besar ukuran zeolit maka semakin banyak senyawa yang terembankan. Selain itu, kemurnian zeolit dapat dilihat dari hasil XRD yang menunjukkan bahwa zeolit NaY adalah murni sedangkan zeolit NaA masih terdapat pengotor-pengotor dengan adanya puncak yang tidak teridentifikasi.

Perbedaan jenis zeolit yang digunakan juga berpengaruh dalam hasil yang diperoleh dalam mengemban ekstrak dan menghambat pertumbuhan sel kanker. Hal ini dikarenakan perbedaan jenis zeolit menyebabkan perbedaan ukuran partikel zeolit tersebut. Zeolit X dan Y memiliki ukuran partikel yang tergantung dari metode sintesis dan perhitungan yang digunakan, meskipun kedua zeolit ini adalah *faujasite*.

Keunggulan pengembanan obat atau senyawa antikanker oleh zeolit adalah meningkatkan efektivitas obat atau senyawa dalam menghambat pertumbuhan sel

kanker. Zeolit yang mengemban obat atau senyawa menjadikan obat atau senyawa tersebut bersifat hidrofobik dan terjadi difusi pasif sehingga tidak memerlukan energi untuk masuk atau keluar sel. Zeolit sebagai DDS memungkinkan terjadinya pelepasan senyawa terkontrol. Kenaikan potensi senyawa saat diemban dengan zeolit dimungkinkan karena jumlah obat atau senyawa tidak berkurang ketika memasuki sel.

2.7.1 Mekanisme Zeolit Terhadap Sel

Menurut Vilacca (2013) menyatakan bahwa kombinasi antara kombinasi obat 5-FU dengan zeolit NaY memiliki IC₅₀ 0,08% terhadap sel HCT-15. Sedangkan untuk control obat saja 5-FU hanya memiliki nilai IC₅₀ 0,61% terhadap sel kanker HCT-15. Hal ini menunjukkan bahwa zeolit mempunyai potensi menghambat sel kanker. Zeolit tersebut akan masuk dalam sitoplasma sel kemudian akan melepaskan obat dalam sel tersebut. Sehingga obat tersebut akan berinteraksi dengan sel.

Konsep terbaru menyatakan bahwa material tertentu mempunyai permukaan internal yang bersifat organofilik dan katalitik, sehingga jenis dari organik ini dapat berkumpul menjadi polimer dalam melindungi lingkungan dari spesies tersebut. Asam nukleat dapat diadsorb dan dilindungi oleh lempung yang berlapis alumina-silika. Hal ini menunjukkan bahwa DNA dapat distabilkan dengan mengadsorb partikel dari lempung dan lebih resisten 100-1000 kali dibandingkan dengan DNase (deoxyribonuclease) (Davinson, 1999). Sehingga DNA akan lebih mudah mengalami kerusakan.

Jaringan kultur pada pertumbuhan sel kanker secara *in vitro* menunjukkan bahwa dasar dari zeolit klinoptilolit dapat menghambat protein kinase B (c-Akt), menginduksi protein supresor kanker p21 dan p37, serta memblokir pertumbuhan

sel kanker secara keseluruhan. Penelitian sebelumnya mengindikasikan bahwa pengrusakan sel oleh partikel yang mengandung silika dapat mengaktivasi Kinase Map (MAPK), protein kinase C dan protein kinase stress-aktif (JNK). Berdasarkan hal tersebut memiliki efek dalam mitogenik sehingga sel akan rusak diawali dengan rusaknya DNA (Y Lim, 1997).

2.8 Metode Impregnasi

Menurut Kamus Besar Bahasa Indonesia, impregnasi berarti penjenuhan atau pemenuhan dengan gas atau cairan. Impregnasi adalah salah satu preparasi katalis dengan mengadsopsi garam prekursor yang mengandung komponen aktif logam di dalam larutan kepada padatan pengemban. Impregnasi dilakukan ketika pada pengemban tidak terdapat anion atau kation yang dapat dipertukarkan. Impregnasi ini ada 2 macam, yaitu impregnasi basah dan impregnasi kering. Perbedaan dari impregnasi basah dan impregnasi kering adalah didasarkan pada perbandingan volume larutan prekursor dengan volume pori pengemban.

Impregnasi basah yaitu volume larutan precursor lebih dari 1,5 kali dari volume pori pengemban. Sedangkan impregnasi kering yaitu volume larutan larutan precursor berkisar 1-1,2 kali dari volume pori pengemban. Hal ini bertujuan agar jumlah larutan precursor dengan pori yang tersedia adalah sama. Oleh karena itu, perlu diketahui volume pori pengemban untuk menentukan volume larutan prekursor yang sesuai.

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April 2016 hingga selesai di Laboratorium BIOTEK, Kimia Organik dan Kimia Analitik Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang dan Laboratorium Protho, Parasitologi Jurusan Kedokteran Umum, Fakultas Kedokteran, Universitas Gadjah Mada.

3.2 Alatan dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan diantaranya seperangkat alat gelas, blender, gunting, ayakan 60 mesh, oven, loyang, neraca analitik, penjepit kayu, *shaker incubator*, kertas saring, klem dan statif, penyaring *buchner*, *rotary evaporator*, botol vial, oven, *vortex*, mikropipet 200, 1000 μL , tabung reaksi kecil, rak tabung 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 akar rumput bambu, n-heksana, etanol 80 %, aquades, kloroform asam asetat anhidrat, logam Mg, HCl pekat, reagen Dragendroff, reagen Mayer, $\text{FeCl}_3 \cdot \text{H}_2\text{SO}_4$ pekat PBS, media kultur RPMI, tripsin-EDTA, DMSO, formaldehid, MTT 5 mg/mL (50 mg MTT dan 10 mL PBS), SDS 10 % dalam 0,1 N HCl, *tissue*, aluminium foil dan zeolit NaX.

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan melalui pengujian eksperimental di laboratorium. Tahapan awal yang dilakukan yaitu sampel yang diambil dari tanaman rumput bambu (*Lophatherum gracile* B.) bagian akar dipotong, dicuci dengan air dan ditiriskan. Lalu potongan sampel dikeringanginkan, dihaluskan dengan ayakan 60 mesh. Serbuk yang diperoleh diekstraksi maserasi menggunakan pelarut etanol 80 %, perlakuan ini dilakukan berulang sebanyak 3 kali, lalu dipekatkan dengan *rotary evaporator vaccum*.

Ekstrak pekat dipisahkan senyawa metabolit sekundernya berdasarkan sifat kepolarannya dengan ekstraksi cair-cair dengan pelarut n-heksana lalu masing-masing hasil ekstrak diuapkan menggunakan *rotary evaporator vaccum* sehingga diperoleh ekstrak pekat. Setelah itu, diuji fitokimia golongan senyawa aktifnya dengan menggunakan reagen. Selanjutnya diimpregnasi dengan zeolit NaX dan diuji aktivitas antikanker terhadap selkanker payudara T47D dengan metode MTT (*secarain vitro*).

3.4 Tahapan Penelitian

Tahapan dalam pelaksanaan penelitian ini adalah sebagai berikut:

- 1) Preparasi sampel
- 2) Ekstraksi akar rumput bambu menggunakan metode maserasi
- 3) Uji fitokimia golongan senyawa aktif dengan menggunakan reagen.
- 4) Pengembanan ekstrak akar rumput bambu pada zeolit NaX secara impregnasi
- 5) Uji aktivitas antikanker dengan metode MTT
- 6) Analisis data

3.5 Pelaksanaan Penelitian

3.5.1 Preparasi Sampel

Sampel tanaman rumput bambu diambil bagian akar kemudian dipotong kecil-kecil dan dicuci dengan air. Potongan akar rumput bambu dikering anginkan kemudian dihaluskan dan diayak dengan ayakan 60 mesh. Serbuk merupakan sampel penelitian yang kemudian diekstraksi kandungan bioaktifnya.

3.5.2 Ekstraksi Komponen Aktif Akar Rumput Bambu dengan Maserasi (A'illah, 2015)

Sampel yang telah dipreparasi dilakukan tahap selanjutnya, yaitu tahap ekstraksi. Langkah awal yang dilakukan yaitu ditimbang serbuk akar rumput bambu sebanyak 60 g, dimasukkan kedalam 3 erlenmeyer 1000 mL masing-masing 20 g, lalu diekstraksi dengan perendaman menggunakan 200 mL pelarut etanol 80 % tiap Erlenmeyer selama 24 jam, dan *dishaker* selama 3 jam pada suhu ruang dengan kecepatan 150 rpm. Kemudian disaring dan ampas yang diperoleh dimaserasi kembali dengan pelarut yang sama dan dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan. Pengulangan kedua dan ketiga volume pelarut perendaman sebanyak 150 mL. Filtrat dari 3 erlenmeyer digabung menjadi satu dan dipekatkan dengan *rotary evaporator vaccum* dengan suhu 60 °C dan dihentikan ketika ekstrak cukup kental dan ditandai dengan berhentinya penetesannya pada labu alas bulat. Selanjutnya ekstrak kental dapat disimpan dalam lemari pendingin pada suhu 4 °C agar ekstrak tersebut tidak menjadi rusak (Lestari, 2012).

Ekstrak pekat yang diperoleh ditimbang dan dihitung rendemennya dengan persamaan 3.1

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

Ekstrak pekat etanol ditimbang sebanyak 6 gr, tanpa dihidrolisis kemudian dipartisi dengan pelarut n- heksana. Ditambahkan dalam 100 mL pelarutnya dan n-heksana (1:1) dalam corong pisah. Kemudian dikocok selama 15 menit dan didiamkan beberapa menit hingga terbentuk 2 lapisan. Perlakuan ini dilakukan sebanyak 2x, yang akhirnya fraksi n-heksana dikumpulkan menjadi satu, kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator vaccum* hingga diperoleh ekstrak cukup kental. Selanjutnya ekstrak pekat faksi n-heksana ditimbang dan dihitung rendemennya dengan persamaan 3.1, serta diimbangkan dengan zeolit dan diuji aktivitas antikanker secara *in vitro*.

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

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

3.5.3.1 Uji Flavonoid

Sebanyak 0,5 mL ekstrak akar rumput bambu dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian dilarutkan dalam 1-2 mL metanol panas 50 %. Setelah itu ditambah logam Mg dan 4 – 5 tetes HCl pekat. Hasil positif jika terbentuk larutan berwarna merah atau jingga yang terbentuk menunjukkan adanya flavonoid.

3.5.3.2 Uji Alkaloid

Sebanyak 0,5 mL ekstrak akar rumput bambu dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambah 0,5 mL HCl 2 % dan larutan dibagi dalam dua tabung. Tabung I ditambahkan 2 – 3 tetes reagen Dragendroff, tabung II ditambahkan 2-3

tetes reagen Mayer. Hasil positif alkaloid apabila terbentuk endapan berwarna merah bata, merah, jingga (dengan reagen Dragendorf) dan endapan putih atau kekuning-kuningan (dengan reagen Meyer) menunjukkan adanya alkaloid.

3.5.3.3 Uji Tanin

Sebanyak 0,5 mL ekstrak akar rumput bambu dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan dengan 2-3 tetes larutan FeCl_3 1 %. Jika larutan menghasilkan warna biru kehitaman menunjukkan adanya senyawa tanin galat dan jika warnanya hijau kehitaman menunjukkan adanya senyawa tanin katekol.

3.5.3.4 Uji Saponin

Sebanyak 0,5 mL ekstrak akar rumput bambu dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambah air (1:1) dan sambil dikocok selama 1 menit, apabila menimbulkan busa ditambahkan HCl 1 N, busa yang terbentuk dapat bertahan selama 10 menit dengan ketinggian 1-3 cm, maka ekstrak positif mengandung saponin.

3.5.3.5 Uji Terpenoid dan Steroid

Sebanyak 0,5 mL ekstrak akar rumput bambu dimasukkan dalam tabung reaksi, dilarutkan dalam 0,5 mL kloroform dan ditambah dengan 0,5 mL asam asetat anhidrat. Campuran ini selanjutnya ditambah dengan 1-2 mL H_2SO_4 pekat melalui dinding tabung tersebut. Jika hasil yang diperoleh berupa cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan dua pelarut maka ekstrak tersebut menunjukkan adanya terpenoid, sedangkan jika hasil yang diperoleh terbentuk warna hijau kebiruan maka ekstrak tersebut menunjukkan adanya steroid.

3.5.4 Pengembanan Ekstrak Akar Rumput Bambu pada Zeolit NaX secara Impregnasi (Amorim, dkk, 2012)

Pengembanan senyawa antikanker pada zeolit NaX menggunakan metode impregnasi. Zeolit NaX sebelum digunakan, dikeringkan terlebih dahulu pada suhu 120°C selama 12 Jam. Selanjutnya ekstrak fraksi n-heksan dari akar rumput bambu akan dikombinasikan dengan zeolit dengan perbandingan sebagai berikut:

1. Ekstrak pekat akar rumput bambu 10 mg: Zeolit NaX 100 mg (1:10)
2. Ekstrak pekat akar rumput bambu 50 mg: Zeolit NaX 100 mg (5:10)
3. Ekstrak pekat akar rumput bambu 100 mg: Zeolit NaX 100 mg (10:10)
4. Kontrol ekstrak pekat fraksi n-heksana 10 mg.
5. Kontrol zeolit NaX 10 mg.

Selanjutnya, masing-masing campuran diaduk menggunakan *magnetic stirrer* pada suhu kamar selama 48 jam hingga pelarut berwarna sama dengan ekstraknya. Selanjutnya campuran disaring menggunakan corong *buchner*. Kombinasi senyawa antikanker dan zeolit dikeringkan pada suhu 60 °C sampai kering. Kemudian kombinasi tersebut diuji aktivitasnya dengan sel kanker secara *in vitro*.

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

3.5.5.1 Penyiapan Sel

Sel kanker payudara T47D diambil dari koleksi Universitas Gajah Mada (UGM). Sel kanker dikeluarkan dari *freezer* (-80 °C), dihangatkan dalam penangas air pada suhu 37 °C selama 2 – 3 menit. Setelah mencair, sel dipindahkan ke dalam *conical tube* yang telah berisi 10 ml media RPMI (*Roswell Park Memorial Institute*), kemudian disentrifugasi untuk memisahkan sel kanker (pelet) dengan media RPMI. Pelet yang terbentuk dimasukkan ke dalam *culture dish* yang telah berisi 10 mL media RPMI dan diinkubasi selama 3 – 4 jam pada

suhu 37 °C/ 5% CO₂, lalu 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, dibuang media kultur terlebih dahulu, ditambah± 5 mL PBS (*Phosphate Buffered Saline*) serta dihomogenkan kemudian dibuang kembali, ditambahkan trispsin 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 pada suhu 37 °C/ 5%CO₂ selama 24 jam.

3.5.5.2 Penghitungan 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:

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

... (3.2)

3.5.5.3 Peletakan Sel pada Plate

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

$$\Sigma \text{ panen mL panen sel yang ditransfer} = \frac{\Sigma \text{ total sel yang diperlukan}}{\Sigma \text{ sel terhitung / mL}} \dots (3.3)$$

Diletakkan sel dan ditambahkan media RPMI sesuai perhitungan kedalam *plate 96-well* dan diinkubasi kembali selama 24 jam pada suhu 37 °C/ 5% CO₂, akan tetapi 6 sumuran bagian bawah disisakan untuk kontrol sel dan kontrol media.

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

Ditimbang masing-masing sampel ekstrak pekat yakni ekstrak pekat fraksi n-heksana sebanyak 10 mg dalam wadah yang berbeda, dilarutkan masing-masing ekstrak pekat dalam 100 μ L DMSO (*dimethyl sulfoxide*) dan diaduk dengan vortex agar lebih cepat dalam melarutkan sampel, diambil sel dari inkubator, kemudian dibuang media sel dengan cara dibalikkan *plate* 180° diatas tempat buangan dan ditekan secara perlahan diatas tissue untuk meniriskan sisa cairan, dimasukkan 100 μ L PBS kedalam semua sumuran yang terisi sel dan dibuang kembali, lalu dimasukkan larutan sampel sebanyak 100 μ L dengan konsentrasi 500, 250, 125, 62,5, 31,25, 15,625 ppm dan diulangs ebanyak 3 x (triplo), diinkubasi kembali selam 24 jam.

3.5.5.5 Pemberian Larutan MTT (Reagen3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difeniltetrazolium bromide)

Media sel dibuang dengan cara dibalik *plate* dan dicuci dengan PBS, ditambahkan larutan MTT (reagen3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difeniltetrazolium bromide) berwarna kuning 100 μ L kesetiap sumuran. Inkubasi kembali selama 3 – 4 jam didalam inkubator pada suhu 37 °C/ 5%CO₂ (sampai terbentuk kristal formazan atau perubahan warna menjadi biru). Apabila kristal formazan telah terbentuk diamati kondisi sel dengan mikroskop *inverted*, lalu ditambahkan stopper SDS (*Sodium Dodecyl Sulfate*)10 % dalam 0,1 N HCl, dibungkus *plate* dengan aluminium foil dan diinkubasi kembali di tempat gelap (suhu ruangan) semalam.

Langkah selanjutnya yakni pembacaan nilai absorbansi dengan ELISA *reader* untuk mengetahui nilai IC₅₀ setiap ekstrak. Tahapan awalnya ini dihidupkan

ELISA *reader* dan ditunggu hingga *proccessing* selesai, dibuka pembungkus *plate* dan tutup *plate* kemudian dimasukkan ke ELISA *reader*, dibaca absorbansi masing-masing sumuran dengan panjang gelombang 550 – 600 nm (595 nm), dimatikan kembali ELISA *reader*. Lalu dihitung prosentase sel hidup dengan persamaan sebagai berikut:

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

Keterangan :

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

B = absorbansi kontrol media (media kultur)

C = absorbansi control negatif (sel + media kultur)

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

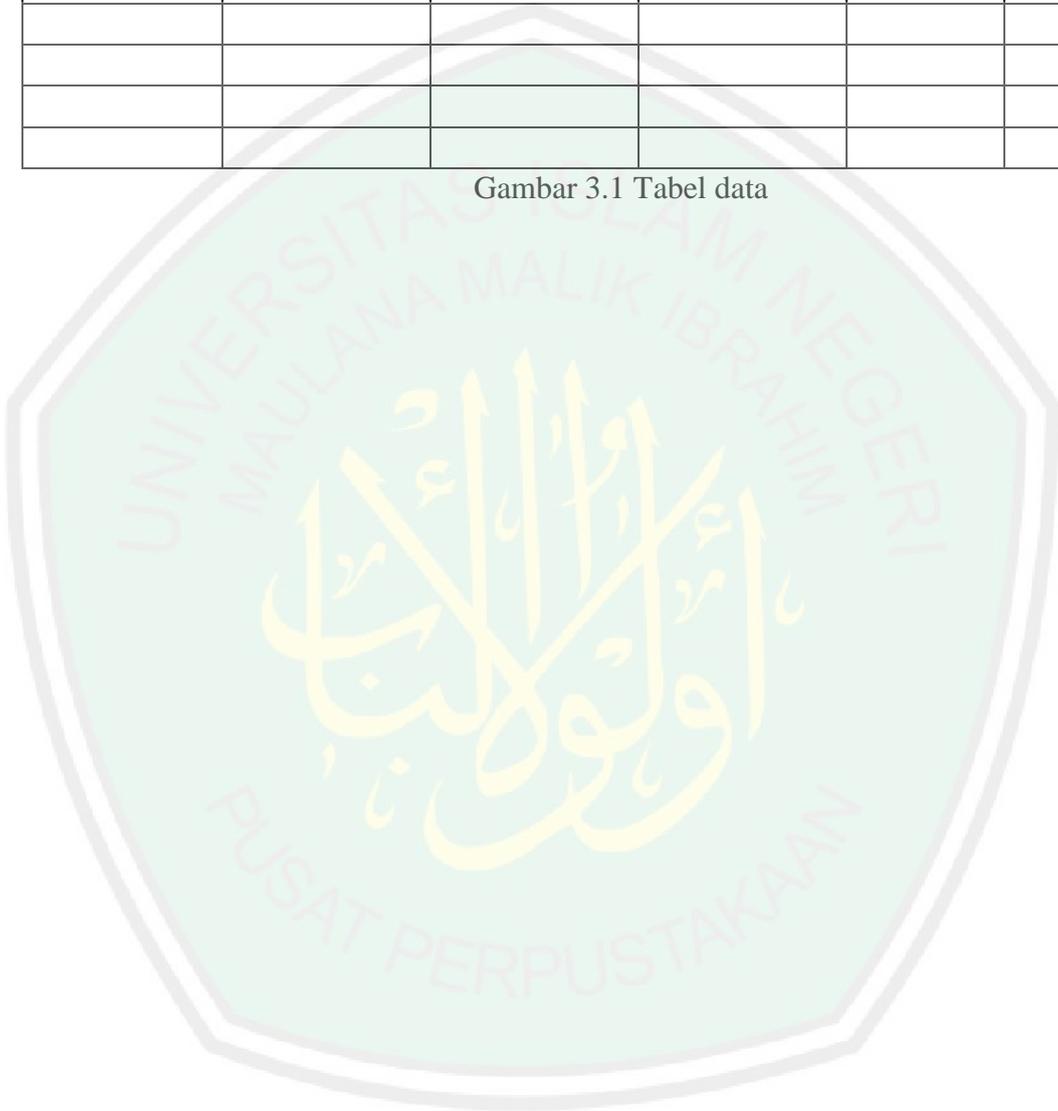
3.5.6 Analisis Data

Potensi ekstrak dalam menghambat atau membunuh sel kanker payudara T47D dapat diketahui dengan melakukan uji IC_{50} , menggunakan analisa *regression* probit SPSS dengan kepercayaan 95 % untuk masing-masing konsentrasi, 500, 250, 125, 62,5, 31,25 dan 15,625 $\mu\text{g/mL}$. Penggunaan data absorbansi yang diperoleh dari pengukuran, dapat ditentukan prosentase sel yang hidup dengan menggunakan rumus seperti Persamaan 3.4.

Data yang diperoleh dibuat dalam bentuk tabel dan data yang terinput merupakan data hubungan antara konsentrasi dengan prosentase sel hidup serta nilai maksimum sebesar 100. Selanjutnya, dilakukan analisa *regression* probit yang akan memunculkan nilai IC_{50} tiap ekstrak dalam grafik. Data yang dihasilkan dimasukkan dalam tabel data sesuai pada Gambar 3.1.

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi Sampel			Rata- rata	% Hidup
	Pengulangan 1	Pengulangan 2	Pengulangan 3		

Gambar 3.1 Tabel data



BAB IV

PEMBAHASAN

4.1 Prepasari Sampel

Preparasi sampel merupakan tahapan awal dalam ekstraksi, yaitu berupa tahapan penghalusan sampel. Penghalusan ini bertujuan untuk mempercepat tahapan ekstraksi maserasi, karena ukuran sampel yang lebih kecil dapat melakukan kontak antara sampel dengan pelarut semakin besar. Sehingga tahapan maserasi akan semakin cepat dan maksimal. Tahap preparasi sampel meliputi pencucian, pengeringan dan penghalusan sampel.

Pencucian sampel menggunakan air untuk menghilangkan kotoran yang menempel pada akar rumput bambu, berupa tanah ataupun sampah-sampah organik. Pengeringan sampel dilakukan dengan dianginkan pada suhu ruang bertujuan menghilangkan kadar air dalam sampel untuk menghindari perkembangbiakan mikroba di tempat yang lembab dan senyawa aktif dalam sampel tidak rusak. Jika dikeringkan dibawah sinar matahari, dikhawatirkan senyawa aktifnya akan rusak. Selanjutnya adalah proses penghalusan sampel dilakukan untuk menyeragamkan ukuran sampel yaitu 60 mesh. Ukuran 60 mesh adalah ukuran yang sesuai untuk sampel jenis akar (Sembiring, 2005). Semakin kecil ukuran sampel, maka semakin besar kontak yang dilakukan dengan pelarutnya.

4.2 Ekstraksi Senyawa Aktif Akar Rumput Bambu dengan Maserasi

Metode ekstraksi senyawa aktif dari akar rumput bambu adalah ekstraksi maserasi. Metode ekstraksi ini memiliki prinsip pengikatan zat aktif berdasarkan

sifat kelarutannya dalam pelarut yang sesuai (*like dissolved like*). Pengikatan dilakukan dengan merendam serbuk dalam pelarut yang sesuai dalam waktu tertentu pada suhu ruang yang terlindung dari cahaya. Pelarut akan masuk ke dalam sel tanaman melalui dinding sel. Kandungan sel akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi di dalam sel dan di luar sel. Larutan yang konsentrasinya tinggi akan terdesak keluar dan diganti dengan pelarut konsentrasi rendah (Ansel, 1989). Proses ini terjadi terus menerus sampai terjadi keseimbangan antara larutan di dalam dan di luar sel. Sehingga pelarut akan terdistribusi ke dalam sel tumbuhan dan mengakibatkan pemecahan dinding dan membran sel. Kemudian senyawa aktif yang berada dalam sitoplasma akan terambil dan masuk dalam pelarut (Djarwis, 2004). Proses ini akan terjadi selama maserasi.

Maserasi pada penelitian ini menggunakan pelarut etanol 80% karena memiliki kepolaran yang lebih tinggi daripada etanol p.a. Selain itu, pelarut etanol 80% memiliki titik didih yang lebih rendah daripada etanol p.a serta polaritasnya yang lebih tinggi daripada etanol p.a, sehingga mudah untuk diuapkan (Tiwari, dkk., 2011). Pada saat maserasi senyawa aktif akan terlarut dalam pelarut. Hal ini dikarenakan adanya perbedaan konsentrasi antara larutan senyawa metabolit sekunder di dalam dan di luar sel yang mengakibatkan larutan pekat didesak keluar. Peristiwa ini terjadi secara berulang-ulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi larutan antara di luar dan di dalam sel (Lailatul, dkk., 2010).

Proses maserasi ini dilakukan dengan pengadukan beberapa saat. Pengadukan ini bertujuan untuk meratakan konsentrasi larutan di luar sampel serbuk tersebut sehingga tetap terjaga adanya derajat perbedaan konsentrasi yang sekecil-kecilnya antara larutan di dalam dan di luar sel (Baraja, 2008). Selanjutnya,

penyaringan dilakukan dengan menggunakan corong *buchner* dan pompa vakum dengan tujuan mempercepat proses penyaringan. Pompa vakum berfungsi memperkecil tekanan dalam erlenmeyer dan memperbesar tekanan diluar erlenmeyer. Hal ini mengakibatkan tekanan diluar erlenmeyer akan mendorong filtrat masuk kedalam erlenmeyer. Perubahan filtrat yang diperoleh untuk sampel akar rumput bambu (*Lopatherum gracile* B.) dari warna hijau tua kehitaman hingga berwarna kuning bening.

Filtrat yang diperoleh, semuanya akan dipekatkan dengan *rotary evaporatorvaccum* pada suhu 60° C untuk menguapkan pelarutnya yaitu etanol 80% sehingga diperoleh ekstrak pekat. Prinsip kerja dari *rotary evaporatorvaccum* adalah menurunkan tekanan sehingga pelarut akan menguap dan terpisah dengan ekstrak dibawah titik didihnya. Pelarut yang menguap terlebih dahulu dikarenakan adanya pompa vakum yang berfungsi menurunkan tekanannya. Penurunan tekanan ini mengakibatkan pelarut akan menguap dibawah titik didihnya (Abraham, 2013). Uap dari pelarut yang terkumpul tersebut akan berkumpul diatas sehingga akan mengembun dan akan jatuh kedalam tabung penerima. Proses pengembunan ini disebabkan adanya kondensor (suhu dingin). Setelah pelarutnya diuapkan, maka akan dihasilkan ekstrak kental atau pekat dari sampelnya (Nugroho, dkk., 1999).

Tahapan pemekatan dihentikan ketika diperoleh ekstrak cukup pekat dan ditandai dengan berhentinya penetesannya pelarut pada labu alas. Selanjutnya ekstrak tersebut disimpan dalam lemari pendingin sebelum digunakan untuk perlakuan. Berdasarkan perlakuan tersebut, maka hasil maserasi dari serbuk akar

rumpun bambu ditunjukkan pada Tabel 4.1 dengan perhitungan randemen berat ekstrak pekat pada Lampiran 4.1.

Tabel 4.1 Hasil maserasi serbuk akar rumput bambu (*Lophatherum gracile* B.)

Pelarut	Perubahan warna filtrate	Warna ekstrak pekat	Serbuk (g)+pelarut (mL)	Berat ekstrak pekat (g)	Randemen (%) (b/b)
Etanol 80 %	Kuning bening	Hijau kecoklatan	150 g + 3300 mL	8,89 gr	5,92 %

Berdasarkan Tabel 4.1 dapat diketahui bahwa randemen hasil maserasi serbuk akar rumput bambu sebesar 5,92 %. Randemen yang diperoleh sangat kecil, hal ini dimungkinkan hanya sedikit senyawa yang terekstrak. Kemudian ekstrak pekat yang diperoleh akan diekstrak kembali dengan cara partisi (ekstraksi cair-cair) menggunakan pelarut yang berbeda tingkat kepolarannya yaitu n-heksana. Pemilihan pelarut ini bertujuan agar senyawa-senyawa yang berbeda sifat kepolarannya dapat terekstrak kedalam pelarut yang sesuai (Voight, 1994). Proses partisi dilakukan berulang-ulang hingga diperoleh filtrat bening.

Proses partisi dengan pelarut n-heksana menghasilkan 2 lapisan, yaitu lapisan air dan lapisan organik. Lapisan ini terbentuk karena adanya 2 larutan yang tidak saling bercampur, yang disebabkan adanya perbedaan kelarutan atau kepolaran. Fase air berada dibagian bawah, dimungkinkan mengandung senyawa-senyawa polar maupun semipolar. Sedangkan fase organik berada dibagian atas yang dimungkinkan mengandung senyawa-senyawa nonpolar. Filtrat yang diambil adalah pada bagian atas, yaitu fase organik.

Filtrat yang diperoleh dipisahkan kembali dengan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak pekat fraksi n-heksana. Ekstrak kasar yang dipartisi hanya sebagian, dan sebagian yang lain digunakan pada penelitian

dibidang anorganik. Selanjutnya dihitung randemennya seperti Tabel 4.2 dan perhitungannya pada Lampiran 4.2.

Tabel 4.2 Hasil partisi serbuk akar rumput bambu (*Lophatherum gracile* B.)

Ekstrak	Perubahan warna filtrate	Warna ekstrak pekat	Berat sampel (g)	Berat ekstrak pekat (g)	Rendemen (%) (b/b)
Fraksi n-Heksana	Kuning bening	Coklat kehitaman	6,0593	0,6929	11,43 %

Hasil ekstraksi senyawa aktif yang diperoleh adalah ekstrak pekat fraksi n-heksana yang akan digunakan sebagai sampel uji fitokimia dengan penambahan reagen dan uji aktivitas antikanker secara *in-vitro*.

4.3 Uji Fitokimia dengan Reagen

Uji fitokimia merupakan salah satu pengujian secara kualitatif yang dilakukan dengan tujuan untuk mengidentifikasi kandungan komponen-komponen atau senyawa-senyawa aktif dalam sampel. Prinsipnya adalah reaksi pengujian warna dan busa dengan suatu pereaksi warna (Taha, 2013). Hasil pengujian golongan senyawa aktif dari ekstrak pekat fraksi n-heksana ditunjukkan pada Tabel 4.3.

Tabel 4.3 Data hasil uji fitokimia dengan reagen

Senyawa aktif	Fraksi n-Heksana
Alkaloid	
- Dragendorf	+
- Mayer	+
Flavonoid	-
Saponin	+
Steroid	-
Tanin	++
Terpenoid	+++

Keterangan:

- +++ = Kandungan senyawa lebih banyak (warna sangat pekat)
- ++ = Mengandung senyawa (warna cukup pekat)
- + = Mengandung senyawa (berwarna)
- = Tidak terkandung senyawa

Berdasarkan hasil uji fitokimia tersebut, dapat diketahui bahwa ekstrak pekat fraksi n-heksana mengandung senyawa alkaloid, saponin, tanin, dan triterpenoid.

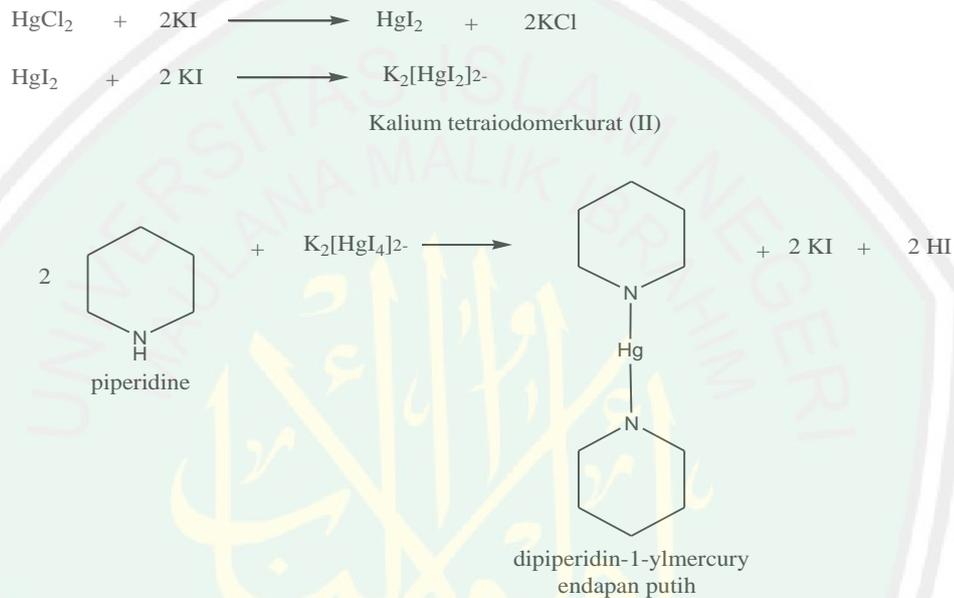
4.3.1 Golongan Senyawa Alkaloid

Hasil positif dari uji alkaloid adalah terbentuknya endapan berwarna orange dengan reagen Dragendorff dan endapan putih dengan reagen Mayer. Endapan ini menunjukkan bahwa ekstrak pekat tersebut mengandung senyawa alkaloid. Prinsip dari metode ini adalah reaksi pengendapan yang terjadi karena adanya penggantian ligan. Atom nitrogen yang mempunyai pasangan elektron bebas pada alkaloid dapat mengganti ion iodo dalam perekasinya. Reagen Dragendorff mengandung bismuth nitrat dan kalium iodida dalam larutan asam asetat glasial (kalium tetraiodobismut(III)). Sedangkan reagen Mayer mengandung kalium iodida dan merkuri klorida (kalium tetraiodomerkurat (II)) (Sangi, dkk., 2013). Tujuan penambahan HCl sebelum ditambahkan reagen adalah karena senyawa alkaloid bersifat basa sehingga diekstrak dengan menggunakan pelarut asam (Harbone, 1996).

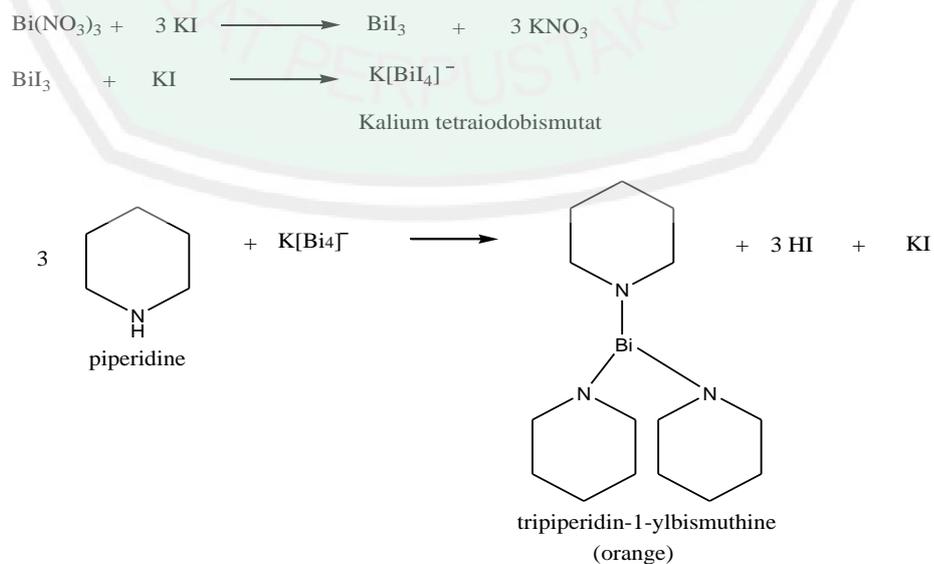
Uji alkaloid dengan menggunakan reagen Mayer menghasilkan endapan merah merkuri(II) iodide. Jika kalium iodida yang ditambahkan berlebih maka akan terbentuk kalium tetraiodomerkurat(II) (Svehla, 1990). Alkaloid mengandung atom nitrogen yang mempunyai pasangan elektron bebas sehingga dapat digunakan untuk membentuk ikatan kovalen koordinat dengan ion logam (McMurry, 2004).

Uji alkaloid dengan reagen Dragendorff menghasilkan ion Bi^{3+} dari bismuth nitrat bereaksi dengan kalium iodida membentuk endapan hitam bismuth (III) iodida yang larut dalam kalium iodida berlebih membentuk kalium

tetraiodobismut (Svehla, 1990). Positif alkaloid pada uji fitokimia Dragendorff membentuk warna coklat muda hingga jingga. Atom nitrogen pada alkaloid akan berikatan kovalen koordinat dengan ion logam Bi. Dugaan reaksi yang terjadi pada reagen Mayer ditunjukkan pada Gambar 4.1 dan dugaan reaksi pada reagen Dragendorff pada Gambar 4.2 sebagai berikut (Abraham, 2013):



Gambar 4.1 Dugaan reaksi senyawa alkaloid dengan Reagen Mayer

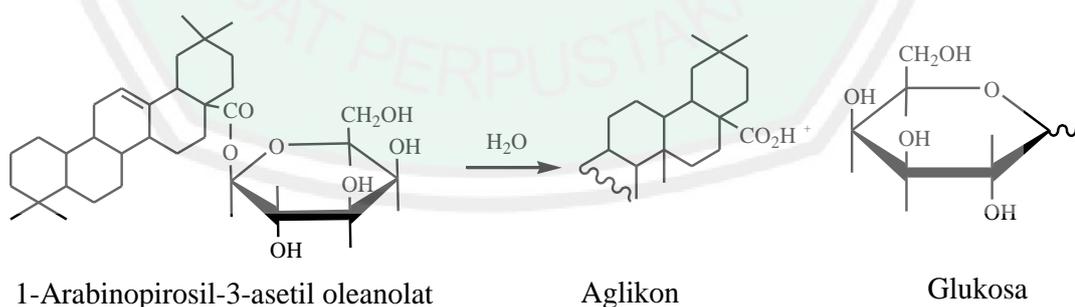


Gambar 4.2 Dugaan reaksi senyawa alkaloid dengan Reagen Dragendorff

4.3.2 Golongan Senyawa Saponin

Hasil positif uji saponin yaitu terbentuk busa setinggi 1-3 cm setelah dikocok selama 1 menit dan didiamkan selama 10 menit. Busa ini terbentuk disebabkan karena senyawa saponin yang tersusun dari senyawa yang sebagian larut dalam air (hidrofilik) dan senyawa yang larut dalam senyawa nonpolar (hidrofobik) (Widyasari, 2008). Senyawa yang larut dalam air memiliki gugus polar dan senyawa yang larut dalam pelarut polar memiliki gugus nonpolar. Kedua gugus inilah bersifat aktif dalam permukaan sehingga ketika dikocok dengan larutan yang mengandung senyawa saponin dapat membentuk misel. Struktur misel menunjukkan bahwa gugus polar menghadap keluar sedangkan gugus nonpolarnya menghadap kedalam. Keadaan seperti ini yang tampak seperti busa (Sangi, dkk., 20013).

Hasil positif senyawa saponin kemudian ditambahkan HCl 1N dengan tujuan untuk menambah kepolaran sehingga gugus hidrofil akan berikatan lebih stabil dan busa yang terbentuk menjadi stabil. Dugaan reaksi yang terjadi adalah (Marliana, dkk., 2005):

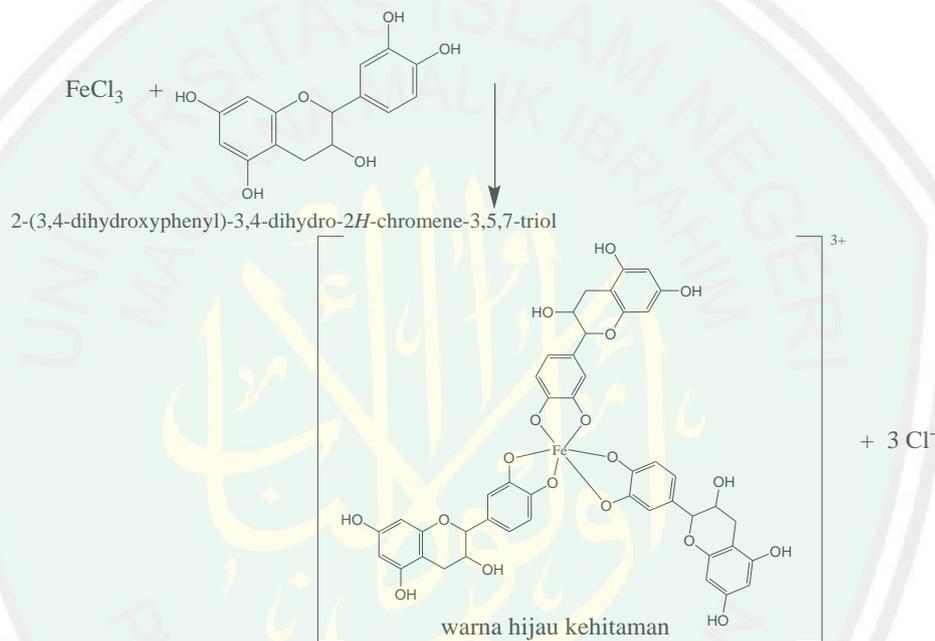


Gambar 4.3 Dugaan reaksi senyawa saponin

4.3.3 Golongan Senyawa Tanin

Hasil positif uji tanin adalah terbentuknya warna hijau kehitaman atau biru kehitaman setelah penambahan FeCl_3 . Penambahan FeCl_3 ini bertujuan untuk

mengidentifikasi sampel yang mengandung gugus fenol, karena tanin merupakan senyawa polifenol. FeCl_3 yang ditambahkan pada sampel tersebut akan bereaksi dengan salah satu gugus hidroksil yang ada pada senyawa tanin dalam sampel tersebut, sehingga menghasilkan senyawa kompleks. Senyawa kompleks inilah yang menimbulkan warna (Sangi, dkk., 2008). Adapun dugaan reaksi yang terjadi dapat dilihat pada gambar (Harbone, 1994):

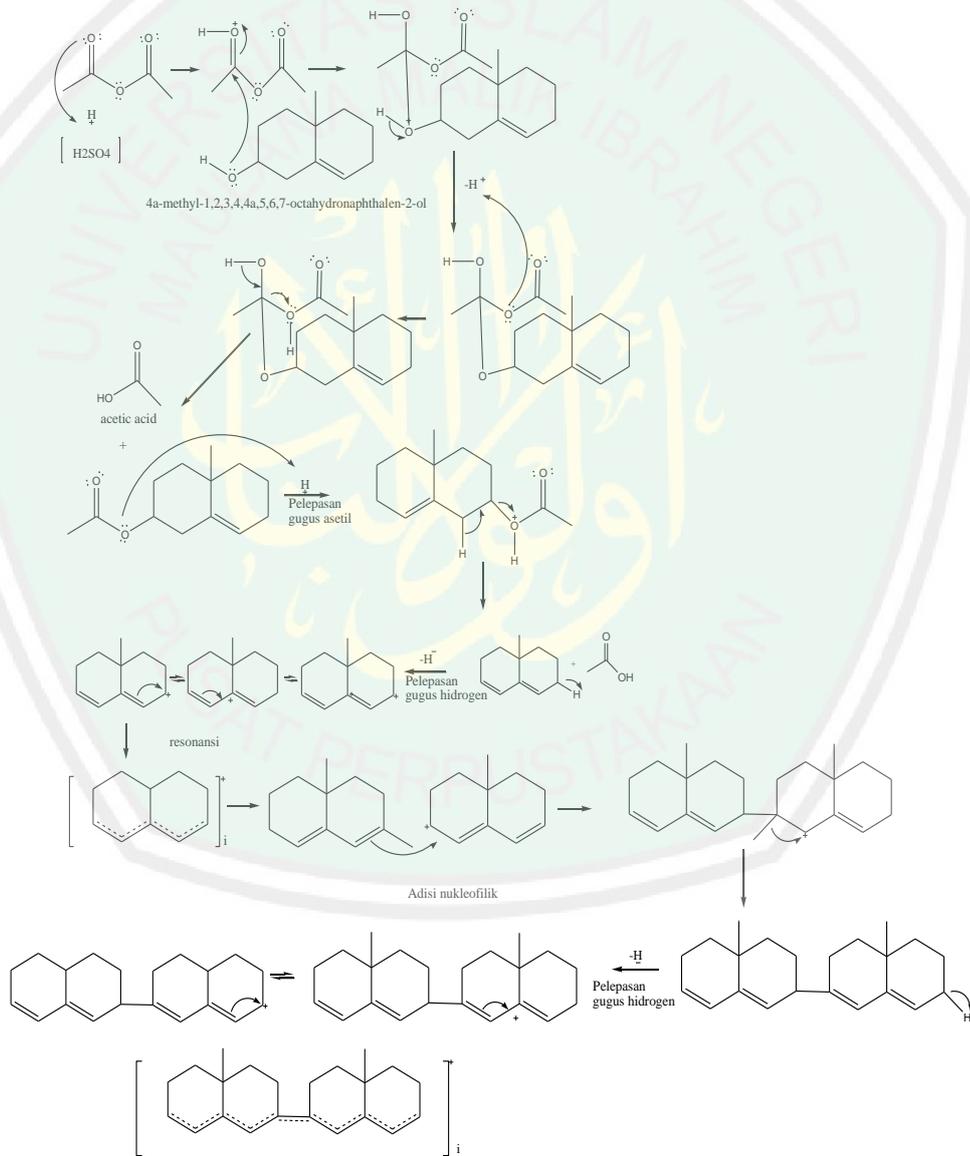


Gambar 4.4 Dugaan reaksi senyawa tanin

4.3.4 Golongan Senyawa Terpenoid

Hasil uji positif senyawa terpenoid adalah terbentuknya cincin kecoklatan. Uji triterpenoid ini menggunakan kloroform sebagai pelarut senyawa terpenoid karena terpenoid dapat larut baik dalam kloroform. Selanjutnya ditambahkan asam asetat anhidrat untuk membentuk turunan asetil, dan ditambahkan asam sulfat pekat dalam larutan sehingga senyawa triterpenoid dalam larutan tersebut mengalami dehidrasi dan menghasilkan warna kecoklatan (Harbone, 1996).

Perubahan warna timbul karena terjadinya oksidasi pada terpenoid melalui pembentukan ikatan rangkap terkonjugasi. Prinsip mekanisme rekasinya adalah kondensasi atau pelepasan H₂O dan penggabungan karbokation. Hasilnya adalah senyawa akan mengalami perpanjangan konjugasi yang menimbulkan cincin kecoklatan (Setyowati, dkk., 2015). Dugaan reaksi yang terjadi adalah (Siadi, 2012):



Resonansi menyebabkan terjadinya perpanjangan konjugasi dan terbentuknya warna

Gambar 4.5 Dugaan reaksi senyawa terpenoid

4.4 Pengembanan Ekstrak Akar Rumput Bambu pada Zeolit NaX secara Impregnasi (Amorim, dkk, 2012)

Pengembanan zeolit terhadap ekstrak akar rumput bambu fraksi n-heksana dilakukan dengan metode impregnasi basah. Impregnasi basah yaitu merendam pengemban dengan larutan garam sehingga terjadi pertukaran ion dalam larutan dengan pengemban dan akan terbentuk hasil pengembanan dengan proses pengeringan (Triyono, 2002). Tujuan pengembanan ini adalah menjenuhkan zeolit oleh ekstrak dengan pengadukan (pemuatan ekstrak dalam zeolit). Bahan pengemban yang digunakan adalah zeolit karena memiliki struktur stabil, murah secara ekonomi, memiliki berbagai macam ukuran dan distribusi pori, mampu menyerap zat organik dan anorganik, dapat berlaku sebagai penukar ion, serta sebagai katalis untuk reaksi (Handoko, dkk., 2002).

Pengembanan ini melalui beberapa tahapan, antara lain 1) aktivasi zeolit, 2) pencampuran dengan pengadukan, 3) penyaringan, dan 4) pengeringan. Tahapan aktivasi zeolit dilakukan dengan pemanasan zeolit dalam oven pada suhu 120°C selama 24 jam. Tujuan pemanasan ini adalah untuk menghilangkan kandungan air dalam zeolit, karena zeolit mudah menyerap air.

Pencampuran antara zeolit dengan ekstrak dilakukan dengan pengadukan *stirrer* selama 48 jam. Pengadukan ini bertujuan untuk mengoptimalkan reaksi antara zeolit dan ekstrak sehingga menghasilkan pengembanan ekstrak dengan zeolit yang maksimal. Ekstrak rumput bambu yang terembankan pada zeolit NaX dapat diketahui dari perubahan warna zeolit yang semula berwarna abu-abu akan berubah menjadi hijau keabu-abuan. Selanjutnya, hasil pengembanan tersebut disaring untuk memisahkan filtrat dengan zeolitnya. Proses penyaringan ini dimungkinkan ada sebagian zeolit yang masuk kedalam filtrat sehingga jumlah

zeolit berkurang dan hasil persentase ekstrak yang terembankan adalah kecil. Sehingga filtrat yang diperoleh berwarna hijau. Tahapan terakhir adalah pengeringan hasil impregnasi pada suhu 60⁰ C. Tujuan pengeringan ini adalah untuk menguapkan air dan pelarut sisa pengadukan dan pembentukan kristal garam pada permukaan pori (Tsani, 2011).

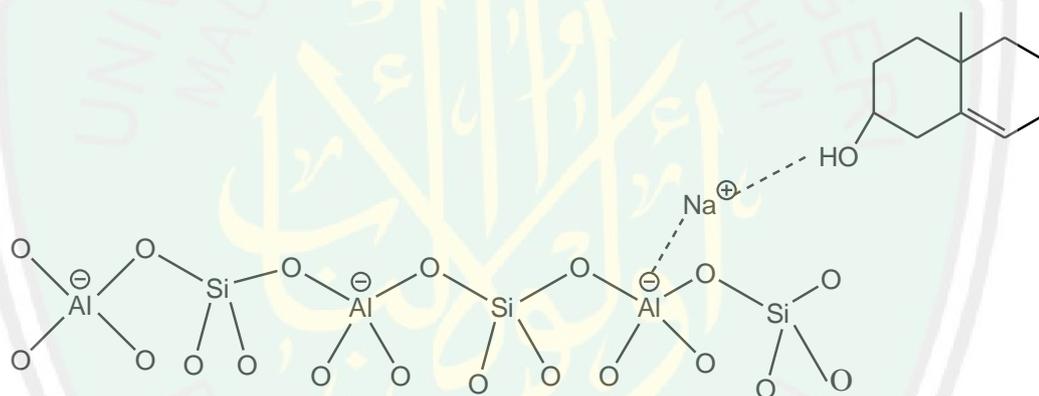
Pengembangan ekstrak akar rumput bambu fraksi n-heksana dan zeolit menggunakan kombinasi antara lain adalah 1:10 dan 10:10. Jumlah pelarut yang digunakan berbeda-beda sesuai dengan kombinasi yang ditentukan. Berdasarkan perlakuan tersebut, dapat diketahui hasil kombinasi pada Tabel 4.4 berikut:

Tabel 4.4 Hasil perbandingan ekstrak akar rumput bambu dengan zeolit NaX

Perbandingan ekstrak:zeolit NaX	Ekstrak (mg)+zeolit (mg)+ pelarut (mL) n-heksana	Perubahan warna	Berat ekstrak kering (mg)	Rendemen (%) (b/b)
1 : 10	12,2 mg + 102,3 mg + 3 mL	Hijau keabu-abuan	67,5 mg	58,95 %
10 : 10	100,8 mg + 107,5 mg + 30 mL	Hijau kehitaman	147,3 mg	70,68 %

Besarnya randemen menunjukkan banyaknya ekstrak yang terembankan ke dalam zeolit, yaitu pada perbandingan 10:10. Ekstrak akar rumput bambu tidak mampu masuk ke dalam pori-pori zeolit. Hal ini dikarenakan besarnya ukuran senyawa aktif dalam ekstrak tersebut, sedangkan ukuran pori zeolit NaX yang kecil. Ekstrak dan zeolit NaX yang terembankan akan mengalami interaksi. Interaksi yang terjadi yaitu interaksi elektrostatis dan ikatan Van der Waals. Ikatan Van der Waals ini terjadi antara kation-kation logam dengan atom Al yang bermuatan negatif dari kerangka zeolit. Adanya kation-kation logam seperti Na memungkinkan zeolit mengadsorpsi sebagian besar molekul senyawa aktif dalam

ekstrak. Senyawa aktif terpenoid berada dalam suasana asam, maka gugus aktif –OH berada dalam bentuk terprotonasi ($-\text{OH}_3^+$). Muatan-muatan positif pada senyawa aktif terpenoid yang terprotonasi tersebut akan berinteraksi dengan muatan negatif pada permukaan zeolit NaX sehingga senyawa aktif terpenoid tersebut dapat menempel dan menutupi permukaan zeolite NaX. Interaksi antara zeolit NaX dengan ekstrak tidak menyebabkan perubahan struktur dari kerangka zeolit. Hal ini dikarenakan ekstrak yang tidak mampu masuk kedalam pori-pori zeolit. Berikut interaksi antara atom Al dengan kation logam Na dan senyawa aktif terpenoid dalam ekstrak pada Gambar 4.6:



Gambar 4.6 Ilustrasi interaksi antara zeolit NaX dengan senyawa aktif terpenoid

Hasil kombinasi tersebut selanjutnya akan digunakan pada uji aktivitas antikanker sel payudara (T47D) menggunakan metode MTT.

4.5 Uji Aktivitas Antikanker dengan Metode MTT

Pengujian antikanker ini dilakukan untuk mengetahui potensi kombinasi antara ekstrak akar rumput bambu (*Lophatherum gracile* B.) fraksi n-heksana dengan zeolit alam NaX dalam menghambat pertumbuhan sel kanker dalam berbagai variasi konsentrasi yaitu 500, 250, 125, 62.5, 31.25 dan 15.625 $\mu\text{g/mL}$. Uji aktivitas antikanker ini dilakukan secara *in vitro* menggunakan sel

kanker payudara T47D dengan metode MTT (*Microculture tetrazolium*). Metode MTT merupakan pengujian aktivitas sel terhadap perubahan warna atau reaksi kolorimetri pada bioreduksi garam tetrazolium ke formazan (Goodwin, dkk., 1995). Pengujian secara *in vitro* ini menggunakan biakan sel (*cell line*) yang memberikan kelebihan dibandingkan pengujian *in vivo* yakni bahan uji yang digunakan lebih sedikit dan waktu pengujian relatif singkat (Widowati, dkk., 2009).

Tahapan pengujian aktivitas antikanker secara *in vitro* antara lain adalah: 1) penyiapan sel kanker, 2) panen sel, 3) uji sitotoksitas, 4) pemberian reagen MTT, dan 5) pembacaan absorbansi. Penyiapan sel dilakukan dengan beberapa tahapan yaitu menghidupkan kembali sel yang ditidurkan (inaktif sel) dan ditumbuhkan kembali hingga mencapai konfluen. Konfluensi sel adalah tumbuh homogenya atau meratanya sel sebagai sel monolayer yang menutupi *cover glass*.

Panen sel adalah tahapan penumbuhan dan pengembiakan sel dengan penambahan media kultur. Panen sel dilakukan ketika sel yang dikultur telah membentuk monolayer konfluen 80%. Prinsip dari panen sel adalah melepaskan ikatan antar sel dan ikatan sel dengan matrik tanpa merusak sel (CCRC, 2009). Media kultur untuk sel kanker payudara T47D adalah RPMI karena mengandung nutrisi yang dibutuhkan sel seperti asam amino, vitamin, glukosa, fungison (antijamur), dan serum. Serum yang digunakan adalah FBS (*Fetal Bovine Serum*) yang berasal dari serum sapi mengandung hormon yang memacu pertumbuhan sel (Freshney, 200).

Panen sel ini menunjukkan bahwa sel akan menempel pada dasar wadah kultur (*culture dish*) karena memiliki sifat adesif yaitu mampu melekat pada

substrat (A'illah, 2015). Sehingga untuk melepaskan sel yang menempel ditambahkan tripsin. Tripsin berfungsi sebagai enzim protease yang melepaskan interaksi antara glikoprotein dan proteoglikan dengan dasar wadah kultur, akibatnya sel akan kehilangan kemampuannya untuk melekat pada dasar wadah dan mengapung dipermukaan (Doyle dan Griffith, 2000).

Tahap selanjutnya adalah penghitungan sel dengan menggunakan alat *hemocytometer* dan pengamatan dibawah mikroskop *inverted* untuk mengetahui jumlah sel yang akan digunakan bahan uji dengan out put berupa data. Syarat penghitungan sel dengan hemositometri adalah sel harus berdiri sendiri tidak menggerombol (CCRC, 2009). Hasil penrhitungan sel yang diperoleh adalah 190×10^4 / mL. Morfologi sel T47D ketika dihitung dengan *hemocytometer* dapat dilihat pada gambar 4.7 (a).



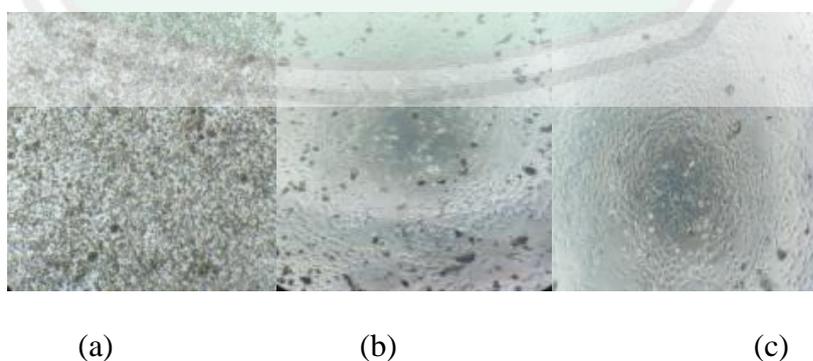
Gambar 4.7(a) Morfologi sel T47D ketika dihitung dengan *hemocytometer*(b) Morfologi sel T47D setelah disubkultur

Tahapan uji sitotoksik meliputi subkultur sel, preparasi sampel dan *treatment* sel. Pada tahapan subkultur sel akan dilakukan pemindahan sel dari kondisi kofluen ketempat yang masih kosong. Tahapan ini bertujuan agar sel yang akan digunakan dalam pengujian dapat tumbuh secara maksimal pada medianya (CCRC, 2009). Sel yang diambil untuk dikultur kembali adalah sejumlah 0,6 mL

sel. Morfologi sel T47D setelah dikultur kembali dapat dilihat pada Gambar 4.7 (b).

Tahapan selanjutnya adalah preparasi sampel meliputi pelarutan sampel dan penentuan konsentrasi. Syarat sampel yang digunakan sebagai bahan uji ke dalam kultur sel harus larut dalam media kultur sehingga dibantu dengan *cosolvent* DMSO. Dimetilsulfoksida (DMSO) merupakan cairan tak berwarna yang memiliki rumus $(\text{CH}_3)_2\text{SO}$, pelarut yang dapat melarutkan senyawa polar maupun nonpolar (Morshed, dkk.,2012). Selain itu, penentuan seri konsentrasi sampel harus merupakan kelipatan dari konsentrasi tersebut sehingga diperoleh hasil regresi yang sesuai dengan standart (CCRC, 2009). Penelitian ini menggunakan 6 variasi konsentrasi yaitu, 500; 250; 125; 62,5; 31,25; dan 15,625 $\mu\text{g/mL}$.

Pengamatan morfologi sel setelah di *treatment* dilakukan dibawah mikroskop *inverted* pada setiap sampel ekstrak dengan konsentrasi 500 dan 15,625 $\mu\text{g/mL}$. Pada konsentrasi 500 $\mu\text{g/mL}$ memiliki jumlah sel mati lebih banyak dibandingkan dengan jumlah sel yang mati pada konsentrasi 15,625 $\mu\text{g/mL}$. Hal ini dapat dilihat pada Gambar 4.8 dan Lampiran 5.5.



Gambar 4.8 Morfologi sel T47D setelah di treatment (a) Sel + ekstrak tunggal konsentrasi 500 $\mu\text{g/mL}$ (b) Sel + zeolit NaX konsentrasi 500 $\mu\text{g/mL}$ (c) Sel + kombinasi ekstrak dengan zeolit (1:10) konsentrasi 500 $\mu\text{g/mL}$

Berdasarkan Gambar 4.8 dapat diketahui sel yang mati berbentuk bulat, mengapung dan tersebar. Sel hidup berbentuk lonjong seperti jarum yang saling berdempet dengan sel lainnya yang ada disekitarnya dan menempel pada dasar wadah kultur. Hasil *treatment* tidak dapat diamati secara kasat mata, tetapi setelah penambahan reagen MTT dapat diamati karena terjadi reaksi kolorimetri dengan mikroskop *inverted*.

Metode MTT ini merupakan salah satu metode dalam menguji aktivitas sel dengan indikasi sel yang hidup akan mengabsorpsi reagen MTT dan akan terbentuk kristal formazan yang berwarna ungu. Formazan merupakan zat yang berwarna ungu yang tidak larut dalam air sehingga ditambahkan *stopper* SDS 10 % dalam 0,1 N HCl sebagai penghambat pembentukan kristal sebelum dianalisis (A'illah, 2015). Intensitas warna ungu tersebut ditentukan nilai absorbansinya menggunakan ELISA reader (*microplate 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 spektrum sinar tampak (Effendy, 2007). Data yang dihasilkan dari analisis tersebut berhubungan dengan jumlah sel yang melakukan metabolisme, sehingga berhubungan dengan jumlah sel yang hidup (*viabilitas sel*). Berdasarkan nilai absorbansi yang diperoleh, dapat diketahui potensi sel dalam menghambat kanker, karena semakin besar nilai absorbansi menunjukkan semakin besar pula *viabilitas selnya* (semakin banyak sel yang hidup) (Meiyanto,dkk.,1999).

Perubahan warna yang terjadi dalam *plate 96 well* dapat diamati secara langsung dan jelas. Ekstrak tunggal n-heksana akar rumput bambu pada konsentrasi 500, 250, dan 125 $\mu\text{g/mL}$ memiliki warna kuning. Hal ini

menunjukkan bahwa pada ketiga konsentrasi tersebut sel kanker telah mati. Sedangkan pada konsentrasi 62,5; 31,25; dan 15,625 $\mu\text{g/mL}$ menghasilkan warna ungu, sehingga ekstrak akar rumput bambu ini berpotensi dengan baik sebagai penghambat pertumbuhan sel kanker pada konsentrasi tinggi. Sampel zeolit tunggal dan kombinasi ekstrak dengan zeolit menghasilkan perubahan menjadi ungu pada seluruh konsentrasi. Hal ini menunjukkan bahwa keempat sampel tersebut belum mampu menghambat pertumbuhan sel kanker secara signifikan, karena menghasilkan nilai IC_{50} yang besar.

Intensitas warna ungu yang dihasilkan sampel hampir sama dengan intensitas warna ungu dari kontrol sel, sehingga memiliki absorbansi yang saling berdekatan. Hal ini menunjukkan warna ungu juga masih berpotensi menghambat pertumbuhan sel kanker meskipun sangat kecil kemungkinannya. Oleh karena itu, warna ungu juga mempunyai kemampuan dalam menghambat pertumbuhan sel kanker dalam jumlah yang kecil dan dapat dilihat hasil morfologi selnya pada Lampiran 5.5 pada setiap sampelnya dengan konsentrasi tertentu.

Nilai absorbansi yang diperoleh untuk perlakuan dengan konsentrasi 500, 250, 125, 62,5, 31,25 dan 15,625 $\mu\text{g/mL}$ pada ekstrak tunggal akar rumput bambu, zeolit NaX, kombinasi 1:10 dan 10:10 berturut-turut di rentang 0,118 – 0,668; 0,683 – 0,852; 0,605 – 0,753 dan 0,726 – 0,863 zeolit sedangkan untuk kontrol sel sebesar 0,787 serta kontrol media sebesar 0,097. Berdasarkan absorbansi yang diperoleh ekstrak tunggal akar rumput bambu memiliki nilai absorbansi dibawah kontrol sel sehingga mempengaruhi pertumbuhan sel. Ketiga sampel yang lain nilai absorbansi pada yang berada dibawah kontrol sel hanya pada konsentrasi tinggi yaitu 500 dan 250 $\mu\text{g/mL}$ sehingga tidak menghambat pertumbuhan

selsecara signifikan. Jadi, ekstrak tunggal akar rumput bambu lebih memiliki sifat toksik dalam menghambat sel kanker daripada zeolit dan kombinasi keduanya.

Perhitungan prosentase sel hidup tiap sampel ditunjukkan pada Lampiran 4.3 selanjutnya dianalisis menggunakan SPSS probit untuk mengetahui nilai IC_{50} tiap sampel. Berikut hasil nilai IC_{50} tiap sampel ditunjukkan pada Tabel 4.5 dan Lampiran 4.3.

Tabel 4.5 Data nilai IC_{50} uji aktivitas antikanker

Sampel	$IC_{50}(\mu\text{g/mL})$
Ekstrak n-heksana akar rumput bambu	49,52
Zeolit NaX	5.328,69
Kombinasi ekstrak : zeolit (1 : 10)	13.258,59
Kombinasi ekstrak : zeolit (10 : 10)	2.192,42

Berdasarkan Tabel 4.5 dapat diketahui sampel yang memiliki potensi menghambat pertumbuhan sel kanker adalah ekstrak n-heksana akar rumput bambu dengan nilai IC_{50} sebesar $49,52\mu\text{g/mL}$. Nilai IC_{50} yang dihasilkan pada penelitian ini lebih kecil dan lebih baik daripada nilai IC_{50} ekstrak akar rumput bambu fraksi n-heksana pada penelitian A'illah (2015) sebesar $65,461\mu\text{g/mL}$. Perbedaan nilai IC_{50} yang dihasilkan dikarenakan pada penelitian terdahulu ekstrak akar rumput bambu fraksi n-heksana ini dilakukan perlakuan hidrolisis sedangkan pada penelitian ini tidak dilakukan perlakuan tersebut.

Pada penelitian ini zeolit NaX tidak memiliki aktivitas antikanker karena nilai $IC_{50} > 1000\mu\text{g/mL}$, yaitu $5.328,69\mu\text{g/mL}$ terhadap sel kanker payudara T47D. Akan tetapi, zeolit NaX juga berfungsi sebagai sistem pembawa obat (*Drug Delivery System*) atau sebagai pengemban.

Perbandingan jumlah ekstrak dengan zeolit NaX memiliki nilai IC_{50} yang berbeda satu sama lainnya. Ekstrak dengan zeolit pada perbandingan 10:10

memiliki nilai IC_{50} sebesar 2.192,42 $\mu\text{g/mL}$. Hal ini menunjukkan bahwa pada perbandingan 10:10 zeolit mampu mengemban ekstrak lebih banyak sehingga memiliki nilai IC_{50} yang lebih kecil daripada zeolit NaX tunggal. Perbandingan ini menunjukkan bahwa ekstrak mampu bekerja menghambat pertumbuhan sel, serta zeolit mampu mengemban ekstrak lebih banyak untuk masuk ke dalam sel melalui mitokondria.

Nilai IC_{50} untuk ekstrak dengan zeolit pada perbandingan 1:10 adalah 13.258,59 $\mu\text{g/mL}$. Besarnya nilai IC_{50} pada perbandingan ini dimungkinkan karena viabilitas sel. Sel kanker yang dikultur belum konfluen dan sel tersebut mengalami perubahan sifat karena perkembangbiakan dalam tubuh (*in vivo*) bekerja secara terintegrasi dalam suatu jaringan, sedangkan dalam kultur bekerja secara terpisah. Selain itu, dikarenakan ekstrak yang teremban dalam zeolit hanya sebagian kecil, serta konfluensi sel juga belum sempurna. Faktor lain yang mungkin mempengaruhi pertumbuhan sel adalah kondisi lingkungan yang meliputi keseimbangan pH dan suhu serta kandungan nutrisi sel dalam media RPMI yang digunakan belum mencukupi, sehingga mengakibatkan nilai IC_{50} yang besar.

Perbandingan ekstrak akar rumput bambu dengan zeolit NaX memiliki nilai IC_{50} yang lebih besar daripada nilai IC_{50} dari ekstrak tunggal akar rumput bambu. Hal ini menunjukkan zeolit NaX berperan sebagai sistem pembawa obat (*Drug Delivery System*) yang biasanya laju pelepasan senyawa aktif dari ekstrak akar rumput bambu lebih perlahan menuju sel. Sehingga membutuhkan waktu yang relatif lama untuk menghambat pertumbuhan sel kanker payudara T47D. Faktor lain yang mempengaruhi adalah masih banyak ekstrak yang tidak

terembankan pada zeolit NaX karena ketika proses penyaringan masih banyak senyawa aktif antikanker yang masuk ke dalam filtrat.

Perbedaan potensi suatu sampel dalam menghambat pertumbuhan sel kanker dipengaruhi oleh senyawa yang terdapat di dalamnya. Proses yang terjadi adalah proses apoptosis, yaitu kematian sel terprogram dan sistematis. Senyawa aktif atau molekul obat akan menembus membran sel mikroorganisme sehingga menghasilkan aktivitas tertentu (Siswandono, 2008). Sel-sel tersebut akan melepaskan diri dari sel tetangga dari jaringan dan protoplasma yang memadat. Organel terikat membran mitokondria hancur dan melepaskan isinya ke dalam sitoplasma. Enzim endonuklease bertindak pada kromatin dan memecahkan DNA menjadi fragmen-fragmen. Akhirnya, membran sel mulai terjadi peleburan dan fragmen sel akan mengalami apoptosis (Sridianti, 2016).

Penelitian ini mengkaji tentang kandungan senyawa kimia dalam akar rumput bambu (*Lophatherum gracile*B.) yang berpotensi sebagai antikanker. Menurut Imam al Ghazali, jalan untuk mengenal Allah dan mendekatkan diri kepada-Nya adalah memikirkan dan merenungkan hikmah yang terkandung dalam ciptaan-Nya. Allah SWT memberikan gelar Ulul Albab pada orang yang berfikir melalui aspek mata akal (fikir dan nadzar), observasi (pengamatan), mata hati (dzikir), dan introspeksi (muhasabah, perenungan, dan penghayatan) (Syafuruddin, 2003). Sebagaimana firman Allah SWT dalam Surat Ali Imran (3):190, sebagai berikut:

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَأَخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ لَآيَاتٍ لِأُولِي الْأَلْبَابِ ﴿١٩٠﴾

Artinya :

“*Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan silih bergantinya malam dan siang terdapat tanda-tanda bagi orang-orang yang berakal*” (QS. ali Imran: 190).

Lafadz **الْأَلْبَابِ** adalah jamak dari lafadz **اللُبُّ** yang artinya adalah akal,

sehingga lafadz **لِأُولِي الْأَلْبَابِ** berarti orang-orang yang memiliki akal (Mustafa,

1993). Akal tersebut digunakan untuk merenungkan fenomena alam raya hingga pada bukti yang nyata tentang keesaan Allah SWT. Semua yang ada dan terjadi di alam tidak berjalan dengan sendirinya, melainkan dengan kehendak Allah SWT seperti manfaat yang terkandung di dalam ciptaan-Nya serta perubahan yang terjadi padanya. Sehingga, melalui kegiatan berfikir, merenungkan, serta menganalisis ciptaan-ciptaan Allah SWT maka akan tumbuh rasa tawakkal, berserah diri, serta mengakui kelemahan diri sendiri terhadap kebesaran Allah SWT.

Lafadz **لِأُولِي الْأَلْبَابِ** memiliki makna akal-akal sempurna dan cerdas.

Orang yang berakal akan mampu berfikir tentang tanda-tanda kekuasaan Allah yang dapat disaksikan secara jelas dan besar seperti gunung-gunung dan padang pasir, pepohonan, tumbuh-tumbuhan, tanaman, buah-buahan, berbagai macam hewan, barang-barang tambang, serta berbagai manfaat yang beraneka warna, rasa, bau atau aromanya, serta manfaatnya (Dimasyqi, 2000).

Salah satu bentuk berfikir adalah dengan melakukan penelitian tentang manfaat tanaman yang dapat digunakan sebagai tanaman obat (herbal). Tanaman tersebut adalah rumput bambu (*Lophatherum gracile* B.) yang merupakan gulma yang tidak banyak dikenal dan dimanfaatkan. Tanaman ini terdiri dari akar, batang, dan daun yang keseluruhannya memiliki kandungan yang berbeda sehingga potensi sebagai obat pun juga berbeda. Selain itu, zeolit sintesis dari abu vulkanik Gunung Kelud ini juga memiliki manfaat sebagai obat herbal. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian untuk membuktikan bahwa kedua ciptaan Allah SWT ini memiliki manfaat yang penting. Sebagaimana firman Allah dalam Surat al An'am (6):99 sebagai berikut:

وَهُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ فَأَخْرَجْنَا مِنْهُ خَضِرًا حُجْرًا مِنْهُ حَبًّا مُتَرَاكِبًا وَمِنَ النَّخْلِ مِنَ طَلْعِهَا قِنْوَانٌ دَانِيَةٌ وَجَنَّاتٍ مِنْ أَعْنَابٍ وَالزَّيْتُونَ وَالرُّمَّانَ مُشْتَبِهًا وَغَيْرَ مُتَشَبِهٍ انظُرُوا إِلَى ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَيَنْعِهِ إِنَّ فِي ذَٰلِكُمْ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يُؤْمِنُونَ ﴿٩٩﴾

Artinya:

“Dan Dialah yang menurunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan dengan air itu segala macam tumbuh-tumbuhan. Maka Kami keluarkan dari tumbuh-tumbuhan itu tanaman yang menghijau. Kami keluarkan dari tanaman yang menghijau itu butir yang banyak, dan dari mayang korma mengurai tangkai-tangkai yang menjulai, dan kebun-kebun anggur, dan (kami keluarkan pula) zaitun dan delima yang serupa dan yang tidak serupa. Perhatikanlah buahnya di waktu pohonnya berbuah dan (perhatikan pulalah) kematangannya. Sesungguhnya pada yang demikian itu ada tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi orang-orang yang beriman” (QS. al Anam: 99).

Lafadz خَضِرًا artinya adalah tanaman yang menghijau segar. Allah telah menurunkan air hujan ke bumi, sehingga mengakibatkan tanaman-tanaman di bumi tumbuh hijau dengan berbagai macam bentuk, ciri khasnya, serta manfaatnya (Jazairi, 2007).

Lafadz فَأَخْرَجْنَا بِهِ نَبَاتٍ كُلِّ شَيْءٍ mempunyai makna bahwa Allah SWT mengeluarkan sesuatu (air hujan) yang menjadikan tumbuhan berkembang dan tumbuh dengan aneka ragamnya (Muhammad, 2008). Jenis tanaman itu ada dua macam, yaitu yang berbatang dan tak berbatang. Jenis tumbuhan yang tak berbatang akan tumbuh hijau seperti rerumputan. Surat ini menjelaskan tentang segala sesuatu yang diciptakan Allah SWT pasti bermanfaat bagi ciptaan-Nya yang lain, baik untuk manusia, hewan, maupun tumbuhan itu sendiri.

Lafadz أَنْظُرُوا berasal dari kata نَظَرَ-يَنْظُرُ-نَظْرًا yang mempunyai makna melihat, ketika kata نَظَرَ bersambung dengan kata إِلَى (frase النَظَرَ إِلَى) maka maknanya berubah menjadi memandangi, melihat kepada, dalam kamus sinonim juga disebutkan bahwa frase/idiom النَظَرَ bersinonim dengan "اجْتَلَى" yang bermakna memandangi. Selain itu, kata ini berbeda dengan makna kata "رَأَى" yang

bermakna melihat, dari pengertian tersebut jelas bahwa perbedaan antara makna kedua kata tersebut sangatlah berbeda (Munawwir, 1997).

Penerjemah pada frase ini menggunakan kata “perhatikan” karena dirasa lebih sesuai dengan konteks yang ada pada ayat tersebut, yaitu maksud dari makna “perhatikanlah” adalah perintah untuk melihat dengan mata hati kepada pohon-pohon dan tumbuhan-tumbuhan yang diciptakan Allah SWT, dengan kata lain, tidak hanya melihat dengan mata kepala saja (makna dari kata رأى) melainkan lebih dalam dari itu yaitu memperhatikan. Allah SWT mengeluarkan tumbuhan-tumbuhan dalam keadaan lemah, hampir saja tidak dapat dimanfaatkan. Kemudian perhatikan pula pertumbuhan dari tumbuhan-tumbuhan tersebut sehingga berangsur-angsur menjadi besar, mengandung faedah yang besar, dan punya rasa nikmat yang sempurna (Mustafa, 1992). Dua keadaan sebelum dan sesudah tumbuhan itu besar serta dapat dimanfaatkan menunjukkan kebijaksanaan Allah SWT dan kekuasaan-Nya, sehingga kewajiban kita sebagai hamba-Nya untuk mentauhidkan-Nya.

Seperti halnya tanaman rumput bambu yang mayoritas orang menganggapnya sebagai rerumputan yang dapat digunakan sebagai makanan ternaknya atau sebagai tanaman pengganggu yang harus dibasmi. Akan tetapi, melalui penelitian ini dapat dibuktikan bahwa tanaman rumput bambu dapat digunakan sebagai tanaman obat antikanker. Bagian utama tanaman yang digunakan adalah akar. Akar merupakan bagian yang tidak terlihat dan terletak ditempat gelap dan lembab. Selain itu, zeolit NaX hasil sintesis dari abu vulkanik Gunung Kelud merupakan salah satu hikmah yang dapat diambil dari peristiwa meletusnya Gunung Kelud. Abu vulkanik ini mengandung banyak mineral-

mineral yang dapat dimanfaatkan, antara lain sebagai penyubur tanah pertanian dan memiliki potensi sebagai obat antikanker.

Salah satu bukti kebesaran Allah adalah manfaat akar tanaman rumput bambu (*Lophatherum gracile* B.) dan zeolit NaX hasil sintesis dari abu vulkanik Gunung Kelud. Penelitian A'illah (2015) menyatakan bahwa ekstrak akar rumput bambu fraksi n-heksana memiliki nilai IC_{50} 65,461 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Hal ini menunjukkan bahwa nilai $IC_{50} < 1000$ ppm yang berarti memiliki potensi sebagai antikanker. Sedangkan pada penelitian terdahulu kombinasi dari akar rumput bambu dengan zeolit juga memiliki potensi sebagai antikanker dengan nilai IC_{50} sebesar 954,467 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

Selanjutnya dibuktikan dengan penelitian uji antikanker terhadap sel kanker payudara T47D ekstrak akar rumput bambu yang diimbangkan pada zeolit NaX. Nilai IC_{50} ekstrak akar rumput bambu sebesar 49,52 $\mu\text{g}/\text{mL}$, sedangkan untuk zeolit NaX adalah 5.328,69 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Berdasarkan penelitian ini, ekstrak akar rumput bambu yang diimbangkan pada zeolit NaX pada perbandingan 10:10 memiliki nilai IC_{50} sebesar 2.192,42 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Hal ini membuktikan bahwa Allah SWT menciptakan segala sesuatu di alam ini tidaklah sia-sia, dan membuktikan bahwa Allah SWT maha adil dengan tempat pertumbuhan akar yang tidak lebih untung daripada daun, akan tetapi memiliki manfaat yang lebih baik daripada daun khususnya pada tanaman rumput bambu (*Lophatherum gracile* B.).

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

1. Ekstrak akar rumput bambu yang diimbangkan pada zeolit NaX memiliki potensi yang kecil dalam menghambat pertumbuhan sel kanker payudara (T47D) secara *in vitro*. Ekstrak akar rumput bambu tunggal memiliki potensi yang lebih efektif sebagai antikanker dan zeolit NaX hanya berperan sebagai pengemban ekstrak.
2. Nilai IC_{50} yang berpotensi sebagai antikanker sel payudara (T47D) yaitu perbandingan 10:10 sebesar 2.192,42 $\mu\text{g/mL}$ dan ekstrak tunggal akar rumput bambu sebesar 49,52 $\mu\text{g/mL}$.

5.2 Saran

1. Metode impregnasi basah yang digunakan kurang efektif, sehingga digunakan metode pengembanan yang lain seperti impregnasi kering dan diharapkan ekstrak akar rumput bambu dapat teremban secara maksimal dalam zeolit.
2. Diperlukan uji kelajuan pelepasan ekstrak ke dalam sel kanker payudara (T47D).

DAFTAR PUSTAKA

- Abraham, A. 2013. Uji Antitoksoplasma Ekstrak Kasar Alkaloid Daun Pulai (*Alstonia Scholaris*, (L)R.Br) Terhadap Mencit (*Mu musculus*) BALB/C yang Terinfeksi *Toxoplasma Gondii* Strain RH. *Tugas akhir/skripsi*. Tidak Diterbitkan. Malang: Jurusan Kimia UIN Malang.
- Adriany, Roza. 2012. Pemanfaatan Zeolit Alam Termodifikasi Kation Na⁺ untuk Penangkapan CO₂. Jakarta Selatan: Pusat Penelitian dan Pengembangan Teknologi Minyak dan Gas Bumi LEMIGAS.
- Ahmad, I. 2003. *Peringatan Bagi Ulul Albab (Reminders For People of Understanding)*. Diterjemahkan oleh Ismail Umar dan Titie Wibipriatno. Madinah: Imtiaz Ahamd corp.
- Allen, Loyd V, Nicholas G. Popovich, Howard C. Ansel. 2013. Ansel Bentuk sediaan Farmasetis dan Sistem Penghantaran Obat. Jakarta: EGC.
- Amorim, Ricardo, Natália Vilaça, Olga Martinho, Rui M. Reis, Mariana Sardo Joao Rocha, António M. Fonseca, Fátima Baltazar, and Isabel C. Neves. 2012. *Zeolite Structures Loading with an Anticancer Compound As Drug Delivery Systems*. *J. Phys. Chem. C* 2012, 116, 25642–25650.
- ATCC (*American Type Culture Collection*). 2008. *Cell Biology*. [http://www.atcc.org/ATCCAdvancedCatalogSearch/Product Details/ tabid/ 452/ cell Biology](http://www.atcc.org/ATCCAdvancedCatalogSearch/ProductDetails/tabid/452/cellBiology). Diakses pada tanggal 02 Februari 2015.
- A'ilah, Anis Farhatul. 2015. Uji Aktivitas Antikanker Terhadap Sel Kanker Payudara T47D Dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktif Dari Ekstrak dan Fraksi Akar Rumpun Bambu (*Lophatherum gracile* Brongn). *Skripsi*. Diterbitkan. Jurusan Kimia FSAINTEK UIN Malang.
- Armaroli, T., Simon, L.J., Digne, M., Montanari, T., Bevilacqua, M., Valtchev, V., Patarin, J., dan Busca, G. 2006. Effects of Crystal Size and Si/Al Ratio on The Surface Properties of H-ZSM-5 Zeolites. *Applied Catalysis A: General*. Vol. 306. Hal. 78-84.
- Bahri, Samsul. 2015. Sintesis Dan Karakterisasi Zeolit X dari Abu Vulkanik Gunung Kelud dengan Variasi Rasio Molar Si/Al Menggunakan Metode Sol-Gel. *Skripsi*. Diterbitkan. Jurusan Kimia FSAINTEK UIN Malang.
- Baraja, M. 2008. Uji Toksisitas Ekstrak Daun *Ficus elastic* nois ex lume Terhadap *Artemiasalina* Leach dan Profil Kromatografi Lapis Tipis. *Skripsi*. Surakarta: Fakultas Frmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Burdall, S. E., Hanby, A. M., Lansdown, M. R. J., & Speirs, V. 2003. Breast cancer cell lines : friend or foe ? *Breast Cancer Research*, 5, 89–95. doi:10.1186/bcr577.

- CCRC (*Community College Research Center*). 2009. *Prosedur Tetap Uji Sitotoksik Metode MTT*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi, UGM.
- Cronquist, A. 1981. *An Integrated System of Clasification of Flowering Plants*. New York: Columbia University Press.
- Davidovits, J. 1994. *Properties of Geopolymer Cements*. First International Conference on Alkaline Cements and Concretes. 131-49.
- Davinson, J., dkk. 1999. *Plasmid*. Croatia: Ruder Boscovic Instute.
- Day, R.A., dan Underwood, A.L. 1999. *Analisis Kimia Kuantitatif*. Penerjemah: Pujaatmaka, A.H. Edisike V. Jakarta: Erlangga.
- Ad Dimasyqi, Al Imam Abul Fida Ismail. 2000. *Terjemahan Tafsir Ibnu Kasir Juz 4 Ali Imran 92-An Nisa' 23 dari Tafsir Alquranul Karim*. Bandung : Sinar Baru Algesindo
- Du, X., dan Wu, E. 2007. Porosity of Microporous Zeolites A, X and ZSM-5 Studied by Small Angle X-ray Scattering and Nitrogen Adsorption. *Journal of Physics and Chemistry of Solids*. Vol. 68 Hal. 1692–1699.
- Ebitani, K., Nagashima, K., Mizugaki, T., dan Kaneda, K. 2000. Preparation of a Zeolite X-Encapsulated Copper(II) Chloride Complex and Its Catalysis for Liquid-Phase Oxygenation of Amines in the Presence of Molecular Oxygen. *The Royal Society of Chemistry*. Volume 10: 869-870.
- Fahri, M., Risjani, Y., dan Sasangka, P. 2010. Isolation and Identification of Flavonoids Compounds and Toxicity Test Of Methanol extract From Brown Algae (*Sargassum cristaefolium*). *Skripsi*. Malang: UB.
- Feijen E.J.P., Martens J.A. dan Jacobs P.A. 1994. Zeolites and their Mechanism of Synthesis. *Studies in Surface Science and Catalysis*. Volume 84: 3-19.
- Goncalves, M.L., Dimitrov, L.D., Jorda, M.H., Wallau, M., Ernesto, A., dan Gonzalez, U. 2008. Synthesis of Mesopori ZSM-5 by Crystallisation of Aged Gels in The Presence of Cetyltrimethylammonium Cations. *Catalysis Today*. Vol. 133-135, hal: 69-79.
- Goodwin, C.J., Holt, S.J., Downes, S, dan Marshall, N.J., 1995. Microculture Tetrazolium Assays: A comparison Between Two New Tetrazolium Salts, XTT and MTS, *Journal Immunuoel Methods*, Vol. 197, No. 1, Hal: 95 – 103.
- Gunther, F. 2006. *Kombucha-Healthy Beverage and Natural Remedy from the Far East: Its Correct Preparation and Use*. German: Ennsthaler Gesellschaaft GmbH & Co KG.

- Halimah, N. 2010. Uji Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Tanaman Anting-anting (*Acalypha indica* L.) Terhadap Larva Udang (*Artemiasalina* Leach). *Skripsi*. Malang: UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Handoko, D.S.P. 2006. Kinetika Hidrolisis Maltosa pada Variasi Suhu dan Jenis Asam sebagai Katalis. *Jurnal Jember: Jurusan Kimia FMIPA Universitas Jember*. SIGMA. Vol.9 No.1 ISSN 1410 – 5888.
- Harborne, J.B. 1996. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Padmawinata K, Soedira I, penerjemah. Bandung: Penerbit Institut Teknologi Bandung. Terjemahan dari: Phytochemical methods.
- Hayati, E.K. 2007. *Buku Ajar Dasar-dasar Analisa Spektroskopi*. Malang: UIN-Press.
- Hayati, E.K., dan Yuliani D. 2014. Penapisan Senyawa Aktif Antioksidan Tanaman Rumput Bambu (*Lophatherum gracile* B.) Serta Formulasi Sediaan Ekstrak Sebagai Obat Herbal Terstandar Antikanker. UIN Maliki Malang.
- Herlina, Isra. 2013. Antara Impregnasi Kering, Impregnasi Basah, dan Pertukaran Ion. Herlinaisra.blogspot.co.id. Diakses pada 22 Mei 2015.
- Heyne, K. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia*. Jakarta: Badan Litbang Kehutanan.
- Ilhamy, F.Y, Wahyuni, F.S, dan Husni, E. 2013. Uji Efek Sitotoksik Hasil Fraksinasi Ekstrak Etanol Akar Asam Kandis (*Garcinia cowa* Roxb.) terhadap Sel Kanker Payudara T47D dengan Metoda MTT. *Prosiding Seminar Nasional Perkembangan Terkini Sains Farmasi dan Klinik III*. ISSN: 2339-2592.
- Al Jazairi, Syaikh Abu Bakar Jabir. 2007. *Tafsir Alquran Al Aisar Surat: Ali Imran-Al An'aam Jilid 2*. Jakarta: Darus Sunnah.
- Jing, Z., Ying, W., Xiao-Qi, Z., Qing-Wen, Z., dan Wen-Cai, Y. 2009. *Chemical Constituents from the Leaves of Lophatherum gracile*. *Chinese Journal of Natural Medicines*. 7(6): 428-431.
- Kasmui, Muhlisin, M.Z., dan Sumarni, W. 2008. Kajian Pengaruh Variasi Rasio Si/Al dan Variasi Kation Terhadap Perubahan Ukuran Pori Zeolit Y dengan Menggunakan Metode Mekanika Molekuler. *Skripsi Tidak Diterbitkan*. Semarang: Universitas Negeri Semarang.
- Kusumawati, I., Djatmiko, W., dan Rahman, A. Studiawan, H., Ekasari, W. 2003. *Eksplorasi Keanekaragaman dan Kandungan Kimia Tumbuhan Obat di*

Hutan Tropis Gunung Arjuno. Jurnal Bahan Alam Indonesian ISSN 1412-2855. Volume 2, Nomor 3.

- Kwakye-Awuah, B. (2008). Production of Silver-Loaded Zeolites and Investigation of Their Antimicrobial Activity. *Thesis*. U.K: University of Wolverhampton.
- Lestari, Dewi Y. 2010. Kajian Modifikasi dan Karakterisasi Zeolit Alam dari Berbagai Negara. *Jurnal Prosiding Seminar Nasional Kimia dan Pendidikan Kimia*.
- Lindley and Michaud. 2005. *Pharmacotherapy: A Pathophysiological Approach*. New York :McGraw Hill Company.
- Meiyanto, M., Kudo, G., Lee, Y., Yang, T.J., Gelboin, H.V., Gonzalez, F.J. 1999. Targeted Disruption of the Microsomal Epoxide Hydrolase Gene. *The Journal of Biological Chemistry*. 274. 23963-23968.
- Al Mahalli, Imam Jalaluddin dan Imam Jalaluddin As Suyuti. 2009. *Terjemahan Tafsir Jalalain dan Asbabun Nuzul Jilid 2*. Bandung: Sinar Baru Algesindo.
- Al Maraghi, A.M. 1992. *Terjemahan Tafsir Al-Maraghi (Edisi Bahasa Arab) Juz VII*. Semarang: CV. Toha Putra Semarang.
- Al Maraghi, A.M. 1992. *Terjemahan Tafsir Al-Maraghi (Edisi Bahasa Arab) Juz XXI*. Semarang: CV. Toha Putra Semarang.
- Al Maraghi, A.M. 1993. *Terjemahan Tafsir Al-Maraghi (Edisi Bahasa Arab) Juz IV*. Semarang: CV. Toha Putra Semarang.
- Marliana, S. Suryanti, Suyono. 2005. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule Jacq. Swartz.*) dalam Ekstrak Etanol. Surakarta: Jurusan Kimia FMIPA Universitas Sebelas.
- McLaughlin, dkk. 1998. The Use of Biological Assays to Evaluate Botanicals. *Drug Information Journal*. 32, 513-524.
- Meiyanto, E., susidarti, R.A., Handayani, S. dan Rahmi, F. 2008. Ekstrak Etanolik Biji Buah Pinang (*Areca catechu L.*) Mampu Menghambat Proliferasi dan Memacu Apoptosis Sel MCF-7. *Majalah Farmasi Indonesia*. 19(1): 12 – 19.
- Meyer, B.N., Ferrigni, Putnam, J.E. Jacobsen, L.B. Nichols, and McLaughlin. 1982. Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents. *Planta Medica*45: 31-34.

- Munawwir, Ahmad Warson. 1997. *Al Munawwir Kamus Bahasa Arab-Indonesia*. Surabaya: Pustaka Progresif.
- Nikmah, R. A. Syukuri., Widiastuti, N., dan Fansuri, H. 2008. Pengaruh Waktu dan Perbandingan Si/Al Terhadap Pembentukan Zeolit A dari Abu Dasar Bebas Karbon dari PLTU PT. IPMOMI dengan Metode Hidrotermal. *Journal of Indonesia Zeolites*. Vol. 7 No. 1. Mei 2008 ISSN: 1411-6723.
- Nurhayati, dkk., 2014. Transesterifikasi Langsung Mikroalga *Chlorella* sp. Dengan Katalis Abu Tandan Kosong Sawit yang Diimpregnasikan pada Zeolit. *JKK*. Vol 4 (2): 37-43.
- Padmi, A. 2008. Uji Sitotoksik Ekstrak Etanol 70 % Buah Kemukus (*Piper Cubeba* L) Terhadap Sel Hela. Fakultas Farmasi UNMUH Surakarta.
- Pamilih, H. 2009. Uji Sitotoksik Ekstrak Etil Asetat Herba bandontan (*Ageratum conyzoides* L.) Terhadap Sel Kanker Payudara (T47D) dan Profil Kromatografi Lapis Tipis. p.1.
- Pavelic, K., Hadzija M., Bedrica L, Pavelic J., Dikic I., Katic M., Kralj M., Bosnar M.H., Kapitanovic S., Poljak-Blazi M., Krizanac S., Stojkovic R., Jurin M., Subotic B, and Colic M. 2001. Natural Zeolite Clinoptilolite: New Adjuvant in Anticancer Therapy. *J. Mol. Med.* 78:708-720
- Putri, Z. F. 2010. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sirih (*Piper betle* L.) terhadap *Propioni bacterium acne* dan *Staphylococcus aureus* multiresisten. *Skripsi*. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah.
- Rahmawati, E., Sukardiman dan Muti, A.F. 2013. Aktivitas Antikanker Ekstrak n-Heksana dan Ekstrak Metanol Herba Pacar Air (*Impatiens balsamina* L.) terhadap Sel Kanker Payudara T47D. *Media Farmasi*. Vol. 10, No. 2, Hal: 47 – 55.
- Sari, Selina Purwita. 2014. Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Kasar Daun Rumput Bambu (*Lophatherum gracile* Brongn) Terhadap Larva Udang *Artemia Salina* Leach Dan Identifikasi Awal Senyawa Aktifnya. *Skripsi*. Diterbitkan. Jurusan Kimia FSAINTEK UIN Malang.
- Risky, Tika Ayu. 2014. *Aktivitas Antioksidan dan Antikanker Ekstrak Metanol Tumbuhan Paku (Adiantum philippensis L)*. *Journal of Chemistry*. Vol 3. No 1.
- Rizqiyah, A.H. 2014. Uji Sitotoksik Akar Rumput Bambu (*Lophatherum Gracile* B.) dengan Variasi Pelarut Melalui Metode BSLT dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktifnya. *Skripsi*. Diterbitkan. Jurusan Kimia FSAINTEK UIN Malang.

- Salaman, S. 2004. Persepsi Karakterisasi dan Modifikasi Katalis Ni₃-Pd₁/Zeolit-Y untuk Hidrorengkah Fraksi Aspaten dari Aspal Buton dengan Sistem Reaktor Semi Batch. *Skripsi*. Yogyakarta: UGM.
- Saputra, R. 2006. *Pemanfaatan Zeolit Sintetis Sebagai Alternatif Pengolahan Limbah Industri*. Yogyakarta: UGM.
- Saputra, D.E, Handayani, N dan Wartono, M.E. 2014. Isolasi dan Identifikasi Campuran Senyawa B-Sitosterol dan Stigmasterol dari Kulit Akar Slatrri (*Calophyllum Soulattri Burm. F*). *Jurnal ALCHEMY*. Vol.10, No. 1, Hal: 87-93.
- Sangi, M.S., Momuat, LI. Dan Kumaunang, M., 2013. Uji Toksisitas dan Skrining Fitokimia Tepung Gabah Pelepah Aren (*Arange pinnata*). Manado: Universitas Sam Ratulangi.
- Sari, S. P. 2014. Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Kasar Daun Rumput Bambu (*Lopatherum gracile*B.) terhadap Larva Udang *Artemiasalina leach* dan Identifikasi Awal Senyawa Aktifnya. [Skripsi]. Universitas Islam NegeriMaulana Malik Ibrahim Malang.
- Savitri, E.S. 2008. *Rahasia Tumbuhan Berkhasiat Obat Perspektif Islam*. Malang: UIN Press.
- Septia, G. P. 2011. Studi Literatur Pengaruh Konsentrasi NaOH dan Rasio NaOH:Na₂SiO₃, Rasio Air/Prekursor, Suhu Curing, dan Jenis Perkursor terhadap Kuat Tekan Beton Geopolimer. *Skripsi*. Depok: Departemen Teknik Sipil Fakultas Teknik Universitas Indonesia.
- Shihab, Q. 2002. *Tafsir Al-Mishbah Pesan, Kesan, dan Keserasian Al-Qur'an* Vol.7 dan 10. Jakarta: Penerbit Lentera Hati.
- Siadi, K. 2012. Ekstrak Bungkil Biji Jarak Pagar (*Jatropha curcas*) sebagai Biopestisida yang Efektif dengan Penambahan Larutan NaCl. *Jurnal MIPA* 35 (2): 77-83.
- Siswandono, dkk. 2008. *Kimia Medisinal Edisi 2*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Soebagio. 2003. *Kimia Analitik II*. Malang: UM Press.
- Spanakis, Marios, Nikolaos Bouropoulos, Dimitrios Theodoropoulos, Lamprini Sygellou, Sinead Ewart, Anastasia Maria Moschovi Angeliki Siokou, Ioannis Niopas, Kyriakos Kachrimanis, Vladimiros Nikolakis, Paul A. Cox, Ioannis S. Vizirianakis, Dimitrios G. Fatouros. 2013. *Controlled release of 5-fluorouracil from microporous zeolites*. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine* xx (2013) xxx–xxx.

- Sudarmadji, S.B., Haryono dan Suhardi. 2003. *Analisa Bahan Makanan dan Pertanian*. Yogyakarta: Liberty.
- Tambunan. 2003. *Diagnosis dan Tata laksana Sepuluh Jenis Kanker Di Indonesia*. Jakarta: EGC.
- Ath-Thabari, Abu Ja'far Muhammad. 2008. *Tafsir Ath-Thabari 10 dari Kitab Jami' Al Bayan an Ta'wil Ayi Al Quran*. Jakarta: Pustaka Azzam.
- Tsani, Fatimatus. 2011. Preparasi dan Karakterisasi Katalis NiMo/ γ -Al₂O₃ untuk Sintesis Bahan Bakar Bio dari Minyak Jarak Melalui Pirolisis Berkatalis. *Skripsi*. Diterbitkan Program Studi Teknik Kimia Universitas Indonesia.
- Utami, P. 2008. *Buku Pintar Tanaman Obat*. Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Villaca, dkk. 2013. Potentiation of 5-FU Encapsulated in Zeolite as Drug Delivery System for In Vitro Models of Coloceteral Carcinoma. *Journal*. Portugal: University of Minho.
- Villo, dkk. 2008. Synthesis of Acetogenin Analogues. Master Thesis in Organic Chemistry. University of Tarto.
- Voight, R. 1995. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Diterjemahkan oleh Soedani Noerono Soewandi, Apt. Yogyakarta: Universitas Gajah Mada press.
- Wang, C., Zhou, J., Wang, Y., Yang, M., Li, Y., dan Meng, C. 2013. Synthesis of Zeolite X from Low-Grade Bauxite. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*. Volume 88: 1350–1357.
- WHO (World Health Organisation). 2013. *World Health Statistic 2013*. Switzerland: WHO Press.
- Widati, A.A., Baktir, A., Hamami, Setyawati, H., dan Rahmawati, R. 2010. Synthesis Of Zeolite A From Baggase And Its Antimicrobial Activity On *Candida albicans*. *Jurnal Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam*. Vol. 15 No. 2. Juli 2010.
- Widayat, Sadikky, A., dan Anggraeni, H. 2012. Proses Produksi Katalis Zeolit X dan Uji Aktifitas dalam Proses Penukaran Ion Kalsium. *Jurnal Teknik*. Volume 33, Nomor 1, ISSN 0852-169.
- Wijaya, Monica. 2012. Ekstraksi *Annonaceous acetogenin* Dari Daun Sirsak *Annona muricata* Sebagai Senyawa Bioaktif Antikanker. *Skripsi*. Jakarta: Universitas Indonesia.
- Wijayakusuma, H. 2005. *Atasi Kanker dengan Tanaman Obat*. Jakarta: Puspa Swara.

Y Lim, dkk. 1997. *Environt Health*. 105, 1325-1327

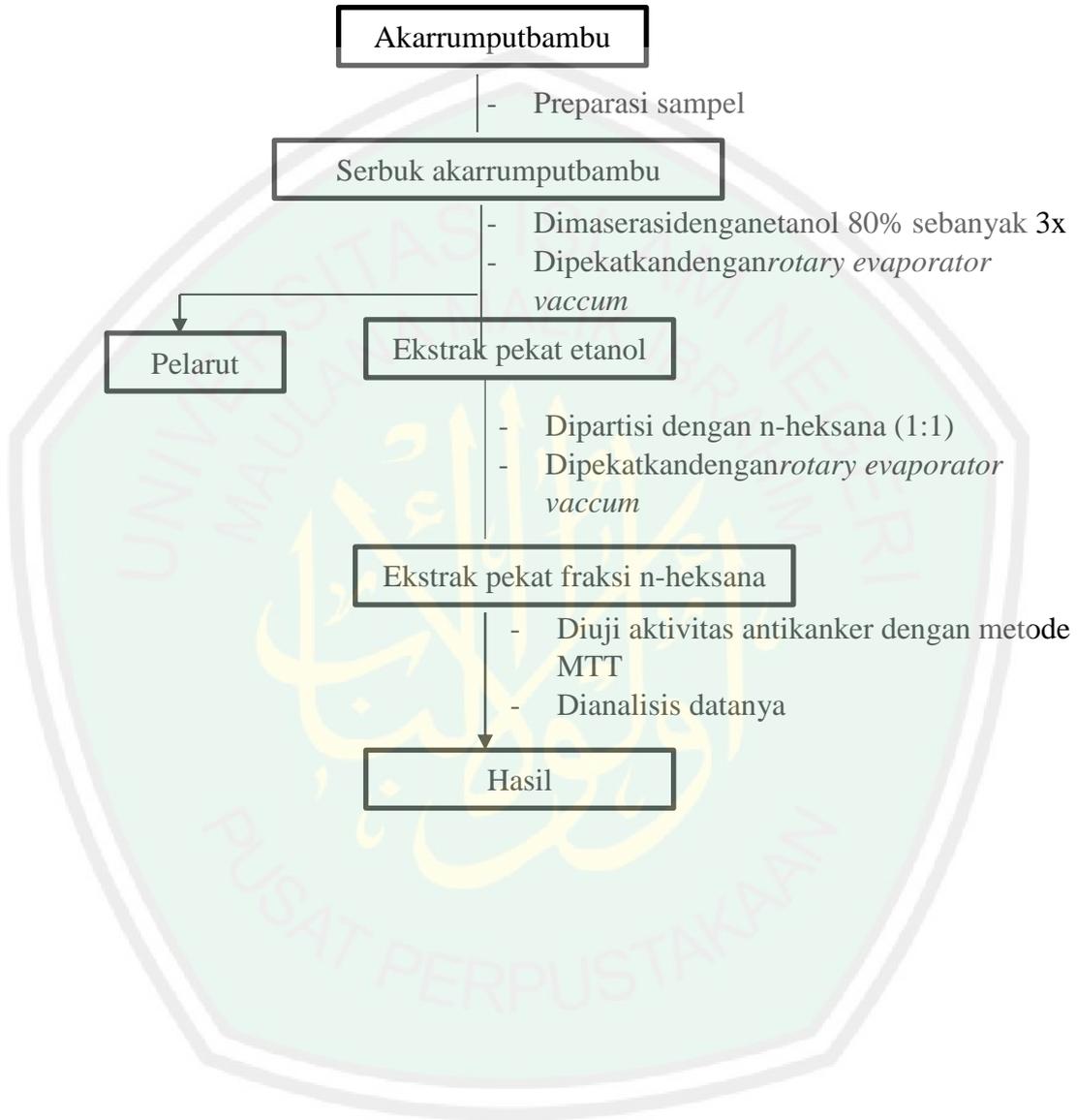
Yuliani, S.; Udarno, L. dan Hayani, E. 2001. Kadar Tanin dan Quersetin Tiga Tipe Daun Jambu Biji (*Psidium guajava*). Bogor: Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat.

Zarkovic, N. Zarkovic, K. Krali, M. Borovic, S. Sablovic, S. Blazi, M.P. Cipak, A. Pavelic, K. 2003. Anticancer and Antioxidative Effects Of Micronized Zeolite Clinoptilolite. *ANTICANCER RESEARCH* 23: 1589-1596



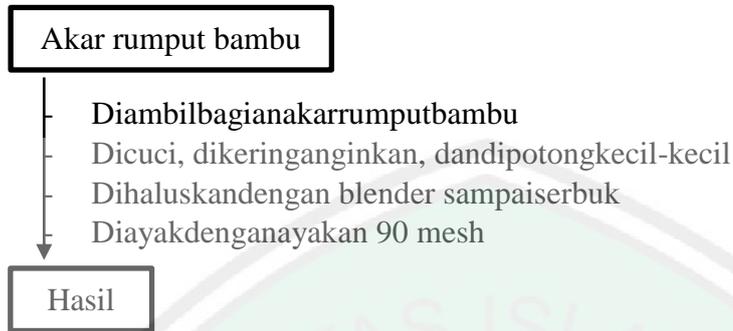
LAMPIRAN

Lampiran 1. Tahapan Penelitian

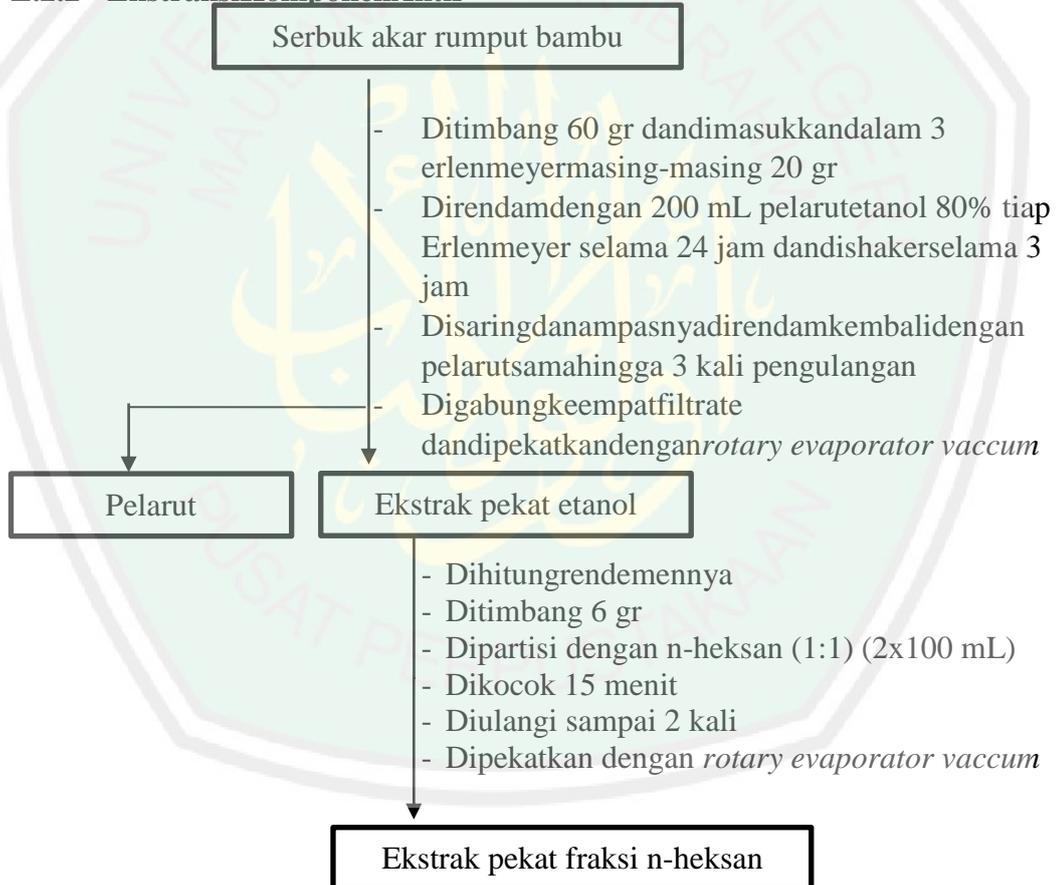


Lampiran 2. Skema Kerja

L.2.1 Preparasi Sampel

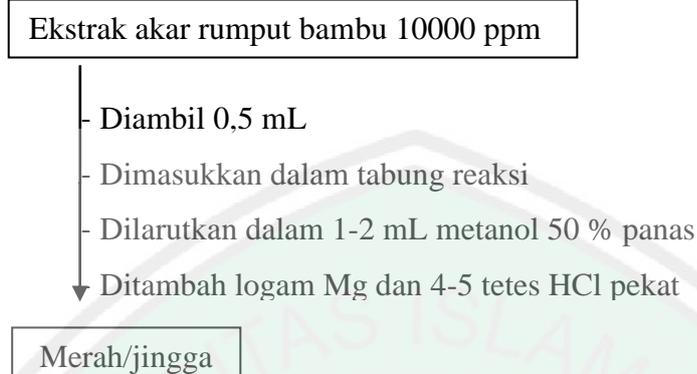


L.2.2 Ekstraksi Komponen Aktif

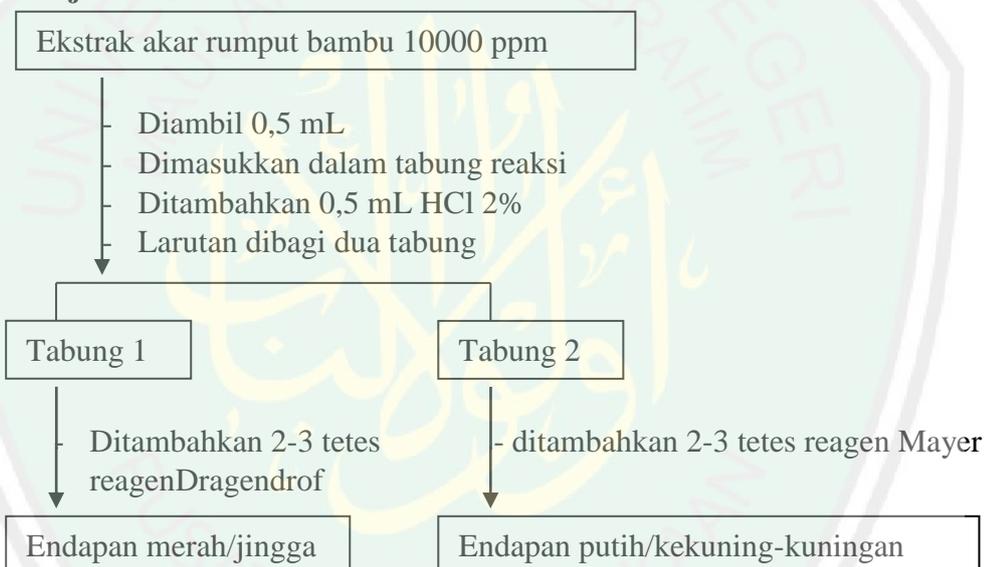


L.2.3 Uji Fitokimia dengan Reagen (Indrayani, dkk., 2006)

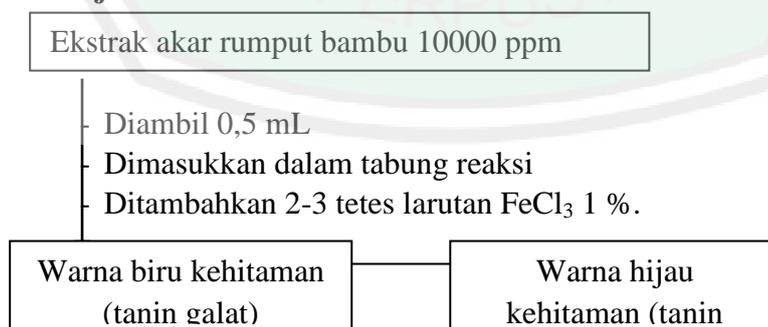
L.2.3.1 Uji Flavonoid



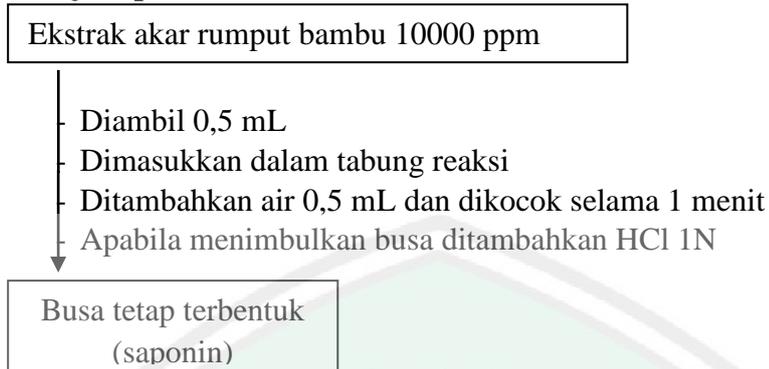
L.2.3.2 Uji Alkaloid



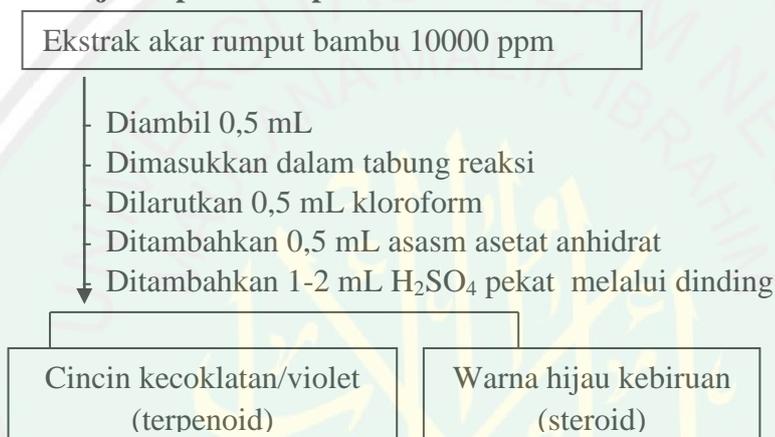
L.2.3.3 Uji Tanin



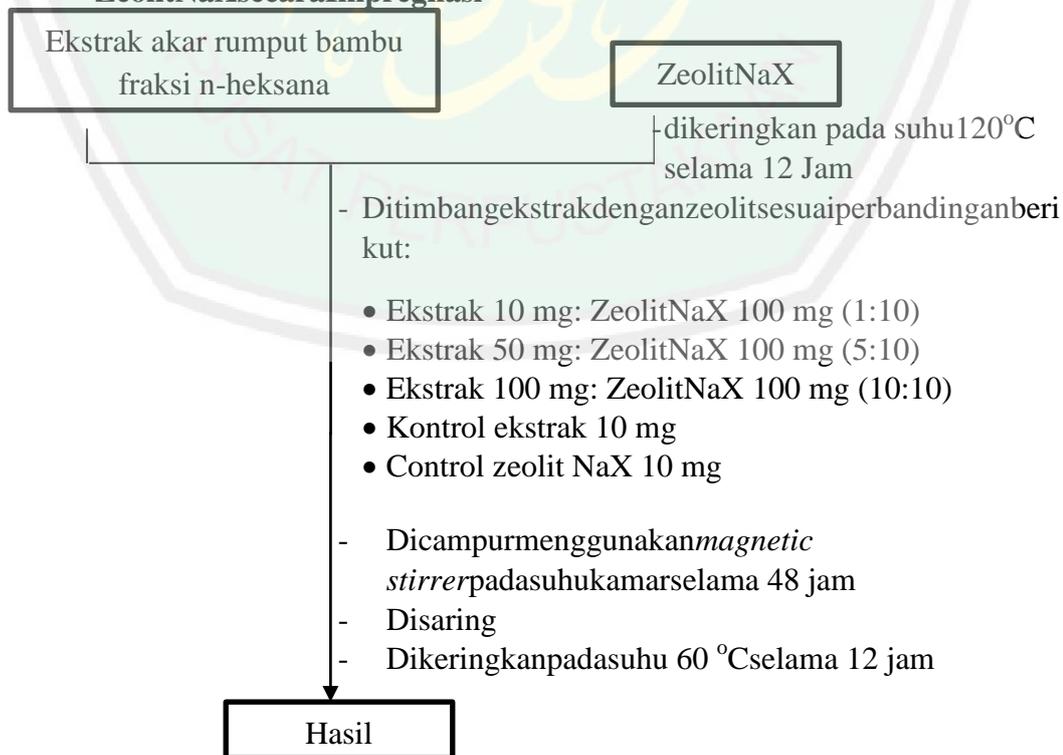
L.2.3.4 Uji Saponin



L.2.3.5 Uji Terpenoid/Saponin

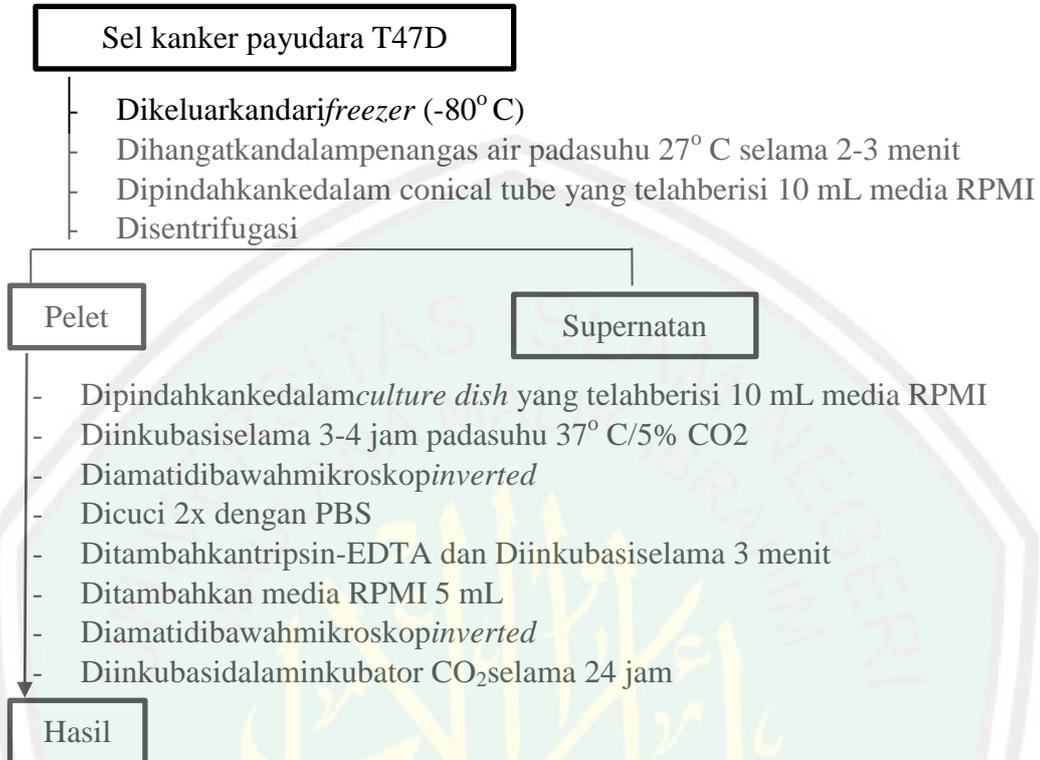


L.2.4 Pengembangan Ekstrak Akar Rumput Bambu pada ZeolitNaX secara Impregnasi

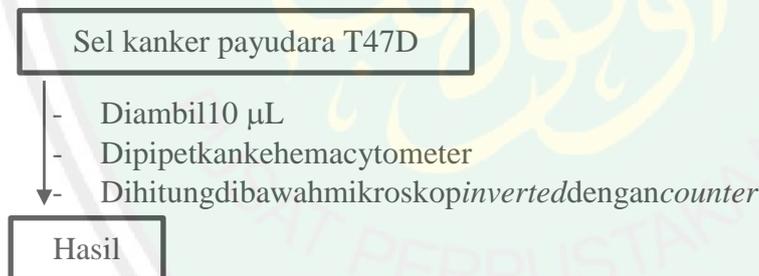


L.2.5 Aktivitas Antikanker Metode MTT

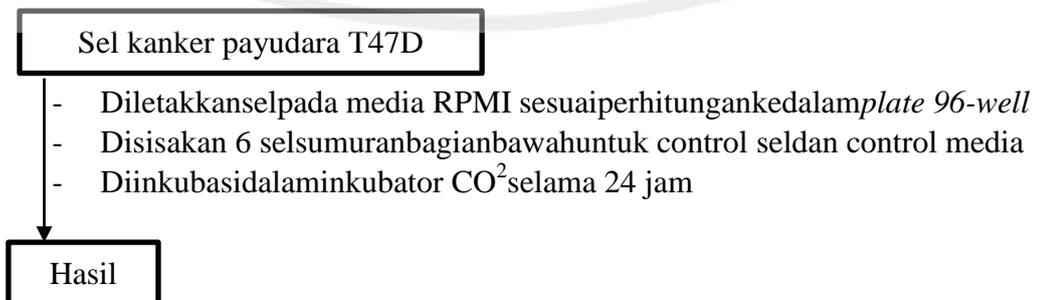
L.2.5.1 Penyiapan Sel



L.2.5.2 Penghitungan Sel Kanker



L.2.5.3 Peletakkan sel pada plate



L.2.5.5 Pembuatan larutan sampel dan pemberian larutan sampel pada plate

Sampel kombinasi ekstrak dengan zeolit

- Ditimbang 10 mg dan dimasukkan dalam wadah yang berbeda
- Dilarutkan masing-masing dalam 100 μ L DMSO
- Diambil dari inkubator
- Dibuang media sel dengan cara dibalikkan plate 180o
- Dimasukkan 100 μ L PBS ke dalam semua sumuran yang terisi sel dan dibuang kembali
- Dimasukkan sampel sebanyak 100 μ L dengan konsentrasi 500, 250, 125, 62.5, 31.25, 15.625 ppm
- Dilakukan pengulangan penambahan konsentrasi sampel sebanyak 3x
- Diinkubasi kembali selama 24 jam

Hasil

L.2.5.6 Pemberian larutan MTT

Sel kanker payudara T47D

- Dibuang media sel dan dicuci dengan PBS
- Ditambahkan larutan MTT 100 μ L ke setiap sumuran kecuali control sel
- Diinkubasi selama 3-4 jam ke dalam inkubator
- Diamati kondisinya dengan mikroskop *inverted* jika formazan telah terbentuk
- Ditambahkan *stopper* SDS 10% dalam 0,1 N HCl
- Dibungkus plate dengan aluminium foil
- Diinkubasi kembali di tempat gelap (suhu ruangan) selama semalam
- Dibaca nilai absorbansi dengan ELISA reader

Hasil

Lampiran 3 Pembuatan Larutan dan Reagen

L.3.1 Pembuatan Larutan Etanol 80%

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

$$96\% \times V_1 = 80\% \times 1000 \text{ mL}$$

$$V_1 = 833,33 \text{ mL} \rightarrow 835 \text{ mL}$$

Cara pembuatannya adalah diisi labu takar 1000 mL dengan 100 mL aquades, kemudian ditambahkan 835 mL etanol p.a (96%) secara perlahan. Digoyangkan sebentar lalu ditambahkan aquades kembali hingga tanda batas. Selanjutnya dikocok hingga homogen.

L.3.2 Pembuatan Reagen Dragendorff (Wagner, 2001)

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

Larutan II. 6 g KI dalam 10 mL H_2O .

Cara pembuatannya adalah larutan I dibuat dengan 0,6 g $\text{Bi}(\text{NH}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ yang dilarutkan ke dalam 2 mL HCl pekat 10 mL aquades. Larutan II dibuat dengan 6 g KI yang dilarutkan ke dalam 10 mL aquades. Kemudian kedua larutan tersebut dicampur dengan 7 mL HCl pekat dan 15 mL H_2O .

L.3.3 Pembuatan Larutan Metanol 50 %

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

$$99,8\% \times V_1 = 50\% \times 10 \text{ mL}$$

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

Cara pembuatannya adalah diambil larutan metanol 99,8% sebanyak 5 mL dengan pipet volum 5 mL, kemudian dimasukkan dalam labu ukur 10 mL. Selanjutnya ditambahkan aquades sampai tanda batas dan dikocok hingga homogen.

L.3.4 Pembuatan Reagen FeCl₃ 1 %

$$\text{BM FeCl}_3 = 162,2 \text{ g/mol}$$

$$\text{Massa FeCl}_3 = \frac{1\% \times M_{\text{FeCl}_3} \times V}{22,4}$$

$$= \frac{1\% \times 162,2 \frac{\text{gr}}{\text{mol}} \times 0,01 \text{ L}}{22,4} = 0,072 \text{ gr} = 72 \text{ gr}$$

Untuk membuat larutan FeCl₃ 1% adalah ditimbang sebanyak 72 mg serbuk FeCl₃ dengan neraca analitik, dimasukkan dalam beaker glass 50 mL kemudian dilarutkan dengan ± 3 mL aquades. Setelah larut, dipindahkan dalam labu ukur 10 mL dan di tanda bataskan dengan aquades.

L.3.5 Pembuatan Larutan HCl 1 N

$$\text{BJ HCl pekat} = 1,19 \text{ g/mL} = 1190 \text{ g/L}$$

$$\% \text{ Volume} = 37\% (0,37)$$

$$\text{BM HCl} = 36,42 \text{ g/mol}$$

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

Molaritas HCl (M) :

$$\text{Massa HCl} = \text{BJ HCl pekat} \times \% \text{ volume}$$

$$= 1190 \text{ g/L} \times 0,37$$

$$= 440,3 \text{ gr}$$

$$\text{Mol HCl} = \frac{\text{Massa HCl}}{\text{BM HCl}} = \frac{440,3 \text{ gr}}{36,42 \text{ gr/mol}} = 12,09 \text{ mol}$$

$$\text{Konsentrasi HCl (M)} = \frac{\text{Mol HCl}}{\text{Volume HCl}} = \frac{12,09 \text{ mol}}{1 \text{ L}} = 12,09 \text{ M}$$

$$\text{Normalitas HCl} = \text{ekivalen} \times \text{Molaritas HCl}$$

$$= 1 \times 12,09 \text{ M} = 12,09 \text{ N}$$

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

$$12,09 \text{ N} \times V_1 = 1 \text{ N} \times 100 \text{ mL}$$

$$V_1 = 8,27 \text{ mL} = 8,3 \text{ mL}$$

Cara membuat 100 mL HCl 1 N adalah diambil larutan HCl pekat sebanyak 8,3 mL dengan pipet ukur 10 mL, kemudian dimasukkan dalam labu ukur 100 mL yang berisi \pm 15 mL aquades. Selanjutnya ditambahkan aquades sampai tanda batas dan dikocok hingga homogen.

L.3.6 Pembuatan Larutan HCl 2 %

% Volume HCl pekat = 37% (0,37)

$$\%_1 \times V_1 = \%_2 \times V_2$$

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

$$V_1 = 0,54 \text{ mL}$$

Cara membuat 10 mL HCl 1 N adalah diambil larutan HCl pekat sebanyak 0,54 mL dengan pipet ukur 1 mL, kemudian dimasukkan dalam labu ukur 10 mL yang telah berisi \pm 5 mL aquades. Selanjutnya ditambahkan aquades sampai tanda batas dan dikocok hingga homogen.

L.3.7 Pembuatan Reagen Mayer (Manan, 2006)

Larutan I. HgCl₂ 1,358 gr dalam aquades 60 mL

Larutan II. KI 5 gr dalam aquades 10 mL

Cara pembuatannya adalah larutan I dibuat dengan menimbang HgCl₂ 1,358 gr dengan neraca analitik kemudian dimasukkan dalam beaker glass 100 mL dan dilarutkan dengan menambahkan aquades 60 mL dan larutan II dibuat dengan menimbang KI 5 gr dengan neraca analitik kemudian dimasukkan dalam beaker glass 250 mL dan dilarutkan dengan menambahkan aquades 10 mL. Masing-masing dilakukan pengadukan dengan spatula sampai larut sempurna. Selanjutnya larutan I dituangkan ke dalam larutan II dan dihomogenkan dengan pengadukan dengan menggunakan pengaduk gelas. Setelah kedua larutan

homogen, campuran larutan tersebut dipindahkan dalam labu takar 100 mL dan diencerkan dengan aquades sampai tanda batas.

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 10.000 ppm Kombinasi Ekstrak Akar Rumpun Bambu dengan Zeolit NaX

$$10.000 \text{ ppm} = \frac{10.000 \text{ mg}}{1 \text{ L}} = \frac{10.000 \text{ mg}}{1000 \text{ ml}} = \frac{10.000 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} = \frac{100 \text{ mg}}{5 \text{ mL}}$$

Cara pembuatannya adalah sampel berupa kombinasi ekstrak pekat dengan zeolit ditimbang 50 mg, kemudian diencerkan dengan 5 mL pelarut masing-masing ekstrak. Selanjutnya dihomogenkan dengan diaduk menggunakan pengaduk gelas, sehingga diperoleh konsentrasi ekstrak 10.000 ppm. Ekstrak yang diperoleh adalah lebih encer sehingga mempermudah dalam identifikasi kualitatif dengan reagen tertentu.

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

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

L.3.4 Pembuatan Larutan Stok 500 ppm Kombinasi Ekstrak Akar Rumpun Bambu dengan Zeolit NaX

Berat sampel = 10 mg

Volume pelarut = 100 μ L (DMSO)

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

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

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

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

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 Rendemen

1. Ekstrak Etanol 80%

$$\begin{aligned} \text{Berat sampel} &= 150 \text{ gr} \\ \text{Berat ekstrak pekat} &= 8,89 \text{ gr} \\ \% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{Beratekstrak}}{\text{Beratsampel}} \times 100 \% \\ \% \text{ Rendemen} &= \frac{8,89 \text{ gr}}{150 \text{ gr}} \times 100 \% = 5,92 \% \end{aligned}$$

2. Fraksi n-heksana

$$\begin{aligned} \text{Berat sampel} &= 6,06 \text{ gr} \\ \text{Berat ekstrak pekat} &= 0,69 \text{ gr} \\ \% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{Beratekstrak}}{\text{Beratsampel}} \times 100 \% \\ \% \text{ Rendemen} &= \frac{0,69 \text{ gr}}{6,06 \text{ gr}} \times 100 \% = 11,43 \% \end{aligned}$$

L.4.2 Perhitungan Rendemen Perbandingan Ekstrak Akar Rumput Bambu yang Diimbangkan pada Zeolit NaX

1. Perbandingan ekstrak : zeolit NaX (1:10)

$$\begin{aligned} \text{Berat sampel} &= 114,5 \text{ mg} \\ \text{Berat ekstrak kering} &= 67,5 \text{ mg} \\ \% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{Beratekstrak}}{\text{Beratsampel}} \times 100 \% \\ \% \text{ Rendemen} &= \frac{67,5 \text{ mg}}{114,5 \text{ mg}} \times 100 \% = 58,95 \% \end{aligned}$$

2. Perbandingan ekstrak : zeolit NaX (10:10)

$$\begin{aligned} \text{Berat sampel} &= 208,4 \text{ mg} \\ \text{Berat ekstrak kering} &= 147,3 \text{ mg} \\ \% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{Beratekstrak}}{\text{Beratsampel}} \times 100 \% \\ \% \text{ Rendemen} &= \frac{147,3 \text{ mg}}{208,4 \text{ mg}} \times 100 \% = 70,07 \% \end{aligned}$$

L.4.3 Perhitungan Data dan Hasil Uji Aktivitas Antikanker secara *In-Vitro*

A. Perhitungan konsentrasi sel

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

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

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

$$\begin{aligned}
 &= \frac{\sum \text{sel kuadran A} + \sum \text{sel kuadran B} + \sum \text{sel kuadran C} + \sum \text{sel kuadran D}}{4} \times 10^4 \\
 &= \frac{246 + 218 + 148 + 154}{4} \times 10^4 \\
 &= 191,5 \times 10^4 / \text{mL} \Rightarrow 190 \times 10^4 / \text{mL}
 \end{aligned}$$

- Jumlah mL panen sel yang ditransfer (konsentrasi sel)

$$\begin{aligned}
 &= \frac{\text{jumlahtotalselyangdiperlukan}}{\text{jumlahselterhitung}} \\
 &= \frac{100 \times 10^4}{190 \times 10^4 / \text{mL}} \\
 &= 0,526 \text{ mL} = 0,6 \text{ mL}
 \end{aligned}$$

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

B. Perhitungan Persentase Sel Hidup

➤ Data Uji aktivitas Antikanker dengan Metode MTT

No.	Absorbansi kontrol sel	Absorbansi kontrol media
1.	0.760	0.096
2.	0.847	0.096
3.	0.755	0.100
Rata –Rata:	0.787	0.097

1. Perbandingan Ekstrak Akar Rumput Bambu : Zeolit NaX (1:10)

Konsentrasi	Absorbansi			Rata-rata	% Hidup
	Pengulangan 1	Pengulangan 2	Pengulangan 3		
500	0.537	0.625	0.653	0.605	73.6
250	0.710	0.672	0.646	0.676	83.91
125	0.770	0.662	0.687	0.706	88.26
62.5	0.733	0.099	0.773	0.535	63.48
31.25	0.825	0.708	0.726	0.753	95.07
15.625	0.785	0.723	0.742	0.750	94.64

2. Kombinasi Ekstrak Akar Rumput Bambu : Zeolit NaX (10:10)

Konsentrasi	Absorbansi			Rata-rata	% Hidup
	Pengulangan 1	Pengulangan 2	Pengulangan 3		
500	0.722	0.734	0.721	0.726	91.11
250	0.823	0.801	0.754	0.793	100.82
125	0.862	0.799	0.841	0.834	106.81
62.5	0.800	0.904	0.886	0.863	111.06
31.25	0.764	0.841	0.790	0.798	101.64
15.625	0.788	0.848	0.759	0.798	101.64

3. Ekstrak Akar Rumput Bambu Fraksi n-Heksana

Konsentrasi	Absorbansi			Rata-rata	% Hidup
	Pengulangan 1	Pengulangan 2	Pengulangan 3		
500	0.117	0.123	0.123	0.121	3.48
250	0.116	0.117	0.121	0.118	3.04
125	0.117	0.124	0.125	0.122	3.62
62.5	0.461	0.406	0.502	0.456	52.03
31.25	0.610	0.698	0.697	0.668	82.75
15.625	0.647	0.482	0.761	0.630	77.25

4. Zeolit NaX

Konsentrasi	Absorbansi			Rata-rata	% Hidup
	Pengulangan 1	Pengulangan 2	Pengulangan 3		
500	0.606	0.723	0.719	0.683	84.88
250	0.785	0.790	0.765	0.780	98.98
125	0.745	0.709	0.746	0.733	92.17
62.5	0.745	0.814	0.752	0.770	97.54
31.25	0.855	0.819	0.736	0.803	102.32
15.625	0.834	0.825	0.898	0.852	105.51

➤ 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. Perbandingan Ekstrak Akar Rumput Bambu : Zeolit NaX (1:10)

- ✓ Konsentrasi 500 → % Hidup = $\frac{0,605-0,097}{0,787-0,097} \times 100 \%$ = 73.6 %
- ✓ Konsentrasi 250 → % Hidup = $\frac{0,676-0,097}{0,787-0,097} \times 100 \%$ = 83.91%
- ✓ Konsentrasi 125 → % Hidup = $\frac{0,706-0,097}{0,787-0,097} \times 100 \%$ = 88.26%
- ✓ Konsentrasi 62,5 → % Hidup = $\frac{0,535-0,097}{0,787-0,097} \times 100 \%$ = 63.48%
- ✓ Konsentrasi 31,25 → % Hidup = $\frac{0,753-0,097}{0,787-0,097} \times 100 \%$ = 95.07%
- ✓ Konsentrasi 15,625 → % Hidup = $\frac{0,750-0,097}{0,787-0,097} \times 100 \%$ = 94.64%

2. Perbandingan Ekstrak Akar Rumput Bambu : Zeolit NaX (10:10)

- ✓ Konsentrasi 500 → % Hidup = $\frac{0,726-0,097}{0,787-0,097} \times 100 \%$ = 91.11%
- ✓ Konsentrasi 250 → % Hidup = $\frac{0,793-0,097}{0,787-0,097} \times 100 \%$ = 100.82%
- ✓ Konsentrasi 125 → % Hidup = $\frac{0,834-0,097}{0,787-0,097} \times 100 \%$ = 106.81%
- ✓ Konsentrasi 62,5 → % Hidup = $\frac{0,863-0,097}{0,787-0,097} \times 100 \%$ = 111.06%
- ✓ Konsentrasi 31,25 → % Hidup = $\frac{0,798-0,097}{0,787-0,097} \times 100 \%$ = 101.64%
- ✓ Konsentrasi 15,625 → % Hidup = $\frac{0,798-0,097}{0,787-0,097} \times 100 \%$ = 101.64%

3. Ekstrak n-Heksana Akar Rumput Bambu

- ✓ Konsentrasi 500 → % *Hidup* = $\frac{0,121-0,097}{0,787-0,097} \times 100 \% = 3,48\%$
- ✓ Konsentrasi 250 → % *Hidup* = $\frac{0,118-0,097}{0,787-0,097} \times 100 \% = 3,04\%$
- ✓ Konsentrasi 125 → % *Hidup* = $\frac{0,122-0,097}{0,787-0,097} \times 100 \% = 3,62\%$
- ✓ Konsentrasi 62,5 → % *Hidup* = $\frac{0,456-0,097}{0,787-0,097} \times 100 \% = 52,03\%$
- ✓ Konsentrasi 31,25 → % *Hidup* = $\frac{0,668-0,097}{0,787-0,097} \times 100 \% = 82,75\%$
- ✓ Konsentrasi 15,625 → % *Hidup* = $\frac{0,630-0,097}{0,787-0,097} \times 100 \% = 77,25\%$

4. Zeolit NaX

- ✓ Konsentrasi 500 → % *Hidup* = $\frac{0,683-0,097}{0,787-0,097} \times 100 \% = 3,48\%$
- ✓ Konsentrasi 250 → % *Hidup* = $\frac{0,780-0,097}{0,787-0,097} \times 100 \% = 3,04\%$
- ✓ Konsentrasi 125 → % *Hidup* = $\frac{0,-0,097}{0,787-0,097} \times 100 \% = 3,62\%$
- ✓ Konsentrasi 62,5 → % *Hidup* = $\frac{0,456-0,097}{0,787-0,097} \times 100 \% = 52,03\%$
- ✓ Konsentrasi 31,25 → % *Hidup* = $\frac{0,668-0,097}{0,787-0,097} \times 100 \% = 82,75\%$
- ✓ Konsentrasi 15,625 → % *Hidup* = $\frac{0,630-0,097}{0,787-0,097} \times 100 \% = 77,25\%$

C. Hasil Perhitungan IC₅₀ dengan SPSS

1. Perbandingan Ekstrak Akar Rumpun Bambu dengan Zeolit (1:10)

Confidence Limits

Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi) ^b		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
P 0.01	1.788E9	.	.	9.252	.	.
R 0.02	4.479E8	.	.	8.651	.	.
O 0.03	1.861E8	.	.	8.270	.	.
B 0.04	9.614E7	.	.	7.983	.	.
I 0.05	5.617E7	.	.	7.750	.	.
T 0.06	3.555E7	.	.	7.551	.	.
a 0.07	2.381E7	.	.	7.377	.	.
0.08	1.663E7	.	.	7.221	.	.
0.09	1.199E7	.	.	7.079	.	.
0.1	8.880E6	.	.	6.948	.	.
0.15	2.558E6	.	.	6.408	.	.
0.2	9.513E5	.	.	5.978	.	.
0.25	4.072E5	.	.	5.610	.	.
0.3	1.900E5	.	.	5.279	.	.
0.35	93790.310	.	.	4.972	.	.
0.4	47989.564	.	.	4.681	.	.
0.45	25095.169	.	.	4.400	.	.
0.5	13258.593	.	.	4.122	.	.
0.55	7004.945	.	.	3.845	.	.
0.6	3663.094	.	.	3.564	.	.
0.65	1874.290	.	.	3.273	.	.
0.7	925.028	.	.	2.966	.	.
0.75	431.715	.	.	2.635	.	.
0.8	184.782	.	.	2.267	.	.
0.85	68.720	.	.	1.837	.	.
0.9	19.796	.	.	1.297	.	.
0.91	14.657	.	.	1.166	.	.
0.92	10.573	.	.	1.024	.	.
0.93	7.384	.	.	.868	.	.
0.94	4.944	.	.	.694	.	.
0.95	3.129	.	.	.495	.	.
0.96	1.829	.	.	.262	.	.
0.97	.945	.	.	-.025	.	.
0.98	.392	.	.	-.406	.	.
0.99	.098	.	.	-1.007	.	.

2. Perbandingan Ekstrak Akar Rumput Bambu (10:10)

Confidence Limits

Probabil ity	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi) ^a			
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	
P	0.01	22189.635	3878.694	5.106E9	4.346	3.589	9.708
R	0.02	16918.379	3319.190	1.696E9	4.228	3.521	9.229
O	0.03	14243.735	3006.553	8.430E8	4.154	3.478	8.926
B	0.04	12514.219	2790.781	4.982E8	4.097	3.446	8.697
I	0.05	11263.491	2626.640	3.248E8	4.052	3.419	8.512
T	0.06	10297.907	2494.483	2.257E8	4.013	3.397	8.354
	0.07	9519.633	2384.031	1.640E8	3.979	3.377	8.215
	0.08	8872.826	2289.244	1.233E8	3.948	3.360	8.091
	0.09	8322.819	2206.274	9.506E7	3.920	3.344	7.978
	0.1	7846.723	2132.526	7.484E7	3.895	3.329	7.874
	0.15	6148.533	1852.166	2.780E7	3.789	3.268	7.444
	0.2	5065.149	1655.448	1.266E7	3.705	3.219	7.102
	0.25	4289.176	1503.073	6448948.547	3.632	3.177	6.809
	0.3	3694.192	1377.921	3519406.878	3.568	3.139	6.546
	0.35	3216.787	1270.980	2008360.626	3.507	3.104	6.303
	0.4	2820.954	1176.901	1179693.706	3.450	3.071	6.072
	0.45	2484.404	1092.210	705218.502	3.395	3.038	5.848
	0.5	2192.418	1014.487	425168.394	3.341	3.006	5.629
	0.55	1934.748	941.923	256430.487	3.287	2.974	5.409
	0.6	1703.926	873.063	153483.073	3.231	2.941	5.186
	0.65	1494.254	806.622	90357.476	3.174	2.907	4.956
	0.7	1301.150	741.329	51749.958	3.114	2.870	4.714
	0.75	1120.657	675.711	28404.347	3.049	2.830	4.453
	0.8	948.974	607.702	14605.886	2.977	2.784	4.165
	0.85	781.763	533.587	6770.393	2.893	2.727	3.831
	0.9	612.574	443.703	2627.339	2.787	2.647	3.420
	0.91	577.532	421.462	2104.784	2.762	2.625	3.323
	0.92	541.732	396.444	1663.012	2.734	2.598	3.221
	0.93	504.925	367.296	1295.211	2.703	2.565	3.112
	0.94	466.764	331.714	996.127	2.669	2.521	2.998
	0.95	426.750	286.018	762.372	2.630	2.456	2.882
	0.96	384.099	226.389	591.042	2.584	2.355	2.772
	0.97	337.460	155.153	473.132	2.528	2.191	2.675
	0.98	284.111	85.075	388.455	2.453	1.930	2.589
	0.99	216.619	30.156	311.526	2.336	1.479	2.493

3. Ekstrak Akar Rumput Bambu

Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi) ^b			
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	
P	0.01	503.526	187.841	31366.916	2.702	2.274	4.496
R	0.02	383.699	156.538	14764.071	2.584	2.195	4.169
O	0.03	322.927	139.088	9176.222	2.509	2.143	3.963
BI	0.04	283.642	127.041	6427.208	2.453	2.104	3.808
T ^a	0.05	255.239	117.862	4817.275	2.407	2.071	3.683
	0.06	233.315	110.452	3773.072	2.368	2.043	3.577
	0.07	215.648	104.238	3048.452	2.334	2.018	3.484
	0.08	200.967	98.885	2520.772	2.303	1.995	3.402
	0.09	188.485	94.180	2122.341	2.275	1.974	3.327
	0.1	177.682	89.977	1812.891	2.250	1.954	3.258
	0.15	139.159	73.740	953.531	2.144	1.868	2.979
	0.2	114.594	61.949	581.490	2.059	1.792	2.765
	0.25	97.005	52.445	386.975	1.987	1.720	2.588
	0.3	83.524	44.313	273.580	1.922	1.647	2.437
	0.35	72.709	37.112	202.641	1.862	1.570	2.307
	0.4	63.745	30.646	155.993	1.804	1.486	2.193
	0.45	56.126	24.851	124.097	1.749	1.395	2.094
	0.5	49.517	19.734	101.514	1.695	1.295	2.007
	0.55	43.686	15.317	84.957	1.640	1.185	1.929
	0.6	38.464	11.601	72.364	1.585	1.064	1.860
	0.65	33.722	8.551	62.407	1.528	.932	1.795
	0.7	29.356	6.106	54.217	1.468	.786	1.734
	0.75	25.276	4.189	47.204	1.403	.622	1.674
	0.8	21.397	2.721	40.941	1.330	.435	1.612
	0.85	17.620	1.627	35.073	1.246	.211	1.545
	0.9	13.800	.842	29.210	1.140	-.075	1.466
	0.91	13.009	.717	27.988	1.114	-.144	1.447
	0.92	12.201	.602	26.732	1.086	-.220	1.427
	0.93	11.370	.497	25.430	1.056	-.304	1.405
	0.94	10.509	.400	24.066	1.022	-.398	1.381
	0.95	9.606	.313	22.615	.983	-.505	1.354
	0.96	8.644	.234	21.039	.937	-.632	1.323
	0.97	7.593	.163	19.272	.880	-.787	1.285
	0.98	6.390	.101	17.177	.806	-.995	1.235
	0.99	4.870	.047	14.367	.687	-1.324	1.157

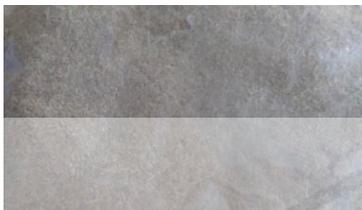
4. Zeolit NaX

Confidence Limits

Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi) ^b		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PR 0.01	6.966E5	.	.	5.843	.	.
OB 0.02	3.935E5	.	.	5.595	.	.
IT ^a 0.03	2.739E5	.	.	5.438	.	.
0.04	2.086E5	.	.	5.319	.	.
0.05	1.671E5	.	.	5.223	.	.
0.06	1.384E5	.	.	5.141	.	.
0.07	1.173E5	.	.	5.069	.	.
0.08	1.011E5	.	.	5.005	.	.
0.09	88377.562	.	.	4.946	.	.
0.1	78069.792	.	.	4.892	.	.
0.15	46718.878	.	.	4.669	.	.
0.2	31064.655	.	.	4.492	.	.
0.25	21888.828	.	.	4.340	.	.
0.3	15983.883	.	.	4.204	.	.
0.35	11944.210	.	.	4.077	.	.
0.4	9059.363	.	.	3.957	.	.
0.45	6933.276	.	.	3.841	.	.
0.5	5328.697	.	.	3.727	.	.
0.55	4095.467	.	.	3.612	.	.
0.6	3134.327	.	.	3.496	.	.
0.65	2377.303	.	.	3.376	.	.
0.7	1776.477	.	.	3.250	.	.
0.75	1297.237	.	.	3.113	.	.
0.8	914.062	.	.	2.961	.	.
0.85	607.784	.	.	2.784	.	.
0.9	363.713	.	.	2.561	.	.
0.91	321.292	.	.	2.507	.	.
0.92	280.795	.	.	2.448	.	.
0.93	242.133	.	.	2.384	.	.
0.94	205.211	.	.	2.312	.	.
0.95	169.923	.	.	2.230	.	.
0.96	136.137	.	.	2.134	.	.
0.97	103.660	.	.	2.016	.	.
0.98	72.156	.	.	1.858	.	.
0.99	40.764	.	.	1.610	.	.

Lampiran 5. Dokumentasi

L.5.1 Proses Maserasi



Serbuk akar rumput bambu



Proses perendaman



Serbuk hasil penyaringan



Filtrat hasil penyaringan



Pemekatan dengan rotary evaporator vaccum



Partisi cair-cair dengan n-heksana



Filtrate fraksi n-heksana

L.5.2 Uji Fitokimia dengan Reagen



Uji terpenoid



Uji flavonoid



Uji alkaloid dengan reagen Mayer



Uji alkaloid dengan reagen Dragendroff



Uji tanin



Uji steroid

L.5.3 Proses Impregnasi dengan Zeolit NaX



Pengadukan dengan stirer



Proses penyaringan



Pengeringan menggunakan oven



Hasil pengeringan kombinasi



Proses penimbangan sampel



Hasil penimbangan 10 mg

L.5.4 Uji Aktivitas Antikanker Metode MTT



Morfologi perhitungan sel



Mikroskop inverted



Pengenceran konsentrasi sampel



Peletakan sel



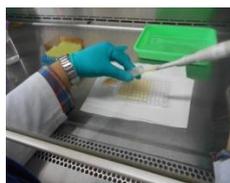
Setelah pemberian DMSO



Peletakan sampel



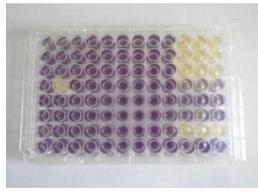
Hasil peletakan sel dan sampel



Pemberian reagen MTT



Inkubator CO₂/37° C

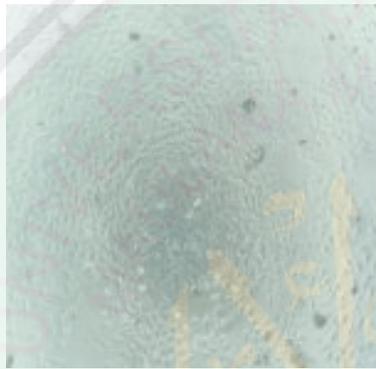


Setelah pemberian SDS

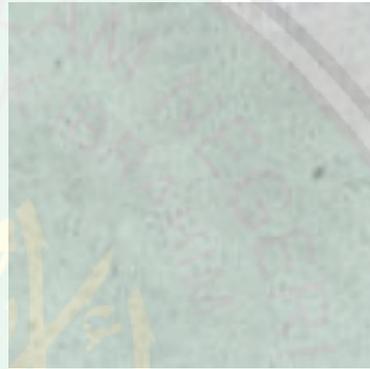


Elisa reader (mikroplate reader)

L.5.5 Morfologi Sel Kanker T47D setelah Pemberian Reagen MTT



Perbandingan 1:10 + sel konsentrasi 500 ppm



Perbandingan 1:10 + sel konsentrasi 15,625 ppm



Perbandingan 10:10 + sel konsentrasi 500 ppm



Perbandingan 10:10 + sel konsentrasi 15,625 ppm



Ekstrak akar rumput bambu
+ sel konsentrasi 500 ppm



Ekstrak akar rumput bambu
+ sel konsentrasi 15,625 ppm



Zeolit NaX+ sel
konsentrasi 500 ppm



Zeolit NaX + sel
konsentrasi 15,625 ppm