

TESIS

**ISOLASI SENYAWA ONOCERANOID DARI
KULIT BUAH LANGSAT (*Lansium domesticum*) DAN
UJI AKTIVITAS ANTIKANKER**



ke tk
TK. 06/20
lab
i

**QONITAH LABIBAH
NIM. 081724253004**

**PROGRAM STUDI MAGISTER KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
2020**

**ISOLASI SENYAWA ONOCERANOID DARI KULIT BUAH LANGSAT
(*Lansium domesticum*) DAN UJI AKTIVITAS ANTIKANKER**

TESIS

Untuk memperoleh Gelar Magister
dalam Program Studi Magister Kimia
pada Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga

Oleh :
Qonitah Labibah
NIM. 081724253004

**PROGRAM STUDI MAGISTER KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
2020**

HALAMAN PENGESAHAN

TESIS

**ISOLASI SENYAWA ONOCERANOID DARI KULIT BUAH LANGSAT
(*Lansium domesticum*) DAN UJI AKTIVITAS ANTIKANKER**

Disusun oleh :
Qonitah Labibah
NIM. 081724253004

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji dan diterima
sebagai salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar Magister Kimia
pada tanggal 21 Januari 2020

Pembimbing I

Pembimbing II


Dr. Nanik Siti Aminah, M.Si
NIP. 1967 0514 199102 2 001


Dr. Alfinda Novi Kristanti, DEA
NIP. 1967 1115 199102 2 001

Mengetahui,
Ketua Program Studi Magister Kimia
Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga


M. Zakki Fahmi, M.Si, Ph.D
NIP. 1983,0702 200912 1 005

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas berkat, rahmat, dan hidayah yang telah diberikan sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis dengan judul **“Isolasi Senyawa Onoceranoid dari Kulit Buah Langsung (*Lansium domesticum*) dan Uji Aktivitas Antikanker”**. Tesis ini disusun untuk memenuhi syarat kelulusan menjadi Magister Sains pada Bidang Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga. Penulis memperoleh banyak bantuan dari berbagai pihak dalam penyusunan tesis ini. Penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Dr. Nanik Siti Aminah, M.Si sebagai dosen pembimbing I yang telah memberikan banyak waktu, saran, dan bimbingan dalam penulisan tesis.
2. Dr. Alfinda Novi Kristanti, DEA sebagai dosen pembimbing II yang dengan sabar memberikan bimbingan, motivasi, dan pengarahan dalam penulisan tesis.
3. Rico Ramadhan, S.Si, M.P, Ph.D yang berperan penting dalam membimbing dan memberikan arahan dalam melaksanakan riset di laboratorium.
4. Dr. Hery Suwito, M.Si sebagai penguji I yang telah memberikan kritik dan saran dalam penulisan tesis ini.
5. Ali Rochman, M.Si, Ph.D sebagai penguji II yang telah memberikan kritik dan saran dalam penulisan tesis ini.
6. M. Zakki Fahmi, S.Si, M.Si, Ph.D selaku Ketua Program Studi Magister Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga sekaligus dosen wali yang memberikan perhatian, semangat, dan bimbingan kepada penulis.
7. Prof. Dr. Purkan, S.Si, M.Si selaku Ketua Departemen Kimia Fakultas Sains Dan Teknologi Universitas Airlangga yang telah memberikan sarana dan prasarana di lingkungan Departemen Kimia.

8. Bapak/Ibu dosen Program Studi Kimia Universitas Airlangga yang telah memberikan ilmu, nasihat, pengalaman selama penulis menempuh pendidikan di Program Studi Magister Kimia, Departemen Kimia, Fakultas Sains Dan Teknologi, Universitas Airlangga.
9. Seluruh laboran dan staff Departemen Kimia Fakultas Sains Dan Teknologi Universitas Airlangga yang memberikan fasilitas selama masa perkuliahan dan riset.
10. Kedua orang tua yaitu Drs. Choirul Makroef dan Suminarti beserta segenap keluarga besar penulis yang telah memberikan doa, dukungan, cinta kasih, dan kepercayaan yang begitu besar.
11. Teman-teman Program Studi S-2 Kimia Fakultas Sains Dan Teknologi Universitas Airlangga yang selalu memberi motivasi, inspirasi, dan semangat.
12. Serta semua pihak yang telah membantu dan memberikan dukungan dalam kelancaran penulisan tesis ini.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan tesis ini masih banyak kekurangan sehingga saran dan kritik yang membangun sangat diharapkan agar tesis ini lebih baik lagi.

Surabaya, Januari 2020

Penulis

Labibah, Qonitah, 2020, Isolasi Senyawa Onoceranoid dari Kulit Buah Langsung (*Lansium domesticum*) dan Uji Aktivitas Antikanker, Tesis ini dibawah bimbingan Dr. Nanik Siti Aminah, M.Si dan Dr. Alfinda Novi Kristanti, DEA., Departemen Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga, Surabaya.

ABSTRAK

Lansium domesticum dengan nama lokal “langsar” merupakan salah satu spesies yang termasuk dalam famili Meliaceae. Studi literatur menunjukkan adanya senyawa sesquiterpenoid serta triterpenoid dengan kerangka yang jarang dan unik berupa onoceranoid, tetranortriterpenoid, dan sikloartenoid triterpen. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan menentukan struktur kimia senyawa onoceranoid yang ada pada kulit buah *Lansium domesticum* serta mengetahui aktivitas antikankernya. Isolasi senyawa onoceranoid dari kulit buah *Lansium domesticum* dilakukan melalui tahapan maserasi dengan menggunakan pelarut metanol, kemudian dipartisi berturut-turut dengan menggunakan *n*-heksana dan diklorometana. Proses pemisahan dan pemurnian dilakukan dengan kromatografi cair vakum dan kromatografi kolom gravitasi. Struktur senyawa ditetapkan dengan metode spektroskopi UV-Vis, IR, 1D NMR (¹H-NMR dan ¹³C-NMR) dan 2D NMR (HSQC dan HMBC). Senyawa onoceranoid berupa 8,14-secogammacera-7,14(27)-dien-3,21-dion (onoceradiendion) berhasil diisolasi dari kulit buah *Lansium domesticum*. Uji aktivitas antikanker dari senyawa hasil isolasi dilakukan secara *in vitro* terhadap sel kanker serviks (HeLa), payudara (T47D), dan paru-paru (A549) menggunakan metode MTT/XTT. Senyawa ini menunjukkan aktivitas antikanker yang baik terhadap sel HeLa, T47D, dan A549 dengan IC₅₀ sebesar 30,69; 32,39; dan 18,71 µg/mL. Doksoresubisin sebagai kontrol positif memiliki nilai IC₅₀ sebesar 2,83 µg/mL terhadap sel HeLa dan 0,04 µg/mL terhadap sel T47D. Ekstrak *n*-heksana menunjukkan aktivitas antikanker terbaik dengan nilai IC₅₀ 0,10 µg/mL terhadap sel T47D.

Kata kunci : *Lansium domesticum*, Meliaceae, onoceradiendion, onoceranoid, antikanker



Labibah, Qonitah, 2020, Isolation of Onoceranoid Compounds from Fruit Peel of Langsat (*Lansium domesticum*) and Their Anticancer Activities, This thesis was under guidance by Dr. Nanik Siti Aminah, M.Si and Dr. Alfinda Novi Kristanti, DEA., Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Universitas Airlangga, Surabaya.

ABSTRACT

Lansium domesticum with the local name “langsats” is one of species belonging to family Meliaceae. Many sesquiterpenoids and triterpenoids especially onoceranoid with rare and unique skeleton, tetranortripenoid, and cycloartenoid triterpenes. The aim of this research are to isolate and determine the molecular structure of onoceranoid from fruit peel of langsats (*Lansium domesticum*) and determine anticancer activities. Isolation of onoceranoid compounds was done by maceration method using methanol, followed by partition with *n*-hexane and dichloromethane. The process of separation and purification using vacuum liquid and column chromatography. A structure was determined by spectroscopic methods including UV-Vis, IR, 1D NMR (¹H-NMR dan ¹³C-NMR) dan 2D NMR (HSQC dan HMBC). A onoceranoid compounds namely 8,14-secogammacera-7,14(27)-dien-3,21-dion (onoceradiene-dione) was isolated from *Lansium domesticum*. The anticancer activity of the isolated compounds were evaluated using MTT/XTT methods against cervical (HeLa), breast (T47D), and lung (A549) cancer cell lines. This compound showed the highest anticancer activity against HeLa, T47D, A549 with IC₅₀ 30.69, 32.39, and 18.71 µg/mL, respectively. The IC₅₀ of doxorubicin as a positive control against HeLa and T47D is 2.83 and 0.04 µg/mL, respectively. Extract of *n*-hexane has a higher activity against T47D with IC₅₀ 0,10 µg/mL.

Keywords : *Lansium domesticum*, *Meliaceae*, *onoceradienedione*, *onoceranoid*, *anticancer*

LEMBAR PERNYATAAN ORISINALITAS

Yang bertandatangan di bawah ini :

Nama : Qonitah Labibah
NIM : 081724253004
Program Studi : Kimia
Fakultas : Fakultas Sains dan Teknologi
Jenjang : Magister (S-2)



Menyatakan bahwa saya tidak melakukan kegiatan plagiat dalam penulisan tesis saya yang berjudul :

ISOLASI SENYAWA ONOCERANOID DARI KULIT BUAH LANGSAT (*Lansium domesticum*) DAN UJI AKTIVITAS ANTIKANKER

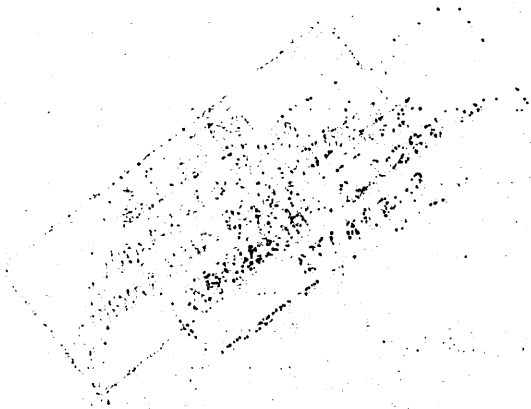
Apabila suatu saat nanti terbukti melakukan tindak plagiat, maka saya akan menerima sanksi yang telah diterapkan.

Demikian surat pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Surabaya, Januari 2020



Qonitah Labibah
NIM. 081724253004



DAFTAR ISI

LEMBAR JUDUL	i
LEMBAR PRASYARAT GELAR	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
UCAPAN TERIMA KASIH	iv
ABSTRAK	vi
<i>ABSTRACT</i>	vii
LEMBAR PERNYATAAN ORISINALITAS	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
BAB I. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan	4
1.3.1 Tujuan umum	5
1.3.2 Tujuan khusus	5
1.4 Manfaat	5
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 <i>Lansium</i>	6
2.2 Langsung (<i>Lansium domesticum</i>)	7
2.3 Fitokimia dari <i>Lansium</i>	9
2.4 Terpenoid	10
2.4.1 Triterpenoid	11
2.4.2 Sesquiterpenoid	18
2.5 Bioaktivitas Genus <i>Lansium</i>	19
2.6 Kanker	20
2.7 Doksorubisin	20
2.8 Uji Aktivitas Antikanker	21
BAB III. KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN	
3.1 Kerangka Konseptual	24
3.2 Hipotesis Penelitian	27
BAB IV. METODE PENELITIAN	
4.1 Waktu dan Tempat Penelitian	28
4.2 Alat dan Bahan Penelitian	28

4.2.1	Bahan penelitian	28
4.2.2	Alat penelitian	29
4.3	Prosedur Penelitian	29
4.3.1	Isolasi senyawa metabolit sekunder	30
4.3.2	Penentuan struktur senyawa metabolit sekunder	32
4.3.2.1	Analisis spektroskopi UV-Vis	32
4.3.2.2	Analisis spektroskopi FT-IR	32
4.3.2.3	Analisis spektroskopi NMR	32
4.3.3	Uji aktivitas antikanker	33
4.3.3.1	Kultur sel	33
4.3.3.2	Penentuan uji aktivitas antikanker	33
4.3.3.3	Analisis data	34
4.4	Diagram Alir Penelitian	35
 BAB V. PEMBAHASAN		
5.1	Isolasi Senyawa Onoceranoid	36
5.2	Penentuan Struktur Senyawa Hasil Isolasi	39
5.2.1	Senyawa (1)	39
5.2.2	Senyawa (2)	49
5.2.3	Senyawa (3)	49
5.3	Uji Aktivitas Antikanker	49
 BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN		
6.1	Kesimpulan	54
6.2	Saran	55
 DAFTAR PUSTAKA		56
LAMPIRAN		63

DAFTAR GAMBAR

No.	Judul Gambar	Halaman
2.1	Tanaman <i>Lansium domesticum</i> bagian batang dan daun (kiri) serta buah (kanan)	8
2.2	Struktur dasar senyawa terpenoid	10
2.3	Struktur senyawa tertranortriterpenoid genus <i>Lansium</i>	11
2.4	Struktur senyawa triterpenoid glikosida genus <i>Lansium</i>	13
2.5	Struktur senyawa onoceranoide genus <i>Lansium</i>	14
2.6	Struktur senyawa sikloartenoid triterpen genus <i>Lansium</i>	18
2.7	Struktur senyawa sesquiterpenoid genus <i>Lansium</i>	18
2.8	Gambar representatif dari sel (a) normal dan (b) kanker	20
2.9	Struktur senyawa doksorubisin	22
2.10	Reaksi reduksi garam (a) MTT dan (b) XTT menjadi kristal formazan	21
3.1	Kerangka konseptual	26
4.1	Diagram alir penelitian	35
5.1	Analisis KLT senyawa (1)	37
5.2	Analisis KLT senyawa (2)	38
5.3	Analisis KLT senyawa (3)	38
5.4	Kemungkinan struktur dasar senyawa (1)	39
5.5	Struktur dasar senyawa (1)	40
5.6	Korelasi antara sinyal proton H-23/H-24 dengan sinyal karbon C-3, C-4, dan C-5 serta korelasi sinyal proton H-29/H-30 dengan sinyal karbon C-17, C-21, dan C-22 pada spektrum HMBC	43
5.7	Korelasi antara sinyal proton H-1, H-2, H-23/H-24 dengan sinyal karbon C-3 serta korelasi sinyal proton H-19, H-20, H-29/H-30 dengan sinyal karbon C-21 pada spektrum HMBC	43
5.8	Korelasi antara sinyal proton H-25 dengan sinyal karbon C-1, C-5, C-9, dan C-10 serta korelasi sinyal proton H-28 dengan sinyal karbon C-13, C-17, C-18, dan C-19 pada spektrum HMBC	44

5.9	Korelasi antara sinyal proton H-7 dengan sinyal karbon C-5, C-9, dan C-26 pada spektrum HMBC	44
5.10	Korelasi antara sinyal proton H-27 dengan sinyal karbon C-13, C-14, dan C-15 pada spektrum HMBC	45
5.11	Korelasi antara sinyal proton H-11 dengan sinyal karbon C-9 serta korelasi sinyal proton H-12 dengan sinyal karbon C-13 pada spektrum HMBC	45
5.12	Struktur senyawa <i>8,14-secogammacera-7,14(27)-diene-3, 21-dione</i> (α,γ -onoceradiendion) hasil isolasi	46
5.13	Persen viabilitas sel (A) HeLa, (B) T47D, dan (C) A549 setelah 48 jam dengan menggunakan metode MTT/XTT	51

DAFTAR TABEL

No.	Judul Tabel	Halaman
2.1	Distribusi senyawa metabolit sekunder pada genus <i>Lansium</i>	9
2.2	Klasifikasi dari terpenoid	10
2.3	Berbagai macam bioaktivitas yang dimiliki genus <i>Lansium</i>	19
5.1	Korelasi sinyal proton dan sinyal karbon senyawa (1) pada spektrum HSQC	41
5.2	Korelasi sinyal proton dan sinyal karbon senyawa (1) pada spektrum HMBC	42
5.3	Data NMR senyawa <i>8,14-secogammacera-7,14(27)-diene-3,21-dione</i> hasil isolasi dari kulit buah <i>Lansium domesticum</i> ...	47
5.4	Perbandingan data spektrum ^1H dan ^{13}C -NMR dari senyawa <i>8,14-secogammacera-7,14(27)-diene-3,21-dione</i>	48
5.5	Hasil perhitungan nilai IC_{50} dari ekstrak dan senyawa hasil isolasi	52

DAFTAR LAMPIRAN



No.	Judul Lampiran
Lampiran 1.	Hasil identifikasi tumbuhan
Lampiran 2.	Spektrum UV senyawa (1)
Lampiran 3.	Spektrum IR dalam KBr senyawa (1)
Lampiran 4.	Spektrum $^1\text{H-NMR}$ dalam CDCl_3 senyawa (1)
Lampiran 5.	Spektrum $^{13}\text{C-NMR}$ yang dilengkapi dengan DEPT 90 dan DEPT 135 senyawa (1)
Lampiran 6.	Spektrum HSQC senyawa (1)
Lampiran 7.	Spektrum HMBC senyawa (1)
Lampiran 8.	Spektrum COSY senyawa (1)
Lampiran 9.	Spektrum UV senyawa (2)
Lampiran 10.	Spektrum IR dalam KBr senyawa (2)
Lampiran 11.	Spektrum UV senyawa (3)
Lampiran 12.	Hasil uji aktivitas antikanker kulit buah langsung (<i>Lansium domesticum</i>) dengan MTT assay terhadap sel HeLa
Lampiran 13.	Hasil uji aktivitas antikanker kulit buah langsung (<i>Lansium domesticum</i>) dengan MTT assay terhadap sel T47D
Lampiran 14.	Hasil uji aktivitas antikanker kulit buah langsung (<i>Lansium domesticum</i>) dengan XTT assay terhadap sel A549
Lampiran 15.	Analisis perhitungan nilai IC_{50} dari ekstrak, senyawa hasil isolasi dan doksorubisin terhadap sel HeLa
Lampiran 16.	Analisis perhitungan nilai IC_{50} dari ekstrak, senyawa hasil isolasi dan doksorubisin terhadap sel T47D
Lampiran 17.	Analisis perhitungan nilai IC_{50} dari ekstrak dan senyawa hasil isolasi terhadap sel A549

BAB I
PENDAHULUAN

BAB I

PENDAHULUAN



1.1 Latar Belakang

Kanker merupakan salah satu penyakit penyebab kematian dengan jumlah penderita yang terus bertambah di setiap tahunnya (Sloane, 2009). Penyakit kanker ditandai oleh pertumbuhan sel abnormal yang tidak terkontrol. Kanker dapat menyerang jaringan dan organ yang ada pada manusia. Penyakit kanker menjadi beban kesehatan utama pada masyarakat baik di negara maju maupun berkembang (Manosroi *et al.*, 2012). *Global Burden of Cancer* (Globocan) menyebutkan bahwa pada tahun 2018 terdapat sekitar 18,1 juta kasus baru dengan angka kematian sebesar 9,6 juta kematian di dunia. Kasus kanker pada wanita banyak menyerang di bagian organ genital, payudara, dan paru-paru (Daníhelová *et al.*, 2013). Prevalensi penyakit kanker serviks dan kanker payudara sangat tinggi yaitu mencapai 0,8% dan 0,5% di tahun 2013. Kanker paru-paru menyusul di peringkat ketiga sebagai penyebab kematian tertinggi akibat kanker di dunia. Penyakit kanker paru-paru merupakan jumlah kasus baru terbanyak di dunia yaitu sebesar 2,1 juta atau 11,6% dari total beban kejadian kanker di dunia. *World Health Organization* (WHO) menyatakan bahwa pada tahun 2015 terdapat sekitar 1,7 juta kematian akibat kanker paru-paru. Ketiga kanker ini menjadi perhatian utama di Indonesia (Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2016).

Pengobatan kanker dapat dilakukan melalui operasi, radioterapi, kemoterapi, dan imunoterapi (Arbiastutie *et al.*, 2017; Pillai, 2019). Kemoterapi merupakan salah satu pengobatan yang paling banyak digunakan dalam semua jenis kanker. Metode ini memberikan efek samping yang buruk serta efikasi yang rendah terhadap penyakit kanker. Metode pengobatan kanker ini seringkali

mengalami kegagalan dikarenakan oleh penyembuhan yang hanya efektif untuk sementara waktu, rendahnya selektivitas obat antikanker sehingga bersifat merusak seluruh sel termasuk sel yang normal, serta resistensi sel kanker terhadap agen kemoterapi. Salah satu konsekuensinya adalah dengan meningkatkan dosis terapi. Berbagai macam strategi untuk mengurangi gejala serta memperpanjang usia harapan hidup telah banyak dilakukan (Nakano *et al.*, 2010; Matias *et al.*, 2017; Rayan *et al.*, 2017; Mutiah *et al.*, 2018). Hal ini mendorong peneliti untuk mencari serta mengembangkan agen antikanker baru.

Salah satu upaya untuk mencari dan mengembangkan antikanker baru yaitu dengan melakukan eksplorasi senyawa metabolit sekunder yang ada pada tanaman khas Indonesia. Indonesia merupakan negara yang kaya akan tanaman yang berpotensi memiliki khasiat sebagai obat. Berbagai macam tanaman yang tumbuh di daerah tropis memiliki sejarah panjang dalam pengobatan kanker. Terdapat lebih dari 3000 spesies tanaman yang telah dilaporkan untuk pengobatan kanker (Hartwell, 1982; Cragg & Newman, 2005). Namun masih banyak tanaman yang kurang dikenal, tumbuh liar, dan belum banyak dimanfaatkan. Di sisi lain banyak pula tanaman lainnya yang belum dimanfaatkan secara optimal meski telah dikenal luas oleh masyarakat. Salah satu tanaman di Indonesia yang diduga memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai antikanker yaitu *Lansium domesticum*. *Lansium domesticum* dari famili Meliaceae merupakan tanaman tropis yang buahnya sering disajikan sebagai makanan penutup. *Lansium domesticum* dapat ditemukan di wilayah Asia Tenggara terutama Indonesia. Langsung (*Lansium domesticum*) memiliki hubungan kekerabatan dengan duku maupun kokosan (Rohin *et al.*, 2016; Matsumoto *et al.*, 2018).

Berdasarkan studi literatur, genus *Lansium* mengandung berbagai macam senyawa sesquiterpenoid dan triterpenoid dengan kerangka yang unik dan langka seperti onoceranoid (Nishizawa *et al.*, 1982; 1983; 1989; Tanaka *et al.*, 2002; Omar *et al.*, 2007; Dong *et al.*, 2011; Mayanti *et al.*, 2011; Potipiranun *et al.*, 2017; Ramadhan *et al.*, 2018; Matsumoto *et al.*, 2018), tetranortriterpenoid (Nishizawa *et al.*, 1985; 1988; Saewan *et al.*, 2006; Rudyansyah *et al.*, 2018), dan sikloartenoid triterpen (Nishizawa *et al.*, 1989; Mayanti *et al.*, 2015). Senyawa

aktif dari genus *Lansium* memiliki aktivitas farmakologis yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan obat. Bagian biji berperan sebagai *antifeedant* (Mayanti *et al.*, 2011), bagian buah dapat digunakan untuk mengobati penyakit malaria (Rudiyansyah *et al.*, 2018), bagian kulit buah berperan sebagai antidiabetes dan antioksidan (Potipiranun *et al.*, 2017; Ramadhan *et al.*, 2018), sedangkan bagian daun dan kulit batang dapat mengganggu siklus hidup parasit *Plasmodium falciparum* (Yapp & Yap, 2003).

Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak kloroform buah langsung (*L. domesticum*) memiliki efek sitotoksik terhadap sel kanker KB dan HT-29 dengan nilai IC_{50} sebesar $13,84 \pm 4,21$ dan $8,68 \pm 1,85$ $\mu\text{g/mL}$ (Manosroi *et al.*, 2012). Ekstrak metanol buah *Lansium domesticum* corr. juga mampu menghambat proliferasi sel kanker HT-29 dengan nilai IC_{50} sebesar $6,8 \pm 0,11$ dan $6,79 \pm 0,01$ $\mu\text{g/mL}$. Senyawa triterpenoid merupakan senyawa mayor pada *L. domesticum* yang bertanggung jawab terhadap aktivitas penghambatan ini (Rohin *et al.*, 2016; Khalili *et al.*, 2017). Penelitian mengenai aktivitas antikanker dari senyawa aktif yang ada di *Lansium domesticum* masih sangat terbatas.

Onoceranoid merupakan salah satu jenis senyawa terpenoid yang memiliki cincin terbuka di strukturnya dimana cincin terbuka ini tidak bisa ditemukan di golongan triterpenoid pada umumnya. Oleh karena itulah strukturnya dianggap unik dan langka (Ramadhan *et al.*, 2018). Hingga saat ini belum ada literatur mengenai aktivitas antikanker dari senyawa onoceranoid. Hal ini mendorong peneliti untuk melakukan uji aktivitas antikanker pada senyawa onoceranoid yang terdapat di kulit buah *Lansium domesticum*.

Berdasarkan latar belakang yang telah dijelaskan maka penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi struktur molekul senyawa onoceranoid pada ekstrak *n*-heksana kulit buah *Lansium domesticum*. Penelitian ini diharapkan dapat menghasilkan senyawa onoceranoid yang baru maupun senyawa onoceranoid yang telah dilaporkan sebelumnya. Proses penelitian diawali dengan maserasi menggunakan pelarut metanol untuk mengekstrak senyawa onoceranoid dari kulit buah *Lansium domesticum*. Proses selanjutnya yaitu metode ekstraksi cair-cair terhadap ekstrak metanol yang diperoleh dengan

menggunakan *n*-heksana diikuti diklorometana dan dilanjutkan dengan pemisahan serta pemurnian menggunakan berbagai teknik kromatografi. Senyawa murni yang telah diperoleh selanjutnya ditentukan strukturnya menggunakan metode spektroskopi yang meliputi UV-Vis, IR, 1D dan 2D NMR.

Ekstrak *n*-heksana dan senyawa hasil isolasi kulit buah *Lansium domesticum* diuji aktivitas biologisnya sebagai antikanker. Uji aktivitas antikanker pada ekstrak *n*-heksana dan senyawa hasil isolasi kulit buah *Lansium domesticum* dilakukan secara *in vitro* terhadap sel kanker serviks (HeLa), payudara (T47D), dan paru-paru (A549) menggunakan metode (3-(4,5-dimethylthiazolyl-2)-2,5-di phenyltetrazolium bromide) (MTT) dan 2,3-bis[2-methoxy-4-nitro-5-sulfohenyl]-2H-tetrazolium-5-carboxanilide (XTT). Kelebihan metode MTT/XTT ini yaitu uji yang dilakukan sensitif, cepat, akurat, serta dapat mengukur jumlah sampel yang banyak dalam satu waktu (Siregar & Hadijono, 2000; Aslantürk, 2018). Prinsip metode ini didasarkan pada kapasitas enzim dehidrogenase di mitokondria yang ada dalam sel hidup untuk mereduksi garam kuning MTT menjadi formazan ungu yang tidak larut (Abe dan Matsuki, 2000; Rahman *et al.*, 2001), atau garam kuning XTT menjadi formazan oranye yang larut dalam air (Roehm *et al.*, 1991). Perubahan warna menjadi penanda adanya sel hidup (Śliwka *et al.*, 2016; Riss *et al.*, 2016). Warna yang terbentuk dapat ditentukan secara spektrofotometri visibel (Mosmann, 1983; Wang *et al.*, 2011). Aktivitas antikanker ekstrak *n*-heksana dan senyawa hasil isolasi kulit buah *Lansium domesticum* dianalisis berdasarkan nilai daya hambat konsentrasi IC₅₀ yang diperoleh (Meerloo *et al.*, 2011; Bahuguna *et al.*, 2017).

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dijelaskan, maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Apakah senyawa onoceranoid dapat diisolasi dari ekstrak *n*-heksana kulit buah *Lansium domesticum*?
2. Bagaimanakah struktur molekul senyawa onoceranoid yang terkandung dalam ekstrak *n*-heksana kulit buah *Lansium domesticum*?

3. Bagaimanakah potensi aktivitas antikanker yang dimiliki oleh ekstrak *n*-heksana dan senyawa hasil isolasi kulit buah *Lansium domesticum* terhadap sel HeLa, T47D, dan A549?

1.3 Tujuan

1.3.1 Tujuan umum

Penelitian ini secara umum bertujuan untuk mengisolasi, mengidentifikasi, dan menguji aktivitas biologis ekstrak dan senyawa hasil isolasi dari kulit buah langsung (*Lansium domesticum*) sebagai antikanker.

1.3.2 Tujuan khusus

Tujuan khusus dari penelitian ini diantaranya :

1. Mengisolasi senyawa onoceranoid dari ekstrak *n*-heksana kulit buah *Lansium domesticum*.
2. Menentukan struktur molekul senyawa onoceranoid yang terkandung dalam ekstrak *n*-heksana kulit buah *Lansium domesticum*.
3. Mengetahui besarnya aktivitas antikanker yang dimiliki oleh ekstrak *n*-heksana dan senyawa hasil isolasi kulit buah *Lansium domesticum* terhadap sel HeLa, T47D, A549.

1.4 Manfaat

Manfaat dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai keragaman kandungan senyawa onoceranoid dari kulit buah *Lansium domesticum* yang belum banyak diteliti. Hasil uji aktivitas antikanker yang dilakukan juga diharapkan dapat memberikan gambaran mengenai potensi *Lansium domesticum* menjadi salah satu tanaman yang memiliki manfaat dalam mengatasi kanker.

BAB II
TINJAUAN PUSTAKA

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA



2.1 Lansium

Lansium spp. termasuk ke dalam famili Meliaceae (Rodrigues *et al.*, 2018). Mabberley (1985) mengenalkan beberapa spesies dari *Lansium* spp. yang tersebar luas baik di daerah tropis maupun subtropis yaitu diantaranya *L. membranaceum* Kosterm, *L. domesticum* Correa, *L. breviraemosum* Kosterm, *L. anamalayanum* Bedd, serta *L. parasiticum*. Spesies ini tersebar di wilayah tropis dan sub tropis seperti Cina, Thailand, Malaysia, dan Indonesia. Pada umumnya *Lansium* adalah tanaman yang buahnya sering disajikan sebagai makanan penutup namun potensinya belum dikembangkan secara maksimal (Rodrigues *et al.*, 2018).

Ministry of Agricultural & Agro-Based Industry Malaysia menyebutkan bahwa produksi tahunan *Lansium* spp. di dunia mencapai 25.660 juta ton pada tahun 2010. Jumlah ini tentunya sangat luar biasa mengingat *Lansium* spp. tersebar merata di seluruh dunia dan tidak hanya di Indonesia saja. Produksi *Lansium* spp. diperkirakan akan terus meningkat pada tahun-tahun setelahnya (Foo dan Hameed, 2012).

Senyawa aktif yang ada di genus *Lansium* memiliki berbagai aktivitas farmakologis yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan obat. Bagian biji berperan sebagai *antifeedant* serta dapat digunakan untuk mengobati demam dan disentri (Mayanti *et al.*, 2011; Rodrigues *et al.*, 2018), bagian buah dapat digunakan untuk mengobati penyakit malaria (Rudiyansyah *et al.*, 2018), bagian kulit buah berperan sebagai antidiabetes dan antioksidan (Potipiranun *et al.*, 2017; Ramadhan *et al.*, 2018), sedangkan bagian daun dan kulit batang dapat mengganggu siklus hidup parasit *Plasmodium falciparum* (Yapp & Yap, 2003).

2.2 Langsung (*Lansium domesticum*)

Langsat (*Lansium domesticum*) merupakan tanaman tahunan yang masa hidupnya dapat mencapai puluhan bahkan ratusan tahun. Tanaman ini dapat tumbuh di daerah yang curah hujannya tinggi dan merata sepanjang tahun. Langsat merupakan tanaman buah musiman yang cukup dikenal di Indonesia. Langsat termasuk dalam spesies *Lansium domesticum*. Spesies ini terdiri dari beberapa varietas yang sangat bervariasi dalam sifat pohon dan buahnya. Para ahli memisahkannya menjadi tiga kelompok besar yaitu duku, langsat, serta campuran duku-langsat yang lebih dikenal dengan kokosan (Rahardi, 2014).

Langsat (*Lansium domesticum*) berasal dari wilayah Asia Tenggara Bagian Barat. Langsat banyak dibudidayakan di Malaysia, Thailand, Indonesia, serta Filipina. Langsat juga bisa dibudidayakan di daerah lembab seperti Vietnam, Burma, India, Sri Lanka, Hawaii, Australia, Suriname, dan Puerto Riko. Penyebaran langsat meluas dari Semenanjung Thailand Bagian Barat hingga Kalimantan sebelah Timur (Tilaar *et al.*, 2007). Sekarang populasi langsat telah tersebar secara luas di seluruh pelosok nusantara. Langsat memiliki nama lokal yang berbeda-beda di tiap daerah misalnya Burma (*duku, langsak*), Inggris (*langsat, duku*), Filipina (*lanzone, lanzon, lansones, lansone, buahan*), Indonesia (*duku, kokosan, langsat*), Malaysia (*langseh, langsep, lansa*), Thailand (*long-kong, langsook, langsat-khao*), Taiwan (*lan sa guo*), Vietnam (*bòn-bon*), Cina (*lan sa*), Jepang (*ransa*), Itali (*lansio, lanzone*), Jerman (*lansabaum, lansibaum*), Portugis (*duku-doce*), serta Spanyol (*arbol do lanza, lanzon*) (Norhayati *et al.*, 2016; Tilaar *et al.*, 2007; Rodrigues *et al.*, 2018).

Pohon langsat berukuran sedang dengan tinggi mencapai ± 15-20 m. Batangnya beralur-alur dalam tak teratur dengan akar pipih yang menonjol di atas tanah. Kulit batangnya berwarna kelabu berbintik-bintik gelap. Daunnya merupakan daun majemuk yang terdiri dari 6-9 anak daun yang tersusun berseling, pangkal dan ujung meruncing, berbulu halus, serta berwarna hijau. Bunga dari tanaman ini terletak dalam tandan yang muncul dalam cabang atau batang yang besar, menggantung, dan kerap bercabang pada pangkalnya. Buah

langsak berbentuk oval atau bujur dengan diameter 2,5-5 cm. Buah ini ditemukan berkelompok dengan buah lainnya di sepanjang cabang. Buah langsak memiliki kulit yang tipis dan mengandung lateks. Daging buahnya menghasilkan rasa asam hingga manis. Kulit buah langsak berwarna hijau dan akan berubah menjadi kuning saat buahnya matang. Biji langsak merupakan biji dikotil (berkeping dua) yang terbungkus oleh salut biji dan memiliki rasa pahit (Lim, 2012; Foo & Hameed, 2012; Rohin *et al.*, 2016). Gambar dari tanaman langsak dapat dilihat pada Gambar 2.1.



Gambar 2.1 Tanaman *Lansium domesticum* bagian batang dan daun (kiri) serta buah (kanan) (Mabberley, 1985)

Mabberley (1985) mengklasifikasikan tanaman *Lansium domesticum* berdasarkan tingkatan taksonominya. Tingkatan itu dituliskan sebagai berikut :

Kingdom : Plantae
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliopsida
Subklas : Rosidae
Ordo : Sapindales
Famili : Meliaceae
Genus : *Lansium*
Spesies : *Lansium domesticum*

2.3 Fitokimia dari *Lansium*

Hasil studi literatur menunjukkan bahwa genus *Lansium* mengandung senyawa metabolit sekunder berupa terpenoid dengan struktur triterpenoid dan sesquiterpenoid. Beberapa spesies dari genus *Lansium* beserta dengan kandungan senyawa metabolit sekundernya tercantum dalam Tabel 2.1.

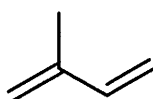
Tabel 2.1 Distribusi senyawa metabolit sekunder pada genus *Lansium*

Spesies	Bagian Tumbuhan	Asal Negara	Jenis Kerangka	Pustaka
<i>L. anamalayanum</i>	Batang	India	Terpenoid (sesquiterpen)	Krishnappa & Dev, 1973
<i>L. domesticum</i>	Batang	Cina	Terpenoid	Dong <i>et al.</i> , 2011
	Daun	Indonesia, Malaysia	Terpenoid (triterpen, onoceranoid)	Nishizawa <i>et al.</i> , 1985; 1989; Matsumoto <i>et al.</i> , 2018
	Kulit buah	Indonesia, Thailand	Terpenoid (triterpen, triterpen glikosida, onoceranoid)	Nishizawa <i>et al.</i> , 1982; 1983; Tanaka <i>et al.</i> , 2002; Mayanti <i>et al.</i> , 2011
	Biji	Indonesia, Filipina	Terpenoid (tertranortriterpenoid, onoceranoid)	Nishizawa <i>et al.</i> , 1985; 1988; Saewan <i>et al.</i> , 2006, Ragasa <i>et al.</i> , 2006; Mayanti <i>et al.</i> , 2011 Rudiyanayah <i>et al.</i> , 2018
	Buah	Malaysia	Terpenoid (sesquiterpen)	Wong <i>et al.</i> , 1994
<i>L. parasiticum</i>	Kulit buah	Thailand	Terpenoid (onoceranoid, triterpen xyloside)	Potipiranun <i>et al.</i> , 2018; Ramadhan <i>et al.</i> , 2018

2.4 Terpenoid

Terpenoid merupakan kelas terbesar dari senyawa metabolit sekunder berdasarkan jumlah senyawa dan variasi kerangka dasar struktur. Terdapat lebih dari 36.000 jenis terpenoid yang telah dilaporkan keberadaannya. Senyawa-senyawa terpenoid dihasilkan oleh tumbuhan dan hewan melalui biosintesis dari penggabungan asetil koenzim A melalui jalur asetat malonat. Terpenoid tersusun atas karbon dengan penggabungan dua atau lebih unit C_5 yang disebut unit isopren. Rumus dasar terpenoid adalah $(C_5H_8)_n$ dengan n merupakan penentu kelompok terpenoid (Yang *et al.*, 2016; Ludwiczuk *et al.*, 2017). Struktur dasar terpenoid dapat dilihat pada Gambar 2.2. Klasifikasi terpenoid berdasarkan jumlah satuan isoprena yang terikat ditunjukkan pada Tabel 2.2.

Terpenoid adalah senyawa utama yang terdapat pada genus *Lansium*. Genus *Lansium* mengandung berbagai macam senyawa sesquiterpenoid serta triterpenoid dengan kerangka yang unik seperti tetranortriterpenoid, triterpenoid glikosida, onoceranoide, dan sikloartenoid triterpen.



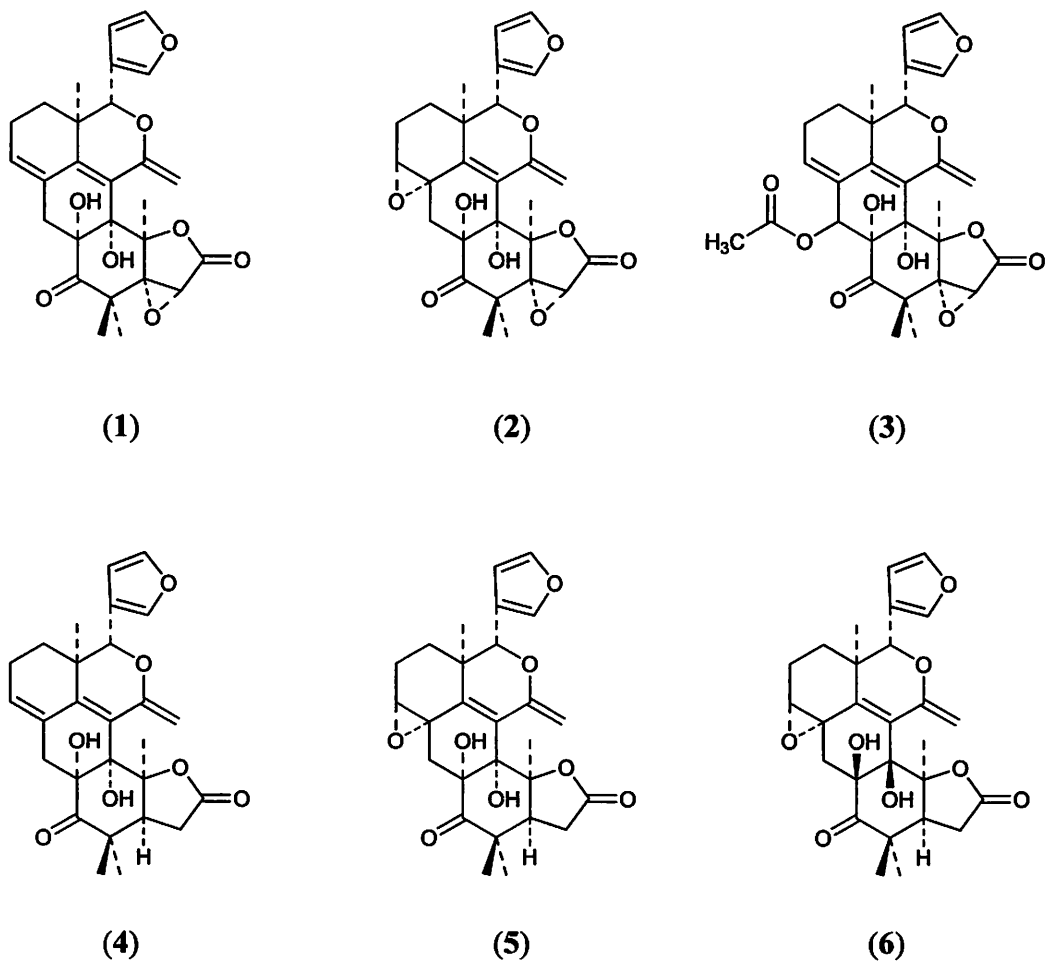
Gambar 2.2 Struktur dasar senyawa terpenoid

Tabel 2.2 Klasifikasi dari terpenoid (Ludwiczuk *et al.*, 2017)

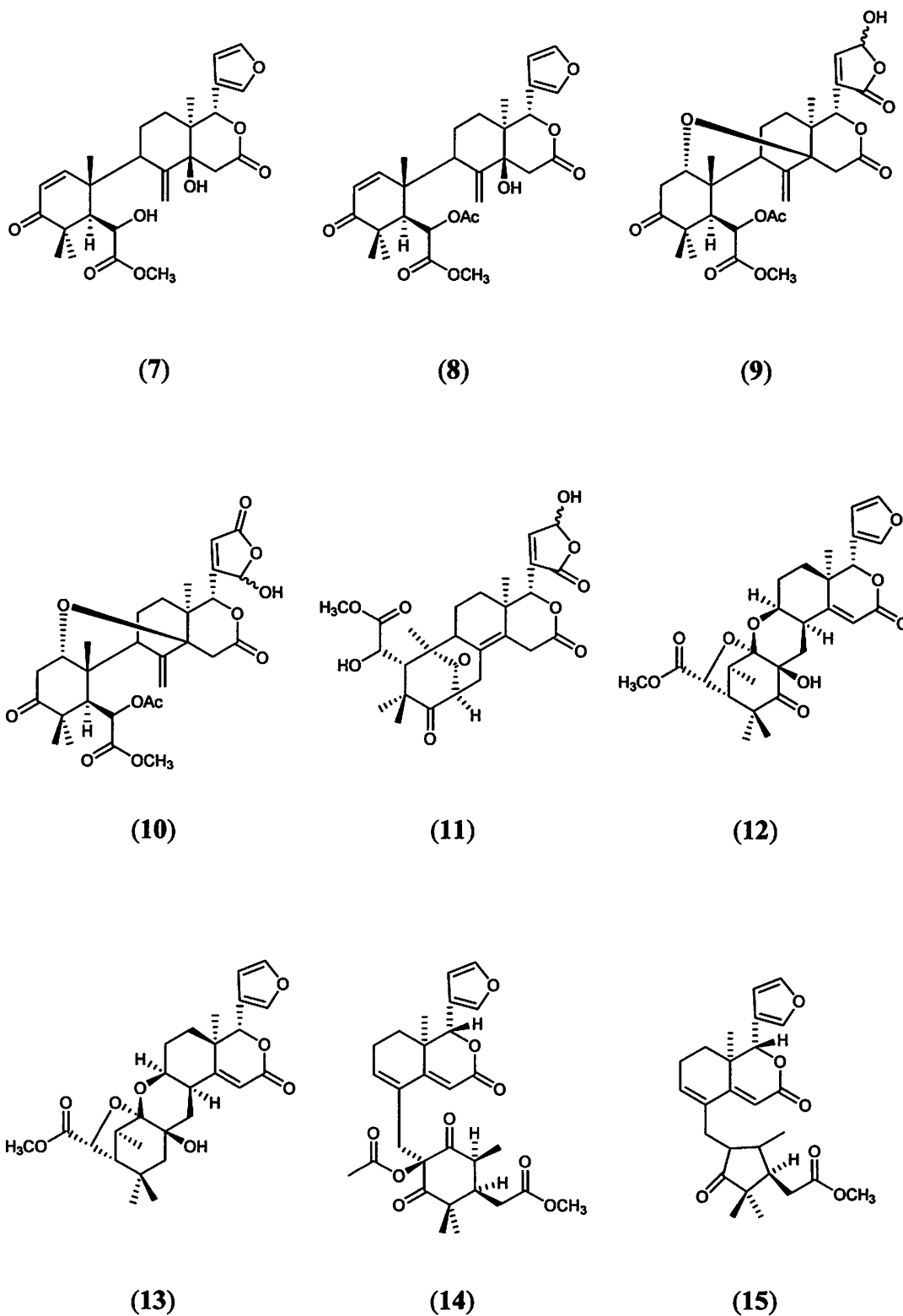
Kelompok	Jumlah Unit Isoprena	Jumlah Atom Karbon	Rumus Dasar
Hemiterpenoid	1	5	C_5H_8
Monoterpenoid	2	10	$C_{10}H_{16}$
Sesquiterpenoid	3	15	$C_{15}H_{24}$
Diterpenoid	4	20	$C_{20}H_{32}$
Sesterterpenoid	5	25	$C_{25}H_{40}$
Triterpenoid	6	30	$C_{30}H_{48}$
Tertraterpenoid	8	40	$C_{40}H_{64}$
Politerpenoid	> 8	> 40	$(C_5H_8)_n$

2.4.1 Triterpenoid

Triterpenoid merupakan senyawa terpenoid yang terdiri dari enam unit isoprena (Ludwiczuk *et al.*, 2017). Genus *Lansium* menghasilkan berbagai ragam senyawa triterpenoid dengan kerangka yang unik dan langka seperti tetranortriterpenoid, triterpenoid glikosida, onoceranoid dan sikloartenoid triterpen. Beberapa senyawa terpenoid dengan kerangka tetranortriterpenoid yang berhasil diisolasi dari genus *Lansium* antara lain dukunolide A-F (1-6) (Nishizawa *et al.*, 1985; 1988), domesticulide A-E (7-11) (Saewan *et al.*, 2006), kokosanolide A & C (12-13) langsungides A-B (14-15) (Rudiyansyah *et al.*, 2018). Struktur molekul senyawa tetranortriterpenoid dapat dilihat pada Gambar 2.3.

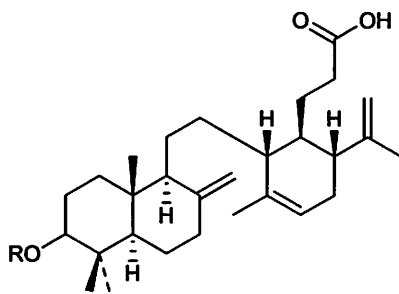


Gambar 2.3 Struktur senyawa tetranortriterpenoid genus *Lansium*



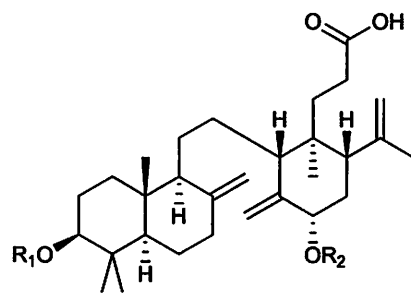
Gambar 2.3 Struktur senyawa tetranortriterpenoid genus *Lansium* (lanjutan)

Beberapa senyawa terpenoid dengan kerangka triterpenoid glikosida yang berhasil diisolasi dari genus *Lansium* antara lain lansioside A-C (16-18) (Nishizawa *et al.*, 1982; 1983), lansium acids VI-IX (19-22) (Matsumoto *et al.*, 2018), dan methyl lansioside C (23) (Ramadhan *et al.*, 2018). Struktur molekul senyawa triterpenoid glikosida dapat dilihat pada Gambar 2.4.



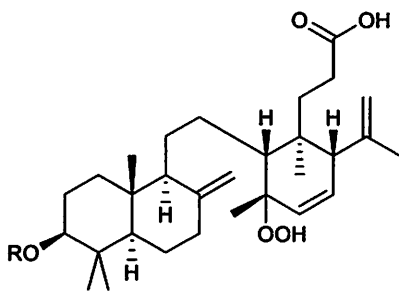
- (16) R = *N*-acetyl- β -D-glucosamine
 (17) R = β -D-glucose
 (18) R = β -D-xylose

(16-18)



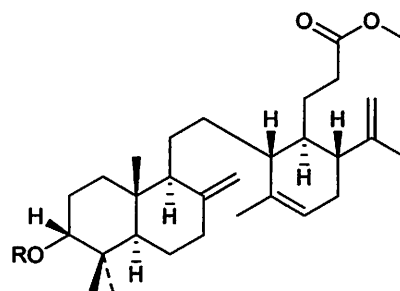
- (19) R₁ = β -D-xylose, R₂ = H
 (20) R₁ = β -D-xylose, R₂ = OH
 (21) R₁ = *N*-acetyl- β -D-glucosamine, R₂ = OH

(19-21)



R = β -D-xylose

(22)

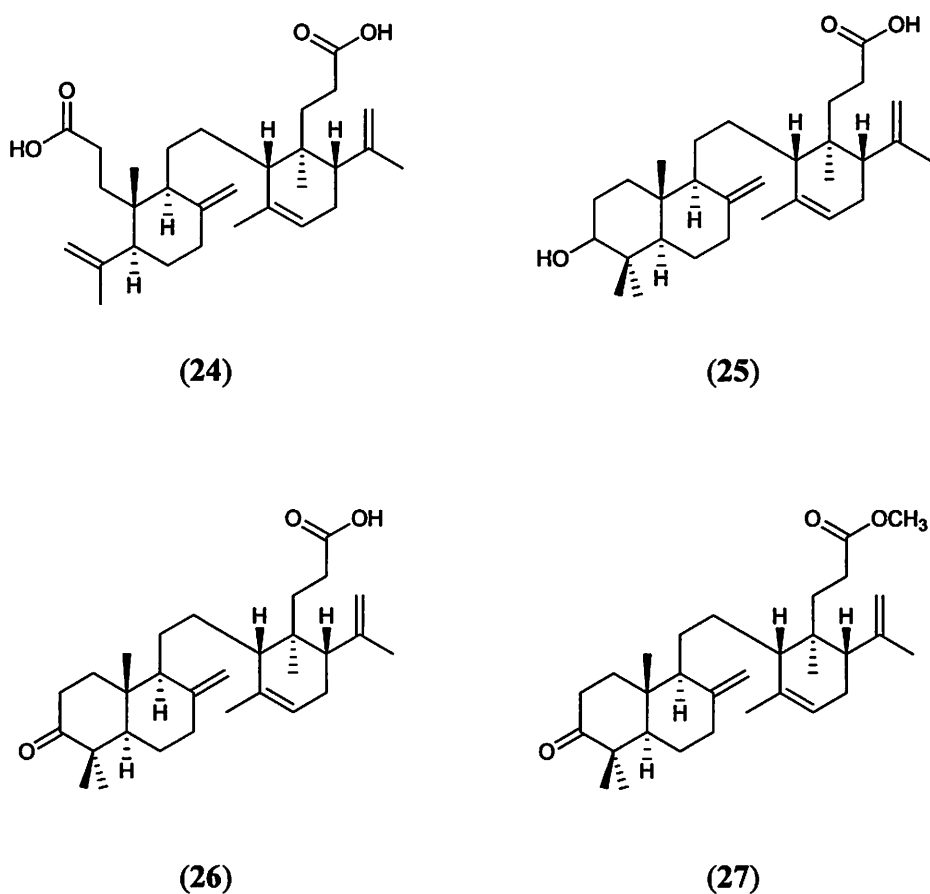


R = β -D-xylose

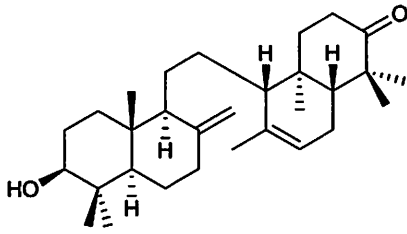
(23)

Gambar 2.4 Struktur senyawa triterpenoid glikosida genus *Lansium*

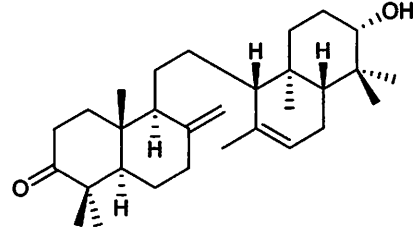
Beberapa senyawa terpenoid dengan kerangka onoceranoid yang berhasil diisolasi dari genus *Lansium* antara lain lassic acid (24), lansiolic acid (25) (Nishizawa *et al.*, 1989), lansionic acid (26), methyl lansionate (27), 3 β -hydroxyonocera-8(26),14-dien-21-one(28), 21 α -hydroxyonocera-8(26),14-dien-3-one (29) (Tanaka *et al.*, 2002), onoceratriene (30), onoceradienedione (31), 3-keto lansiolic acid (32), lansiolic acid A (33) (Omar *et al.*, 2007), lamesticum A-F (34-39), etil lansiolat (40) (Dong *et al.*, 2011), kokosanolide B (41) (Mayanti *et al.*, 2011), lamesticum G (42) (Potipiranun *et al.*, 2017), lassic acid 3-etil ester (43) dan lassium acids I-V (44-48) (Matsumoto *et al.*, 2018). Struktur molekul senyawa onoceranoid dapat dilihat pada Gambar 2.5.



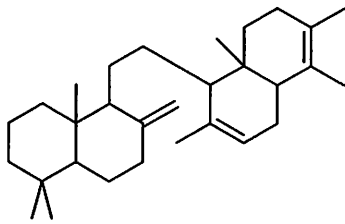
Gambar 2.5 Struktur senyawa onoceranoid genus *Lansium*



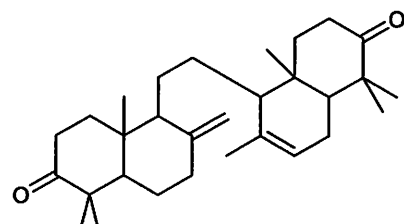
(28)



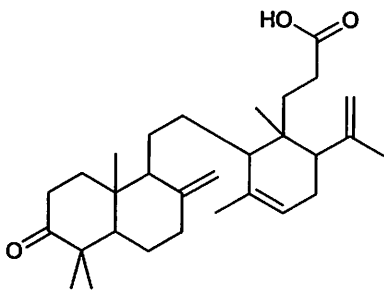
(29)



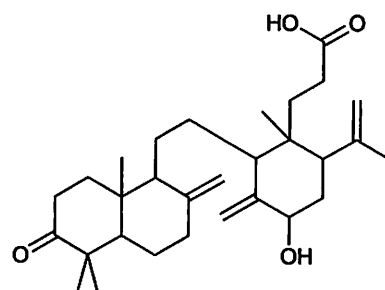
(30)



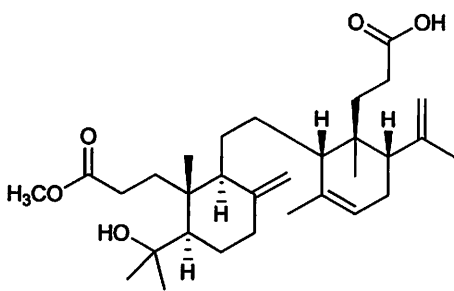
(31)



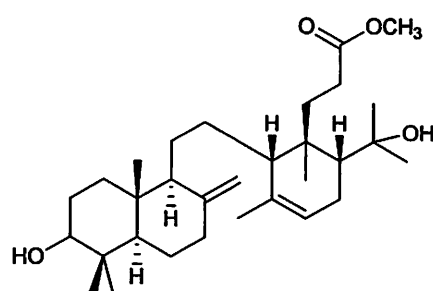
(32)



(33)

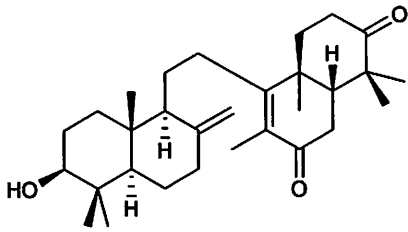


(34)

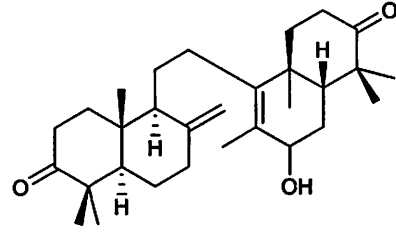


(35)

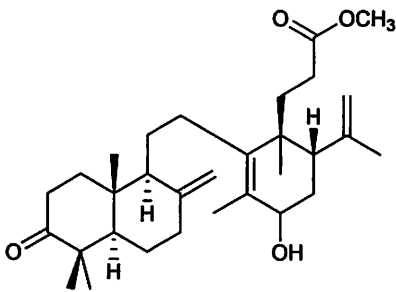
Gambar 2.5 Struktur senyawa onoceranoid genus *Lansium* (lanjutan)



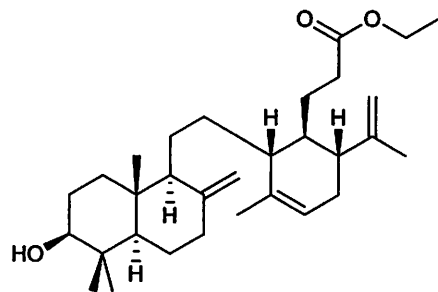
(36)



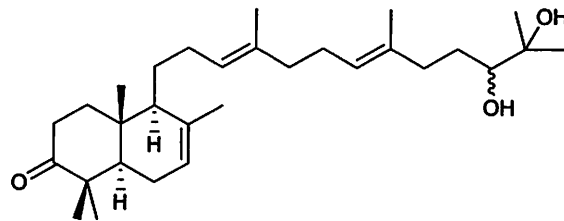
(37)



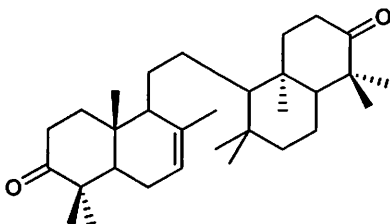
(38)



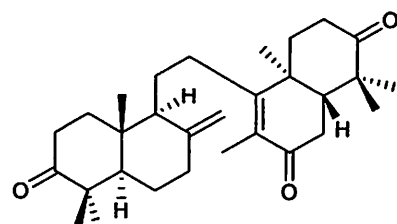
(40)



(39)

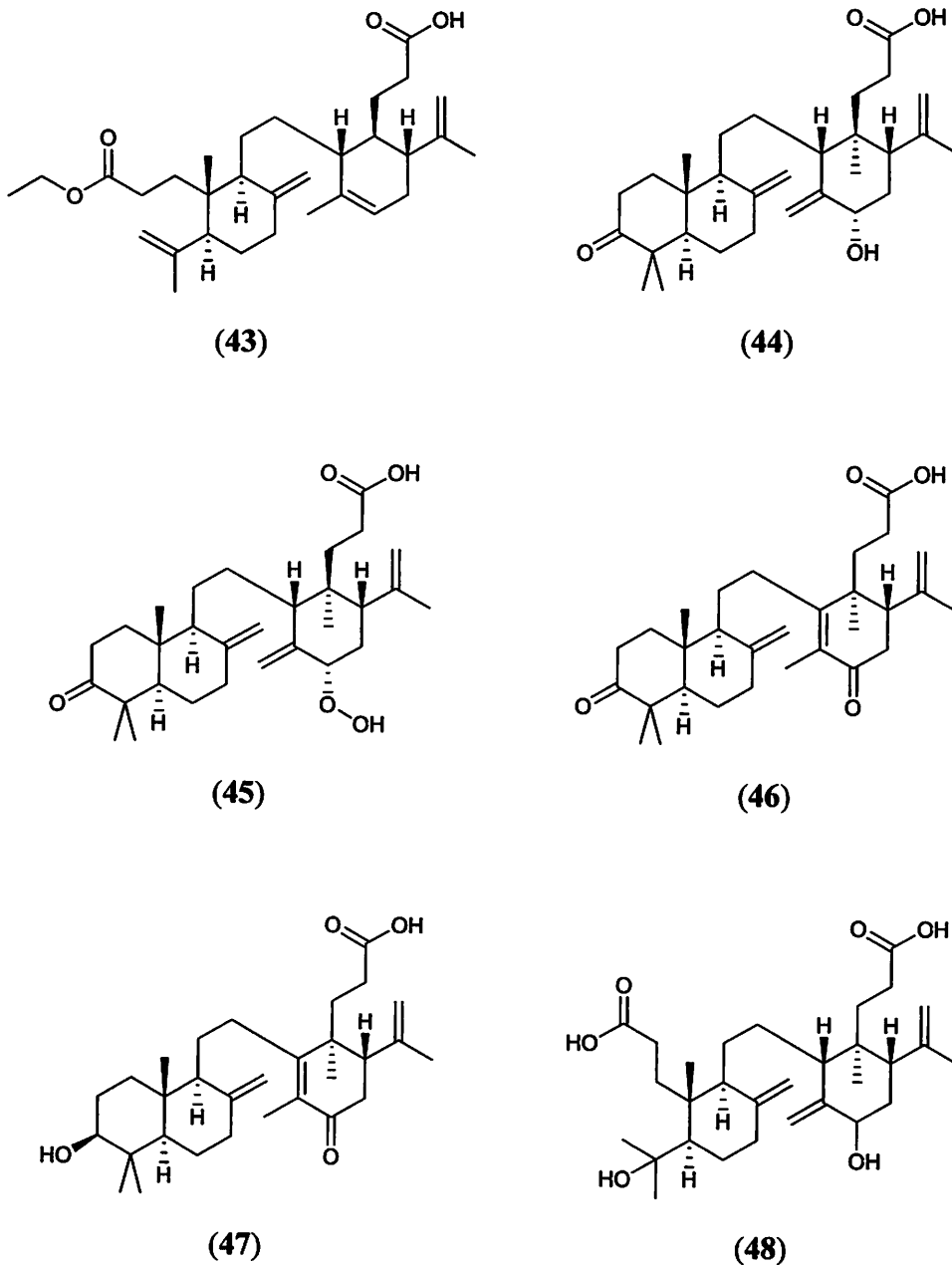


(41)



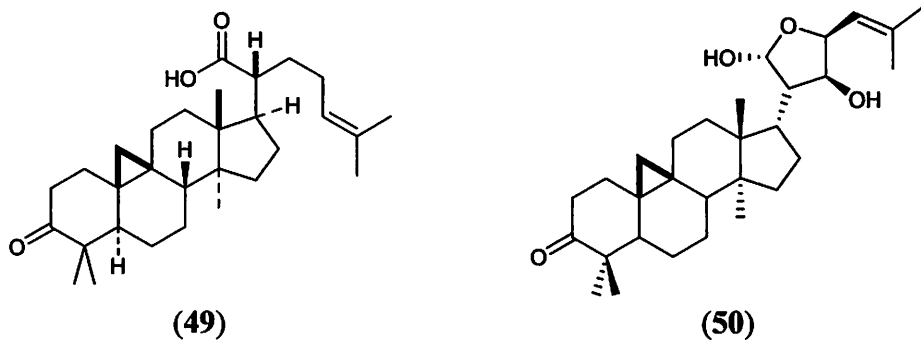
(42)

Gambar 2.5 Struktur senyawa onoceranoid genus *Lansium* (lanjutan)



Gambar 2.5 Struktur senyawa onoceranoic acid genus *Lansium* (lanjutan)

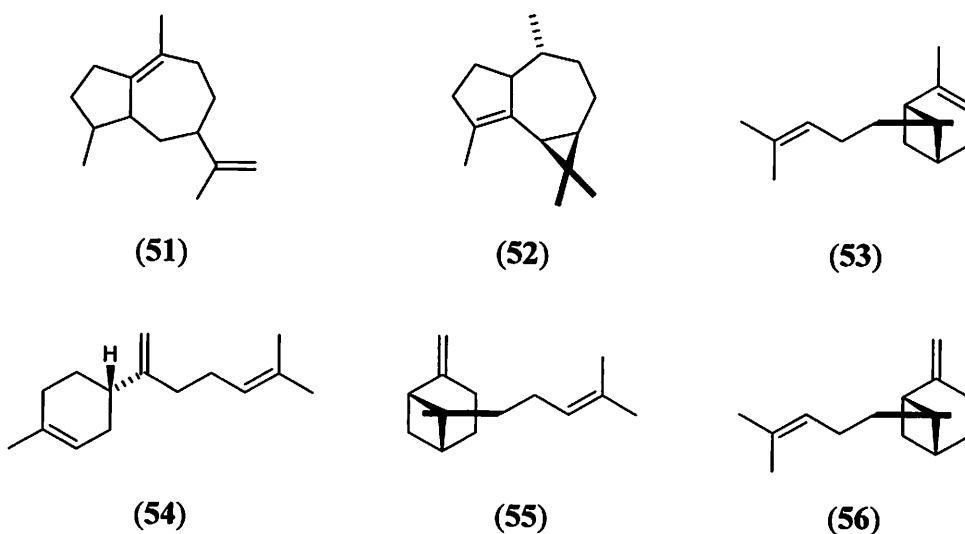
Senyawa terpenoid dengan kerangka sikloartenoid triterpen yang berhasil diisolasi dari genus *Lansium* antara lain 3-oxo-24-cycloarten-21-oic acid (49) (Nishizawa *et al.*, 1989), 9,19-cyclolanost-24-en-3-one,21,23-epoxy-21,22-dihydroxy (21R, 22S, 23S) (50) (Mayanti *et al.*, 2015). Struktur molekul senyawa sikloartenoid triterpen dapat dilihat pada Gambar 2.6.



Gambar 2.6 Struktur senyawa sikloartenoid triterpen genus *Lansium*

2.4.2 Sesquiterpenoid

Sesquiterpenoid merupakan senyawa terpenoid yang terdiri dari tiga unit isoprena. Sesquiterpenoid berupa senyawa volatil yang terdapat dalam bunga, buah, batang, dan daun. (Yang *et al.*, 2016; Ludwiczuk *et al.*, 2017). Senyawa terpenoid golongan sesquiterpen yang berhasil diisolasi dari genus *Lansium* diantaranya chigadmarene (51), α -gurjunene (52), α -trans-bergamotene (53), β -bisabolene (54), β -cis-bergamotene (55), dan β -trans-bergamotene (56) (Krishnappa dan Dev, 1973; Wong *et al.*, 1994). Struktur molekul senyawa sesquiterpenoid dapat dilihat pada Gambar 2.7.



Gambar 2.7 Struktur senyawa sesquiterpenoid genus *Lansium*

2.5 Bioaktivitas Genus *Lansium*

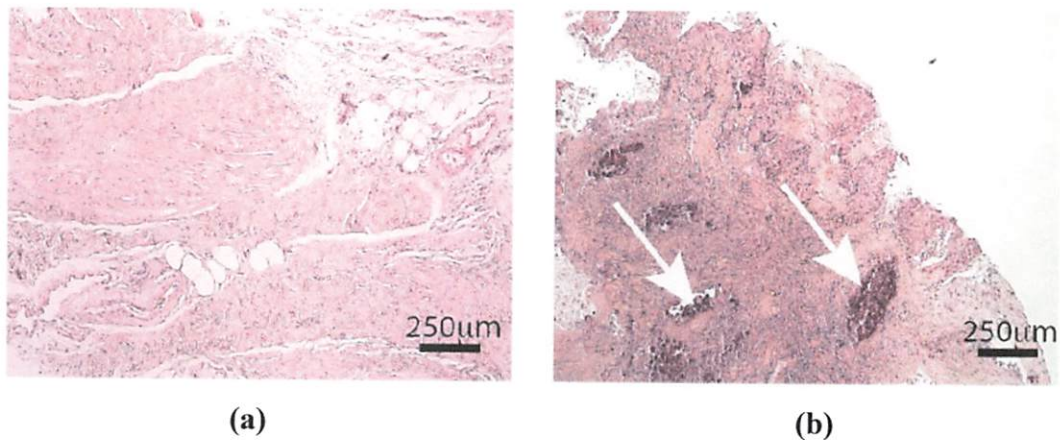
Senyawa metabolit sekunder yang ada pada genus *Lansium* menunjukkan berbagai bioaktivitas seperti antioksidan, antimikroba, antibakteri, antimalaria, antiproliratif, antimelanogenesis, *antifeedant*, serta antidiare (Rodrigues *et al.*, 2018; Venkatachalam, 2019). Berbagai macam bioaktivitas pada genus *Lansium* tercantum pada Tabel 2.3.

Tabel 2.3 Berbagai macam bioaktivitas yang dimiliki genus *Lansium*

Spesies	Bagian Tumbuhan	Ekstrak yang Diuji	Bioaktivitas	Pustaka
<i>L. domesticum</i>	Biji	Ekstrak etanol, diklorometana, metanol	Insektisida, antimalaria, <i>antifeedant</i>	Leatemia & Isman, 2004; Saewan <i>et al.</i> , 2006; Yapp & Yap, 2003; Mayan-ti <i>et al.</i> , 2011
	Daun	Ekstrak metanol, air	Aktivitas inhibisi, antimalaria, antimutagen	Nishizawa <i>et al.</i> , 1989; Yapp & Yap, 2003; Matsumoto <i>et al.</i> , 2018
	Kulit batang	Ekstrak etanol, etil asetat	Antimalaria, <i>antifeedant</i> , antibakteri, antimelanogenesis	Leaman <i>et al.</i> , 1995; Dong <i>et al.</i> , 2011; Arung <i>et al.</i> , 2009
	Buah	Ekstrak kloroform, metanol	Antikanker	Manosroi <i>et al.</i> , 2012; Rohin <i>et al.</i> , 2016; Khalili <i>et al.</i> , 2017
	Kulit buah	Ekstrak air, eter, metanol	Antimikroba, antimalaria, anti toksik, <i>antifeedant</i>	Ragasa <i>et al.</i> , 2006; Shankar <i>et al.</i> , 2014; Yapp & Yap, 2003; Tanaka <i>et al.</i> , 2002; Mayanti <i>et al.</i> , 2011;
<i>L. parasiticum</i>	Kulit buah	Ekstrak etil asetat	Anti diabetes, antioksidan	Potipiranun <i>et al.</i> , 2017; Ramadhan <i>et al.</i> , 2018

2.6 Kanker

Kanker merupakan sel dengan proliferasi yang tidak terkendali akibat kerusakan gen, utamanya pada regulator siklus sel, sehingga menyebabkan ketidakseimbangan antara proliferasi sel dan kematian sel. Kanker terjadi berdasarkan perubahan mendasar dalam fisiologis sel yang akhirnya tumbuh menjadi malignan. Perubahan tersebut disebabkan adanya perubahan ekspresi gen yang menyebabkan disregulasi terutama siklus sel dan apoptosis (Ruddon, 2007). Sel kanker mempunyai kemampuan tumbuh tidak terkendali, menyerang jaringan biologis sekitarnya serta mampu bermigrasi ke jaringan tubuh yang lain melalui sirkulasi darah atau sistem limfatik atau metastatis (Farida, 2010). Gambar representatif dari sel normal dan sel kanker diperlihatkan pada Gambar 2.8 (Lucin, 2018).

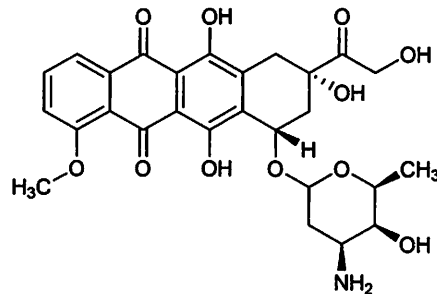


Gambar 2.8 Gambar representatif dari sel (a) normal dan (b) kanker (Lucin, 2018).

2.7 Doksorubisin

Doksorubisin merupakan obat antikanker paling populer (Tan *et al.*, 2009). Doksorubisin adalah salah satu jenis obat golongan antrasiklin yang berasal dari *Streptomyces peucetius* var. *caesius*. Doksorubisin banyak digunakan untuk mengobati berbagai jenis kanker seperti payudara, ovarium, paru-paru, kandung kemih, tiroid, hati, leukemia, dan limfoma ganas. Doksorubisin disetujui

sebagai salah satu obat kemoterapi yang paling kuat oleh *Food and Drug Administration*. Doksorubisin memiliki kemampuan dalam memerangi sel kanker yang membelah dengan cepat (Vardanyan & Hruby, 2006; Tacar *et al.*, 2012). Struktur doksorubisin dapat dilihat pada Gambar 2.9 (Pillai, 2019). Doksorubisin adalah kontrol positif yang digunakan dalam uji aktivitas antikanker.



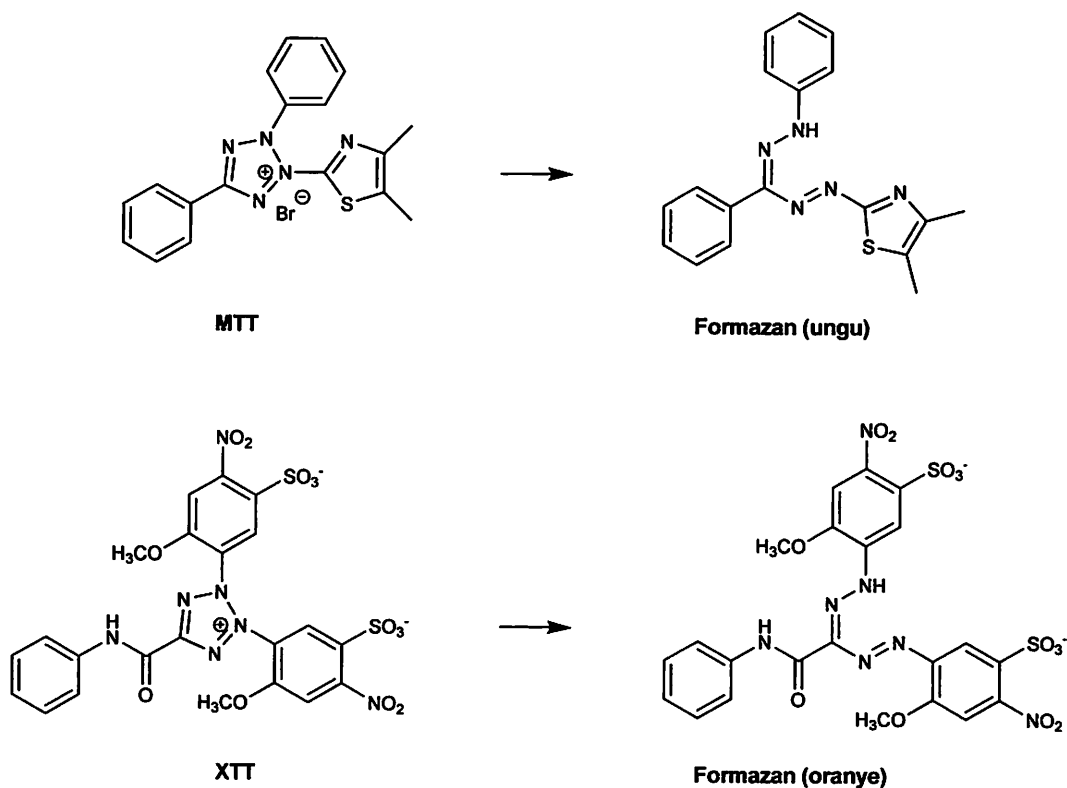
Gambar 2.9 Struktur senyawa doksorubisin (Vardanyan & Hruby, 2006; Pillai, 2019)

2.8 Uji Aktivitas Antikanker

Sel kultur banyak digunakan dalam uji sitotoksik secara *in vitro* untuk mengevaluasi tingkat ketoksikan suatu senyawa. Sel kultur adalah sel yang dikembangkan dan ditumbuhkan pada media kultur secara *in vitro*. Sel kultur dapat diambil dari jaringan asal maupun memperbanyak sel yang sudah ada. Sel kultur yang digunakan diantaranya sel kanker payudara yaitu sel MCF-7, 4T1, dan T47D, sel kanker leher rahim (serviks) yaitu sel HeLa, sel kanker paru-paru yaitu A549, HTB-183, SK-LU1, SW900, H441, H661, haGo-K1 dan sel-sel kultur lainnya. Sel HeLa, T47D, dan A549 dipilih dalam penelitian uji aktivitas antikanker secara *in vitro* karena penanganannya mudah, memiliki kemampuan replikasi yang baik dan tidak terbatas, homogenitas yang tinggi, serta mudah diganti dengan *frozen stock* jika terjadi kontaminasi (Holliday & Speirs, 2011; Putra *et al.*, 2017).

Garam tetrazolium MTT 3-(4,5-dimethyl-2-thiazol)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide dan XTT 2,3-bis[2-methoxy-4-nitro-5-sulfofenyl]-2H-tetrazolium-5-carboxanilide banyak digunakan sebagai metode uji untuk

mengukur viabilitas dan proliferasi sel. Kelebihan metode ini yaitu uji yang dilakukan sensitif, cepat, akurat, serta dapat mengukur jumlah sampel yang banyak dalam satu waktu (Siregar & Hadijono, 2000; Aslantürk, 2018). Prinsip metode ini didasarkan pada kapasitas enzim dehidrogenase di mitokondria yang ada dalam sel hidup untuk mereduksi garam kuning MTT menjadi formazan ungu yang tidak larut (Abe dan Matsuki, 2000; Rahman *et al.*, 2001), atau garam kuning XTT menjadi formazan oranye yang larut dalam air (Roehm *et al.*, 1991). Konsentrasi formazan yang berwarna ungu ataupun oranye dapat ditentukan secara spektrofotometri visibel dan berbanding lurus dengan jumlah sel hidup karena reduksi hanya terjadi ketika enzim reduktase yang terdapat dalam jalur respirasi sel pada mitokondria aktif (Mosmann, 1983; Wang *et al.*, 2011). Absorbansi larutan berwarna ini dapat diukur menggunakan *ELISA reader* pada panjang gelombang antara 570 nm (MTT) dan 460 nm (XTT). Reaksi reduksi MTT/XTT dapat dilihat pada Gambar 2.10 (Wang *et al.*, 2011).



Gambar 2.10 Reaksi reduksi garam (a) MTT dan (b) XTT menjadi kristal formazan (Wang *et al.*, 2011)

Daya hambat konsentrasi suatu senyawa terhadap sel kanker dinyatakan dalam 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 (Anwar *et al.*, 2018; Arbiastutie *et al.*, 2017). *National Cancer Institute* (NCI) telah menetapkan kriteria aktivitas antikanker berdasarkan nilai *inhibitory concentration* (IC_{50}) yaitu konsentrasi zat yang dibutuhkan untuk menghambat pertumbuhan sel sebesar 50%. Anwar *et al* (2018) menyatakan bahwa suatu senyawa dikategorikan sebagai senyawa aktif antikanker jika senyawa tersebut memiliki nilai $IC_{50} < 20 \mu\text{g/mL}$ (sangat aktif), $IC_{50} = 20-100 \mu\text{g/mL}$ (aktif), dan $IC_{50} > 100 \mu\text{g/mL}$ (tidak aktif). Arbiastutie *et al* (2017) menyatakan bahwa suatu ekstrak dikategorikan sebagai senyawa aktif antikanker jika senyawa tersebut memiliki nilai $IC_{50} < 100 \mu\text{g/mL}$ (sangat aktif), $IC_{50} = 100-1000 \mu\text{g/mL}$ (aktif), $IC_{50} > 1000 \mu\text{g/mL}$ (tidak aktif).

BAB III
KERANGKA KONSEPTUAL DAN
HIPOTESIS PENELITIAN



BAB III

KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konseptual

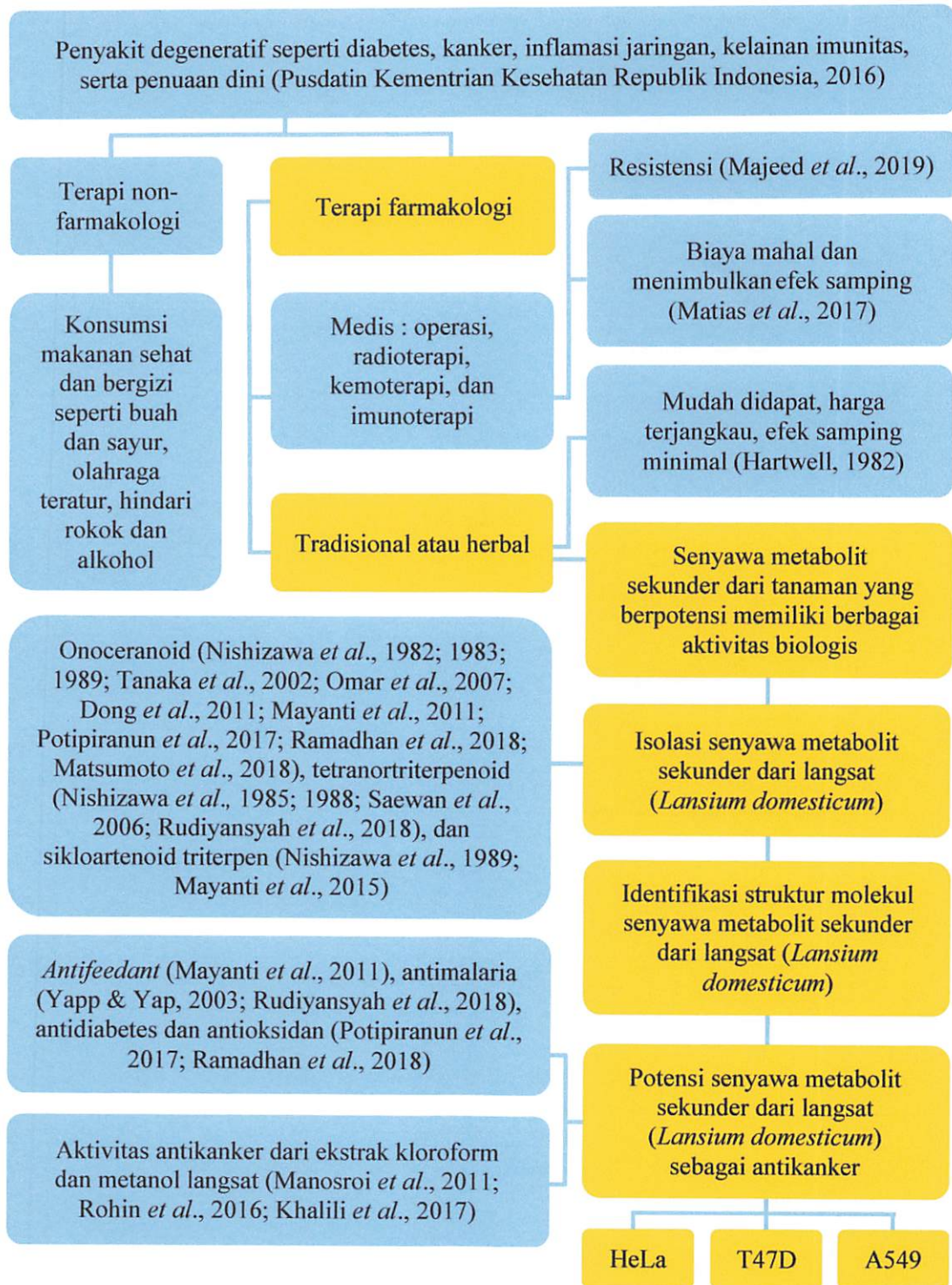
Penyakit degeneratif seperti diabetes, kanker, inflamasi jaringan, kelainan imunitas, serta penuaan dini telah banyak menyerang manusia. Penyakit degeneratif mengacu pada kondisi kesehatan seseorang yang terjadi akibat memburuknya suatu jaringan atau organ seiring berjalannya waktu. Penyakit ini dapat mempengaruhi sistem saraf pusat (otak dan sumsum tulang belakang), tulang, sendi, pembuluh darah dan jantung (Pusdatin Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2016).

Kanker adalah satu satu penyakit degeneratif yang sangat ditakutkan. Kanker dapat disembuhkan dengan menggunakan pengobatan yang tepat. Pengobatan kanker dapat dilakukan dengan terapi farmakologi yang dilanjutkan dengan non farmakologi. Terapi non farmakologi dapat dilakukan dengan cara mengonsumsi makanan sehat dan bergizi seperti buah dan sayur, olahraga secara teratur, dan menghindari rokok serta alkohol. Terapi farmakologi dapat dilakukan menggunakan obat-obatan kimia maupun herbal. Obat-obatan kimia memiliki harga yang relatif lebih mahal dan dapat menimbulkan efek samping (Matias *et al.*, 2017). Sebagian besar obat-obatan kimia memiliki efek terhadap rusaknya sejumlah sel normal seperti kuku, rambut, kulit, dan lainnya. Efek samping ini mengakibatkan antara lain rambut rontok, kuku menghitam, kulit menghitam, mulut kering, hingga kematian pada janin (Oun *et al.*, 2018). Beberapa masalah inilah yang menjadi tantangan utama dalam pencarian agen antikanker baru yang lebih efektif dan spesifik. Oleh karena itu lebih baik disarankan untuk menggunakan obat-obatan herbal yang berasal dari tanaman di sekitar. Keunggulan obat-obatan herbal terletak pada bahan dasarnya yang alami dan mudah didapat sehingga efek sampingnya dapat ditekan seminimal mungkin

(Mutiah *et al.*, 2018). Obat herbal juga lebih mudah didapat karena memiliki harga relatif terjangkau (Hartwell, 1982).

Pencarian senyawa baru agen antikanker masih terus dilakukan hingga saat ini. Tumbuhan tingkat tinggi banyak diteliti karena memiliki potensi besar dalam memproduksi senyawa metabolit sekunder yang aktif sebagai antikanker. Langsung (*Lansium domesticum*) merupakan salah satu tanaman yang dapat dijadikan sebagai obat herbal. Berdasarkan studi literatur, genus *Lansium* mengandung berbagai macam senyawa triterpenoid dengan kerangka yang unik seperti onoceranoid (Nishizawa *et al.*, 1982; 1983; 1989; Tanaka *et al.*, 2002; Omar *et al.*, 2007; Dong *et al.*, 2011; Mayanti *et al.*, 2011; Potipiranun *et al.*, 2017; Ramadhan *et al.*, 2018; Matsumoto *et al.*, 2018), tetranortriterpenoid (Nishizawa *et al.*, 1985; 1988; Saewan *et al.*, 2006; Rudiyanasyah *et al.*, 2018), sikloartenoid triterpen (Nishizawa *et al.*, 1989; Mayanti *et al.*, 2015), dan sesquiterpenoid (Krishnappa dan Dev, 1973; Wong *et al.*, 1994). Senyawa aktif dari genus *Lansium* memiliki aktivitas farmakologis yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan obat. Bagian biji berperan sebagai *antifeedant* (Mayanti *et al.*, 2011), bagian buah dapat digunakan untuk mengobati penyakit malaria (Rudiyanasyah *et al.*, 2018), bagian kulit buah berperan sebagai antidiabetes dan antioksidan (Potipiranun *et al.*, 2017; Ramadhan *et al.*, 2018), sedangkan bagian daun dan kulit batang dapat mengganggu siklus hidup parasit *Plasmodium falciparum* (Yapp & Yap, 2003).

Penelitian yang dilakukan meliputi isolasi, identifikasi, dan uji aktivitas biologis ekstrak dan senyawa hasil isolasi dari kulit buah langsung (*Lansium domesticum*) sebagai antikanker. Uji aktivitas antikanker dilakukan secara *in vitro* terhadap sel kanker serviks (HeLa), payudara (T47D), dan paru-paru (A549) dengan menggunakan metode (3-(4,5-dimethylthiazolyl-2)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) (MTT) dan 2,3-bis[2-methoxy-4-nitro-5-sulfophenyl]-2H-tetrazolium-5-carboxanilide (XTT).



Keterangan :

- Dilakukan dalam penelitian
- Tidak dilakukan dalam penelitian

Gambar 3.1 Kerangka konseptual

3.2 Hipotesis Penelitian

Senyawa yang ditemukan pada genus *Lansium* banyak diantaranya merupakan senyawa metabolit sekunder berupa terpenoid. Senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam genus *Lansium* diantaranya yaitu senyawa triterpenoid dengan kerangka yang unik seperti onoceranoid (Nishizawa *et al*, 1982; 1983; 1989; Tanaka *et al*, 2002; Omar *et al*, 2007; Dong *et al.*, 2011; Mayanti *et al.*, 2011; Potipiranun *et al*, 2017; Ramadhan *et al*, 2018; dan Matsumoto *et al*, 2018), tetranortriterpenoid (Nishizawa *et al*, 1985; 1988; Saewan *et al*, 2006; Rudiyansyah *et al*, 2018), dan sikloartenoid triterpen (Nishizawa *et al*, 1989; Mayanti *et al.*, 2015). Senyawa terpenoid golongan sesquiterpen juga ikut mengisi keberagaman senyawa yang ada di genus *Lansium* (Krishnappa dan Dev, 1973; Wong *et al*, 1994). Berdasarkan hal yang telah disebutkan diatas dapat diajukan **hipotesis (1) : *Jika proses isolasi dilakukan pada ekstrak n-heksana kulit buah langsung (Lansium domesticum) maka akan menghasilkan senyawa metabolit sekunder dengan kerangka berupa terpenoid.***

Ekstrak kloroform buah langsung (*L. domesticum*) mampu menghambat proliferasi sel kanker KB dan HT-29 dengan nilai IC₅₀ sebesar 13,84 ± 4,21 dan 8,68 ± 1,85 µg/mL (Manosroi *et al.*, 2012). Ekstrak metanol buah *Lansium domesticum* corr. juga mampu menghambat proliferasi sel kanker HT-29 dengan nilai IC₅₀ sebesar 6,8 ± 0,11 dan 6,79 ± 0,01 µg/mL (Rohin *et al.*, 2016; Khalili *et al.*, 2017). Senyawa triterpenoid merupakan senyawa mayor pada *L. domesticum* yang bertanggung jawab terhadap aktivitas penghambatan ini (Manosroi *et al.*, 2012). Berdasarkan hal yang telah diuraikan dapat diajukan **hipotesis (2) : *Jika senyawa hasil isolasi dan ekstrak n-heksana kulit buah langsung (L. domesticum) berupa senyawa terpenoid maka akan menghasilkan potensi antikanker terhadap sel HeLa, T47D, dan A549.***

BAB IV

METODE PENELITIAN

BAB IV

METODE PENELITIAN



4.1 Waktu Dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia Organik Departemen Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga, Surabaya pada bulan Juni-Desember 2019. Analisis dengan menggunakan instrumen spektrofotometer UV-Vis Shimadzu 1800 dilakukan di Laboratorium Kimia Analitik, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga, Surabaya. Analisis dengan menggunakan instrumen spektrofotometer FT-IR Shimadzu Tracer-100 dilakukan di Laboratorium Instrumentasi Departemen Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga, Surabaya. Analisis dengan menggunakan instrumen NMR BRUKER 600 MHz dilakukan di *Faculty of Pharmacy, Meijo University*, Nagoya, Jepang. Uji aktivitas antikanker dilakukan di Laboratorium Protho Bagian Parasitologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta dan *Laboratorium Biophysic, Faculty of Science*, Universiti Putra Malaysia, Serdang, Malaysia.

4.2 Bahan dan Alat Penelitian

4.2.1 Bahan penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit buah langsung (*Lansium domesticum*) yang berasal dari Nganjuk, Provinsi Jawa Timur. Identifikasi tumbuhan dilakukan di Herbarium Bogoriense, Pusat Penelitian Biologi, Cibinong, Indonesia. Hasil identifikasi dapat dilihat di Lampiran-1.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah pelarut berkualitas teknis yaitu metanol, etil asetat, diklorometana dan *n*-heksana yang telah didestilasi. Disamping itu juga digunakan pelarut berkualitas pro analisis (p.a.)

seperti kloroform dan aseton untuk proses ekstraksi, pemisahan, dan pemurnian senyawa. Fasa diam yang digunakan diantaranya plat Kieselgel 60 GF₂₅₄ 0.25 mm untuk kromatografi lapis tipis (KLT) dan silika gel 60 G 0.200-0.500 mm (Merck 7733) untuk keperluan kromatografi kolom gravitasi (KKG). Sel yang digunakan dalam uji aktivitas antikanker adalah HeLa (kanker serviks) dan T47D (kanker payudara) milik Universitas Gadjah Mada serta A549 (kanker paru-paru) milik Universiti Putra Malaysia. Bahan yang digunakan yaitu media kultur (DMEM/MEM/RPMI-1640), fosfat buffer salin (PBS), fetal bovin serum (FBS), phenazin metosulfat (PMS), dimetil sulfoksida (DMSO), sodium dodesil sulfat (SDS), HCl 0,1 N, alkohol 70%, tripsin-EDTA, *trypan blue*, doksorubisin, 3-(4,5-dimethyl-2-thiazol)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide (MTT), dan 2,3-bis[2-methoxy-4-nitro-5-sulfophenyl]-2H-tetrazolium-5-carboxanilide (XTT).

4.2.2 Alat penelitian

Peralatan gelas yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya bejana maserasi, corong pisah, gelas *chamber*, lampu UV, kolom kromatografi, *rotary vacuum evaporator*, *freeze dryer*, seperangkat alat destilasi, serta alat-alat gelas pada umumnya. Keperluan analisis dan identifikasi senyawa menggunakan spektrofotometer UV-Vis Shimadzu 1800, spektrofotometer FT-IR Shimadzu Tracer-100, dan spektrofotometer NMR BRUKER 600 MHz. Uji aktivitas antikanker memerlukan *serological pipettes*, *multi-channel pipettes*, mikropipet, *blue*, *yellow*, dan *white tip*, *96-well plate*, *conical tube*, *flask culture*, *centrifuge tube*, rak tabung reaksi, *laminar air flow*, *biological safety cabinet*, inkubator CO₂, hemasitometer, *microscope inverted*, serta *ELISA microplate reader*.

4.3 Prosedur Penelitian

Tahapan isolasi senyawa pada *Lansium domesticum* yang dilakukan dalam penelitian ini meliputi persiapan sampel, ekstraksi, dan pemurnian. Hasil isolasi selanjutnya ditentukan strukturnya dengan menggunakan metode spektroskopi UV-Vis, FT-IR, 1D dan 2D NMR. Ekstrak dan senyawa hasil isolasi ditentukan aktivitasnya sebagai antikanker.

4.3.1 Isolasi senyawa metabolit sekunder

Kulit buah *Lansium domesticum* dicuci bersih dengan menggunakan air. Kulit buah *Lansium domesticum* selanjutnya dikeringkan dengan cara diangin-anginkan tanpa dikenai oleh sinar matahari. Kulit buah *Lansium domesticum* kemudian digiling dan diekstraksi sebanyak tiga kali dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol selama 3 x 24 jam. Filtrat yang terbentuk disaring dan diuapkan dengan menggunakan *rotary vacum evaporator* hingga didapatkan ekstrak kental metanol. Ekstrak ini kemudian ditimbang untuk mengetahui rendemennya.

Ekstrak metanol yang diperoleh dilarutkan kembali dalam metanol dan diekstraksi cair-cair dengan *n*-heksana perbandingan 1:1 menggunakan corong pisah. Campuran ini dikocok kemudian didiamkan hingga membentuk dua lapisan yaitu lapisan atas berupa fraksi *n*-heksana dan lapisan bawah berupa fraksi metanol. Kedua fraksi dipisahkan sehingga diperoleh fraksi *n*-heksana dan fraksi metanol. Fraksi metanol diekstraksi lagi dengan cara yang sama dengan fraksi *n*-heksana sampai tiga kali. Fraksi *n*-heksana hasil ekstraksi cair-cair dikumpulkan menjadi satu dan diuapkan dengan menggunakan *rotary vacum evaporator* sampai diperoleh ekstrak kental *n*-heksana. Selanjutnya ekstrak kental *n*-heksana ditimbang untuk mengetahui rendemennya.

Fraksi metanol yang telah dipisahkan dari fraksi *n*-heksana dimasukkan ke dalam corong pisah lalu ditambah dengan diklorometana dan aquades dengan perbandingan 4:5:1. Campuran ini dikocok kemudian didiamkan hingga membentuk dua lapisan yaitu fraksi metanol-air di bagian atas dan fraksi diklorometana di bagian bawah. Setelah fraksi diklorometana diambil, maka lapisan metanol-air ditambah dengan diklorometana lagi di dalam corong pisah dan diperlakukan dengan cara yang sama sampai tiga kali. Ketiga fraksi diklorometana digabung dan diuapkan menggunakan *rotary vacum evaporator* sampai didapatkan ekstrak kental diklorometana. Lalu ekstrak kental diklorometana ditimbang untuk memperoleh rendemennya.

Fraksi metanol-air yang diperoleh digabung dan diuapkan dengan menggunakan *rotary vacum evaporator* sampai didapatkan ekstrak kental metanol. Ekstrak kental metanol-air ditimbang untuk mengetahui rendemennya.

Berdasarkan proses ekstraksi yang telah dilakukan akan didapatkan 3 macam ekstrak yaitu : ekstrak *n*-heksana, ekstrak diklorometana, dan ekstrak metanol-air. Pada penelitian ini dilakukan proses pemisahan dan pemurnian terhadap ekstrak *n*-heksana kulit buah *Lansium domesticum*. Proses pemisahan dan pemurnian terhadap fraksi lainnya dilakukan oleh peneliti lainnya.

Analisis kromatografi lapis tipis (KLT) dilakukan pada ekstrak *n*-heksana kulit buah *Lansium domesticum* untuk mengetahui jumlah komponen yang terdapat di dalamnya dan menentukan eluen yang sesuai untuk digunakan dalam proses pemisahan. Pemisahan ekstrak *n*-heksana kulit buah *Lansium domesticum* diawali dengan kromatografi kolom gravitasi (KKG) menggunakan silika gel 60 GF₂₅₄ ukuran 0,200 – 0,500 mm (Merck 7733) dengan campuran eluen *n*-heksana dan diklorometana yang kepolarannya ditingkatkan secara gradien. Hasil pemisahan dengan menggunakan kromatografi kolom gravitasi dianalisis dengan kromatografi lapis tipis (KLT). Fraksi dengan noda yang sama digabung untuk mendapatkan fraksi-fraksi utama. Selanjutnya gabungan fraksi yang diperoleh dilakukan pemisahan lebih lanjut dengan kromatografi kolom gravitasi (KKG) menggunakan silika gel 60 GF₂₅₄ ukuran 0,200 – 0,500 mm (Merck 7733). Kemudian dilakukan juga pemurnian hingga diperoleh senyawa murni.

Senyawa hasil isolasi diuji kemurniannya dengan kromatografi lapis tipis menggunakan tiga macam sistem eluen yang berbeda. Noda yang dihasilkan dilihat di bawah sinar UV dan diberi penampak noda anisaldehyd. Senyawa dapat dikatakan murni jika hanya memperlihatkan satu noda setelah dielusi dengan menggunakan tiga sistem eluen yang berbeda. Senyawa hasil isolasi juga diuji titik lelehnya untuk menentukan kemurnian dari senyawa tersebut. Alat yang digunakan yaitu *Fisher-Johns Melting Point Apparatus*. Senyawa dikatakan murni apabila selisih suhu mulai pertama kali padatan meleleh hingga semua padatan meleleh tidak lebih dari 2°C. Selanjutnya senyawa hasil isolasi diidentifikasi dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis, FT-IR, 1D dan 2D NMR untuk

menentukan struktur molekulnya. Lalu dilakukan uji aktivitas biologis ekstrak dan senyawa hasil isolasi dari kulit buah langsung (*Lansium domesticum*) sebagai antikanker.

4.3.2 Penentuan struktur senyawa metabolit sekunder

4.3.2.1 Analisis spektroskopi UV-Vis

Sebanyak 0,1 mg senyawa hasil isolasi dilarutkan dalam 10 mL metanol pada labu ukur 10 mL. Senyawa hasil isolasi diukur panjang gelombang maksimumnya (λ_{maks}) dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis untuk mengetahui pola serapan senyawa yang terjadi (Harwood *et al.*, 1999).

4.3.2.2 Analisis spektroskopi FT-IR

Preparasi sampel untuk analisis spektroskopi FT-IR dilakukan dengan menggunakan metode pelet KBr. Pelet KBr dibuat dengan cara mencampurkan sebanyak 2 mg senyawa hasil isolasi yang berbentuk padatan dengan 300 mg KBr. Campuran ini kemudian ditempatkan dalam cetakan dan ditekan dengan menggunakan alat penekan mekanik. Selanjutnya diukur serapan inframerah yang terjadi. Serapan yang dihasilkan berupa pita-pita pada bilangan gelombang tertentu. Dari pita-pita inilah dapat diketahui gugus fungsi yang dimiliki oleh senyawa hasil isolasi (Harwood *et al.*, 1999).

4.3.2.3 Analisis spektroskopi NMR

Sebanyak 1 mg senyawa hasil isolasi dimasukkan ke dalam wadah sampel yang berbentuk tabung. Tabung yang digunakan memiliki panjang 15-25 cm dengan diameter luar 5 mm. Kemudian ke dalamnya ditambahkan pelarut CDCl_3 (kloroform-d) sebanyak 0,4 - 0,7 mL. Campuran antara senyawa hasil isolasi dengan pelarut kira-kira setinggi 3-5 cm dari dasar tabung. Pengukuran NMR dapat dilakukan dengan cara 1D NMR dan 2D NMR. Analisis 1D NMR meliputi pengukuran ^1H dan ^{13}C -NMR untuk pengukuran proton dan karbon. Pengukuran menggunakan ^1H -NMR dilakukan pada pergeseran kimia dengan rentang δ_{H} 0-14 ppm sedangkan pengukuran menggunakan ^{13}C -NMR

dilakukan pada pergeseran kimia dengan rentang δ_C 0-200 ppm. Pengukuran spektrum 2D NMR dilakukan menggunakan pengukuran HMQC dan HMBC dengan tujuan untuk justifikasi substituen yang terikat pada kerangka utama senyawa hasil isolasi. Analisis spektrum HMQC berguna untuk mengetahui korelasi antara proton dan karbon dalam satu ikatan, sedangkan analisis spektrum HMBC berguna untuk mengetahui korelasi antara proton dan karbon dalam dua atau tiga ikatan (Harwood *et al.*, 1999).

4.3.3 Uji Aktivitas Antikanker

4.3.3.1 Kultur sel

Kultur sel HeLa, T47D, dan A549 dilakukan dalam media kultur yang berisi 10% FBS, 1% L-glutamin, dan 1% penicillin/streptomisin pada 37 °C dan 5% CO₂. Sel akan tumbuh dan dipanen dengan menggunakan tripsin-EDTA. Pemisahan suspensi sel dilakukan dengan *sentrifuge* pada kecepatan 1000 rpm selama 5 menit. Konsentrasi sel dihitung dengan menggunakan *trypan blue*. Konsentrasi yang digunakan sebanyak 10⁴-10⁵ sel/sumuran. Sel kembali disuspensikan dengan media kultur yang sama. Kultur sel kanker selanjutnya diinkubasi pada 37 °C dan 5% CO₂ selama 24 jam (Wang *et al.*, 2011).

4.3.3.2 Penentuan uji aktivitas antikanker

Uji aktivitas antikanker dari kulit buah *Lansium domesticum* dilakukan secara *in vitro* terhadap sel HeLa, T47D, A549 dengan menggunakan metode MTT dan XTT *assay*. Persiapan sampel uji dilakukan dengan cara menimbang 10 mg sampel senyawa hasil isolasi dan melarutkannya dalam 100 μ L DMSO hingga konsentrasi 1000 μ g/mL. Larutan inilah yang dinamakan dengan larutan induk. Langkah selanjutnya yaitu melakukan pengenceran seri terhadap larutan induk hingga tujuh variasi konsentrasi mulai dari 100, 50, 25, 12,5, 6,25, 3,125, dan 1,5625 μ g/mL. Setiap konsentrasi dibuat sebanyak tiga kali replikasi (triplikasi). Selanjutnya *96-well plate* yang sudah terisi dengan sel kanker ditambahkan dengan sampel uji sebanyak 100 μ L dan diinkubasi kembali pada 37 °C dan 5% CO₂ selama 48 jam. Kontrol positif yang digunakan yaitu

doksorubisin. Larutan kontrol sel terdiri dari media kultur dan sel, sedangkan larutan kontrol media terdiri dari media kultur.

Langkah selanjutnya setelah inkubasi selama 48 jam yaitu pemberian reagen 5 mg/mL MTT (50 mg MTT dalam 10 mL PBS) sebanyak 30 μ L ke dalam setiap sumuran. Kemudian membungkus *96-well plate* dengan alumunium foil serta kembali dilakukan inkubasi pada 37 °C dan 5% CO₂ selama 3-4 jam. Kristal formazan yang terbentuk diamati kondisi selnya dengan menggunakan *microscope inverted*, ditambahkan SDS *stopper* 10% dalam 0.1 N HCl (Meerlo *et al.*, 2011; Bahuguna *et al.*, 2017; Anwar *et al.*, 2018). Metode XTT pada dasarnya sama dengan MTT. Perbedaan hanya terletak pada garam tetrazolium yang digunakan. Metode XTT menggunakan reagen 1 mg/mL XTT (4 mg XTT dalam 4 mL media kultur DMEM/MEM/RPMI-1640) yang ditambahkan dengan 10 μ L PMS. Kemudian membungkus *96-well plate* dengan alumunium foil serta kembali dilakukan inkubasi pada 37 °C dan 5% CO₂ selama 3-4 jam. Pembacaan nilai absorbansi dilakukan pada panjang gelombang 450 nm untuk XTT dan 570 nm untuk MTT dengan menggunakan *ELISA microplate reader*. Data absorbansi ini digunakan untuk menganalisis persentase viabilitas sel hidup dengan menggunakan rumus berikut :

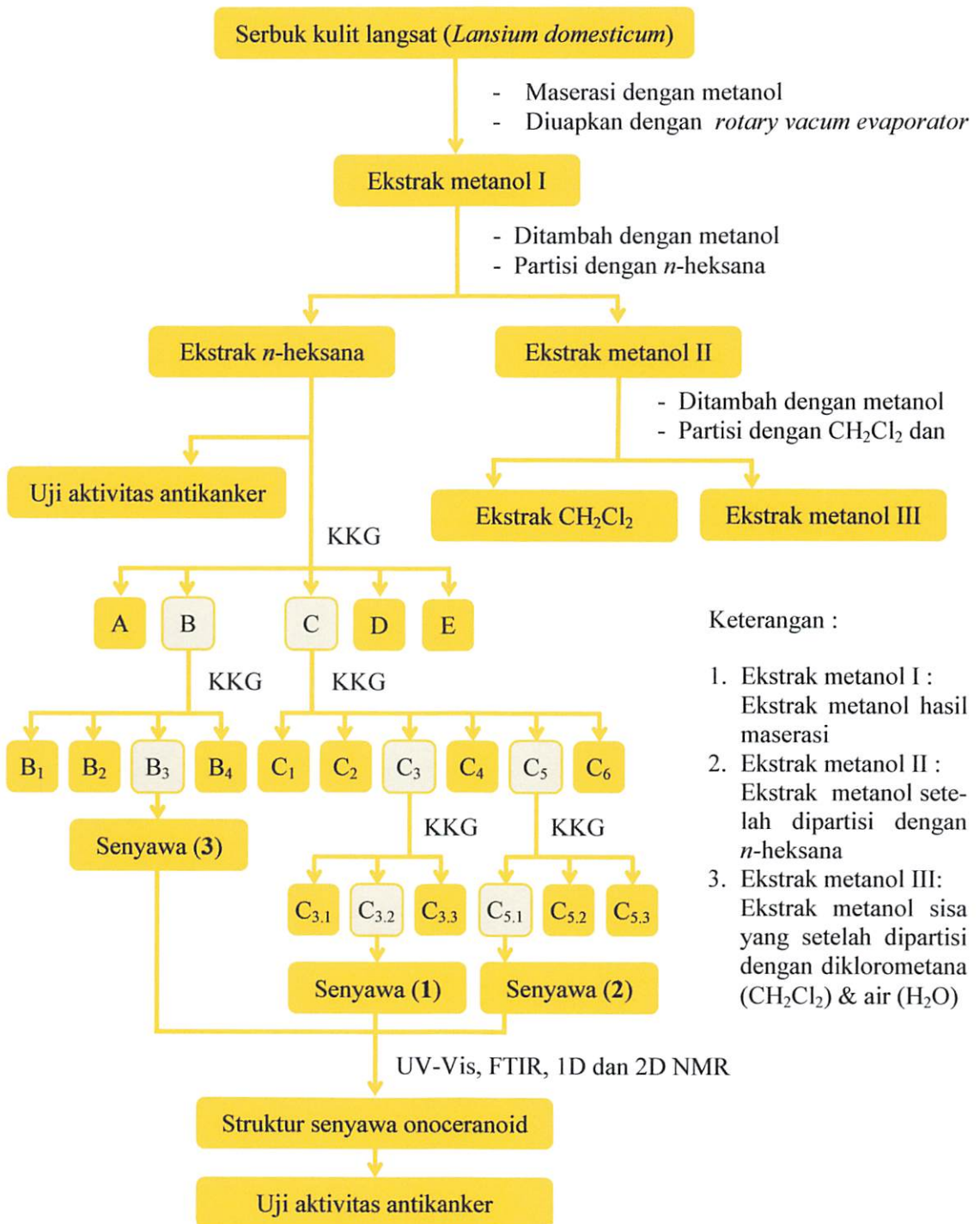
$$\text{Persentase viabilitas sel hidup} = \frac{a-b}{c-b} \times 100\%$$

Dimana a adalah absorbansi sampel, b adalah absorbansi dari kontrol media, sedangkan c adalah absorbansi dari kontrol sel.

4.3.3.2 Analisis data

Analisis data mengenai nilai *inhibitory concentration* (IC₅₀) ditentukan dengan menggunakan GraphPad Prism 8.0.2 (GraphPad Software, Inc., USA). Nilai IC₅₀ didapatkan dari regresi non linear antara konsentrasi dengan persentase viabilitas sel hidup. Seluruh data dinyatakan dalam rata-rata \pm S.D untuk tiga kali replikasi (triplikasi) pada tiap konsentrasi.

4.4 Diagram Alir Penelitian



Gambar 4.1 Diagram alir penelitian

BAB V
PEMBAHASAN

BAB V

PEMBAHASAN



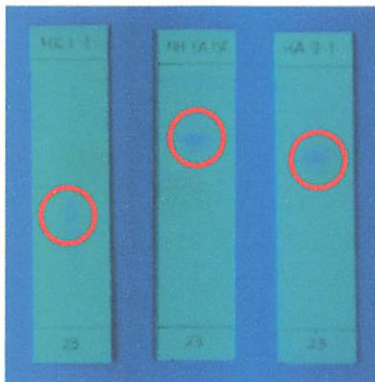
5.1 Isolasi Senyawa Onoceranoid

Isolasi senyawa onoceranoid dari kulit buah *Lansium domesticum* (4 kg) dilakukan dengan metode ekstraksi padat-cair dengan cara maserasi pada suhu kamar. Ekstraksi ini dilakukan sebanyak tiga kali menggunakan pelarut metanol. Residu dipisahkan dari filtrat kemudian filtrat dipekatkan dengan menggunakan *rotary vacuum evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental metanol sebesar 525 g (13,13%). Ekstrak kental metanol yang telah diperoleh diekstraksi cair-cair menggunakan pelarut *n*-heksana untuk menghilangkan kandungan lemak dan senyawa-senyawa non polar lainnya yang dapat mengganggu proses pemisahan senyawa onoceranoid. Hasil dari partisi yaitu terbentuknya dua lapisan, yakni lapisan atas berupa fraksi *n*-heksana dan lapisan bawah berupa fraksi metanol. Ekstrak *n*-heksana diuapkan dengan menggunakan *rotary vacuum evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental *n*-heksana yang berwarna oranye sebanyak 300 g (7,5%).

Pemisahan senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak *n*-heksana (300 g) diawali dengan kromatografi kolom gravitasi menggunakan campuran eluen *n*-heksana:diklorometana yang kepolarannya ditingkatkan secara gradien menghasilkan lima fraksi utama yaitu A-E.

Fraksi B dan C memperlihatkan noda ungu dengan pereaksi anisaldehyd yang merupakan ciri khas senyawa onoceranoid untuk target pemisahan dan pemurnian. Pemisahan fraksi C (612 mg) dilakukan dengan kromatografi kolom gravitasi menggunakan campuran eluen *n*-heksana:etil asetat = (9:1), (8:2), (7:3), (6:4), dan (1:1) menghasilkan subfraksi C₁-C₆. Selanjutnya dilakukan pemurnian pada sub-fraksi C₃ (174 mg) dengan kromatografi kolom gravitasi menggunakan campuran eluen *n*-heksana:etil asetat = (9,5:0,5), (9:1), (8,5:1,5), (8:2), (7:3), (6:4)

menghasilkan dua sub-fraksi yaitu $C_{3,1}$ - $C_{3,2}$. Sub-fraksi $C_{3,2}$ menghasilkan spot dengan noda tunggal sehingga didapatkan senyawa (1) sebanyak 5,1 mg berwujud kristal jarum berwarna putih. Senyawa (1) hasil isolasi memiliki titik leleh sebesar 152-153 °C. Uji kemurnian senyawa (1) juga dilakukan dengan analisis KLT menggunakan tiga sistem eluen yang berbeda. Eluen yang digunakan yaitu campuran *n*-heksana : kloroform (1:1), *n*-heksana : etil asetat (8,5:1,5), serta *n*-heksana : aseton (9:1). Hasil yang diperoleh memperlihatkan noda tunggal dengan nilai R_f berturut-turut sebesar 0,4, 0,65 dan 0,6 seperti pada Gambar 5.1.



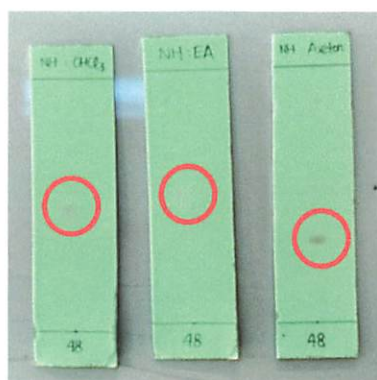
Gambar 5.1 Analisis KLT dari senyawa (1)

Sub fraksi C_5 (263 mg) dimurnikan dengan kromatografi kolom gravitasi menggunakan campuran eluen *n*-heksana : etil asetat = (9,5:0,5), (9:1), (8,5:1,5), (8:2), (7:3), (6:4) menghasilkan tiga sub-fraksi yaitu $C_{5,1}$ - $C_{5,3}$. Sub-fraksi $C_{5,1}$ menghasilkan spot dengan noda tunggal sehingga didapatkan senyawa (2) sebanyak 7,2 mg berwujud padatan berwarna kuning. Senyawa (2) hasil isolasi memiliki titik leleh sebesar 150-151 °C. Uji kemurnian senyawa (2) dilakukan dengan analisis KLT menggunakan tiga sistem eluen yang berbeda. Eluen yang digunakan yaitu campuran *n*-heksana : kloroform (8:2), *n*-heksana : etil asetat (9:1), serta *n*-heksana:aseton (9,5:0,5). Hasil yang diperoleh memperlihatkan noda tunggal dengan nilai R_f berturut-turut sebesar 0,4, 0,5 dan 0,4 seperti pada Gambar 5.2.



Gambar 5.2 Analisis KLT dari senyawa (2)

Pemisahan fraksi B (872 mg) dilakukan dengan kromatografi kolom gravitasi menggunakan campuran eluen *n*-heksana : kloroform = (9,5:0,5), (9:1), (8,5:1,5), (8:2), (7:3), (6:4) menghasilkan subfraksi B₁-B₄. Subfraksi B₂ menghasilkan spot dengan noda tunggal sehingga didapatkan senyawa (3) sebanyak 7,5 mg berwujud padatan berwarna merah muda. Uji kemurnian senyawa (3) dilakukan dengan analisis KLT menggunakan tiga sistem eluen yang berbeda. Eluen yang digunakan yaitu campuran *n*-heksana : kloroform (1:1), *n*-heksana : etil asetat (9:1), serta *n*-heksana:aseton (9,5:0,5). Hasil yang diperoleh memperlihatkan noda tunggal dengan nilai R_f berturut-turut sebesar 0,47, 0,5 dan 0,4 seperti pada Gambar 5.3.



Gambar 5.3 Analisis KLT dari senyawa (3)

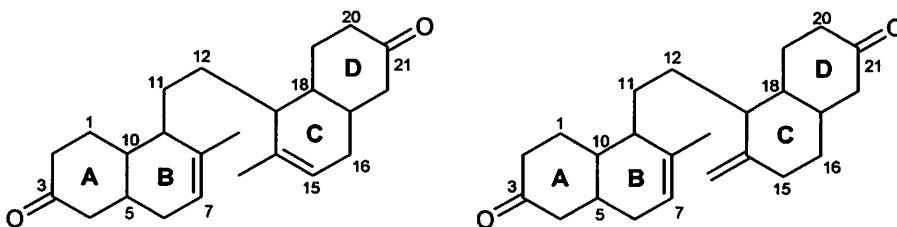
5.2 Penentuan Struktur Senyawa Hasil Isolasi

5.2.1 Senyawa (1)

Senyawa (1) (5,2 mg) memiliki wujud kristal jarum berwarna putih. Spektrum UV dalam metanol memberikan serapan maksimum pada λ_{maks} : 214 nm yang merupakan ciri khas senyawa-senyawa non polar golongan terpenoid dan steroid (Pakaya *et al*, 2011). Spektrum UV senyawa (1) dapat dilihat pada Lampiran-2.

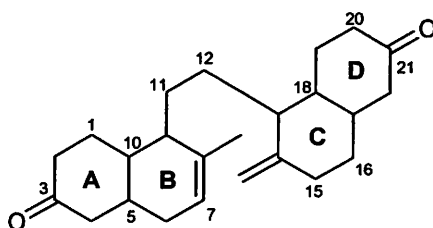
Spektrum IR dalam KBr memperlihatkan pita serapan pada ν_{maks} (cm^{-1}) : 2962 dan 2935 (C-H alifatik), 1712 (C=O karbonil), 1656 (C=C olefinik) (Mayanti *et al*, 2011). Berdasarkan spektrum IR, senyawa (1) merupakan senyawa yang mempunyai gugus fungsi berupa keton. Hasil pengukuran spektrum IR senyawa (1) dapat dilihat pada Lampiran-3.

Spektrum $^1\text{H-NMR}$ dalam CDCl_3 (600 MHz) memperlihatkan adanya enam sinyal metil tersier yaitu sinyal proton pada δ_{H} 0,84 (3H, *s*), 0,94 (3H, *s*), 1,01 (3H, *s*), 1,04 (3H, *s*), 1,08 (3H, *s*), 1,10 ppm (3H, *s*), sebuah metil olefinik yaitu sinyal proton pada δ_{H} 1,72 ppm (3H, *s*), proton olefinik trisubstitusi yaitu sinyal proton pada δ_{H} 5,42 ppm (1H, *s br*), proton eksometilen yaitu sinyal proton pada δ_{H} 4,61 (1H, *s*) 4,92 ppm (1H, *s*), serta berbagai macam proton *multiplet* lainnya pada δ_{H} 1,26-2,70 ppm yang merupakan sinyal proton khas dari senyawa golongan terpenoid (Mayanti *et al*, 2011). Spektrum $^1\text{H-NMR}$ dapat dilihat pada Lampiran-4. Hasil analisis $^1\text{H-NMR}$ menyarankan bahwa senyawa (1) merupakan senyawa triterpenoid dari golongan onocerandiendion. Kerangka dasar onocerandiendion terdiri dari sistem bisiklik cincin A-D seperti pada Gambar 5.4.



Gambar 5.4 Kemungkinan struktur dasar senyawa (1)

Spektrum ^{13}C -NMR (125 MHz) yang dilengkapi dengan DEPT 90 dan DEPT 135 memperlihatkan adanya 30 sinyal karbon yang terdiri dari olefin trisubstitusi (δ_{C} 135,4 dan 121,8 ppm), eksometilen berupa sinyal karbon metilen sp^2 (δ_{C} 107,7 ppm) dan karbon kuarterner (δ_{C} 147,2 ppm), dua sinyal gugus keton (δ_{C} 216,6 dan 216,8 ppm), empat sinyal karbon metin (δ_{C} 51,6; 54,4; 55,2 dan 56,0 ppm), empat sinyal karbon kuarterner (δ_{C} 36,5; 39,2; 47,4 dan 47,7 ppm), sembilan sinyal karbon metilen (δ_{C} 24,0; 24,1; 25,2; 25,3; 34,6; 34,7; 37,8; 37,9 dan 38,1 ppm), serta tujuh sinyal karbon metil (δ_{C} 13,5; 14,2; 21,6; 22,0; 22,2; 25,0; dan 26,1 ppm). Analisis spektrum ^{13}C -NMR dapat dilihat pada Lampiran-5. Hasil analisis ^{13}C -NMR yang memperlihatkan 30 sinyal karbon menyatakan bahwa senyawa (1) merupakan senyawa triterpen bisiklik yang tersusun dari dua bagian tidak simetris (Mayanti *et al*, 2011) seperti pada Gambar 5.5.



Gambar 5.5 Struktur dasar senyawa (1)

Penempatan posisi substituen serta posisi proton dan karbon senyawa onoceranoid hasil isolasi ditentukan berdasarkan analisis 2D NMR yaitu HSQC (*Heteronuclear Single Quantum Coherence*) dan HMBC (*Heteronuclear Multiple Bond Correlation*).

Spektrum HSQC (Lampiran-6) merupakan korelasi antara sinyal proton dari ^1H -NMR dengan sinyal karbon dari ^{13}C -NMR dalam satu ikatan. Spektrum HSQC menunjukkan adanya korelasi sinyal proton pada δ_{H} 5,42 (1H, *s br*) dengan sinyal karbon olefin trisubstitusi pada δ_{C} 121,8. Sinyal karbon metilen sp^2 pada δ_{C} 107,7 berkorelasi dengan proton δ_{H} 4,61 (1H, *m*) dan 4,92 (1H, *m*). Sinyal metil δ_{H} 1,72 (3H, *s*) memiliki korelasi dengan sinyal karbon δ_{C} 22,2. Korelasi ini telah sesuai dan memperkuat dugaan bahwa senyawa (1) merupakan

onoceradiendion yang tidak simetris karena adanya ikatan rangkap dua eksosiklik. Hasil analisis spektrum HSQC dapat dilihat pada Tabel 5.1.

Tabel 5.1 Korelasi sinyal proton dan sinyal karbon senyawa (1) pada spektrum HSQC

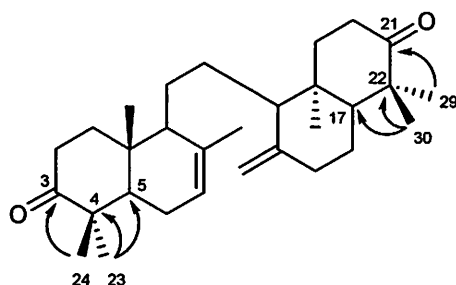
δ_H (ppm) (mult, J dalam Hz)	δ_C (ppm)
5,42 (1H, <i>s br</i>)	121,8
4,92 (1H, <i>s</i>) dan 4,61 (1H, <i>s</i>)	107,7
2,70 (1H, <i>m</i>) dan 2,24 (1H, <i>m</i>)	34,6
2,61 (1H, <i>m</i>) dan 2,21 (1H, <i>m</i>)	34,7
2,42 (2H, <i>m</i>)	37,9
2,06 (1H, <i>m</i>) dan 1,42 (1H, <i>m</i>)	38,1
2,00 (1H, <i>m</i>) dan 1,54 (1H, <i>m</i>)	37,8
1,92 (1H, <i>m</i>) dan 2,40 (1H, <i>m</i>)	24,0
1,92 (1H, <i>m</i>) dan 2,40 (1H, <i>m</i>)	24,1
1,72 (3H, <i>s</i>)	22,2
1,67 (1H, <i>m</i>) dan 1,49 (1H, <i>m</i>)	25,2
1,65 (1H, <i>m</i>)	56,0
1,60 (1H, <i>m</i>)	54,4
1,59 (1H, <i>dd</i> , $J=5, 7$ Hz)	51,6
1,58 (1H, <i>m</i>)	55,2
1,35 (1H, <i>dd</i> , $J=7,10$ Hz) dan 1,26 (1H, <i>dd</i> , $J=5, 10$ Hz)	25,3
1,10 (3H, <i>s</i>)	26,1
1,08 (3H, <i>s</i>)	22,0
1,04 (3H, <i>s</i>)	25,0
1,01 (3H, <i>s</i>)	21,6
0,94 (3H, <i>s</i>)	13,5
0,84 (3H, <i>s</i>)	14,2

Tabel 5.2 Korelasi sinyal proton dan sinyal karbon senyawa (1) pada spektrum HMBC

H, δ_H (ppm) (mult, J dalam Hz)	δ_C (ppm)	δ_C (ppm)
H-7, 5,42 (1H, <i>s br</i>)	121,8	22,2; 51,6; 56,0
H-27, 4,92 (1H, <i>s</i>)	107,7	37,9; 54,4; 147,3
H-27, 4,61 (1H, <i>s</i>)	107,7	37,9; 54,4; 147,3
H-2, 2,70 (1H, <i>m</i>)	34,6	36,5; 38,1; 216,7
H-20, 2,61 (1H, <i>m</i>)	34,7	37,8; 39,2; 216,6
H-15, 2,42 (1H, <i>m</i>)	37,9	25,2; 107,7; 147,3
H-11, 2,40 (1H, <i>m</i>)	24,0	56,0
H-12, 2,40 (1H, <i>m</i>)	24,1	54,4
H-2, 2,24 (1H, <i>m</i>)	34,6	36,5; 38,1; 216,7
H-20, 2,21 (1H, <i>m</i>)	34,7	37,8; 39,2; 216,6
H-1, 2,06 (1H, <i>m</i>)	38,1	34,6, 36,5, 216,8
H-19, 2,00 (1H, <i>m</i>)	37,8	34,7, 39,2, 216,6
H-11, 1,92 (1H, <i>m</i>)	24,0	56,0
H-12, 1,92 (1H, <i>m</i>)	24,1	54,4
H-26, 1,72 (3H, <i>s</i>)	22,2	56,0; 121,8; 135,4
H-16, 1,67 (1H, <i>dd</i> , $J=7,10$ Hz)	25,2	55,2
H-9, 1,65 (1H, <i>m</i>)	56,0	22,2
H-13, 1,60 (1H, <i>m</i>)	55,2	14,2
H-17, 1,58 (1H, <i>dd</i> , $J=5,7$ Hz)	54,4	26,1; 39,2; 54,4
H-5, 1,59 (1H, <i>dd</i> , $J=5,7$ Hz)	51,6	22,0; 36,5; 56,0
H-19, 1,54 (1H, <i>m</i>)	37,8	34,7, 39,2, 216,6
H-16, 1,44 (1H, <i>dd</i> , $J=5,10$ Hz)	25,2	55,2
H-1, 1,42 (1H, <i>m</i>)	38,1	34,6, 36,5, 216,8
H-6, 1,35 (1H, <i>dd</i> , $J=7,10$ Hz)	25,3	36,5; 121,8
H-6, 1,26 (1H, <i>dd</i> , $J=5,10$ Hz)	25,3	36,5; 121,8
H-29, 1,10 (3H, <i>s</i>)	26,1	47,7; 55,2; 216,6
H-24, 1,08 (3H, <i>s</i>)	22,0	47,4; 51,6; 216,8
H-23, 1,04 (3H, <i>s</i>)	25,0	47,4; 51,6; 216,8
H-30, 1,01 (3H, <i>s</i>)	21,6	47,7; 55,2; 216,6
H-25, 0,94 (3H, <i>s</i>)	13,5	36,5; 38,1; 51,6; 56,0
H-28, 0,84 (3H, <i>s</i>)	14,2	37,8; 39,2; 55,2; 54,4

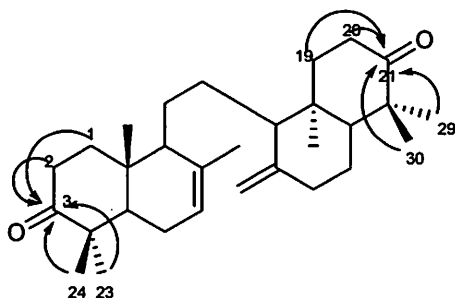
Spektrum HMBC (Lampiran-7) merupakan korelasi antara sinyal proton dari $^1\text{H-NMR}$ dengan sinyal karbon dari $^{13}\text{C-NMR}$ dalam dua atau tiga ikatan. Penempatan posisi gem dimetil, keton, dan metil olefinik ditentukan berdasarkan analisis HMBC. Hasil analisis spektrum HMBC dapat dilihat pada Tabel 5.2. Dua gugus metil terikat pada satu atom karbon yang sama. Proton-proton gem dimetil

H-23 (δ_H 1,04) dan H-24 (δ_H 1,08) ditetapkan posisinya berdasarkan spektrum HMBC yang menunjukkan korelasi dua ikatan dengan karbon gem dimetil C-4 (δ_C 47,4) dan korelasi tiga ikatan dengan C-3 (δ_C 216,8) dan C-5 (δ_C 51,6). Proton-proton gem dimetil lain H-29 (δ_H 1,10) dan H-30 (δ_H 1,01) menunjukkan korelasi dua ikatan dengan karbon gem dimetil C-22 (δ_C 47,7) dan korelasi tiga ikatan dengan C-21 (δ_C 216,6) dan C-17 (δ_C 55,2). Korelasi gem dimetil terlihat pada Gambar 5.6.



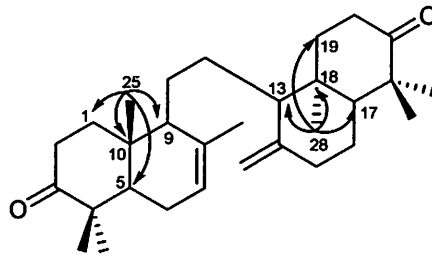
Gambar 5.6 Korelasi antara sinyal proton H-23/H-24 dengan sinyal karbon C-3, C-4, dan C-5 serta korelasi sinyal proton H-29/H-30 dengan sinyal karbon C-17, C-21, dan C-22 pada spektrum HMBC

Korelasi dari dua gugus metil diatas serta proton H-1 (δ_H 1,42 dan 2,06) dan H-2 (δ_H 2,24 dan 2,70) menguatkan bahwa gugus keton berada di C-3 (δ_C 216,8). Korelasi dua gugus metil lainnya serta proton H-19 (δ_H 1,54 dan 2,00) dan H-20 (δ_H 2,21 dan 2,61) menguatkan bahwa gugus keton yang lain berada di C-21 (δ_C 216,6) seperti pada Gambar 5.7.



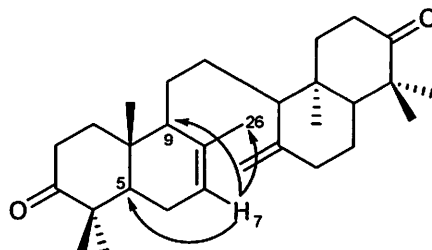
Gambar 5.7 Korelasi antara sinyal proton H-1, H-2, H-23/H-24 dengan sinyal karbon C-3 serta korelasi sinyal proton H-19, H-20, H-29/H-30 dengan sinyal karbon C-21 pada spektrum HMBC

Posisi gugus metil kuartener C-25 (δ_C 13,5) ditetapkan berdasarkan korelasi HMBC antara proton H-25 (δ_H 0,94) dengan C-1 (δ_C 38,1), C-5 (δ_C 51,6), C-9 (δ_C 56,0), dan C-10 (δ_C 36,5). Posisi gugus metil kuartener C-28 (δ_C 14,2) ditetapkan berdasarkan korelasi HMBC antara proton H-28 (δ_H 0,84) dengan C-13 (δ_C 54,4), C-17 (δ_C 55,2), C-18 (δ_C 39,2) dan C-19 (δ_C 37,8) seperti yang pada Gambar 5.8.



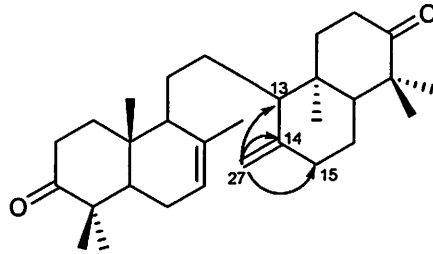
Gambar 5.8 Korelasi antara sinyal proton H-25 dengan sinyal karbon C-1, C-5, C-9, dan C-10 serta korelasi sinyal proton H-28 dengan sinyal karbon C-13, C-17, C-18, dan C-19 pada spektrum HMBC

Proton olefinik H-7 (δ_H 5,42) menunjukkan korelasi dengan C-5 (δ_C 51,6), C-9 (δ_C 56,0) dan C-26 (δ_C 22,2). Proton H-26 (δ_H 1,72) menunjukkan korelasi dengan C-7 (δ_C 121,8), C-8 (δ_C 135,4), dan C-9 (δ_C 55,2). Hal ini menunjukkan bahwa ikatan rangkap pada karbon olefin trisubstitusi berada di C-7 dan C-8 seperti yang pada Gambar 5.9. Dengan demikian sistem bisiklik lainnya yaitu cincin A-B dapat ditetapkan dan telah sesuai dengan *3 β -hidroksionocera-8(26),14-dien-21-on* yang telah dilaporkan (Tanaka *et al*, 2002).



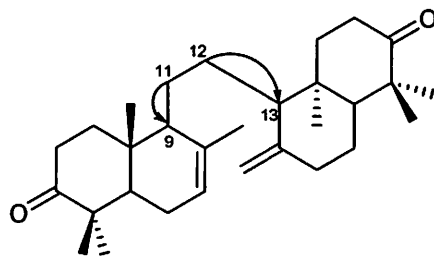
Gambar 5.9 Korelasi antara sinyal proton H-7 dengan sinyal karbon C-5, C-9, dan C-26 pada spektrum HMBC

Proton eksometilen H-27 (δ_H 4,61 dan 4,92) menunjukkan korelasi dengan C-13 (δ_C 54,4), C-14 (δ_C 147,3), dan C-15 (δ_C 37,9). Hal ini menunjukkan bahwa ikatan rangkap dua eksosiklik berada di C-27 seperti yang pada Gambar 5.10. Dengan demikian sistem bisiklik cincin C-D dapat ditetapkan dan sesuai dengan asam lansiolat yang telah dilaporkan (Potipiranun *et al*, 2017).



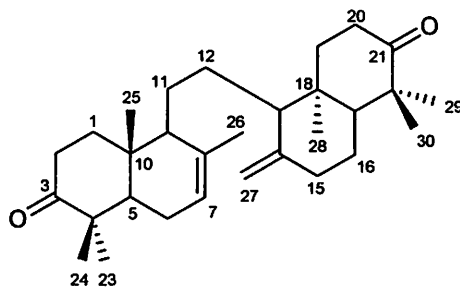
Gambar 5.10 Korelasi antara sinyal proton H-27 dengan sinyal karbon C-13, C-14, dan C-15 pada spektrum HMBC

Sistem bisiklik cincin A-B dan C-D digabungkan dengan adanya jembatan dimetilen yaitu C-11 (δ_C 24,0) dan C-12 (δ_C 24,1). Proton H-11 (δ_H 1,92 dan 2,40) yang memiliki korelasi dengan C-9 (δ_C 56,0) serta proton H-12 (δ_H 1,92 dan 2,40) yang memiliki korelasi dengan C-13 (δ_C 54,4) menunjukkan bahwa dua sistem bisiklik terhubung melalui C-9 dari cincin B ke C-13 dari cincin C seperti pada Gambar 5.11.



Gambar 5.11 Korelasi antara sinyal proton H-11 dengan sinyal karbon C-9 serta korelasi sinyal proton H-12 dengan sinyal karbon C-13 pada spektrum HMBC

Berdasarkan analisis ^1H , ^{13}C -NMR, dan 2D NMR diketahui bahwa struktur senyawa (1) merupakan triterpen onoceranoid dengan nama *8,14-secogammacera-7,14(27)-dien-3,21-dion* (α,γ -onoceradiendion). Struktur senyawa dapat dilihat pada Gambar 5.12.



Gambar 5.12 Struktur senyawa *8,14-secogammacera-7,14(27)-diene-3,21-dione* (α,γ -onoceradiendion) hasil isolasi

Berdasarkan data analisis ^1H , ^{13}C -NMR, dan 2D NMR maka kedudukan atau posisi sinyal proton, sinyal karbon, serta korelasinya baik dalam satu ikatan, dua ikatan, atau tiga ikatan untuk senyawa (1) hasil isolasi dapat dilihat pada Tabel 5.3.

Titik leleh senyawa (1) hasil isolasi memperlihatkan kesesuaian dengan titik leleh onoceradiendion yang diisolasi dari *L. domesticum* Corr yaitu sebesar 152-153 °C. Data spektrum NMR juga memperlihatkan kesesuaian dengan senyawa onoceradiendion pembanding yang diisolasi dari *L. domesticum* Corr (Mayanti *et al*, 2011). Perbandingan data spektrum NMR senyawa *8,14-secogammacera-7,14(27)-dien-3,21-dion* hasil isolasi dan pembanding dalam CDCl_3 dapat dilihat pada Tabel 5.4.

Tabel 5.3 Data NMR senyawa *8,14-secogammacera-7,14(27)-diene-3,21-dione* hasil isolasi dari kulit buah *Lansium domesticum*

C	δ_H (ppm) (mult, <i>J</i> dalam Hz)	δ_C (ppm)	HMBC
1	1,42 (1H, <i>m</i>)	38,1	C-2, C-3, C-10
	2,06 (1H, <i>m</i>)		
2	2,24 (1H, <i>m</i>)	34,6	C-1, C-3, C-10
	2,70 (1H, <i>m</i>)		
3	-	216,8	-
4	-	47,4	-
5	1,59 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> =5, 7 Hz)	51,6	C-9, C-10, C-24
6	1,35 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> =7, 10 Hz)	25,3	C-7, C-10
	1,26 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> =5, 10 Hz)		
7	5,42 (1H, <i>s br</i>)	121,8	C-5, C-9, C-26
8	-	135,4	-
9	1,65 (1H, <i>m</i>)	56,0	C-26
10	-	36,5	-
11	1,92 (1H, <i>m</i>)	24,0	C-9
	2,40 (1H, <i>m</i>)		
12	1,92 (1H, <i>m</i>)	24,1	C-13
	2,40 (1H, <i>m</i>)		
13	1,60 (1H, <i>m</i>)	54,4	C-28
14	-	147,3	-
15	2,42 (2H, <i>m</i>)	37,9	C-14, C-16, C-27
16	1,67 (1H, <i>m</i>)	25,2	C-17
	1,49 (1H, <i>m</i>)		
17	1,58 (1H, <i>m</i>)	55,2	C-13, C-18; C-29
18	-	39,2	-
19	1,54 (1H, <i>m</i>)	37,8	C-18, C-20, C-21
	2,00 (1H, <i>m</i>)		
20	2,21 (1H, <i>m</i>)	34,7	C-18, C-19, C-21
	2,61 (1H, <i>m</i>)		
21	-	216,6	-
22	-	47,7	-
23	1,04 (3H, <i>s</i>)	25,0	C-3, C-4, C-5
24	1,08 (3H, <i>s</i>)	22,0	C-3, C-4, C-5
25	0,94 (3H, <i>s</i>)	13,5	C-1, C-5, C-9, C-10
26	1,72 (3H, <i>s</i>)	22,2	C-7, C-8, C-9
27	4,92 (1H, <i>s</i>)	107,7	C-13, C-14, C-15
	4,61 (1H, <i>s</i>)		
28	0,84 (3H, <i>s</i>)	14,2	C-13, C-17, C-18, C-19
29	1,10 (3H, <i>s</i>)	26,1	C-17, C-21, C-22
30	1,01 (3H, <i>s</i>)	21,6	C-17, C-21, C-22

Tabel 5.4 Perbandingan data spektrum ^1H dan ^{13}C -NMR dari senyawa 8,14-secogammacera-7,14(27)-diene-3,21-dione

C	Onoceradiendion hasil isolasi		Onoceradiendion (Mayanti <i>et al</i> , 2011)	
	δ_{H} (mult, <i>J</i> dalam Hz)	δ_{C}	δ_{H} (mult, <i>J</i> dalam Hz)	δ_{C}
1	1,42 (1H, <i>m</i>)	38,1	1,46 (1H, <i>m</i>)	38,5
	2,06 (1H, <i>m</i>)		2,09 (1H, <i>m</i>)	
2	2,24 (1H, <i>m</i>)	34,6	2,24 (1H, <i>m</i>)	34,8
	2,70 (1H, <i>m</i>)		2,70 (1H, <i>m</i>)	
3	-	216,8	-	216,9
4	-	47,4	-	47,6
5	1,59 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> =5, 7 Hz)	51,6	1,59 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> =5, 7 Hz)	51,6
6	1,35 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> =7, 10 Hz)	25,3	1,33 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> =7, 10 Hz)	30,1
	1,26 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> =5, 10 Hz)		1,24 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> =5, 10 Hz)	
7	5,42 (1H, <i>s br</i>)	121,8	5,43 (1H, <i>s br</i>)	122,1
8	-	135,4	-	135,4
9	1,65 (1H, <i>m</i>)	56,0	1,65 (1H, <i>m</i>)	55,6
10	-	36,5	-	36,7
11	1,92 (1H, <i>m</i>)	24,0	1,93 (1H, <i>m</i>)	24,2
	2,40 (1H, <i>m</i>)		2,40 (1H, <i>m</i>)	
12	1,92 (1H, <i>m</i>)	24,1	1,93 (1H, <i>m</i>)	24,2
	2,40 (1H, <i>m</i>)		2,40 (1H, <i>m</i>)	
13	1,60 (1H, <i>m</i>)	54,4	1,63 (1H, <i>m</i>)	55,6
14	-	147,3	-	147,4
15	2,42 (2H, <i>m</i>)	37,9	2,45 (2H, <i>m</i>)	37,9
16	1,67 (1H, <i>m</i>)	25,2	1,64 (1H, <i>m</i>)	25,2
	1,49 (1H, <i>m</i>)		1,40 (1H, <i>m</i>)	
17	1,58 (1H, <i>m</i>)	55,2	1,50 (1H, <i>m</i>)	51,2
18	-	39,2	-	36,7
19	1,54 (1H, <i>m</i>)	37,8	1,54 (1H, <i>m</i>)	38,5
	2,00 (1H, <i>m</i>)		2,04 (1H, <i>m</i>)	
20	2,21 (1H, <i>m</i>)	34,7	2,35 (1H, <i>m</i>)	34,9
	2,61 (1H, <i>m</i>)		2,61 (1H, <i>m</i>)	
21	-	216,6	-	217,0
22	-	47,7	-	47,6
23	1,04 (3H, <i>s</i>)	25,0	1,04 (3H, <i>s</i>)	25,1
24	1,08 (3H, <i>s</i>)	22,0	1,09 (3H, <i>s</i>)	22,3
25	0,94 (3H, <i>s</i>)	13,5	0,97 (3H, <i>s</i>)	13,5
26	1,72 (3H, <i>s</i>)	22,2	1,72 (3H, <i>s</i>)	22,5
27	4,92 (1H, <i>s br</i>)	107,7	4,91 (1H, <i>s br</i>)	107,9
	4,61 (1H, <i>s br</i>)		4,60 (1H, <i>s br</i>)	
28	0,84 (3H, <i>s</i>)	14,2	0,95 (3H, <i>s</i>)	14,5
29	1,10 (3H, <i>s</i>)	26,1	1,08 (3H, <i>s</i>)	25,1
30	1,01 (3H, <i>s</i>)	21,6	1,10 (3H, <i>s</i>)	22,3

5.2.2 Senyawa (2)

Senyawa (2) (7,2 mg) memiliki wujud padatan berwarna kuning. Spektrum UV dalam metanol memberikan serapan maksimum pada λ_{maks} : 213 nm yang merupakan ciri khas senyawa-senyawa non polar golongan terpenoid dan steroid (Pakaya *et al*, 2011). Spektrum UV senyawa (2) dapat dilihat pada Lampiran-9.

Spektrum IR dalam KBr memperlihatkan pita serapan pada ν_{maks} (cm^{-1}) : 3781 (O-H), 2960 dan 2876 (C-H alifatik), 1712 (C=O karbonil), dan 1651 (C=C olefinik) (Dong *et al*, 2011). Berdasarkan spektrum IR, senyawa (2) merupakan senyawa terpenoid yang mempunyai olefinik serta gugus fungsi berupa keton dan hidroksil. Hasil pengukuran spektrum IR senyawa (2) dapat dilihat pada Lampiran-10.

5.2.3 Senyawa (3)

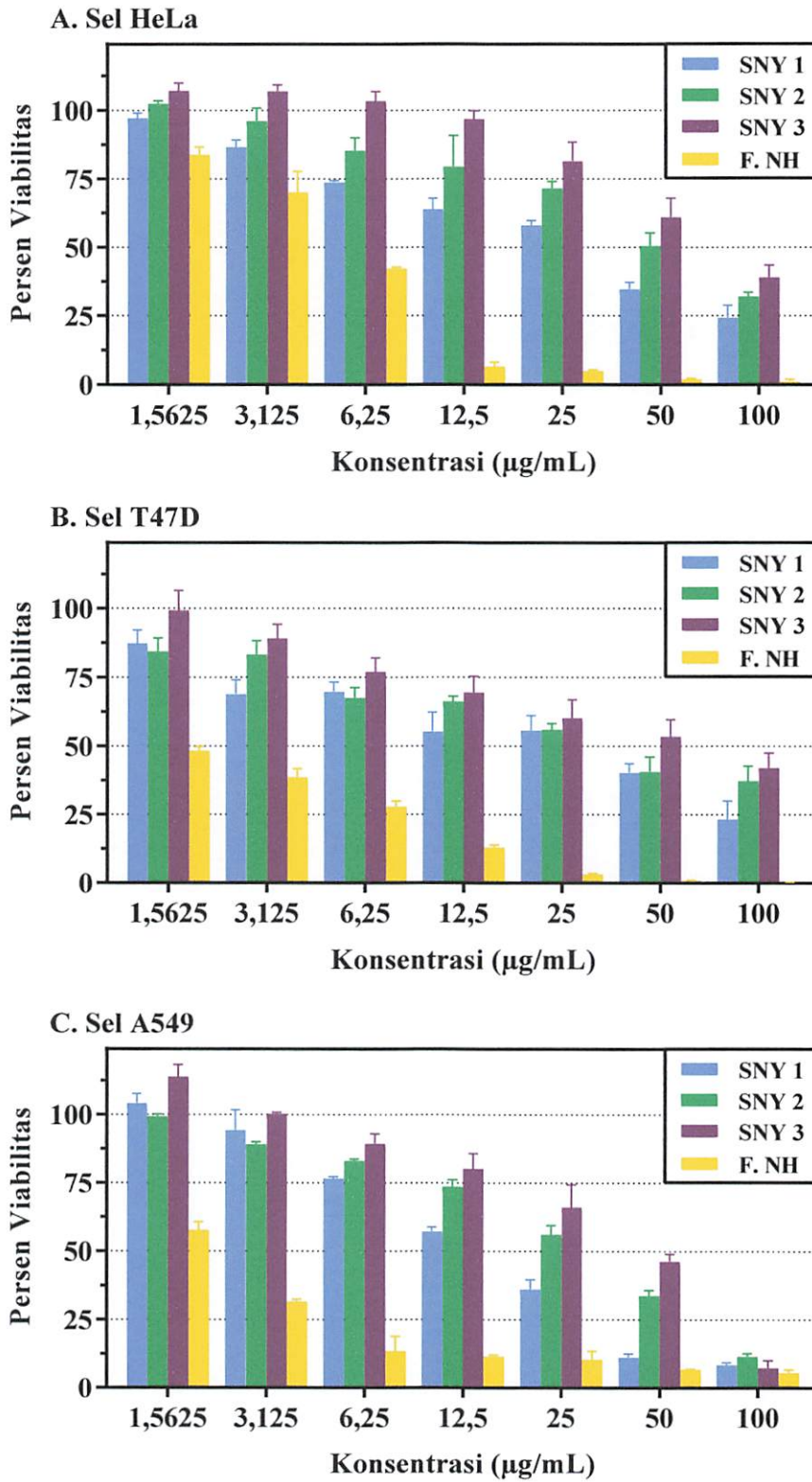
Senyawa (3) (7,5 mg) memiliki wujud padatan berwarna merah muda. Spektrum UV dalam metanol memberikan serapan maksimum pada λ_{maks} : 215 nm yang merupakan ciri khas senyawa-senyawa non polar golongan terpenoid dan steroid (Pakaya *et al*, 2011). Spektrum UV senyawa (3) dapat dilihat pada Lampiran-11.

5.3 Uji Aktivitas Antikanker

Uji aktivitas antikanker pada ekstrak *n*-heksana dan senyawa hasil isolasi dari kulit buah *Lansium domesticum* dilakukan secara *in vitro* terhadap sel kanker serviks (HeLa), payudara (T47D), dan paru-paru (A549) menggunakan metode MTT/XTT. Garam tetrazolium MTT 3-(4,5-dimethyl-2-thiazol)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide dan XTT 2,3-bis[2-methoxy-4-nitro-5-sulfophenyl]-2H-tetrazolium-5-carboxanilide banyak digunakan sebagai metode uji untuk mengukur viabilitas dan proliferasi sel. Kelebihan metode MTT/XTT yaitu uji yang dilakukan sensitif, cepat, akurat, serta dapat mengukur jumlah sampel yang banyak dalam satu waktu (Siregar & Hadijono, 2000; Aslantürk, 2018). Prinsip metode ini didasarkan pada kapasitas enzim dehidrogenase di mitokondria yang

ada dalam sel hidup untuk mereduksi garam kuning MTT menjadi formazan ungu yang tidak larut (Abe dan Matsuki, 2000; Rahman *et al.*, 2001), atau garam kuning XTT menjadi formazan oranye yang larut dalam air (Roehm *et al.*, 1991). Perubahan warna yang terjadi digunakan untuk mendeteksi adanya proliferasi sel. Sel hidup yang mempunyai mitokondria yang mengalami proliferasi akan menyerap reagen MTT/XTT sehingga sel-sel tersebut akan berwarna ungu/oranye akibat terbentuknya kristal tetrazolium (formazan). Sel yang mati tidak memiliki kemampuan berproliferasi sehingga sel tidak dapat mengubah MTT menjadi formazan. Perubahan warna menjadi penanda adanya sel hidup (Śliwka *et al.*, 2016; Riss *et al.*, 2016). Warna yang terbentuk dapat ditentukan secara spektrofotometri visibel (Mosmann, 1983; Wang *et al.*, 2011).

Data yang diperoleh dari hasil uji aktivitas antikanker yaitu berupa data absorbansi pada setiap konsentrasi uji yang digunakan. Hasil uji aktivitas antikanker dengan MTT/XTT *assay* dapat dilihat pada Lampiran 12-14. Absorbansi yang diperoleh dianalisis lebih lanjut untuk mendapatkan nilai persentase viabilitas sel hidup. Gambar 5.13 menunjukkan persen viabilitas sel HeLa, T47D, A549 dengan menggunakan metode MTT/XTT. Persentase viabilitas sel hidup diolah lebih lanjut untuk mendapatkan nilai daya hambat IC_{50} . Nilai IC_{50} (*inhibitory concentration*) merupakan konsentrasi yang diperlukan dalam menghambat pertumbuhan sel sebesar 50%. Nilai IC_{50} ditentukan dari persamaan yang terbentuk dari kurva regresi non linier antara persen viabilitas dan konsentrasi. Analisis perhitungan nilai IC_{50} dari ekstrak, senyawa hasil isolasi dan doksorubisin terhadap sel HeLa, T47D, dan A549 dapat dilihat pada Lampiran 15-17. Hasil perhitungan nilai IC_{50} dari ekstrak, senyawa hasil isolasi dan doksorubisin dapat dilihat pada Tabel 5.5. Aktivitas antikanker ekstrak *n*-heksana dan senyawa hasil isolasi dari kulit buah *Lansium domesticum* akan dibandingkan dengan doksorubisin. Doksorubisin merupakan kontrol positif yang digunakan dalam penelitian ini (Tan *et al.*, 2009).



Gambar 5.13 Persen viabilitas sel (A) HeLa, (B) T47D, dan (C) A549 setelah 48 jam dengan menggunakan metode MTT/XTT

Tabel 5.5. Hasil perhitungan nilai IC₅₀ dari ekstrak dan senyawa hasil isolasi

Senyawa Uji	IC ₅₀ ± S.D. (µg/mL)		
	T47D	HeLa	A549
Senyawa (1)	30,69 ± 1,87	32,39 ± 1,17	13,71 ± 0,42
Senyawa (2)	35,36 ± 5,65	62,40 ± 3,10	28,87 ± 2,06
Senyawa (3)	68,86 ± 9,34	60,38 ± 5,23	44,83 ± 10,21
Fraksi <i>n</i> -heksana	0,10 ± 5,88	59,55 ± 4,29	18,83 ± 2,58
Doksorubisin	0,04 ± 0,03	2,83 ± 0,18	-

Senyawa *8,14-secogammacera-7,14(27)-dien-3,21-dion* (1), (2), (3), dan ekstrak *n*-heksana menunjukkan aktivitas antikanker terhadap sel HeLa berturut-turut sebesar 32,39, 62,40, 60,38, dan 59,55 µg/mL. Senyawa *8,14-secogammacera-7,14(27)-dien-3,21-dion* (1), (2), (3), dan ekstrak *n*-heksana menunjukkan aktivitas antikanker terhadap sel T47D berturut-turut sebesar 30,69, 35,36, 68,86, dan 0,10 µg/mL. Senyawa *8,14-secogammacera-7,14(27)-dien-3,21-dion* (1), (2), (3), dan ekstrak *n*-heksana menunjukkan aktivitas antikanker terhadap sel A549 berturut-turut sebesar 13,71; 28,87; 44,83; dan 18,83 µg/mL. Senyawa *8,14-secogammacera-7,14(27)-dien-3,21-dion* (1), (2), dan (3) tergolong aktif sebagai antikanker baik terhadap sel HeLa, T47D, maupun A549. Hal ini sesuai dengan Anwar *et al* (2018) yang menyatakan bahwa suatu senyawa dikategorikan sebagai senyawa aktif antikanker jika senyawa tersebut memiliki nilai IC₅₀ < 20 µg/mL (sangat aktif), IC₅₀ = 20-100 µg/mL (aktif), dan IC₅₀ > 100 µg/mL (tidak aktif).

Ekstrak *n*-heksana memiliki nilai IC₅₀ 0,10 µg/mL terhadap sel T47D. Ekstrak *n*-heksana memiliki aktivitas antikanker yang jauh lebih tinggi jika dibandingkan dengan ketiga senyawa hasil isolasi. Ekstrak ini hanya empat kali lebih lemah jika dibandingkan dengan doksorubisin. Doksorubisin memiliki nilai IC₅₀ yaitu 0,04 µg/mL terhadap sel T47D. Senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak *n*-heksana saling bersinergis satu sama lainnya sehingga menyebabkan aktivitasnya menjadi lebih tinggi. Satu senyawa dengan senyawa lainnya berinteraksi sehingga menghasilkan pengaruh kumulatif yang cukup signifikan dibandingkan dengan masing-masing senyawa tunggalnya.

Senyawa *8,14-secogammacera-7,14(27)-dien-3,21-dion* (1) aktif terhadap sel HeLa dan sangat aktif terhadap A549. Senyawa *8,14-secogammacera-7,14(27)-dien-3,21-dion* (1) memiliki nilai IC_{50} 32,39 dan 13,71 $\mu\text{g/mL}$ terhadap sel HeLa dan A549. Senyawa *8,14-secogammacera-7,14(27)-dien-3,21-dion* (1) memiliki potensi antikanker yang paling baik bila dibandingkan dengan dua senyawa lainnya. Hal ini dikarenakan adanya gugus karbonil yang dapat meningkatkan sifat lipofilitas sehingga mampu memudahkan penetrasi suatu senyawa untuk menembus membran sel (Daníhelová *et al.*, 2012).

BAB VI
KESIMPULAN DAN SARAN

BAB VI

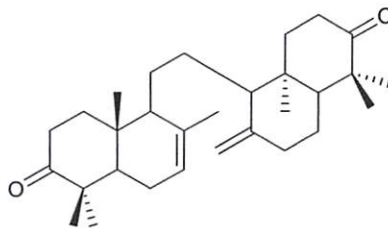
KESIMPULAN DAN SARAN

MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

1. Tiga senyawa onoceranoid telah berhasil diisolasi dari ekstrak *n*-heksana kulit buah *Lansium domesticum*. Namun hanya senyawa (1) yang paling murni sehingga ia dapat ditentukan struktur molekulnya.
2. Senyawa triterpen onoceranoid berupa *8,14-secogammacera-7,14(27)-dien-3,21-dion* (1) telah berhasil diisolasi dari kulit buah langsung (*Lansium domesticum*).



8,14-secogammacera-7,14(27)-dien-3,21-dion (1)

3. Senyawa aktif dari kulit buah langsung (*Lansium domesticum*) yang memiliki aktivitas sebagai antikanker adalah senyawa *8,14-secogammacera-7,14(27)-dien-3,21-dion* (1) dengan nilai IC_{50} sebesar 30,69; 32,39; 13,71 $\mu\text{g/mL}$ terhadap sel HeLa, T47D, dan A549. Fraksi *n*-heksana merupakan fraksi aktif yang memiliki aktivitas tertinggi dengan nilai IC_{50} sebesar 0,10 $\mu\text{g/mL}$ terhadap sel T47D. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak tersebut sangat toksik dan berpotensi tinggi sebagai antikanker.

6.2 Saran

Mengingat keterbatasan waktu dalam proses penentuan struktur dan masih banyaknya fraksi yang belum dipisahkan serta tingginya kemungkinan untuk menemukan senyawa baru yang memiliki potensi antikanker tinggi, maka disarankan untuk melakukan penelitian yang berkelanjutan agar mendapatkan senyawa baru dengan aktivitas lainnya secara *in vivo* maupun *in vitro*.

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA



- Abe, K., Matsuki, N., 2000, Measurement of cellular 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) reduction activity and lactate dehydrogenase release using MTT. *Neuroscience Research* 38, 325–329.
- Anwar, C., Prasetyo, Y.D., Matsjeh, S., Haryadi, W., Sholikhah, E.N., Nendrowati., 2018, Synthesis of chalcone derivatives and their in vitro anticancer test against breast (T47D) and colon (WiDr) cancer cell line. *Indonesian Journal Chemistry*, 18 (1), 102–107.
- Arbiastutie, Y., Marsono, D., Hartati, M.S., Purwanto, R., 2017, The potential of understory plants from Gunung Gede Pangrango National Park (West Java, Indonesia) as cervix anticancer agents. *Biodiversitas*, 18 (1), 109–115.
- Arung, E.T., Kusuma, I.W., Christy, E.O., Shimizu, K., Kondo, R., 2009, Evaluation of medicinal plants from Central Kalimantan for antimelanogenesis. *Journal of Natural Medicine*, 63, 473–480.
- Aslantürk, Ö.S., 2018, In Vitro Cytotoxicity and Cell Viability Assays: Principles, Advantages, and Disadvantages, In Larramendy, M.L., Soloneski, S. (Eds), *Genotoxicity - A Predictable Risk to Our Actual World*, Chapter 1, 1–17, United Kingdom : IntechOpen.
- Bahuguna, A., Khan, I., Bajpai, V.K., Kang, S.C., 2017, MTT assay to evaluate the cytotoxic potential of a drug, *Bangladesh Journal of Pharmacology*, 12, 115–118.
- Cragg, G.M., Newman, D.J., 2005, Plants as a source of anti-cancer agents. *Journal of Ethnopharmacology*, 100 (1-2), 72–79.
- Danihelová, M., Veverka, M., Šturdík, E., Jantová, S., 2013, Antioxidant action and cytotoxicity on HeLa and NIH-3T3 cells of new quercetin derivatives. *Interdisciplinary Toxicology*, 6 (4), 209–216.
- Dong, S.H., Zhang, C.R., Dong, L., Wu, Y., Yue, J.M., 2011, Onoceranoid-type triterpenoids from *Lansium domesticum*. *Journal of Natural Products*, 74 (5), 1042–1048.

- Farida, Y., Martati, T., Musir, A., Edward., B., 2010, Cytotoxic activity and antioxidants from *Typhonium divaricatum* leaf extract (L) decne, *Indonesian Journal Pharmacy Science*, 8 (2), 69–140.
- Foo, K.Y., Hameed, B.H., 2012, Preparation of activated carbon by microwave heating of langsung (*Lansium domesticum*) empty fruit bunch waste. *Bioresource Technology*, 116, 522–525.
- Habaguchi, K., Watanabe, M., Nakadaira, Y., Nakanishi, K., 1968, The full structures of lansic acid and its minor congener, an unsymmetric onoceradienedione. *Tetrahedron Letter*, 34, 3731–3734.
- Hartwell, J.L. 1982. Plants used against cancer. *A Survey Lloydia*, 30, 379–436.
- Harwood, L.M., Moody, C.J., & Percy, J.M., 1999, *Experimental Organic Chemistry*. Berlin: Iowa State University Press.
- Holliday, D.L., Speirs, V., 2011, Choosing the right cell line for breast cancer research. *Breast Cancer Research*, 13 (215), 1–17.
- Khalili, R.M., Noratiqah, J.M., Norhaslinda, R., Norhayati, A.H., Amin, B.A., Roslan, A., Zubaidi, L.A., 2017, Cytotoxicity effect and morphological study of different duku (*Lansium domesticum* corr.) extract toward human colorectal adenocarcinoma cells line (HT-29). *Pharmacognosy Journal*, 9 (6): 757–761.
- Klungsupya, P., Suthepakul, N., Muangman, T., Rerk-Am, U., Thongdon, J., 2015, Determination of free radical scavenging, antioxidative DNA damage activities and phytochemical components of active fractions from *Lansium domesticum* Corr. Fruit. *Nutrients*, 7 (8), 6852–6873.
- Krishnappa, S., Dev, S., 1973, Sesquiterpenes from *Lansium anamalayanum*. *Phytochemistry*, 12, 823–825.
- Leaman, D.J., Arnason, A.T., Yusuf, R., Roemantyo, H.S., Soedjito, H., Angerhofer, C.K., Pezzuto, J.M., 1995, Malaria remedies of the Kenyah of the Apo Kayan, East Kalimantan, Indonesia Borneo: a quantitative assessment of local consensus as an indicator of biological efficacy. *Journal of Ethnopharmacology*, 49 (1), 1–16.
- Leatemia, J.A., Isman, M.B., 2004, Insecticidal activity of crude seed extracts of *Annona* spp., *Lansium domesticum* and *Sandoricum koetjape* against Lepidopteran Larvae. *Phytoparasitica*, 32 (1), 30–37.

- Lim, T.K. 2012. *Edible Medicinal and Non-Medicinal Plants*. Netherlands : Springer.
- Ludwiczuk, A., Skalicka-Woźniak, K., Georgiev, M.I., 2017, Terpenoids. *Pharmacognosy: Fundamentals, Applications and Strategy*, 233–266.
- Lucin, K.M, 2018, Using Cancer Staging to Teach about Tissue Layers, *Bioscene*, 44 (2), 37–41.
- Mabberley, D.J. 1985. *Mabberley's Plant-book : A Portable Dictionary of Plants, Their Classification and Uses*. New York : Cambridge University Press.
- Majeed, S., Bakhtiara, N.F., Danish, M., Ibrahim, M.N.M., Hashim, R., 2019, Green approach for the biosynthesis of silver nanoparticles and its antibacterial and antitumor effect against osteoblast MG-63 and breast MCF-7 cancer cell lines. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 12, 1–6.
- Manosroi, A., Jantrawut, P., Sainakham, M., Manosroi, W., Manosroi, J., 2012, Anticancer activities of the extract from longkong (*Lansium domesticum*) young fruits. *Pharmaceutical Biology*, 50 (11), 1397–1407.
- Matias, M., Campos, G., Santos, A.O., Falcão, A., Silvestre, S., Gilberto, A., 2017, Potential antitumoral 3,4-dihydropyrimidin-2-(1H)-ones: synthesis, in vitro biological evaluation and QSAR studies. *Arabian Journal of Chemistry*, 1–17.
- Matsumoto, T., Kitagawa, T., Teo, S., Anai, Y., Ikeda, R., Imahori, D., Ahmad, H.S., Watanabe, T., 2018, Structures and antimutagenic effects of onoceranoid-type triterpenoids from the leaves of *Lansium domesticum*. *Journal of Natural Products*, 81 (10), 2187–2194.
- Mayanti, T., Tjokronegoro, R., Supratman, U., Mukhtar, M.R., Awang, K., Hadi, A.H.A., 2011, Antifeedant triterpenoids from the seeds and bark of *Lansium domesticum* cv Kokossan (Meliaceae). *Molecules*, 16, 2785–2795.
- Mayanti, T., Sianturi, J., Harneti, D., Darwati, Supratman, U., Rosli, M.M., Fun, H.K., 2015, 9,19-cyclolanost-24-en-3-one,21,23-epoxy-21,22-dihydroxy (21R, 22S, 23S) from the laves of *Lansium domesticum* Corr cv Kokossan. *Molbank*, 1–7.
- Meerloo, J.V., Kaspers, G.J.L., Cloos, J., 2011, Cell sensitivity assays: the MTT assay. Ian A. Cree (Eds), *Cancer Cell Culture : Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology*, Vol. 731, Second Edition. New York : Humana Press.

- Mosmann, T., 1983, Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival : application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunology Methods*, 65, 55–63.
- Mutiah, R., Listiyana, A., Suryadinata, A., Annisa, R., Hakim, A., Anggraini, W., Susilowati, R., 2018, Activity of inhibit the cell cycle and induct apoptosis in HeLa cancer cell with combination of Sabrang onion (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr) and Starfruit Mistletoe (*Macrosolen cochinchinensis* (Lour.) Tiegh). *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 8 (10), 122–128.
- Nakano, T., Ohno, T., Ishikawa, H., Suzuki, Y., Takahashi, T., 2010, Current advancement in radiation therapy for uterine cervical cancer. *Journal of Radiation Research*, 51, 1–8.
- Nishizawa, M., Nishide, H., Hayashi, Y., 1982, The structure of lansioside a : a novel triterpene glycoside with amino-sugar from *Lansium domesticum*. *Tetrahedron Letters*, 23 (13), 1349–1350.
- Nishizawa, M., Nishide, H., Kosela, S., Hayashi, Y., 1983, Structure of lansiosides: biologically active new triterpene glycosides from *Lansium domesticum*. *The Journal of Organic Chemistry*, 48 (24), 4462–4466.
- Nishizawa, M., Nademoto, Y., Sastrapradja, S., Shiro, M., Hayashi, Y., 1985, Structure of dukunolides, bitter principles of *Lansium domesticum*. *The Journal of Organic Chemistry*, 50, 5487–5490.
- Nishizawa, M., Nademoto, Y., Sastrapradja, S., Shiro, M., Hayashi, Y., 1988, Dukunolide D, E and F: new tetranortriterpenoids from the seeds of *Lansium domesticum*. *Phytochemistry*, 27 (I), 237–239.
- Nishizawa, M., Emura, M., Yamada, B., Shiro, M., Chairul, Hayashi, Y., Tokuda, R., 1989, Isolation of a new cycloartanoid triterpene from leaves of *Lansium domesticum* novel skin-tumor promotion inhibitors. *Tetrahedron Letters*, 30 (41), 5615–5618.
- Norhayati, A.H., Khalili, M.A., Hulwany, Z., Munira, I.S., Amin A., Muralidhara. Zubaidi, A., 2016, Potential effects of duku (*Lansium domesticum* corr) and langsung (*Lansium domesticum* jack) extracts on the growth of Bifidobacteria spp. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 8 (11), 69–74.
- Omar, S., Marcotte, M., Fields, P., Sanchez, P.E., Poveda, L., Mata, R., Jimenez, A., Durst, T., Zhang, J., MacKinnon, S., Leaman, D., Arnasona, J.D.,

- Philogène, B.J.R., 2007, Antifeedant activities of terpenoids isolated from tropical rutales. *Journal of Stored Products Research*, 43, 92–96.
- Oun, R., Moussa, Y.E., Wheate, N.J., 2018, The side effects of platinum-based chemotherapy drugs: a review for chemists. *Dalton Transactions*, 47, 6645–6653.
- Pakaya, F., Bialangi, N., Musa, W.J.A., 2011, Isolasi dan identifikasi senyawa aktif *antifeedant* daun jarak kepyar (*Ricinus communis* Linn) terhadap serangga *Epilachna varivestis*. *Jurnal Entropi*, 6 (2), 121–136.
- Pillai, G., 2019, Nanotechnology Toward Treating Cancer : A Comprehensive Review, In Mohapatra, S.S., Ranjan, S., Dasgupta, N., Mishra, R.K, Thomas, S (Eds), *Applications of Targeted Nano Drugs and Delivery Systems*, 221–256. Netherlands : Elsevier.
- Potipiranun, T., Worawalai, W., Phuwapraisirisan, P., 2017, Lamesticumin G, a new α -glucosidase inhibitor from the fruit peels of *Lansium parasiticum*. *Natural Product Research*, 32 (16), 1881–1886.
- Putra, B., Wahyuningsih, M.S.H., Sholikhah, E.N., 2017, Cytotoxic activity of simvastatin in T47D breast cancer cell lines and its effect on cyclin D1 expression and apoptosis. *Journal of Medical Sciences*, 49 (2), 47–55.
- Rahardi, F. 2014. *Agribisnis Tanaman Perkebunan*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Rahman, A.U., Choudhary, M.I., Thomsen, W.J. 2001. *Bioassay Techniques for Drug Development*. Amsterdam: Harwood Academic Publishers.
- Ramadhan, R., Worawalai, W., Phuwapraisirisan, P., 2018, New onoceranoid xyloside from *Lansium parasiticum*. *Natural Product Research*, 1–8.
- Ragasa, C.Y., Labrador, P., Rideout, J.A., 2006, Antimicrobial Terpenoids from *Lansium domesticum*. *The Philippine Agricultural Scientist*, 89 (1), 101–105.
- Rayan, A., Raiyn, J., Falah, M., 2017, Nature is the best source of anticancer drugs: indexing natural products for their anticancer bioactivity. *PLoS ONE*, 12 (11), 1–12.
- Riss, T.L., Moravec, R.A., Niles, A.L., Benink, H.A., Worzella, T.J., Minor, L., 2016, Cell Viability Assay, in Sittampalam GS, Coussens NP, Brimacombe K, et al. (Editor), *Assay Guidance Manual*, Eli Lilly & Company and the National Center for Advancing Translational Sciences, Bethesda.

- Rodrigues, S., Silva, E.D.O., Brito, E.S.D. 2018. Exotic Fruits Reference Guide. London : Academic Press.
- Roehm, N.W., Rodgers, G.H., Hatfield, S.M., Glasebrook, A.L., 1991, An improved colorimetric assay for cell proliferation and viability utilizing the tetrazolium salt XTT. *Journal of Immunological Methods*, 142, 257–265.
- Rohin, M.A., Jumli, M.N., Ridzwan, N., Hadi, N.A., Ismail, S., Hussin, T.M., Taib, W.R., Rahman, N.I., Latif, A.Z., 2016, Anti-proliferative effect of duku (*Lansium domesticum* corr) extracts on human colorectal adenocarcinoma cell lines. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 7 (2), 1078–1083.
- Ruddon, R.W. 2007. Cancer Biology, Fourt Edition. United Kingdom : Oxford University Press.
- Rudiyansyah. Alimudin, A.H., Masriani, Muharini, R., Proksch, P., 2018, New tetranortriterpenoids, langsatides A and B from the seeds of *Lansium domesticum* Corr. (Meliaceae). *Phytochemistry Letters*, 23, 90–93.
- Saewan, N., Sutherland, J.D., Chantrapromma, K., 2006, Antimalarial tetranortriterpenoids from the seeds of *Lansium domesticum* Corr. *Phytochemistry*, 67 (20), 2288–2293.
- Shankar, S., Jaiswal, L., Aparna, R.S.L., Prasad, R.G.S.V., 2014, Synthesis, characterization, in vitro biocompatibility, and antimicrobial activity of gold, silver and gold silver alloy nanoparticles prepared from *Lansium domesticum* fruit peel extract. *Materials Letters*, 137, 75–78.
- Silverstein, R.S., Webster, F.X., Kiemle, D.J. 2005. Spectrometric Identification of Organic Compounds 7th Edition. New York : John Wiley & Sons, Inc.
- Situasi Penyakit Kanker. Dipetik pada tanggal 18 April 2016 dari Info Pusdatin : Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. <http://www.pusdatin.kemkes.go.id>.
- Siregar, F., Hadijono, B.S., 2000, Uji sitotoksisitas dengan esei MTT. *Jurnal Kedokteran Gigi Universitas Indonesia*, 7, 28–32.
- Śliwka, L., Wiktorska, K., Suchocki, P., Milczarek, M., Mielczarek, S., Lubelska, K., Cierpień, T., Łyżwa, P., Kielbasiński, P., Jaromin, A., Flis, A., Chilmonczyk, Z., 2016, The Comparison of MTT and CVS Assays for the Assessment of Anticancer Agent Interactions. *PLoS ONE*, 11(5), 1–17.

- Sloane, D., 2009, Cancer epidemiology in the united states : racial, social, and economic factors. *Methods in Molecular Biology*, 471, 65–83.
- Tacar, O., Sriamornsak, P., Dass, C.R., 2012, Doxorubicin: an update on anticancer molecular action, toxicity and novel drug delivery systems. *Journal of Pharmacy And Pharmacology*, 65, 157–170.
- Tan, M.L., Choong, P.F. and Dass, C.R., 2009, Review: doxorubicin delivery systems based on chitosan for cancer therapy. *Journal of Pharmacotherapy and Pharmacology*, 61 (11), 131–42.
- Tanaka, T., Ishibashi, M., Fujimoto, H., Okuyama, E., Koyano, T., Kowithayakorn, T., Hayashi, M., Komiyama, K., 2002, New onoceranoid triterpene constituents from *Lansium domesticum*. *Journal of Natural Products*, 65 (11), 1709–1711.
- Tilaar, M., Wih, W.L., Ranti, A.S., Wasitaatmadja, S.M., Suryaningsih, Junardy, F.D., Maily., 2007, Review of *Lansium domesticum* Corrêa and its use in cosmetics. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 7 (4), 183–189.
- Vardanyan, R. S., & Hruby, V. J., 2006, Antineoplastics, In Hruby, V. J. (Eds), *Synthesis of Essential Drugs*, 389–418. Netherlands : Elsevier.
- Venkatachalam, K. 2019. *Bioactive Compounds of Longkong Fruit (Lansium domesticum* Corr.). Netherlands : Springer.
- Wang, S., Yu, H., Wickliffe, J.K., 2011, Limitation of the MTT and XTT assays for measuring cell viability due to superoxide formation induced by nano-scale TiO₂. *Toxicology in Vitro*, 25, 2147–2151.
- World Health Organization. 2015. WHO Guidance Note: Comprehensive Cervical Cancer Prevention and Control. Geneva : WHO Press.
- Wong, K.C., Wong, S.W., Siew, S.S., Tie, D.Y., 1994, Volatile constituents of the fruits of *Lansium domesticum* Correa (duku and langsat) and *Baccaurea motleyana* (Muell. Arg.) Muell. Arg. (Rambai). *Flavour And Fragrance Journal*, 9, 319–324.
- Xu, R., Ye, Y., Zhao, W. 2011. *Introduction to natural products chemistry*. Beijing : CRC Press.

- Yang, L., Yang, C., Li, C., Zhao, Q., Liu, L., Fang, X., Chen, X.Y., 2016, Recent advances in biosynthesis of bioactive compounds in traditional Chinese medicinal plants. *Science Bulletin*, 61 (1), 3–17.
- Yapp, D.T.T., Yap, S.Y., 2003, *Lansium domesticum*: skin and leaf extracts of this fruit tree interrupt the lifecycle of *Plasmodium falciparum*, and are active towards a chloroquine-resistant strain of the parasite (T9) *in vitro*. *Journal of Ethnopharmacology*, 85, 145–150.

LAMPIRAN

Lampiran-1 Hasil identifikasi tumbuhan



LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA
 (Indonesian Institute of Sciences)
PUSAT PENELITIAN BIOLOGI
 (Research Center for Biology)

Jl. Raya Jakarta - Bogor Km. 46 Cibinong 16911, Indonesia P.O Box 25 Cibinong
 Telp. (021) 87907636 - 87907604 Fax. 87907612

Cibinong, 30 Januari 2019

Nomor : *116a*/IPH.1.02/If.8/1/2019
 Lampiran : -
 Perihal : Hasil identifikasi/ determinasi Tumbuhan

Kepada Yth.
 Bpk./Ibu/Sdr(i). Qonitah Labibah
 Kampus C Universitas Airlangga
 Jalan Ir. Soekarno
 SURABAYA

Dengan hormat,

Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi/determinasi tumbuhan yang Saudara kirimkan ke "Herbarium Bogoriense", Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi-LIPI Bogor, adalah sebagai berikut :

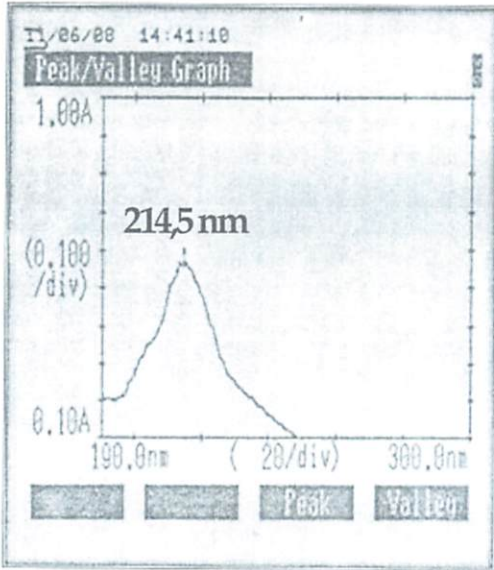
No.	No. Kol.	Jenis	Suku
1.	Langsat	<i>Lansium domesticum</i> Jack	Meliaceae

Demikian, semoga berguna bagi Saudara.

Kepala Bidang Botani
 Pusat Penelitian Biologi-LIPI,

Dr. Joeni Setijoe Rahajoe
 NIP. 196706241993032004

Lampiran-2 Spektrum UV senyawa (1)



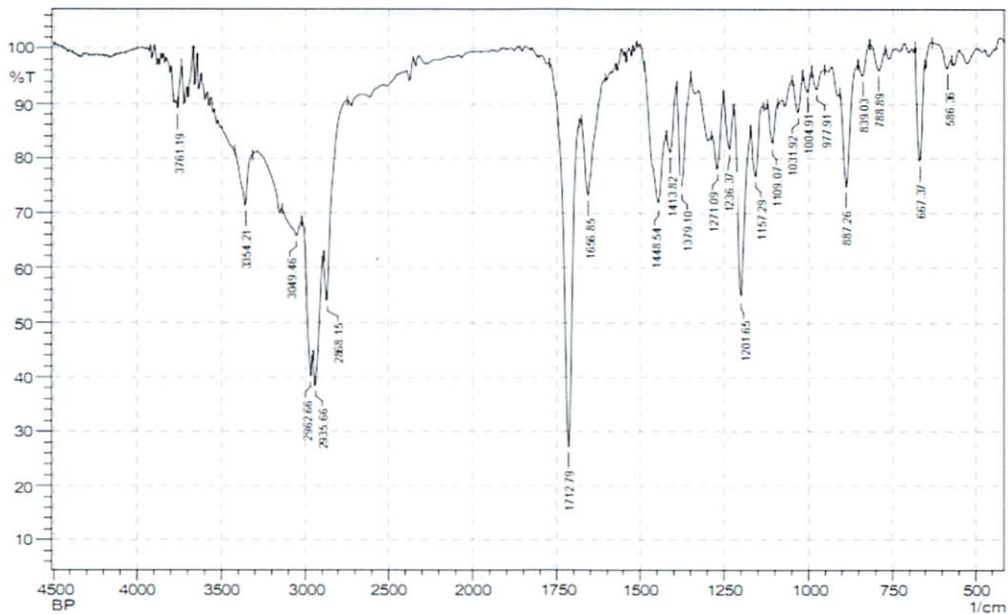
Spektrum UV-Vis senyawa (1) hasil isolasi dengan panjang gelombang 214,5 nm dan absorbansi = 0,571

Lampiran-3 Spektrum IR dalam KBr senyawa (1)

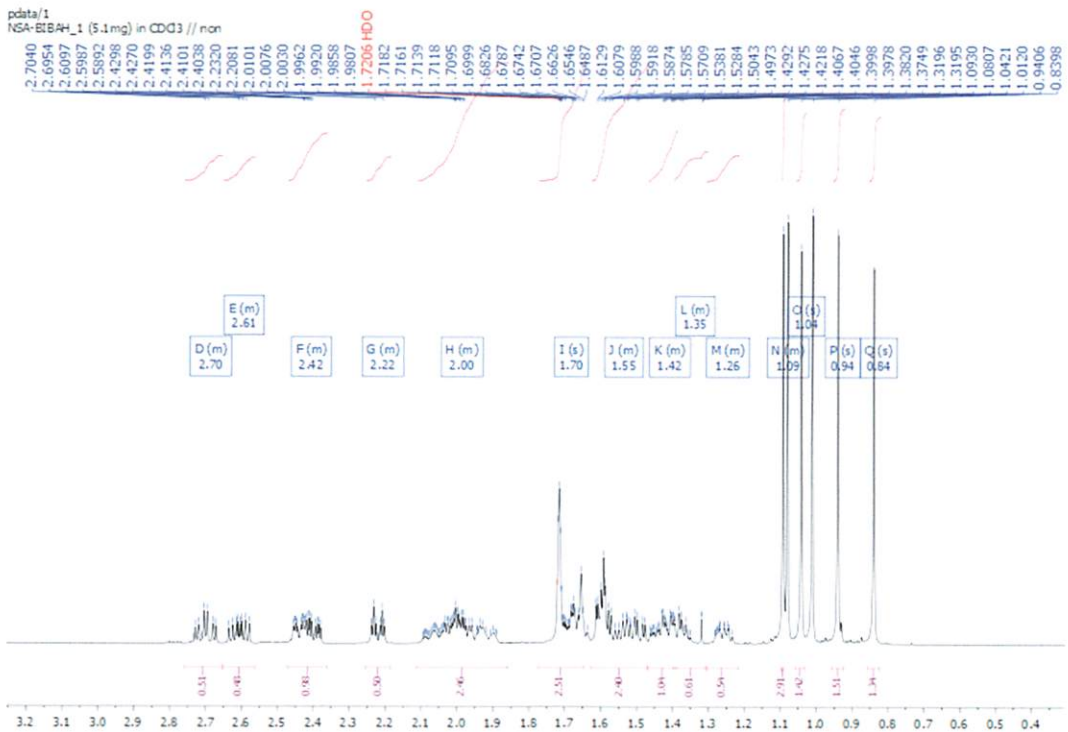
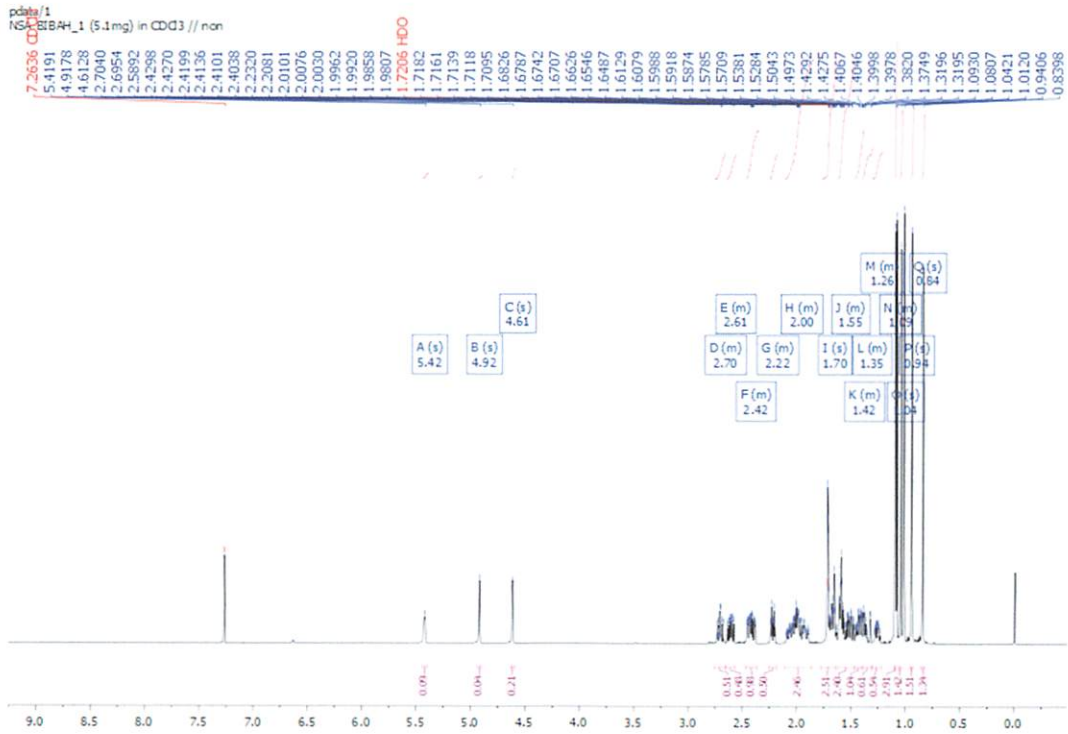


UNIVERSITAS AIRLANGGA
 FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
 DEPARTEMEN KIMIA
 PUSAT LABORATORIUM INSTRUMENTASI

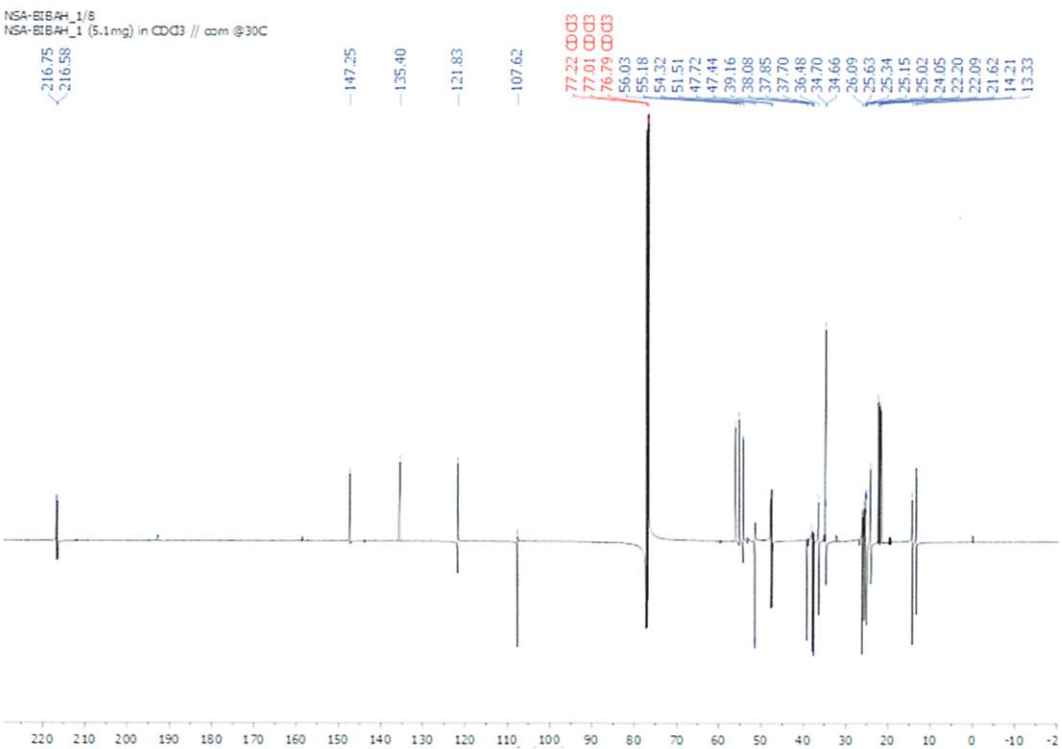
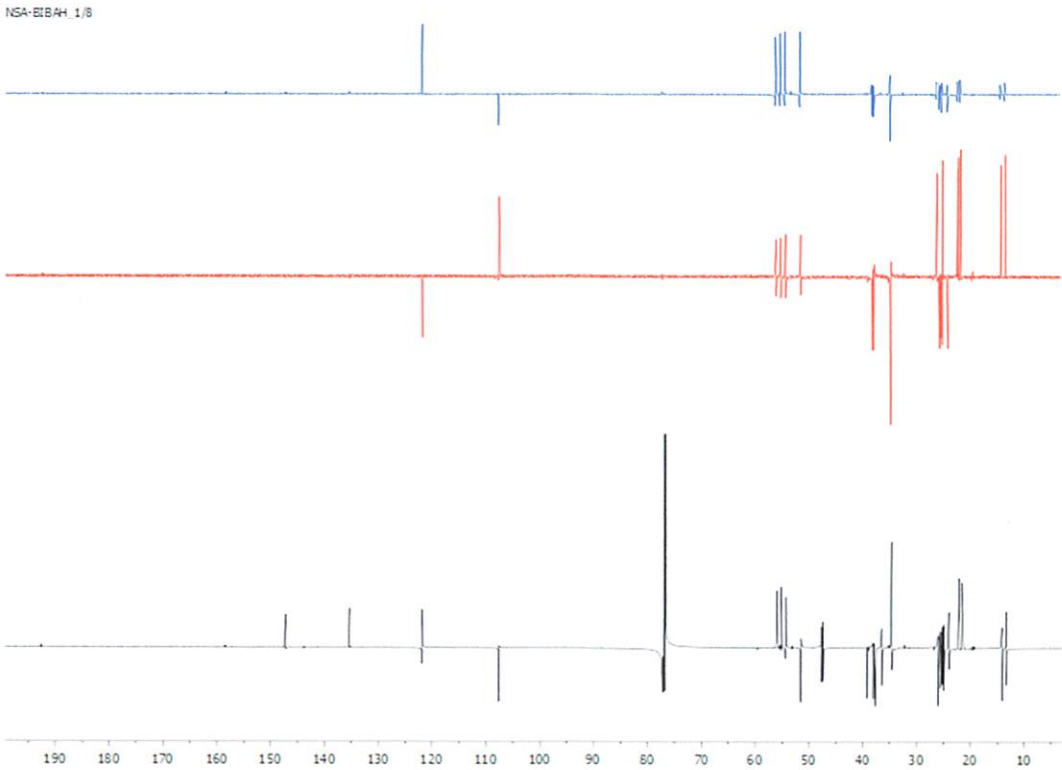
Kampus C Mulyorejo Surabaya (60115)
 Telp/Fax : +62-31 5922427
 Website : kimia.fst.unair.ac.id
 Email : kimia@fst.unair.ac.id



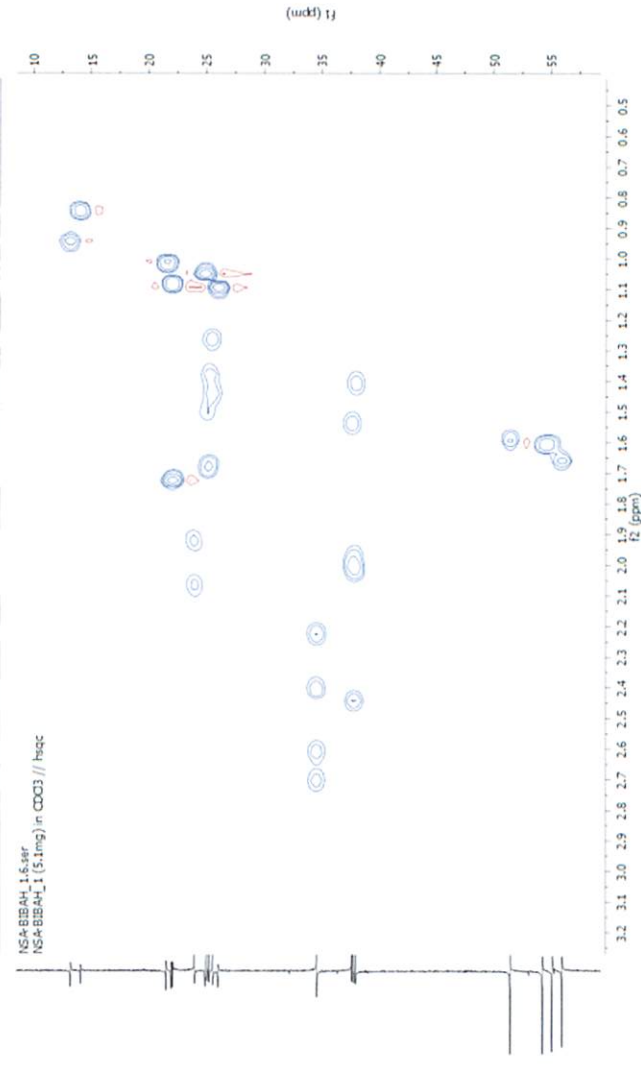
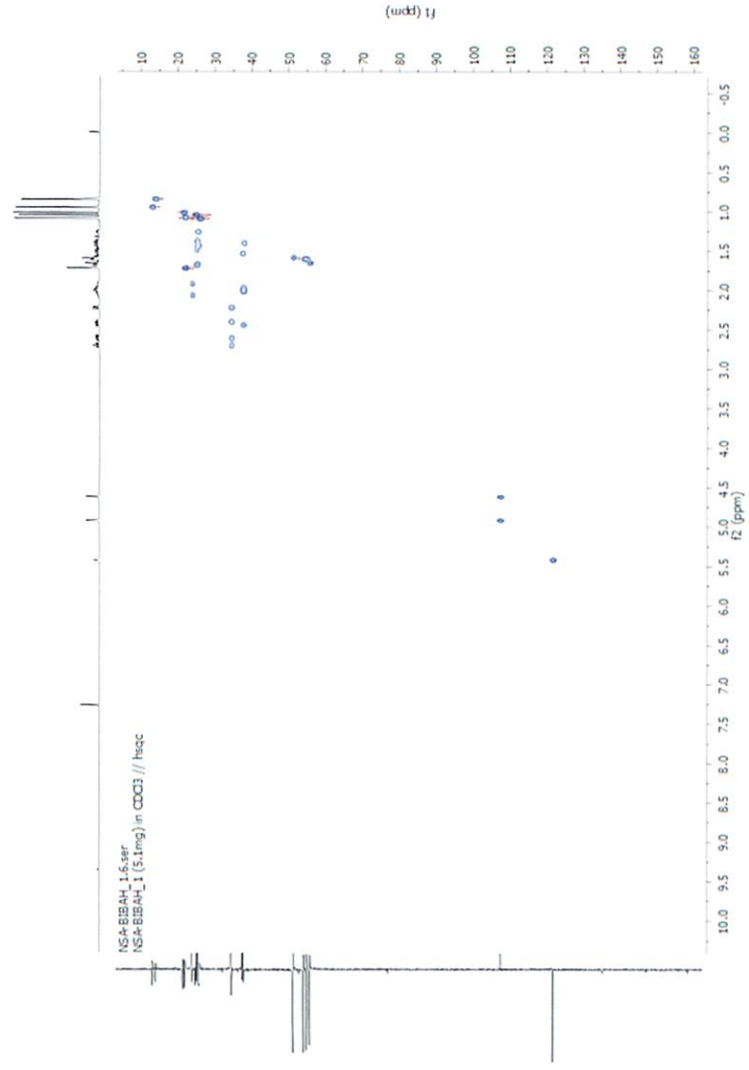
Lampiran-4 Spektrum ¹H-NMR dalam CDCl₃ senyawa (1)

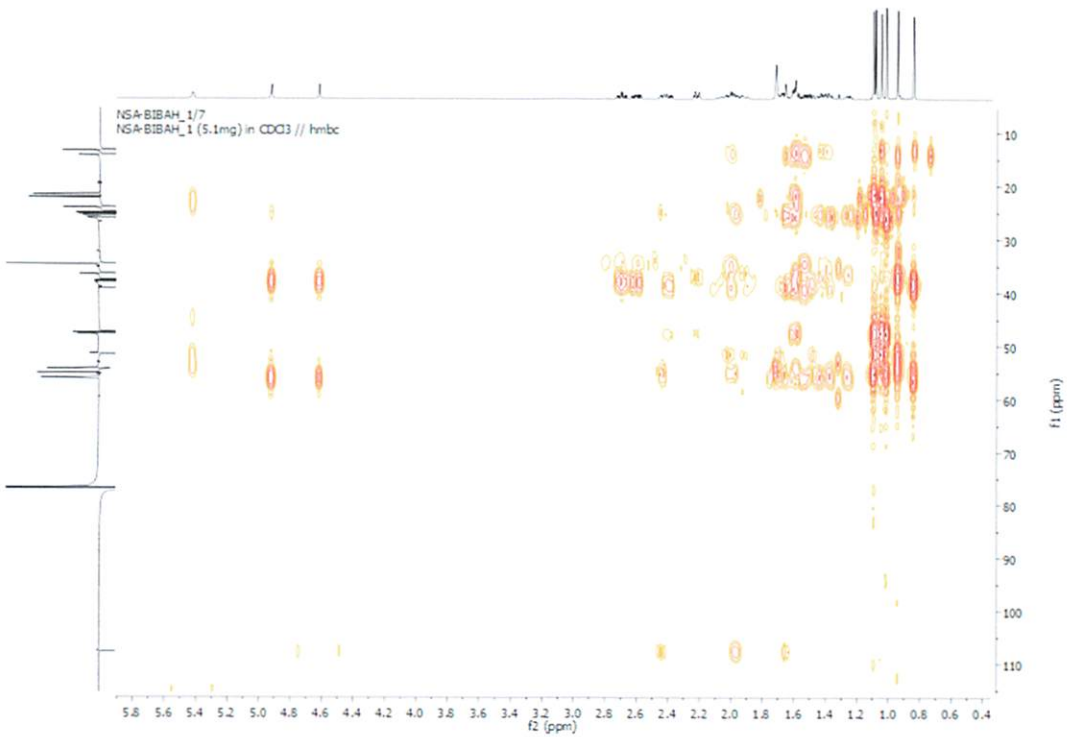
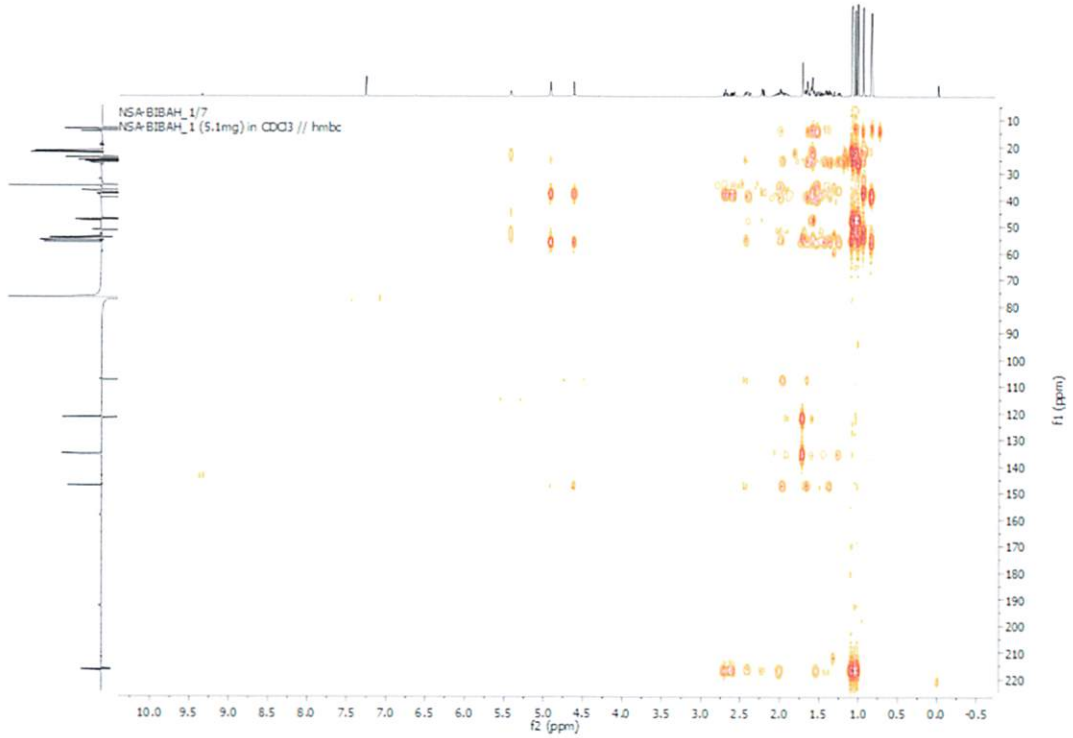


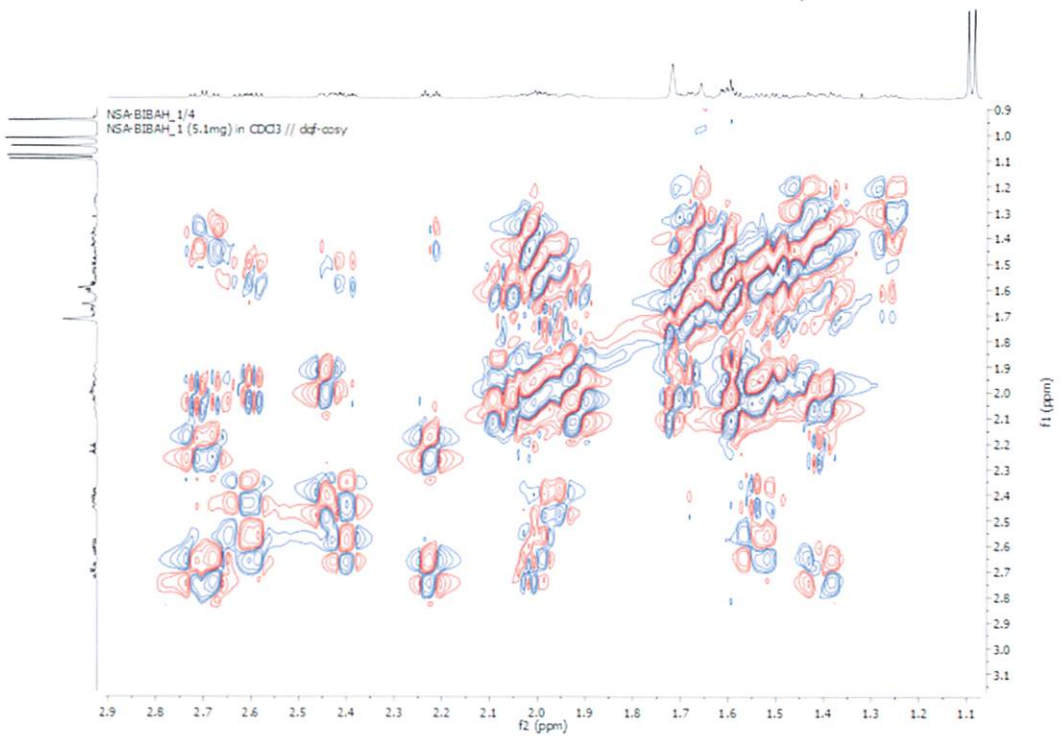
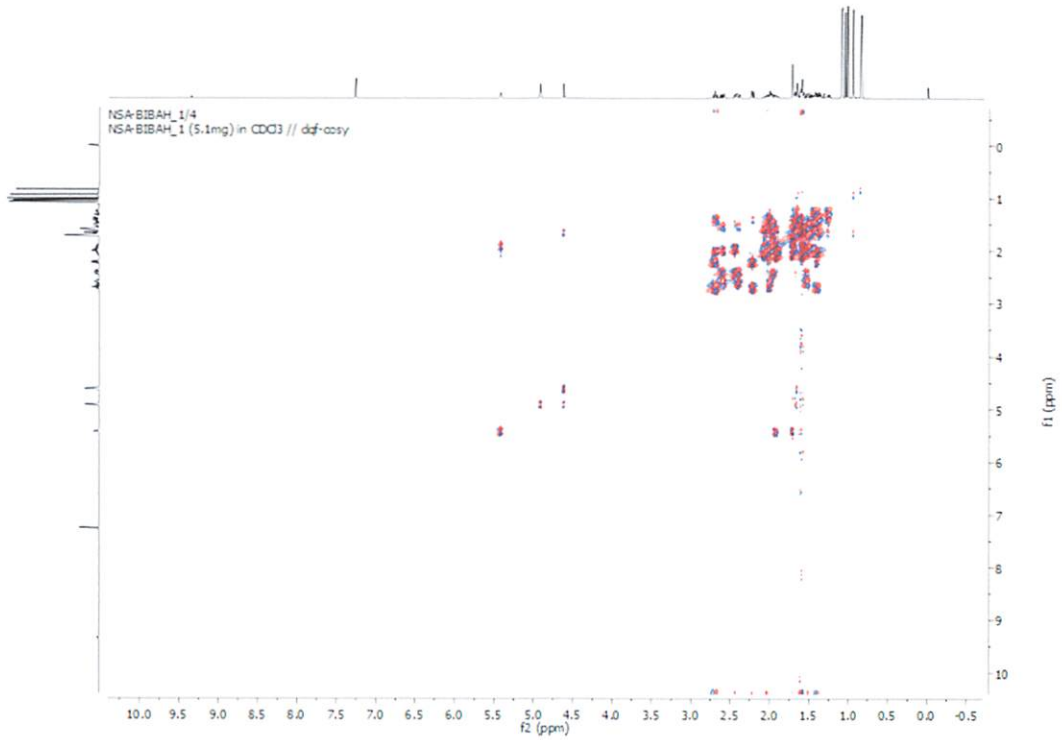
Lampiran-5 Spektrum $^{13}\text{C-NMR}$ yang dilengkapi dengan DEPT 90 dan DEPT 135 senyawa (1)



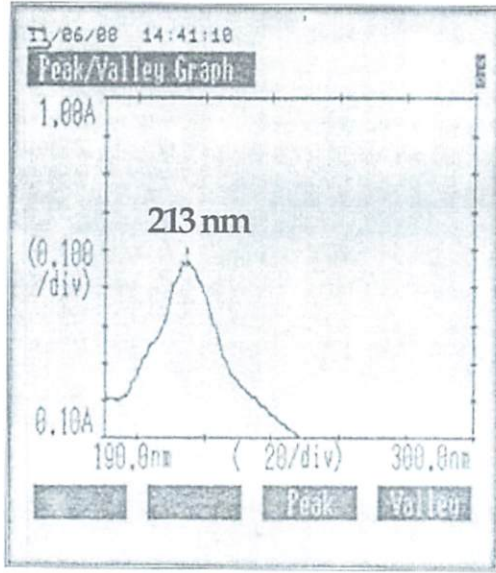
Lampiran-6 Spektrum HSQC senyawa (1)



Lampiran-7 Spektrum HMBC senyawa (1)

Lampiran-8 Spektrum COSY senyawa (1)

Lampiran-9 Spektrum UV senyawa (2)



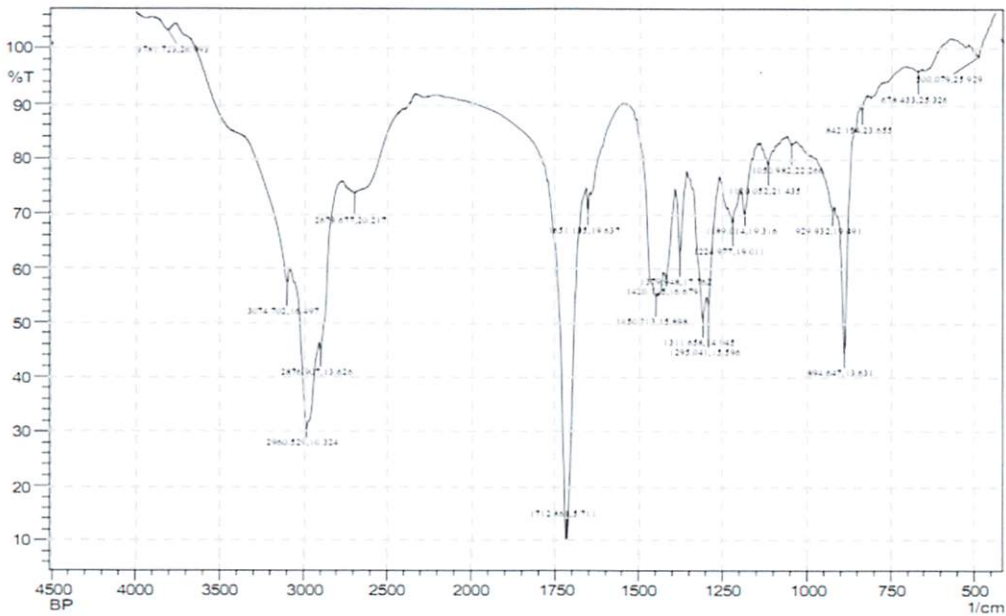
Spektrum UV-Vis senyawa (2) hasil isolasi dengan panjang gelombang 213 nm dan absorbansi = 0,580

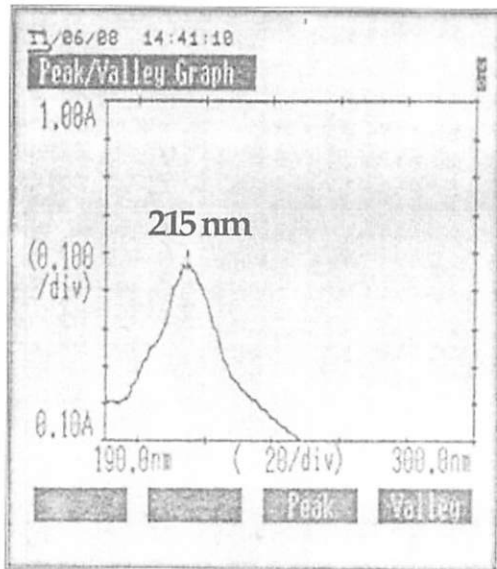
Lampiran-10 Spektrum IR dalam KBr senyawa (2)



UNIVERSITAS AIRLANGGA
 FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
 DEPARTEMEN KIMIA
 PUSAT LABORATORIUM INSTRUMENTASI

Kampus C Mulyorejo Surabaya (60115)
 Telp/Fax : +62-31-5922427
 Website : kimia.fst.unair.ac.id
 Email : kimia@fst.unair.ac.id



Lampiran-11 Spektrum UV senyawa (3)

Spektrum UV-Vis senyawa (3)
hasil isolasi dengan panjang
gelombang 215 nm dan
absorbansi = 0,587

Lampiran-12 Hasil uji aktivitas antikanker kulit buah langsung (*Lansium domesticum*) dengan MTT assay terhadap sel HeLa

Senyawa uji	Kons. ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi			Viabilitas Sel			Rata-Rata Viabilitas \pm S.D.	IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)
		I	II	III	I	II	III		
SNY 1	100	0,234	0,267	0,289	19,73	24,93	28,40	24,35 \pm 4,4	32,39 \pm 1,17
	50	0,343	0,333	0,312	36,91	35,33	32,02	34,75 \pm 2,5	
	25	0,474	0,489	0,467	57,55	59,92	56,45	57,97 \pm 1,8	
	12,5	0,543	0,499	0,501	68,43	61,49	61,81	63,91 \pm 3,9	
	6,25	0,580	0,573	0,578	74,26	73,15	73,94	73,79 \pm 0,6	
	3,125	0,676	0,645	0,655	89,39	84,50	86,08	86,66 \pm 2,5	
	1,5625	0,731	0,712	0,734	98,06	95,06	98,53	97,22 \pm 1,9	
SNY 2	100	0,305	0,310	0,323	30,92	31,70	33,75	32,13 \pm 1,5	62,40 \pm 3,10
	50	0,461	0,425	0,402	55,50	49,83	46,20	50,51 \pm 4,7	
	25	0,550	0,581	0,557	69,53	74,42	70,63	71,53 \pm 2,6	
	12,5	0,693	0,554	0,592	92,07	70,16	76,15	79,46 \pm 11,3	
	6,25	0,667	0,668	0,618	87,97	88,13	80,25	85,45 \pm 4,5	
	3,125	0,747	0,722	0,688	100,6	96,64	91,28	96,16 \pm 4,7	
	1,5625	0,752	0,765	0,760	101,4	103,4	102,6	102,4 \pm 1,0	
SNY 3	100	0,310	0,307	0,349	36,85	36,29	44,19	39,11 \pm 4,4	60,28 \pm 5,23
	50	0,435	0,404	0,477	60,36	54,53	68,25	61,05 \pm 6,9	
	25	0,530	0,590	0,522	78,22	89,50	76,72	81,48 \pm 7,0	
	12,5	0,629	0,613	0,645	96,83	93,83	99,84	96,83 \pm 3,0	
	6,25	0,646	0,665	0,681	100,0	103,6	106,6	103,42 \pm 3,2	
	3,125	0,693	0,670	0,686	108,9	104,5	107,6	106,99 \pm 2,2	
	1,5625	0,686	0,697	0,669	107,6	109,6	104,4	107,18 \pm 2,7	
F. NH	1000	0,134	0,124	0,123	2,01	0,64	0,50	1,05 \pm 0,8	59,55 \pm 4,29
	500	0,131	0,133	0,136	1,60	1,87	2,28	1,92 \pm 0,3	
	250	0,151	0,156	0,157	4,34	5,02	5,16	4,84 \pm 0,4	
	125	0,180	0,162	0,160	8,31	5,85	5,57	6,58 \pm 1,5	
	62,5	0,431	0,426	0,426	42,70	42,02	42,02	42,25 \pm 0,4	
	31,25	0,689	0,624	0,579	78,05	69,15	62,98	70,06 \pm 7,6	
	15,625	0,749	0,736	0,708	86,28	84,49	80,66	83,81 \pm 2,9	
Dokso-rubisin	30	0,100	0,103	0,100	0,99	1,53	0,99	1,17 \pm 0,3	2,83 \pm 0,18
	15	0,134	0,131	0,118	7,09	6,55	4,22	5,96 \pm 1,5	
	7,5	0,274	0,239	0,271	32,24	25,95	31,70	29,96 \pm 3,5	
	3,75	0,311	0,293	0,285	38,88	35,65	34,21	36,25 \pm 2,4	
	1,875	0,459	0,464	0,421	65,46	66,36	58,64	63,48 \pm 4,2	
	0,9375	0,560	0,542	0,536	83,60	80,37	79,29	81,08 \pm 2,2	
	0,4687	0,557	0,544	0,539	83,06	80,72	79,83	81,20 \pm 1,7	

Lampiran-13 Hasil uji aktivitas antikanker kulit buah langsung (*Lansium domesticum*) dengan MTT assay terhadap sel T47D

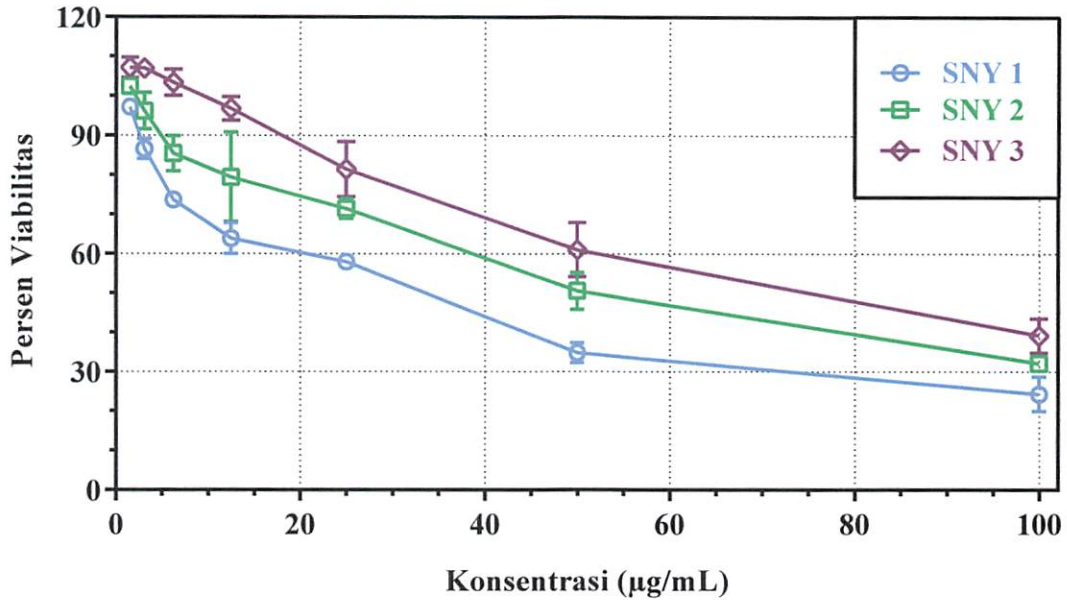
Senyawa uji	Kons. ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi			Viabilitas Sel			Rata-Rata Viabilitas \pm S.D.	IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)
		I	II	III	I	II	III		
SNY 1	100	0,299	0,237	0,218	30,79	20,95	17,94	23,23 \pm 6,7	30,69 \pm 1,87
	50	0,351	0,345	0,383	39,05	38,10	44,13	40,42 \pm 3,2	
	25	0,419	0,465	0,484	49,84	57,14	60,16	55,71 \pm 5,3	
	12,5	0,426	0,430	0,504	50,95	51,59	63,33	55,29 \pm 7,0	
	6,25	0,520	0,562	0,551	65,87	72,54	70,79	69,74 \pm 3,5	
	3,125	0,546	0,504	0,567	70,00	63,33	73,33	68,89 \pm 5,1	
	1,5625	0,625	0,684	0,657	82,54	91,90	87,62	87,35 \pm 4,7	
SNY 2	100	0,336	0,376	0,309	36,67	43,02	32,38	37,35 \pm 5,4	35,36 \pm 5,65
	50	0,351	0,334	0,399	39,05	36,35	46,67	40,69 \pm 5,4	
	25	0,470	0,442	0,461	57,94	53,49	56,51	55,98 \pm 2,3	
	12,5	0,509	0,530	0,528	64,13	67,46	67,14	66,24 \pm 1,8	
	6,25	0,541	0,504	0,547	69,21	63,33	70,16	67,57 \pm 3,7	
	3,125	0,654	0,595	0,640	87,14	77,78	84,92	83,28 \pm 4,9	
	1,5625	0,623	0,671	0,616	82,22	89,84	81,11	84,39 \pm 4,8	
SNY 3	100	0,393	0,393	0,334	45,28	45,28	36,04	42,20 \pm 5,3	68,86 \pm 9,34
	50	0,484	0,446	0,406	59,53	53,58	47,31	53,47 \pm 6,1	
	25	0,529	0,492	0,444	66,57	60,78	53,26	60,20 \pm 6,7	
	12,5	0,575	0,563	0,506	73,77	71,89	62,97	69,55 \pm 5,8	
	6,25	0,616	0,612	0,559	80,19	79,57	71,27	77,01 \pm 5,0	
	3,125	0,698	0,637	0,684	93,03	83,48	90,84	89,12 \pm 5,0	
	1,5625	0,790	0,717	0,706	107,4	96,01	94,28	99,24 \pm 7,1	
F. NH	1000	0,106	0,105	0,107	0,13	-0,03	0,28	0,13 \pm 0,2	0,10 \pm 5,88
	500	0,112	0,109	0,110	1,06	0,59	0,75	0,80 \pm 0,2	
	250	0,126	0,124	0,127	3,22	2,91	3,37	3,17 \pm 0,2	
	125	0,195	0,185	0,188	13,88	12,34	12,80	13,01 \pm 0,8	
	62,5	0,294	0,292	0,270	29,18	28,87	25,47	27,84 \pm 2,1	
	31,25	0,361	0,372	0,334	39,53	41,23	35,36	38,71 \pm 3,0	
	15,625	0,407	0,423	0,424	46,64	49,11	49,27	48,34 \pm 1,5	
Dokso-rubisin	2	0,171	0,166	0,158	8,58	7,92	6,87	7,79 \pm 0,9	0,04 \pm 0,03
	1	0,188	0,177	0,166	10,83	9,38	7,92	9,38 \pm 1,5	
	0,5	0,261	0,297	0,221	20,47	25,23	15,19	20,29 \pm 5,0	
	0,25	0,279	0,232	0,296	22,85	16,64	25,09	21,53 \pm 4,4	
	0,125	0,311	0,327	0,375	27,07	29,19	35,53	30,60 \pm 4,4	
	0,0625	0,424	0,428	0,442	42,00	42,53	44,38	42,97 \pm 1,2	
	0,0312	0,501	0,550	0,579	52,17	58,64	62,47	57,76 \pm 5,2	

Lampiran-14 Hasil uji aktivitas antikanker kulit buah langsung (*Lansium domesticum*) dengan XTT assay terhadap sel A549

Senyawa uji	Kons. ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi			Viabilitas Sel			Rata-Rata Viabilitas \pm S.D.	IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)
		I	II	III	I	II	III		
SNY 1	100	0,184	0,183	0,174	9,01	8,91	7,45	8,46 \pm 0,9	13,71 \pm 0,42
	50	0,205	0,190	0,202	12,27	9,94	11,76	11,32 \pm 1,2	
	25	0,337	0,383	0,360	32,83	39,78	36,30	36,30 \pm 3,5	
	12,5	0,495	0,484	0,504	57,30	55,59	58,70	57,20 \pm 1,6	
	6,25	0,624	0,616	0,619	77,33	76,09	76,48	76,63 \pm 0,6	
	3,125	0,621	0,732	0,847	76,86	94,10	111,9	94,31 \pm 7,6	
	1,5625	0,813	0,806	0,771	106,7	105,6	100,2	104,2 \pm 3,5	
SNY 2	100	0,257	0,255	0,277	11,07	10,90	12,76	11,58 \pm 1,0	28,87 \pm 2,06
	50	0,528	0,550	0,506	33,97	35,83	32,11	33,97 \pm 1,9	
	25	0,748	0,795	0,826	52,56	56,54	59,18	56,09 \pm 3,3	
	12,5	0,994	1,029	0,971	73,32	76,30	71,41	73,68 \pm 2,5	
	6,25	1,106	1,102	1,116	82,82	82,48	83,65	82,98 \pm 0,6	
	3,125	1,170	1,182	1,189	88,23	89,24	89,83	89,10 \pm 0,8	
	1,5625	1,312	1,299	1,292	100,2	99,13	98,56	99,31 \pm 0,8	
SNY 3	100	0,214	0,245	0,183	7,44	10,06	4,82	7,44 \pm 2,6	44,83 \pm 10,21
	50	0,825	0,672	0,529	59,07	46,14	34,06	46,42 \pm 2,5	
	25	0,894	0,736	1,094	64,87	51,55	81,80	66,08 \pm 5,2	
	12,5	1,138	1,080	1,010	85,52	80,62	74,70	80,28 \pm 5,4	
	6,25	1,181	1,228	1,144	89,15	93,13	86,03	89,44 \pm 3,6	
	3,125	1,306	1,314	1,319	99,72	100,4	100,8	100,3 \pm 0,6	
	1,5625	1,355	1,541	1,548	103,9	119,6	120,2	114,5 \pm 9,3	
F. NH	1000	0,156	0,160	0,170	4,60	5,34	6,77	5,57 \pm 1,1	18,83 \pm 2,58
	500	0,170	0,170	0,169	6,83	6,83	6,68	6,78 \pm 0,1	
	250	0,193	0,213	0,173	10,47	13,51	7,30	10,42 \pm 3,1	
	125	0,200	0,204	0,198	11,49	12,11	11,17	13,54 \pm 5,3	
	62,5	0,216	0,246	0,178	13,98	18,56	8,07	31,73 \pm 0,8	
	31,25	0,326	0,329	0,336	31,09	31,54	32,58	38,71 \pm 3,0	
	15,625	0,476	0,507	0,510	54,29	59,10	59,60	57,66 \pm 2,9	

Lampiran-15 Analisis perhitungan nilai IC_{50} dari ekstrak, senyawa hasil isolasi dan dokсорubisin terhadap sel HeLa

Grafik Hubungan Antara Viabilitas Sel HeLa Dengan Konsentrasi dari Senyawa Hasil Isolasi



$$\begin{aligned}
 y_1 &= -0,849x + 77,504 \\
 50 &= -0,849x + 77,504 \\
 -27,504 &= -0,849x \\
 x &= 32,39 \mu\text{g/mL}
 \end{aligned}$$

Jadi, IC_{50} yang dimiliki oleh senyawa (1) adalah sebesar **32,39 $\mu\text{g/mL}$** .

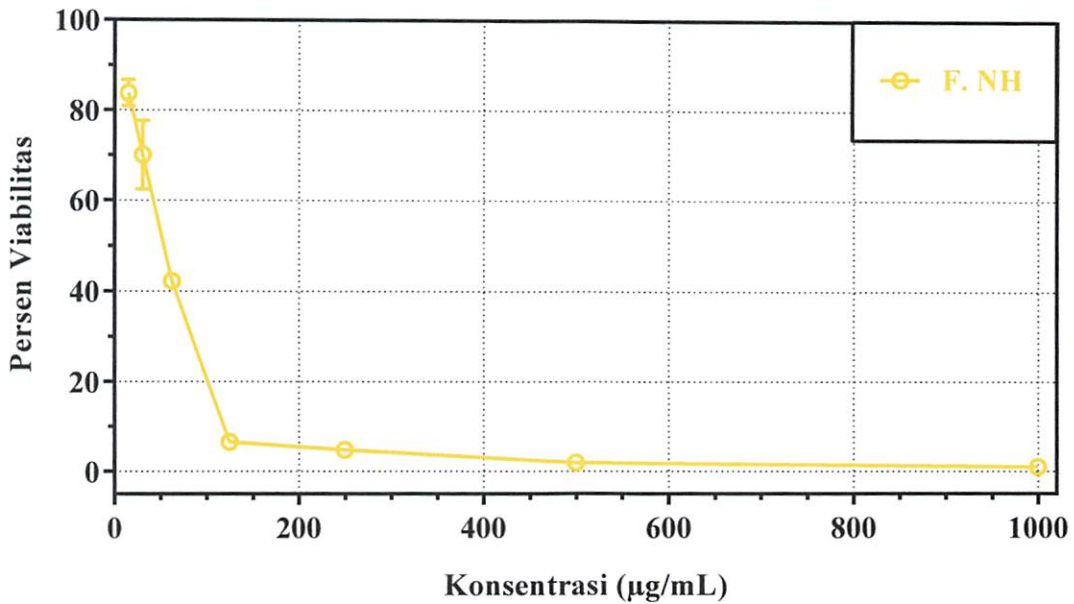
$$\begin{aligned}
 y_2 &= -0,5413x + 83,778 \\
 50 &= -0,5413x + 83,778 \\
 -33,778 &= -0,5413x \\
 x &= 62,40 \mu\text{g/mL}
 \end{aligned}$$

Jadi, IC_{50} yang dimiliki oleh senyawa (2) adalah sebesar **62,40 $\mu\text{g/mL}$** .

$$\begin{aligned}
 y_3 &= -0,9686x + 108,39 \\
 50 &= -0,9686x + 108,39 \\
 -58,39 &= -0,9686x \\
 x &= 60,28 \mu\text{g/mL}
 \end{aligned}$$

Jadi, IC_{50} yang dimiliki oleh senyawa (3) adalah sebesar **60,28 $\mu\text{g/mL}$** .

Grafik Hubungan Antara Viabilitas Sel HeLa Dengan Konsentrasi dari Ekstrak *n*-heksana



$$y = -7,003x + 91,704$$

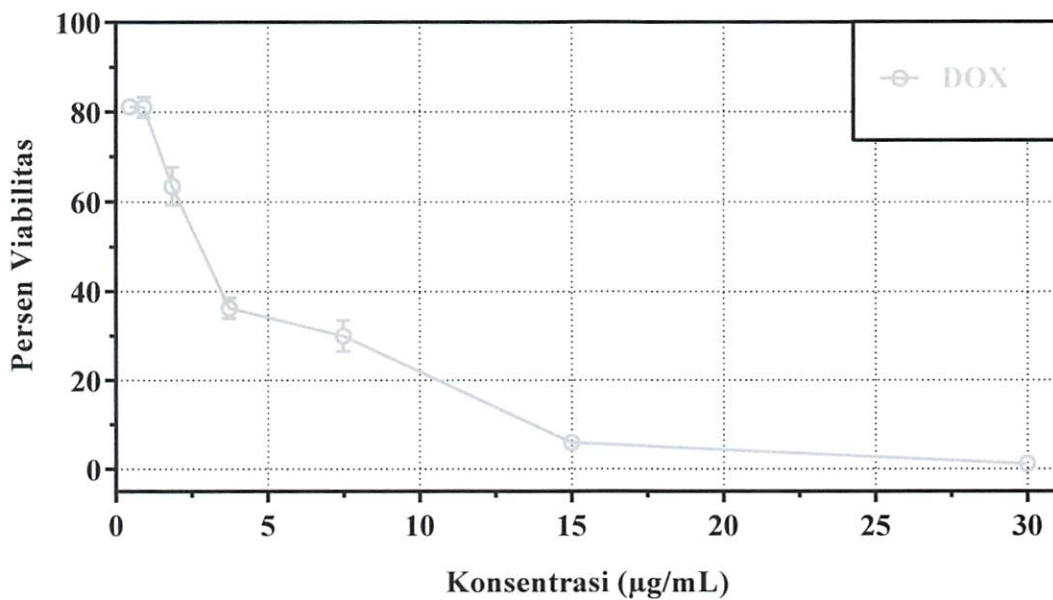
$$50 = -7,003x + 91,704$$

$$-41,704 = -7,003x$$

$$x = 59,55 \mu\text{g/mL}$$

Jadi, IC_{50} yang dimiliki oleh ekstrak *n*-heksana adalah sebesar **59,55 µg/mL**.

Grafik Hubungan Antara Viabilitas Sel HeLa Dengan Konsentrasi dari Kontrol Positif Doksorubisin

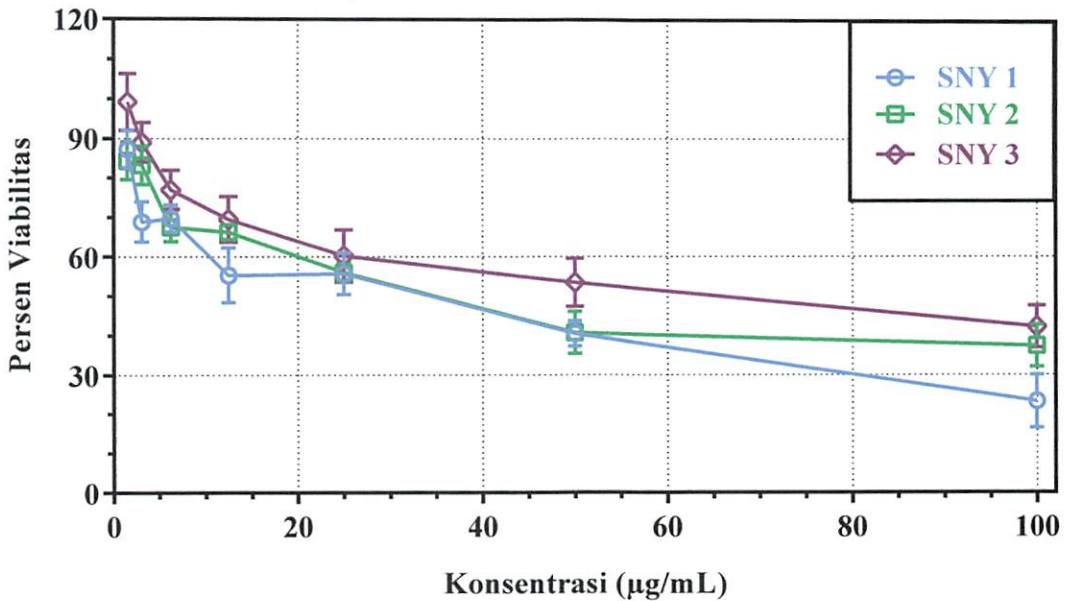


$$\begin{aligned}y &= -14,491x + 90,976 \\50 &= -14,491x + 90,976 \\-40,976 &= -14,491x \\x &= 2,83 \mu\text{g/mL}\end{aligned}$$

Jadi, IC_{50} yang dimiliki oleh kontrol doksorubisin adalah sebesar **2,83 $\mu\text{g/mL}$** .

Lampiran-16 Analisis perhitungan nilai IC_{50} dari ekstrak, senyawa hasil isolasi dan doksorubisin terhadap sel T47D

Grafik Hubungan Antara Viabilitas Sel T47D Dengan Konsentrasi dari Senyawa Hasil Isolasi



$$\begin{aligned}
 y_1 &= -0,3916x + 62,020 \\
 50 &= -0,3916x + 62,020 \\
 -12,020 &= -0,3916x \\
 x &= 30,69 \mu\text{g/mL}
 \end{aligned}$$

Jadi, IC_{50} yang dimiliki oleh senyawa (1) adalah sebesar **30,69 $\mu\text{g/mL}$** .

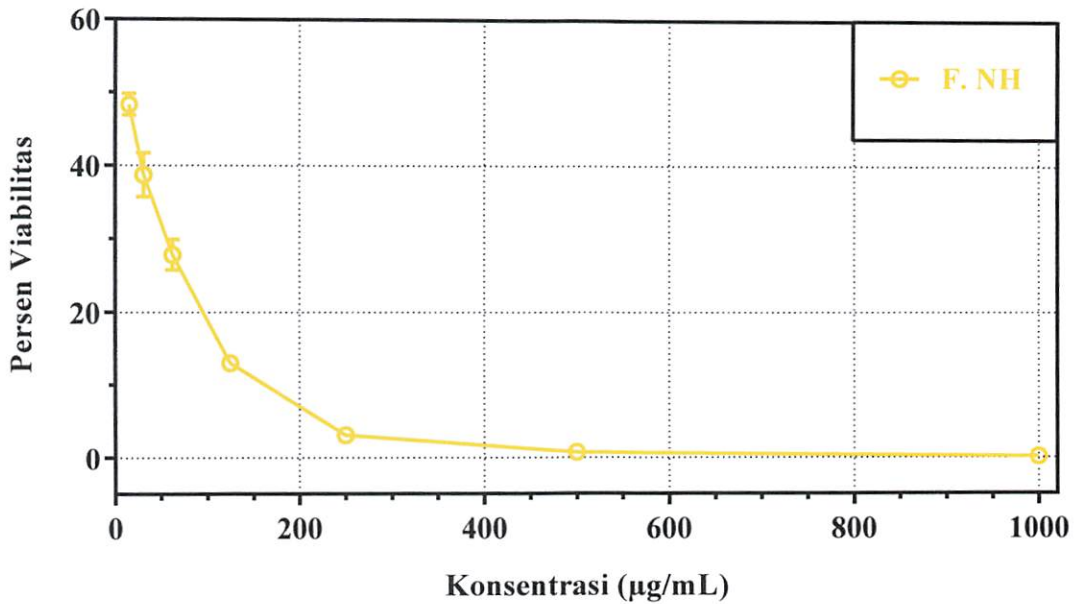
$$\begin{aligned}
 y_2 &= -0,6390x + 72,595 \\
 50 &= -0,6390x + 72,595 \\
 -22,595 &= -0,6390x \\
 x &= 35,36 \mu\text{g/mL}
 \end{aligned}$$

Jadi, IC_{50} yang dimiliki oleh senyawa (2) adalah sebesar **35,36 $\mu\text{g/mL}$** .

$$\begin{aligned}
 y_3 &= -0,2891x + 69,907 \\
 50 &= -0,2891x + 69,907 \\
 -19,907 &= -0,2891x \\
 x &= 68,86 \mu\text{g/mL}
 \end{aligned}$$

Jadi, IC_{50} yang dimiliki oleh senyawa (3) adalah sebesar **68,86 $\mu\text{g/mL}$** .

Grafik Hubungan Antara Viabilitas Sel T47D Dengan Konsentrasi dari Ekstrak *n*-heksana



$$y = -0,3082x + 50,03$$

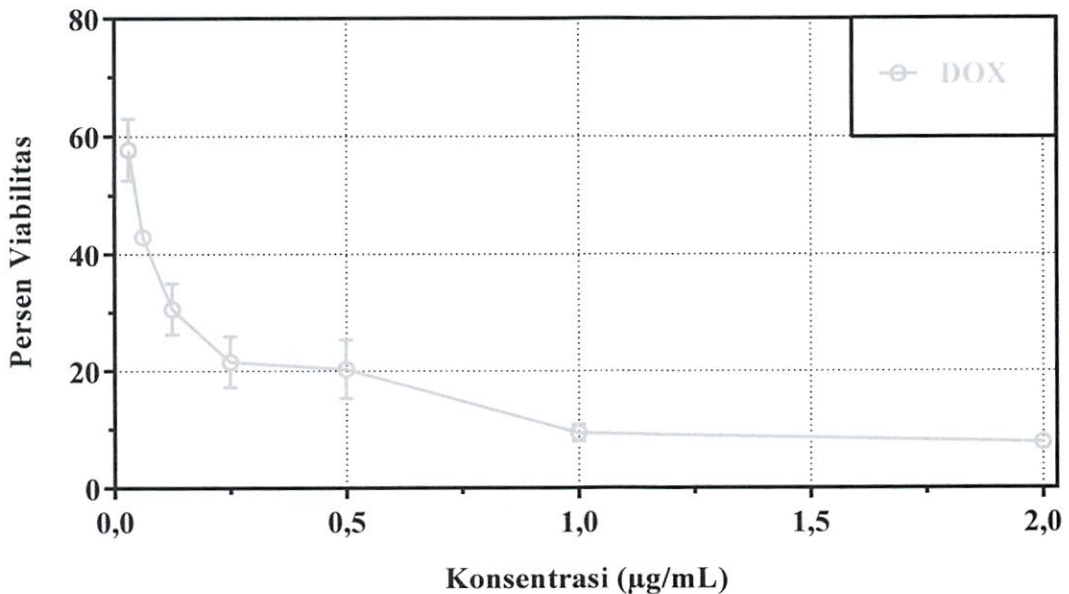
$$50 = -0,3082x + 50,03$$

$$-0,03 = -0,3082x$$

$$x = 0,10 \mu\text{g/mL}$$

Jadi, IC_{50} yang dimiliki oleh ekstrak *n*-heksana adalah sebesar **0,10 µg/mL**.

Grafik Hubungan Antara Viabilitas Sel T47D Dengan Konsentrasi dari Kontrol Positif Doksorubisin

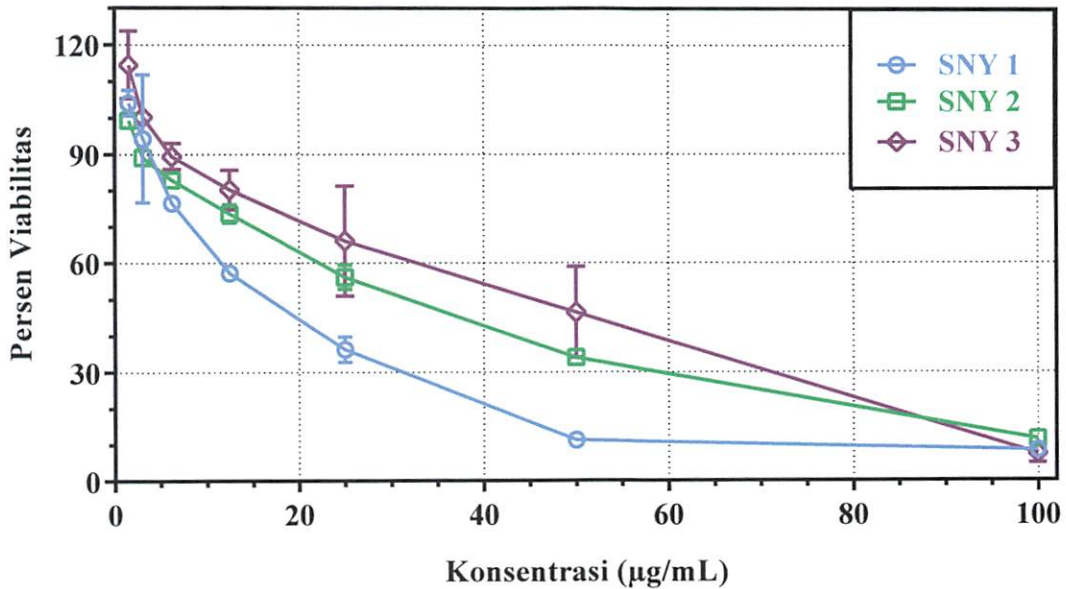


$$\begin{aligned}y &= -150,14x + 55,807 \\50 &= -150,14x + 55,807 \\-5,807 &= -150,14x \\x &= 0,04 \mu\text{g/mL}\end{aligned}$$

Jadi, IC_{50} yang dimiliki oleh kontrol doksorubisin adalah sebesar **0,04 $\mu\text{g/mL}$** .

Lampiran-17 Analisis perhitungan nilai IC_{50} dari ekstrak dan senyawa hasil isolasi terhadap sel A549

Grafik Hubungan Antara Viabilitas Sel A549 Dengan Konsentrasi dari Senyawa Hasil Isolasi



$$\begin{aligned}
 y_1 &= -4,214x + 107,77 \\
 50 &= -4,214x + 107,77 \\
 -57,77 &= -4,214x \\
 x &= 13,71 \mu\text{g/mL}
 \end{aligned}$$

Jadi, IC_{50} yang dimiliki oleh senyawa (1) adalah sebesar **13,71 $\mu\text{g/mL}$** .

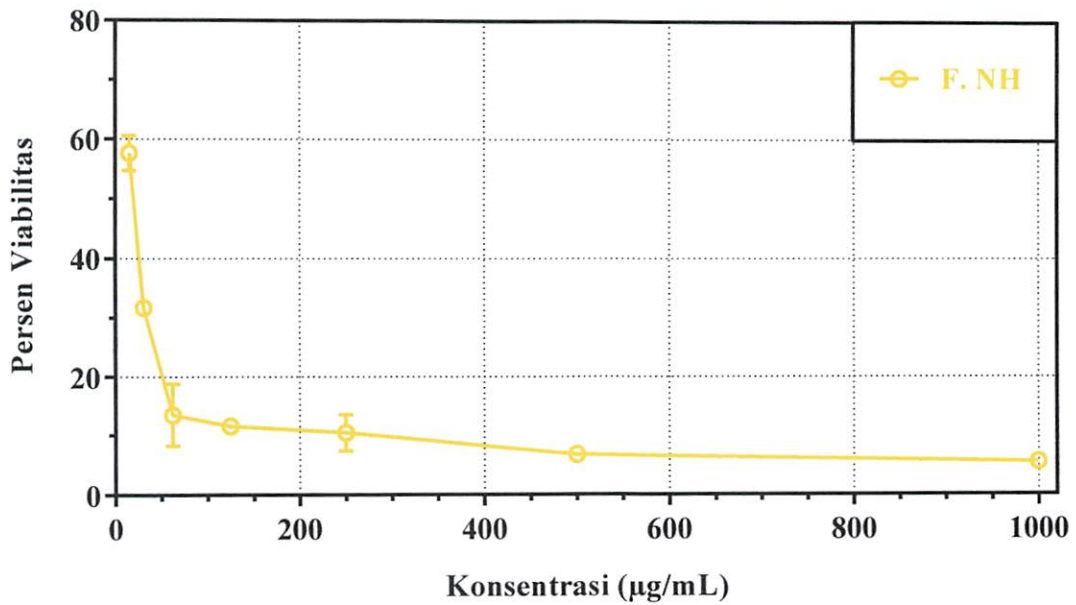
$$\begin{aligned}
 y_2 &= -1,485x + 92,865 \\
 50 &= -1,485x + 92,865 \\
 -42,865 &= -1,485x \\
 x &= 28,87 \mu\text{g/mL}
 \end{aligned}$$

Jadi, IC_{50} yang dimiliki oleh senyawa (2) adalah sebesar **28,87 $\mu\text{g/mL}$** .

$$\begin{aligned}
 y_3 &= -0,9607x + 93,071 \\
 50 &= -0,9607x + 93,071 \\
 -43,071 &= -0,9607x \\
 x &= 44,83 \mu\text{g/mL}
 \end{aligned}$$

Jadi, IC_{50} yang dimiliki oleh senyawa (3) adalah sebesar **44,83 $\mu\text{g/mL}$** .

Grafik Hubungan Antara Viabilitas Sel A549 Dengan Konsentrasi dari Ekstrak *n*-heksana



$$\begin{aligned}
 y &= -0,8901x + 66,761 \\
 50 &= -0,8901x + 66,761 \\
 -16,761 &= -0,8901x \\
 x &= 18,83 \mu\text{g/mL}
 \end{aligned}$$

Jadi, IC_{50} yang dimiliki oleh ekstrak *n*-heksana adalah sebesar **18,83 µg/mL**.