

**PENGARUH EKSTRAK ETANOLIK BIJI SIRSAK (*Annona muricata* L.)
TERHADAP INDUKSI APOPTOSIS SEL KANKER PAYUDARA T47D
DENGAN METODE FLOWCYTOMETRY**

Skripsi



Diajukan Oleh :

Cahyaning Gita Rizkita

145010093

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS WAHID HASYIM
SEMARANG**

2018

**PENGARUH EKSTRAK ETANOLIK BIJI SIRSAK (*Annona muricata* L.)
TERHADAP INDUKSI APOPTOSIS SEL KANKER PAYUDARA T47D
DENGAN METODE FLOWCYTOMETRY**

SKRIPSI

**Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat
dalam mencapai derajat Sarjana Farmasi
Program Studi Ilmu Farmasi pada Fakultas Farmasi
Universitas Wahid Hasyim
Semarang**



Oleh :
Cahyaning Gita Rizkita
145010093

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS WAHID HASYIM
SEMARANG**

2018

PENGESAHAN SKRIPSI

Berjudul

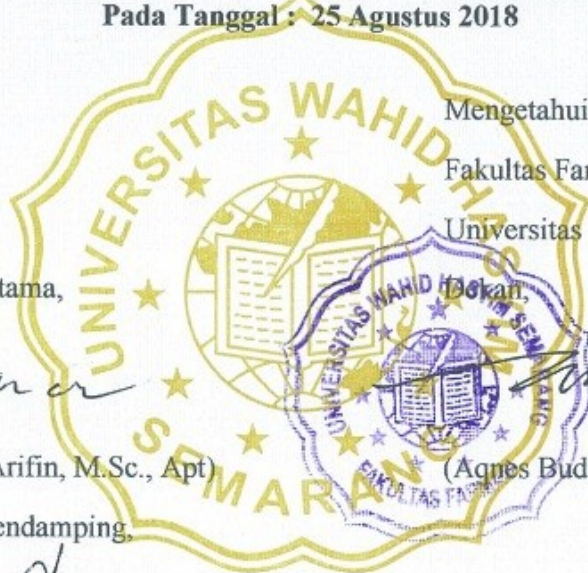
**PENGARUH EKSTRAK ETANOLIK BIJI SIRSAK (*Annona muricata* L.)
TERHADAP INDUKSI APOPTOSIS SEL KANKER PAYUDARA T47D
DENGAN METODE FLOWCYTOMETRY**

Oleh:

Cahyaning Gita Rizkita

145010093

**Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim
Pada Tanggal : 25 Agustus 2018**

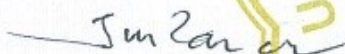


Mengetahui :

Fakultas Farmasi

Universitas Wahid Hasyim

Pembimbing Utama,



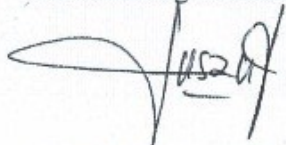
(Drs. Ibrahim Arifin, M.Sc., Apt)

Pembimbing



(Agnes Budiarti, M.Sc., Apt)

Pembimbing Pendamping,



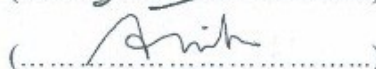
(Devi Nisa Hidayati, M.Sc., Apt)

Penguji :

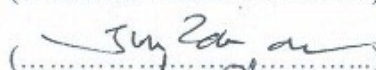
1. Maria Ulfah, M.Sc., Apt.



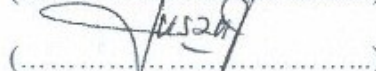
2. Anita Dwi Puspitasari, S.Si., M.Pd.



3. Drs. Ibrahim Arifin, M.Sc., Apt.



4. Devi Nisa Hidayati, M.Sc., Apt.



SURAT PERNYATAAN

Yang bertandatangan di bawah ini :

Nama : Cahyaning Gita Rizkita

NIM : 145010093

Judul Skripsi : Pengaruh Ekstrak Etanolik Biji Sirsak (*Annona muricata* L.)
Terhadap Induksi Apoptosis Sel Kanker Payudara T47D
Dengan Metode Flowcytometry.

Menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya, juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Demikian surat ini saya buat untuk dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Semarang, 25 Agustus 2018



(Cahyaning Gita Rizkita)

MOTTO DAN PERSEMBAHAN

**"Change will not come if we wait for
some other person or some other time.
We are the ones we've been waiting
for. We are the change that we seek"**

(Barack Obama)

Karya ilmiah ini aku persembahkan untuk:

*Ayah dan ibuku tercinta, yang tak pernah lelah berjuang untukku,
terimakasih telah memberiku kasih sayang, cinta, do'a, dukungan
serta semangat dalam hidupku.*

*Kekasihku Fahrizal Ega Ferrianis, S. T. yang telah memberiku saran
dan motivasi.*

*Untuk keluarga besar, sahabat, serta orang yang selalu mendukung
dan memberi semangat untukku*

Almameterku tercinta

KATA PENGANTAR

Alhamdulillahirobbil'alamin, segala puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT atas segala rahmat, nikmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan judul: “Pengaruh Ekstrak Etanolik Biji Sirsak (*Annona muricata* L.) Terhadap Induksi Apoptosis Sel Kanker Payudara T47D Dengan Metode Flowcytometry”.

Skripsi ini penulis ajukan untuk memenuhi syarat untuk mencapai gelar Sarjana Farmasi di Universitas Wahid Hasyim Semarang. Dalam penyusunan skripsi ini penulis menyadari bahwa tanpa bantuan, dukungan dan bimbingan dari berbagai pihak, sangatlah sulit bagi penulis untuk menyelesaikan skripsi ini. Oleh karena itu, dengan segala kerendahan hati penulis ingin mengucapkan terimakasih kepada semua pihak yang turut membantu, khususnya :

1. Ibu Aqnes Budiarti, S.F., M.Sc., Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim Semarang yang telah memberikan banyak dukungan dan memberikan kemudahan berbagai administrasi guna kelancaran penelitian.
2. Bapak Drs. Ibrahim Arifin, M.Sc., Apt. selaku dosen pembimbing utama yang banyak memberikan masukan ilmu, waktu dan semangat kepada penulis dalam persiapan penelitian, penelitian, hingga penyusunan skripsi ini.
3. Ibu Devi Nisa Hidayati, M.Sc., Apt. selaku dosen pembimbing pendamping yang selalu meluangkan waktu dan pemikirannya untuk membimbing penulis dalam persiapan penelitian, penelitian, hingga penyusunan skripsi ini.

4. Ibu Maria Ulfah, M.Sc., Apt. dan Ibu Anita Dwi Puspitasari, S.Si., M.Pd. selaku dosen penguji yang telah memberikan saran, masukan dan koreksi terhadap skripsi ini.
5. Seluruh Dosen Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim Semarang yang telah memberikan bekal ilmu dan telah membantu kelancaran penulis dalam menyelesaikan studi.
6. Pimpinan dan Staf Laboratorium Parasitologi dan Laboratorium Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada Yogyakarta yang telah membantu pelaksanaan penelitian ini.
7. Pimpinan dan Staf Laboratorium Terpadu Teknologi Pangan Universitas Diponegoro Semarang yang telah membantu pelaksanaan penelitian ini.
8. Pimpinan dan Staf Laboratorium Staf Laboratorium Ekologi dan Biosistemika Fakultas MIPA Universitas Diponegoro Semarang yang telah membantu pelaksanaan determinasi tanaman.
9. Adikku Hernita Salsa Nabilla, Hernico Keanu Azriel Ibra dan Ferrina Nurul Adriani yang selalu menghibur, semoga kita meraih masa depan yang lebih baik dan mendapatkan semua apa yang kita cita-citakan.
10. Wisuri Paminka Yunita, Rike Fridiana dan Lina Mariyyah yang telah melalui penelitian bersamaku.
11. Yusri Haniyah Aprilita, Galuh Ayu M.P. dan Destrina Hana Putri yang senantiasa menemaniku suka dan duka dan memberi semangat untukku.
12. Teman-teman mahasiswa farmasi angkatan 2014 atas kekompakan dan ketulusan hatinya yang telah berjuang bersama selama ini.

12. Teman-teman mahasiswa farmasi angkatan 2014 atas kekompakan dan ketulusan hatinya yang telah berjuang bersama selama ini.
13. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah berkontribusi dalam membantu pelaksanaan penelitian dan penyusunan skripsi ini.

Penulis menyadari kalau dalam menyusun skripsi ini masih jauh dari kata sempurna. Oleh sebab itu dengan hati yang terbuka, saya mengharapkan kritik serta saran yang bersifat membangun kearah perbaikan dan penyempurnaan skripsi ini. Semoga penelitian ini dapat memberikan manfaat yang berarti bagi ilmu pengetahuan pada umumnya dan dunia farmasi pada khususnya. Amin.

Semarang, 25 Agustus 2018

A handwritten signature in black ink, consisting of stylized cursive letters and a long horizontal flourish at the bottom.

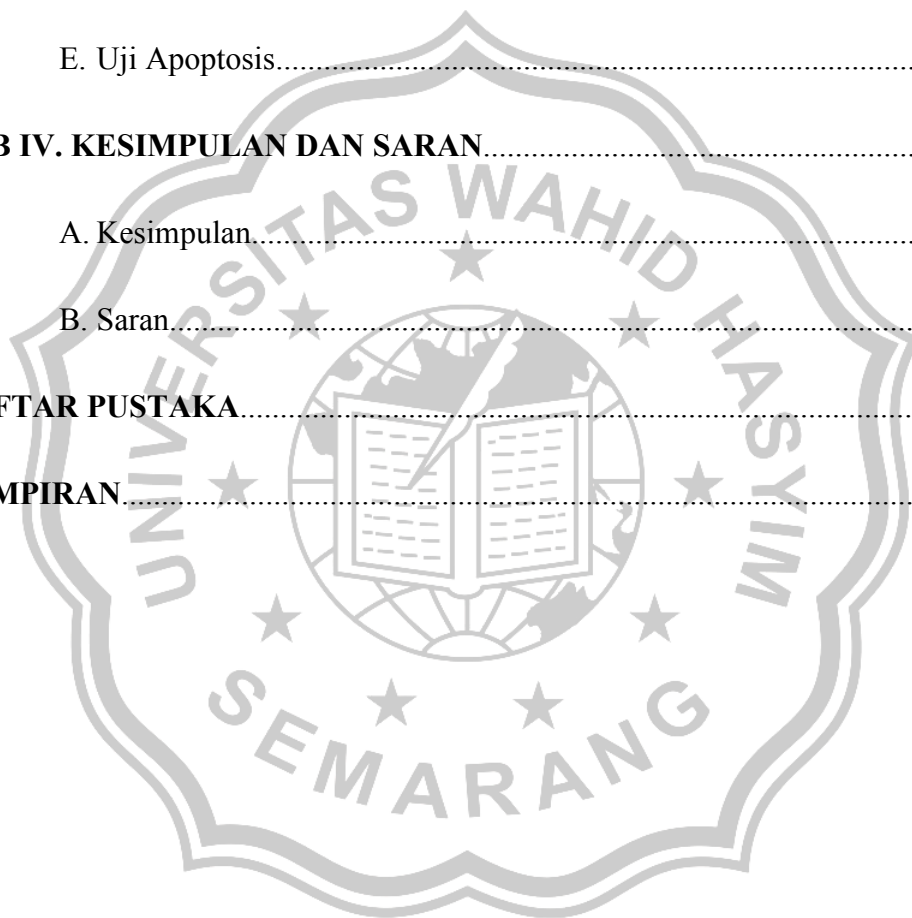
Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
PENGESAHAN SKRIPSI.....	ii
SURAT PERNYATAAN	iii
MOTTO DAN PERSEMBAHAN.....	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
DAFTAR SINGKATAN	xiv
INTISARI.....	xiv
<i>ABSTRACT</i>	xvi
BAB I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang Masalah.....	1
B. Perumusan Masalah.....	3
C. Tujuan Penelitian.....	4
D. Manfaat Penelitian.....	4
E. Tinjauan Pustaka.....	4
1. Kanker Payudara.....	4

2. Sel T47D.....	6
3. Apoptosis.....	7
4. Tanaman Sirsak.....	9
5. Flowcytometri.....	16
F. Landasan Teori.....	16
G. Hipotesis.....	17
BAB II. METODE PENELITIAN	18
A. Desain dan Variabel Penelitian.....	18
B. Bahan dan Alat Penelitian.....	18
1. Bahan Penelitian.....	18
2. Alat Penelitian.....	19
C. Jalannya Penelitian.....	20
1. Determinasi Tanaman	20
2. Pembuatan Senyawa Uji	20
3. Uji Sitotoksisitas	21
4. Uji Apoptosis.....	24
D. Analisis Data.....	25
1. Analisis Sitotoksisitas.....	25
2. Analisis Apoptosis.....	26

BAB III. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....	27
A. Determinasi Tanaman.....	27
B. Pembuatan Serbuk Biji Sirsak.....	27
C. Ekstraksi Biji Sirsak.....	28
D. Uji Sitotoksitas.....	29
E. Uji Apoptosis.....	34
BAB IV. KESIMPULAN DAN SARAN.....	39
A. Kesimpulan.....	39
B. Saran.....	39
DAFTAR PUSTAKA.....	40
LAMPIRAN.....	46



DAFTAR TABEL

Tabel I. Persentase Viabilitas Sel Kanker Payudara T47D Setelah Perlakuan Ekstrak Etanolik Biji Sirsak	31
Tabel II. Persentase distribusi sel setelah perlakuan ekstrak etanolik biji sirsak	36



DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Morfologi Sel Kanker Payudara T47D.....	6
Gambar 2. Jalur apoptosis.....	9
Gambar 3. Tanaman Sirsak (<i>Annona muricata</i> L.).....	9
Gambar 4. Gambar struktur <i>Annonaceous acetogenin</i>	15
Gambar 5. Serbuk biji sirsak.....	28
Gambar 6. Reaksi Reduksi MTT Menjadi Formazan.....	31
Gambar 7. Efek Sitotoksik Ekstrak etanolik biji sirsak (EEBS) terhadap Sel Kanker Payudara T47D menggunakan MTT <i>assay</i>	33
Gambar 8. Hasil analisis Annexin V Fluos.....	36

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Hasil Determinasi Tanaman Sirsak (<i>Annona muricata</i> L.).....	46
Lampiran 2.	Surat Keterangan telah Melaksanakan Penelitian di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran UGM Yogyakarta.....	47
Lampiran 3.	Perhitungan Sel, Seri konsentrasi Ekstrak Etanolik Biji Sirsak (EEBS) Uji Apoptosis.....	50
Lampiran 4.	Penentuan Nilai IC50 Ekstrak Etanolik Biji Sirsak (EEBS) pada Sel Kanker Payudara T47D.....	52
Lampiran 5.	Perhitungan Sel dan Konsentrasi Ekstrak Etanolik Biji Sirsak (EEBS) Uji Induksi Apoptosis Sel T47D.....	53
Lampiran 6.	Hasil Uji Induksi Apoptosis Sel T47D Ekstrak Etanolik Etanolik Biji Sirsak (EEBS).....	54

DAFTAR SINGKATAN

Apaf-1	= <i>Apoptotic protease activating factor-1</i>
ATP	= <i>Adenosin Tri Phosphat</i>
BAX	= <i>Bcl-2 Associated X Protein</i>
Bcl-2	= <i>B cell lymphoma 2</i>
Bcl-XL	= <i>B cel lymphoma-extra large</i>
BM	= Berat Molekul
BRCA-1	= <i>Breast Cancer Type 1</i>
Caspase	= <i>Cysteine Aspartyl Specific Protease</i>
DMSO	= Dimetil Sulfoksida
DNA	= <i>Deoxyribonucleic Acid</i>
EDTA	= <i>Ethylene Diamine Tetraacetic Acid</i>
EGF	= <i>Epidermal Growth Factor Receptor</i>
ELISA	= <i>Enzyme Linked Immunosorbent Assay</i>
EEBS	= Ekstrak Etanol Biji Sirsak
FADD	= <i>Fas Associated Death Domain</i>
FBS	= <i>Fetal Bovine Serum</i>
HCl	= <i>Hidrogen Chloridum</i>
IC ₅₀	= <i>Inhibitory Concentration 50%</i>
MMP	= <i>Matrix Metallo Proteinase</i>
MTT	= <i>3-(4,5-dimethyl thiazol-2-il (-2,5-diphenyl tetrazolium</i>
p53	= Protein 53
PBS	= <i>Phosphate Buffer Saline</i>
PI	= <i>Propidium Iodida</i>
SDS	= <i>Sodium Dodecyl Sulphate</i>
TNF	= <i>Tumor Necrosis Factor</i>
TNFR	= <i>Tumor Necrosis Factor Receptor</i>
TRAIL	= <i>TNF receptor apoptosis-inducing ligand</i>

INTISARI

Ekstrak biji sirsak (*Annona muricata* L.) dengan senyawa bioaktif *Annonaceous acetogenins* telah diteliti dan terbukti bersifat antikanker. *Annonaceous acetogenins* mampu berpotensi dalam meningkatkan apoptosis. Pada penelitian ini dilakukan uji aktivitas antikanker secara molekuler pada ekstrak etanol biji sirsak (EEBS.) terhadap sel kanker payudara T47D. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengkaji pengaruh ekstrak etanol biji sirsak dalam menginduksi apoptosis sel T47D.

Biji sirsak diekstraksi menggunakan etanol 96% dengan metode ultrasonik. Uji aktivitas sitotoksik menggunakan metode MTT *assay* dengan konsentrasi 500; 125; 62,5; 31,25 dan 15,625 µg/ml. Induksi apoptosis dilakukan menggunakan *flowcytometry* dengan program *FACS Calibur* dengan metode Annexin V Floures dengan konsentrasi 1, ½ dan ¼ IC₅₀.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol biji sirsak dapat menghambat pertumbuhan sel kanker dengan nilai IC₅₀ sebesar 261 µg/ml. Mekanisme kematian sel pada konsentrasi 1, ½ dan ¼ IC₅₀, menunjukkan bahwa sel mengalami apoptosis yaitu sebesar 27,48%, 14,32% dan 15,79% pada sel kanker payudara T47D.

Kata kunci: ekstrak etanol biji sirsak, T47D, apoptosis, *flowcytometry*.

ABSTRACT

Annona muricata seeds extract with Annonaceous acetogenins bioactive compounds has been studied and proven to be anti-cancer. Annonaceous acetogenins have potentially to increase apoptosis. In this study, molecular anticancer activity was tested on the ethanol extract of *annona muricata* seeds (EEAM) on T47D breast cancer cells. The purpose of this study was to examine the effect of *annona muricata* seeds extract in inducing T47D cell apoptosis.

Annona muricata seeds were extracted using 96% ethanol by ultrasonic method. Test of cytotoxic activity using MTT assay method with concentration of 500; 125; 62.5; 31.25 and 15.625 µg/ml. Induction of apoptosis was performed using flowcytometry with the FACS Calibur program based on Annexin V Flous method within concentration 1; $\frac{1}{2}$ and $\frac{1}{4}$ IC₅₀.

The results of this study showed that ethanol extract of *annona muricata* seed can inhibit the growth of cancer cells with IC₅₀ value of 261 µg/ml. The mechanism of cell death at concentrations of 1, $\frac{1}{2}$ and $\frac{1}{4}$ IC₅₀ showed that cells experienced apoptosis were 27,48%, 14,32% and 15,79% in T47D breast cancer cells.

Keywords: ethanol extract of *annona muricata* seed, T47D, apoptosis, flowcytometry.

