

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

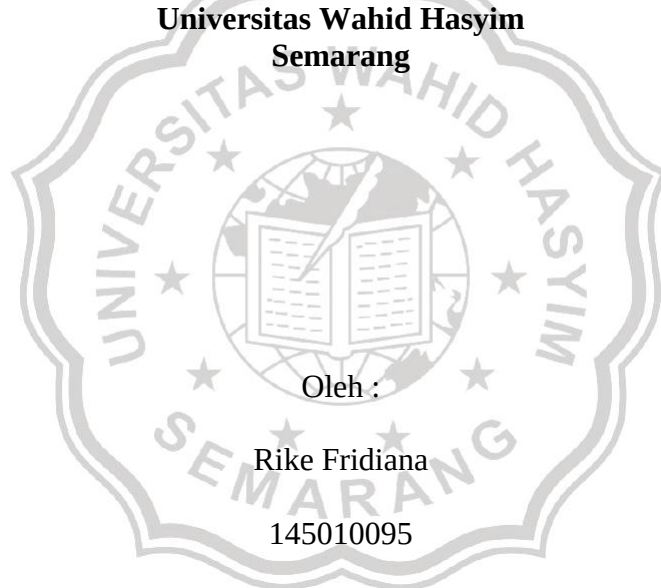
SKRIPSI



**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS WAHID HASYIM
SEMARANG
2018**

**PENGARUH EKSTRAK ETANOLIK BIJI SIRSAK
(*Annona muricata* L.) TERHADAP INDUKSI APOPTOSIS SEL KANKER
SERVIKS (HeLa) 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 :

Rike Fridiana

145010095

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS WAHID HASYIM
SEMARANG**

2018

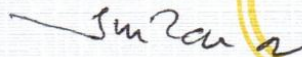
PENGESAHAN SKRIPSI
PENGARUH EKSTRAK ETANOLIK BIJI SIRSAK
(*Annona muricata* L.) TERHADAP INDUKSI APOPTOSIS SEL KANKER
SERVIKS (HeLa) DENGAN METODE FLOWCYTOMETRY

Oleh :
Rike Fridiana
145010095

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

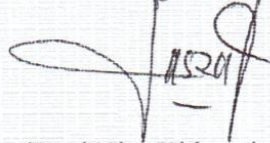
Mengetahui :
Fakultas Farmasi
Universitas Wahid Hasyim
Dekan

Pembimbing Utama,



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

Pembimbing Pendamping,

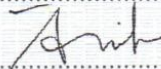


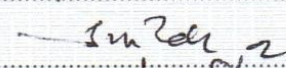
(Devi Nisa Hidayati, M.Sc., Apt.)

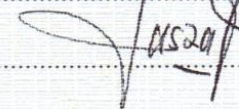
Penguji :

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 : Rike Fridiana

NIM : 145010095

Judul Skripsi : Pengaruh Ekstrak Etanolik Biji Sirsak(*Annona Muricata* L.)
Terhadap Induksi Apoptosis Sel Kanker Serviks (Hela) 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, 2018



(Rike Fridiana)

MOTTO DAN PERSEMBAHAN

**SESUNGGUHNYA
SATU SIKAP YANG DIMILIKI ORANG SUKSES
ADALAH KEMAMPUAN UNTUK
BERTANGGUNG JAWAB**

Proses penyusunan skripsi ini semakin menyadarkan penulis bahwa Allah SWT sungguh Maha Besar dan Maha Kuasa, tidak ada sesuatupun yang sebanding denganNya. Subhanallah.

Kupersembahkan karya kecil yang sederhana ini untuk :

Kedua orang tuaku Ayahanda Sugiarmono dan Ibunda Nuryati sebagai wujud

bakti, hormat dan terimakasihku

Kakakku Erriek Setiawan M. mar

Seluruh keluargaku yang selalu mendukung dan mendo'akanku

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, segala puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT karena berkat limpahan rahmat, hidayah dan karunia-Nya, maka penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan judul : “Pengaruh Ekstrak Etanolik Biji Sirsak(*Annona Muricata* L.) Terhadap Induksi Apoptosis Sel Kanker Serviks (Hela) Dengan Metode Flowcytometry”.

Skripsi ini penulis susun sebagai salah satu syarat untuk mendapatkan derajat gelar sarjana farmasi di Universitas Wahid Hasyim Semarang. Selama menyelesaikan penyusunan skripsi ini penulis ingin menyampaikan ucapan 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. selaku dosen pembimbing pendamping yang selalu meluangkan waktu dan pemikirannya untuk membimbing penulis dalam persiapan penelitian, penelitian, hingga penyusunan skripsi ini.
4. Seluruh Dosen Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim Semarang yang telah memberikan bekal ilmu dan telah membantu kelancaran penulis dalam menyelesaikan studi.
5. Pimpinan dan staf Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran UGM Yogyakarta yang telah membantu pelaksanaan penelitian ini.
6. Staf Laboratorium Ekologi dan Biosistemika Fakultas MIPA Universitas Diponegoro Semarang yang telah membantu pelaksanaan determinasi tanaman.
7. Sahabatku Galuh Ayu MP, Destrina Hana Putri, Yusri Haniyah A yang telah berbagi suka duka selama kuliah.

8. Cahyaning Gita Rizkita , Wisuri Paminka Y, Lina Mariyyah Al.Q yang telah melalui penelitian bersamaku.
9. Yunus Dedy Mulyawan yang telah memberikan semangat dan selalu mendukungku selama ini.
10. Teman-teman mahasiswa Farmasi angkatan 2014 atas kekompakan dan ketulusan hatinya berjuang bersama selama ini.
11. Semua pihak yang tidak mungkin disebutkan satu persatu yang telah memberikan kontribusinya dalam membantu pelaksanaan penelitian dan penyusunan skripsi ini.

Penulis telah berupaya dengan maksimum namun penulis menyadari bahwa penyusunan skripsi ini masih banyak terdapat kekurangan dan masih jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu, penulis sangat mengharapkan masukan, kritik dan saran yang bersifat membangun kearah perbaikan dan penyempurnaan skripsi ini.

Akhir kata penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat dalam memperkaya khasanah dalam pendidikan.

Semarang,

2018



Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
SURAT PERNYATAAN.....	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
DAFTAR SINGKATAN	xiii
INTISARI.....	xiv
<i>ABSTRACT</i>	xv
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Perumusan Masalah.....	3
C. Tujuan Penelitian.....	3
D. Manfaat Penelitian	4
E. Tinjauan Pustaka	4
1. Kanker.....	4
2. Kanker Serviks dan Sel HeLa.....	5
3. Patogenesis Molekular kanker Serviks	6

4. Tanaman Sirsak(<i>Annona muricata L.</i>).....	11
5. Annonaceous Acetogenins.....	12
6. Apoptosis	13
7. Flowcitometry	15
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 sitoksisitas	22
4. Uji Apoptosis	24
D. Analisis Data	26
1. Analisis Sitotoksitas	26
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.....	32
BAB IV. KESIMPULAN DAN SARAN.....	39
A. Kesimpulan.....	39
B. Saran	39
DAFTAR PUSTAKA.....	40
LAMPIRAN.....	44



DAFTAR TABEL

Tabel I	Persentase Viabilitas Sel Kanker Serviks HeLa setelah Perlakuan EEBS	30
Tabel II	Persentase Distribusi Sel Setelah Perlakuan Ekstrak Etanolik Biji Sirsak (EEBS).....	35



DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.	Morfologi Sel Kanker Servik HeLa	5
Gambar 2.	Patogenesis Molekular Infeksi HPV	8
Gambar 3.	Tanaman Sirsak	9
Gambar 4.	Truktur Annonaceous Acetogenin.....	12
Gambar 5.	Jalur Apoptosis	15
Gambar 6.	Reaksi Reduksi MTT menjadi Formazan.....	29
Gambar 7.	Efek Sitotoksik Ekstrak Etanolik Biji Sirsak (EEBS) terhadap Sel Kanker Serviks HeLa menggunakan MTT assay.....	32
Gambar 8.	Hubungan Konsentrasi EEBS terhadap % Viabilitas Sel Kanker Serviks HeLa.....	33
Gambar 9.	Efek Induksi Apoptosis Sel Kanker Serviks HeLa Pada Konreol Sel dan Setelah Perlakuan Ekstrak Etanolik Biji Sirsak	35

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Hasil Determinasi Tanaman sirsak.....	44
Lampiran 2.	Surat Keterangan telah Melaksanakan Penelitian di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada Yogyakarta	47
Lampiran 3.	Perhitungan Sel , Seri konsentrasi Ekstrak Etanolik Biji Sirsak (EEBS).....	48
Lampiran 4.	Penentuan Nilai IC_{50} Ekstrak Etanolik Biji Sirsak (EEBS) pada sel Kanker Serviks HeLa	50
Lampiran 5.	Perhitungan Sel dan Konsentrasi Ekstrak Etanolik Biji irsak (EEBS) Uji Induksi Apoptosis	53

DAFTAR SINGKATAN

Apaf-1	= <i>Apoptotic protease activating factor-1</i>
ATP	= <i>Adenosin Tri Phosphat</i>
Bcl-2	= <i>B cell lymphoma 2</i>
Bcl-XL	= <i>B cel lymphoma-extra large</i>
BM	= <i>Berat Molekul</i>
Caspase	= <i>Cysteine Aspartyl Specific Protease</i>
CI	= <i>Combination Index</i>
DMSO	= <i>Dimetil Sulfoksida</i>
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	= <i>Ekstrak etanolik Biji Sirsak</i>
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	= <i>Protein 53</i>
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

Sirsak (*Annona muricata* L.) terbukti mengandung senyawa *Annonaceous acetogenin* yang dapat digunakan sebagai pengobatan kanker. *Annonaceous acetogenin* dapat menginduksi proses apoptosis melalui beberapa mekanisme pada sel HeLa adalah melalui satbilisasi dan aktivasi p53. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan pengaruh ekstrak etanolik biji buah sirsak berpengaruh terhadap induksi apoptosis sel servik (HeLa).

Biji buah sirsak diekstraksi menggunakan etanol 96% dengan metode ultrasoik kemudian dikentalkan dengan *rotary evaporator*. Aktivitas sitotoksik ekstrak etanolik biji sirsak diuji dengan MTT assay dengan seri konsentrasi 500; 125; 62,5; 31,25; 15,625 $\mu\text{g/ml}$ kemudian didapatkan nilai IC_{50} yang kemudian digunakan untuk pengamatan induksi apoptosis menggunakan metode *flowcytometry* dengan seri konsentrasi 1, $\frac{1}{2}$, $\frac{1}{4}$, IC_{50} (268 $\mu\text{g/ml}$). Data *flowcytometry* dianalisis dengan program *flowing* untuk melihat distribusi presentasi sel yang terdapat pada 4 kuadran, yaitu R1, R2, R3 dan R4. Dari hasil percobaan dibandingkan antara kontrol sel dengan perlakuan EEBS.

Ekstrak etanolik biji sirsak pada konsentrasi 268 $\mu\text{g/ml}$, 134 $\mu\text{g/ml}$ dan 67 $\mu\text{g/ml}$ memberikan hasil bahwa perlakuan mampu menginduksi apoptosis pada sel kanker serviks HeLa.

Kata kunci: ekstrak etanolikbiji sirsak, apoptosis, *flowcytometry*.

ABSTRACT

Soursop (*Annona muricata* L.) contains *Annonaceous acetogenin* compounds which can be used as a cancer treatment. *Annonaceous acetogenin* can induce the process of apoptosis through several disorders in HeLa is through mobilization and activation of p53. This study aims to prove the ethanolic extract of soursop fruit seeds on induction of cervical cell apoptosis (HeLa). Soursop fruit seeds were extracted using 96% ethanol using ultrasoic method then thickened with rotary evaporator. Cytotoxic activity of soursop seed ethanolic extract with MTT assay with a concentration series of 500; 125; 62.5; 31,25; 15,625 $\mu\text{g} / \text{ml}$ then found IC_{50} values which were then used to detect apoptosis using flowcytometry method with a concentration series of 1, $\frac{1}{2}$, $\frac{1}{4}$, IC_{50} (268 $\mu\text{g} / \text{ml}$). Data flow cytometry was analyzed by flowing program to see the distribution of cells found in 4 quadrants, namely R1, R2, R3 and R4. From the results of the experiment between cell control and EEBS treatment. Soursop seed ethanolic extract at a concentration of 268 $\mu\text{g} / \text{ml}$, 134 $\mu\text{g} / \text{ml}$ and 67 $\mu\text{g} / \text{ml}$ gave results that were able to induce apoptosis in HeLa cervical cancer cells.

Keywords: ethanolic extract of soursop seeds, apoptosis, flowcytometry.

