

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

SKRIPSI



Oleh:
Wisuri Paminka Yunita
145010045

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS WAHID HASYIM
SEMARANG
2018**

**PENGARUH EKSTRAK ETANOLIK BIJI SIRSAK (*Annona muricata* L.)
TERHADAP MODULASI SIKLUS 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:

Wisuri Paminka Yunita
145010045

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS WAHID HASYIM
SEMARANG
2018**

PENGESAHAN SKRIPSI

Berjudul

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

Oleh:

Wisuri Paminka Yunita

145010045

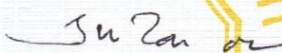
**Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim
Pada Tanggal : 25 Agustus 2018**

Mengetahui :

Fakultas Farmasi

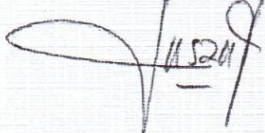
Universitas Wahid Hasyim

Pembimbing Utama,



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

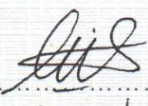
Pembimbing Pendamping,



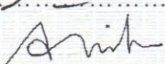
(Devi Nisa Hidayati, M.Sc., Apt)

Penguji :

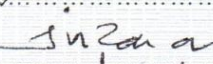
1. Maria Ulfah, M.Sc., Apt.

()

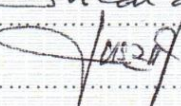
2. Anita Dwi Puspitasari, S.Si., M.Pd.

()

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

()

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

()

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini saya:

Nama : Wisuri Paminka Yunita

NIM : 145010045

Judul Skripsi : Pengaruh Ekstrak Etanolik Biji Sirsak (*Annona muricata* L.)
terhadap Modulasi Siklus 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 pernyataan ini saya buat untuk dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Semarang, Agustus 2018



(Wisuri Paminka Yunita)

MOTTO DAN PERSEMBAHAN

“You only live once, but if you do it right, once is enough”

(Mae West)

Karya ilmiah ini ku persembahkan untuk:

*Almarhumah ibuku, semoga beliau bangga dengan segala
perjuangan dan pencapaian putrinya*

*Ayahku terimakasih atas segala doa, pengorbanan, perjuangan,
kasih sayang, kepercayaan, motivasi dan kesempatan untukku*

*Adikku dan seluruh keluarga yang selalu mendukung dan
peduli dalam setiap keadaanku*

Serta sahabat terbaik dan almamaterku

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT atas segala Rahmat dan Karunia-Nya, Shalawat serta salam semoga senantiasa terlimpah curahkan kepada Nabi Muhammad SAW, kepada keluarga, para sahabatnya, hingga kepada umatnya hingga akhir zaman, amin, sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi ini dengan judul “Pengaruh Ekstrak Etanolik Biji Sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap Modulasi Siklus Sel Kanker Serviks HeLa Dengan Metode Flowcytometry”.

Penulisan skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana Farmasi di Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hayim Semarang. Penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini, sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terimakasih kepada:

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

4. Ibu Maria Ulfa, 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 di Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim Semarang yang telah memberikan bekal ilmu pengetahuan sebagai dasar penulisan skripsi ini.
6. Pimpinan dan staff di Laboratorium Terpadu Teknologi Pangan Universitas Diponogoro Semarang yang telah membantu pelaksanaan penelitian ini.
7. Pimpinan dan staff di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada Yogyakarta yang telah membantu pelaksanaan penelitian ini.
8. Staff Laboratorium Ekologi dan Biosistemika Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Diponegoro Semarang yang telah membantu pelaksanaan determinasi tanaman.
9. Sahabatku Tia Evana, Luluin, Ady Laksono, Adisti, mbak Lili yang selalu menyemangatiku dalam berjuang menghadapi masalah selama penyusunan skripsiku.
10. Gita Rizkita, Linna Mariyah dan Rike Fridiana yang telah melewati segala perjuangan dalam penelitian ini bersamaku.
11. Teman-teman mahasiswa Farmasi angkatan 2014 yang telah berjuang bersama selama ini.
12. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah berkontribusi dalam membantu pelaksanaan penelitian dan penyusunan skripsi ini. Semoga

Tuhan Yang Maha Kuasa senantiasa melimpahkan berkat-Nya kepada pihak-pihak yang telah berjasa dalam penyusunan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dalam skripsi ini. Oleh karena itu, segala kritik dan saran yang membangun sangat penulis harapkan demi perbaikan di masa depan. Semoga penelitian ini dapat memberikan manfaat yang berarti bagi ilmu pengetahuan pada umumnya dan dunia farmasi pada khususnya.

Semarang, Agustus 2018



Penulis

DAFTAR ISI

Halaman

HALAMAN JUDUL.....	i
PENGESAHAN SKRIPSI	ii
SURAT PERNYATAAN.....	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
DAFTAR SINGKATAN	xv
INTISARI.....	xvii
<i>ABSTRACT</i>	xviii
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
Latar Belakang Masalah.....	1
Perumusan Masalah.....	3
Tujuan Penelitian.....	3
Manfaat Penelitian.....	3
Tinjauan Pustaka	4
Kanker	4
Kanker serviks dan sel HeLa.....	5

Siklus sel.....	7
Tanaman sirsak.....	12
Klasifikasi tanaman sirsak.....	13
Dekskripsi tanaman	13
Kandungan kimia tanaman sirsak.....	15
Khasiat tanaman sirsak	15
Annonaceous acetogenin	15
Metode ekstraksi.....	17
Flowcytometry.....	18
Landasan Teori.....	19
Hipotesis.....	20
BAB II. METODE PENELITIAN.....	21
Desain dan Variabel Penelitian.....	21
Bahan dan Alat Penelitian.....	21
Bahan Penelitian.....	21
Alat Penelitian	22
Jalannya Penelitian.....	23
Determinasi Tanaman.....	23
Pembuatan Senyawa Uji.....	23
Pembuatan Serbuk Biji Sirsak	23
Pembuatan Ekstrak Etanolik Biji Sirsak.....	24
Uji Sitotoksitas.....	24

Penyiapan Larutan Uji	24
Pemanenan Sel.....	25
Perhitungan Sel HeLa	25
Uji Sitotoksisitas Dengan Reagen MTT	26
Uji Penghambatan Siklus Sel	27
Perlakuan	27
Preparasi Sampel untuk Flowcytometry	27
Analisis Data.....	28
Uji Sitotoksisitas.....	28
Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etanolik Biji Sirsak.....	28
Uji Penghambatan Siklus Sel.....	29
BAB III. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	30
Determinasi Tanaman	30
Pembuatan Serbuk Biji Sirsak.....	30
A. Ekstraksi Biji Sirsak.....	31
B. Uji Sitotoksisitas.....	33
1. Uji Sitotoksisitas Ekstrak Etanolik Biji Sirsak	34
C. Uji Penghambatan Siklus Sel	37
BAB IV. KESIMPULAN DAN SARAN.....	41
Kesimpulan	41
Saran	41
DAFTAR PUSTAKA	42

LAMPIRAN	48
----------------	----



DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel I.	Persentase Viabilitas Sel Kanker Serviks HeLa Setelah Perlakuan EEBS	34
Tabel II.	Persentase Distribusi Siklus Sel Setelah Perlakuan Ekstrak Etanolik Biji Sirsak EEBS	38



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Morfologi sel kanker HeLa	6
Gambar 2. Tanaman sirsak.....	13
Gambar 3. Struktur Annonaceous acetogenin.....	16
Gambar 4. Serbuk biji sirsak.....	31
Gambar 5. Ekstrak etanolik biji sirsak	32
Gambar 6. Reaksi reduksi MTT menjadi formazan.....	34
Gambar 7. Efek sitotoksik ekstrak etanolik biji sirsak EEBS terhadap sel kanker serviks HeLa menggunakan MTT assay	36
Gambar 8. Hubungan konsentrasi EEBS terhadap % viabilitas sel kanker serviks HeLa	37
Gambar 9. Analisis distribusi siklus sel HeLa setelah perlakuan ekstrak etanolik biji sirsak EEBS menggunakan metode flowcytometry.....	39

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Hasil Determinasi Tanaman Sirsak.....	48
Lampiran 2. Surat Keterangan Telah Melakukan Penelitian di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran UGM.....	51
Lampiran 3. Perhitungan Sel dan Seri Konsentrasi Ekstrak Etanolik Biji Sirsak EEBS.....	52
Lampiran 4. Penentuan Nilai IC_{50} Ekstrak Etanolik Biji Sirsak EEBS pada Sel Kanker Serviks HeLa.....	54
Lampiran 5. Perhitungan Sel dan Konsentrasi Ekstrak Etanolik Biji Sirsak EEBS.....	56
Lampiran 6. Hasil Uji Penghambatan Siklus Sel HeLa Ekstrak Etanolik Biji Sirsak EEBS.....	58

DAFTAR SINGKATAN

APC	: <i>Anophase Promoting Complex</i>
ATP	: <i>Adenosin Trifosfat</i>
ATR	: <i>Ataxia Telangiectasia and Rad3 Related</i>
CDK	: <i>Cyclin Dependent Kinase</i>
Cdc2	: <i>Cell Division Cycle 2</i>
Cdc6	: <i>Cell Division Cycle 6</i>
Cdc25	: <i>Cell Division Cycle 25</i>
CKIs	: <i>Cyclin Dependent Kinase Inhibitors</i>
ChK1	: <i>Checkpoint Kinase 1</i>
CIP/KIP	: <i>CDK Inhibitory Protein / Kinase Inhibitory Protein</i>
CYCA	: <i>Cyclin A</i>
CYCB	: <i>Cyclin B</i>
CYCD	: <i>Cyclin D</i>
CYCE	: <i>Cyclin E</i>
DHFR	: <i>Dihydrofolate Reductase</i>
DMSO	: <i>Dimethyl Sulfoxide</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic Acid</i>
E1	: <i>Onkoprotein E1</i>
E2	: <i>Onkoprotein E2</i>
E6	: <i>Onkoprotein E6</i>
E7	: <i>Onkoprotein E7</i>
EDTA	: <i>Ethylene Diamine Tetraacetic Acid</i>
EEBS	: <i>Ekstrak Etanolik Biji Sirsak</i>
ELISA	: <i>Enzyme Linked Immunosorbent Assay</i>
E2F	: <i>Elongation Two Factor</i>
Fase G0	: <i>Fase Gap 0</i>
Fase G1	: <i>Fase Gap 1</i>
Fase G2	: <i>Fase Gap 2</i>
Fase M	: <i>Fase Mitosis</i>
Fase S	: <i>Fase Sintesis</i>
FBS	: <i>Fetal Bovine Serum</i>
HCl	: <i>Hidrogen Chloridum</i>
HDAC	: <i>Histon Deasetilasi</i>
HVP	: <i>Human papillomavirus</i>
IC50	: <i>Inhibitory Concentration 50%</i>
INK 4	: <i>Inhibitor CDK4</i>
MDM2	: <i>Mouse Double Minute 2</i>
MTT	: <i>[3-(4,5-dimetil thiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromida]</i>
p21	: <i>Protein 21</i>
p53	: <i>Protein 53</i>

p27	: <i>Protein 27</i>
p105	: <i>Protein 105</i>
pRb	: <i>Protein Retinoblastoma</i>
PBS	: <i>Phosphat Buffer Saline</i>
PCNA	: <i>Proliferating Cell Nuclear Antigen</i>
PI	: <i>Propidium Iodida</i>
R	: <i>Restriction Point</i>
Rb	: <i>Retinoblastoma</i>
RPMI	: <i>Roswell Park Memorial Institute</i>
SDS	: <i>Sodium Dodecyl Sulfate</i>
SCJ	: <i>Scuamosa columnner junction</i>
TCD	: <i>Tissue Culture Dish</i>
TSG	: <i>Tumor Suppressor Gene</i>



INTISARI

Sirsak merupakan salah satu tanaman yang digunakan sebagai obat tradisional. Biji sirsak mengandung senyawa terpenoid, flavonoid, saponin, polifenol, alkaloid dan *annoceous acetogenin*. Ekstrak biji sirsak telah terbukti memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker serviks HeLa. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak etanolik biji sirsak (EEBS) dalam memodulasi siklus sel kanker serviks HeLa. Biji sirsak diekstraksi dengan menggunakan metode ultrasonik dengan pelarut etanol 96%. Uji sitotoksik EEBS menggunakan MTT assay dengan seri konsentrasi 500; 250; 125; 62,5; 31,25; 15,625 $\mu\text{g/ml}$ terhadap sel kanker serviks HeLa. Nilai IC_{50} yang diperoleh digunakan untuk menentukan konsentrasi uji penghambatan siklus sel menggunakan analisis *flowcytometry* dengan konsentrasi 1; 1/2; 1/4 IC_{50} , analisis dilakukan dengan cara membandingkan antara kontrol sel dengan perlakuan. Ekstrak etanolik biji sirsak memperlihatkan adanya penghambatan siklus sel kanker serviks HeLa pada konsentrasi 1/4 IC_{50} sebesar 3,72% pada fase G1. Terjadinya akumulasi dengan selisih 3,4% dibandingkan dengan kontrol sel sudah dapat dikatakan bahwa ekstrak tersebut memberikan penghambatan pada sel kanker.

Kata kunci: Ekstrak etanolik biji sirsak, sel HeLa, siklus sel.



ABSTRACT

Annona muricata is one of the plants used as traditional medicine. *Annona muricata* seeds contain terpenoids, flavonoids, saponins, polyphenols, alkaloids and annocous acetogenin. *Annona muricata* seed extract has been shown to have cytotoxic activity against HeLa cervical cancer cells. This study aims to determine the effect of *Annona muricata* seed ethanolic extract (EEBS) in modulating the HeLa cervical cancer cell cycle. *Annona muricata* seeds are extracted using ultrasonic method with 96% ethanol. EEBS cytotoxic test using MTT assay with 500 concentration series; 250; 125; 62.5; 31.25; 15,625 $\mu\text{g/ml}$ of HeLa cervical cancer cells. The IC_{50} value obtained was used to determine the concentration of cell cycle inhibition using flowcytometry analysis with a concentration of 1; 1/2; 1/4 IC_{50} , the analysis is done by comparing the control cells with the treatment. *Annona muricata* seed ethanolic extract showed a cycle inhibition of HeLa cervical cancer cells at 1/4 IC_{50} concentration of 3.72% in the G1 phase. The accumulation with a difference of 3.4% compared to cell control can already be said that the extract provides inhibition on cancer cells.

Keywords: *Annona muricata* seed ethanolic extract, HeLa cell, cell cycle.

