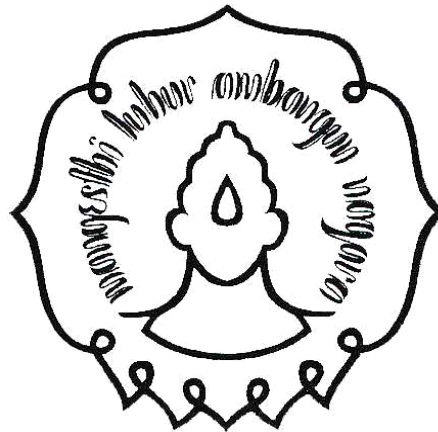


**KARAKTERISASI ISOLAT AKTIF DAUN SIRSAK  
(*Annona muricata* L.) DAN UJI SITOTOKSISITAS ISOLAT  
AKTIFNYA TERHADAP SEL HeLa**

**TESIS**

**Disusun untuk memenuhi sebagian persyaratan  
mencapai gelar magister  
Program Studi Biosain**



**Oleh:**

**Vector Stephen Dewangga**

**NIM S901308006**

**PROGRAM PASCASARJANA  
UNIVERSITAS SEBELAS MARET  
SURAKARTA**

**2015**

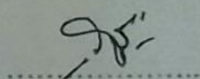
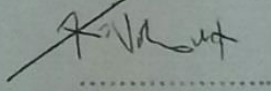
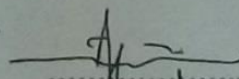
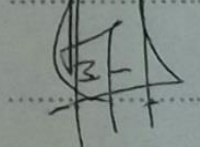
PENGESAHAN

KARAKTERISASI ISOLAT AKTIF DAUN SIRSAK  
(*Annona muricata* L.) DAN UJI SITOTOKSISITAS ISOLAT AKTIFNYA  
TERHADAP SEL HeLa

TESIS

Oleh:  
Vector Stephen Dewangga  
NIM. S901308006

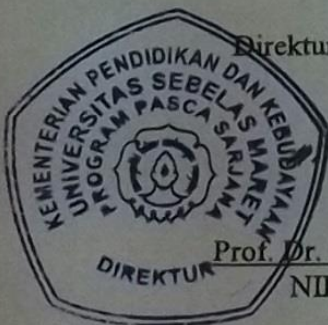
Telah dipertahankan di depan Tim Penguji  
pada tanggal 13 Juli 2015  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

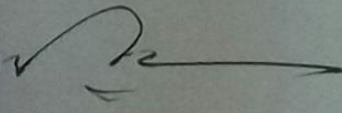
Jabatan	Nama	Tanda Tangan	Tanggal
Ketua	Dr. Adi Prayitno, drg., M.Kes NIP. 19591101 198601 1 001		1 / 8 2015
Sekretaris	Dr. Ari Susilowati, M.Si NIP. 19800510 200501 2 002		3 / 8 2015
Anggota	Prof. Dr. Okid Parama Astirin, M. S. NIP. 19630327 198601 2 002		3 / 8 2015
Penguji	Dr. Tetri Widiyani, M.Si NIP. 19711224 200003 2 001		4 / 8 2015

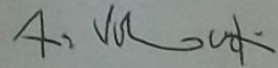
Mengetahui,

Direktur Program Pascasarjana UNS

Ketua Program Studi Biosain  
Pascasarjana UNS



  
Prof. Dr. M. Furqon Hidayatullah, M.Pd  
NIP. 19600727 198702 1 001

  
Dr. Ari Susilowati, M.Si  
NIP. 19800510 200501 2 002

## PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis ini adalah hasil penelitian saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar magister di suatu perguruan tinggi, serta tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka. Apabila di kemudian hari dapat ditemukan adanya unsur penjiplakan maka gelar magister yang telah diperoleh dapat ditinjau dan / atau dicabut.

Surakarta, ..... 4 Agustus 2015



Vector Stephen Dewangga  
S901308006

**Vector Stephen Dewangga.** S901308006. 2015. **Karakterisasi Isolat Aktif Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) dan Uji Sitotoksitas Isolat Aktifnya terhadap Sel HeLa.** Tesis. Pembimbing I: Prof. Dr. Okid Parama Astirin, M.S, Pembimbing II: Dr. Tetri Widiyani, M.Si. Program Studi Biosain. Program Pascasarjana Universitas Sebelas Maret.

## ABSTRAK

Indonesia merupakan negara kedua di dunia setelah Cina yang memiliki penderita kanker serviks terbanyak, kanker ini disebabkan oleh infeksi dari *Human Papilloma Virus* (HPV). Sebagian besar obat-obat kemoterapi kanker memiliki efek samping berupa kerusakan-kerusakan pada jaringan yang masih sehat. Penelitian *in vitro* mengenai ekstrak kasar dan fraksi dari daun sirsak (*Annona muricata* L.) telah menunjukkan hasil yang efektif dalam menghambat pertumbuhan kanker serviks. Tujuan penelitian ini ialah untuk mengetahui nilai *Inhibition Concentration 50* (IC<sub>50</sub>) dari isolat teraktif yang diujikan pada sel HeLa dan menemukan struktur kimia dari isolat teraktif dari *A. muricata* L. yang dideteksi dengan *Fourier Transform Infra Red* (FT-IR) dan spektrofotometer *Ultraviolet-Visible* (UV-Vis).

Pencarian isolat teraktif daun *A. muricata* L. diawali dengan metode perkolasi menggunakan pelarut etanol 96%. Perkolat kemudian difraksinasi dengan kloroform-etil asetat (9:1 v/v), hingga diperoleh bercak tunggal pada KLT yang menandai keberadaan isolat teraktif. Isolat teraktif dikarakterisasi dengan menggunakan FT-IR dan spektrofotometer UV-Vis. Selanjutnya dilakukan uji sitotoksitas isolat teraktif pada sel HeLa untuk dapat diketahui nilai IC<sub>50</sub>.

Hasil penelitian menunjukkan keberadaan metabolit sekunder terpenoid dan steroid pada fraksi teraktif daun *A. muricata* L. Dari FT-IR dijumpai 16 titik serapan, serapan pada 1.743,72 cm<sup>-1</sup> menunjukkan keberadaan gugus lakton yang berasal dari gugus C=O pada  $\gamma$ -butirolakton. Dari spektrofotometer UV-Vis, dijumpai titik absorbansi maksimal pada panjang gelombang 210 nm, 213 nm dan 216-234 nm, yang menunjukkan adanya gugus ketolakton dari ikatan rangkap C=C, C=O, serta ikatan tunggal C-O yang menunjukkan adanya gugus tetrahidrofuran yang berasal dari ikatan C-O-C. Isolat teraktif fraksi kloroform-etil asetat daun *A. muricata* L. memiliki nilai IC<sub>50</sub> sebesar 77,096  $\mu$ g/ml terhadap sel HeLa, yang berarti potensial untuk menghambat proliferasi sel HeLa.

**Kata Kunci:** fraksi teraktif daun *Annona muricata* L., FT-IR, spektrofotometer UV-Vis, sel HeLa, IC<sub>50</sub>.

**Vector Stephen Dewangga.** S901308006. 2015. *Characterization of Active Isolate Soursop Leaf (*Annona muricata* L.) and Cytotoxicity Test Isolates Actively against HeLa Cells.* Thesis. 1<sup>st</sup> Adviser: Prof. Dr. Okid Parama Astirin, M.S, 2<sup>nd</sup> Adviser: Dr. Tetri Widiyani, M.Si. Bioscience Department, Post Graduate Program, University of Sebelas Maret

## ABSTRACT

Indonesia is the second largest country after China, which has the highest cervical cancer patients. The cancer is caused of *Human Papilloma Virus* (HPV) infection. Most of cancer chemotherapy drugs have side effect on healthy tissue. In vitro studies on the soursop leaf (*Annona muricata* L.) crude extracts and fractions have shown that they Inhibition cervical cancer growth effectively. The purposes of this study are to determine the Inhibition Concentrate 50 (IC<sub>50</sub>) values of the most active isolates which tested on HeLa cells and to find out the chemical structure of the most active isolates of *A. muricata* L. which detected by Fourier Transform Infra Red (FT-IR) and Ultraviolet Visible (UV-Vis) spectrophotometer.

The study was preceded by percolation method using ethanol 96% to find out the most active isolates of *A. muricata* L.. The next step, the percolate was fractionated by using chloroform-ethyl acetate (9:1 v/v) to obtain a single spot on Thin Layer Chromatography (TLC) which indicates the existence of the most active isolates. In this study, the most active isolates were characterized by using FT-IR and UV-Vis spectrophotometer. Cytotoxicity assay was carried out on HeLa cells then to determine the to determine the IC<sub>50</sub> value.

The results showed the existence of secondary metabolites terpenoids and steroids on the most active fractions of of *A. muricata* L leaf. It is revealed from the FT-IR, there are 16 absorption points. The absorption at 1,743.72 cm<sup>-1</sup> indicates the existence of lactone group which derived from the group C=O on  $\gamma$ -butyrolactone. From UV-Vis spectrophotometer, it is found that there are three maximum absorbance points of each wavelength. They are 210 nm, 213 nm and 216-234 nm. Each of them indicates the existence of a double bond ketolacton group, which are C=C, C=O, and also C-O single bond which shows that there is a group of tetrahydrofuran which derived from the C-O-C bond. The IC<sub>50</sub> value of the most active isolates of chloroform-ethyl acetate fraction of *A. muricata* L. leaf in the toward HeLa cells is 77.096  $\mu$ g/ml, it which means potential to inhibit HeLa cells proliferation.

Key Words: the most-active fraction of *Annona muricata* L. leaves, FT-IR , UV-Vis spectrophotometer, HeLa cells, IC<sub>50</sub>.

## MOTTO

*“Percayalah kepada TUHAN dengan segenap hatimu, dan janganlah bersandar kepada pengertianmu sendiri. Akuilah Dia dalam segala lakumu, maka Ia akan meluruskan jalanmu.” (Amsal 3:5-6)*

*“Sebab itu TUHAN menanti-nantikan saatnya hendak menunjukkan kasih-Nya kepada kamu; sebab itu Ia bangkit hendak menyayangi kamu. Sebab TUHAN adalah Allah yang adil; berbahagialah semua orang yang menanti-nantikan Dia!” (Yesaya 30:18)*

*“Segala perkara dapat kutanggung di dalam Dia yang memberi kekuatan kepadaku”  
(Filipi 4:13)*

## PERSEMBAHAN

Tesis ini kupersembahkan untuk

**Tuhan Yesus** yang menjadi sahabat terbaik Vector, yang tidak pernah menyerah untuk mengendalikan watak Vector, yang terus berbelas kasihan pada Vector, yang senantiasa memberikan berkat dan sukacita kekal buat Vector.

**Papa dan Mama** yang selalu mendukung Vector dengan usaha dan doa-doa terbaiknya, Vector akan membuat Papa dan Mama bangga.

**Adikku, Paul Vicko Oktovianus** yang bisa membuat Vector hilang penat dengan cerita-cerita konyolnya.

**Kekasihku, Magdalena Dwi Setyani**, yang menjadi penyemangat, inspirasi sekaligus penolong dari Tuhan. Aku mengasihimu...

**Teman-teman Perkantas-Surakarta** yang sudah menjadi komunitas Vector bertumbuh, menemukan nilai-nilai dan membagikan hidup untuk siswa-siswa di Kota Solo.

**Teman-teman Biosain Angkatan 2013**

## KATA PENGANTAR

Ucapan syukur pertama penyusun berikan kepada Tuhan Yesus untuk segala kemurahan-Nya sehingga penyusun dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan tesis yang berjudul: “Karakterisasi Isolat Aktif Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) dan Uji Sitotoksitas Isolat Aktifnya terhadap Sel HeLa”. Penyusunan tesis ini merupakan suatu syarat untuk memperoleh gelar magister strata 2 (S2) pada Program Studi Biosain, Pascasarjana Universitas Sebelas Maret Surakarta.

Dalam pelaksanaan penelitian maupun penyusunan tesis ini penulis mendapatkan banyak masukan, bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak yang sangat bermanfaat baik secara langsung maupun tidak langsung. Oleh karena itu pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada:

Prof. Dr. M. Furqon Hidayatullah, M.Pd, selaku direktur Pascasarjana Universitas Sebelas Maret Surakarta atas ijin penelitian untuk keperluan tesis.

Dr. Ari Susilowati, M.Si, selaku Ketua Program Studi Biosain, Pascasarjana Universitas Sebelas Maret Surakarta yang telah memberikan arahan serta ijin penelitian tesis.

Prof. Dr. Okid Parama Astirin, M.S, selaku dosen pembimbing I yang telah memberikan bimbingan, arahan serta dukungan selama penelitian hingga selesainya penyusunan tesis.

Dr. Tetri Widiyani, M.Si, selaku dosen pembimbing II yang telah memberikan bimbingan, arahan serta dukungan selama penelitian hingga selesainya penyusunan tesis.

Dr. Adi Prayitno, drg., M.Kes. selaku dosen penelaah I yang telah memberikan masukan selama penelitian sampai selesainya penyusunan tesis.

Hibah Penelitian Unggulan Perguruan Tinggi (PUPT) tahun 2014 yang diketuai Prof. Dr. Okid Parama Astirin, M.S atas kesempatan, dukungan dan fasilitas yang diberikan sehingga penelitian ini dapat berjalan hingga selesainya penyusunan tesis.

Seluruh dosen, karyawan, staf Laboratorium Jurusan Biologi FMIPA UNS, staf laboratorium MIPA Pusat, staf laboratorium parasitologi Fakultas Kedokteran UGM dan teman-teman yang telah memberikan dukungan dan bantuan sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini.

Dengan kerendahan hati penyusun menyadari bahwa dalam penelitian dan penyusunan tesis ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu saran dan kritik dari pembaca yang bersifat membangun akan sangat penyusun hargai. Semoga tesis ini bermanfaat.

Surakarta, Juni 2015

Penyusun



## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL .....	i
HALAMAN PERSETUJUAN .....	ii
HALAMAN PERNYATAAN.....	iii
ABSTRAK .....	iv
ABSTRACT .....	v
HALAMAN MOTTO .....	vi
HALAMAN PERSEMBAHAN .....	vii
KATA PENGANTAR.....	viii
DAFTAR ISI .....	ix
DAFTAR TABEL .....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN .....	xiii
DAFTAR SINGKATAN .....	xiv
BAB 1. PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang Masalah.....	1
B. Rumusan Masalah .....	3
C. Tujuan Penelitian .....	3
D. Manfaat Penelitian .....	3
BAB 2. LANDASAN TEORI .....	4
A. Tinjauan Pustaka .....	4
1. Sirsak ( <i>Annona muricata</i> L.).....	4
2. Kromatografi Lapis Tipis (KLT) .....	8
3. <i>Fourier Transform Infra Red</i> (FT-IR) .....	9
4. Spektrofotometer UV-Vis .....	9
5. <i>Human Papilloma Virus</i> (HPV).....	10
6. Kultur Sel HeLa .....	12
7. Siklus Sel.....	13
B. Kerangka Pemikiran.....	16
C. Hipotesis.....	17
BAB 3. METODE PENELITIAN .....	18
A. Waktu dan Tempat .....	18
B. Alat dan Bahan.....	18
C. Cara Kerja .....	19
1. Pembuatan Ekstrak.....	19
2. Pemisahan Komponen Senyawa Kimia dengan Fraksinasi ..	20
3. Karakterisasi Struktur Senyawa Kimia Isolat Aktif.....	21
4. Uji Sitotoksitas .....	22
D. Analisis Data .....	23
1. Karakterisasi Struktur Senyawa Kimia Isolat Teraktif .....	23
2. Uji Sitotoksitas (CCRC, 2010).....	23

BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN .....	25
A. Karakterisasi Isolat Aktif Daun <i>Annona muricata</i> L. ....	25
B. Uji Sitotoksitas Isolat Aktif Daun <i>Annona muricata</i> L. ....	32
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN .....	38
A. Kesimpulan .....	38
B. Saran.....	38
DAFTAR PUSTAKA.....	39
LAMPIRAN .....	46
RIWAYAT HIDUP PENULIS.....	54

## DAFTAR TABEL

Tabel 1. Intepretasi <i>Fourier Transform Infra Red</i> (FT-IR) terhadap isolat aktif daun <i>Annona muricata</i> L. ....	29
Tabel 2. Nilai rata-rata absorbansi sel HeLa paska perlakuan konsentrasi isolat aktif daun <i>Annona muricata</i> L. pada ELISA <i>Reader</i> .....	35

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Tanaman Sirsak ( <i>Annona muricata</i> L.) .....	4
Gambar 2. Struktur steroid .....	6
Gambar 3. Struktur <i>acetogenin</i> .....	7
Gambar 4. Model <i>Human Papilloma Virus</i> (HPV) .....	11
Gambar 5. Siklus sel.....	13
Gambar 6. Kerangka pemikiran.....	17
Gambar 7. Alur cara kerja .....	24
Gambar 8. Hasil pengujian isolat teraktif fraksi kloroform - etil asetat pada KLT menunjukkan positif terdapat senyawa terpenoid.....	26
Gambar 9. Hasil pengujian isolat teraktif fraksi kloroform - etil asetat pada KLT menunjukkan positif terdapat senyawa steroid.....	26
Gambar 10. Grafik <i>Fourier Transform Infra Red</i> (FT-IR) isolat aktif <i>Annona muricata</i> L. ....	28
Gambar 11. Grafik spektrofotometer UV-Vis isolat aktif <i>Annona muricata</i> L. ....	31
Gambar 12. Sel HeLa di dasar <i>tissue flask</i> .....	33
Gambar 13. <i>Mapping</i> Sel HeLa paska perlakuan dengan <i>MTT assay</i> .....	33
Gambar 14. Perubahan <i>MTT</i> menjadi formazan dalam mitokondria sel hidup	34
Gambar 15. Profil sel HeLa paska pemberian pemberian SDS 10% .....	34
Gambar 16. Grafik regresi pengaruh konsentrasi isolat <i>Annona muricata</i> L. dengan viabilitas sel HeLa .....	36
Gambar 17. Proses metilasi DNA .....	37

## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Gambar 18. Proses perkolasi.....	46
Lampiran 2. Gambar 19. Pasta hasil penguapan <i>waterbath</i> .....	46
Lampiran 3. Gambar 20. Perangkat <i>Vacum Liquid Chromatography</i> .....	47
Lampiran 4. Gambar 21. Fraksi <i>Vacum Liquid Chromatography</i> .....	47
Lampiran 5. Gambar 22. Penguapan fraksi dengan <i>waterbath</i> .....	48
Lampiran 6. Gambar 23. Bercak Tunggal Isolat pada Panjang Gelombang 254 nm dan 366 nm .....	48
Lampiran 7. Tahapan hasil <i>Vacum Liquid Chromatography (VLC)</i> / kromatografi kolom .....	49
Lampiran 8. Komposisi media RPMI 1640 dari SIGMA-ALDRICH	50
Lampiran 9. Perhitungan nilai IC <sub>50</sub> isolat aktif <i>Annona muricata</i> L. terhadap sel HeLa .....	51
Lampiran 10. Lembar kerja uji kimia dan kompilasi data laboratorium pengujian “LPPT-UGM” .....	51
Lampiran 11. Keluaran tabel <i>Fourier Transform Infra Red (FT-IR)</i> (Shimadzu) dari isolat teraktif daun <i>Annona muricata</i> L.....	53

## DAFTAR SINGKATAN

<b>Singkatan</b>	<b>Kepanjangan</b>
$\mu\text{g} / \text{ml}$	mikrogram per mililiter
ATP	<i>Adenosine Triphosphate</i>
CCRC	<i>Cancer Chemopreventive Research Center</i>
DMSO	<i>Dimethyl Sulfoxide</i>
DNA	<i>Deoxyribo Nucleic Acid</i>
FBS	<i>Fetal Bovine Serum</i>
FT-IR	<i>Fourier Transform Infra Red</i>
G	<i>Gap</i>
HPV	<i>Human Papilloma Virus</i>
IC <sub>50</sub>	<i>Inhibition Concentration</i>
KLT	Kromatografi Lapis Tipis
M	Mitosis
MTT	<i>3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium Bromide</i>
ml	mililiter
mm	milimeter
nm	nanometer
PBS	<i>Phosphate Buffer Saline</i>
Rf	<i>Retension factor</i>
RNA	<i>Ribo Nucleic Acid</i>
rpm	rotation per minutes
RPMI	<i>Roswell Park Memorial Institute</i>
S	Sintesis
SDS	<i>Sodium Dodecyl Sulfate</i>
TLC	<i>Thin Layer Chromatography</i>
TNF	<i>Tumor Necrosis Factor</i>
UV-Vis	Ultraviolet - Visible
VLC	<i>Vacum Liquid Chromatography</i>