

**UJI SITOTOKSISITAS ISOLAT DAUN SIRSAK (*Annona muricata* L.)  
TERHADAP SEL RAJI DAN PROFIL KANDUNGAN KIMIA ISOLAT  
AKTIF**

**Skripsi**

Untuk memenuhi sebagian persyaratan  
guna memperoleh gelar Sarjana Sains



Oleh:  
Mira Hartanti  
NIM. M0411042

**PROGRAM STUDI BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS SEBELAS MARET  
SURAKARTA**

**2015**

**PENGESAHAN**

**UJI SITOTOKSISITAS ISOLAT DAUN SIRSAK (*Annona muricata* L.)  
TERHADAP SEL RAJI DAN PROFIL KANDUNGAN KIMIA ISOLAT  
AKTIF**

Oleh:  
Mira Hartanti  
NIM. M0411042

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji  
Pada tanggal 24 Juni 2015  
Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Surakarta, 24 JUL 2015

Penguji I

Siti Lusi Arum Sari, M.Biotech.  
NIP. 19760812 200501 2 001

Penguji II

Ari Pitoyo, S.Si., M.Si.  
NIP. 19780129 200501 2 001

Penguji III/Pembimbing I

Prof. Dr. Okid Parama A., M.S.  
NIP. 19630527 198601 2 002

Penguji IV/Pembimbing II

Dr. Tetri Widiyanti, M.Si.  
NIP. 19711224 200003 2 001

Mengesahkan

Dekan  
FMIPA UNS



Prof. Ir. Ari H. Ramelan, M.Sc., (Hons) Ph.D.  
NIP. 19610223 198601 1 001

Mengetahui  
Kepala Program Studi Biologi



Dr. Ratna Setyaningsih, M.Si.  
NIP. 19660714 199903 2 001

## PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil penelitian saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan 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 dikemudian hari ditemukan adanya unsur penjiplakan maka gelar kesarjanaan yang telah diperoleh dapat ditinjau dan/atau dicabut.

Surakarta, 24 Juni 2015

Mira Hartanti  
NIM. M0411042

**UJI SITOTOKSISITAS ISOLAT DAUN SIRSAK (*Annona muricata* L.)  
TERHADAP SEL RAJI DAN PROFIL KANDUNGAN KIMIA ISOLAT  
AKTIF**

**Mira Hartanti**

Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Universitas Sebelas Maret, Surakarta

**ABSTRAK**

Pengobatan kanker secara medis dengan kemoterapi ternyata kurang selektif, karena bersifat toksik bagi jaringan normal. Strategi yang potensial adalah penggunaan agen ko-kemoterapi dengan bahan obat dari alam. Salah satu tanaman yang berpotensi sebagai sumber obat baru adalah sirsak (*Annona muricata* L.). Penelitian ini bertujuan mengetahui efek sitotoksik isolat daun sirsak terhadap sel Raji berdasarkan nilai *Lethal Concentration* 50 (LC<sub>50</sub>) dan profil kimia isolat aktifnya.

Penelitian dilakukan dengan ekstraksi daun sirsak metode perkolasi menggunakan etanol 96%. Ekstrak difraksinasi menggunakan metode *Vacuum Liquid Chromatography* (VLC) dengan fase gerak bertingkat dengan pelarut kloroform dan etil asetat. Fraksi yang didapat dimonitor dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan mengelompokkan fraksi berdasarkan spot yang sama. Selanjutnya dire-fraksinasi dan dipantau dengan KLT hingga didapatkan satu spot dan diisolasi sebagai isolat. Perlakuan uji dengan menggunakan variasi konsentrasi isolat 10; 20; 30; 40; 60; 70; 90; dan 100 µg/ml ke *microplate* 96 sumuran. Setiap sumuran berisi sel Raji dengan kepadatan  $2 \times 10^4$  sel/sumuran. Isolat daun sirsak diuji sitotoksitasnya terhadap sel Raji dengan metode [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide] atau MTT Assay.

Hasil dari penelitian menunjukkan bahwa isolat daun sirsak (*Annona muricata* L.) memiliki aktivitas sitotoksik dengan nilai LC<sub>50</sub> sebesar 71,96 µg/ml. Profil kimia isolat aktif daun sirsak diidentifikasi mengandung senyawa terpenoid dengan *Retardation factor* (Rf) 0,62 dan 0,94 dan senyawa steroid dengan Rf 0,90.

**Kata kunci:** *Annona muricata* L., sel Raji, uji sitotoksitas, MTT Assay, Kromatografi Lapis Tipis (KLT).

## CYTOTOXICITY ASSAY FOR ISOLATE COMPOUNDS OF SOURSOP LEAVES (*Annona muricata* L.) TOWARDS RAJI CELLS AND ACTIVE ISOLATE CHEMICAL PROFILE

**Mira Hartanti**

Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences  
Sebelas Maret University, Surakarta

### ABSTRACT

Medical cancer treatment with chemotherapy were less selective, because toxic to normal tissues. Potential strategies is the use of co-chemotherapy agent from nature. One of the plants that have the potential as a source of new drugs is soursop (*Annona muricata* L.). The purposes of this study are to determine the effect of cytotoxic, Lethal Concentration 50 (LC<sub>50</sub>) value and the chemical constituents profile of active isolate of soursop leaves.

The study began with extracted of soursop leaves using 96% ethanol. The extract was fractionated using Vacuum Liquid Chromatography (VLC) with a mobile phase stratified with chloroform and ethyl acetate. Fractions obtained were grouped based on the similar spot and they were refractionated to obtain isolates. Further refractionation and monitored by TLC until found one spot and isolated as isolates. Isolates concentration were 10; 20; 30; 40; 60; 70; 90; and 100 µg/ml respectively. They were applied to the microplate 96 wells. Density of Raji cells was  $2 \times 10^4$  cells/well. Cytotoxicity test of soursop leaves isolates was carried out against Raji cells by using MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide] method.

The results showed that isolates soursop leaves have cytotoxic activity with LC<sub>50</sub> value of 71.96 µg/ml. Chemical profile of the soursop leaves active isolates were identified by Thin Layer Chromatography (TLC) and analyze qualitatively. The result indicated there is a terpenoid compound with *Retardation factor* (Rf) detected 0.62 and 0.94 and steroid compounds with Rf detected 0.90.

Keywords: *Annona muricata* L., Raji cells, cytotoxicity assay, MTT Assay, Thin Layer Chromatography (TLC).



## MOTTO

*Bukan hal yang bagus kalau kau berhenti berkembang. Jika kau terus kabur dari hal yang kau anggap sulit, kau tidak akan pernah jadi hebat dalam hal apapun. Kau harus terus mencari dan melangkah maju dengan kakimu sendiri.*  
(Wataru – Initial D)

*Dekat dengan Tuhan itu penting, karena Tuhan Maha Tahu  
Kalau kita dekat dengan Tuhan kita juga harus banyak tahu  
Karena banyak tahu itu penting.*  
(Ahmad Dhani)

*Skripsi yang baik adalah skripsi yang selesai.*  
(Anies Baswedan)

*Alhamdulillah.*

## PERSEMBAHAN

*Karya ini saya persembahkan untuk:*

☞ *Maha Pemberi Segalanya, Allah  
SWT*

☞ *Orangtuaku Bapak Rudiyanto  
dan Ibu Legiyem serta kakakku  
Andriyadi atas doa dan kasih  
sayang yang tidak terhingga*

☞ *Harun Ar Rasyis atas kesabaran,  
semangat, dan keceriaan kepada  
penulis*

☞ *Teman seperjuangan angkatan  
2011 Biologi FMIPA*

☞ *Bapak dan Ibu dosen Biologi  
FMIPA UNS*

☞ *Almamater tercinta*

## KATA PENGANTAR

Puji syukur Penulis panjatkan kepada Allah SWT atas segala limpahan rahmat dan hidayah-Nya, serta junjungan Nabi besar Muhammad SAW, sehingga Penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Uji Sitotoksisitas Isolat Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Terhadap Sel Raji dan Profil Kandungan Kimia Isolat Aktif”**. Penelitian dan penulisan skripsi ini dilakukan sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Sains Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret Surakarta. Dalam penelitian dan penyusunan skripsi ini, penulis tentunya tidak lepas dari bantuan, bimbingan, dan dukungan dari berbagai pihak, dalam kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Prof. Ir. Ari Handoko Ramelan, M.Sc. (Hons)., Ph.D., selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret, Surakarta yang telah memberikan dukungan.
2. Hibah Unggulan Penelitian Perguruan Tinggi DIKTI 2014 atas kesempatan, dukungan, dan fasilitas yang diberikan sehingga penelitian ini dapat berjalan hingga selesainya penyusunan skripsi.
3. Dr. Ratna Setyaningsih, M.Si., selaku Kepala Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret, Surakarta yang telah memberikan izin dan dukungannya selama penelitian.
4. Prof. Dr. Okid Parama Astirin, M.S., selaku dosen pembimbing I dan dosen pembimbing akademik yang telah memberikan proyek penelitian,



bimbingan, dukungan dan pengarahan selama penelitian sampai terselesaikannya skripsi ini.

5. Dr. Tetri Widiyani, M.Si., selaku dosen pembimbing II yang telah memberikan saran, bimbingan, dan semangat dari awal penelitian hingga terselesaikannya penyusunan skripsi ini.
6. Siti Lusi Arum Sari, M.Biotech., selaku dosen penelaah I yang telah memberikan saran dan masukan selama penelitian.
7. Ari Pitoyo, S.Si., M.Sc., selaku dosen penelaah II yang telah sabar membimbing dan memberikan arahan selama penelitian hingga terselesaikannya skripsi ini.
8. Seluruh dosen Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret Surakarta yang telah memberi dukungan dan bimbingan selama masa perkuliahan.
9. Anif Nur Artanti, M.Sc., Apt., selaku dosen pembimbing lapangan yang telah membimbing dan memberikan saran selama penelitian berlangsung.
10. Prof. Dr. Supargiyono, DTM&H., SU., PhD., SpParK., selaku supervisor dan Rumbiwati, S.T., selaku teknisi di Laboratorium Parasitologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Gajah Mada yang membantu dalam penelitian.
11. Inayah dan Vector Dewangga selaku teman seperjuangan dalam penelitian.

12. Seluruh sivitas akademis dan non akademis khususnya staf laboratorium Jurusan Biologi yaitu Mbak Atik, mbak Nina, dan Mas Adnan, yang telah membantu selama penelitian.
13. Kedua orang tua, kakak dan seluruh keluarga besar yang selalu memberikan doa restu dan kasih sayang.
14. Teman-teman terbaik penulis Nurul Kusmiyati dan Justina Nur Landhiani dan teman seperjuangan Biosukasuka 2011 Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret Surakarta atas doa dan dukungan selama masa perkuliahan serta semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu yang telah memberikan bantuannya.

Semoga Allah SWT memberikan imbalan yang berlipat ganda kepada mereka atas amal kebaikan dan ketulusannya. Penulis menyadari bahwa penelitian dan penyusunan skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Penulis dengan senang hati menerima segala saran dan kritik agar tercapainya hasil yang lebih baik. Dengan segala kerendahan hati, Penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi seluruh pihak dan bagi perkembangan ilmu pengetahuan.

Surakarta, 24 Juni 2015

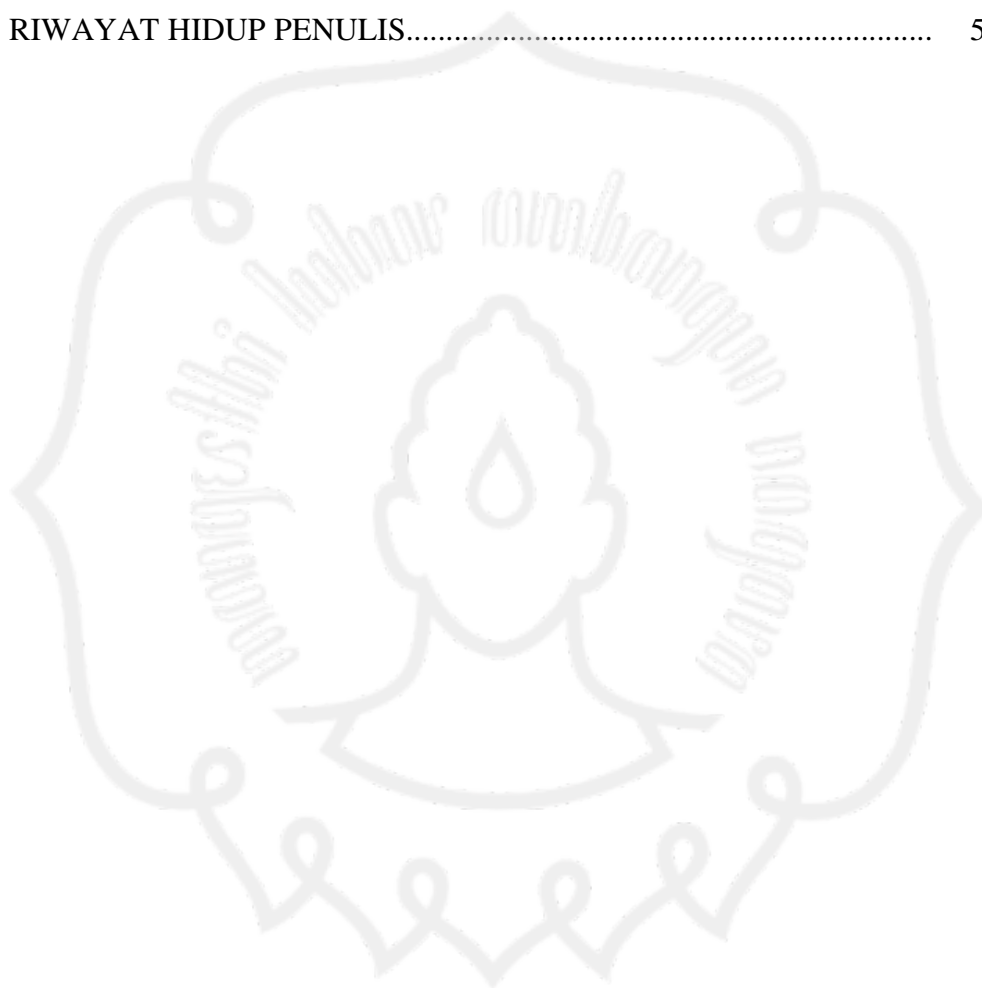
Penulis

## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL .....	i
HALAMAN PERSETUJUAN .....	ii
HALAMAN PERNYATAAN .....	iii
ABSTRAK .....	iv
ABSTRACT.....	v
MOTTO.....	vi
PERSEMBAHAN.....	vii
KATA PENGANTAR.....	viii
DAFTAR ISI .....	xi
DAFTAR GAMBAR .....	xiii
DAFTAR TABEL .....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xv
DAFTAR SINGKATAN.....	xvi
<b>BAB I. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
A. Latar Belakang Masalah .....	1
B. Perumusan Masalah .....	4
C. Tujuan Penelitian .....	4
D. Manfaat Penelitian .....	5
<b>BAB II. LANDASAN TEORI .....</b>	<b>6</b>
A. Tinjauan Pustaka.....	6
1. Sirsak ( <i>Annona muricata</i> L.) .....	6
a. Klasifikasi.....	6
b. Habitat dan Penyebaran.....	6
c. Morfologi Tumbuhan.....	7
d. Kandungan senyawa.....	8
2. Siklus sel.....	9
3. Kanker Nasofaring .....	11
4. <i>Epstein-Barr Virus</i> (EBV).....	12
5. Sel Raji.....	12

6. Teknik Kultur Sel .....	14
7. Uji Sitotoksik.....	15
8. Metode Pemisahan Senyawa.....	17
B. Kerangka Pemikiran .....	19
C. Hipotesis .....	20
<b>BAB III. METODE PENELITIAN.....</b>	<b>21</b>
A. Waktu dan Tempat Penelitian.....	21
B. Alat dan Bahan Penelitian.....	21
1. Alat.....	21
2. Bahan.....	22
C. Cara Kerja .....	23
1. Pembuatan isolat daun sirsak ( <i>Annona muricata</i> L.).....	23
a. Ekstraksi.....	23
b. Fraksinasi.....	24
c. Kromatografi Lapis Tipis (KLT).....	25
d. Isolasi.....	26
2. Kultur Sel.....	26
a. Pencairan dari stok beku ( <i>cell thawing</i> ) .....	26
b. Panen Sel.....	28
c. Subkultur.....	28
d. <i>Cryopreservation</i> .....	29
3. Uji Sitotoksisitas.....	30
4. Penentuan Golongan Senyawa Kimia.....	32
D. Analisis Data.....	33
1. Uji Sitotoksisitas.....	33
2. Profil Kandungan Kimia Isolat.....	34
<b>BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>35</b>
A. Isolat Daun Sirsak ( <i>Annona muricata</i> L.) .....	35
B. Uji Sitotoksisitas.....	36
C. Uji Kualitatif Kandungan Kimia Isolat Aktif.....	42
1. Deteksi Vanillin asam sulfat.....	43

2. Deteksi Lieberman burchad .....	44
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN.....	46
A. Kesimpulan.....	46
B. Saran.....	46
DAFTAR PUSTAKA.....	47
LAMPIRAN.....	51
RIWAYAT HIDUP PENULIS.....	57



## DAFTAR GAMBAR

		Halaman
Gambar 1.	Morfologi sirsak ( <i>Annona muricata</i> L.) terdiri: (a) Daun, (b) Bunga, dan (c) Buah.....	8
Gambar 2.	Siklus sel terdiri mitosis (M), Interfase terdiri dari fase <i>gap</i> 1(G1), sintesis DNA (S), dan <i>gap</i> 2 (G2).....	10
Gambar 3.	Letak kanker nasofaring di daerah cekungan <i>Rosenmuel-leri</i> dan tempat bermuara saluran <i>eustachii</i> .....	12
Gambar 4.	Reaksi reduksi MTT berwarna kuning menjadi formazan berwarna ungu setelah ditambah dengan <i>stop solution</i> .....	17
Gambar 5.	Diagram alir kerangka pemikiran.....	20
Gambar 6.	Profil Kromatografi Lapis Tipis (KLT) isolat daun sirsak dengan penampak (a) UV <sub>254</sub> , dan (b) UV <sub>366</sub> nm.....	35
Gambar 7.	Grafik persamaan regresi dan log linier kematian sel Raji dengan konsentrasi isolat daun sirsak dengan seri konsentrasi 10; 20; 30; 40; 60; 70; 90; dan 100 µg/ml.....	38
Gambar 8.	Sel Raji membentuk kristal formazan setelah pemberian <i>sodium dodecyl sulfat</i> (SDS) pada metode MTT Assay (a) sel mati tidak terpengaruh dengan reagen MTT, dan (b) sel hidup membentuk kristal ungu formazan.....	40
Gambar 9.	Morfologi sel Raji setelah penambahan isolat daun sirsak perbesaran 100x dengan seri konsentrasi a. 10, b. 20, c. 30, d. 40, e. 60, f. 70, g. 90, dan h. 100 µg/ml.....	41
Gambar 10.	Profil kromatogram isolat daun sirsak dengan pereaksi semprot vanilin asam sulfat pada sinar UV <sub>254</sub> dan UV <sub>365</sub> .....	45
Gambar 11.	Profil kromatogram isolat daun sirsak dengan pereaksi semprot lieberman burchad pada sinar UV <sub>254</sub> dan UV <sub>365</sub> .....	46



**DAFTAR TABEL**

	Halaman
Tabel 1. Kandungan buah sirsak per 100 g.....	8
Tabel 2. Proses fraksinasi dengan fase kloroform dan etil asetat.....	25
Tabel 3. Hasil uji sitotoksisitas isolat daun sirsak terhadap sel Raji..	36
Tabel 4. Hasil uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) isolat aktif daun sirsak dengan pereaksi semprot vanilin asam sulfat dan Lieberman Burchad.....	43



**DAFTAR LAMPIRAN**

	Halaman
Lampiran 1. Skema Pembuatan isolat daun sirsak ( <i>Annona muricata</i> L.).....	53
Lampiran 2. Lampiran 2. Skema kultur sel dan uji sitotosisitas daun sirsak.....	54
Lampiran 3. Komposisi media RPMI 1640 dari SIGMA-ALDIRICH.....	55
Lampiran 4. Perhitungan kadar dosis isolat daun sirsak untuk uji sitotoksisitas.....	56
Lampiran 5. Data absorbansi perlakuan isolat daun sirsak ( <i>Annona muricata</i> L.) terhadap sel Raji.....	57
Lampiran 6. Data viabilitas sel perlakuan isolat daun sirsak ( <i>Annona muricata</i> L.) terhadap sel Raji.....	58
Lampiran 7. Data persamaan regresi uji sitotoksisitas isolat sirsak ( <i>Annona muricata</i> L.) terhadap sel Raji.....	59

## DAFTAR SINGKATAN

<b>Singkatan</b>	<b>Kepanjangan</b>
BSC II	<i>Biological Safety Cabinet Class II</i>
DMSO	<i>Dimethyl Sulfoxide</i>
DNA	<i>Deoxyribo Nucleic Acid</i>
EBV	<i>Eipstein Barr Virus</i>
FBS	<i>Fetal Bovine Serum</i>
G	gram
KLT	Kromatografi Lapis Tipis
LC <sub>50</sub>	<i>Lethal Concentration 50</i>
ml	mili liter
MTT	<i>Colometric Cell Viability with (3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl] -2,5 diphenyl tetrazolium bromide)</i>
nm	nano meter
PBS	<i>Phosphate Buffer Saline</i>
Rf	<i>Retardation Factor</i>
RPMI	<i>Rosewell Park Memorial Institute</i>
SDS	<i>Sodium dodecyl sulfate</i>
VLC	<i>Vacum Liquid Chromatography</i>
UV	Ultraviolet
µg/ml	mikrogram per mililiter
µl	mikro liter