

**SITOTOKSISITAS FRAKSI SEMI POLAR EKSTRAK
ETANOL BIJI SIRSAK (*Annona muricata* L.) TERHADAP SEL
T47D DAN PROFIL KROMATOGRAFINYA**

NASKAH PUBLIKASI



Oleh:

**RIYAN DWI WIDODO
K 100 080 193**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA
SURAKARTA
2013**

PENGESAHAN NASKAH PUBLIKASI

SITOTOKSISITAS FRAKSI SEMI POLAR EKSTRAK ETANOL
BIJI SIRSAK (*Annona muricata* L.) TERHADAP SEL T47D DAN
PROFIL KROMATOGRAFINYA

Oleh:
RIYAN DWI WIDODO
K 100 080 193

Telah disetujui dan disahkan pada :

Hari :

Tanggal :

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Muhammadiyah Surakarta
Dekan,

Arifah Sri Wahyuni, M.Sc., Apt

Penguji I

Penguji II

Dr. Muhammad Da'i, M.Si., Apt

Ratna Yuliani, M.Biotech.St

Pembimbing Utama

Pembimbing Pendamping

Dr. Haryoto, M.Sc

Peni Indrayudha, M.Biotech., Apt

Mahasiswa

Riyan Dwi Widodo

**SITOTOKSISITAS FRAKSI SEMI POLAR EKSTRAK ETANOL BIJI
SIRSAK (*Annona muricata* L.) TERHADAP SEL T47D DAN PROFIL
KROMATOGRAFINYA**

***CYTOTOXICITY OF SEMI POLAR FRACTION OF ETHANOL EXTRACT
THE SEED *Annona muricata* Linn ON T47D CELLS AND PROFILE
CHROMATOGRAPHY***

**Riyan Dwi Widodo, Haryoto dan Peni Indrayudha
Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta**

ABSTRAK

Biji Sirsak (*Annona muricata* L.) diketahui mempunyai aktivitas sitotoksik untuk menghambat pertumbuhan sel kanker. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas sitotoksik fraksi semi polar ekstrak etanol biji Sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap sel T47D dengan parameter nilai IC_{50} . Biji sirsak diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96%. Ekstrak etanol kemudian difraksinasi dengan metode KCV, sehingga didapat fraksi semi polar. Uji sitotoksik menggunakan metode MTT dengan seri konsentrasi ekstrak 9,375; 18,75; 37,5; 75; 150; dan 300 $\mu\text{g/mL}$. Nilai toksisitas ditentukan dengan IC_{50} . Deteksi golongan senyawa yang terkandung dalam fraksi semi polar ekstrak etanol biji sirsak dilakukan dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) fase geraknya adalah n-heksan dan etil asetat (6:4), fase diamnya menggunakan silika gel GF₂₅₄ yang diamati dibawah lampu UV₂₅₄ dan UV₃₆₆ dan dideteksi dengan pereaksi semprot Dragendorff, sitroborat, dan FeCl₃. Hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksi semi polar ekstrak etanol biji sirsak mempunyai aktivitas sitotoksik terhadap sel T47D dengan nilai IC_{50} sebesar 87,711 $\mu\text{g/mL}$. Golongan senyawa kimia yang terkandung dalam ekstrak etanol biji sirsak fraksi semi polar tersebut adalah alkaloid yang dideteksi dengan reagen semprot yaitu Dragendorff.

Kata kunci : *Annona muricata* L., ekstrak etanol, fraksi semi polar, sitotoksik, T47D.

ABSTRACT

*Seeds of the Soursop (*Annona muricata* L.) has known for cytotoxic activity to inhibit the growth of cancer cells. The purpose of this research is to know the cytotoxic activity of the fraction of ethanol extract of seeds of the semi polar Soursop (*Annona muricata* L.) on T47D cell with the parameter values of IC_{50} . This research was conducted using MTT assay method. The series of the concentration of the extract was 9,375; 18.75; 37.5; 75; 150; and 300 $\mu\text{g/mL}$. The results showed that the fraction of ethanol extract of seeds of the semi polar have cytotoxic activity against soursop on T47D cells with IC_{50} values of 87,711 $\mu\text{g/mL}$. The sample contained polyphenols, flavonoids, alkaloids, which are detected by a spray Reagent that Dragendroff, sitroborat, and FeCl₃.*

Keywords: *Annona muricata* Linn, ethanol extract, semi polar fraction, cytotoxic, T47D.

PENDAHULUAN

Masyarakat Indonesia telah mengenal dan menggunakan tanaman berkhasiat sebagai obat. Banyak tanaman yang terdapat di alam selalu digunakan sebagai obat, karena tanaman tersebut berkhasiat untuk menyembuhkan penyakit. Selain itu banyak tanaman berkhasiat yang mudah didapat di lingkungan sekitar. Di antaranya adalah tanaman buah sirsak (*Annona muricata* L.). Tanaman ini terbukti mempunyai khasiat astrigen (daun dan buah mentah), antibakteri, dan antikejang (Hariana, 2006). Batang dan daun sirsak mengandung tansin, fitosterol, kalsium oksalat serta alkaloid murisine.

Penelitian ilmiah yang berhasil mengungkapkan khasiat, manfaat pengobatan, dan terapi kanker, mendorong munculnya paradigma baru dalam dunia pengobatan modern, yaitu *back to nature* atau kembali ke alam (Mangan, 2003). Berbagai cara penyembuhan untuk melawan kanker sudah banyak dilakukan seperti pembedahan, penyinaran, kemoterapi dan imunoterapi, tetapi masing-masing cara penyembuhannya mempunyai kelemahan sendiri sehingga penyembuhan kanker belum memuaskan sampai saat ini. Penggunaan kemoterapi antikanker belum memberikan hasil optimal karena obat tersebut tidak bekerja secara spesifik. Masalah lain dalam kemoterapi adalah timbulnya sel kanker yang resisten sehingga antikanker yang diberikan tidak sensitif lagi. Usaha untuk menemukan antikanker yang lebih spesifik dan sensitif sangat diperlukan (Martini, 2005).

Penelitian lain, *Annonaceous acetogenins* yang terkandung dalam tanaman sirsak telah dipublikasikan sebagai antitumor, antiparasit, pestisida, antiprotozoa, *antifeedant* (antiserangga) dan aktivitas antimikrobia (Taylor, 2002). Aktivitas sitotoksik pada ekstrak organik biji sirsak memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan sel tumor payudara (MCF-7) lebih baik dibandingkan ekstrak airnya (Pardhasaradhi *et al.*, 2004; Pardhasaradhi *et al.*, 2005).

Berdasarkan hal tersebut dilakukan penelitian lebih lanjut tentang sitotoksitas biji Sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap sel T47D untuk mengetahui ada tidaknya aktivitas antikanker dari senyawa yang terkandung dalam biji Sirsak (*Annona muricata* L.) dengan mengacu pada penelitian

sebelumnya tentang adanya aktifitas antikanker dari ekstrak etanol daun dan batang Sirsak (*Annona muricata* L.) Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberi informasi yang bermanfaat dalam pemilihan obat alternatif anti kanker yang murah, ekonomis, dan mudah diperoleh.

METODE PENELITIAN

1. Alat – alat yang digunakan

- a. Alat yang digunakan untuk membuat serbuk biji sirsak : blender
- b. Alat yang digunakan dalam ekstraksi : *vacuum rotary evaporator* (Heidolph), neraca analitik, alat timbang (Precisa) dan alat-alat gelas lainnya (Pyrex).
- c. Alat yang digunakan dalam fraksinasi : corong pisah, beker dan alat gelas lainnya (Pyrex).
- d. Alat yang digunakan untuk kultur sel hingga pemanenan sel : cawan porselin, alat inkubator, mikro pipet, lampu spiritus dan LAF.
- e. Alat yang digunakan dalam uji sitotoksisitas : LAF, inkubator CO₂ (Heraceus), *tissue culture flask* (Nunclon), tabung kolonikal steril (Nunclon), *sentrifuge* (Sigma), *mikropipet* (Gilson), *haemocytometer* (Marienfield Germany), mikroskop fase kontras (Olympus), *magnetic stirrer, plate 96* (Nunclon), peralatan gelas, *blue tip* dan *yellow tip* (Greiner), tabung *ependorf* steril, *cell counter*, *ELISA reader* (SLT 240 ATC) dan kamera digital.

2. Bahan-bahan yang digunakan

- a. Bahan utama yaitu biji sirsak diambil dari daerah Jumapolo, Karanganyar, Jawa Tengah.
- b. Bahan penyari yaitu etanol 95% p.a, *n-hexane* p.a dan etil asetat p.a.
- c. Bahan untuk uji sitotoksisitas yaitu Sel T47D yang diperoleh dari laboratorium parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada, RPMI 1640 (Gibcobl), FBS 10%, Antibiotik Penisilin-streptomisin 2% dan fungizone 0,5%, aquadest, natrium bikarbonat, aquabidest, PBS (Phosphate Buffer Saline), larutan MTT (3-(4,5 dimetiltiazol-2-il),2,5-difenil tetrazolium bromide) dalam PBS 20%, SDS 10% (Sigma), HCl 0,1N, DMSO 100%.

- d. Bahan untuk analisis KLT terdiri dari silika gel GF₂₅₄ (Ikapharm), hexan, etil asetat, fase gerak dan pereaksi semprot sitroborat, *Dragendroff* dan FeCl₃.

Jalannya Penelitian

1. Determinasi tanaman

Tanaman sirsak diidentifikasi di Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta dengan cara determinasi yaitu dengan mencocokkan ciri-ciri tanaman sirsak dengan buku petunjuk determinasi (flora) sehingga dapat diketahui bahwa tanaman sampel benar-benar *Annona murricata* L. (Sirsak).

2. Pengumpulan bahan

Biji sirsak yang digunakan dalam penelitian ini diambil dari daerah Jumapolo, Karanganyar. Setelah dicuci dan dibersihkan, biji sirsak tersebut dikeringkan dibawah sinar matahari dengan ditutupi kain hitam hingga kering kemudian diserbuk dengan menggunakan blender dan alat tumbuk tradisional (lumpang dan alu).

3. Preparasi fraksi semi polar

Serbuk kering biji sirsak ditimbang sebanyak 100 g, kemudian ditempatkan dalam bejana gelas untuk dimaserasi. Serbuk direndam dalam etanol 96% sebanyak 1000 mL selama 1 hari sambil sering digojog. kemudian hasil maserasi disaring dengan kain flannel bersih sehingga didapatkan filtrat etanol dan ampas. Ampas diremaserasi 3 kali. Filtrat etanol yang didapat dipekatkan dengan menggunakan penangas air sehingga diperoleh ekstrak kental biji sirsak. Hasil ekstrak sebesar 122,309 gram difraksinasi menggunakan kromatografi cair vakum, dengan fase diam silika gel GF₂₅₄ dan fase gerak campuran n-heksan dengan etil asetat secara gradien. Kemudian dikelompokkan sesuai tingkat kepolaran yang memiliki kemiripan profil kromatografinya.

4. Uji sitotoksik

a. Sterilisasi LAF

Sterilisasi LAF dilakukan dengan menyalakan lampu ultraviolet 15 menit sebelum digunakan kemudian pintu LAF ditutup. Selanjutnya, lampu UV dimatikan, dibuka pintu LAF, dihidupkan lampu LAF dan permukaan LAF disemprot dengan etanol 70% dan siap digunakan.

b. Sterilisasi alat

Alat-alat gelas yang akan digunakan dalam penelitian ini harus dalam keadaan steril dan dicuci dengan deterjen atau antiseptik, lalu dibilas dengan air yang bersih dan direndam dalam akuades 1 jam kemudian dikeringkan dalam oven selama 24 jam. Setelah kering, alat-alat tersebut dibungkus dengan kertas payung dan dimasukkan kedalam autoklaf selama 20 menit pada suhu 121⁰C.

c. Preparasi sel

Sel yang inaktif diambil dari tangki nitrogen cair dan segera dicairkan pada suhu 37⁰C kemudian disemprot etanol 70 %. Ampul dibuka dan sel dipindahkan ke dalam tabung *conical* steril yang berisi RPMI 1640 sebanyak 10 mL. Suspensi ini disentrifuge dengan kecepatan 3000 rpm selama 5 menit, kemudian bagian supernatan dibuang. Pellet ditambah 5 mL media penumbuh RPMI 1640 dengan FBS 10 %. Selanjutnya sel ditumbuhkan dalam beberapa *tissue culture flask* kecil (2-3 buah). Sel inkubasi dalam inkubator beraliran CO₂ 5% pada suhu 37⁰C. Setelah 24 jam, medium diganti dan sel ditumbuhkan lagi hingga jumlahnya cukup untuk penelitian.

d. Panen sel

Setelah jumlah sel cukup, medium diganti dengan medium baru dengan cara disemprotkan dengan pipet pasteur. Selanjutnya sel dipindahkan dalam tabung *conical* steril dan ditambah FBS 10 mL. Kemudian diambil 100 µL sel dan dihitung jumlah selnya menggunakan *haemocytometer*. Suspensi sel ditambah sejumlah medium kultur sehingga diperoleh konsentrasi sel sebesar yang diperlukan (2×10^4 sel per 100 µL) dan siap digunakan untuk uji sitotoksik.

e. Pembuatan larutan uji

Larutan stok sampel dibuat dengan cara melarutkan 10 mg ekstrak cair ke dalam 100 mL DMSO 0,25 % sehingga diperoleh konsentrasi 500 µg/mL. Dari stok yang telah dibuat digunakan untuk membuat seri konsentrasi kadar. Seri konsentrasi kemudian di pindah ke dalam *microplate* 96 dan diuji pada sel. Semua proses ini dilakukan di dalam *Laminar Air Flow cabinet*.

f. Uji sitotoksik

Sebanyak 100 μ L larutan uji disuspensikan dengan 100 μ L sel dalam medium RPMI 1640 (kepadatan 2×10^4 sel/sumuran) dan dimasukkan kedalam *plate* 96. Kemudian sel di inkubasi selama 24 jam dalam inkubator CO₂ 5 %. Sampel dimasukkan dalam *plate* dengan variasi kadar 300; 150; 75; 37,5; 18,75; dan 9,375 μ g/mL. Selanjutnya *plate* diinkubasi dalam inkubator CO₂ 5 % selama 24 jam. Sel yang hidup akan bereaksi dengan MTT membentuk warna ungu (formazan). Lalu dibuang media sel, tambahkan 110 μ L reagen MTT ke setiap sumuran, termasuk kontrol media (tanpa sel). Setelah diinkubasi berjalan 4 jam, ditambahkan 100 μ L SDS (*Sodium Dicyl Sulfate*) 10 % untuk menghentikan reaksi antara sel hidup. Pada akhir inkubasi serapan dibaca dengan ELISA reader pada panjang gelombang 550 nm.

5. Uji Kromatografi Lapis Tipis

- a. Penyiapan larutan uji KLT : ekstrak biji sirsak (*Annona Muricata. L*) dilarutkan dalam etanol 96%.
- b. KLT : Larutan uji ditotolkan pada fase diam sebanyak 3 kali totalan, setiap totalan dibiarkan sampai kering, kemudian dielusi dengan beberapa fase gerak, fase gerak sebelumnya dilakukan orientasi terlebih dahulu (dengan perbandingan yang berbeda). Penentuan fase gerak dilakukan dengan mencoba-coba, dimulai dari perbandingan 1:1 dari fase gerak yang akan kita gunakan, sampai mendapatkan perbandingan yang menghasilkan elusi paling baik.
- c. Analisis KLT. Plat hasil KLT diamati pada UV₂₅₄ nm dan UV₃₆₆ nm. Bercak dideteksi dengan uap amonia serta beberapa pereaksi semprot antara lain sitroborat, *Dragendorff* dan FeCl₃.

6. Analisis data uji sitotoksik

Data yang didapat dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\% \text{ sel hidup} = \frac{\text{Abs perlakuan} - \text{Abs kontrol media}}{\text{Abs kontrol sel} - \text{Abs kontrol media}} \times 100\%$$

Kemudian dilanjutkan analisis untuk menentukan regresi linier antara log konsentrasi sediaan uji *versus* persen sel hidup, hingga didapatkan persamaa.:

$$Y = bx + a.$$

Ket: $x = \log$ konsentrasi sediaan (μ g/ml)

$$50 = bx + a$$

$$y = \% \text{ sel hidup.}$$

$$IC_{50} = \text{anti log } x$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Determinasi

Determinasi tanaman harus dilakukan untuk mencegah adanya kesalahan dalam pengambilan tanaman. Hasil determinasi menyatakan bahwa tanaman yang diidentifikasi tersebut adalah tanaman sirsak (*Annona muricata* L.).

Hasil determinasi sebagai berikut :

1b, 2b, 3b, 4b, 12b, 13b, 14b, 17b, 18b, 19b, 20b, 21b, 22b, 23b, 24b, 25b, 26b, 27a, 28b, 29b, 30b, 31a, 32a, 33b, 35b, 36d, 37b, 38b, 39b, 41b, 42b, 44b, 45b, 46e, 50b, 51b, 53b, 54b, 56b, 57b, 58b, 59d, 72b, 73b, 74a, 75a, 76a, 77a, 78a, 79b, 80a, 81b, 86b, 87a, 88a, 89b, 91c, 95a, 96b, *Annonaceae*

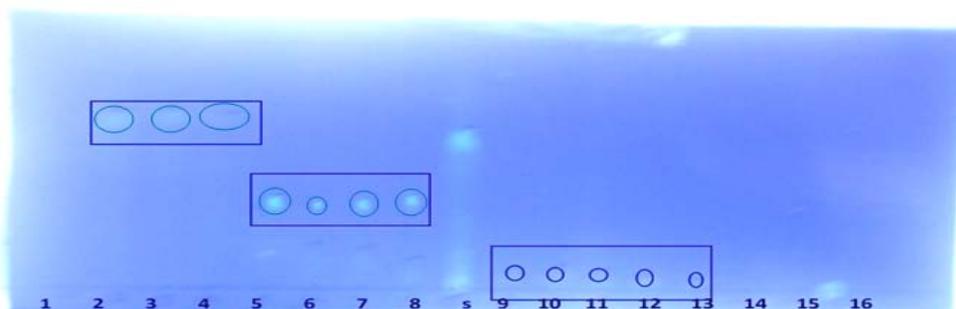
1b, 10b, 13b, 17a *Annona*

1b, 2a *Annona muricata* L.

Dari hasil determinasi tersebut maka diperoleh bahwa tanaman tersebut adalah tanaman sirsak (*Annona muricata* L.).

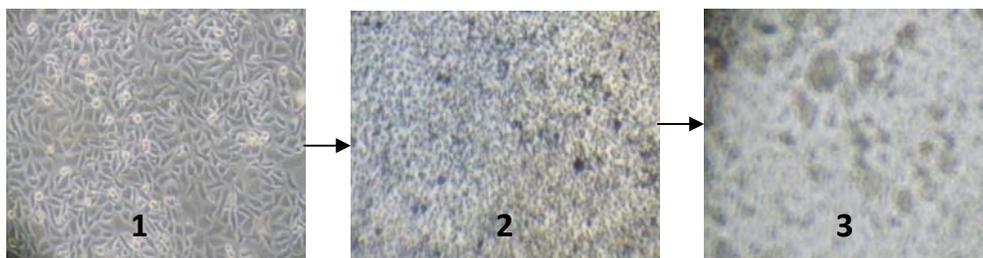
B. Ekstraksi dan Fraksinasi Ekstrak Etanol Biji Sirsak

Ekstrak dibuat dengan cara menyari 2,5 kg serbuk biji sirsak ke dalam 18 L etanol 96% sebagai cairan penyarinya (perbandingan simplisia:solven=1:7,5). Hasil ekstraksi didapatkan ekstrak kental biji sirsak 122,309 gram dengan rendemen sebesar 4,89%. Fraksinasi dilakukan dengan metode Kolom Cair Vakum (KCV). Ekstrak yang telah diimpregnasi dialiri dengan fage gerak (n-heksan:etil asetat) dengan gradien kepolaran yang bertingkat yaitu (6:4), (5:5), (4:6), (7:3) v/v. Hasil fraksinasi fraksi polar sebesar 3,309 g dengan rendemen sebesar 0,0013%.



Gambar 1. Kromatografi Lapis Tipis hasil fraksinasi KCV.
Keterangan : (2-4) fraksi non polar, (5-8) fraksi semipolar, (9-13) fraksi

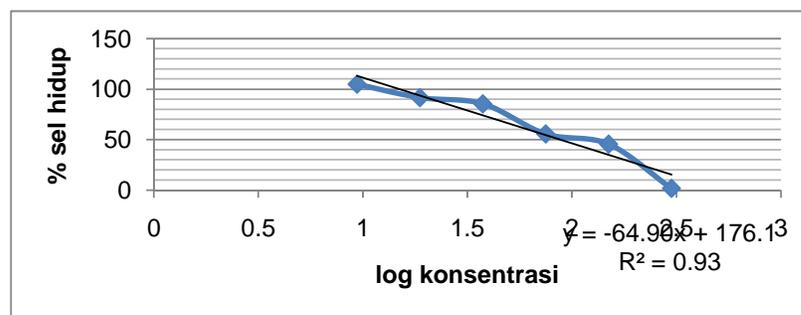
C. Aktivitas sitotoksik fraksi semi polar ekstrak etanol biji sirsak terhadap sel T47D



Gambar 2. Morfologi sel T47D dengan perlakuan metode MTT.
Keterangan : (1) Kontrol sel sebelum MTT, Sel mati (i), (2) Sel dengan penambahan ekstrak etanol biji sirsak sebelum MTT, (3) Kontrol sel setelah MTT

Tabel 2. Persentase sel hidup dari sel T47D akibat perlakuan fraksi semi polar ekstrak etanol biji sirsak (*Annona muricata* L.)

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	log	% Sel Hidup
300.00	2.477	1.77
150.00	2.176	45.57
75.00	1.875	55.68
37.50	1.574	85.50
18.75	1.273	91.65
9.38	0.972	104.92



Gambar 3. Grafik hubungan antara log konsentrasi fraksi semi polar ekstrak etanol biji sirsak Vs presentase sel hidup pada sel T47D

Hasil pengamatan morfologi sel menunjukkan perlakuan ekstrak konsentrasi 300 $\mu\text{g/mL}$ dapat menyebabkan kematian sel (Tabel 2). Penelitian menunjukkan bahwa fraksi semi polar ekstrak etanol 96 % memiliki aktivitas penghambatan sel dengan IC_{50} sebesar 87,711 $\mu\text{g/mL}$. Fraksi semi polar ekstrak etanol biji sirsak mempunyai potensi terhadap sel T47D. Hal ini telah dijelaskan oleh Rajabalian (2007) bahwa ekstrak suatu simplisia dikatakan aktif atau mempunyai potensi terhadap sel T47D mempunyai $\text{IC}_{50} < 100 \mu\text{g/mL}$. Nilai IC_{50} dari ekstrak etanol

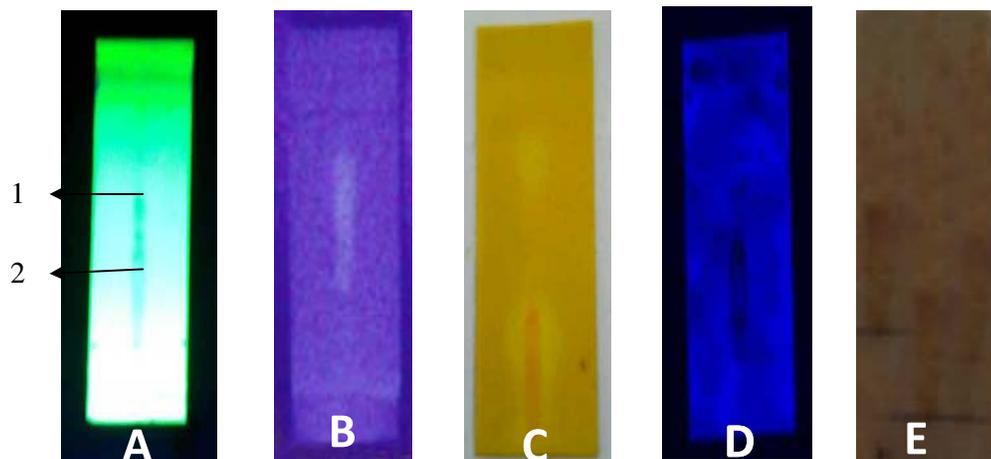
sebesar 41,087 $\mu\text{g/mL}$ (Nurafiah, 2012); fraksi polar sebesar 48,792 $\mu\text{g/mL}$ (Husni, 2012); serta fraksi non polar sebesar 32,103 $\mu\text{g/mL}$ (Pranowo, 2012). Fraksi semi polar memiliki potensi aktivitas lebih rendah dibanding fraksi polar, non polar dan ekstrak. Hal ini disebabkan kemungkinan karena kadar alkaloid, dan flavonoid lebih rendah pada fraksi semi polar sehingga lebih kecil dalam menghambat proliferasi sel kanker dibanding fraksi polar, fraksi non polar dan ekstrak.

D. Analisis Kualitatif Kandungan Kimia

Hasil orientasi fase gerak menunjukkan bahwa campuran n-Heksan : etil asetat (4:6) dapat memisahkan senyawa dengan baik. Fase yang digunakan dalam metode ini adalah fase normal, yaitu fase diam lebih polar dibandingkan dengan fase geraknya.

Tabel 3. Hasil deteksi bercak fraksi semi polar ekstrak etanol biji sirsak

Bercak	Rf	Deteksi		Deteksi alkaloid	Deteksi flavonoid	Deteksi polifenol
		UV ₂₅₄	UV ₃₆₆			
1	0,5	Pemadaman (+)	Biru (+)	Coklat (+)	Biru (+)	kuning (-)
2	0,3	Pemadaman (+)	Biru (+)	Coklat (-)	Biru (+)	kuning (-)



Gambar 4. Hasil KLT fraksi semi polar ekstrak Etanol biji sirsak dengan fase gerak heksan : etil asetat (6:4) dengan fase diam Silika gel GF₂₅₄

Keterangan:

A : deteksi UV 254nm

B : deteksi UV 366nm

C : deteksi pereaksi semprot FeCl_3 secara visual

D : deteksi pereaksi semprot sitroborat dengan UV 366nm

E : deteksi pereaksi semprot Dragendorff dengan visual

Dragendorff merupakan pereaksi spesifik untuk senyawa alkaloid. Senyawa alkaloid akan memberikan bercak berwarna coklat serta orange kecoklatan pada sinar tampak (Wagner, 1984). Hasil deteksi menunjukkan adanya bercak berwarna kuning hingga coklat memanjang sekitar Rf 0,5 yang menunjukkan adanya senyawa alkaloid (Gambar 4).

Fraksi semi polar ekstrak etanol biji sirsak mengandung alkaloid. Senyawa tersebut yang menyebabkan fraksi semi polar ekstrak etanol biji sirsak mempunyai efek sitotoksik karena senyawa tersebut dapat menghambat sitotoksik dari sel tumor. Alkaloid lirioidin yang merupakan senyawa dari golongan benzil-tetrahydro-isoquinolin. Lirioidin merupakan alkaloid mayor yang ditemukan pada ekstrak HCl daun dan biji *Annona* yang kemudian dipurifikasi dengan CHCl_3 (Lebrini, 2010).

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan analisis data yang dilakukan maka dapat diambil kesimpulan :

1. Fraksi semi polar ekstrak biji sirsak (*Annona muricata* L.) mempunyai aktivitas sitotoksik terhadap sel T47D dengan nilai IC_{50} sebesar 87,711 $\mu\text{g/mL}$.
2. Berdasarkan skrining fitokimia yang dilakukan, dalam fraksi semi polar ekstrak etanol biji sirsak kurang menunjukkan senyawa alkaloid.

B. Saran

Berdasarkan kesimpulan di atas maka disarankan sebagai berikut

1. Perlu dilakukan identifikasi senyawa aktif pada fraksi semi polar ekstrak etanol biji sirsak (*Annona muricata* L.) untuk dapat mengetahui identitas dari senyawa aktif yang mempunyai aktivitas sitotoksik terhadap sel T47D.
2. Perlu dilakukan penelitian lanjutan tentang kadar senyawa yang terkandung dalam fraksi semi polar ekstrak etanol biji sirsak.

DAFTAR ACUAN

- Ansel, H.C., 1989, *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*, diterjemahkan oleh Ibrahim, F., Edisi IV, 616-617, Universitas Indonesia Press, Jakarta.
- Dalimartha, S., 2004, *Ramuan Tradisional untuk Pengobatan Kanker 1*, Penebar Swadaya, Jakarta.
- Freshney, 1987, *Animal cell Culture, A practical approach ed. 1st*, IRL Press, Washington DC.
- Husni, A.Y., 2012, Uji Sitotoksik Ekstrak Etanol Biji Sirsak (*Annona muricata* L.) Terhadap Sel T47D dan Profil Kromatografinya, *Skripsi*, Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Lebrini, M., Robert, F. dan Roos, C., 2010, Inhibition Effect of Alkaloids Extract from *Annona squamosa* Plant on the Corrosion of C28 Steel in Normal Hydrochlorid Acid Medium, *International Journal of Electrochemical Science*, 5, 1698-1712.
- Mangan, Y., 2003, *Cara Bijak Menaklukkan Kanker*, Agromedia Pustaka, Jakarta.
- Martini, Sutiningsih, D., & Hestningsih, R., 2005, Uji Sitotoksitas Ekstrak Etanol *Momordica charantia* L, *Phyllanthus niruri* L., dan *Andrographis paniculata* Ness Terhadap Sel HeLa, Mieloma, dan Sel B 958 Secara In vitro, *Laporan Kegiatan*, Fakultas Kesehatan Masyarakat UNDIP, Semarang.
- Nurafiah, M., 2012, Uji Sitotoksik Ekstrak Etanol Biji Sirsak (*Annona muricata* L.) Terhadap Sel T47D dan Profil Kromatografinya, *Skripsi*, Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Pardhasaradhi, Madhurima, R., Ali, M., Leela, K., & Ashok, K., 2004, Antitumor activity of *Annona muricata* seed extracts is through the generation of free radicals and induction of apoptosis, *Indian Journal of Biochemistry and Biophysics*, 41, 167-172.
- Pardhasaradhi, Madhurima, R., Ali, M., Leela, K., & Ashok, K., 2005, Differential cytotoxic effects of *Annona muricata* seed extracts on human tumor cell lines: Role of reactive oxygen species and glutathione, *J Biosci*, 30, 237-244.

- Pranowo, B.E., 2012, Uji Sitotoksik Fraksi Non Polar Ekstrak Etanol Biji Sirsak (*Annona muricata* L.) Terhadap Sel T47D dan Profil Kromatografinya, *Skripsi*, Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Rajabalian, S., Foroumadi, A., Shafiee, A., & Emami, S., 2007, Functionalized N-(2-oxyminoethyl) Piperazinyl Quinolones as New Cytotoxic Agents, *J Pharm Pharmaceut Sci*, 10 (2), 153-158.
- Taylor, L., 2002, *Herbal Secrets of the Rainforest*, 2nd edition, Sage Press, 2-4.
- Wagner, H., Bladt, S., & Zgainski, E. M., 1984, *Plant Drug Analysis: A Thin Layer Chromatography Atlas*, diterjemahkan oleh Th. A. Scott, Springer-Verlag, Berlin.
- Yang H. J., Li X., Zhang N., Chen J. W., & Wang M. Y., 2009, Two new cytotoxic acetogenins from *Annona squamosa*., *J Asian Nat Prod*, 11(3), 250-256.