

**LAPORAN PENELITIAN
DOSEN MUDA**



**PENGEMBANGAN RIBOSOM INACTIVATING PROTEINS :
Aktivitas Fraksi Protein Biji Jarak Pagar (*Jatropha curcas L*)
Terhadap Pemotongan DNA Supercoil dan
Efek Sitotoksiknya pada Sel Myeloma**

Oleh :
**Peni Indrayudha, S.F., Apt
Maryati, M.Si, Apt**

Dibiayai oleh
Direktorat Penelitian dan Pengabdian Masyarakat
Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi
Departemen Pendidikan Nasional RI

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA
OKTOBER 2008**

HALAMAN PENGESAHAN
LAPORAN HASIL PENELITIAN DOSEN MUDA

1.	Judul Penelitian	:	Pengembangan Ribosom Inactivating Protein : Aktivitas Fraksi Protein Biji Jatapra curcas L Terhadap Pemotongan DNA Supercoil dan Efek Sitosoksiknya pada Sel Myeloma
2.	Bidang Ilmu	:	Farmasi/Kesehatan
3.	Ketua Peneliti	:	
a.	Nama	:	Peni Indrayudha, SF, Apt
b.	Jenis kelamin	:	Pria
c.	NIP	:	132313376
d.	Pangkat/ Golongan	:	Penata Muda / III A
e.	Jabatan Fungsional	:	Lektor
f.	Fakultas	:	Farmasi
4.	Jumlah Tim Peneliti	:	2 orang
5.	Lokasi penelitian	:	Laboratorium Biologi Molekuler Fakultas Farmasi UMS
6.	Lama penelitian	:	8 bulan
7.	Biaya	:	Rp 10.000.000,00

Surakarta, 25 September 2008

Mengetahui,
Dekan Fakultas Farmasi

Ketua Peneliti

Dra Nurul Mutmainah, M.Si, Apt
NIK. 831

Peni Indrayudha, S.F., Apt
NIP. 132313376

Menyetujui
Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat



RINGKASAN

Tanaman yang mengandung RIPs (*Ribosome Inactivating Proteins*) dapat dikembangkan menjadi antikanker. Ekstrak gubal biji *Jatropa curcas* diketahui mempunyai aktivitas memotong DNA superkoil untai ganda yang merupakan parameter awal keberadaan RIPs pada kadar 9,67 µg/µl. Fraksinasi ekstrak gubal dimaksudkan untuk memperoleh protein yang lebih murni. Penelitian ini dilakukan untuk membuktikan aktivitas pemotongan DNA dan aktivitas sitotoksik fraksi protein biji *Jatropa curcas* terhadap sel Myeloma terkait aktivitas RIPs yang toksik terhadap sel kanker.

Uji aktivitas sitotoksik terhadap sel Myeloma dengan menggunakan fraksi protein diawali dengan preparasi ekstrak gubal biji *Jatropa curcas*, selanjutnya dilakukan fraksinasi bertingkat dengan ammonium sulfat. Hasil fraksinasi diujikan pada pemotongan DNA pUC 19 dengan elektroforeses. Uji sitotoksik terhadap sel Myeloma dilakukan dengan metode MTT Assay. Analisis akhir dilakukan dengan perhitungan nilai IC₅₀.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa semua fraksi protein biji mampu memotong DNA. Aktivitas tertinggi ditunjukkan oleh fraksi protein biji *Jatropa curcas* FP 60 dengan kadar 13,71 µg/µl. Fraksi protein FP 60 juga terbukti lebih toksik terhadap sel Myeloma dibandingkan dengan fraksi protein yang lain dengan nilai IC₅₀ sebesar 11,99 µg/ml.

Kata kunci : RIPs, *Jatropa curcas*, Fraksi Protein, Sel Myeloma.

SUMMARY

One of the examinations to know potency a crop can developed become anticancer is given the existence of Ribosome Inactivating Proteins (RIPs). A method to identify existence of RIP is cleavage of DNA. Seed crude extract of Jatropa curcas has activity cleavage DNA at 9, 67 µg/µl. In this research, seed extract purified to get protein fraction and then tested by cleavage DNA method and its citotoxicity effect. The aim of this research wants to know protein fraction activity of seed Jatropa curcas to cleavage DNA and its citotoxicity effect to Myeloma cell.

Seed extract purified by Ammonium Sulphate to get Fraction-10, Fraction-20, Fraction-40, Fraction-60, Fraction-80 and Fraction-100 saturation. All of protein fraction added by DNA pUC 19. Then, DNA and protein fraction was electrophoresis. Obtained data from result of activity test cleavage of DNA analyzed qualitative by perceiving 3 criterions, that is: DNA super coil attenuating, thick of nick circular DNA and forming of linear DNA. Citotoxicity test was done with MTT assay to Myeloma cell and obtained with IC₅₀ value.

Protein fractions Jatrop curcas from seed can cleavage DNA. Result of research indicates that Protein Fraction-60 from seed at 13, 71 µg/µl have activity to cleavage DNA be nick circular and linier. Protein fraction of seed was proven toxic to Myeloma cell with highest value of LC₅₀ was 11,99 µg/ml.

Keywords: *cleavage DNA, Protein Fraction, Jatropa curcas, citotoxicity, Myeloma cell*

KATA PENGANTAR

Alhamdulillahi Rabbil'aalamin, puji syukur ke hadirat Allah SWT atas segala limpahan rahmat, hidayah, karunia dan nikmat yang diberikan-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dengan judul **PENGEMBANGAN RIBOSOM INACTIVATING PROTEINS : Aktivitas Fraksi Protein Biji *Jatropha curcas* Terhadap Pemotongan DNA Superkoil dan Efek Sitotoksiknya pada Sel Myeloma.**

Selesainya penelitian ini tentunya tidak terlepas dari bantuan banyak pihak, maka pada kesempatan ini dengan segala ketulusan dan kerendahan hati, penulis ingin menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada berbagai pihak.

Pertama kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi yang telah membiayai penelitian ini dengan Program Penelitian Dosen Muda. Kepada Ibu Ibu Dra Nurul Mutmainah, MSi, Apt selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.

Terima kasih juga penulis sampaikan kepada Ibu Maryati, M.Si, Apt, selaku mitra peneliti yang telah bekerja sama dalam penelitian ini. Terima kasih banyak, semoga terkabul semua doa-doanya!

Kepada Bapak-Ibu Dosen Fakultas Farmasi UMS atas dukungannya, khususnya kepada Bapak-Ibu di Bagian Biologi Farmasi lantai 3 tercinta. Kepada para laboran: Mbak Nur Qomariah dan Mas Awang yang telah banyak membantu hingga penelitian ini dapat terselesaikan. Terima kasih atas lemburnya dan terus semangat.

Terima kasih banyak kepada Puji Lestari, Anggraini Puspitasari dan Siti Muslimah yang telah membantu penelitian ini. Semoga menjadi farmasis yang profesional dan Islami.

Terakhir, namun yang paling berharga terima kasih untuk Tri Yulianti, M.Si, SF, Apt, atas pengertian dan kesabarannya, juga buat dua buah hatiku: Putri Amelia Yumna dan Putri Amalina Azzahra, untuk segala keceriaan yang selalu

dihadirkannya. Cepat besar sayang dan semoga menjadi orang yang selalu dapat membanggakan orang tua!. Serta kepada semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu, yang telah banyak membantu hingga terselesaiannya penelitian ini.

Penulis menyadari bahwa penelitian ini tidak lepas dari kekurangan dan jauh dari sempurna. Untuk itu dengan segala kerendahan hati penulis mengharapkan kritik dan saran yang bermanfaat untuk keberlanjutan penelitian ini. Demikian semoga penelitian ini dapat bermanfaat bagi perkembangan dan kemajuan ilmu farmasi, khususnya bioteknologi.

Surakarta, Oktober 2008

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN PENGESAHAN.....	i
RINGKASAN.....	ii
SUMMARY.....	iii
KATA PENGANTAR.....	iv
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR GAMBAR.....	viii
DAFTAR TABEL.....	ix
DAFTAR LAMPIRAN.....	x
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
A. Tanaman Jarak Pagar (<i>Jatropha curcas</i>)	4
B. <i>Ribosom Inactivating Proteins</i> (RIPs).....	6
C. Plasmid	14
D. Kanker.....	17
E. <i>cell line</i> Myeloma.....	20
BAB III TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN	
A. Tujuan Penelitian.....	22
B. Manfaat Penelitian.....	22
BAB IV. METODE PENELITIAN	
A. Kategori Penelitian.....	23
B. Variabel Penelitian.....	23
C. Jalannya Penelitian.....	23
D. Teknik Analisis.....	30
BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN	
A. Determinasi Tanaman.....	32
B. Preparasi Sampel Fraksi Protein Biji <i>Jatropha curcas</i>	32
C. Preparasi DNA pUC 19.....	34

D. Uji Aktivitas Pemotongan DNA Superkoil.....	36
E. Uji Sitotoksik dengan MTT Assay	38
BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN	
A. Kesimpulan.....	41
B. Saran.....	41
DAFTAR PUSTAKA.....	42
LAMPIRAN.....	46

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Model konformasi DNA.....	15
Gambar 2. Elektromokrograf DNA.....	16
Gambar 3. Peta restrikasi plasmid pUC 19.....	16
Gambar 4. Jalannya Penelitian.....	30
Gambar 5. Hasil Transformasi DNA pUC 19 ke <i>E.coli</i> DH5α...	35
Gambar 6. Elektroforegram aktivitas fraksi protein biji <i>Jatropa curcas</i>	37
Gambar 7. Foto sel Myeloma dengan perlakuan fraksi protein biji <i>Jatropa curcas</i>	40

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. <i>Ribosome Inactivating Proteins</i> tipe 1	8
Tabel 2. <i>Ribosome Inactivating Proteins</i> tipe 2	8
Tabel 3. Hasil Perhitungan Kadar Fraksi Protein biji <i>Jatropa curcas</i>	34
Tabel 4. Harga purata presentase kematian sel Myeloma setelah pemberian fraksi protein biji <i>Jatropa curcas</i>	40

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Foto tanaman dan biji <i>Jatropha curcas</i>	46
Lampiran 2. Perhitungan kadar protein fraksi protein	47
Lampiran 3. Biodata peneliti	51