

**PENGARUH EKSTRAK ETANOL DAUN JAMBU BIJI (*Psidium guajava*
L.) TERHADAP EKSPRESI PROTEIN Bax PADA SEL KANKER
PAYUDARA MCF-7 OVEREKSPRESI HER-2**

SKRIPSI



Oleh :

Avilia Ayu Setyawati

155010009

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS WAHID HASYIM
SEMARANG
2019**

**PENGARUH EKSTRAK ETANOL DAUN JAMBU BIJI (*Psidium guajava*
L.) TERHADAP EKSPRESI PROTEIN Bax PADA SEL KANKER
PAYUDARA MCF-7 OVEREKSPRESI HER-2**

SKRIPSI

**Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat
dalam mencapai derajat Sarjana Farmasi
Program Studi Ilmu Farmasi pada Fakultas Farmasi
Universitas Wahid Hasyim Semarang**

Oleh :

Avilia Ayu Setyawati

155010009

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS WAHID HASYIM
SEMARANG**

2019

PENGESAHAN SKRIPSI

Berjudul

**PENGARUH EKSTRAK ETANOL DAUN JAMBU BIJI (*Psidium guajava*
L.) TERHADAP EKSPRESI PROTEIN Bax PADA SEL KANKER
PAYUDARA MCF-7 OVEREKSPRESI HER-2**

Oleh :

Avilia Ayu Setyawati

155010009

**Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim
Pada tanggal : 4 Maret 2019**

Pembimbing,



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

Mengetahui :
Fakultas Farmasi
Universitas Wahid Hasyim
Dekan,

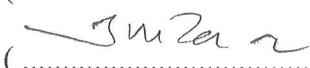


Aqnes Budiarti, M.Sc., Apt

Penguji :

1. Devi Nisa Hidayati, M.Sc., Apt
2. Anita Dwi Puspitasari, S.Si., M.Pd
3. Drs. H. Ibrahim Arifin, M.Sc., Apt


(.....)

(.....)

(.....)

SURAT PERNYATAAN

Yang bertandatangan di bawah ini :

Nama : Avilia Ayu Setyawati

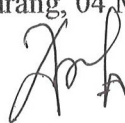
NIM : 155010009

Judul Skripsi : Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.)
Terhadap Ekspresi Protein Bax Pada Sel Kanker Payudara MCF-7
Overekspresi HER-2

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 surat ini saya buat untuk dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Semarang, 04 Maret 2019



(Avilia Ayu Setyawati)

MOTTO DAN PERSEMBAHAN

MOTTO

waktu bagaikan pedang.

Jika engkau tidak memanfaatkannya dengan baik, maka ia akan
memanfaatkannya

(Hadist Riwayat Muslim)

Sesungguhnya Allah tidak akan mengubah keadaan suatu kaum sehingga
mereka merubah keadaan yang ada pada diri mereka sendiri

(QS. Ar Ra'd : 11)

Dan bahwasanya seorang manusia tiada memperoleh selain apa yang telah
diusahakannya

(AN Najm : 39)

PERSEMBAHAN

Skripsi ini kupersembahkan untuk kedua orang tuaku tercinta yang selalu ikut
berjuang dan tak pernah berhenti mendoakanku, memberikan dukungan dan kasih
sayang.

Seluruh keluargaku yang turut mendoakanku

Para guru dosen yang telah mendidik dan membimbingku

Sahabat dan teman yang selalu memberiku semangat dan menemaniku berjuang

Almamaterku sebagai wujud terimakasih dan khidmadku.

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, segala puji syukur senantiasa penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT atas segala rahmat serta hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi yang berjudul “Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.) Terhadap Ekspresi Protein Bax Pada Sel Kanker Payudara MCF-7 Overekspresi HER-2”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat dalam memperoleh derajat Sarjana Farmasi di Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim Semarang.

Penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini, sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik. Rasa terima kasih juga penulis haturkan kepada :

1. Ibu Aqnes Budiarti, M.Sc., Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim Semarang.
2. Bapak Drs. H. Ibrahim Arifin, M.Sc., Apt. selaku dosen pembimbing yang telah bersedia meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran untuk memberikan bimbingan dan pengarahan dalam penyusunan skripsi ini.
3. Ibu Devi Nisa Hidayati, M.Sc., Apt. dan Ibu Anita Dwi Puspitasari, M.Pd. selaku dosen penguji, atas koreksi, saran dan masukan terhadap skripsi ini.
4. Seluruh dosen Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim Semarang yang telah memberikan bekal ilmu pengetahuan sebagai dasar penulisan skripsi ini.

5. Kepala dan staf Laboratorium Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim Semarang atas waktu dan tenaga yang diberikan kepada penulis selama pelaksanaan penelitian ini.
6. Pimpinan dan staf Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada Yogyakarta yang telah mengizinkan dan membantu pelaksanaan penelitian ini.
7. Staf Laboratorium Ekologi dan Biosistemika Fakultas MIPA Universitas Diponegoro Semarang yang telah membantu pelaksanaan determinasi tanaman.
8. Kedua orang tuaku bapak Nikoyat dan Ibu Sri Rohwati yang saya cintai, serta adiku Muhammad Alfian Nur Huda dan Merliana Widya Utami yang saya sayangi
9. Seluruh keluargaku yang tak pernah berhenti menyemangati dan mendo'akanku.
10. Muhammad Lutfisa Kresno yang turut membantu, menasehati, dan memberikan semangat serta motivasi.
11. Bukhori, Nicky Intan Leria dan Gracia Forentina Arasti yang telah berjuang bersama dalam melakukan penelitian ini.
12. Rengganis seppatria, Sri Wahyuni, Eka Intan, Diah Pertami Setyorini, Bu Herlina, Diah Erna, Umi Farikhah yang telah banyak membantu, memberikan dorongan, semangat dan doa

13. Teman – teman Farmasi Angkatan 2015 terutama farmasi A yang tidak mungkin ditulis satu persatu, terimakasih telah menjadi keluarga, teman diskusi, dan teman berjuang selama ini

14. Semua pihak yang tidak mungkin disebutkan satu persatu yang telah memberikan kontribusinya dalam membantu pelaksanaan penelitian dan penyusunan skripsi ini.

Penulis menyadaribahwa banyak kekurangan dalam skripsi ini, untuk itu segala kritik dan saran yang membangun sangat penulis harapkan demi perbaikan di masa mendatang. Semoga penelitian ini dapat memberikan sumbangan yang berarti bagi ilmu pengetahuan pada umumnya dan dunia farmasi pada khususnya.

Semarang, 04 Maret 2019



Avilia Ayu Setyawati

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	iii
SURAT PERNYATAAN	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	v
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
DAFTAR SINGKATAN.....	xv
INTISARI.....	xvi
BAB I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Rumusan Masalah.....	3
C. Tujuan Penelitian.....	3
D. Manfaat Penelitian.....	3
E. Tinjauan Pustaka.....	4
1. Kanker Payudara	4
2. MCF-7 (<i>Michigan Cancer Foundation-7</i>)	6
3. HER-2 (<i>Human Epidermal Reseptor-2</i>).....	7
4. Apoptosis dan Bax	8
5. Ekstraksi.....	11
6. Uji Sitotoksik dengan MTT essay	11
7. Uji Imunositokimia	12
8. Daun Jambu Biji	13

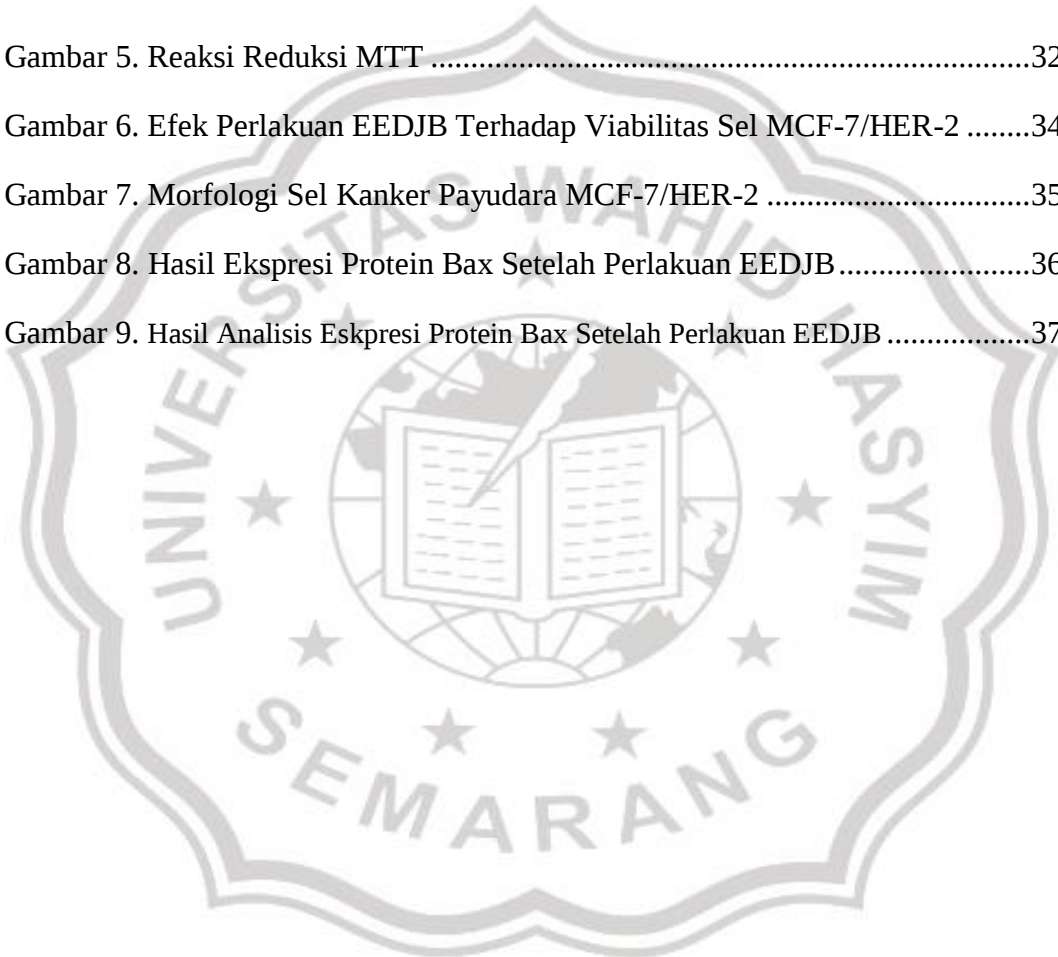
a. Deskripsi.....	13
b. Klasifikasi Tanaman.....	14
c. Kandungan Kimia dalam daun jambu biji.....	15
F. LandasanTeori	16
G. Hipotesis	16
BAB II. METODE PENELITIAN.....	17
A. Desain dan Metode Penelitian.....	17
B. Alat dan Bahan Penelitian.....	17
1. Alat yang digunakan dalam Ekstraksi.....	17
2. Alat Uji Sitotoksisitas dan Uji Imunositokimia	18
3. Bahan Penelitian	18
4. Bahan Kultur Sel dan Uji Sitotoksik	18
5. Bahan Uji Imunositokimia	19
C. Jalannya Penelitian.....	19
1. Pengumpulan Bahan Uji	19
2. Determinasi Tanaman	19
3. Pembuatan Senyawa Uji	20
4. Uji Aktivitas Sitotoksisitas.....	21
5. Uji Imunositokimia	24
D. Analisis Data	27
1. Uji Sitotoksisitas	27
2. Analisis Ekspresi Protein Bax dengan <i>Software ImageJ</i>	27
BAB III. HASIL DAN PEMBAHASAN	29
A. Determinasi Tanaman	29
B. Serbuk Daun Jambu Biji	29
C. Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji	30
D. Uji Aktivitas Sitotoksik Daun Jambu Biji	31
E. Uji Imunositokimia Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji	35

BAB IV. KESIMPULAN DAN SARAN.....	40
A. Kesimpulan	40
B. Saran.....	40
DAFTAR PUSTAKA.....	41
LAMPIRAN.....	46



DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Mekanisme Apoptosis Sel Kanker	9
Gambar 2. Gambar Daun Jambu Biji	14
Gambar 3. Struktur Kimia <i>Quercetin</i>	15
Gambar 4. Skema Jalan Penelitian.....	26
Gambar 5. Reaksi Reduksi MTT	32
Gambar 6. Efek Perlakuan EEDJB Terhadap Viabilitas Sel MCF-7/HER-2	34
Gambar 7. Morfologi Sel Kanker Payudara MCF-7/HER-2	35
Gambar 8. Hasil Ekspresi Protein Bax Setelah Perlakuan EEDJB.....	36
Gambar 9. Hasil Analisis Ekspresi Protein Bax Setelah Perlakuan EEDJB	37



DAFTAR TABEL

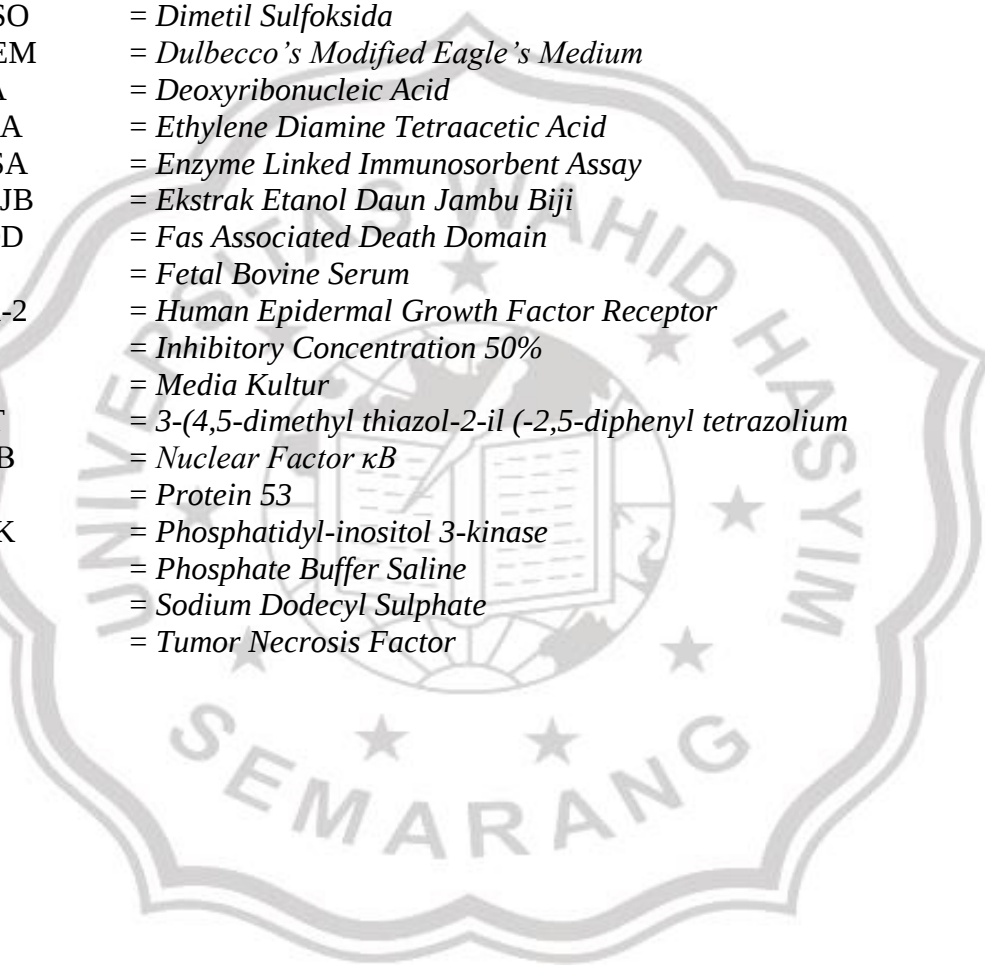
Tabel I. Hasil Uji Sitotoksik EEDJB pada MCF-7/HER-2.....	33
Tabel II. Hasil Uji Imunositokimia EEDJB pada MCF-7/HER-2 dengan <i>software ImageJ</i>	37



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Determinasi Tanaman Daun Jambu Biji	38
Lampiran 2. <i>Ethical clearence</i>	41
Lampiran 3. Sertifikat Kursus Kultur Sel di UGM	42
Lampiran 4. Surat Keterangan Telah Melaksanakan Penelitian di Laboratorium Parasitologi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta	43
Lampiran 5. Surat Keterangan telah Melaksanakan Penelitian di Laboratorium Biologi Farmasi Universitas Wahid Hasyim Semarang.....	44
Lampiran 6. Perhitungan Susut Pengeringan dan Perhitungan Rendemen Ekstrak	45
Lampiran 7. Perhitungan Sel dan Seri Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji	46
Lampiran 8. Penentuan Nilai IC ₅₀ EEDJB pada Sel Kanker Payudara MCF-7/ HER-2	50
Lampiran 9. Perhitungan Sel dan Perhitungan Konsetrasi Uji Imunositokimia ..	52
Lampiran 10. Pengolahan Data Hasil Uji Imunositokimia EEDJB	54
Lampiran 11. Dokumentasi Penelitian.....	57

DAFTAR SINGKATAN



Apaf-1	= <i>Apoptotic protease activating factor-1</i>
Bak	= <i>Bcl-2 antagonist/killer</i>
Bax	= <i>Bcl-2 Associated X protein</i>
Bcl-2	= <i>B cell lymphoma 2</i>
Bcl-XL	= <i>B cel lymphoma-extra large</i>
Caspase	= <i>Cysteine Aspartyl Specific Protease</i>
DAB	= <i>3,3- diaminobenzidin</i>
DMSO	= <i>Dimetil Sulfoksida</i>
DMEM	= <i>Dulbecco 's Modified Eagle 's Medium</i>
DNA	= <i>Deoxyribonucleic Acid</i>
EDTA	= <i>Ethylene Diamine Tetraacetic Acid</i>
ELISA	= <i>Enzyme Linked Immunosorbent Assay</i>
EEDJB	= <i>Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji</i>
FADD	= <i>Fas Associated Death Domain</i>
FBS	= <i>Fetal Bovine Serum</i>
HER-2	= <i>Human Epidermal Growth Factor Receptor</i>
IC ₅₀	= <i>Inhibitory Concentration 50%</i>
MK	= <i>Media Kultur</i>
MTT	= <i>3-(4,5-dimethyl thiazol-2-il (-2,5-diphenyl tetrazolium</i>
NFκB	= <i>Nuclear Factor κB</i>
p53	= <i>Protein 53</i>
PI-3K	= <i>Phosphatidyl-inositol 3-kinase</i>
PBS	= <i>Phosphate Buffer Saline</i>
SDS	= <i>Sodium Dodecyl Sulphate</i>
TNF	= <i>Tumor Necrosis Factor</i>

INTISARI

Kanker payudara dapat disebabkan karena adanya overekspresi HER2. Overekspresi HER-2 menyebabkan kenaikan ekspresi protein Bcl-2 yang menyebabkan pembelahan yang semakin tidak terkendali. Ketidakseimbangan pembelahan sel dan kematian sel dapat menyebabkan kanker. Protein yang membantu mengaktifkan kematian sel antara lain protein Bax. Kanker overekspresi HER-2 bersifat ganas dan mudah menyebar. *Quercetin* berpotensi memiliki aktivitas antikanker. Salah satu kandungan daun jambu biji adalah *quercetin*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah ekstrak etanol daun jambu biji memiliki aktivitas sitotoksik dan mempengaruhi ekspresi Bax pada sel kanker payudara MCF-7 overekspresi HER-2.

Serbuk daun jambu biji diekstraksi menggunakan pelarut etanol 70% menggunakan metode ultrasonik. Pengentalan ekstrak menggunakan *Rotary evaporator*. EEDJB diuji aktivitas sitotoksik menggunakan metode MTT dengan konsentrasi 1000 µg/mL; 500 µg/mL; 250 µg/mL; 125 µg/mL; 62,5 µg/mL; 31,25 µg/mL; dan 15,62 µg/mL yang dianalisis menggunakan analisa regresi linier. Kemudian dilakukan uji ekspresi protein Bax menggunakan metode imunositokimia dengan seri konsentrasi $\frac{1}{4}IC_{50}$, $\frac{1}{2}IC_{50}$, dan IC_{50} yang dianalisis menggunakan *software ImageJ*.

Didapatkan hasil analisis IC_{50} uji aktivitas sitotoksik EEDJB sebesar 446,223 µg/ml yang termasuk dalam kategori moderat toksisitas. Sedangkan hasil analisis uji imunositokimia pada seri konsentrasi $\frac{1}{4}IC_{50}$, $\frac{1}{2}IC_{50}$, IC_{50} berturut-turut sebesar 3,433% ± 0,420; 5,447 % ± 0,908 dan 9,557% ± 1,152. Hasil uji ekspresi protein Bax menunjukkan kenaikan ekspresi Bax pada kanker payudara MCF-7 overekspresi HER-2 sehingga EEDJB mampu meningkatkan induksi apoptosis.

Kata kunci: Daun Jambu Biji, Protein Bax, MCF-7/HER-2, Imunositokimia

ABSTRACT

Breast cancer can be caused due to HER2 overexpression. Overexpression of HER-2 causes an increase in expression of Bcl-2 protein which causes increasingly uncontrolled cleavage. The imbalance of cell division and cell death can cause cancer. Proteins that help activate cell death include Bax protein. HER-2 overexpression cancer is malignant and easily spreads. Quercetin has the potential to have anticancer activity. One of the contents of guava leaves is quercetin. This study aims to determine whether the ethanol extract of guava leaves has cytotoxic activity and affects the expression of Bax in MCF-7 overexpression HER-2 breast cancer cells.

Guava leaf powder was extracted using 70% ethanol using ultrasonic method. Extract was thickened using a Rotary evaporator. EEDJB was tested for cytotoxic activity using the MTT method with a concentration of 1000 $\mu\text{g/mL}$; 500 $\mu\text{g mL}$; 250 $\mu\text{g ml}$; 125 $\mu\text{g/mL}$; 62.5 $\mu\text{g/mL}$; 31.25 $\mu\text{g/mL}$; and 15.62 $\mu\text{g/ml}$ which were analyzed using linear regression analysis. Then Bax protein expression test was carried out using immunocytochemical methods with a concentration series of $\frac{1}{4}\text{IC}_{50}$, $\frac{1}{2}\text{IC}_{50}$, and IC_{50} which were analyzed using ImageJ software.

IC_{50} analysts obtained the test results of EEDJB cytotoxic activity of 446,223 $\mu\text{g/ml}$ which was included in the moderate category of toxicity. While the results of the immunocytochemical test analysis in the $\frac{1}{4}\text{IC}_{50}$, $\frac{1}{2}\text{IC}_{50}$, IC_{50} concentration series were $3.433\% \pm 0.420$ respectively; $5.447\% \pm 0.908$ and $9.557\% \pm 1.152$. The Bax protein expression test results show an increased in Bax expression in HER-2 MCF-7 breast cancer so that EEDJB was able to increased apoptosis.

Keywords: Guava Leaves, Bax Protein, MCF-7 / HER-2, Immunocytochemistry

