

**PENGARUH EKSTRAK DAUN MANGGA (*Mangifera indica* L.)
TEHADAP EFEK SITOTOKSIK DAN PENURUNAN EKSPRESI Bcl-2
PADA SEL MCF-7 DENGAN SOFTWARE *ImageJ***

SKRIPSI



Oleh :

Fitriasih

155010053

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS WAHID HASYIM
SEMARANG**

2019

**PENGARUH EKSTRAK DAUN MANGGA (*Mangifera indica* L.)
TEHADAP EFEK SITOTOKSIK DAN PENURUNAN EKSPRESI Bcl-2
PADA SEL MCF-7 DENGAN SOFTWARE *ImageJ***

SKRIPSI

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

Oleh :

Fitriasih

155010053

FAKULTAS FARMASI

UNIVERSITAS WAHID HASYIM

SEMARANG

2019

PENGESAHAN SKRIPSI

Berjudul

**PENGARUH EKSTRAK DAUN MANGGA (*Mangifera indica* L.)
TEHADAP EFEK SITOTOKSIK DAN PENURUNAN EKSPRESI Bcl-2
PADA SEL MCF-7 DENGAN *SOFTWARE ImageJ***

Oleh :

Fitriasih

155010053

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim
Pada tanggal : 8 Februari 2019

Mengetahui :
Fakultas Farmasi
Universitas Wahid Hasyim
Dekan,

Pembimbing,

(Devi Nisa Hidayati, M.Sc., Apt.)



(Agnes Budiarti, S.F., M.Sc., Apt.)

Penguji :

1. Drs. H. Ibrahim Arifin, M.Sc., Apt.
2. Dewi Andini K.M., M.Farm., Apt.
3. Devi Nisa Hidayati, M.Sc., Apt.

(.....)

(.....)

(.....)

SURAT PERNYATAAN

Yang bertandatangan di bawah ini :

Nama : Fitriasih

NIM : 155010053

Judul Skripsi : Pengaruh Ekstrak Daun Mangga (*Mangifera Indica* L.)
Tehadap Efek Sitotoksik Dan Penurunan Ekspresi Bcl-2
Pada Sel MCF-7 Dengan *Software ImageJ*.

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, Januari 2019



(Fitriasih)

MOTTO DAN PERSEMBAHAN

*“Maka sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan.
Sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan. Maka
apabila engkau telah selesai (dari sesuatu urusan), tetaplah
bekerja keras (untuk urusan yang lain). Dan hanya kepada
Tuhanmulah engkau berharap.”*

(QS. Al-Insyirah, 6-8)

Kupersembahkan karya ilmiah ini untuk :

*Kedua orangtuaku yang tak pernah berhenti mendo'akanku,
memberikan dukungan serta kasih sayang.*

*Seluruh keluargaku yang selalu memotivasi, menasihati,
dan mendo'akanku.*

Para guru dan dosen yang telah mendidik dan membimbingku.

*Sahabat dan teman-teman yang selalu memberiku semangat
dan menemaniku berjuang.*

Almamaterku sebagai wujud terima kasih dan khidmahku.

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, segala puji syukur senantiasa penulis panjatkan kehadiran Allah SWT atas segala rahmat serta hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi yang berjudul Pengaruh Ekstrak Daun Mangga (*Mangifera Indica* L.) Terhadap Efek Sitotoksik Dan Penurunan Ekspresi Bcl-2 Pada Sel MCF-7 Dengan *Software ImageJ*. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat dalam memperoleh derajat Sarjana Farmasi di Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim Semarang.

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

1. Kementrian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi Republik Indonesia atas dana hibah melalui Program Kreativitas Mahasiswa pendanaan tahun 2018 yang mendanai penelitian ini.
2. Ibu Aqnes Budiarti, S.F., M.Sc., Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim Semarang.
3. Ibu Devi Nisa Hidayati, M.Sc., Apt. selaku Dosen Pembimbing yang telah bersedia meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran untuk memberikan bimbingan dan pengarahan dalam penyusunan skripsi ini.

4. Bapak Drs. H. Ibrahim Arifin, M.Sc., Apt. dan Ibu Dewi Andini Kunti Mulangsri, M.Farm., Apt. selaku Dosen Penguji atas koreksi, saran dan masukan terhadap skripsi ini.
5. Seluruh Dosen Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim Semarang yang telah memberikan bekal ilmu pengetahuan sebagai dasar penulisan skripsi ini.
6. Pimpinan dan Staf Laboratorium Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim Semarang yang telah mengizinkan dan membantu pelaksanaan penelitian ini.
7. Pimpinan dan Staf Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada Yogyakarta yang telah mengizinkan dan membantu pelaksanaan penelitian ini.
8. Staf Laboratorium Ekologi dan Biosistemika Fakultas MIPA Universitas Diponegoro Semarang yang telah membantu pelaksanaan determinasi tanaman.
9. Kedua orang tuaku, adikku Raafika Sari dan Nirina Agiska Putri yang kusayangi.
10. Seluruh keluargaku yang tak pernah berhenti menyemangati dan mendo'akanku.
11. Nenni Pratiwi dan Siti Mega Komariyah yang telah berjuang bersama dalam melakukan penelitian ini.
12. Sekarsih Kiswasasi Satwika dan Diah Pertami Setyorini yang telah berbagi keceriaan, semangat, dan selalu menemaniku.

13. Sahabat dan teman-teman Farmasi A angkatan 2015 yang berbagi hari bersamaku.
14. Mahasiswa Farmasi Unwahas yang telah menjadi bagian yang melengkapi kehidupan.
15. Semua pihak yang tidak mungkin disebutkan satu persatu yang telah memberikan kontribusinya dalam membantu pelaksanaan penelitian dan penyusunan skripsi ini

Penulis menyadari bahwa 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, Januari 2019



(Fitriasih)

DAFTAR ISI

Halaman

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
SURAT PERNYATAAN	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
INTISARI	xv
ABSTRACT	xvi
BAB I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Perumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian	3
D. Manfaat Penelitian	3
E. Tinjauan Pustaka	4
1. Kanker Payudara	4
2. Sel MCF-7	5
3. Protein Bcl-2 (<i>B-Cell Lymphoma</i>)	6

a. Famili Bcl-2.....	6
b. Peran Bcl-2 dalam Proses Apoptosis	7
4. Ekstraksi.....	9
5. Uji Sitotoksik dengan MTT Assay	10
6. Uji Imunositokimia	11
7. Daun Mangga (<i>Mangifera indica</i> L.)	12
a. Deskripsi	12
b. Klasifikasi	13
c. Mangiferin.....	13
d. Khasiat	14
F. Landasan teori.....	13
G. Hipotesis	14
BAB II. METODE PENELITIAN.....	16
A. Desain dan Variabel Penelitian.....	16
B. Alat dan Bahan Penelitian.....	16
1. Bahan Penelitian.....	16
a. Bahan Ekstraksi.....	16
b. Bahan Kultur Sel dan Uji Sitotoksik.....	17
c. Bahan Uji Imunositokimia	17
2. Alat Penelitian	18
a. Alat Ekstraksi	18
b. Alat Uji Sitotoksik dan Uji Imunositokimia.....	18
C. Jalannya Penelitian.....	18

1. Pengumpulan Bahan Uji.....	18
2. Determinasi Tanaman	19
3. Pembuatan Senyawa Uji.....	19
a. Pembuatan Serbuk Daun Mangga	19
b. Pembuatan Ekstrak Metanol Daun Mangga	19
4. Uji Sitotoksik.....	20
a. Penyiapan Larutan Stok EMDM	20
b. Preparasi Sel MCF-7	20
c. Pemanenan Sel.....	21
d. Uji Sitotoksik dengan MTT Assay	22
5. Uji Imunositokimia	23
D. Analisis Data	26
1. Analisis Uji Sitotoksik	26
2. Analisis Uji Imunositokimia dengan <i>Software ImageJ</i>	26
BAB III. HASIL DAN PEMBAHAAN.....	28
A. Determinasi Tanaman	28
B. Pembuatan Ekstrak Metanol Daun Mangga (EMDM)	29
C. Uji Sitotoksik dengan MTT Assay	30
D. Uji Imunositokimia	34
BAB IV. KESIMPULAN DAN SARAN.....	39
A. Kesimpulan	39
B. Saran	39
DAFTAR PUSTAKA	40

LAMPIRAN.....	43
---------------	----



DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel I. Hasil uji sitotoksitas EMDM pada sel MCF7	32
--	----



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Morfologi Sel Kanker Payudara MCF7	6
Gambar 2. Golongan famili protein Bcl-2	7
Gambar 3. Proses apoptosis sel melalui jalur intrinsik dan ekstrinsik.....	7
Gambar 4. Tahap-tahap dalam metode imunositokimia	12
Gambar 5. Daun Mangga (<i>Mangifera Indica</i> L.).....	13
Gambar 6. Struktur Mangiferin.....	14
Gambar 7. Skema Kerja Penelitian.....	25
Gambar 8. Efek perlakuan EMDM terhadap viabilitas sel MCF-7	32
Gambar 9. Morfologi sel kanker payudara MCF-7 setelah perlakuan EMDM. ..	33
Gambar 10. Hasil ekspresi protein Bcl-2 setelah perlakuan EMDM.....	35
Gambar 11. Hasil analisis ekspresi protein Bcl-2 setelah perlakuan EMDM.....	35

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Hasil Determinasi Tanaman Mangga (<i>Mangifera indica</i> L.).	44
Lampiran 2. <i>Ethical Clearence</i>	48
Lampiran 3. Surat Keterangan telah Melaksanakan Penelitian di Laboratorium Biologi Farmasi Universitas Wahid Hasyim Semarang	49
Lampiran 4. Surat Keterangan telah Melaksanakan Penelitian di Laboratorium Parasitologi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta	50
Lampiran 5. Perhitungan Rendemen EMDM	51
Lampiran 6. Perhitungan Sel dan Seri Konsentrasi EMDM untuk Uji Sitotoksik MTT Assay	52
Lampiran 7. Pengolahan data uji sitotoksik MTT Assay EMDM	56
Lampiran 8. Perhitungan Sel dan Seri Konsentrasi EMDM untuk uji imunosito- kimia	58
Lampiran 9. Pengolahan data uji imunositoimia EMDM	60
Lampiran 10. Dokumentasi Penelitian	63

INTISARI

Ekstrak kernel biji *Mangifera indica* L. diteliti memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker MCF-7 dan MDA-MB-231. Senyawa polifenol mangiferin terdeteksi pada daun mangga. Mangiferin mampu memodulasi induksi apoptosis melalui pengaturan penurunan ekspresi Bcl-2 dan peningkatan ekspresi Bax pada sel kanker nasofaring CNE2. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah ekstrak metanol daun mangga memiliki efek sitotoksik terhadap sel kanker payudara MCF-7 serta dapat menurunkan ekspresi Bcl-2. Serbuk daun mangga di ekstraksi menggunakan metode soxhletasi dengan pelarut metanol. Uji sitotoksik dengan metode MTT Assay pada konsentrasi EMDM 1000 ; 500 ; 250 ; 125 ; 62,5 ; 31,25 ; 15,625 $\mu\text{g/ml}$, hasil dianalisis dengan metode regresi linier untuk memperoleh IC_{50} . Uji ekspresi protein Bcl-2 menggunakan metode imunositokimia dengan konsentrasi $\frac{1}{4}\text{IC}_{50}$, $\frac{1}{2}\text{IC}_{50}$, IC_{50} , hasil dianalisis menggunakan *software ImageJ*. Hasil uji sitotoksik diperoleh nilai IC_{50} sebesar 308,39 $\mu\text{g/mL}$. Hasil uji imunositokimia menunjukkan bahwa EMDM konsentrasi $\frac{1}{4}\text{IC}_{50}$; $\frac{1}{2}\text{IC}_{50}$; IC_{50} dapat menurunkan ekspresi protein Bcl-2 pada sel kanker payudara MCF-7 sebesar $6,029\% \pm 1,249$; $3,731\% \pm 0,816$ dan $1,811\% \pm 0,839$.

Kata kunci : *Mangifera indica* L., Sitotoksik, Bcl-2, MCF-7.

ABSTRACT

Kernel extract of *Mangifera indica* L. has been investigated have cytotoxic activity against MCF-7 and MDA-MB-231 cancer cells. Polyphenols mangiferin detected in mango leaves. Mangiferin induces apoptosis by down regulated level protein Bcl-2 and up regulated level protein Bax in CNE2 nasopharyngeal cancer cells. Current research was conducted to determine the cytotoxic effect of methanol extract of mango leaves (MEML) and decreasing Bcl-2 expression on MCF-7 breast cancer cells. Mango leaves powder was extracted using the soxhlet method with methanol solvent. Cytotoxic test of MEML was performed using MTT assay with various concentrations 1000; 500; 250; 125; 62.5; 31.25; 15,625 $\mu\text{g/ml}$, the results were analyzed by linear regression to obtain IC_{50} . Bcl-2 protein expression test by immunocytochemical staining with various concentrations $\frac{1}{4}\text{IC}_{50}$, $\frac{1}{2}\text{IC}_{50}$ and IC_{50} , the test results were analyzed with ImageJ software. The results showed that IC_{50} of cytotoxic activity was 308.12 $\mu\text{g/mL}$. The immunocytochemical staining result showed that MEML concentrations $\frac{1}{4}\text{IC}_{50}$; $\frac{1}{2}\text{IC}_{50}$; and IC_{50} could decreasing Bcl-2 expression in MCF-7 breast cancer cells with is $6,029\% \pm 1,249$; $3,731\% \pm 0,816$ and $1,811\% \pm 0,839$.

Keywords : *Mangifera indica* L., Cytotoxic, Bcl-2, MCF-7