

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

SKRIPSI



Diajukan oleh :

Nicky Intan Leria

155010013

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS WAHID HASYIM**

SEMARANG

2019

**PENGARUH EKSTRAK ETANOL DAUN JAMBU BIJI (*Psidium guajava*
L.) TERHADAP EKSPRESI PROTEIN Bcl-2 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 Fakultas Farmasi

Universitas Wahid Hasyim

Semarang

Oleh:

Nicky Intan Leria

155010013

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS WAHID HASYIM**

SEMARANG

2019

PENGESAHAN SKRIPSI

Berjudul

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

Oleh :

Nicky Intan Leria

155010013

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi

Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim

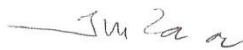
Pada tanggal : 04 Maret 2019

Mengetahui :

Fakultas Farmasi

Universitas Wahid Hasyim Semarang

Pembimbing Utama



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


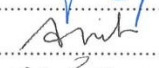
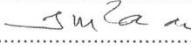
Dekan



Agnes Budiarti, M.Sc., Apt

Penguji :

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


(.....)

(.....)

(.....)

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini saya:

Nama : Nicky Intan Leria

NIM : 155010013

Judul Skripsi : Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.) terhadap Ekspresi Protein Bcl-2 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. 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 pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya dan dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Semarang, 04 Maret 2019



(Nicky Intan Leria)

MOTTO DAN PERSEMBAHAN

‘La Tahla (Hei, Jangan Mengeluh!) Allah tidak membebani seseorang itu melainkan sesuai dengan kesanggupannya”

(QS. Al Baqarah (2):86)

“Waktu bagaikan pedang. Jika engkau tidak memanfaatkannya dengan baik (untuk memotong), maka ia akan memanfaatkanmu (dipotong)”

(HR. Muslim)

“Boleh jadi kamu membenci sesuatu, padahal ia amat baik bagimu, dan boleh jadi (pula) kamu menyukai sesuatu, padahal ia amat buruk bagimu; Allah mengetahui, sedang kamu tidak mengetahui”

(QS. Al Baqarah 216)

Alhamdulillahirrabbi’alamin

Ku persembahkan karyaku ini kepadamu:

Ayahanda tercinta, Ibunda terkasih, dan Adekku tersayang

Terima kasih atas segala kasih sayang, perhatian, kesabaran, dukungan, dan doa tak pernah henti dan selalu mengiringi setiap langkahku.

Saudara, keluarga, dan sahabat yang selalu di hati

Para guru dan dosen yang telah mendidik dan membimbingku

Almamaterku sebagai wujud terima kasihku

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, segala puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, nikmat, karunia, serta kasih sayang-Nya, sehingga skripsi yang berjudul “Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.) Terhadap Ekspresi Protein Bcl-2 pada Sel Kanker Payudara MCF-7 overekspresi HER-2” dapat penulis selesaikan dengan baik.

Skripsi ini penulis susun sebagai salah satu syarat untuk mendapatkan derajat gelar sarjana farmasi di Universitas Wahid Hasyim Semarang. Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan dan kerjasama dari berbagai pihak. Oleh karena itu, dengan segenap kerendahan hati pada kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada :

1. Ibu Aqnes Budiarti, S.F., M.Sc., Apt selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim Semarang.
2. Bapak Drs. H. Ibrahim Arifin, M.Sc., Apt selaku dosen pembimbing yang tak ada hentinya meluangkan waktu dan pemikirannya untuk membimbing dan memberikan motivasi, saran dan masukan kepada penulis selama persiapan penelitian, penelitian, hingga terselesainya 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 masukannya terhadap skripsi ini.
4. Ibu Sri Susilowati, S.Si., M.Sc., Apt selaku dosen wali yang selalu membimbing dan memberikan motivasi kepada penulis dari proses perkuliahan hingga saat ini.

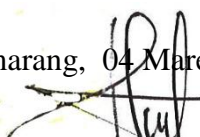
5. Seluruh staf pengajar dan karyawan Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim Semarang atas semua ilmu, bantuan, serta pengalaman yang telah diberikan dan dibagikan kepada penulis selama menjalani masa perkuliahan.
6. Kepala dan staf Laboratorium Fitokimia Universitas Wahid Hasyim Semarang atas waktu dan tenaga yang diberikan kepada penulis selama melaksanakan penelitian ini.
7. Bapak Prof. Dr. Edy Meiyanto, M.Si., Apt dan teman-teman CCRC Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta yang telah membantu dalam penelitian ini.
8. Pimpinan dan staf Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada Yogyakarta khususnya Ibu Atin yang telah mengizinkan, membimbing dan membantu penulis selama penelitian dengan baik dan sabar.
9. Staf Laboratorium Ekologi dan Biosistemika Fakultas MIPA Universitas Diponegoro Semarang yang telah membantu dalam pelaksanaan determinasi tanaman.
10. Staf Laboratorium Unit Pelayanan Terpadu Universitas Diponegoro Semarang yang telah membantu dalam pelaksanaan ekstraksi ultrasonik.
11. Staf Komisi Bioetika Penelitian Kedokteran / Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Sultan Agung Semarang yang telah membantu dalam pembuatan *ethical clearance*.
12. Keluargaku tercinta, Bapak Soleh, Mama Nuria dan adekku Patria Sandy Putra Leria atas setiap do'a yang dipanjatkan, dukungan yang tiada hentinya

diberikan, kesabaran, kasih sayang dan motivasi terbaik untuk menyelesaikan skripsi ini.

13. Bukhori, Avilia Ayu Setyawati, dan Gracia Forentina Arasti yang telah berjuang bersama dalam melaksanakan penelitian ini.
14. Teman yang menjadi saudara Arlin, Dedek Putri, Sharfina, Gracia, Ika Lutfiana, Bukhori dan Al-Bagir yang telah banyak membantu, memberikan semangat dan canda tawa serta doa dan motivasi kepada penulis selama ini.
15. Sahabatku Era Lestari, Bagas Praba, Meita, Dara, Tyas, Agil Yulia, Nisa, Lina, April, Tessa yang selalu ada, selalu sayang, memberikan semangat dan canda tawa serta doa dan motivasi.
16. Fitriasih, Rengganis, Eka Intan, Bu Herlina, Bu Erna, Nadzifia, yang telah membantu dan memberikan dorongan semangat, dan doa.
17. 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.
18. Semua pihak yang telah banyak membantu penulis selama ini dan tidak mungkin disebutkan satu per satu.

Akhir kata penulis berharap semoga skripsi ini dapat menambah pengetahuan dan dapat berguna bagi masyarakat luas pada umumnya dan dunia farmasi pada khususnya. Semoga dengan skripsi ini semakin banyak berkembang obat antikanker berbahan dasar alam yang potensial.

Semarang, 04 Maret 2019



Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
SURAT PERNYATAAN	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN	v
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
DAFTAR SINGKATAN.....	xvi
INTISARI	xvii
ABSTRACT.....	xviii
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Perumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian	3
D. Manfaat Penelitian	4
E. Tinjauan Pustaka.....	4

1. Kanker Payudara dan Sel MCF-7	4
2. <i>Human Epidermal Receptor-2 (HER-2)</i>	5
3. Protein Bcl-2 (<i>B-Cell Lymphoma</i>).....	7
a. Golongan Bcl-2	7
b. Peran Bcl-2 dalam Proses Apoptosis	7
4. Jambu Biji (<i>Psidium guajava</i>).....	10
a. Klasifikasi Jambu biji.....	10
b. Deskripsi Daun Jambu biji.....	10
c. Kandungan Kimia	11
5. Uji Sitotoksik dengan <i>MTT Assay</i>	12
6. Uji Imunositokimia	13
F. Landasan teori.....	14
G. Hipotesis	15
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.....	19
1.	Pengumpulan Bahan Uji.....	19
2.	Determinasi Tanaman	19
3.	Pembuatan Senyawa Uji.....	19
	a. Pembuatan Serbuk Daun Jambu Biji.....	19
	b. Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji.....	20
4.	Uji Sitotoksik.....	20
	a. Penyiapan Larutan Stok EEDJB.....	20
	b. Preparasi Sel MCF-7 overekspresi HER-2.....	21
	c. Pemanenan Sel.....	21
	d. Perhitungan Sel.....	22
	e. Uji Sitotoksik dengan MTT Assay	22
5.	Uji Imunositokimia	23
D.	Analisis Data.....	27
1.	Analisis Uji Sitotoksik	27
2.	Analisis Uji Imunositokimia 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 (EEDJB)	31
D.	Uji Sitotoksik dengan MTT Assay.....	32
E.	Uji Imunositokimia	36
BAB IV. KESIMPULAN DAN SARAN.....		40

A. Kesimpulan	40
B. Saran	40
DAFTAR PUSTAKA	41
LAMPIRAN.....	45



DAFTAR TABEL

Tabel 1. Hasil uji sitotoksisitas EEDJB pada sel MCF7 overekspresi HER-234



DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Morfologi Sel Kanker Payudara MCF7 overekspresi HER-2.....	6
Gambar 2. Proses apoptosis sel melalui jalur intrinsik dan ekstrinsik.....	8
Gambar 3. Jambu Biji (<i>Psidium guajava</i> L.)	11
Gambar 4. Struktur Quersetin	12
Gambar 5. Skema Jalannya Penelitian	26
Gambar 6. Reduksi MTT menjadi Formazan	32
Gambar 7. Morfologi sel kanker payudara MCF-7 overekspresi HER-2 setelah perlakuan	33
Gambar 8. Efek perlakuan EEDJB terhadap viabilitas sel MCF-7 overekspresi HER-2	34
Gambar 9. Hasil ekspresi protein Bcl-2 setelah perlakuan EEDJB	37
Gambar 10. Hasil analisis ekspresi protein Bcl-2 setelah perlakuan EEDJB	38

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Determinasi Tanaman Jambu Biji (<i>Psidium guajava</i> L.).....	46
Lampiran 2. <i>Ethical Clearence</i>	49
Lampiran 3. Surat Keterangan telah Melaksanakan Penelitian di Laboratorium Parasitologi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.....	50
Lampiran 4. Surat Keterangan telah Melaksanakan Penelitian di Laboratorium Biologi Farmasi Universitas Wahid Hasyim Semarang	51
Lampiran 5. Perhitungan Susut Pengerinan dan Perhitungan Randemen Ekstrak	52
Lampiran 6. Perhitungan Sel dan Seri Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji (EEDJB) untuk Uji Sitotoksik MTT <i>Assay</i>	53
Lampiran 7. Penentuan IC ₅₀ EEDJB pada sel kanker payudara MCF-7 overekspresi HER-2.....	57
Lampiran 8. Perhitungan Sel dan Seri Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji (EEDJB) untuk uji imunositokimia.....	59
Lampiran 9. Pengolahan data uji imunositokimia Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji (EEDJB).....	61
Lampiran 10. Dokumentasi Penelitian.....	64

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 Cell lymphoma Extra Large</i>
BRCA	= <i>Breast Cancer</i>
BRCA-1	= <i>Breast Cancer Type 1</i>
BRCA-2	= <i>Breast Cancer Type 2</i>
Caspase	= <i>Cysteine Aspartyl Specific Protease</i>
DAB	= <i>3,3-diaminobenzidin</i>
DMSO	= <i>Dimethyl Sulfoxide</i>
DNA	= <i>Deoxyribonucleic Acid</i>
EDTA	= <i>Ethylene Diamine Tetraacetic Acid</i>
EEDJB	= <i>Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji</i>
ELISA	= <i>Enzyme Linked Immunosorbent Assay</i>
ER	= <i>Estrogene Receptor</i>
FBS	= <i>Fetal Bovine Serum</i>
HER-2	= <i>Human Epidermal Receptor-2</i>
HCl	= <i>Hydrogen Chloride</i>
IAP	= <i>Inhibitor of Apoptosis Protein</i>
IC ₅₀	= <i>Inhibitory Concentration 50%</i>
LAF	= <i>Laminar Air Flow</i>
MTT	= <i>(3 – (4–5 – dimetiltiazol-2-yl) – 2,5 – difenil tetrazolium bromid)</i>
PBS	= <i>Phosphate Buffered Saline</i>
SDS	= <i>Sodium Dodecyl Sulphate</i>
TCD	= <i>Tissue Culture Dish</i>
DMEM	= <i>Dulbecco's Modified Eagle Medium</i>

INTISARI

Kanker payudara merupakan pembunuh nomor dua yang mengalami peningkatan signifikan setiap tahunnya. Kanker payudara salah satunya dikarenakan oleh overekspresi *Human Epidermal Receptor-2*(HER-2) berperan dalam metastasis dan perkembangan kanker yang terus-menerus. Daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) mengandung *quercetin*. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui apakah EEDJB memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker payudara MCF-7 overekspresi HER-2 dan dapat mempengaruhi ekspresi Bcl-2.

Serbuk daun jambu biji diekstraksi menggunakan metode ultrasonik dengan pelarut etanol 70%. Uji sitotoksik ekstrak etanol daun jambu biji dengan metode MTT Assay pada konsentrasi 1000; 500; 250; 125; 62,5; 31,25; 15,625 μ g/mL. Uji ekspresi protein Bcl-2 menggunakan metode imunositokimia dengan konsentrasi $\frac{1}{4}$ IC₅₀(108,25 μ g/mL), $\frac{1}{2}$ IC₅₀(216,5 μ g/mL), IC₅₀(433 μ g/mL) yang dianalisis menggunakan *software ImageJ*.

Hasil uji sitotoksik dianalisis dengan metode regresi linier diperoleh IC₅₀ sebesar 433 μ g/mL. Nilai IC₅₀ yang didapat dikategorikan sebagai *moderate cytotoxicity* dan memiliki efek yang cukup aktif terhadap sel kanker payudara MCF-7 overekspresi HER-2. Hasil uji imunositokimia adanya penurunan ekspresi Bcl-2 sebesar 26% perlakuan EEDJB 108,25 μ g/ml, penurunan sebesar 39% setelah perlakuan EEDJB 216,5 μ g/ml, dan penurunan sebesar 63% setelah perlakuan EEDJB 433 μ g/ml dibandingkan dengan kontrol sel (tanpa perlakuan yang di cat dengan antibodi Bcl-2). Hal ini membuktikan bahwa EEDJB mampu menurunkan ekspresi Bcl-2 pada sel kanker payudara MCF-7 overekspresi HER-2.

Kata kunci : Bcl-2, *Psidium guajava* L, MCF-7 overekspresi HER-2, sitotoksik

ABSTRACT

Breast cancer is the number two killer who experiences a significant increase every year. Breast cancer is one of them caused by overexpression of Human Epidermal Receptor-2 (HER-2) plays a role in metastasis and the continuous development of cancer. Guava leaves (*Psidium guajava* L.) contain quercetin. This study was conducted to determine whether EEDJB has cytotoxic activity against MCF-7 HER-2 over-expression breast cancer cells and can affect the expression of Bcl-2.

Guava leaf powder was extracted using the ultrasonic method with 70% ethanol. Cytotoxic test of ethanol extract of guava leaves with MTT Assay method at a concentration of 1000; 500; 250; 125; 62.5; 31.25; 15,625 μ g / mL. Bcl-2 protein expression test used an immunocytochemical method with $\frac{1}{4}$ IC₅₀ (108.25 μ g / mL), $\frac{1}{2}$ IC₅₀ (216.5 μ g / mL), IC₅₀ (433 μ g / mL) which was analyzed using ImageJ software.

Cytotoxic test results were analyzed by linear regression method obtained IC₅₀ of 433 μ g / mL. The IC₅₀ value obtained was categorized as moderate cytotoxicity and had a fairly active effect on MCF-7 over-expression HER-2 breast cancer cells. Immunocytochemical test results showed a decrease in Bcl-2 expression by 26% EEDJB treatment 108.25 μ g / ml, a decrease of 39% after EEDJB treatment 216.5 μ g / ml, and a decrease of 63% after EEDJB 433 μ g / ml compared with cell control (without treatment that is painted with Bcl-2 antibodies). This proves that EEDJB can reduce the expression of Bcl-2 in MCF-7 breast cancer overexpression HER-2 cells.

Keywords: Bcl-2, *Psidium guajava* L, MCF-7 overexpression HER-2, cytotoxic

