

**PENGARUH EKSTRAK ETANOL KULIT TERONG UNGU (*Solanum
melongena* L.) TERHADAP SITOTOKSISITAS DAN EKSPRESI
PROTEIN p53 PADA SEL KANKER PAYUDARA T47D**

SKRIPSI



Oleh :

Sharfina Sukma Permatasari Haryono

155010016

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS WAHID HASYIM
SEMARANG**

2019

**PENGARUH EKSTRAK ETANOL KULIT TERONG UNGU (*Solanum
melongena* L.) TERHADAP SITOTOKSISITAS DAN EKSPRESI
PROTEIN p53 PADA SEL KANKER PAYUDARA T47D**

SKRIPSI

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

Oleh:

Sharfina Sukma Permatasari Haryono

155010016

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS WAHID HASYIM**

SEMARANG

2019



PENGESAHAN SKRIPSI

Berjudul

PENGARUH EKSTRAK ETANOL KULIT TERONG UNGU (*Solanum melongena* L.) TERHADAP SITOtokSISITAS DAN EKSPRESI PROTEIN p53 PADA SEL KANKER PAYUDARA T47D

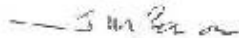
Oleh :

Shorfina Sukma Permastiasari Haryono

155010016

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim
Pada tanggal : 1 Februari 2019

Pembimbing,



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




Mengesahkan
Fakultas Farmasi
Universitas Wahid Hasyim

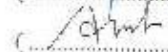

Drs. H. Ibrahim Arifin, M.Sc., Apt

Penguji :

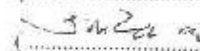
1. Devi Nisa Eidayati, M.Sc., Apt


(.....)

2. Anita Dwi Puspitasari, S.Si., M.Pd


(.....)

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


(.....)

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Sharfina Sukma Permatasari Haryono

NIM : 155010016

Judul Skripsi : Pengaruh Ekstrak Etanol Kulit Terong Ungu (*Solanum melongena* L.) Terhadap Sitotoksitas dan Ekspresi Protein p53 pada Sel Kanker Payudara T47D.

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 dimiliki atau ditertibkan orang lain, kecuali yang secara tertulis diada dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Demikian surat pernyataan ini saya buat untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Semarang, 1 Februari 2019



(Sharfina Sukma Permatasari Haryono)

MOTTO DAN PERSEMBAHAN

“Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan. Maka apabila kamu telah selesai (dari suatu urusan), kerjakanlah dengan sungguh-sungguh (urusan) yang lain, dan hanya kepada Tuhanmulah hendaknya kamu berharap”

(QS. Al-Insyirah: 6-8)

“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)

“Never underestimate the power of du’a, especially from your parents”

(All Moslem Weapon)

Alhamdulillahirabbil’alamin

Ku persembahkan karyaku ini kepadamu:

Almarhum Ayah tercinta, Ibu terkasih, dan kakakku 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

Pada guru dan dosen yang telah mendidik dan membimbingku

Almamatertku 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 Kulit Terong Ungu (*Solanum melongena* L.) Terhadap Sitotoksitas dan Ekspresi Protein p53 pada Sel Kanker Payudara T47D” 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. Kemenristekdikti yang telah membiayai penelitian ini hingga dapat diselesaikan dengan baik oleh penulis.
6. 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.
7. Kepala dan staf Laboratorium Fitokimia Universitas Wahid Hasyim Semarang atas waktu dan tenaga yang diberikan kepada penulis selama melaksanakan penelitian ini.
8. Bapak Prof. Dr. Edy Meiyanto, M.Si., Apt dan teman-teman CCRC Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta yang telah membantu dalam penelitian ini.
9. Pimpinan dan staf Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada Yogyakarta khususnya Ibu Atin yang telah mengizinkan, membimbing dan membantu penulis selama penelitian dengan sabar.
10. Staf Laboratorium Ekologi dan Biosistematika Fakultas MIPA Universitas Diponegoro Semarang yang telah membantu dalam pelaksanaan determinasi tanaman.
11. Staf Laboratorium Unit Pelayanan Terpadu Universitas Diponegoro Semarang yang telah membantu dalam pelaksanaan ekstraksi ultrasonik.
12. Staf Komisi Bioetika Penelitian Kedokteran / Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang yang telah membantu dalam pembuatan *ethical clearance*.

13. Keluargaku tercinta, Mama dan kakakku atas setiap do'a yang dipanjatkan, dukungan yang tiada hentinya diberikan, kesabaran, kasih sayang dan motivasi terbaik untuk menyelesaikan skripsi ini.
14. Rengganis Seppatria dan Kharista Khasanyzulaikhah yang telah berjuang bersama dalam melaksanakan penelitian ini.
15. Arlin, Coco, Nicky, Dedek, Gracia, Ika dan Bagir yang telah banyak membantu, memberikan semangat dan canda tawa serta doa dan motivasi kepada penulis selama ini.
16. Fitriasih yang telah membantu dan memberikan saran kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
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, 1 Februari 2019



Sharfina Sukma Permatasari Haryono

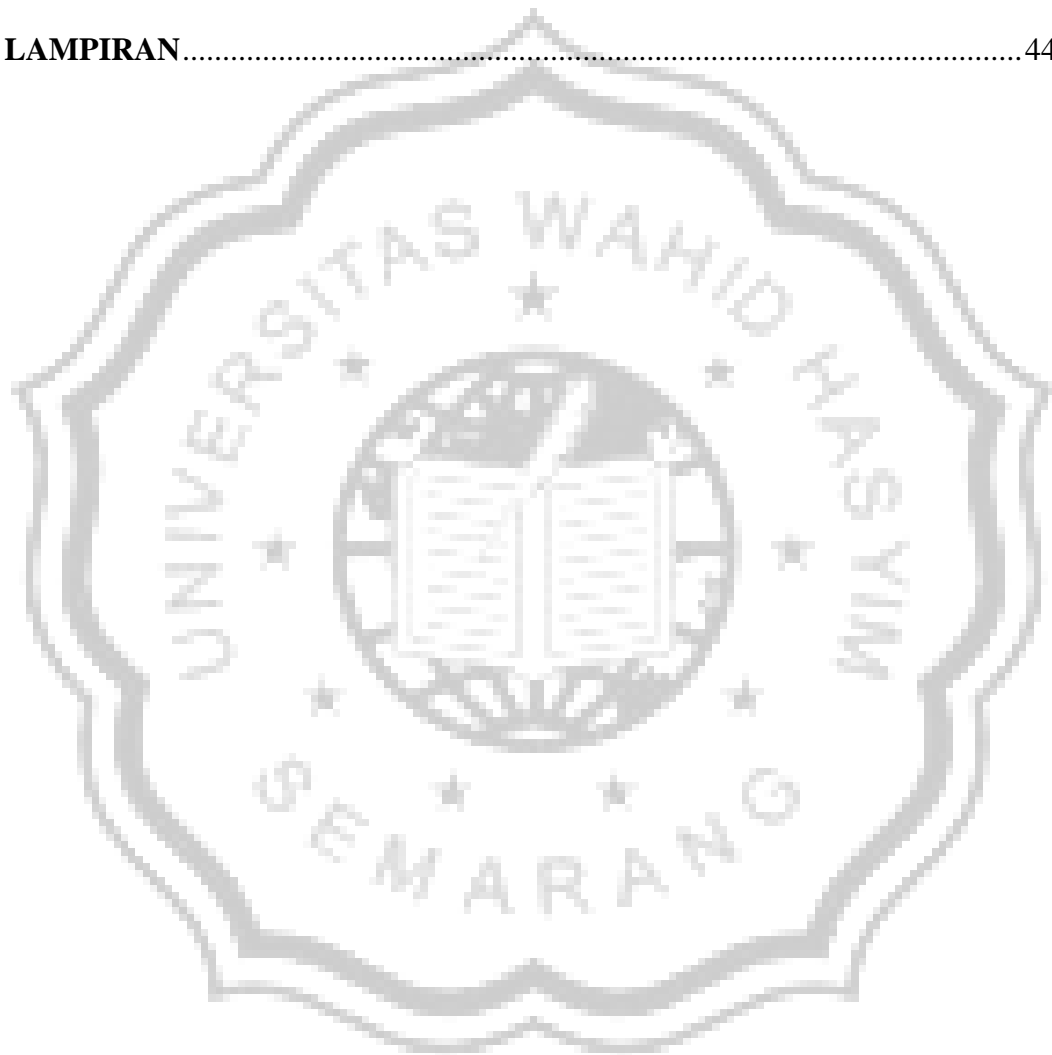
DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
SURAT PERNYATAAN	iii
MOTTO DAN PERSEMBAHAN	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
DAFTAR SINGKATAN	xv
INTISARI	xvi
ABSTRACT	xvii
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 Kanker Payudara T47D.....	6
3. Terong Ungu (<i>Solanum melongena</i> L.).....	7
a. Deskripsi Tanaman.....	7
b. Klasifikasi Tanaman.....	8
c. Kandungan Kimia Terong Ungu.....	9
d. Khasiat Terong Ungu	9
4. Uji Sitotoksitas	10
5. Imunositokimia	11
6. Protein p53	12
a. Mutasi p53.....	12
b. Peranan dalam Apoptosis.....	12
F. Landasan Teori.....	14
G. Hipotesis.....	14
BAB II. METODE PENELITIAN.....	15
A. Jenis dan Variabel Penelitian	15
B. Alat dan Bahan Penelitian.....	15
1. Alat Penelitian.....	15
a. Alat untuk ekstraksi.....	15
b. Alat untuk uji sitotoksitas	16
c. Alat untuk uji imunositokimia	16
2. Bahan Penelitian.....	16
a. Bahan Preparasi Ekstrak	16

b. Bahan Kultur Sel dan Uji Sitotoksitas.....	16
c. Bahan Uji Imunositokimia.....	17
C. Jalannya Penelitian.....	17
1. Pengumpulan Bahan dan Determinasi Tanaman	17
2. Pembuatan Senyawa Uji	18
a. Pembuatan Serbuk Kulit Terong Ungu.....	18
b. Pembuatan Ekstrak Etanol Kulit Terong Ungu.....	18
3. Penyiapan Larutan Uji.....	19
4. Preparasi Sel T47D	19
5. Pemanenan Sel.....	20
6. Perhitungan Sel	20
7. Uji Sitotoksitas	21
8. Uji Imunositokimia	21
D. Analisis Data	23
1. Analisis Uji Sitotoksitas	23
2. Analisis Uji Imunositokimia	24
E. Skema Jalannya Penelitian.....	25
BAB III. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	26
A. Determinasi Tanaman.....	26
B. Serbuk Kulit Terong Ungu	26
C. Ekstrak Etanol Kulit Terong Ungu	28
D. Uji Sitotoksitas.....	29
E. Uji Imunositokimia.....	33

BAB IV. KESIMPULAN DAN SARAN	38
A. Kesimpulan.....	38
B. Saran.....	38
DAFTAR PUSTAKA	39
LAMPIRAN	44



DAFTAR TABEL

Tabel I. Hasil Uji Sitotoksitas Ekstrak Etanol Kulit Terong Ungu terhadap Sel Kanker Payudara T47D	31
---	----



DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Sel Kanker Payudara T47D.....	6
Gambar 2. Terong Ungu (<i>Solanum melongena</i> L.).....	9
Gambar 3. Struktur Kimia Antosianin <i>Delphinidin</i>	10
Gambar 4. Reaksi Reduksi MTT Menjadi Formazan.....	11
Gambar 5. Proses Terjadinya Apoptosis.....	13
Gambar 6. Skema Jalannya Penelitian.....	25
Gambar 7. Morfologi Sel Kanker Payudara T47D Setelah Perlakuan.....	30
Gambar 8. Efek Perlakuan EEKTU terhadap % Viabilitas Sel Kanker Payudara T47D.....	32
Gambar 9. Hasil Ekspresi Protein p53 Setelah Perlakuan EEKTU.....	34
Gambar 10. Hasil Analisis Ekspresi Protein p53 pada Sel T47D Setelah Perlakuan EEKTU.....	35

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Determinasi Tanaman Terong Ungu <i>(Solanum melongena L)</i>	45
Lampiran 2. <i>Ethical Clearence</i>	48
Lampiran 3. Surat Keterangan telah Melaksanakan Penelitian di Laboratorium Parasitologi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta	49
Lampiran 4. Surat Keterangan telah Melaksanakan Penelitian di Laboratorium Biologi Farmasi Universitas Wahid Hasyim Semarang	50
Lampiran 5. Perhitungan Sel dan Seri Konsentrasi Ekstrak Etanol Kulit Terong Ungu (EEKTU) Uji Sitotoksisitas.....	51
Lampiran 6. Analisis Data Uji Sitotoksisitas EEKTU dengan Regresi Linier Berbantu <i>Microsoft Excel 2013</i>	55
Lampiran 7. Perhitungan Sel dan Seri Konsentrasi Ekstrak Etanol Kulit Terong Ungu (EEKTU) Uji Imunositokimia.....	57
Lampiran 8. Analisis Data Uji Imunositokimia EEKTU dengan <i>Software</i> <i>ImageJ</i>	59
Lampiran 9. Dokumentasi Penelitian.....	62

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>
EEKTU	= <i>Ekstrak Etanol Kulit Terong Ungu</i>
ELISA	= <i>Enzyme Linked Immunosorbent Assay</i>
ER	= <i>Estrogene Receptor</i>
FBS	= <i>Fetal Bovine Serum</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>
p53	= <i>Protein 53</i>
PBS	= <i>Phosphate Buffered Saline</i>
PR	= <i>Progesterone Receptor</i>
SDS	= <i>Sodium Dodecyl Sulphate</i>
DMEM	= <i>Dulbecco's Modified Eagle Medium</i>

INTISARI

Kegagalan dalam terapi kanker payudara mendorong usaha pengembangan obat anti kanker berbasis bahan alam, diantaranya kulit terong ungu. Kulit terong ungu mengandung flavonoid kelompok antosianin yang mampu menginduksi apoptosis dengan cara peningkatan ekspresi protein p53. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak etanol kulit terong ungu terhadap sitotoksitas dan ekspresi protein p53 pada sel kanker payudara T47D.

Penelitian ini merupakan penelitian jenis eksperimental dengan *posttest only control group design*. Kulit terong ungu diekstraksi menggunakan ekstraksi ultrasonik dengan pelarut etanol 70% dan HCl 1%. Pengujian sitotoksitas dengan metode MTT Assay menggunakan konsentrasi 1000; 500; 400; 300; 200; 100; dan 80 $\mu\text{g/mL}$ dan data dianalisis menggunakan analisis regresi linier untuk memperoleh nilai IC_{50} . Pengamatan ekspresi protein p53 dilakukan dengan metode imunositokimia menggunakan konsentrasi $\frac{1}{4} \text{IC}_{50}$ (75 $\mu\text{g/mL}$) ; $\frac{1}{2} \text{IC}_{50}$ (150 $\mu\text{g/mL}$) dan IC_{50} (300 $\mu\text{g/mL}$) serta data dianalisis menggunakan *software ImageJ*.

Hasil penelitian didapatkan bahwa ekstrak etanol kulit terong ungu mempengaruhi sitotoksitas sel kanker payudara T47D dengan nilai IC_{50} sebesar 299,680 $\mu\text{g/mL}$. Pengamatan ekspresi protein p53 dengan konsentrasi $\frac{1}{4} \text{IC}_{50}$ (75 $\mu\text{g/mL}$) ; $\frac{1}{2} \text{IC}_{50}$ (150 $\mu\text{g/mL}$) dan IC_{50} (300 $\mu\text{g/mL}$) didapatkan hasil berturut-turut yaitu $2,67\% \pm 0,96$; $4,26\% \pm 1,14$ dan $6,06\% \pm 1,18$ yang ditandai adanya warna coklat pada inti sel menunjukkan bahwa adanya peningkatan protein p53.

Kata Kunci : Sel Kanker Payudara T47D, Ekstrak Etanol Kulit Terong Ungu, Sitotoksitas, Imunositokimia

ABSTRACT.

Failure in breast cancer therapy encourages effort to develop anti-cancer drugs based on natural ingredients, including purple eggplant peel. Eggplant peel contains flavonoid in anthocyanin group which is able to induce apoptosis by increasing expression of p53 protein. This study aimed to determine the effect of ethanol extract of eggplant peel to the cytotoxicity and expression of p53 protein in T47D breast cancer cells.

This research is an experimental type of study with posttest only control group design. Eggplant peel was extracted using ultrasonic extraction with 70% ethanol and 1% HCl. Cytotoxic testing using the MTT Assay method uses a concentration of 1000; 500; 400; 300; 200; 100; and 80 $\mu\text{g/mL}$ and data were analyzed using analyzed linear regression to obtain IC_{50} values. Observation of p53 protein expression was carried out by immunocytochemical method using $\frac{1}{4}$ IC_{50} concentration (75 $\mu\text{g/mL}$); $\frac{1}{2}$ IC_{50} (150 $\mu\text{g/mL}$); and IC_{50} (300 $\mu\text{g/mL}$) and data were analyzed using ImageJ software.

The results showed that the ethanol extract of purple eggplant peel influenced the cytotoxicity of T47D breast cancer cells with IC_{50} values of 299,680 $\mu\text{g/mL}$. Observation of p53 protein expression using $\frac{1}{4}$ IC_{50} concentration (75 $\mu\text{g/mL}$); $\frac{1}{2}$ IC_{50} (150 $\mu\text{g/mL}$); and IC_{50} (300 $\mu\text{g/mL}$) was obtained the results is $2.67\% \pm 0.96$; $4.26\% \pm 1.14$ and $6.06\% \pm 1.18$ was indicated by the presence of brown in the cell nucleus which is showed that an increase in p53 protein.

Keywords : T47D Cell, Ethanol Extract Eggplant Peel, Cytotoxicity, Immunocytochemistry