

**PENGARUH KOMBINASI EKSTRAK METANOLIK DAUN KENIKIR
(*Cosmos caudatus* Kunth.) DAN DOKSORUBISIN TERHADAP
MODULASI SIKLUS SEL KANKER PAYUDARA T47D**

SKRIPSI



135010963

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS WAHID HASYIM
SEMARANG
2017**

**PENGARUH KOMBINASI EKSTRAK METANOLIK DAUN KENIKIR
(*Cosmos caudatus* Kunth.) DAN DOKSORUBISIN TERHADAP
MODULASI SIKLUS SEL KANKER PAYUDARA T47D**

SKRIPSI

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



Oleh:

Anis Fauzia

135010963

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS WAHID HASYIM
SEMARANG
2017**

PENGESAHAN SKRIPSI

Berjudul

**PENGARUH KOMBINASI EKSTRAK METANOLIK DAUN KENIKIR
(*Cosmos caudatus* Kunth.) DAN DOKSORUBISIN TERHADAP
MODULASI SIKLUS SEL KANKER PAYUDARA T47D**

Oleh:

Anis Fauzia

135010963

**Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim
Pada tanggal : 08 Maret 2017**

Pembimbing Utama,

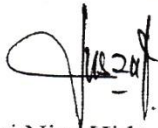


(Drs. Ibrahim Arifin, M.Sc., Apt.)

Mengetahui :
Fakultas Farmasi
Universitas Wahid Hasyim
Semarang

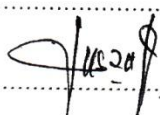
(Achmad Budianto, S.F., M.Sc., Apt.)

Pembimbing Pendamping,



(Devi Nisa Hidayati, S.Farm., M.Sc.)

Penguji :

- | | |
|---------------------------------------|--|
| 1. Sri Susilowati, S.Si., M.Si., Apt. | () |
| 2. Maria Ulfah, S.Farm., M.Sc., Apt. | () |
| 3. Drs. Ibrahim Arifin, M.Sc., Apt. | () |
| 4. Devi Nisa Hidayati, S.Farm., M.Sc. | () |

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini saya:

Nama : Anis Fauzia
NIM : 135010963
Judul Skripsi : Pengaruh Kombinasi Ekstrak Metanolik Daun Kenikir
(*Cosmos caudatus* Kunth.) dan Doksorubisin terhadap
Modulasi Siklus 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 ditulis atau diterbitkan orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Demikian pernyataan ini saya buat untuk dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Semarang, Maret 2017



(Anis Fauzia)

MOTTO DAN PERSEMBAHAN

“Happiness can be found, even in the darkest of times,

if one only remembers to turn on the light”

(J.K. Rowling)



Karya ilmiah ini aku persembahkan untuk :

Ayah dan ibuku yang selalu mendoakan, mendukung dan menyayangiku

Guru dan dosenku yang telah membimbingku

Seluruh keluargaku yang selalu memotivasi dan mendukungku

Seseorang yang selalu menemani dan memotivasiku

Almamatunku

KATA PENGANTAR

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 Kombinasi Ekstrak Metanolik Daun Kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) dan Doksorubisin terhadap Modulasi Siklus Sel Kanker Payudara T47D”.

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. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terimakasih kepada :

1. Ibu Aqnes Budiarti, S.F., M.Sc., Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim Semarang yang telah memberikan dukungan dan bantuan guna kelancaran penelitian dan penyusunan skripsi ini.
2. Bapak Drs. Ibrahim Arifin, M.Sc., Apt. selaku dosen pembimbing utama yang selalu menyemangati dan meluangkan waktu dan pemikirannya untuk membimbing penulis dalam mempersiapkan penelitian hingga penyusunan skripsi ini.
3. Ibu Devi Nisa Hidayati, S.Farm., M.Sc. selaku pembimbing pendamping yang selalu meluangkan waktu dan pemikirannya untuk membimbing penulis dalam mempersiapkan penelitian hingga penyusunan skripsi ini.

4. Ibu Sri Susilowati, S.Si., M.Si., Apt. dan Ibu Maria Ulfah, S.Farm., M.Sc., Apt. selaku dosen penguji yang telah memberikan saran, masukan dan koreksi terhadap skripsi ini.
5. Seluruh dosen di Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim Semarang yang telah memberikan bekal ilmu pengetahuan sebagai dasar penulisan skripsi ini.
6. Pimpinan dan staf di Laboratorium Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim Semarang yang telah membantu pelaksanaan penelitian ini.
7. Pimpinan dan staf di Laboratorium Biologi Molekuler B2P2TO2T Tawangmangu yang telah membantu pelaksanaan penelitian ini.
8. Staf Laboratorium Ekologi dan Biosistemika Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Diponegoro Semarang yang telah membantu pelaksanaan determinasi tanaman.
9. Sahabatku Hana Yunita Listanti, Mbak Nimas Yuniarsih dan Mbak Neng Fautimar yang selalu menyemangatiku dalam berjuang menghadapi masalah selama penyusunan skripsiku.
10. Mbak Umi Any Tiya Wati, Cahyaning Gita Rizkita, dan Eka Wahyuni Nurul Qoriah yang telah melalui penelitian ini bersamaku.
11. Teman-teman mahasiswa Farmasi angkatan 2013 yang telah berjuang bersama selama ini.
12. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah berkontribusi dalam membantu pelaksanaan penelitian dan penyusunan skripsi ini.

Semoga Tuhan Yang Maha Kuasa senantiasa melimpahkan berkat-Nya kepada pihak-pihak yang telah berjasa dalam penyusunan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dalam skripsi ini. Oleh karena itu, segala kritik dan saran yang membangun sangat penulis harapkan demi perbaikan di masa depan. Semoga penelitian ini dapat memberikan manfaat yang berarti bagi ilmu pengetahuan pada umumnya dan dunia farmasi pada khususnya.

Semarang, Maret 2017



Penulis



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
SURAT PERNYATAAN.....	iii
MOTTO DAN PERSEMBAHAN	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
DAFTAR SINGKATAN	xiv
INTISARI.....	xv
<i>ABSTRACT</i>	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 T47D	5
3. Siklus Sel	6
4. Doksorubisin.....	10
5. Tanaman Kenikir	12

F. Landasan Teori	15
G. Hipotesis	16
BAB II. METODE PENELITIAN.....	17
A. Variabel Penelitian.....	17
B. Bahan dan Alat Penelitian.....	17
1. Bahan Penelitian	17
2. Alat Penelitian	18
C. Jalannya Penelitian	19
1. Determinasi Tanaman.....	19
2. Pembuatan Senyawa Uji.....	19
3. Uji Sitotoksisitas.....	20
4. Uji Penghambatan Siklus Sel.....	23
D. Analisis Data.....	24
1. Uji Sitotoksisitas.....	24
2. Uji Penghambatan Siklus Sel.....	25
BAB III. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....	26
A. Determinasi Tanaman.....	26
B. Pembuatan Serbuk Daun Kenikir	26
C. Ekstraksi Daun Kenikir.....	27
D. Uji Sitotoksisitas	28
1. Uji Sitotoksisitas Perlakuan Tunggal Ekstrak Metanolik Daun Kenikir (EMDK) dan Doksorubisin.....	29
2. Uji Sitotoksisitas Perlakuan Kombinasi Ekstrak Metanolik Daun Kenikir (EMDK) dan Doksorubisin	34

E. Uji Penghambatan Siklus Sel	37
BAB IV. KESIMPULAN DAN SARAN.....	41
A. Kesimpulan	41
B. Saran	41
DAFTAR PUSTAKA.....	42
LAMPIRAN.....	48



DAFTAR TABEL

Tabel I.	Perbandingan Konsentrasi Kombinasi Ekstrak Metanolik Daun Kenikir (EMDK) dan Doksorubisin	22
Tabel II.	Interpretasi <i>Combination Index</i> (CI)	25
Tabel III.	Persentase Viabilitas Sel Kanker Payudara T47D Setelah Perlakuan Ekstrak Metanolik Daun Kenikir.....	30
Tabel IV.	Persentase Viabilitas Sel Kanker Payudara T47D Setelah Perlakuan Doksorubisin.....	32
Tabel V.	Persentase Viabilitas Sel Kanker Payudara T47D Setelah Perlakuan Kombinasi Ekstrak Metanolik Daun Kenikir (EMDK) dan Doksorubisin	34
Tabel VI.	Nilai CI (<i>Combination Index</i>) Kombinasi Ekstrak Metanolik Daun Kenikir (EMDK) dan Doksorubisin pada Sel T47D	36
Tabel VII.	Persentase Distribusi Siklus Sel Setelah Perlakuan Tunggal dan Kombinasi Ekstrak Metanolik Daun Kenikir (EMDK)-Doksorubisin pada Sel T47D.....	38

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.	Morfologi Sel Kanker Payudara T47D	6
Gambar 2.	Regulasi Siklus Sel	7
Gambar 3.	Struktur Kimia Doksorubisin.....	11
Gambar 4.	Tanaman Kenikir	13
Gambar 5.	Reaksi Reduksi MTT Menjadi Formazan.....	29
Gambar 6.	Efek Sitotoksik Ekstrak Metanolik Daun Kenikir (EMDK) terhadap Sel Kanker Payudara T47D menggunakan MTT assay.....	31
Gambar 7.	Efek Sitotoksik Doksorubisin terhadap Sel Kanker Payudara T47D menggunakan MTT assay	33
Gambar 8.	Efek Kombinasi Ekstrak Metanolik Daun Kenikir (EMDK) dan Doksorubisin pada Sel T47D menggunakan MTT assay	35
Gambar 9.	Analisis Distribusi Siklus Sel T47D Setelah Perlakuan Tunggal dan Kombinasi Ekstrak Metanolik Daun Kenikir (EMDK)-Doksorubisin menggunakan <i>Flowcytometry</i>	38

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Hasil Determinasi Tanaman Kenikir	48
Lampiran 2.	Surat Keterangan Telah Melakukan Penelitian di Laboratorium Biologi Farmasi Universitas Wahid Hasyim Semarang	51
Lampiran 3.	Perhitungan Sel, Seri Konsentrasi Ekstrak Metanolik Daun Kenikir (EMDK) dan Seri Konsentrasi Doksorubisin Uji Sitotoksisitas Perlakuan Tunggal	52
Lampiran 4.	Penentuan Nilai IC_{50} Ekstrak Metanolik Daun Kenikir (EMDK) dan Doksorubisin Perlakuan Tunggal pada Sel Kanker Payudara T47D	57
Lampiran 5.	Perhitungan Sel, Seri Konsentrasi Ekstrak Metanolik Daun Kenikir (EMDK) dan Seri Konsentrasi Doksorubisin Uji Sitotoksisitas Perlakuan Kombinasi.....	59
Lampiran 6.	Hasil Uji Sitotoksisitas Kombinasi Ekstrak Metanolik Daun Kenikir (EMDK) dan Doksorubisin terhadap Sel Kanker Payudara T47D	63
Lampiran 7.	Perhitungan Sel dan Konsentrasi Kombinasi Ekstrak Metanolik Daun Kenikir (EMDK) dan Doksorubisin Uji Penghambatan Siklus Sel	65
Lampiran 8.	Hasil Uji Penghambatan Siklus Sel T47D Kombinasi Ekstrak Metanolik Daun Kenikir (EMDK) dan Doksorubisin	67

DAFTAR SINGKATAN

Bcl-2	: <i>B cell lymphoma 2</i>
BM	: Berat Molekul
BRCA-1	: <i>Breast Cancer Type 1</i>
BRCA-2	: <i>Breast Cancer Type 2</i>
CDK	: <i>Cyclin Dependent Kinase</i>
CDKIs	: <i>CDK Inhibitors</i>
ChK1	: <i>Checkpoint Kinase 1</i>
CI	: <i>Combination Index</i>
CIP/KIP	: <i>CDK Inhibitory Protein / Kinase Inhibitory Protein</i>
DMEM	: <i>Dulbeco Modified Eagle Media</i>
DMSO	: <i>Dimethyl Sulfoxide</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic Acid</i>
E2F1	: <i>E2F Transcription Factor 1</i>
E2F2	: <i>E2F Transcription Factor 2</i>
EDTA	: <i>Ethylene Diamine Tetraacetic Acid</i>
ELISA	: <i>Enzyme Linked Immunosorbent Assay</i>
EMDK	: <i>Ekstrak Metanolik Daun Kenikir</i>
ER	: <i>Esterogen Receptor</i>
ERK	: <i>Extracellular signal-Regulated Kinases</i>
Fase G0	: <i>Fase Gap 0</i>
Fase G1	: <i>Fase Gap 1</i>
Fase G2	: <i>Fase Gap 2</i>
Fase M	: <i>Fase Mitosis</i>
Fase S	: <i>Fase Sintesis</i>
FBS	: <i>Fetal Bovine Serum</i>
HCl	: <i>Hidrogen Chloridum</i>
HER2	: <i>Human Epidermal growth factor Receptor 2</i>
IC50	: <i>Inhibitory Concentration 50%</i>
INK 4	: <i>Inhibitor CDK4</i>
MAPK	: <i>Mitogen-Activated Protein Kinase</i>
MDR	: <i>Multi Drug Resistance</i>
MTT	: <i>[3-(4,5-dimetil thiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromida]</i>
p16	: <i>Protein 16</i>
p18	: <i>Protein 18</i>
p19	: <i>Protein 19</i>
p21	: <i>Protein 21</i>
p53	: <i>Protein 53</i>
p57	: <i>Protein 57</i>
PBS	: <i>Phospat Buffer Saline</i>
PI	: <i>Propidium Iodida</i>
PI3K	: <i>Phosphoinositide 3-Kinase</i>
PTEN	: <i>Phosphatase and Tensin Homolog</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Spesies</i>
SDS	: <i>Sodium Dedosil Sufat</i>
TP53	: <i>Tumor protein p53</i>

INTISARI

Doksorubisin merupakan agen kemoterapi yang efektif digunakan pada pengobatan kanker payudara tetapi dalam penggunaannya berisiko menimbulkan efek samping dan resistensi obat. Penggunaan kombinasi dengan agen kemopreventif dapat mengurangi risiko efek samping dari doksorubisin. Ekstrak metanolik daun kenikir (EMDK) telah terbukti memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker payudara T47D. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji pengaruh kombinasi EMDK dan doksorubisin dalam memodulasi siklus sel kanker payudara T47D.

Daun kenikir diekstraksi menggunakan metode sokletasi dengan pelarut metanol. Uji sitotoksitas dilakukan sebagai uji pendahuluan untuk mengetahui potensi EMDK dan doksorubisin dalam menghambat sel T47D menggunakan MTT assay. Nilai IC_{50} dari pengujian sitotoksitas tunggal digunakan dalam menentukan nilai CI (*Combination Index*). Efek kombinasi EMDK dan doksorubisin dalam modulasi siklus sel dilakukan dengan metode *flowcytometry*.

Uji sitotoksitas tunggal EMDK menghasilkan nilai IC_{50} 504,840 μ g/ml, sedangkan nilai IC_{50} doksorubisin adalah 141,055 nM. Efek sinergis kombinasi EMDK dan doksorubisin ditunjukkan pada konsentrasi 84,17 μ g/ml-23,50 nM dengan nilai CI 0,5. Kombinasi EMDK dan doksorubisin menyebabkan penghambatan siklus sel di fase G2/M sebesar 50,20% pada sel kanker payudara T47D.

Kata kunci : Ekstrak metanolik daun kenikir, doksorubisin, T47D, siklus sel.

ABSTRACT

Doxorubicin is an effective chemotherapeutic agent for the treatment of breast cancer but in its use raises risk of side effects and drug resistance. Combination with chemopreventive agents can reduce the risk of side effects of doxorubicin. Methanolic extract of marigolds leaves (MEML) had been shown to have cytotoxic activity on breast cancer cells T47D. This study aimed to assess the combined effect of MEML and doxorubicin in modulating breast cancer cell cycle T47D.

Leaves of marigolds had been extracted using soxhletation method with methanol. Cytotoxicity assay performed as a preliminary test to determine the potential MEML and doxorubicin to inhibit cell T47D using MTT assay. IC_{50} value of single cytotoxicity assay was used to determine the value of CI (*Combination Index*). The combined effects of MEML and doxorubicin in modulating cell cycle were conducted by *flowcytometry*.

IC_{50} value of cytotoxicity assay MEML single treatment was 504,840 $\mu\text{g/ml}$, while the value IC_{50} of doxorubicin was 141,055 nM. The synergistic effect as shown a combination of MEML and doxorubicin at concentration of 84,17 $\mu\text{g/ml}$ -23,5 nM with CI value of 0,5. MEML and doxorubicin combination induced the inhibition of cell cycle in the G2/M phase amounting to 50,20% on breast cancer cells T47D.

Keywords : Methanolic extract of marigolds leaves, doxorubicin, T47D, cell cycle.

