

**MEKANISME KEMATIAN SEL KANKER PROSTAT DU-145
PADA PEMBERIAN ISOLAT ANDROGRAFOLID MELALUI
JALUR INTRINSIK DENGAN MENGGUNAKAN METODE *IN
CELL WESTERN SECARA IN VITRO***

SKRIPSI

**Evelyn Oktavany Ismail
A201044**



**SEKOLAH TINGGI FARMASI INDONESIA
YAYASAN HAZANAH
BANDUNG
2024**

**MEKANISME KEMATIAN SEL KANKER PROSTAT DU-145
PADA PEMBERIAN ISOLAT ANDROGRAFOLID MELALUI
JALUR INTRINSIK DENGAN MENGGUNAKAN METODE *IN
CELL WESTERN* SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi

**Evelyn Oktavany Ismail
A201044**



**SEKOLAH TINGGI FARMASI INDONESIA
YAYASAN HAZANAH
BANDUNG
2024**

**MEKANISME KEMATIAN SEL KANKER PROSTAT DU-145
PADA PEMBERIAN ISOLAT ANDROGRAFOLID MELALUI
JALUR INTRINSIK DENGAN MENGGUNAKAN METODE *IN
CELL WESTERN* SECARA *IN VITRO***

**Evelyn Oktavany Ismail
A201044**

Oktober 2024

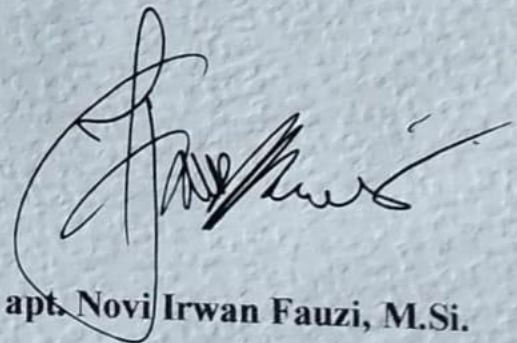
Disetujui oleh:

Pembimbing



Prof. Dr. apt. Aang Hanafiah Ws.

Pembimbing



apt. Novi Irwan Fauzi, M.Si.

Kutipan atau saduran baik sebagian ataupun seluruh naskah, harus menyebut nama pengarang, dan sumber aslinya, yaitu Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia.

Skripsi ini merupakan persembahan untuk kedua orang tua saya ayah Taufik Ismail dan Ibu Sutarsih, terima kasih atas segala cinta, doa, dan dukungan yang tiada henti. Saya juga ingin mengucapkan terima kasih kepada Yayang Muhamad Afrizky, yang telah mendampingi dan membantu saya dari awal hingga akhir proses ini. Skripsi ini merupakan persembahan juga untuk saya yang telah berjuang hingga saat ini.

ABSTRAK

Indonesia merupakan negara dengan keberagaman tumbuhan yang melimpah, salah satunya adalah *Andrographis paniculata* Nees (*A. paniculata*) atau sambiloto, umumnya dikenal sebagai '*King of Bitter*', merupakan tanaman kecil, tahunan, dan bercabang, yang tergolong ke dalam keluarga Acanthaceae. Tanaman ini digunakan secara tradisional untuk berbagai penyakit, dan senyawa utamanya, andrografolid, menunjukkan potensi sebagai agen antikanker. Kanker prostat, dengan angka kejadian tinggi, menjadi fokus penting dalam penelitian ini. Terapi kanker konvensional sering menimbulkan efek samping, mendorong pencarian alternatif berbasis tanaman. Penelitian sebelumnya mengindikasikan bahwa isolat andrografolid dapat menghambat pertumbuhan sel kanker dengan nilai IC_{50} 49,35 $\mu\text{g/mL}$. Penelitian ini bertujuan untuk mengeksplorasi mekanisme kematian sel kanker prostat DU-145 oleh isolat andrografolid melalui jalur intrinsik apoptosis dengan metode In-Cell Western. Hasil menunjukkan isolat andrografolid menginduksi kematian sel melalui aktivasi caspase-3, dengan nilai IC_{50} rata-rata 107,31 $\mu\text{g/mL}$. Temuan ini mendukung potensi isolat andrografolid sebagai alternatif terapi kanker prostat yang lebih efektif dibandingkan kemoterapi konvensional. Penelitian ini berkontribusi penting terhadap pemahaman mekanisme kerja tanaman obat dalam pengobatan kanker.

Kata kunci: *Andrographis*, Sambiloto, Kanker Prostat, DU-145, In-Cell Western, Caspase 3, IC_{50} .

ABSTRACT

*Indonesia is a country with an abundant diversity of plants, one of which is *Andrographis paniculata* Nees (*A. paniculata*) or bitter, commonly known as 'King of Bitter', which is a small, annual and branching plant, which belongs to the *Acanthaceae* family. This plant is used traditionally for various diseases, and its main compound, andrographolide, shows potential as an anticancer agent. Prostate cancer, with its high incidence, was an important focus in this study. Conventional cancer therapies often cause side effects, prompting the search for plant-based alternatives. Previous research indicated that andrographolide isolates could inhibit the growth of cancer cells with an IC_{50} value of 49.35 $\mu\text{g/mL}$. This study aims to explore the mechanism of death of DU-145 prostate cancer cells by andrographolide isolates through the intrinsic pathways of apoptosis using the In-Cell Western method. The results showed that the andrographolide isolates induced cell death through activation of caspase-3, with an average IC_{50} value of 107.31 $\mu\text{g/mL}$. These findings support the potential of andrographolide isolates as an alternative prostate cancer therapy that is more effective than conventional chemotherapy. This research makes an important contribution to understanding the mechanism of action of medicinal plants in cancer treatment.*

Keywords: *Andrographis, Sambiloto, Prostate Cancer, DU-145, In-Cell Western, Caspase 3, IC50.*

KATA PENGANTAR

Pertama-tama, segala puji syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa atas rahmat dan karunia-Nya sehingga dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi yang berjudul **“Mekanisme Kematian Sel Kanker Prostat Du-145 Pada Pemberian Isolat Andrografolid Melalui Jalur Intrinsik Dan Jalur Ekstrinsik Dengan Menggunakan Metode *In Cell Western* Secara *In Vitro*”** yang merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi di Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia.

Dalam menyelesaikan skripsi ini, mengucapkan terima kasih kepada Prof. Dr. apt. Aang Hanafiah. Ws., M.Si, apt. Novi Irwan Fauzi, M.Si dan Dr. apt.Irma Erika Herawati, M.Si. Selaku dosen pembimbing yang berperan pada penelitian ini dengan memberikan bimbingan, saran, nasihat, dukungan, pengarahan, dan pengorbanan yang diberikan selama menjalankan peneltian dan penyusunan skripsi. Pada kesempatan ini, tidak lupa mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Dr. apt. Adang Firmansyah, M.Si. selaku Ketua Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia,
2. Dr. apt. Diki Prayugo, M.Si. selaku Wakil Ketua I Bidang Akademik,
3. Dr. apt. Wiwin Winingsih, M.Si. selaku Ketua Program Studi Sarjana Farmasi,
4. apt. Dytha Andri Deswati, M.Si. selaku Dosen Wali yang telah banyak memberikan bimbingan dan arahan,
5. Seluruh staf dosen, staf administrasi, serta karyawan Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia.
6. Teman-teman seperjuangan mahasiswa Angkatan 2020 khususnya Kelas Reguler Pagi A yang telah memberikan inspirasi dan kegembiraan selama kuliah di Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia,
7. Danny Ismail, A.Md. Kom., dan Debriansyah Ismail selaku kakak tercinta yang senantiasa mendo'akan dan memberikan semangat selama kuliah di Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia,

Dalam penyusunan skripsi ini, disadari masih banyak kesalahan dan kekurangan karena pengetahuan yang masih sangat terbatas. Oleh karena itu, dengan segala kerendahan hati diharapkan masukan berupa kritik dan saran yang bersifat membangun untuk perbaikan di masa yang akan datang. Diharapkan semoga tugas akhir ini dapat memberikan manfaat bagi diri sendiri dan juga bagi pihak yang berkepentingan.

Bandung, Oktober 2024
Penulis

DAFTAR ISI

KUTIPAN	ii
PERSEMBAHAN	iii
ABSTRAK	iv
<i>ABSTRACT</i>	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL	ixx
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN	xii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Identifikasi Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian	2
1.4 Kegunaan Penelitian	2
1.5 Waktu dan Tempat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Tanaman Sambiloto (<i>Andrographis paniculata</i> Ness.)	4
2.2 Andrografolid	5
2.3 Siklus Sel	6
2.4 Kanker Prostat	7
2.5 Lini Sel Kanker Prostat DU-145	8
2.6 Kematian Sel	9
2.5.1 Jalur Intrinsik (Caspase 9 dan Caspase 3)	9
2.5.2 Jalur Ekstrinsik (Caspase 8 dan Caspase 3)	10
2.7 Kultur Sel	10
2.8 Cisplatin	10
2.9 <i>In-Cell Western</i>	11
BAB III TATA KERJA	13
3.1 Alat	13
3.2 Bahan	13
3.3 Metode Penelitian	13
3.3.1 Media Kultur Lengkap	13
3.3.2 Thawing Sel	13
3.3.3 Kultur Sel	14
3.3.4 Rekultur Sel	14
3.3.5 Analisis Hemositometer	15
3.3.6 Preparasi Suspensi Stok Sampel dan Media Kontrol	16
3.3.7 <i>Plating Cell dalam 96-Well plate</i>	17
3.3.8 <i>Sel Treatment</i>	18

3.3.9	<i>First treatment</i>	20
3.3.10	<i>Secondary treatment</i>	20
3.3.11	<i>Wash Solution</i>	20
3.3.12	<i>Measure signal</i>	20
BAB IV	HASIL DAN PEMBAHASAN	22
4.1	Hasil Konfluen Kultur Sel	22
4.2	Hasil Analisis Hemositometer	23
4.3	Hasil perlakuan sampel.....	25
4.4	Hasil Uji <i>In-Cell Western</i>	27
BAB V	SIMPULAN DAN SARAN	30
5.1	SIMPULAN.....	30
5.2	ALUR PENELITIAN SELANJUTNYA.....	30
	DAFTAR PUSTAKA	31
	LAMPIRAN	33

DAFTAR TABEL

Tabel		Halaman
4. 1	Hasil perhitungan jumlah sel yang tersedia	24
4. 2	Perhitungan volume pengenceran suspensi sel	24
4. 3	Visualisasi mikroskopik setelah perlakuan sampel terhadap DU-145	25

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2. 1 Tumbuhan Sambiloto.....	4
2. 2 Struktur Andrografolid.....	5
2. 3 Siklus Sel Eukariot.....	7
2. 4 Lini Sel kanker DU-145.....	8
2. 5 Struktur Cisplatin.....	10
2. 6 Ilustrasi penggunaan In-Cell Western.....	11
4. 1 Hasil Visualisasi Konfluen Sel 70% dengan pembesaran 4x.....	22
4. 2 Visualisasi Mikroskopik Morfologi Sel DU-145 pembesaran 20x.....	23
4. 3 Hasil Visualisasi Hemositometer pembesaran 4x.....	24
4. 4 Gambar dengan pewarnaan terhadap DU-145 menggunakan alat Li-Cor...	28
4. 5 Grafik perbandingan terhadap DU-145 menggunakan Li-Cor.....	28

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Certificate of Analysis.....	33
2. Skema Kerja Penelitian	34
3. Perhitungan	35
4. Hasil Pengolahan data menggunakan Li-Cor	37
5. Dokumentasi	38

DAFTAR PUSTAKA

- Arisandi, R., & Asep Sukohar. (2016). 'Seledri (*Apium graveolens L*) sebagai Agen Kemopreventif bagi Kanker'. *Majority*, 5(2), 95–100.
- Bialangi, N., Idris, R. R., La Kilo, A., & Kilo, A. K. (2022). 'Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Etil Asetat Daun Sambiloto'. *Jambura Journal of Chemistry*, 4(1), 25–32. <https://doi.org/10.34312/jambchem.v4i1.11957>
- Chairani, A. C. M., & Saptarini, N. M. (2013). 'Review: Aktivitas Anti Inflamasi dan Bioavaibilitas Andrografolid Pada Hewan Uji'. *Farmaka*, 14(2), 18–27.
- Fitria. (2019). 'Herbarium Semarangenses'. 49(Supplement), S-78.
- Hudyono, J. (2016). 'Peran Imunoterapi Komplementer Daun Sambiloto (*Andrographolide paniculata*) sebagai Anti Kanker Melalui Penghambatan Nuclear Factor-KappaB (NF- κ B)'. *Cermin Dunia Kedokteran*, October. https://www.researchgate.net/profile/FebyanFebyan/publication/308874141_The_Complementary_of_Immunotherapy_Leaves_Bitter_Andrographolide_paniculata_as_Anti-Cancer_Through_Inhibition_of_Nuclear_Factor-kappaB_NF-kB_on_Toll-Like_Receptor-4/links/57f3c35d08a
- Hussain, *et al.* (2021). 'Chemotherapy Efficacy and Reducing Side Effects'. *Phytotherapy Research*, 35(12), pp.6514–6529.
- KEMENKES. (2019). 'Info DATIN Pusat Data dan Informasi Kesehatan: Beban Kanker di Indonesia'. 1, 430–439.
- Khumairoh, I., & Puspitasari, I. M. (2016). 'Kultur Sel'. *Jurnal Farmaka*, 14(2), 99–110.
- Linton, J. D., Klassen, R., Jayaraman, V., Walker, H., Brammer, S., Ruparathna, R., Hewage, K., Thomson, J., Jackson, T., Baloi, D., Cooper, D. R., Hoejmose, S. U., Adrien-Kirby, A. J., Sierra, L. A., Pellicer, E., Yepes, V., Giunipero, L. C., Hooker, R. E., Denslow, D., Anane, A. (2020). 'Review Artikel: Apoptosis Pada Kanker Payudara Article'. *Sustainability (Switzerland)*, 14(2), 1–4.
- Lukitasari, M. (2015). 'Buku Biologi Sel'. *Biologi Sel*, 1(9), 1689–1699.
- Marek Gogacz, J. P., Natorka-Chomicka, D., & Anna Makuch-Kocka, and K. D. S. S. (2022). 'Anticancer Effects of Propolis Extracts Obtained with the Cold'. <https://www.Mdpi.Com/Journal/Molecules>, 27.
- Maslahah, N. (2021). 'Sirkuler: Informasi Teknologi Tanaman Rempah dan Obat, Pengenalan dan Manfaat Sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm.f.) ex Nees'. *Balai Penelitian Tanaman Rempah*, 1689–1699.
- Melva, L. (2023). 'Farmakologi Translasi Dalam Pengembangan Obat Baru: Peran Dan Pemanfaatannya Dalam Mewujudkan Kemandirian Obat Nasional'. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Obeng, E. (2021). 'Apoptosis (programmed cell death) and its signals - A review'. *Brazilian Journal of Biology = Revista Brasileira de Biologia*, 81(4), 1133–

1143. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.228437>
- Octaviaini Permana, E. R., Hadi, R. S., & Arifandi, F. (2022). 'Pengaruh Fermentasi Madu (*Apis Mellifera*) Terhadap Gambaran Histologi Ginjal Tikus yang Diinduksi Cisplatin dan Tinjauannya Menurut Pandangan Islam'. *Junior Medical Journal*, 1(2), 206–212. <https://doi.org/10.33476/jmj.v1i2.2916>
- Riskesdas. (2018). 'Penyakit Kanker Prostat di Indonesia'. Badan Penelitian Dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Republik Indonesia.
- Sari, L. M. (2018). 'Apoptosis: Mekanisme Molekuler Kematian Sel'. *Cakradonya Dental Journal*, 10(2), 65–70. <https://doi.org/10.24815/cdj.v10i2.11701>
- Shrivastava, N., Varma, A., & Padh, H. (2011). 'Andrographolide: A new plant-derived antineoplastic entity on horizon'. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2011. <https://doi.org/10.1093/ecam/nep135>
- Syukri, Y., Nugroho, A. E., Martien, R., & Lukitaningsih, E. (2015). 'Validation for The Quantification of Andrographolide Isolated from *Andrographis paniculata* Nees Plant Using HPLC'. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 2(1), 8–14. <http://jsfkonline.org/index.php/jsfk/article/view/42>
- Ulviena, L., & Hadi, R. S. (2023). 'Pengaruh Fermentasi Madu Terhadap Gambaran Sel pada Dinding Tubulus Seminiferus Tikus yang Diinduksi Cisplatin The Effect of Honey Fermentation on the Cell Appearance in the Seminiferous Tubule Wall of Rats Induced by Cisplatin'. *Junior Medical Journal*, 2(2), 237–243.
- Wang, Z. (2021). 'Regulation of cell cycle progression by growth factor-induced cell signaling'. *Cells*, 10(12). <https://doi.org/10.3390/cells10123327>
- Wani, A. K., Akhtar, N., Mir, T. ul G., Singh, R., Jha, P. K., Mallik, S. K., Sinha, S., Tripathi, S. K., Jain, A., Jha, A., Devkota, H. P., & Prakash, A. (2023). 'Targeting Apoptotic Pathway of Cancer Cells with Phytochemicals and Plant-Based Nanomaterials'. *Biomolecules*, 13(2), 1–34. <https://doi.org/10.3390/biom13020194>
- Warditiani, N. ., Widjaja, I. N. K., & Gitarini, N. M. (2022). 'Penetapan Kadar Andrografolid dalam Isolat dari Sambiloto dengan KLT-Spektrofotodensitometri'. *CABI Compendium, CABI Compe*, 1–4.
- WHO. (2020). 'Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries'. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 209–249.
- Wong, H. C., Wong, C. C., Sagineedu, S. R., Loke, S. C., Lajis, N. H., & Stanslas, J. (2014). 'SRJ23, a new semisynthetic andrographolide derivative: in vitro growth inhibition and mechanisms of cell cycle arrest and apoptosis in prostate cancer cells'. *Cell Biology and Toxicology*, 30(5), 269–288. <https://doi.org/10.1007/s10565-014-9282-5>
- Yunita, E. (2021). 'Senyawa Antioksidan'. *Herb-Medicine Journal*, 4, 43–56.
- Zhang, J., et al. (2021). 'In-Cell Western Assay: A Simple and Sensitive Method for Protein Detection'. *Current Protocols in Protein Science*, 105(1), e115.