

**POTENSI SITOTOKSIK ISOLAT ANDROGRAFOLID
(*Andrographis paniculata* (Burm.F)) TERHADAP SEL KANKER
PROSTAT DU-145 DAN PARU A-549 MELALUI JALUR
EKSTRINSIK DENGAN METODE *IN CELL WESTERN***

SKRIPSI

**DINI NURUL UTAMI
A211010**



**SEKOLAH TINGGI FARMASI INDONESIA
YAYASAN HAZANAH
BANDUNG
2025**

**POTENSI SITOTOKSIK ISOLAT ANDROGRAFOLID
(*Andrographis paniculata* (Burm.F) (Burm.F)) TERHADAP SEL
KANKER PROSTAT DU-145 DAN PARU A-549 MELALUI
JALUR EKSTRINSIK DENGAN METODE *IN CELL WESTERN***

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi

**DINI NURUL UTAMI
A211010**



**SEKOLAH TINGGI FARMASI INDONESIA
YAYASAN HAZANAH
BANDUNG
2025**

**POTENSI SITOTOKSIK ISOLAT ANDROGRAFOLID (*Andrographis
paniculata (Burm.F)*) TERHADAP SEL KANKER PROSTAT DU-145 DAN
PARU A-549 MELALUI JALUR EKSTRINSIK DENGAN METODE *IN CELL
WESTERN***

**DINI NURUL UTAMI
A211010**

Agustus 2025

Disetujui Oleh:

Pembimbing 1

Prof. Dr. apt. Aang Hanafiah Ws.,

Pembimbing 2

apt. Maria Ulfah, M.Si

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

Skripsi ini saya persembahkan sebagai bentuk cinta, terima kasih, dan penghargaan kepada Bapak Dede Jamhur dan Ibu Eti Sumiyati yang telah menjadi sumber kekuatan, kasih sayang, dan doa dalam setiap langkah hidup saya; kepada saudara saya, Iman Nurjaman, kakak ipar Maerin Novitasari, dan keponakan tersayang Aqshal Alfath Nuradzam, yang selalu menghadirkan semangat dan energi positif di saat saya lelah.

ABSTRAK

Kanker paru (A-549) dan prostat (DU-145) memiliki angka insiden dan mortalitas tinggi, sementara kemoterapi sering menimbulkan efek samping berat dan resistensi obat. *Andrographis paniculata* (Burm.F) mengandung andrografolid yang dilaporkan bersifat antikanker melalui induksi apoptosis. Penelitian ini mengevaluasi potensi isolat andrografolid dari Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia dalam menginduksi apoptosis pada A-549 dan DU-145 menggunakan metode *In-Cell Western* (ICW). Nilai IC_{50} andrografolid adalah 47,28 $\mu\text{g/mL}$ (A-549) dan 49,35 $\mu\text{g/mL}$ (DU-145) dengan variasi dosis tiap kelompok menggunakan $\frac{1}{2} \times IC_{50}$, $1 \times IC_{50}$, $2 \times IC_{50}$, dan $3 \times IC_{50}$, serta doxorubicin (A-549) dan cisplatin (DU-145) sebagai kontrol positif. Tahapan ICW meliputi fiksasi, permeabilisasi, *blocking*, pemberian antibodi primer (caspase-9), dan deteksi antibodi sekunder berlabel inframerah, diikuti pembacaan sinyal menggunakan *scanner* Li-Cor. Hasil menunjukkan perubahan morfologi apoptosis secara dosis-dependent. Ekspresi caspase-9 meningkat pada kedua lini sel, dengan puncak aktivasi pada dosis tinggi. Sel kanker paru A-549 menunjukkan respons sejak dosis $1 \times IC_{50}$ yaitu sebesar 47,28 $\mu\text{g/mL}$, sedangkan DU-145 memerlukan dosis $\geq 2 \times IC_{50}$ yaitu sebesar 98,7 $\mu\text{g/mL}$ untuk mendekati efektivitas kontrol positif. Aktivasi caspase-9 mengindikasikan keterlibatan jalur intrinsik, dengan kemungkinan kontribusi jalur ekstrinsik melalui mekanisme caspase-8–tBid–mitokondria. Kesimpulannya, isolat andrografolid berpotensi sebagai agen antikanker alami, terutama pada kanker paru, melalui induksi apoptosis jalur intrinsik dengan indikasi keterlibatan jalur ekstrinsik.

Kata kunci: A-549, Andrografolid, DU-145, *In-Cell Western*

ABSTRACT

Lung cancer (A-549) and prostate cancer (DU-145) had high incidence and mortality rates, while chemotherapy often caused severe side effects and drug resistance. *Andrographis paniculata* (Burm. F) contained andrographolide, which had been reported to possess anticancer properties through apoptosis induction. This study evaluated the potential of andrographolide isolate from Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia to induce apoptosis in A-549 and DU-145 cells using the In-Cell Western (ICW) method. The IC_{50} values of andrographolide were 47.28 $\mu\text{g/mL}$ for A-549 and 49.35 $\mu\text{g/mL}$ for DU-145. Treatments were administered at $\frac{1}{2}\times$, $1\times$, $2\times$, and $3\times IC_{50}$, with doxorubicin (A-549) and cisplatin (DU-145) as positive controls. The ICW procedure included fixation, permeabilization, blocking, incubation with primary antibody (caspase-9), and detection with infrared-labeled secondary antibody, followed by signal reading using a Li-Cor scanner. The results showed dose-dependent apoptotic morphological changes. Caspase-9 expression increased in both cell lines, with peak activation at higher doses. A-549 cells responded significantly at $1\times IC_{50}$ (47.28 $\mu\text{g/mL}$), while DU-145 cells required $\geq 2\times IC_{50}$ (98.7 $\mu\text{g/mL}$) to approach the effectiveness of the positive control. Caspase-9 activation indicated the involvement of the intrinsic pathway, with possible contribution from the extrinsic pathway via the caspase-8–tBid–mitochondria mechanism. In conclusion, andrographolide isolate had potential as a natural anticancer agent, particularly against lung cancer, through intrinsic pathway apoptosis induction with indications of extrinsic pathway involvement.

Keywords: A-549, Andrographolide, DU-14, In-Cell Western.

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur ke hadirat Allah SWT atas rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi yang berjudul **“Potensi Sitotoksik Isolat Andrografolid (*Andrographis paniculata* (Burm.F)) terhadap Sel Kanker Prostat DU-145 dan Paru A-549 melalui Jalur Ekstrinsik dengan Metode *In Cell Western*.”**

Penelitian dan penulisan hasil penelitian ditujukan untuk memenuhi salah satu syarat mendapatkan gelar sarjana pada Program Studi Sarjana Farmasi Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia.

Penulis mengucapkan terimakasih kepada dosen pembimbing Prof. Dr. apt. Aang Hanafiah Ws., dan apt. Maria Ulfah, M.Si., atas bimbingan, nasihat, dan dukungan yang luar biasa selama proses penelitian hingga penulisan laporan ini. Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada.

1. Dr. apt. Adang Firmasnyah, M.Si., selaku Ketua Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia,
2. Dr. apt. Diki Prayugo, M.Si., selaku Wakil Ketua 1 Bidang Akademik,
3. Dr. apt. Wiwin Winingsih, M.Si., selaku Ketua Program Studi Sarjana Farmasi,
4. apt. Anggi Restiasari, M.H. Kes., M.S. Farm., selaku Dosen Wali yang telah memberikan bimbingan dan arahan kepada penulis,
5. Seluruh staf dosen, staf administrasi, serta karyawan Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia,
6. Laboratorium Riset Translasi Farmasi, Lab. Sentral-Biologi Molekuler, Universitas Padjadjaran, atas fasilitas laboratorium yang telah digunakan dalam penelitian ini,
7. Serta sahabat-sahabat angkatan 2021 yang telah memberikan dukungan dan semangat selama penulis kuliah di Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia.

Penulis menyadari bahwa Penulisan dan Hasil Penelitian ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu, kritik dan saran yang membangun sangat penulis harapkan demi perbaikan di masa mendatang.

Bandung, Agustus 2025

Penulis

DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN	i
KUTIPAN	ii
LEMBAR PERSEMBAHAN	iii
ABSTRAK	iv
<i>ABSTRACT</i>	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1Latar Belakang	1
1.2Identifikasi Masalah	2
1.3Tujuan Penelitian.....	2
1.4.Kegunaan Penelitian.....	2
1.5Waktu dan Tempat Kegiatan.....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1Tinjauan Senyawa Andrografolid	4
2.2Siklus Sel.....	4
2.3Apoptosis.....	5
2.4Kanker	7
2.4.1.Jenis Kanker yang Diteliti	7
2.4.2.Karsinogenik.....	8
2.5Kultur dan Lini Sel Kanker	9
2.5.1Kultur Sel.....	9
2.5.2Lini Sel Kanker Prostat DU-145	9
2.5.3Lini Sel Kanker Paru A-549	10
2.6.Cisplatin	10
2.8.Metode Uji dan Analisis.....	11
2.8.1Uji Sitotoksik.....	11
2.8.2Metode In-Cell Western	12

BAB III TATA KERJA	13
3.1Alat	13
3.2Bahan	13
3.3Metode Penelitian	13
3.4Prosedur Penelitian	13
3.4.1Media Kultur Lengkap	13
3.4.2Thawing Sel	13
3.4.3Kultur Sel	14
3.4.4Rekultur Sel	14
3.4.5Analisis Hemositometer	15
3.4.6Plating Sel dalam 96-Well Plate	16
3.4.7Preparasi Suspensi Stok Sampel dan Media Kontrol	17
3.4.8Sel Treatment	19
3.4.9First Treatment	19
3.4.10Secondary Treatment	20
3.4.11Measure Signal	20
BAB IV PEMBAHASAN	21
4.1.Konfluen Kultur Sel	21
4.2.Analisis Hemositometer	22
4.3.Perlakuan Sampel	23
4.4.Uji In Cell Western	27
BAB V SIMPULAN DAN SARAN	33
5.1.Simpulan	33
5.2Alur Penelitian Selanjutnya	33
DAFTAR PUSTAKA	34
LAMPIRAN	37

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
4.1. Hasil perhitungan jumlah sel yang tersedia	21
4.2. Perhitungan volume pengenceran suspensi sel	21
4.3. Aktivasi Caspase-9 terhadap Sel Kanker A-549	27
4.4. Aktivasi Caspase-9 terhadap sel kanker DU-145.....	28

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Struktur Andrografolid (NCBI, 2025).....	4
2.2 Empat Fase dalam Siklus Sel (Zain et al., 2023)	5
2.3 Apoptosis (Aisyah et al., 2019).....	6
2.4 Lini Sel Kanker Prostat DU-145 (ATCC, 2023b).....	9
2.5 Lini Sel Kanker Paru-Paru A-549 (ATCC, 2023a).....	10
4.1 Visualisasi Mikroskopik Sel A-549 dan DU-145 Perbesaran 20x (Dokumentasi pribadi, 2025)	21
4.2 Hasil Visualisasi Hemasitometer Terhadap Stok Suspensi (Dokumentasi pribadi, 2025)	22
4.3 Visualisasi Mikroskop setelah Perlakuan Sampel terhadap Sel A- 549 pada Perbesaran 20x (Dokumentasi pribadi, 2025)	24
4.4 Visualisasi Mikroskop setelah Perlakuan Sampel terhadap Sel DU- 145 pada Perbesaran 20x (Dokumentasi pribadi, 2025)	25
4.5 Visualisasi Pewarnaan terhadap Sel Kanker A-549 menggunakan alat Li-Cor (Dokumentasi pribadi, 2025).....	27
4.6 Grafik Aktivasi Caspase-9 terhadap Sel Kanker A-549 (Dokumentasi pribadi, 2025)	28
4.7 Grafik Aktivasi Caspase-9 terhadap Sel Kanker DU-145 (Dokumentasi pribadi, 2025)	29

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. <i>Certificate of Analysis</i>	36
2. Skema Kerja Penelitian	37
3. Perhitungan	38
4. Hasil Pengolahan data menggunakan <i>Li-Cor</i>	40

DAFTAR PUSTAKA

- Achkar, I.W. *et al.* (2018) ‘Ciplastatin Based Therapy: The role of The Mitogen Activated Protein Kinase Signaling Pathway’, *Journal of Translational Medicine*, 16(1), p. 96. Available at: <https://doi.org/10.1186/s12967-018-1471-1>.
- Aisyah, R. *et al.* (2019) *Biologi Molekuler*. Surakarta: Muhamadiyah University Press.
- Aminudin, M. *et al.* (2022) ‘Aspek Makronutrien Dalam Perkembangan Penyakit Kanker Prostat’, *Medula*, 12, pp. 531–536. Available at: <https://doi.org/10.53089/medula.v12i3.487>.
- Astawa, N.M. (2018) *Dasar Dasar Patobiologi Molekuler*. Surabaya: Airlangga University Press.
- ATCC (2023a) A -549. Manassas: ATCC.
- ATCC (2023b) DU-145. Manassas: ATCC.
- Bachtiar, A. (2023) *Asuhan Keperawatan Pasien dengan Gangguan Kebutuhan Oksigen Akibat Patologis Sistem pernapasan*. Yogyakarta: Deepublish Digital.
- Daniswara, C.L. (2020) ‘Pencitraan Kanker Prostat’, *CDK*-283, 47(2). Available at: <https://doi.org/10.55175/cdk.v47i2.286>.
- Gong, L. *et al.* (2022) ‘Regulated Cell Death in Cancer : From Pathogenesis to treatment’, *Chinese Medical Journal*, 136(6), pp. 653–665. Available at: <https://doi.org/10.1097/CM9.0000000000002239>.
- Hao, M. *et al.* (2023) ‘Pharmacology Mechanisms and Clinical Application of Curcumin’, *Aging and disesease*, 14(3), pp. 716–749. Available at: <https://doi.org/10.14336/AD.2022.1101> Abstract.
- Kemenkes (2024) *RENCANA KANKER NASIONAL 2024-2034*. Jakarta: Kemenkes.
- Koleini, N. *et al.* (2019) ‘Oxidized phospholipids in Doxorubicin-induced cardiotoxicity’, *Chemico-biological interactions*, 303, pp. 35–39. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2019.01.032>.
- LicorBio (2020) *In-Cell Western™ Assay Development Handbook*. Jakarta: LicorBio.
- Louise, K.S. and Siegel, A. (2011) ‘Cell Viability Analysis U Trypan Blue: Manual and Automated Methods’, *Methods Mol Biol.*, 740. Available at: https://doi.org/10.1007/978-1-61779-108-6_2.
- Lu, L.D. and Joseph M Salvino (2023) ‘The In-Cell Western Immunofluorensse assay to monitor PROTAC mediated protein degradation’, *Methods Enzymol*, 681, pp. 115–153. Available at: <https://doi.org/10.1016/bs.mie.2022.08.012>.
- Lukitasari, M. (2015) *Biologi Sel*. Malang: Universitas Negeri Malang.

- Lyon, F. and Geneva, S. (2024) *Global Cancer Burden Growing, Amidst Mounting Need for Services*, World Health Organization. Available at: <https://www.who.int/news/item/01-02-2024-global-cancer-burden-growing--amidst-mounting-need-for-services> (Accessed: 3 February 2025).
- Mir, H. *et al.* (2016) 'Andrographolide inhibits prostate cancer by targeting cell cycle regulators, CXCR3 and CXCR7 chemokine receptors', *CELL CYCLE*, 15(16), pp. 819–826. Available at: <https://doi.org/10.1080/15384101.2016.1148836>.
- Nurani, L.H. *et al.* (2023) *Kanker dan Karsinogenesis*. Yogyakarta: UAD PRESS.
- Rahmawati, R. and Pertiwi, R. (2024) *Buku Saku Farmakologi Obat Kanker*. Cilacap: PT Media Pustaka Indo.
- Roman, I.S.F. *et al.* (2019) 'Andrographolide Induces DNA Damage in Prostate Cancer Cells', *Oncotarget*, 10(10), pp. 1085–1101. Available at: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.26628> Abstract.
- Rubio, C. *et al.* (2019) 'Activation of the Extrinsic and Intrinsic Apoptotic Pathways in Cerebellum Of Kindie Rats', *The Cerebellum*, 18(4), pp. 750–760. Available at: <https://doi.org/10.1007/s12311-019-01030-8>.
- Sabila, R. *et al.* (2020) 'Review : Sintesis Senyawa Turunan Andrografolid dengan Modifikasi pada Gugus Hidroksil C-14', *Journal of Pharmacy Science and Practice*, 7, pp. 55–63.
- Sanchez-Diez, M. *et al.* (2025) 'Assesment of Cell Viability in Drug Therapy : IC50 and Other New Time-Indepedent For Evaluating Chemotheraph Efficacy', *Pharmaceutics*, 17(2), p. 247. Available at: <https://doi.org/doi.org/10.3390/pharmaceutics17020247>.
- Sari, L.M. (2018) 'Apoptosis : Mekanisme Molekuler Kematian Sel', *Cakradonya Dental Journal*, 10(2), pp. 65–70. Available at: <https://doi.org/10.24815/cdj.v10i2.11701>.
- Silaen, S. (2021) *Biologi Sel dan Molekuler*. Tasikmalaya: Perkumpulan Rumah Cemerlang Indonesia.
- Sritharan, S. and Nageswaran sivalingam (2021) 'A comprehensive review on time-tested anticancer drug doxorubicin', *Life sciences*, 278. Available at: <https://doi.org/doi.org/10.1016/j.lfs.2021.119527>.
- Sumitro, S.B. *et al.* (2017) *Biologi Sel : Sebuah Perspektif Memahami Sistem Kehidupan*. Malang: UB Press.
- Susanti *et al.* (2017) 'Potensi Toksisitas Andrografolid dari Sambiloto pada Kulit dan Mata Secara In Silico', *Jurnal Farmasi Udayana*, 6(1), pp. 47–49.
- Tolosa, L. *et al.* (2015) 'General Cytotoxicity Assesment by Means of the MTT Assay', *Methods in Molecular Biology*, 1250, pp. 333–348. Available at: https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2074-7_26.
- Topman, G. *et al.* (2011) 'A Method For Quick, Low-Cost Automated Confluency Measurements', *Microscopy and Microanalysis*, 17(6), pp. 915–922. Available at: <https://doi.org/10.1017/S1431927611012153>.

- Wang, S. *et al.* (2020) 'Andrographolide induces apoptosis in human osteosarcoma cells via the ROS/JNK pathway', *INTERNATIONAL JOURNAL OF ONCOLOGY*, 56(6), pp. 1417–1428. Available at: <https://doi.org/10.3892/ijo.2020.5032>.
- Wangsaatmadja, A.H.R. *et al.* (2024) 'Cytotoxicity Assay of Andrographolide Isolated from Sambiloto Herb againts Lung Cancer A-549 dan Prostate DU-145 Cell Lines', *Tropical Journal of Natural Product Research*, 8(5), pp. 7201–7206. Available at: <https://doi.org/doi.org/10.26538/tjnpr/v8i5.22>.
- Yuwen, D. *et al.* (2017) 'Andrographolide enhances cisplatin-mediated anticancer effects in lung cancer cells through blockade of autophagy', *Anti-cancer drugs*, 28(9), pp. 967–976. Available at: <https://doi.org/10.1097/CAD.0000000000000537>.
- Zain, K.R. *et al.* (2023) *Buku Ajar Biologi Sel dan Genetika*. Pekalongan: PT Nasya Expanding Management.