

**EVALUASI PENGARUH ANDROGRAFOLID TERHADAP
VIABILITAS SEL NEUROBLASTOMA MANUSIA SH-SY5Y
PADA PAPARAN HIDROGEN PEROKSIDA (H₂O₂) SECARA *IN*
*VITRO***

SKRIPSI

**DINI WAHYUNI
A221012**



**SEKOLAH TINGGI FARMASI INDONESIA
YAYASAN HAZANAH
BANDUNG
2026**

**EVALUASI PENGARUH ANDROGRAFOLID TERHADAP
VIABILITAS SEL NEUROBLASTOMA MANUSIA SH-SY5Y
PADA PAPARAN HIDROGEN PEROKSIDA (H₂O₂) SECARA *IN*
*VITRO***

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi

**DINI WAHYUNI
A221012**



**SEKOLAH TINGGI FARMASI INDONESIA
YAYASAN HAZANAH
BANDUNG
2026**

**EVALUASI PENGARUH ANDROGRAFOLID TERHADAP VIABILITAS
SEL NEUROBLASTOMA MANUSIA SH-SY5Y PADA PAPARAN
HIDROGEN PEROKSIDA (H₂O₂) SECARA *IN VITRO***

**DINI WAHYUNI
A221012**

**Juli 2026
Disetujui oleh :**

Pembimbing



apt. Seno Aulia Ardiansyah, M.Si.

Pembimbing



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.

Saya persembahkan skripsi ini sebagai ungkapan syukur kepada Allah SWT, diri sendiri, cinta pertamaku, Bapak Basri, yang telah mengajarkanku arti kerja keras, ketulusan, dan pengorbanan tanpa batas; kepada belahan jiwaiku, Mamah Nur, yang tak pernah lelah memelukku dengan doa, kasih sayang, dan cinta yang tak bertepi; serta kepada kakak, adikku tercinta, dan seluruh keluarga yang selalu menjadi tempat pulang, sumber semangat, dan penguat di setiap langkahku.

لَا يُكَلِّفُ اللَّهُ نَفْسًا إِلَّا وُسْعَهَا

Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya (QS. Al-Baqarah [2]: 286)

ABSTRAK

Stres oksidatif berperan dalam kerusakan neuron dan perkembangan penyakit neurodegeneratif. Andrografolid memiliki aktivitas antioksidan yang berpotensi mempertahankan fungsi sel dalam kondisi oksidatif. Penelitian ini bertujuan mengevaluasi pengaruh andrografolid terhadap viabilitas sel neuroblastoma manusia SH-SY5Y yang dipapar hidrogen peroksida (H_2O_2). Penelitian eksperimental *in vitro* dilakukan dengan memaparkan sel pada H_2O_2 100 μM selama 24 jam dan memberikan andrografolid pada konsentrasi 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5; 3; dan 3,5 μM . N-asetilsistein 2 mM digunakan sebagai kontrol positif. Viabilitas diukur menggunakan WST-8 pada 450 nm dengan panjang gelombang referensi 620 nm. Data berasal dari tiga replikasi teknis dalam satu eksperimen dan disajikan sebagai rerata $\pm$ simpangan baku. Viabilitas kontrol sel, H_2O_2 , dan NAC + H_2O_2 masing-masing sebesar $100,00 \pm 6,86\%$; $106,51 \pm 5,91\%$; dan $107,69 \pm 2,35\%$. Andrografolid menghasilkan viabilitas 101,01–120,12%, dengan nilai tertinggi pada 1 μM sebesar $120,12 \pm 5,17\%$, tanpa pola dosis-respons monoton. Paparan H_2O_2 belum membentuk model cedera sel berdasarkan parameter WST-8. Andrografolid 0,5–3,5 μM tidak menunjukkan sitotoksitas, tetapi efek neuroprotektifnya belum dapat dibuktikan pada kondisi penelitian ini.

Kata kunci: andrografolid, hidrogen peroksida, SH-SY5Y, viabilitas sel, WST-8.

ABSTRACT

Oxidative stress contributes to neuronal damage and neurodegenerative disease progression. Andrographolide possesses antioxidant activity that may preserve cellular function under oxidative conditions. This study evaluated the effect of andrographolide on the viability of human SH-SY5Y neuroblastoma cells exposed to hydrogen peroxide (H_2O_2). In this in vitro experiment, cells were exposed to 100 μM H_2O_2 for 24 hours and treated with andrographolide at concentrations of 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, and 3.5 μM . N-acetylcysteine at 2 mM served as the positive control. Viability was measured using the WST-8 assay at 450 nm with a 620 nm reference wavelength. Three technical replicates were analyzed and reported as mean $\pm$ standard deviation. Viability in the cell control, H_2O_2 , and NAC + H_2O_2 groups was $100.00 \pm 6.86\%$, $106.51 \pm 5.91\%$, and $107.69 \pm 2.35\%$, respectively. Andrographolide produced viability values of 101.01–120.12%, with the highest value at 1 μM ($120.12 \pm 5.17\%$), without a monotonic dose–response pattern. H_2O_2 exposure did not establish cellular injury based on WST-8. Andrographolide at 0.5–3.5 μM was not cytotoxic, but its neuroprotective effect could not be demonstrated under these conditions.

Keywords: andrographolide, hydrogen peroxide, SH-SY5Y, cell viability, WST-8.

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahim,

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT atas segala berkah rahmat dan ridho-Nya penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi yang berjudul **“Evaluasi Pengaruh Andrografolid Terhadap Viabilitas Sel Neuroblastoma Manusia SH-SY-5Y Pada Paparan Hidrogen Peroksida (H₂O₂) Secara *In Vitro*”**,

Penelitian dan penulisan skripsi ini dilakukan untuk memenuhi salah satu syarat untuk mendapatkan gelar sarjana pada Program Studi Sarjana Farmasi Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada dosen pembimbing apt. Seno Aulia Ardiansyah, M.Si. dan apt. Maria Ulfah, M.Si., atas bimbingan, nasihat, dukungan, serta pengorbanan yang diberikan. Pada kesempatan ini, tidak lupa penulis mengucapkan terima kasih 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. Hesti Riasari, M.Si., selaku Ketua Program Studi Sarjana Farmasi,
4. Dr. apt. Revika Rachmaniar, M. Farm., selaku Dosen Wali yang telah banyak memberikan bimbingan dan arahan kepada penulis,
5. Seluruh dosen, staff administrasi, serta seluruh karyawan Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia atas ilmu, pengalaman dan bantuan kepada penulis selama penelitian.
6. Orang tua, adik, kakak dan keluarga tercinta yang senantiasa memberikan doa, kasih sayang, dukungan, serta semangat yang tiada henti kepada penulis.
7. Seluruh teman-teman angkatan 2022 yang telah memberikan semangat, dukungan, serta kebersamaan yang berarti kepada penulis selama menempuh pendidikan di Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia.

Saya menyadari bahwa skripsi ini masih memiliki beberapa keterbatasan. Oleh karena itu, dengan kerendahan hati, saya membuka diri untuk menerima kritik dan saran yang konstruktif. Semoga segala upaya dan karya ini dapat menjadi berkat dan bermanfaat bagi dunia akademik dan masyarakat luas. Semoga bantuan dan dukungan dari berbagai pihak menjadi amal jariyah.

Bandung, Juli 2026
Penulis

DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN	i
KUTIPAN	ii
PERSEMBAHAN	iii
ABSTRAK	iv
<i>ABSTRACT</i>	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Identifikasi Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Kegunaan Penelitian	3
1.5 Waktu dan Tempat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Tanaman Sambiloto	4
2.1.1 Sejarah Tumbuhan	4
2.1.2 Klasifikasi Tanaman Sambiloto	4
2.1.3 Morfologi Tanaman	5
2.2 Andrografolid	6
2.2.1 Sifat Fisikokimia	6
2.2.2 Aktivitas Farmakologi Andrografolid	7
2.2.3 Mekanisme Neuroprotektif Andrografolid	7
2.3 Sel Neuroblastoma Manusia SH-SY5Y	8
2.3.1 Definisi Sel SH-SY5Y	8

2.3.2 Karakteristik Sel SH-SY5Y	8
2.4 Stres Oksidatif	9
2.4.1 Definisi.....	9
2.4.2 Pembentukan Radikal Bebas	9
2.4.3 Mekanisme Kerusakan.....	10
2.5 Hidrogen Peroksida (H ₂ O ₂).....	11
2.5.1 Definisi dan Karakteristik H ₂ O ₂	11
2.6 Viabilitas Sel	11
2.7 Metode Water-Soluble Tetrazolium Salt-8 (WST-8).....	12
2.7.1 Definisi dan Prinsip Metode WST-8	12
2.7.2 Kelebihan dan Kekurangan Metode WST-8.....	12
BAB III TATA KERJA	13
3.1 Alat	13
3.2 Bahan.....	13
3.3 Metode Penelitian.....	13
3.3.1 Pencairan (<i>Thawing</i>) Sel.....	13
3.3.2 Pemeliharaan dan Subkultur Sel	13
3.3.3 Penanaman (<i>Plating</i>) Sel	14
3.3.4 Persiapan Larutan Uji Andrografolid dan H ₂ O ₂	14
3.3.5 Perlakuan Sel dengan H ₂ O ₂ dan Andrografolid.....	15
3.3.6 Uji Viabilitas.....	15
3.3.7 Analisis Data.....	16
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	17
4.1 Pencairan (<i>Thawing</i>) Sel SH-SY5Y	17
4.2 Pemeliharaan dan Subkultur Sel SH-SY5Y	17
4.3 Penanaman (<i>Plating</i>) Sel SH-SY5Y.....	17
4.4 Persiapan Larutan Uji Andrografolida dan H ₂ O ₂	18
4.5 Perlakuan Sel dengan H ₂ O ₂ dan Andrografolid	18
4.6 Uji Viabilitas Metode Water-Soluble Tetrazolium Salt-8 (WST-8) ...	19
BAB V SIMPULAN DAN ALUR PENELITIAN SELANJUTNYA	24

5.1 Simpulan.....	24
5.2 Alur Penelitian Selanjutnya.....	24
DAFTAR PUSTAKA	25
LAMPIRAN.....	37

DAFTAR TABEL

Tabel		Halaman
4.1	Hasil Uji Viabilitas Kelompok Kontrol.....	20
4.2	Persentase Viabilitas Sel SH-SY5Y.....	21

DAFTAR GAMBAR

Gambar		Halaman
2.1	Sambiloto (<i>Andrographis paniculata</i>).....	5
2.2	Struktur Molekul Andrografolid.....	6
2.3	Morfologi Sel SH-SY5Y.....	9
4.1	Grafik % Viabilitas Sel.....	21

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran		Halaman
1	<i>Certificate of Analysis</i>	28
2	Perhitungan Pengenceran.....	29
3	Dokumentasi Larutan Andrografolid dan H ₂ O ₂	32
4	Dokumentasi Morfologi Sel.....	33
5	Perhitungan Jumlah Sel.....	36
6	Data Absorbansi.....	37

DAFTAR PUSTAKA

- Adan, A., Kiraz, Y., & Baran, Y. (2016). Cell Proliferation and Cytotoxicity Assays. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 17(14), 1213–1221.
- Akhayar, Z. 2025, Dahlan, D., Lahmi, A., & Hakim, R. (n.d.). Mekanisme Kerja Otak Dan Sistem Syaraf. 2025, 5(2).
- Aslantürk, Ö. S. (2018). In Vitro Cytotoxicity and Cell Viability Assays: Principles, Advantages, and Disadvantages. In M. L. Larramendy & S. Soloneski (Eds), *Genotoxicity—A Predictable Risk to Our Actual World*. InTech.
- Bilia, A. R., Nardiello, P., Piazzini, V., Leri, M., Bergonzi, M. C., Bucciantini, M., & Casamenti, F. (2019). Successful Brain Delivery of Andrographolide Loaded in Human Albumin Nanoparticles to TgCRND8 Mice, an Alzheimer's Disease Mouse Model. *Frontiers in Pharmacology*, 10, 910.
- Calabrese, E. J., & Kozumbo, W. J. (2021). The hormetic dose-response mechanism: Nrf2 activation. *Pharmacological Research*, 167, 105526.
- Chen, X., Ren, J., Yang, J., Zhu, Z., Chen, R., & Zhang, L. (2023). A critical review of *Andrographis paniculata*. *Medicinal Plant Biology*, 2(1), 0–0.
- Cisternas, P., Oliva, C. A., Torres, V. I., Barrera, D. P., & Inestrosa, N. C. (2019). Presymptomatic Treatment With Andrographolide Improves Brain Metabolic Markers and Cognitive Behavior in a Model of Early-Onset Alzheimer's Disease. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 13, 295.
- Cobley, J. N., Fiorello, M. L., & Bailey, D. M. (2018). 13 reasons why the brain is susceptible to oxidative stress. *Redox Biology*, 15, 490–503.
- Dravid, A., Raos, B., Svirskis, D., & O'Carroll, S. J. (2021). Optimised techniques for high-throughput screening of differentiated SH-SY5Y cells and application for neurite outgrowth assays. *Scientific Reports*, 11(1), 23935.
- Feles, S., Overath, C., Reichardt, S., Diegeler, S., Schmitz, C., Kronenberg, J., Baumstark-Khan, C., Hemmersbach, R., Hellweg, C. E., & Liemersdorf, C. (2022). Streamlining Culture Conditions for the Neuroblastoma Cell Line SH-SY5Y: A Prerequisite for Functional Studies. *Methods and Protocols*, 5(4), 58.
- Garrido-Pascual, P., Alonso-Varona, A., Castro, B., Burón, M., & Palomares, T. (2020). H₂O₂-preconditioned human adipose-derived stem cells (HC016) increase their resistance to oxidative stress by overexpressing Nrf2 and bioenergetic adaptation. *Stem Cell Research & Therapy*, 11(1), 335.
- Gu, L., Yu, Q., Li, Q., Zhang, L., Lu, H., & Zhang, X. (2018). Andrographolide Protects PC12 Cells Against β -Amyloid-Induced Autophagy-Associated Cell Death Through Activation of the Nrf2-Mediated p62 Signaling Pathway. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(9), 2844.
- Ischak, N. I., & Botutihe, D. N. (2020). Preliminary Study of Clinical Antidiabetic Activity of Salam Leaves (*Eugenia Polyantha*) and Sambiloto Leaves (*Andrographis Paniculata*) In Type 2 Diabetic Patients. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 589(1), 012034.

- Kamiloglu, S., Sari, G., Ozdal, T., & Capanoglu, E. (2020). Guidelines for cell viability assays. *Food Frontiers*, 1(3), 332–349.
- Ketterman, A. J., Wongtrakul, J., & Saisawang, C. (2020). Phytochemical andrographolide modulates NF- κ B and JNK in human neuroblastoma SH-SY5Y cells, a cell model for Parkinson's disease. *Heliyon*, 6(6), e04121.
- Li, Y., Ye, Z., Lu, P., & Lu, L. (2021). Pyomelanin produced by *Streptomyces* sp. ZL-24 and its protective effects against SH-SY5Y cells injury induced by hydrogen peroxide. *Scientific Reports*, 11(1), 16649.
- Lu, J., Ma, Y., Wu, J., Huang, H., Wang, X., Chen, Z., Chen, J., He, H., & Huang, C. (2019). A review for the neuroprotective effects of andrographolide in the central nervous system. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 117, 109078.
- Madorran, E., Ambrož, M., Knez, J., & Sobočan, M. (2024). An Overview of the Current State of Cell Viability Assessment Methods Using OECD Classification. *International Journal of Molecular Sciences*, 26(1), 220.
- Mahaseeth, T., & Kuzminov, A. (2017). Potentiation of hydrogen peroxide toxicity: From catalase inhibition to stable DNA-iron complexes. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 773, 274–281.
- Mokhtari, V., Afsharian, P., & Kalantar, S. M. (2017). *A Review on Various Uses of N-Acetyl Cysteine*.
- Nichols, E., Steinmetz, J. D., Vollset, S. E., Fukutaki, K., Chalek, J., Abd-Allah, F., Abdoli, A., Abualhasan, A., Abu-Gharbieh, E., Akram, T. T., Al Hamad, H., Alahdab, F., Alanezi, F. M., Alipour, V., Almustanyir, S., Amu, H., Ansari, I., Arabloo, J., Ashraf, T., ... Vos, T. (2022). Estimation of the global prevalence of dementia in 2019 and forecasted prevalence in 2050: An analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *The Lancet Public Health*, 7(2), e105–e125.
- Prasertsuksri, P., Kraokaew, P., Pranweerapaiboon, K., Sobhon, P., & Chaithirayanon, K. (2023). Neuroprotection of Andrographolide against Neurotoxin MPP⁺-Induced Apoptosis in SH-SY5Y Cells via Activating Mitophagy, Autophagy, and Antioxidant Activities. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(10), 8528.
- Ramalingam, M., & Kim, S.-J. (2014). The role of insulin against hydrogen peroxide-induced oxidative damages in differentiated SH-SY5Y cells. *Journal of Receptors and Signal Transduction*, 34(3), 212–220.
- Shipley, M. M., Mangold, C. A., & Szpara, M. L. (2016). Differentiation of the SH-SY5Y Human Neuroblastoma Cell Line. *Journal of Visualized Experiments*, (108), 53193.
- Sies, H. (2017). Hydrogen peroxide as a central redox signaling molecule in physiological oxidative stress: Oxidative eustress. *Redox Biology*, 11, 613–619.
- Sikumalay, A., Suharti, N., & Masri, M. (2016). Efek Antibakteri dari Rebusan Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) dan Produk Herbal Sambiloto Terhadap *Staphylococcus Aureus*. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 5(1).
- Tian, X., Gao, L., An, L., Jiang, X., Bai, J., Huang, J., Meng, W., & Zhao, Q. (2016). Pretreatment of MQA, a caffeoylquinic acid derivative compound, protects

- against H₂ O₂ -induced oxidative stress in SH-SY5Y cells. *Neurological Research*, 38(12), 1079–1087.
- Whaley, D., Damyar, K., Witek, R. P., Mendoza, A., Alexander, M., & Lakey, J. R. (2021). Cryopreservation: An Overview of Principles and Cell-Specific Considerations. *Cell Transplantation*, 30, 0963689721999617.
- Widiastuti, I. A. E. (2022). *Stres Oksidatif Yang Diinduksi Oleh Latihan Fisik*.
- Xicoy, H., Wieringa, B., & Martens, G. J. M. (2017). The SH-SY5Y cell line in Parkinson's disease research: A systematic review. *Molecular Neurodegeneration*, 12(1), 10.
- Yunita, E. (2021). Mekanisme Kerja Andrografolida Dari Sambiloto Sebagai Senyawa Antioksidan. *Herb-Medicine Journal*, 4(1), 43.
- Zeng, B., Wei, A., Zhou, Q., Yuan, M., Lei, K., Liu, Y., Song, J., Guo, L., & Ye, Q. (2022a). Andrographolide: A review of its pharmacology, pharmacokinetics, toxicity and clinical trials and pharmaceutical researches. *Phytotherapy Research*, 36(1), 336–364.
- Zeng, B., Wei, A., Zhou, Q., Yuan, M., Lei, K., Liu, Y., Song, J., Guo, L., & Ye, Q. (2022b). Andrographolide: A review of its pharmacology, pharmacokinetics, toxicity and clinical trials and pharmaceutical researches. *Phytotherapy Research*, 36(1), 336–364.
- Zhang, J., Li, C., Zhang, L., Heng, Y., Wang, S., Pan, Y., Cai, L., Zhang, Y., Xu, T., Chen, X., Hoffman, R. M., & Jia, L. (2022). Andrographolide, a diterpene lactone from the Traditional Chinese Medicine *Andrographis paniculata*, induces senescence in human lung adenocarcinoma via p53/p21 and Skp2/p27. *Phytomedicine*, 98, 153933.