

KARYA TULIS ILMIAH

**UJI AKTIVITAS FRAKSI KLOOROFORM HERBA BANDOTAN (*Ageratum
conyzoides* L.) DAN 5-FLUOROURASIL SEBAGAI KO-KEMOTERAPI
PADA SEL KANKER SERVIKS HELA SECARA *IN VITRO* DAN *IN
SILICO***

**Disusun untuk Memenuhi Salah Satu Syarat Memperoleh Derajat Sarjana
Farmasi pada Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu
Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta**



Disusun oleh

TITI KOMALASARI

20130350110

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH YOGYAKARTA**

2017

HALAMAN PENGESAHAN KTI

UJI AKTIVITAS FRAKSI KLOOROFORM HERBA BANDOTAN (*Ageratum conyzoides* L.) DAN 5-FLUOROURASIL SEBAGAI KO-KEMOTERAPI PADA SEL KANKER SERVIKS HELA SECARA *IN VITRO* DAN *IN SILICO*

Disusun oleh
TITI KOMALASARI
20130350110

Telah disetujui dan diseminarkan pada tanggal 29 April 2017

Dosen Pembimbing



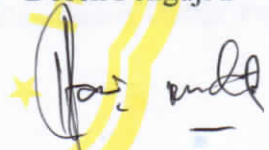
Rifki Febriansah, M.Sc., Apt
NIK. 19870227201210173188

Dosen Penguji 1



Sri Tasminatun, M.Si., Apt
NIK. 19711106199904173036

Dosen Penguji 2



Hari Widada, M.Sc., Apt
NIK. 19770721201004173120

Mengetahui,

Ketua Program Studi Farmasi
Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan
Universitas Muhammadiyah Yogyakarta



Sabtanti Harimurti, S.Si., M.Sc., Ph.D., Apt.
NIK. 19730223201310173127

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Titi Komalasari

Nim : 20130350110

Program Studi : Farmasi

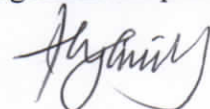
Fakultas : Fakultas Kedokteran Dan Ilmu Kesehatan

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa Karya Tulis Ilmiah yang saya tulis benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri dan belum pernah diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan tercantumkan dalam Daftar Pustaka dibagian akhir Karya Tulis Ilmiah ini.

Apabila di kemudian hari terbukti atau dibuktikan Karya Tulis Ilmiah ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Yogyakarta, 27 April 2017

Yang membuat pernyataan



Titi Komalasari

NIM: 20130350110

KATA PENGANTAR

Alhamdulillahirobbil'alamin, Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah *subhaanahu wa ta'ala* karena berkat rahmat-Nya penulis dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah (KTI) yang berjudul “Uji Aktivitas Fraksi Kloroform Herba Bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) dan 5-Fluorourasil sebagai Ko-Kemoterapi pada Sel Kanker Serviks HeLa secara *In Vitro* dan *In Silico*”. Karya tulis ilmiah ini disusun untuk untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh derajat sarjana farmasi di Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.

Karya tulis ilmiah ini dapat terselesaikan berkat taufik dan kemudahan dari Allah *subhanahu wa ta'ala*. Penulis menyadari bahwa selama proses penelitian dan penulisan KTI ini terdapat banyak hambatan, namun *Alhamdulillah* KTI ini dapat terselesaikan berkat taufik dan kemudahan dari Allah *subhanahu wa ta'ala* kemudian atas bantuan, masukan dan bimbingan dari banyak pihak. Oleh karena itu, penulis mengucapkan *jazaakumullaahu khaira* kepada :

1. Ibu Sabtanti Harimurti S.Si., M.Sc., Ph.D., Apt., selaku ketua program studi Farmasi sekaligus sebagai Dosen Pembimbing Akademik yang telah mendampingi penulis selama belajar di Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.
2. Bapak Rifki Febriansah, M.Sc., Apt., selaku dosen pembimbing penelitian yang telah memberi bantuan, masukan dan bimbingannya selama penelitian hingga penyusunan KTI ini.

3. Ibu Sri Tasminatun, M.Sc., Apt., dan Bapak Hari Widada, M.Sc., Apt., selaku dosen penguji atas semua saran dan masukannya demi perbaikan KTI ini.
4. Semua dosen Program Studi Farmasi Universitas Muhammadiyah Yogyakarta yang telah berbagi ilmu pengetahuan yang sangat bermanfaat bagi penulis.
5. Seluruh staf di Laboratorium Teknologi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta dan Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada yang telah mengizinkan dan membantu pelaksanaan penelitian KTI ini.
6. Kedua orangtua, Aswan, S.Pd dan Safiah, S.Pd atas segala dukungan dan nasihatnya untuk kesuksesan penulis.
7. Saudara-saudaraku, Abang Dody dan Wawan, Adek Tata dan Nurul yang menjadi pelecut semangat penulis untuk terus berkarya.
8. *Partner* penelitian paling baik hati, Windy Andriati Lubis yang selalu semangat untuk saling berbagi ide, waktu, tenaga, dan lelah sejak pembuatan proposal hingga penulisan KTI ini selesai.
9. Sahabat dalam kebaikan, para penghuni wisma shafiyah, wisma hilyah dan wisma humaira yang menjadikan wisma sebagai tempat pulang yang paling nyaman, tempat belajar, menanam aqidah dan memupuk akhlaq.
10. Sahabat di Ma'had Al-Mubarak, Ma'had Al-'Ilmi, Ma'had Umar bin Khattab, Komunitas Ibu Asuh dan Muallifaat, yang selalu sukses membuat penulis iri dengan kecintaan kalian dalam menuntut ilmu dan menyebarkan kebaikan untuk ummat.

11. Mba Athirah Mustadjab dkk yang menginspirasi penulis untuk senantiasa menjadi pembelajar, berkarya dan menebar manfaat.
12. Semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu persatu yang turut mendukung dan membantu dalam proses penelitian maupun penyusunan KTI ini.

Semoga karya tulis ilmiah ini menjadi ilmu yang bermanfaat untuk penulis dan masyarakat luas. Penulis menyadari bahwa karya tulis ilmiah ini jauh dari kesempurnaan, oleh karna itu kritik dan saran yang membangun sangat diharapkan.

Yogyakarta, 27 April 2017

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMBUNG.....	i
HALAMAN PENGESAHAN KTI.....	ii
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL.....	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN.....	xi
INTISARI.....	xii
<i>ABSTRACT</i>	xiii
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan Masalah.....	3
C. Keaslian Penelitian	4
D. Tujuan Penelitian	5
E. Manfaat Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
A. Kanker dan Kanker Serviks	6
B. <i>Ageratum conyzoides</i> L. (Herba Bandotan).....	8
C. Ekstraksi dan Fraksinasi	9
D. Kromatografi Lapis Tipis (KLT).....	10
E. Uji Sitotoksik.....	11
F. Sel HeLa	12
G. <i>Molecular Docking</i>	13
H. Bcl-x1 (<i>B Cell Lymphoma Extra Large</i>)	14
I. 5-Fluorourasil	14
J. Kerangka Konsep.....	15
K. Hipotesis	16

BAB III METODE PENELITIAN	17
A. Desain Penelitian	17
B. Tempat dan Waktu Penelitian.....	17
1. Tempat Penelitian	17
2. Waktu Penelitian.....	17
C. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional.....	17
1. Variable Penelitian.....	17
2. Definisi Operasional	18
D. Instrumen Penelitian	19
1. Alat Penelitian.....	20
2. Bahan Penelitian	20
E. Cara Kerja.....	22
1. Determinasi Tanaman	22
2. Pembuatan Senyawa Uji	22
3. Analisis Kandungan Kimia Metode KLT	23
4. Uji Sitotoksik dengan MTT Assay.....	24
5. <i>Molecular Docking</i>	27
F. Skema Langkah Kerja.....	32
G. Analisis Data.....	32
1. Analisis Kandungan Kimia Metode KLT	32
2. Analisis Uji Sitotoksik Metode MTT Assay	34
3. Analisis <i>Molecular Docking</i>	36
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	37
A. Hasil Penelitian.....	37
B. Pembahasan	53
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	64
A. Kesimpulan	64
B. Saran	64
DAFTAR PUSTAKA	66
LAMPIRAN.....	71

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Alat Penelitian	20
Tabel 2. Bahan Penelitian.....	21
Tabel 3. Interpretasi warna bercak untuk analisis flavonoid dengan KLT.....	32
Tabel 4. Interpretasi Nilai CI.....	35
Tabel 5. Hasil Uji Kromatografi Lapis Tipis FKB.....	39
Tabel 6. Hasil <i>Molecular Docking</i> pada Protein Bcl-xl	40
Tabel 7. Visualisasi Interaksi Senyawa Uji dan Protein Bcl-xl	41
Tabel 8. Residu protein Bcl-xl yang berinteraksi dengan senyawa uji	44
Tabel 9. Viabilitas sel HeLa dengan perlakuan FKB	45
Tabel 10. Persen hidup sel HeLa dengan perlakuan 5-FU	46
Tabel 11. Viabilitas sel HeLa pada perlakuan kombinasi FKB dan 5-FU	49
Tabel 12. Nilai <i>Combination Index</i> (CI) kombinasi FKB dan 5-FU	50

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Tanaman Bandotan	8
Gambar 2. Reaksi pembentukan kristal formazan dari MTT	12
Gambar 3. Morfologi sel HeLa (Perbesaran 100x)	13
Gambar 4. Struktur 3D protein Bcl-XI	14
Gambar 5. Kerangka Konsep.....	15
Gambar 6. Skema langkah kerja.....	32
Gambar 7. Profil Kromatografi Lapis Tipis FKB.....	38
Gambar 8. Visualisasi 2D interaksi asam amino Protein Bcl-xl	43
Gambar 9. Kurva efek sitotoksik FKB tunggal terhadap sel HeLa	45
Gambar 10. Kurva efek sitotoksik 5-FU tunggal terhadap sel HeLa	46
Gambar 11. Gambaran morfologi sel HeLa di bawah mikroskop <i>inverted</i> (1).....	47
Gambar 12. Gambaran morfologi sel HeLa di bawah mikroskop <i>inverted</i> (2)	48
Gambar 13. Grafik viabilitas sel HeLa FKB dan 5-FU tunggal dan kombinasi.....	50
Gambar 14. Kurva perbandingan nilai CI kombinasi FKB dan 5-FU.....	51
Gambar 15. Gambaran morfologi sel HeLa di bawah mikroskop <i>inverted</i> (3).....	51
Gambar 16. Gambaran morfologi sel HeLa di bawah mikroskop <i>inverted</i> (4).....	52
Gambar 17. Mekanisme apoptosis melalui jalur intrinsik.....	58

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Perhitungan Rendemen	71
Lampiran 2.	Perhitungan Rf Kromatografi Lapis Tipis	72
Lampiran 3.	Tabel viabilitas sel HeLa setelah pemberian FKB.....	73
Lampiran 4.	Tabel viabilitas sel HeLa setelah pemberian 5FU	75
Lampiran 5.	Desain uji sitotoksik kombinasi FKB dan 5-FU.....	77
Lampiran 6.	Gambaran score docking, nilai RMSD dan visualisasi hasil docking dan interaksi antara Nobiletin dan protein Bcl-xL.....	79
Lampiran 7.	Gambaran score docking, nilai RMSD dan visualisasi hasil docking dan interaksi antara 5-Fluorourasil dan protein Bcl-xL	80
Lampiran 8.	Gambaran score docking, nilai RMSD dan visualisasi hasil docking dan interaksi antara Ligan asli 4FC dan TH1 pada protein Bcl-xL	81
Lampiran 9.	Determinasi Herba Bandotan.....	82
Lampiran 10.	Foto Penelitian	83

**Uji Aktivitas Fraksi Kloroform Herba Bandotan (*Ageratum conyzoides* L.)
dan 5-Fluorourasil sebagai Ko-Kemoterapi pada Sel Kanker Serviks Hela
secara *In Vitro* dan *In Silico***

Titi Komalasari, Rifki Febriansah
Prodi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas
Muhammadiyah Yogyakarta

INTISARI

Kanker serviks merupakan kanker yang paling banyak diderita wanita Indonesia dengan 98.692 kasus pada tahun 2013. Pengobatan kanker seperti kemoterapi dengan 5-fluorourasil (5-FU) memicu terjadinya efek samping berbahaya selama pengobatannya. Oleh karena itu, perlu dikembangkan agen ko-kemoterapi dari bahan alam yang dikombinasi dengan kemoterapi untuk meminimalkan efek samping dengan berkurangnya dosis kemoterapi. Bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) mengandung senyawa flavonoid seperti nobiletin yang diperkirakan menghambat viabilitas sel kanker. Tujuan penelitian ini adalah menentukan aktivitas kombinasi Fraksi Kloroform Bandotan (FKB) dan 5-Fluorourasil (5-FU) berdasarkan uji *in vitro* dan *in silico*.

Identifikasi kandungan senyawa flavonoid secara kualitatif dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Uji sitotoksik metode MTT *Assay* kombinasi FKB dan 5-FU terhadap sel HeLa untuk mengetahui viabilitas sel. *Molecular Docking* senyawa bandotan yaitu nobiletin terhadap protein Bcl-xl.

Hasil identifikasi KLT, senyawa flavonoid FKB ditunjukkan oleh bercak berwarna kuning, biru muda, ungu tua dan ungu muda pada UV 366 dengan Rf masing-masing 0,181, 0,287, 0,312 dan 0,350. Uji kombinasi menunjukkan efek sinergis terdapat pada kombinasi 3,75 µg/ml FKB (1/8 IC₅₀) dan kadar 5,625 µg/ml 5-FU (1/8 IC₅₀) dengan nilai CI 0,36 dan 49,92% viabilitas sel HeLa. Adapun hasil *molecular docking* memperlihatkan bahwa senyawa flavonoid nobiletin lebih baik dalam menghambat ekspresi protein Bcl-xl dengan energi afinitas -8,0 kcal/mol dibandingkan 5-FU, ligan asli 4FC dan TH1 dengan energi afinitas -4,7, -6,9 dan -6,2 kcal/mol. Berdasarkan hasil KLT, uji sitotoksik dan *molecular docking*, FKB potensial untuk dikembangkan sebagai salah satu agen ko-kemoterapi untuk kanker serviks.

Kata kunci: Fraksi Kloroform Bandotan, ko-kemoterapi, sel Hela, *molecular docking*

Bandotan Kloroform's Fraction dan 5-Fluorouracil as Co-Chemotherapy in HeLa Cervical Cancer Cell Line based In Vitro and In Silico Study

Titi Komalasari, Rifki Febriansah

Prodi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta

ABSTRACT

*Cervical cancer is the biggest Indonesian female cancer with 98.692 cases in 2013. In the other side, cancer therapy as a chemotherapy with 5-Fluorouracil (5-FU) induced many side effects for patient during the treatment. Therefore, it needs to develop co-chemotherapy agent as a combination with chemotherapy drug to minimization side effects by reducing chemotherapy dose. Bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) containing flavonoid grup such as nobiletin that estimated inhibit viability of cancer cell. The aim of this study is determine co-chemoterapy activity of Bandotan's Chloroform Fraction (FKB) and 5-Fluorouracil (5-FU) based in vitro and in silico study.*

Thin Layer Chromatography (TLC) used to identified flavonoid compound qualitatively. Cytotoxicity study by MTT Assay method of FKB combine with 5-FU in HeLa cervical cancer cell line to find out cell viability. Molecular docking of bandotan active compound, Nobiletin in Bcl-xl protein with Autodock Vina.

The TLC result for FKB had Rf 0.181, 0.287, 0.312 and 0.350 with yellow, blue, dark and light violet in UV 366 contain by flavonoid compound. The highest synergic effect of cytotoxicity study existing in combination of 3.75 µg/ml FKB (1/8 IC₅₀) and 5.625 µg/ml 5-FU (1/8 IC₅₀) with CI value is 0.36 and 49,92% viability of HeLa cell line. The result of molecular docking showed that inhibitory activity of Nobiletin in Bcl-xl protein with affinity anergy -8.0 kcal/mol higest than 5-FU, native ligand 4FC and TH1 with only -4.7, -6.9 and -6.2 kcal/mol. Based on TLC, cytotoxicity study and molecular docking result, FKB potential to developed as a co-chemotherapy agent for servical cancer.

Keyword: *Bandotan's Chloroform Fraction, co-chemotherapy, Hela cell line, molecular docking*