

SKRIPSI

**UJI AKTIVITAS ANTIKANKER PINOSTROBIN
BUTIRAT PADA SEL KANKER PAYUDARA T47D DAN
SELEKTIVITASNYA TERHADAP SEL NORMAL VERO
SECARA *IN VITRO***



BAGUS DWI ZUFAR

**FAKULTAS FARMASI UNIVERSITAS AIRLANGGA
DEPARTEMEN ILMU KEFARMASIAN
SURABAYA
2022**

Lembar Pengesahan

**UJI AKTIVITAS ANTIKANKER PINOSTROBIN
BUTIRAT PADA SEL KANKER PAYUDARA T47D DAN
SELEKTIVITASNYA TERHADAP SEL NORMAL VERO
SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

**Dibuat untuk memenuhi syarat
mencapai gelar Sarjana Farmasi pada
Fakultas Farmasi Universitas Airlangga**

2022

Oleh:

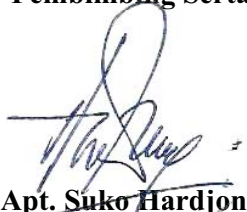
**Bagus Dwi Zufar
NIM: 051811133184**

**skripsi ini telah disetujui
pada Agustus 2022 oleh:**

Pembimbing Utama

Pembimbing Serta


Dr. Apt. Tri Widiandani, S.Si., Sp.FRS
NIP.198012042005012001


Prof. Dr. Apt. Suko Hardjono, MS.
NIP. 195209281981031001

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan dibawah ini,

Nama : Bagus Dwi Zufar

NIM : 051811133184

Adalah mahasiswa Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga, menyatakan dengan sesungguhnya bahwa Naskah Skripsi yang saya tulis dengan judul:

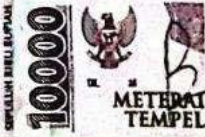
Uji Aktivitas Anti Kanker Pinostrobin Butirat pada Sel Kanker Payudara T47D dan Selektivitasnya terhadap Sel Normal Vero Secara *In Vitro*

adalah benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri. Apabila di kemudian hari diketahui bahwa isi Naskah Skripsi ini merupakan hasil plagiasi, maka saya bersedia menerima sanksi berupa pembatalan kelulusan dan atau pencabutan gelar yang saya peroleh.

Demikian surat pernyataan ini saya buat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Surabaya, Juli 2022

Yang membuat pernyataan,


6EA51AJX964528188
Bagus Dwi Zufar

NIM. 051811133184

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan dibawah ini,

Nama : Bagus Dwi Zufar

NIM : 051811133184

menyatakan bahwa demi kepentingan perkembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui abstrak Skripsi yang saya tulis dengan judul:

Uji Aktivitas Anti Kanker Pinostrobin Butirat pada Sel Kanker Payudara T47D dan Selektivitasnya terhadap Sel Normal Vero Secara *In Vitro*

untuk dipublikasikan atau ditampilkan di internet atau media lain yaitu Digital Library Perpustakaan Universitas Airlangga untuk kepentingan akademik, sebatas sesuai dengan Undang-Undang Hak Cipta.

Demikian surat pernyataan ini saya buat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Surabaya, Juli 2022

Yang membuat pernyataan,



Bagus Dwi Zufar

NIM. 051811133184

KATA PENGANTAR

Puji dan Syukur penulis ucapkan atas kehadiran Allah SWT. Atas segala limpahan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas skripsi sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Farmasi pada Fakultas Farmasi Universitas Airlangga.

Skripsi yang berjudul **“Uji Aktivitas Antikanker dari Pinostrobin Butirat pada Sel Kanker Payudara T47D dan Selektivitasnya terhadap Sel Normal Vero secara *In Vitro*”** ini dapat penulis selesaikan atas bantuan dan dukungan dari berbagai pihak. Olehkarena itu, penulis ingin menyampaikan ucapan terimakasih kepada:

1. Prof. Dr. Mohammad Nasih, S.E., Mt., Ak., CMA selaku Rektor Universitas Airlangga dan Prof. apt. Junaedi Khotib, S.Si., M.Kes., Ph.D., selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Airlangga atas kesempatan untuk menggunakan segala fasilitas yang diberikan selama penulis menempuh Pendidikan program sarjana.
2. Dr. Apt. Tri Widiandani, S.Si., Sp.FRS selaku dosen pembimbing utama dan Prof. Dr. Apt. Suko Hardjono, MS. selaku dosen pembimbing serta yang telah meluangkan waktu, tenaga, pikiran dan dengan sabar membimbing, memberi petunjuk, pengarahan dan motivasi untuk menyelesaikan penelitian dan skripsi ini.
3. Prof. apt. Dr. Sudjarwo, MS., dan apt. Kholis Amalia Nofianti, S.Farm. M.Sc., selaku dosen penguji atas masukan dan saran yang diberikan untuk perbaikan skripsi ini.
4. Dr. Apt. Tri Widiandani, S.Si., Sp.FRS selaku dosen wali penulis dan ketua Pusat Riset-3 Laboratorium *In Vitro* A Fakultas Farmasi Universitas Airlangga yang selalu memberikan dukungan moril dan materil kepada peneliti selama menempuh pendidikan program Sarjana dan telah memberikan kesempatan dan kepercayaan untuk menggunakan sarana dan prasarana laboratorium.
5. Seluruh staf pengajar, staf tenaga kependidikan, dan laboran Fakultas Farmasi Universitas Airlangga yang telah mendidik, membimbing, dan membantu penulis selama menjalani perkuliahan dan penelitian di Fakultas Farmasi Universitas Airlangga.

6. Orang tua penulis, Asep Setiawan dan Retno Indiyati, saudara penulis Aditya Alwan Dirgantara dan Hilman Zafari, dan seluruh keluarga besar penulis atas dukungan moril dan materil, doa dan kasih sayang yang diberikan kepada penulis.
7. Teman-teman kelas D dan Angkatan 2018 Fakultas Farmasi Universitas Airlangga yang menjadi teman berjuang bersama selama menjalani perkuliahan.
8. Serta seluruh pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu yang telah membantu penulisan skripsi ini hingga selesai.

Semoga Allah SWT selalu melimpahkan rahmat , berkah, dan karunia-Nya atas segala kebaikan dan bantuan yang telah dibeirkan. Penulis sadar bahwa penelitian ini masih jauh dari kata sempurna, oleh karena itu penulis mengharapkan kritik, saran, dan masukan dalam upaya untuk mengembangkan dan memperbaiki hasil penelitian ini dengan senang hati.

Akhir kata, penulis berharap agar skripsi ini dapat menjadi manfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan

Penulis

RINGKASAN

**UJI AKTIVITAS ANTIKANKER PINOSTROBIN BUTIRAT PADA
SEL KANKER PAYUDARA T47D DAN SELEKTIVITASNYA
TERHADAP SEL NORMAL VERO SECARA *IN VITRO***

Bagus Dwi Zufar

Penyakit kanker adalah salah satu penyakit yang memiliki tingkat kematian tertinggi di dunia. Pada tahun 2020, sebanyak 9,9 juta kasus kematian akibat kanker telah dilaporkan, 684 ribu diantaranya adalah kanker payudara. Pengobatan kanker dilakukan dengan empat cara utama yaitu melalui pembedahan, fotoradiasi, kemoterapi dan imunoterapi. Pengobatan tersebut masih tidak bersifat selektif dan dapat menyerang sel normal. Sehingga perlu dilakukan penemuan alternatif obat kanker. Salah satunya berasal dari pinostrobin yang memiliki aktivitas yang potensial sebagai antikanker pada kanker payudara. Namun, aktivitas tersebut masih lebih rendah dibandingkan obat antikanker payudara yang beredar di pasaran. Untuk meningkatkan aktivitasnya, telah disintesis turunan pinostrobin yaitu pinostrobin butirat yang aktivitasnya diprediksi lebih besar dibandingkan pinostrobin dan toksisitasnya lebih rendah dibandingkan pinostrobin setelah diuji secara *in silico* pada reseptor estrogen. Sehingga pinostrobin butirat layak diuji secara *in vitro*.

Tujuan dari penelitian ini adalah memperoleh dan membuktikan bahwa senyawa pinostrobin butirat memiliki aktivitas antikanker yang lebih besar daripada pinostrobin secara *in vitro* serta aktivitas sitotoksik senyawa pinostrobin butirat yang lebih kecil terhadap sel vero daripada pinostrobin secara *in vitro* dan menentukan nilai indeks selektivitas pinostrobin butirat.

Metode yang digunakan dalam uji aktivitas dan selektivitas pada penelitian ini adalah metode MTT secara *in vitro* menggunakan *cell line* kanker payudara T47D dan sel normal vero. Uji aktivitas dan selektivitas dilakukan pada 96 *well-plate* dengan kepadatan sel 5000 per sumuran. Sel diberikan perlakuan tujuh seri konsentrasi larutan pinostrobin dan pinostrobin butirat, dengan masing-masing tiga replikasi. Hasil uji dianalisis absorbansinya menggunakan *microplate reader*. Dari data absorbansi diubah menjadi persentase sel hidup kemudian dicari persamaan regresi dari grafik antara persentase sel hidup dengan konsentrasi larutan uji. Nilai IC₅₀ untuk uji aktivitas dan nilai CC₅₀ untuk uji selektivitas didapatkan dari persamaan regresi tersebut atau melalui probit analisis menggunakan aplikasi SPSS. Dari hasil analisis data uji aktivitas terhadap sel T47D diperoleh nilai IC₅₀ pinostrobin sebesar 2932 µM, pinostrobin butirat sebesar 399 µM. Sementara hasil analisis data uji selektivitas terhadap sel vero diperoleh nilai CC₅₀ pinostrobin sebesar 1271 µM, pinostrobin butirat sebesar 887 µM. Dari nilai IC₅₀ dan CC₅₀ didapatkan nilai indeks selektivitas pinostrobin sebesar 0,4; dan pinostrobin butirat sebesar 2,2.

Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa senyawa pinostrobin butirat memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel T47D dan sel vero yang lebih besar dari pinostrobin secara *in vitro* serta selektivitas terhadap sel vero dibandingkan dengan sel T47D yang lebih besar daripada pinostrobin. Dari penelitian yang telah dilakukan, perlu dilakukan penelitian aktivitas antikanker senyawa pinostrobin butirat dan pinostrobin terhadap sel

kanker lain dan dilakukan penelitian lebih lanjut tentang aktivitas antikanker dengan menggunakan kombinasi senyawa pinostrobin butirat dan obat antikanker yang sudah beredar di pasaran serta perlu dilakukan penelitian aktivitas antikanker senyawa pinostrobin butirat dan pinostrobin secara *in vivo*. Selain itu, dalam melakukan penelitian menggunakan senyawa pinostrobin dan pinostrobin butirat ,perlu perhatian pada kelarutan kedua senyawa tersebut.

ABSTRACT**In Vitro Cytotoxic Activity Assay Against Breast Cancer Cell T47D of Pinostrobin Butyrate and Its Selectivity Against Normal Cell Vero**

Bagus Dwi Zufar

Pinostrobin has potential activity as anticancer. However, its activity is still lower than the anticancer drugs on the market. To increase its activity, pinostrobin derivatives have been synthesized, namely pinostrobin butyrate, which are predicted to have better activity and lower cytotoxicity than pinostrobin after being tested in silico. This study goals to obtain and proof the cytotoxic activity of the pinostrobin butyrate against the T47D cell line which is greater than pinostrobin, obtain and proof its cytotoxicity against normal cells vero which is lower than pinostrobin and to determine the selectivity index value of pinostrobin butyrate. Cytotoxic activity was tested by the MTT method using T47D breast cancer cells and expressed through concentration inhibiting of 50% cancer cells from the initial population (IC₅₀). Cytotoxicity against vero cells was carried out using the same method using normal vero cells and expressed through the concentration required to reduce cell viability by 50% of the initial population (CC₅₀). Then the selectivity index is calculated from the ratio between the CC₅₀ and IC₅₀. The activity assay was performed at concentrations of 100-2000 μ M for the treatment of pinostrobin to T47D cells and at concentrations of 50-1500 μ M for the treatment of pinostrobin butirat to T47D cells. The cytotoxicity assay against vero cells was performed at the concentration of 50-1500 μ M to normal cells vero for both compounds. The result showed that pinostrobin butirat had better cytotoxic activity because it has a lower IC₅₀ value (399 μ M) than pinostrobin with IC₅₀ of 2932 μ M. The result of cytotoxicity assay against vero cells showed that pinostrobin butirat with CC₅₀ of 887 μ M has a greater cytotoxicity than pinostrobin with CC₅₀ of 1271 μ M. Meanwhile pinostrobin butirat has better selectivity index (SI = 2,2) than pinostrobin with selectivity index of 0,4. This study demonstrated that pinostrobin butirat have a potential in vitro anticancer activity in breast cancer cell line T47D and selective against normal cell compared with cancer cell.

Keywords: Pinostrobin butyrate, in vitro, cytotoxic activity, selectivity index

DAFTAR ISI

	Halaman
Lembar Pengesahan	i
KATA PENGANTAR	iv
RINGKASAN	vi
ABSTRACT.....	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
DAFTAR SINGKATAN	xv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	6
1.3 Tujuan Penelitian	6
1.4 Manfaat Penelitian	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Tinjauan Tentang Kanker Payudara.....	7
2.2 Tinjauan Tentang Antikanker	8
2.3 Tinjauan Tentang Pinostrobin	9
2.4 Tinjauan Tentang Pinostrobin Butirat.....	10
2.5 Tinjauan Tentang 5-Fluorourasil.....	11
2.6 Tinjauan Tentang Uji In Vitro.....	12
2.6.1 Tinjauan tentang Sel T47D	12
2.6.2 Tinjauan tentang Sel Vero	13
2.6.3 Tinjauan tentang Metode MTT	14
2.6.4 Tinjauan tentang <i>Microplate Reader</i>	15
2.6.5 Tinjauan tentang Indeks Selektivitas (IS)	15
BAB III KERANGKA KONSEPTUAL.....	16
3.1 Uraian Kerangka Konseptual	16
3.2 Skema Kerangka Konseptual	19
3.3 Hipotesis.....	20

BAB IV METODE PENELITIAN	21
4.1 Rancangan Penelitian	21
4.2 Variabel Penelitian	22
4.2.1 Variabel Bebas	22
4.2.2 Variabel Terkontrol.....	22
4.2.3 Variabel Tergantung	22
4.3 Definisi Operasional Penelitian.....	22
4.4 Bahan dan Alat Penelitian.....	23
4.4.1 Bahan Penelitian	23
4.4.2 Alat Penelitian.....	23
4.5 Prosedur Uji <i>In Vitro</i>	23
4.5.1 Pembuatan Larutan Baku Induk Senyawa Pinostrobin dan Pinostrobin Butirat	23
4.5.2 Pembuatan Larutan Uji Senyawa Pinostrobin untuk Uji Aktivitas Sitotoksik terhadap Sel T47D.....	24
4.5.3 Pembuatan Larutan Uji Senyawa Pinostrobin Butirat untuk Uji Aktivitas Sitotoksik terhadap Sel T47D.....	25
4.5.4 Pembuatan Larutan Uji Senyawa Pinostrobin untuk Uji Sitotoksik terhadap Sel Vero	26
4.5.5 Pembuatan Larutan Uji Senyawa Pinostrobin Butirat untuk Uji Sitotoksik terhadap Sel Vero	27
4.5.6 Prosedur Pembuatan Kontrol Media dan Kontrol Sel	28
4.5.7 Prosedur Uji Sitotoksik secara <i>In Vitro</i> Senyawa Pinostrobin dan Pinostrobin Butirat pada Sel T47D dan Sel Normal (Vero).....	28
4.6 Analisis Data	31
4.6.1 Perhitungan IC_{50} dan CC_{50}	31
4.6.2 Perhitungan Indeks Selektivitas (IS).....	32
4.6.3 Analisis ANOVA Hasil Aktivitas Sitotoksik terhadap T47D	33
4.6.4 Analisis Independent Samples T-test Hasil Aktivitas Sitotoksik terhadap Vero	33
BAB V HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	35
5.1 Uji Aktivitas Sitotoksik Secara <i>In Vitro</i> dengan Metode MTT	35
5.1.1 Hasil Pengukuran Absorbansi, Perhitungan Persentase Sel Hidup T47D, dan Perhitungan Nilai IC_{50}	35

5.1.2	Hasil Pengukuran Absorbansi, Perhitungan Persentase Sel Hidup Vero, dan Perhitungan Nilai CC_{50}	42
5.2	Perhitungan Nilai Indeks Selektivitas (IS).....	48
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN		49
6.1	Kesimpulan	49
6.2	Saran	49
DAFTAR PUSTAKA		50
LAMPIRAN.....		50

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel IV. 1 Denah platting uji sitotoksik pada 96 well plate.....	31
Tabel V. 1 Nilai absorbansi dan % sel hidup T47D terhadap perlakuan pinostrobin	35
Tabel V. 2 Nilai absorbansi dan % sel hidup T47D terhadap perlakuan pinostrobin butirat	36
Tabel V. 3 Nilai absorbansi dan % sel hidup T47D terhadap perlakuan 5-fluorourasil	36
Tabel V. 4 Persentase viabilitas sel T47D dan persamaan regresi pinostrobin	37
Tabel V. 5 Persentase viabilitas sel T47D dan persamaan regresi pinostrobin butirat ..	38
Tabel V. 6 Persentase viabilitas sel T47D dan persamaan regresi 5-fluorourasil.....	39
Tabel V. 7 Nilai IC ₅₀ pinostrobin, pinostrobin butirat dan 5-fluorourasil	40
Tabel V. 8 Nilai absorbansi dan % sel hidup vero terhadap perlakuan pinostrobin	43
Tabel V. 9 Nilai absorbansi dan % sel hidup vero terhadap perlakuan pinostrobin butirat	43
Tabel V. 10 Persentase viabilitas sel vero dan persamaan regresi pinostrobin.....	44
Tabel V. 11 Persentase viabilitas sel vero dan persamaan regresi pinostrobin butirat ..	45
Tabel V. 12 Nilai CC50 pinostrobin butirat dan pinostrobin.....	46
Tabel V. 13 Indeks selektivitas pinostrobin butirat dan pinostrobin	48

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. 1 Struktur Pinostrobin (Chemdraw v20.1.1)	2
Gambar 1. 2 Struktur Pinostrobbin dan Pinostrobin Butirat (Chemdraw 20.1.1)	3
Gambar 1. 3 Struktur 4-hydroxytamoxifen (Protein Data Bank)	4
Gambar 2. 1 Struktur Pinostrobin (ChemDraw 20.1.1)	9
Gambar 2. 2 Struktur Pinostrobin Butirat (ChemDraw 20.1.1)	10
Gambar 2. 3 Struktur 5-Fluorourasil	11
Gambar 2. 4 Kultur cell line T47D.	12
Gambar 2. 5 Kultur <i>cell line</i> Vero	13
Gambar 2. 6 Reduksi MTT menjadi Formazan.....	14
Gambar 3. 1 Skema Kerangka Konseptual	19
Gambar 4. 1 Skema Kerangka Operasional Penelitian	21
Gambar 4. 2 Skema Pembuatan Seri Larutan Uji Pinostrobin untuk Uji Aktivitas Sitotoksik pada Sel T47D	25
Gambar 4. 3 Skema Pembuatan Larutan Uji Pinostrobin Butirat untuk Uji Aktivitas Sitotoksik pada Sel T47D	26
Gambar 4. 4 Skema Pembuatan Larutan Uji Pinostrobin untuk Uji Sitotoksik terhadap Sel Vero	27
Gambar 4. 5 Skema Pembuatan Larutan Uji Pinostrobin Butirat untuk Uji Sitotoksik terhadap Sel Vero.....	28
Gambar 5. 1 Grafik persentase viabilitas sel T47D terhadap perlakuan larutan uji pinostrobin	37
Gambar 5. 2 Grafik persentase viabilitas sel T47D terhadap perlakuan larutan uji pinostrobin butirat.....	38
Gambar 5. 3 Grafik persentase viabilitas sel T47D terhadap perlakuan larutan uji 5-fluorourasil.....	39
Gambar 5. 4 Grafik perbandingan persentase viabilitas sel T47d terhadap perlakuan pinostrobin butirat, pinostrobin, dan 5-fluorourasil.....	40
Gambar 5. 5 Grafik perbandingan nilai IC ₅₀ senyawa pinostrobin butirat, pinostrobin dan 5-fluorourasil.....	41
Gambar 5. 6 Grafik persentase viabilitas sel vero terhadap perlakuan larutan uji pinostrobin	44
Gambar 5. 7 Grafik persentase viabilitas sel vero terhadap perlakuan pinostrobin butirat	45
Gambar 5. 8 Grafik perbandingan rata-rata persentase sel hidup antara larutan uji pinostrobin butirat dan pinostrobin terhadap sel vero	46
Gambar 5. 9 Grafik perbandingan nilai CC ₅₀ pinostrobin butirat dan pinostrobin	47

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
LAMPIRAN 1- Perhitungan Larutan Uji Senyawa Pinostrobin Butirat dan Pinostrobin	55
LAMPIRAN 2- Gambar Kultur Sel, Kristal Formazan, Setelah Inkubasi MTT, 96-Well Plate Setelah Diberi Larutan SDS dan Setelah Perlakuan	59
LAMPIRAN 3 - Hasil Pembacaan Absorbansi dengan Microplate Reader pada Panjang Gelombang 570 nm.....	67
LAMPIRAN 4 – Perhitungan Persentase Viabilitas Sel.....	69
LAMPIRAN 5 - Hasil Analisis Probit Menggunakan SPSS V26.0	72
LAMPIRAN 6 - Uji ANOVA dan T-Test Hasil Perlakuan Senyawa Menggunakan SPSS v26.0.....	77
LAMPIRAN 7- Hasil Uji Kemurnian dengan Metode KLT	80

DAFTAR SINGKATAN

DNA	= <i>Deoxyribonucleic Acid</i>
ER	= <i>Estrogen Receptor</i>
PR	= <i>Progesteron Receptor</i>
HER	= <i>Human Estrogen Receptor</i>
MR	= <i>Molar Refractivity</i>
E _{HOMO}	= <i>Highest Occupied Molecular Orbital Energy</i>
E _{LOMO}	= <i>Lowest Occupied Molecular Orbital Energy</i>
ATP	= <i>Adenosine Triphosphate</i>
FBS	= <i>Fetal Bovine Serum</i>
PBS	= <i>Phospate Buffer Saline</i>
SDS	= <i>Sodium Dodecyl Sulphate</i>
MTT	= <i>3-(4, 5-dimethyl thiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide</i>
RPMI	= <i>Roswell Park Memorial Institue</i>
SI	= <i>Selectivity Index</i>
SPSS	= <i>Statistical Package for the Social Science</i>
WHO	= <i>World Health Organization</i>