

SKRIPSI

**ANALISIS UJI IN VIVO FRAKSI KLOOROFORM HERBA BANDOTAN
(*Ageratum conyzoides L.*) PADA TIKUS GALUR *Sprague dawley* YANG
TERINDUKSI DMBA SEBAGAI AGEN KEMOPREVENTIF KANKER
PAYUDARA**

**Disusun untuk Memenuhi Sebagian Syarat Memperoleh Derajat Sarjana
Farmasi pada Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas
Muhammadiyah Yogyakarta**



UMY

**UNIVERSITAS
MUHAMMADIYAH
YOGYAKARTA**

Unggul & Islami

**Disusun oleh:
AULIA RAHMA
20150350087**

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH YOGYAKARTA
2019**

HALAMAN PENGESAHAN

**ANALISIS UJI IN VIVO FRAKSI KLOOROFORM HERBA BANDOTAN
(*Ageratum conyzoides L.*) PADA TIKUS GALUR *Sprague dawley* YANG
TERINDUKSI DMBA SEBAGAI AGEN KEMOPREVENTIF KANKER
PAYUDARA**

Disusun oleh:
AULIA RAHMA
20150350087

Telah disetujui pada tanggal 22 Juli 2019

Dosen Pembimbing

Rifki Febriansah, M.Sc., Apt.

NIK: 1986 1107 201310 173224

Dosen Penguji I

Dosen Penguji II

Sri Tasminatun, M.Si., Apt.

NIK: 1971 1106 199904 173036

Annisa Krisridwany, M.Env.Sc., Apt.

NIK: 1986 0416 201901 173271

Mengetahui,
Kepala Program Studi Farmasi

Sabtanti Harimurti, Ph.D., Apt.

NIK: 1973 0223 201310 173127

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Assalamu'alaikum warahmatullahi wabarakatuh,

Saya yang bertandatangan dibawah ini:

Nama : Aulia Rahma

NIM : 20150350087

Program Studi : Farmasi

Fakultas : Kedokteran dan Ilmu Kesehatan

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa Skripsi “**Analisis Uji In Vivo Fraksi Kloroform Herba Bandotan (*Ageratum Conyzoides L.*) pada Tikus Galur Sprague Dawley yang Terinduksi DMBA sebagai Agen Kemopreventif Kanker Payudara**” yang saya tulis benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri dan belum diajukan dalam bentuk apapun kepada perguruan tinggi manapun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam daftar pustaka pada bagian akhir dari Skripsi ini.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dibuktikan Skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Wassalamu'alaikum warahmatullahi wabarakatuh,

Yogyakarta, 22 Juli 2019

Yang membuat pernyataan

Aulia Rahma

NIM: 20150350087

HALAMAN MOTTO

La in syakartum la azidannakum wala in kafartum inna adzabi lasyadid.

(Q.S. Ibrahim:7)

Dari Ibnu Umar *radhiallahu anhu* berkata: Rasulullah *shalallahu 'alaihi wasalam* memegang kedua pundak saya seraya bersabda: “Jadilah engkau di dunia seakan-akan orang asing atau pengembara”. Ibnu Umar berkata: “Jika kamu berada di sore hari maka jangan tunggu sampai pagi hari, dan jika kamu berada di pagi hari maka jangan tunggu sampai sore hari, gunakanlah kesehatanmu untuk (persiapan saat) sakitmu dan kehidupanmu untuk kematianmu”

(HR. Bukhari-Hadits Arbain Ke-40)

Kewajiban kita lebih banyak daripada waktu yang tersedia

(Imam Hasan Al Banna)

HALAMAN PERSEMBAHAN

Bismillahirrahmanirrahim,

Tiada daya dan upaya melainkan atas kuasaMu ya Allah

Tiada ucapan yang pantas selain bersyukur kepadaMu atas segala limpahan

nikmat hidup yang Engkau berikan

Atas nikmatnya proses dalam menyelesaikan Skripsi ini

Semoga dapat meningkatkan kualitas iman diri ini sebagai hambaMu

Semoga dapat memberikan manfaat bagi siapapun dan tercatat sebagai amal

kebaikan jariyah

Teruntuk kedua orang tua atas doa-doa terbaik yang mengiringi

Atas izin dan ridhonya dalam menyelesaikan setiap ikhtiar

Semoga ini menjadi salah satu baktiku kepada Ibu dan Bapak

Teruntuk adik-adik Faaza Naima, Imaduddin Ibnulhakim, Arrifda Hanum

Ahsani atas semangat dan dukungan moral lainnya

Terkhusus kepada seluruh pejuang kanker (peneliti, tenaga kesehatan, survivor,

dan keluarga)

Dan teruntuk teman-teman semua atas dukungan dan bimbingannya

Terimakasih telah membersamai dalam proses yang baik ini

KATA PENGANTAR

Assalamu 'alaikum warahmatullahi wabarakatuh,

Puji syukur kepada Rabb semesta alam, Allah *subhanahu wa ta'ala* yang telah melimpahkan karunia kepada kita. Sholawat serta salam senantiasa kita haturkan kepada Rasulullah Muhammad *sholallahu 'alaihi wasalam*, sahabat, dan para pengikutnya hingga akhir masa nanti.

Atas izin Allah Swt. penulis telah menyelesaikan skripsi dengan judul **“Analisis Uji In Vivo Fraksi Kloroform Herba Bandotan (*Ageratum Conyzoides L.*) pada Tikus Galur *Sprague Dawley* yang Terinduksi DMBA sebagai Agen Kemopreventif Kanker Payudara”** sebagai salah satu persyaratan dalam memperoleh gelar Sarjana Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.

Pada kesempatan kali ini penulis sampaikan terimakasih sebesar-besarnya kepada pihak-pihak yang telah mendukung selesainya Skripsi ini, semoga Allah Swt. memberkahi setiap ikhtiar kita:

1. Bapak Dr. Ir. Gunawan Budiyo, M.P selaku Rektor Universitas Muhammadiyah Yogyakarta
2. Ibu Dr. dr. Wiwik Kusumawati, M.Kes. selaku Dekan Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta
3. Ibu Sabtanti Harimurti, Ph.D., Apt. selaku Kepala Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta
4. Bapak Rifki Febriansah, M.Sc., Apt. selaku dosen pembimbing Skripsi
5. Ibu Sri Tasminatun, M.Si., Apt. dan Ibu Annisa Krisridwany, M.Env.Sc., Apt. selaku dosen penguji Skripsi
6. Bapak M.T. Ghozali, M.Sc., Apt. selaku dosen pembimbing akademik
7. Seluruh dosen, staf, dan laboran laboratorium Fakultas Kedokteran dan

Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta

8. Teman-teman satu lingkaran kebaikan yang telah saling mengingatkan.
9. Teman-teman Farmasi angkatan 2015
10. Seluruh pihak yang secara langsung dan tidak langsung telah membantu selama proses ini yang tidak bisa saya sebutkan satu persatu, semoga ini menjadi jalan kebaikan bagi kita semua.

Penulis menyadari bahwa masih terdapat banyak kekurangan dalam penulisan Skripsi ini. Untuk itu penulis sangat mengapresiasi atas kritik dan saran yang membangun.

Wassalamu 'alaikum warahmatullahi wabarakatuh,

Yogyakarta, 22 Juli 2019

Penulis

Aulia Rahma

NIM: 20150350087

DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	iii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GRAFIK.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
INTISARI	xiv
ABSTRACT.....	xv
BAB I.PENDAHULUAN.....	1
A.Latar Belakang	1
B.Perumusan Masalah	3
C.Keaslian Penelitian.....	4
D.Tujuan Penelitian	6
E.Manfaat Penelitian.....	6
BAB II.TINJAUAN PUSTAKA	7
A.Herba Bandotan (<i>Ageratum conyzoides L.</i>)	7
B.Kanker dan Kanker Payudara.....	10
C.Uji <i>In Silico</i> dan <i>Molecular Docking</i>	11
D.Ekstraksi dan Fraksinasi	11
E.Kromatografi Lapis Tipis (KLT).....	12
F.Pengecatan Hematoksillin-Eosin (HE).....	13
G.Uji Imunohistokimia (IHC).....	13
H.Kerangka Konsep.....	14
I.Hipotesis	15

BAB III.METODE PENELITIAN	16
A.Desain Penelitian	16
B.Tempat dan Waktu Penelitian	16
C.Populasi dan Sampel	17
D.Identifikasi Variabel Penelitian dan Definisi Operasional.....	17
E.Instrumen Penelitian.....	18
F.Cara Kerja	19
G.Skema Langkah Kerja.....	26
H.Analisis Data	27
BAB IV.HASIL DAN PEMBAHASAN	28
A.Hasil Penelitian	28
1. <i>Molecular Docking</i>	28
2.Determinasi Tanaman	33
3.Ekstraksi dan Fraksinasi	33
4.Kromatografi Lapis Tipis.....	34
5.Uji In Vivo	36
6.Pengecatan Hematoksilin-Eosin	37
7.Uji Imunohistokimia	40
B.Pembahasan	43
1. <i>Molecular Docking</i>	43
2.Ekstraksi dan Fraksinasi	45
3.Kromatografi Lapis Tipis.....	46
4.Uji Karsinogenesis dengan DMBA dan Perlakuan FKB	48
5.Pengecatan Hematoksillin-Eosin	50
6.Uji Imunohistokimia	51
BAB V.KESIMPULAN DAN SARAN.....	55
A.Kesimpulan	55
B.Saran	56
DAFTAR PUSTAKA	57
LAMPIRAN.....	61

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Herba Bandotan.....	7
Gambar 2. Gambaran Histologi Kelenjar Payudara Normal.....	38
Gambar 3. Gambaran Histologi Adenomer Kelenjar Payudara Normal.....	38
Gambar 4. Gambaran Histopatologi Kelenjar Payudara Pengecatan HE.....	39
Gambar 5. Gambaran Histopatologi K. Payudara Induksi DMBA.....	41
Gambar 6. Gambaran Histopatologi K. Payudara Kontrol FKB Pengecatan IHC.....	41
Gambar 7. Gambaran Histopatologi K. Payudara Kelompok D	41
Gambar 8. Gambaran Histopatologi K. Payudara Kelompok E.....	41
Gambar 9. Mekanisme Angiogenesis oleh VEGF	53

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Perbandingan Keaslian Penelitian dengan Penelitian Sebelumnya	4
Tabel 2. Jadwal Perlakuan Terhadap Hewan Uji.....	24
Tabel 3. Hasil Molecular Docking.....	28
Tabel 4. Visualisasi Interaksi Senyawa Uji dan Reseptor Target	29
Tabel 5. Jenis Ikatan antara Senyawa Uji dan Reseptor Target	32
Tabel 6. Profil Kromatografi Lapis Tipis.....	34
Tabel 7. Hasil Identifikasi Senyawa Flavonoid	35
Tabel 8. Jumlah Sel Positif Imunoreaksi Antibodi VEGF.....	42

DAFTAR GRAFIK

Grafik 1. Perkembangan Berat Badan Tikus selama Uji <i>In Vivo</i>	37
Grafik 2. Persentase Ekspresi Sel Antibodi VEGF.....	42

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Determinasi Tanaman	61
Lampiran 2. Perhitungan Rendemen.....	62
Lampiran 3. Perhitungan Nilai Rf.....	63
Lampiran 4. Perkembangan Berat Badan Tikus	64
Lampiran 5. Perhitungan Ekspresi Sel Pengecatan Imunohistokimia	65
Lampiran 6. Surat Keterangan Lolos Uji Etik Penelitian terhadap Hewan Uji	66

INTISARI

Kemoterapi banyak menimbulkan efek samping akibat tidak selektifnya sasaran terapi pada sel kanker payudara. Maka perlu adanya solusi terapi berupa agen kemopreventif berbahan dasar alam yang minim efek samping pada penggunaan yang tepat. Herba bandotan (*Ageratum conyzoides L.*) diduga berpotensi sebagai agen kemopreventif. Fraksi kloroform herba bandotan (FKB) mengandung senyawa flavonoid yang berpotensi pada proses apoptosis sel kanker HeLa (kanker serviks) serta nobiletin yang merupakan salah satu senyawa flavonoid memiliki ikatan kuat terhadap protein Bcl-xl. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui potensi dari senyawa flavonoid pada FKB dalam berikatan dan menghambat protein VEGF sebagai agen kemopreventif kanker payudara.

Metode penelitian dilakukan secara *in silico* dan *in vivo*. Sebagai uji pendahuluan dilakukan menggunakan *molecular docking* senyawa nobiletin terhadap protein sel kanker payudara (COX-2, HER-2, dan VEGF). Penyarian senyawa dilakukan secara maserasi dan fraksinasi. Identifikasi senyawa flavonoid pada FKB menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT). Sebanyak 20 ekor tikus betina galur SD (40 hari, 40-60 gram) dikelompokkan menjadi K.DMBA, K.FKB, K.CMCNa, DMBA+FKB750, dan DMBA+FKB1500. Induksi DMBA dosis 20 mg/kg BB sebanyak 2 kali seminggu selama 5 minggu, sedangkan FKB diberikan setiap hari selama 2 minggu. Setelah nekropsis kelenjar payudara, dilakukan pengecatan Hematoksilin-Eosin serta Imunohistokimia dengan antibodi VEGF. Analisis yang dilakukan melalui nilai Rf pada KLT, skor *docking* pada *molecular docking*, serta histologi dan ekspresi VEGF pada histopatologi kelenjar payudara.

Hasil menunjukkan bahwa FKB mengandung senyawa flavonoid. Secara *in silico* diperoleh hasil interaksi terbaik antara nobiletin dan VEGF dengan skor *docking* -7.6 kcal/mol. Sedangkan berdasarkan uji *in vivo*, FKB menurunkan kerusakan histologi kelenjar payudara. Pemberian FKB dosis 1500 mg/kg BB imunoreaktif terhadap antibodi VEGF dengan persentase jumlah sel positif 15,51%.

Kata Kunci: *Ageratum conyzoides L.*, HE, Imunohistokimia, kanker payudara, *molecular docking*

ABSTRACT

Chemotherapy is usually done to cause many side effects due to the selectivity of therapy targets for breast cancer cells. Therefore, it needs to be a therapeutic solution in the form of a natural chemopreventive agent with minimal side effects on proper use. Bandotan herb (*Ageratum conyzoides L.*) is thought to have the potential as a chemopreventive agent. Chloroform Fraction of Bandotan Herbs (FKB) have flavonoid compounds as a good potential in HeLa cell apoptosis (cervical cancer) and also nobiletin (one of flavonoid groups) have a good binding to Bcl-x1 proteins. This research obtained to know about potentiality FKB as breast cancer chemopreventive agent to binding and inhibits VEGF protein targets.

Research methods use *in silico* and *in vivo* analysis. As a preliminary test carried out using molecular docking nobiletin compounds against breast cancer cell proteins (COX-2, HER-2, and VEGF). Active compound was carried out using maceration and fractionation methods. Identification of active compounds was carried out using Thin Layer Chromatography (TLC) method. *In vivo* test, twenty *Sprague Dawley* rats (40 days, 40-60 grams) classified K.DMBA, K.FKB, K.CMCNa, DMBA+FKB750, and also DMBA+FKB1500. Carcinogenic agents DMBA induce dose given of 20 mg/kg BW twice a week for 5 weeks. FKB was given every day for 2 weeks. After necroption of mammary glands, staining was carried out with Haematoxyllin-Eosin and Immunohistochemistry with VEGF antibodies. Analysis method based on Rf value from TLC, docking score from molecular docking, histology and expression of VEGF at mammary gland histopatology.

The results showed that FKB contained flavonoid compounds. *In silico* test, the best interaction is between nobiletin and VEGF that obtained with a docking score -7.6 kcal / mol. While based on the *in vivo* test, FKB have potentiality to decrease of mammary gland histological damages. FKB dose 1500 mg/kg BW immunoreactive with VEGF antibody by the percentage of positive cells at 15,51%.

Keywords: *Ageratum conyzoides L.*, breast cancer, HE, Immunohistochemistry, molecular docking