



UNIVERSITAS PERTAHANAN RI

**UJI AKTIVITAS ANTIKANKER MIKROALGA (*Chlorella
pyrenoidosa*) PADA SEL KANKER PAYUDARA *TRIPLE
NEGATIVE* MDA-MB-231**

MUHAMMAD RIFLY APRIANTO 320200201015

**Skripsi yang Ditulis untuk Memenuhi Sebagian Persyaratan dalam
Mendapatkan Gelar Sarjana**

**FAKULTAS FARMASI MILITER
PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI**

BOGOR, 2024

LEMBAR PERSETUJUAN SKRIPSI

Nama : Muhammad Rifly Aprianto
NIM : 320200201015
Program Studi : Sarjana Farmasi
Fakultas : Farmasi Militer
Judul Skripsi : Uji Aktivitas Antikanker Mikroalga (*Chlorella pyrenoidosa*) pada Sel Kanker Payudara *Triple Negative* MDA-MB-231

Dosen Pembimbing 2,



Dr. Endah Puji Septisetyani, M.Sc.
NIP 198409272010122001
Tanggal: 17.7.2024

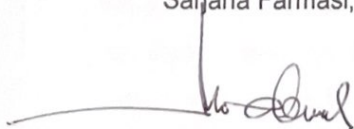
Dosen Pembimbing 1,



Dr. apt. Bantari W.K. Wardhani, M.Biomed
NIDN 4719128501
Tanggal: 17.7.2024

Mengetahui,

Kepala Program Studi
Sarjana Farmasi,



apt. Budi Sumaryono, S.Si., M.Farm., M.Han.
Letnan Kolonel Kes
NRP. 527126
Tanggal: 17.7.2024

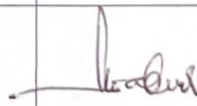
Dekan
Fakultas Farmasi Militer,



Prof. Dr. apt. Yahdiana Harahap, MS
Pembina Utama IV/e
NIP. 196409121990032003
Tanggal: 17.7.2024

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

Nama : Muhammad Rifly Aprianto
 NIM : 320200201015
 Program studi : Sarjana Farmasi
 Fakultas : Farmasi Militer
 Judul Skripsi : Uji Aktivitas Antikanker Mikroalga (*Chlorella pyrenoidosa*) pada Sel Kanker Payudara Triple Negative MDA-MB-231

No.	Nama Dosen	Tanda Tangan	Tanggal
1.	Dosen Pembimbing 1: Dr. apt. Bantari Wisynu Kusuma Wardhani, M.Biomed NIDN 4719128501		17.7.2024
2.	Dosen Pembimbing 2: Dr. Endah Puji Septisetyani, M.Sc. NIP. 198409272010122001		17.7.2024
3.	Ketua Sidang Skripsi: apt. Budi Sumaryono, S.Si., M.Farm., M.Han. Letnan Kolonel Kes NRP. 527126		17/7 2024
4.	Dosen Penguji 2: Reynatha C.A. Pangsidang, S.Farm, M.S.Farm NIP. 199411192022032003		17/7 2024
5.	Dosen Penguji 3: Tesia Aisyah Rahmania, S.Si., M.Pharm.Sci. NIDN 4704019401		17/7-2024

PERNYATAAN ORISINALITAS

Dengan ini Saya menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya atau bagian karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjaan jenjang apapun di suatu Perguruan Tinggi; dan sepanjang sepengetahuan Saya juga tidak terdapat istilah, frasa, kalimat, paragraf, subbab atau bab dari karya yang pernah ditulis atau diterbitkan; kecuali yang secara tertulis diajukan dalam naskah ini dan disebutkan dalam Daftar Referensi.

Apabila di kemudian hari terbukti bahwa terdapat plagiat dalam skripsi ini, Saya bersedia menerima sanksi sesuai ketentuan peraturan/undang-undang yang berlaku.

Bogor, Juli 2024



Muhammad Rifly Aprianto

KATA PENGANTAR

Puji syukur peneliti panjatkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa, karena berkat rahmat dan karunia-Nya penulisan skripsi dengan judul: “Uji Aktivitas Antikanker Mikroalga (*Chlorella pyrenoidosa*) pada Sel Kanker Payudara *Triple Negative* MDA-MB-231” dapat diselesaikan.

Penyusunan skripsi ini ditujukan sebagai salah satu syarat dalam memperoleh gelar Sarjana pada Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi Militer, Universitas Pertahanan RI.

Penyusunan skripsi ini dapat diselesaikan berkat bantuan dan dukungan dari berbagai pihak baik secara langsung maupun tidak langsung. Untuk itu, pada kesempatan ini Kadet Mahasiswa mengucapkan terima kasih kepada:

1. Letnan Jenderal TNI Jonni Mahroza., Ph.D, selaku Rektor Universitas Pertahanan Republik Indonesia,
2. Prof. Dr. apt. Yahdiana Harahap, MS, selaku Dekan Fakultas Farmasi Militer, Universitas Pertahanan Republik Indonesia,
3. Laksma TNI Dr. apt. Widyati, M.Clin.Pharm, selaku Wakil Dekan 1 dan Kolonel Kes Drs. apt. Nur Abdul Goni, M.Si, selaku Wakil Dekan 2 Fakultas Farmasi Militer, Universitas Pertahanan Republik Indonesia,
4. Letnan Kolonel Kes apt. Budi Sumaryono, S.Si., M.Farm., M.Han, selaku Kepala Program Studi Sarjana Farmasi, Fakultas Farmasi Militer, Universitas Pertahanan Republik Indonesia,
5. Dr. apt. Bantari Wisynu Kusuma Wardhani, M.Biomed dan Dr. Endah Puji Septisetyani, M.Sc, selaku Dosen Pembimbing yang telah memberi masukan, saran, motivasi, dukungan, semangat selama dilakukannya penelitian,

6. Reynatha C.A. Pangsidang, M.S.Farm dan Tesia Aisyah Rahman, S.Si., M.Pharm.Sci., selaku Dosen Penguji yang telah memberi saran, kritik, dan masukannya,
7. Dosen, laboran, dan tenaga kependidikan Fakultas Farmasi Militer, Universitas Pertahanan Republik Indonesia, yang memberi semangat dan dukungan,
8. Seluruh peneliti dan kolega laboratorium rekayasa sel mamalia, Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN)
9. Kedua orang tua dan seluruh keluarga saya yang telah memberi motivasi, dukungan, dan semangat, serta doa yang tiada hentinya,
10. Seluruh Rekan-rekan Kadet Mahasiswa Prodi Sarjana Farmasi *Cohort-1*, adik-adik *Cohort-2*, *Cohort-3*, dan *Cohort-4*, Fakultas Farmasi Militer, Universitas Pertahanan Republik Indonesia,
11. Keluarga asuh CTM dan Keluarga asuh Nakula yang telah memberi semangat dan dukungan,
12. Seluruh Rekan-rekan Penelitian di Bidang Farmakologi dan Toksikologi, yang saling memberi dukungan dan motivasi,
13. Seluruh teman-teman dalam komunitas sosial yang senantiasa memberikan dukungan dan motivasi.

Semoga Tuhan yang Maha Esa membalas dengan berkah atas semua bantuan yang diberikan oleh berbagai pihak. Saya sadar bahwa skripsi ini masih memiliki kekurangan, oleh karena itu Saya dengan rendah hati meminta kritik dan saran yang membangun untuk meningkatkan kualitasnya. Akhirnya, harapan Saya adalah agar skripsi ini dapat memberikan kontribusi dalam pengembangan ilmu pertahanan dan memberi manfaat bagi semua pihak terkait dalam mendukung ketahanan kesehatan nasional.

Bogor, Juli 2024

Muhammad Rifly Aprianto

ABSTRAK

UJI AKTIVITAS ANTIKANKER MIKROALGA (*Chlorella pyrenoidosa*) PADA SEL KANKER PAYUDARA *TRIPLE NEGATIVE* MDA-MB-231

Angka kematian akibat kanker mencapai 10 juta kasus dan 685 ribu diantaranya disebabkan oleh kanker payudara. Salah satu penyebab kematian adalah subtype TNBC. TNBC merupakan salah satu *subtype* kanker payudara dimana tidak ditemukannya ketiga parameter yang seharusnya ada pada kanker payudara, yaitu ER, PR, dan HER2. ketidakhadiran tiga parameter ini membuat kurangnya pilihan terapi. Oleh karena itu, penelitian dan pengembangan terapi terus dilakukan salah satunya yaitu dengan mengembangkan bahan alam sebagai alternatif terapi. *Chlorella* sp. menunjukkan aktivitas antikanker pada sel kanker payudara (MCF-7) dan kanker serviks (HeLa) namun belum ada data yang menunjukkan potensinya terhadap sel MDA-MB-231. Tujuan penelitian ini adalah untuk melihat aktivitas antikanker *Chlorella pyrenoidosa* pada sel MDA-MB-231 melalui viabilitas sel, migrasi sel, dan apoptosis sel. Penelitian dilakukan dengan menguji ekstrak etanol mikroalga (EME) dan ekstrak air mikroalga (EMA) menggunakan metode uji sitotoksitas MTT untuk mendapatkan nilai IC_{50} , *scratch assay* untuk menguji penghambatan *wound healing*, pewarnaan etidium bromida/akridin oranye untuk apoptosis dan *flow cytometry* untuk analisis kematian sel dan siklus sel. Berdasarkan hasil yang diperoleh, IC_{50} yang ditunjukkan EME lebih rendah dibanding EMA yakni berturut-turut 479,04 μ g/mL dan 1815,09 μ g/mL. EME menghambat laju migrasi sel MDA-MB-231 dengan persentase *wound healing* 78,47% dibandingkan dengan kontrol media 90,18%, maupun kontrol DMSO 89,00%. Selain itu, EME dan EMA dapat menginduksi apoptosis sel serta menghambat siklus sel fase G2/M dibandingkan dengan kontrol pelarut. Penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak mikroalga *C. pyrenoidosa* memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai agen kemoprevensi untuk kanker payudara TNBC.

Kata Kunci: *Chlorella pyrenoidosa*, Mikroalga, Antikanker, Uji in-vitro

ABSTRACT

ANTICANCER ACTIVITY OF MICROALGAE (*Chlorella pyrenoidosa*) ON MDA-MB-231 TRIPLE NEGATIVE BREAST CANCER CELLS

The death rate due to cancer reaches 10 million cases and 685 thousand of them are caused by breast cancer. One of the causes of death is the TNBC subtype. TNBC is a subtype of breast cancer where the three parameters that should be present in breast cancer are not found, namely ER, PR, and HER2. The absence of these three parameters creates a lack of therapeutic options. Therefore, research and development of therapy continues to be carried out, one of which is by developing natural ingredients as alternative therapies. *Chlorella sp.* showed anticancer activity on breast cancer (MCF-7) and cervical cancer (HeLa) cells but there is no data yet to show its potential on MDA-MB-231 cells. The aim of this study was to examine the anticancer activity of *Chlorella pyrenoidosa* on MDA-MB-231 cells through cell viability, cell migration and cell apoptosis. The research was carried out by testing microalgae ethanol extract (EME) and microalgae water extract (EMA) using the MTT cytotoxicity test method to obtain IC₅₀ values, scratch assay to test wound healing inhibition, ethidium bromide/acridine orange staining for apoptosis and flow cytometry for cell death analysis and cell cycle. Based on the results obtained, the IC₅₀ shown by EME is lower than EMA, namely 479.04 µg/mL and 1815.09 µg/mL respectively. EME inhibited the migration rate of MDA-MB-231 cells with a wound healing percentage of 78.47% compared to media control 90.18%, and DMSO control 89.00%. In addition, EME and EMA can induce cell apoptosis and inhibit the G2/M phase cell cycle compared to solvent controls. This research shows that microalgae extract (*C. pyrenoidosa*) has the potential to be developed as a chemoprevention agent for TNBC breast cancer.

Keywords: *Chlorella pyrenoidosa*, Microalgae, Anticancer, In-vitro assay

DAFTAR ISI

LEMBAR PERSETUJUAN SKRIPSI.....	ii
LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI	iii
PERNYATAAN ORISINALITAS.....	iv
KATA PENGANTAR	v
ABSTRAK.....	vii
<i>ABSTRACT</i>	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR SINGKATAN.....	xiv
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah.....	3
1.3. Tujuan Penelitian.....	3
1.4. Manfaat Penelitian.....	3
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1. Landasan Teori	4
2.1.1. Kanker payudara.....	4
2.1.2. Galur Sel MDA-MB-231.....	6
2.1.3. Mikroalga (<i>Chlorella pyrenoidosa</i>).....	7
2.1.4. Viabilitas Sel.....	9
2.1.5. Apoptosis.....	10
2.1.6. Migrasi Sel	11
2.1.7. <i>Flow cytometry</i>	11
2.2. Hasil Penelitian Terdahulu.....	14
2.3. Kerangka berpikir	18
2.4. Hipotesis	19
BAB 3 METODOLOGI PENELITIAN	20
3.1. Metode dan Desain Penelitian.....	20
3.2. Waktu dan Tempat Penelitian.....	20

3.3.	Variabel dan Definisi Operasional.....	21
3.3.1.	Variabel Penelitian	21
3.3.2.	Definisi Operasional	21
3.4.	Subjek Uji	22
3.4.1.	Galur sel kanker payudara (MDA-MB-231)	22
3.4.2.	Bahan Uji	22
3.5.	Alat dan Bahan Penelitian	22
3.5.1.	Bahan Penelitian	22
3.5.2.	Alat Penelitian	22
3.6.	Alur Penelitian	24
3.7.	Tatacara Penelitian.....	28
3.7.1.	Pembuatan Ekstrak Etanol Mikroalga	28
3.7.2.	Pembuatan Ekstrak Air Mikroalga	28
3.7.3.	Identifikasi Senyawa Lutein degan KLT.....	28
3.7.4.	Identifikasi Senyawa Lutein menggunakan HPLC	29
3.7.5.	Kultur Sel Kanker Payudara (MDA-MB-231).....	29
3.7.6.	Uji Viabilitas Sel	30
3.7.7.	Uji Migrasi Sel	30
3.7.8.	Uji Apoptosis.....	31
3.7.9.	Analisis <i>Flow cytometry</i>	31
3.8.	Metode Analisis.....	32
3.8.1.	Uji Normalitas	32
3.8.2.	Uji Homogenitas Varian.....	32
3.8.3.	Uji ANOVA <i>one-way</i> atau Uji Kruskal-Walis.....	32
3.8.4.	Uji Lanjutan <i>Post Hoc Test</i>	33
BAB 4	HASIL DAN PEMBAHASAN	34
4.1.	Hasil Penelitian.....	34
4.1.1.	Pembuatan Ekstrak Etanol Mikroalga	34
4.1.2.	Pembuatan Ekstrak Air Mikroalga	34
4.1.3.	Identifikasi Lutein pada Ekstrak Mikroalga dengan KLT ...	34
4.1.4.	Identifikasi Senyawa Lutein menggunakan HPLC	35
4.1.5.	Viabilitas Sel (MTT Assay)	37

4.1.6. Migrasi Sel (<i>Wound Healing Assay</i>)	39
4.1.7. Apoptosis Sel	42
4.1.8. Analisis <i>Flow cytometry</i>	43
4.2. Pembahasan	45
BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN	52
5.1. Kesimpulan	52
5.2. Saran	52
DAFTAR PUSTAKA	53
LAMPIRAN	58



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Karsinogenesis Kanker.....	5
Gambar 2.2 Reaksi Uji MTT	10
Gambar 3.1 Alur Penelitian	24
Gambar 3.2 Uji Viabilitas Sel.....	25
Gambar 3.3 Uji Migrasi Sel	26
Gambar 3.4 Diagram Analisa Apoptosis.....	27
Gambar 4.1 Identifikasi Lutein Ekstrak Mikroalga.....	35
Gambar 4.2 Kromatogram Standar Lutein.....	36
Gambar 4.3 Kromatogram Ekstrak Mikroalga Etanol.....	36
Gambar 4.4 Kromatogram Ekstrak Mikroalga Air	36
Gambar 4.5 Viabilitas Sel HEK 293T.....	37
Gambar 4.6 Viabilitas Sel MDA-MB-231	38
Gambar 4.7 Viabilitas Sel MDA-MB-231.	39
Gambar 4.8 Uji Migrasi Sel KPTN MDA-MB-231.....	40
Gambar 4.9 Uji Migrasi Sel KPTN MDA-MB-231.....	41
Gambar 4.10 Hasil Uji Apoptosis Sel MDA-MB-231.....	42
Gambar 4.11 Siklus Hidup Sel MDA-MB 231.....	44



DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Hasil Penelitian Terdahulu	14
Tabel 3.1 Rencana Waktu Penelitian	20
Tabel 4.1 IC ₅₀ pada Sel HEK 293T	38
Tabel 4.2 IC ₅₀ pada Sel MDA-MB-231	38
Tabel 4.3 IC ₅₀ pada Sel MDA-MB-231	39



DAFTAR SINGKATAN



TNBC	: Triple negative breast cancer
HR	: Reseptor Hormon
ER	: Reseptor Estrogen
PR	: Reseptor Progesteron
HER2	: <i>Human epidermal growth factor receptor-2</i>
CC50	: <i>Concentration of cytotoxicity 50%</i>
KLT	: Kromatografi Lapis Tipis
Bax	: <i>BCL2-Associated X Protein</i>
Bcl-2	: <i>B-cell lymphoma 2</i>
PUFAs	: <i>Polyunsaturated fatty acids</i>
MTT	: <i>Microculture Tetrazolium Technique</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic acid</i>
MAPK	: <i>mitogen-activated protein kinase</i>
PI3K	: <i>phosphatidylinositol 3-kinase</i>
FBS	: <i>Fetal Bovine Serum</i>
L15	: Leibovitz's
DMSO	: Dimetil Sulfoksida
PBS	: <i>Phosphate Buffered Saline</i>
SDS	: <i>Sodium Dodecyl Sulfate</i>
EME	: Ekstrak Mikroalga Etanol
EMA	: Ekstrak Mikroalga Air