



UNIVERSITAS PERTAHANAN RI

**UJI AKTIVITAS SITOTOKSIK KOMBINASI EKSTRAK
Chlorella pyrenoidosa DENGAN DOXORUBICIN PADA SEL
KANKER PAYUDARA *TRIPLE NEGATIVE* MDA-MB-231**

FAJRIN YUDHA PAMUNGKAS 320210201007

Skripsi yang Ditulis untuk Memenuhi Sebagian Persyaratan dalam
Mendapatkan Gelar Sarjana

FAKULTAS FARMASI MILITER
PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI
BOGOR, 2025

LEMBAR PERSETUJUAN SKRIPSI

Nama : Fajrin Yudha Pamungkas
NIM : 320210201007
Program Studi : Sarjana Farmasi
Fakultas : Farmasi Militer
Judul Skripsi : UJI AKTIVITAS SITOTOKSIK KOMBINASI
EKSTRAK *Chlorella pyrenoidosa* DENGAN
DOXORUBICIN PADA SEL KANKER
PAYUDARA TRIPLE NEGATIVE MDA-MB-
231

Dosen Pembimbing 2,



Dr. Endah Puji Septisetyani, M.Sc.
NIP. 198409272010122001
Tanggal: 8 Juli 2015

Dosen Pembimbing 1,



Dr. apt. Bantari W.K. Wardhani, M.Biomed.
NIP. 1985088212260238
Tanggal: 8 Juli 2015

Mengetahui,

Kepala Program Studi
Sarjana Farmasi,



apt. Budi Sumaryono, M.Farm., M.Han.
Kolonel Kes
NRP. 527126
Tanggal: 8 Juli 2015

Dekan
Fakultas Farmasi Militer



Prof. Dr. apt. Yahdiana Harahap, M.S.
Pembina Utama IV/e
NIP. 196409121990032003
Tanggal: 8 Juli 2015

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

Nama : Fajrin Yudha Pamungkas
NIM : 320210201007
Program studi : Sarjana Farmasi
Fakultas : Farmasi Militer
Judul Skripsi : UJI AKTIVITAS SITOTOKSIK KOMBINASI
EKSTRAK *Chlorella pyrenoidosa* DENGAN
DOXORUBICIN PADA SEL KANKER
PAYUDARA *TRIPLE NEGATIVE* MDA-MB-
231

No.	Nama Dosen	Tanda Tangan	Tanggal
1.	Dosen Pembimbing 1: Dr. apt. Bantari W.K. Wardhani, M.Biomed. NIP. 1985088212260238		8/7 2015
2.	Dosen Pembimbing 2: Dr. Endah Puji Septisetyani, M.Sc. NIP. 198409272010122001		8/7 2015
3.	Ketua Sidang/Penguji 1: Kolonel Kes apt. Budi Sumaryono, M.Farm., M.Han. NRP. 527126		8/7 2015
4.	Dosen Penguji 2: apt. Yennie Agnes Pranata, M.S.Farm. NUPTK. 6738766667230362		8/7 2015
5.	Dosen Penguji 3: Laksma TNI (purn) apt. Taufik Riadi, M.Si. NIDN. 4718106201		8/7 2015

PERNYATAAN ORISINALITAS

Dengan ini Saya menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya atau bagian karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan 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, 30 Juni 2025



Fajrin Yudha Pamungkas

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur kepada Allah SWT karena berkat rahmat, dan hidayah-Nya Saya dapat menyelesaikan penulisan skripsi dengan judul “UJI AKTIVITAS SITOTOKSIK KOMBINASI EKSTRAK *Chlorella pyrenoidosa* DENGAN DOXORUBICIN PADA SEL KANKER PAYUDARA *TRIPLE NEGATIVE* MDA-MB-231”.

Penyusunan skripsi ini ditujukan untuk memenuhi syarat dalam memperoleh gelar sarjana pada Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi Militer, Universitas Pertahanan Republik Indonesia.

Saya menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini tidak terlepas dari bantuan dan dukungan berbagai pihak secara langsung maupun tidak langsung, oleh karena itu dalam kesempatan ini Saya menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. Letnan Jenderal TNI (purn) Dr. Anton Nugroho, M.M.D.S., M.A., selaku Rektor Universitas Pertahanan Republik Indonesia,
2. Prof. Dr. apt. Yahdiana Harahap, M.S., selaku Dekan Fakultas Farmasi Militer, Universitas Pertahanan Republik Indonesia,
3. Brigjen TNI Dr. apt. Adi Priyono M.Si., selaku Wakil Dekan Bidang Keuangan dan Umum, dan Kolonel Ckm apt. Apip Hadi, M.Si., selaku Wakil Dekan Bidang Akademik dan Kemahasiswaan Fakultas Farmasi Militer, Universitas Pertahanan Republik Indonesia,
4. Kolonel Kes apt. Budi Sumaryono, M.Farm., M.Han., selaku ketua sidang sekaligus 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 bimbingan, ilmu, saran, motivasi, dan dukungan selama dilakukannya penelitian,

6. Laksma TNI (purn) Taufik Riadi M.Si., dan apt. Yennie Agnes Pranata M.S.Farm., selaku dosen penguji yang telah bersedia memberi koreksi, saran dan masukan,
7. Dosen, laboran, dan tenaga kependidikan Fakultas Farmasi Militer, Universitas Pertahanan Republik Indonesia, yang telah memberi semangat dan dukungan,
8. Kedua orang tua, kakak, dan adik yang senantiasa memberikan dukungan dan motivasi,
9. Seluruh peneliti dan kolega laboratorium kultur sel 1, Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN),
10. Keluarga Rama Tri Yudha dan Vrida Oktavia yang selalu memberikan dukungan dan akomodasi selama dilakukannya penelitian, dan
11. Seluruh Rekan-rekan Kadet Mahasiswa Prodi Sarjana Ilmu Farmasi Cohort-1,2,3,4, dan 5 Fakultas Farmasi Militer, Universitas Pertahanan Republik Indonesia.

Semoga segala kebaikan dan ridho Allah SWT selalu menyertai semua pihak yang telah membantu penyelesaian laporan akhir ini ini. Saya menyadari laporan ini masih jauh dari sempurna, untuk itu Saya menerima semua kritik dan saran membangun untuk perbaikan di masa mendatang. Harapan Saya semoga laporan akhir ini ini dapat bermanfaat bagi kepentingan ilmu pengetahuan khususnya di bidang farmasi dan pertahanan.

Bogor, Juni 2025
Fajrin Yudha Pamungkas

ABSTRAK

UJI AKTIVITAS SITOTOKSIK KOMBINASI EKSTRAK *Chlorella pyrenoidosa* DENGAN DOXORUBICIN PADA SEL KANKER PAYUDARA *TRIPLE NEGATIVE* MDA-MB-231

Kanker payudara menyumbang 2,29 juta kasus dan 666 ribu kematian secara global, dengan sub tipe Kanker Payudara *Triple Negative* (KPTN) yang paling agresif mencakup 20% dari seluruh kasus kanker payudara. Doxorubicin masih menjadi kemoterapi lini pertama untuk KPTN, namun bersifat kardiotoxik. Penelitian terdahulu menunjukkan potensi Ekstrak Mikroalga Etanol (EME) *Chlorella pyrenoidosa* sebagai obat anti kanker, sehingga tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengevaluasi potensi kombinasi doxorubicin dan EME *C. pyrenoidosa* pada sel KPTN MDA-MB-231. Penelitian ini dilakukan secara *in vitro* menggunakan galur sel MDA-MB-231. Uji viabilitas sel menggunakan metode MTT dilakukan untuk menentukan nilai IC50 doxorubicin dan EME *C. pyrenoidosa*, yang dilanjutkan dengan uji indeks kombinasi (CI) untuk menilai interaksi sinergis antar senyawa. Uji migrasi sel dilakukan dengan metode *wound healing*, sedangkan apoptosis dianalisis melalui pewarnaan *acridine orange* dan *ethidium bromide*. Siklus sel diamati menggunakan *flow cytometry* setelah perlakuan kombinasi. Analisis statistik untuk uji migrasi sel mencakup uji normalitas, homogenitas, ANOVA *one-way* dan uji lanjutan *post hoc Tukey*. Hasil menunjukkan nilai IC50 doxorubicin sebesar 1232,89 nM dan EME *C. pyrenoidosa* sebesar 446,5 µg/mL. Kombinasi doxorubicin 600 nM dengan EME *C. pyrenoidosa* 125 dan 250 µg/mL menunjukkan efek sinergis ringan dan sedang (CI 0,8417 dan 0,6945). Kombinasi doxorubicin 600 nM dan EME *C. Pyrenoidosa* 250 µg/mL sangat efektif menghambat migrasi sel hingga 22,46% ($P < 0.0001$) dibandingkan doxorubicin tunggal, serta meningkatkan kematian sel melalui apoptosis secara signifikan. Pada uji siklus sel kedua kombinasi menghambat siklus sel pada fase S dan G2/M. Hasil ini mendukung potensi EME *C. pyrenoidosa* untuk dikembangkan sebagai obat kombinasi doxorubicin pada terapi KPTN.

Kata Kunci: Uji *in-vitro*, Doxorubicin, EME *C. Pyrenoidosa*, Kombinasi

ABSTRACT

Breast cancer accounts for 2.29 million cases and 666 thousand deaths globally, with the most aggressive subtype of Triple Negative Breast Cancer (TNBC) accounting for 20% of all breast cancer cases. Doxorubicin is still the first-line chemotherapy for TNBC, but it is cardiotoxic. Previous studies have shown the potential of *Chlorella pyrenoidosa* Microalgae Ethanol Extract (EME) as an anti-cancer drug, so the purpose of this study was to evaluate the potential of the combination of doxorubicin and EME *C. pyrenoidosa* on TNBC MDA-MB-231 cells. This study was conducted in vitro using the MDA-MB-231 cell line. Cell viability testing using the MTT method was carried out to determine the IC₅₀ value of doxorubicin and EME *C. pyrenoidosa*, which was continued with a combination index (CI) test to assess the synergistic interaction between compounds. Cell migration testing was carried out using the wound healing method, while apoptosis was analyzed through acridine orange and ethidium bromide staining. The cell cycle was observed using flow cytometry after combination treatment. Statistical analysis for cell migration test included normality test, homogeneity test, one-way ANOVA and Tukey's post hoc follow-up test. The results showed the IC₅₀ value of doxorubicin was 1232.89 nM and EME *C. pyrenoidosa* was 446.5 µg/mL. The combination of doxorubicin 600 nM with EME *C. pyrenoidosa* 125 and 250 µg/mL showed mild and moderate synergistic effects (CI 0.8417 and 0.6945). The combination of doxorubicin 600 nM and EME *C. Pyrenoidosa* 250 µg/mL was very effective in inhibiting cell migration by 22.46% ($P < 0.0001$) compared to single doxorubicin, and significantly increased cell death through apoptosis. In the cell cycle test, both combinations inhibited the cell cycle in the S and G₂/M phases. These results support the potential of EME *C. pyrenoidosa* to be developed as a combination drug with doxorubicin in KPTN therapy.

Keywords: In-vitro test, Doxorubicin, EME *C. Pyrenoidosa*, Combination

DAFTAR ISI

LEMBAR PERSETUJUAN SKRIPSI.....	i
LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI	ii
PERNYATAAN ORISINALITAS.....	iii
KATA PENGANTAR	iv
ABSTRAK	vi
ABSTRACT	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR BAGAN.....	xii
DAFTAR GRAFIK	xiii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR SINGKATAN.....	xv
BAB I.....	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah.....	4
1.3. Tujuan Penelitian.....	4
1.4. Manfaat Penelitian.....	5
BAB II.....	6
2.1. Landasan Teori.....	6
2.1.1. Kanker	6
2.1.2. Kanker Payudara.....	8
2.1.3. KPTN.....	9
2.1.4. Galur Sel KPTN MDA-MB-231	10
2.1.5. Doxorubicin	11
2.1.6. Obat Kombinasi Kemoterapi Doxorubicin	13
2.1.7. Siklus sel dan <i>Flow Cytometry</i>	13
2.1.8. Viabilitas sel dan <i>MTT Assay</i>	15

2.1.9.	Migrasi sel dan <i>Wound Healing Assay</i>	17
2.1.10.	Apoptosis sel dan <i>Dual Stain Assay</i>	18
2.1.11.	Mikroalga <i>C. pyrenoidosa</i>	19
2.2.	Hasil Penelitian Terdahulu	23
2.3.	Kerangka Berpikir	28
2.4.	Hipotesis	29
BAB III		30
3.1.	Metode dan Desain Penelitian	30
3.2.	Tempat dan Waktu Penelitian	30
3.3.	Alat dan Bahan	31
3.3.1.	Alat	31
3.3.2.	Bahan	31
3.4.	Variabel dan Definisi Operasional	31
3.4.1.	Variabel Penelitian	31
3.4.2.	Definisi Operasional	32
3.5.	Subjek Uji	33
3.5.1.	Galur Sel KPTN MDA-MB-231	33
3.5.2.	Bahan Uji	33
3.6.	Diagram Alir Penelitian	34
3.7.	Prosedur Penelitian	40
3.7.1.	Penanaman Sel	40
3.7.2.	Panen Sel	40
3.7.3.	Uji Viabilitas Sel (IC_{50})	41
3.7.4.	Uji Penentuan <i>Combinatin Index</i> (CI)	42
3.7.5.	Uji Migrasi Sel	43
3.7.6.	Uji Apoptosis	44
3.7.7.	Uji Siklus Sel	45
3.8.	Metode Analisis	46
3.8.1.	Uji Normalitas	46
3.8.2.	Uji Homogenitas Varian	46
3.8.3.	Uji ANOVA <i>one-way</i> atau Uji Kruskal-Wallis	46
3.8.4.	Uji Lanjutan <i>Post Hoc</i>	47

BAB IV	48
4.1. Hasil Penelitian	48
4.1.1. Viabilitas Sel	48
4.1.2. Uji Indeks Kombinasi	49
4.1.3. Uji Migrasi Sel	51
4.1.4. Uji Apoptosis	53
4.1.5. Uji Siklus sel	55
4.2. Pembahasan	59
4.2.1. Uji Viabilitas Sel	59
4.2.2. Uji Migrasi Sel	60
4.2.3. Uji Apoptosis Sel	61
4.2.4. Uji Siklus Sel	63
BAB V	66
5.1 Kesimpulan	66
5.2 Saran	66
DAFTAR PUSTAKA	67
LAMPIRAN	75



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Struktur Obat Doxorubicin.....	11
Gambar 2.2 Diagram Siklus Sel.....	14
Gambar 2.3 Reaksi Reduksi MTT menjadi Formazan	16
Gambar 2.4 Gambar Mikroskopis <i>C. pyrenoidosa</i>	21
Gambar 4.1 Hasil Migrasi Sel.....	52
Gambar 4.2 Hasil Uji Apoptosis.....	55



DAFTAR BAGAN

Bagan 2.1 Kerangka Berpikir	28
Bagan 3.1 Diagram Alir Penelitian	34
Bagan 3.2 Uji Viabilitas Sel.....	35
Bagan 3.3 Uji Indeks Kombinasi.....	36
Bagan 3.4 Uji Migrasi Sel.....	37
Bagan 3.5 Uji Apoptosis Sel.....	38
Bagan 3.6 Uji Siklus Sel.....	39



DAFTAR GRAFIK

Grafik 4.1 Persentase Viabilitas Sel IC ₅₀	48
Grafik 4.2 Regresi Linier IC ₅₀	49
Grafik 4.3 Persentase Viabilitas Sel CI.....	50
Grafik 4.4 Nilai CI.....	50
Grafik 4.5 Hasil Uji Siklus sel.....	57



DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Hasil Penelitian Terdahulu	23
Tabel 3.1 Jadwal Penelitian	30
Tabel 3.2 Klasifikasi Efek Interaksi	44
Tabel 3.3 Perlakuan Uji Migrasi sel.....	42
Tabel 3.4 Perlakuan Uji Apoptosis Sel.....	44
Tabel 3.5 Perlakuan Uji Siklus Sel.....	45
Tabel 4.1 IC ₅₀ Doxorubicin dan EME <i>C. pyrenoidosa</i>	47
Tabel 4.2 Indeks Kombinasi Doxorubicin dan EME <i>C. pyrenoidosa</i>	49



DAFTAR SINGKATAN



A1	: <i>Protein A1</i>
AKT	: <i>Protein Kinase B</i>
ANOVA	: <i>Analysis of Variance</i>
AO & EB	: <i>Acridine Orange & Ethidium Bromide</i>
Bad	: <i>Bcl2-Associated Death Molecule</i>
Bax	: <i>Bcl2-Associated X Protein</i>
Bcl-2	: <i>B-cell lymphoma 2</i>
Bcl-xl	: <i>B-cell lymphoma xl</i>
Bcl-w	: <i>B-cell lymphoma w</i>
c-Myc	: <i>Cellular myelocytomatosis</i>
CI	: <i>Combination Index</i>
CP	: <i>Check Point</i>
DMSO	: <i>Dimetil Sulfoksida</i>
DNA	: <i>Deoxyribo Nucleic Acid</i>
EDTA	: <i>Ethylene Diamine Tetraacetic Acid</i>
EME	: <i>Ekstrak Mikroalga Etanol</i>
ER	: <i>Estrogen Receptor</i>
FasL	: <i>Fas Ligand</i>
FDA	: <i>Food and Drug Administration</i>
GLOBOCAN	: <i>Global Cancer Observatory</i>
HER2	: <i>Human epidermal growth factor receptor-2</i>
HPLC	: <i>High Performance Liquid Chromatography</i>
HSF-1	: <i>Heat Shock Factor 1</i>
HSP-25	: <i>Heat Shock Protein 25</i>
IC ₅₀	: <i>Inhibition Concentration 50</i>
KPTN	: <i>Kanker Payudara Triple Negative</i>
L15	: <i>Lelbovit's 15</i>
Mcl-1	: <i>Myeloid Cell Leukemia 1</i>
MDA-MB-231	: <i>M D Anderson - Metastatic Breast - 231</i>

MEPI	: <i>Methanol Extract of Aerial Parts</i>
mTOR	: <i>Target Rapamycin Mamalia</i>
MTT	: <i>Microculture Tetrazolium Technique</i>
NADH	: <i>Nikotinamida Adenina Dinukleotida Hidrogen</i>
PAMT	: <i>PI3K/Akt/mTOR</i>
p53	: <i>Protein 53</i>
PBS	: <i>Phosphate Buffer Saline</i>
PI	: <i>Propidium Iodide</i>
PR	: <i>Progesteron Receptor</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
SAC	: <i>Spindle Assembly Checkpoint</i>
VEGF	: <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>
WHO	: <i>World Health Organization</i>

