DILFA ALIFAH DALLIS

UJI AKTIVITAS SITOTOKSIK FRAKSI N-HEKSAN DAN ETIL ASETAT BIJI ALPUKAT (*Persea americana* Mill.) PADA KANKER PARU-PARU SEL A549 DENGAN METODE PRESTOBLUE

PROGRAM STUDI S1 FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS GARUT
2024

LEMBAR PENGESAHAN

PROGRAM STUDI S1 FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS GARUT

DEKAN



dr. Siva Hamidani, MARS., M.Farm.

UJI AKTIVITAS SITOTOKSIK FRAKSI N-HEKSAN DAN ETIL ASETAT BIJI ALPUKAT (*Persea americana* Mill.) PADA KANKER PARU-PARU SEL A549 DENGAN METODE PRESTOBLUE

TUGAS AKHIR

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi pada Program Studi S1 Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Garut

Garut, September 2024

Oleh:

Dilfa Alifah Dallis
24041120080

Disetujui oleh:

apt. Hesti Renggana M. Farm	**apt. Doni Anshar Nuari M. Si.**
Pembimbing Utama	Pembimbing Serta

Kutipan atau saduran, baik sebagian maupun seluruh naskah ini, harus menyebutkan nama pengarang dan sumber aslinya, yaitu Program Studi S1 Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Garut.

DEKLARASI

Dengan ini menyatakan bahwa buku tugas akhir dengan judul **"UJI SITOTOKSIK FRAKSI N-HEKSAN DAN ETIL ASETAT BIJI ALPUKAT (** ***Percea americana*** **Mill.) PADA KANKER PARU SEL A-549 DENGAN METODE PRESTOBLUE."** ini beserta seluruh isinya adalah benar-benar karya sendiri dan saya tidak melakukan penjiplakan atau pengutipan dengan cara-cara yang tidak sesuai dengan etika keilmuan yang tidak berlaku dengan masyarakat keilmuan. Atas pernyataan ini, saya siap menanggung risiko atau sanksi yang dijatuhkan kepada saya apabila kemudian ditemukan adanya pelanggaran terhadap etika keilmuan dalam karya ini, atau ada klaim dari pihak lain terhadap keaslian karya ini.

Garut, Agustus 2024

Yang membuat pernyataan

Tertanda



DILFA ALIFAH DALLIS

UJI AKTIVITAS SITOTOKSIK FRAKSI N-HEKSAN DAN ETIL ASETAT BIJI ALPUKAT (*Persea americana* Mill.) PADA KANKER PARU-PARU SEL A549 DENGAN METODE *PRESTRO BLUE*

Dilfa Alifah Dallis

24041120080

ABSTRAK

Kanker paru adalah jenis kanker dengan angka kejadian tertinggi di Indonesia, dan lebih banyak terjadi pada pria dibandingkan wanita, terutama terkait dengan faktor risiko seperti merokok.Pengobatan kanker saat ini, seperti operasi, radioterapi, kemoterapi, terapi hormon, dan terapi biologis, sering kali tidak efektif sepenuhnya dan dapat menimbulkan efek samping signifikan serta biaya yang tinggi. Oleh karena itu, diperlukan alternatif pengobatan yang lebih aman dan efektif. Salah satu bahan alam yang memiliki potensi sebagai antikanker adalah biji alpukat (*Persea americana* Mill.), yang diketahui mengandung senyawa bioaktif seperti Triterpenoid fenolik, flavonoid, dan tanin. Penelitian sebelumnya telah menunjukkan bahwa ekstrak biji alpukat memiliki aktivitas sitotoksik terhadap beberapa jenis sel kanker, termasuk kanker usus besar dan payudara. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi aktivitas sitotoksik fraksi n-heksan dan etil asetat dari biji alpukat terhadap sel kanker paru A549, serta menentukan nilai IC50 dari masing-masing fraksi tersebut. Uji sitotoksisitas dilakukan menggunakan metode *PrestoBlue* dengan variasi konsentrasi yaitu 7,81; 5,63; 31,25; 62,50; 125; 250; 500; 1000 ppm. Hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksi n-heksan biji alpukat memiliki aktivitas sitotoksik yang kuat terhadap sel kanker paru A549 dengan nilai IC50 sebesar 86,60 µg/mL, sedangkan fraksi etil asetat menunjukkan aktivitas sitotoksik yang lemah dengan nilai IC50 sebesar 275,70 µg/mL. Temuan ini menunjukkan potensi fraksi n-heksan biji alpukat sebagai kandidat agen antikanker yang lebih efektif dan memberikan dasar bagi pengembangan terapi kanker berbasis bahan alam di masa depan.

Kata Kunci: antikanker, biji alpukat, IC50, Sel A-549, *PrestoBlue*

CYTOTOXIC ACTIVITY ASSAY OF N-HEXANE AND ETHYL ACETATE FRACTIONS OF AVOCADO SEED (Persea americana Mill.) ON A549 LUNG CANCER CELLS USING THE PRESTOBLUE ASSAY METHOD

Dilfa Alifah Dallis

24041120080

ABSTRACT

Lung cancer is the most prevalent type of cancer in Indonesia, with a higher incidence in men than in women, primarily associated with risk factors such as smoking. Current cancer treatments, including surgery, radiotherapy, chemotherapy, hormone therapy, and biological therapy, are often not fully effective and can lead to significant side effects and high costs. Therefore, there is a need for safer and more effective alternative therapies. One natural ingredient with potential anticancer properties is avocado seed (Persea americana Mill.), known to contain bioactive compounds such as phenolic triterpenoids, flavonoids, and tannins. Previous studies have shown that avocado seed extracts exhibit cytotoxic activity against several types of cancer cells, including colon and breast cancer. This study aimed to evaluate the cytotoxic activity of n-hexane and ethyl acetate fractions from avocado seeds against A549 lung cancer cells and determine the IC50 values of each fraction. Cytotoxicity testing was performed using the PrestoBlue method with various concentrations: 7.81, 5.63, 31.25, 62.50, 125, 250, 500, and 1000 ppm. The results showed that the n-hexane fraction of avocado seeds exhibited potent cytotoxic activity against A549 lung cancer cells with an IC50 value of 86.60 µg/mL. In contrast, the ethyl acetate fraction showed weak cytotoxic activity with an IC50 value of 275.70 µg/mL. These findings highlight the potential of the n-hexane fraction of avocado seeds as a more effective anticancer agent and provide a basis for future natural product-based cancer therapies.

Keywords: *anticancer, avocado seed, IC50, A549 Cells, PrestoBlue*

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah segala puji dan syukur bagi Allah Swt. yang telah memberikan nikmat dan karunia-Nya sehingga penyusun dapat menyelesaikan skripsi ini. Shalawat serta salam semoga selalu tercurah kepada Nabi Muhammad Saw., keluarganya, sahabatnya, dan umatnya hingga akhir zaman.

Skripsi ini berjudul "**UJI SITOTOKSIK FRAKSI N-HEKSAN DAN ETIL ASETAT BIJI ALPUKAT (Percea americana Mill.) PADA KANKER PARU SEL A-549 DENGAN METODE PRESTOBLUE".** Yang diajukan sebagai salah satu syarat untuk menempuh ujian sarjana di Program Studi Sarjana Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Garut.

Penyusunan skripsi ini tidak akan dapat terlaksana tanpa adanya bantuan, bimbingan dan petunjuk dari berbagai pihak. Untuk itu dalam kesempatan ini, penyusun mengucapkan terimakasih kepada:

1. Ibu dr. Siva Hamdani, MARS., M. Farm selaku dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
2. Ibu apt. Hesti Renggana, M. Farm selaku Dosen Pembimbing Utama dan Bapak apt. Doni Anshar Nuari selaku Dosen Pembimbing Serta yang telah membantu membimbing, memberi arahan dan saran penulis dalam penyusunan Tugas Akhir ini.
3. Ibu apt. Siti Hindun, M. Farm selaku koordinator Tugas Akhir yang telah membimbing, memberi arahan dan saran selama penyusunan Tugas akhir ini.

4. Miss Novriyanti Lubis, ST., M.Si selaku dosen wali selama perkuliahan dari semester I hingga VIII yang selalu memberikan dukungan, perhatian, motivasi yang tiada henti.
5. Seluruh dosen dan Staff Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Garut yang telah memberikan banyak ilmu, bimbingan, pengarahan, dan dukungan selama penulisan Tugas Akhir ini.
6. Kepada kedua orang tua tercinta Alm. Anang dan Ibu Lilis Rohayati yang selalu memberikan dukungan, kasih sayang, nasehat, bantuan moril dan do'a yang tiada henti sehingga penyusun dapat menyelesaikan Tugas Akhir ini.
7. Kepada kakak tercinta Asep Hilman Rosadi dan Ai Musfah Nurul Ihsaniyah yang telah memberikan dukungan, kasih sayang, nasehat, dan do'a yang tiada henti sehingga penyusun dapat menyelesaikan Tugas Akhir ini.
8. Kepada sahabat tercinta Delina Nurrohmah dan rekan -rekan farmasi 2020 yang telah memberikan dukungan, nasehat dan do'a sehingga penyusun dapat menyelesaikan Tugas Akhir ini.

Penyusun menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini masih jauh dari sempurna dikarenakan masih terbatasnya ilmu, kemampuan serta pengetahuan yang penyusun miliki. Oleh karena itu penyusun mengharapkan adanya kritik dan saran yang membangun. Semoga kripsi ini dapat bermanfaat dalam perkembangan ilmu pengetahuan.

DAFTAR ISI

Halaman

KATA PENGANTAR i

DAFTAR ISI iii

DAFTAR LAMPIRAN vi

DAFTAR TABEL vii

DAFTAR GAMBAR viii

BAB

I PENDAHULUAN 1

II TINJAUAN PUSTAKA 4

2.1 Tinjauan Botani Alpukat (*Persea americana* Mill.) 4

2.1.1 Klasifikasi Tumbuhan 4

2.1.2 Sejarah Alpukat 5

2.1.3 Morfologi 5

2.1.4 Ekologi dan Penyebaran 6

2.1.5 Kandungan Kimia dan Gizi 7

2.1.6 Khasiat 7

2.1.7 Efek Farmakologi 8

2.2 Tinjauan Umum Kanker 8

2.2.1 Kanker 8

2.2.2 Kanker Paru 9

2.2.3 Epidemiologi 9

2.2.4 Etiologi 10

2.2.5 Faktor-Faktor Resiko Kanker Paru 11
2.2.6 Tanda dan Gejala Kanker Paru 15
2.2.7 Jenis Kanker Paru-Paru 16
2.2.8 Stadium Kanker Paru 17
2.2.9 Diagnosis Kanker Paru - Paru 21
2.2.10 Pengobatan Kanker Paru – Paru 26
2.3 Doxorubicin 32
2.4 Sel Kanker Paru-Paru A459 33
2.5 Ekstraksi 33
2.6 Metode Ekstraksi 34
2.6.1 Ekstraksi Cara Dingin 34
2.6.2 Ekstraksi cara panas 35
2.7 Fraksinasi 38
2.7.1 Fraksinasi Cair-Cair 39
2.7.2 Fraksinasi dengan Kolom Kromatografi 39
2.8 Uji Sitotoksitas 40
2.8.1 *MicroculturenTetrazolium Technique Assay* (MTT Assay) 40
2.8.2 *3-(4,5-Dimetiltiazol-2-il)-5-(3-kaboksimetoksifenil)-2-(4-sulfofenil)-2H-tetra-zolium (MTS Assay)* 41
2.8.3 *Water Soluble Tetrazolium Salt* (WST) 42
2.8.4 *PrestoBlue* 42
III METODE PENELITIAN 44

IV PENELITIAN 46
4.1 Alat 46
4.2 Bahan 46
4.3 Sel Uji 47
4.4 Prosedur Kerja 47
4.4.1 Penyiapan Bahan Uji 47
4.4.2 Penetapan Karakteristik Simplisia 48
4.4.3 Penafisan Fitokimia 52
4.4.4 Pembuatan Ekstrak 54
4.4.5 Pembuatan Fraksi Ekstrak Cair-Cair 55
4.4.6 Uji Sitotoksik Sel A549 56
V HASIL DAN PEMBAHASAN 60
VI SIMPULAN DAN SARAN 79
6.1 Simpulan 79
6.2 Saran 79
DAFTAR PUSTAKA 80
LAMPIRAN 89

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran		Halaman
1	DETERMINASI TANAMAN UJI	89
2	PROSES EKSTRAKSI BIJI ALPUKAT	90
3	PROSES FRAKSINASI	91
4	DOKUMENTASI PENAPISAN FITOKIMIA	92
5	PREPARASI MEDIA, KONTROL POSITIF, SAMPEL, DAN REAGENT	93
6	PREPARASI SEL	94
7	SEEDING SEL KE DALAM *WELL PLATE*	95
8	PERLAKUAN SEL DENGAN SAMPEL/KONTROL POSITIF/KONTROL NEGATIF DAN PEMBERIAN REAGENT	96
9	PERHITUNGAN VARIASI KONSENTRASI SAMPEL DAN FRAKSI	97
10	PERHITUNGAN % SEL HIDUP	99
11	DENAH MICROPLATE 96 WELLS	101
12	HASIL PENGUJIAN	102
13	PROSEDUR PENGGUNAAN APLIKASI *GRAPHAD PRISM*	106

DAFTAR TABEL

Tabel		Halaman
II.1	Klasifikasi Stadium Kanker Paru	17
II.2	Keterangan Singkatan Tumor Primer.....	18
II.3	Keterangan Singkatan KGB Regional.....	20
II.4	Keterangan Singkatan Metastasis (M)	20
II.5	Cisplatin.....	29
V.1	Karakterisasi Simplisia Biji Alpukat (*Percea americana Mill.*).....	63
V.2	Randemen Ekstrak Hasil Maserasi Biji Alpukat.....	67
V.3	Hasil Pemeriksaan Penapisan Fitokimia Biji Alpukat	69
V.4	Rata-rata % Sel Hidup Fraksi Etil Asetat dan n-Heksan Biji Alpukat.....	74
V.5	Nilai IC50 Fraksi n-Heksan dan Etil Asetat terhadap sel A 54	75
V.6	Klasifikasi Aktivitas Sitotoksik.....	76
V.7	Perhitungan Variasi Konsentrasi Dan Sampel Fraksi	97
V.8	Perhitungan % Sel Hidup Fraksi n-Heksan.....	99
V.9	Perhitungan % Sel Hidup Fraksi Etil Asetat	100
V.10	Keterangan Denah *Microplate 96 Wells*	101
V.11	Absorbansi Sampel Fraksi n-Heksan terhadap sel Paru A549.	102
V.12	Absorbansi Sampel Fraksi Etil Asetat terhadap sel Paru A549	104

DAFTAR GAMBAR

Gambar		Halaman
II.1	Biji alpukat (*Percea amercana* Mill).	5
II.2	Reduksi Enzimatik MTT menjad Formazan	41
II.3	Reduksi Enzimatik MTS menjad Formazan	42
II.4	Reduksi Enzimatik WST	42
II.5	Prinsip metode uji *Prestoblue*	43
IV.1	Hasil determinasi tanaman uji	89
IV.2	Bagan pembuatan ektraksi biji alpukat (Persea americana Mill.).....	90
IV.3	Bagan fraksinasi biji alpukat (Persea americana Mill.).....	91
IV.4	Penapisan simplisia biji alpukat (*Percea americana* Mill.)	92
IV.5	Preparasi media, kontrol positif, sampel, dan *reagent*	93
IV.6	Preparasi sel.....	94
IV.7	Seeding sel kedalam 96 well plate	95
IV.8	Perlakuan sel dengan sampel/kontrol positif/kontrol negatif dan pemberian reagent.....	96
IV.9	Denah *microplate 96 Wells*	101
V.1	Grafik hasil uji fraksi n-heksana terhadap sel A549	75
V.2	Grafik hasil uji fraksi etil asetat terhadap sel A549	75
V.3	*Well plate* 96 fraksi n-heksan terhadap sel paru A549.....	102
V.4	Morfologi sel A549 terhadap fraksi n- heksan.....	103
V.5	*Well Plate* 96 fraksi etil asetat terhadap Sel A 549	104

V.6 Morfologi sel A 549 terhadap fraksi etil asetat 105