

**ANALISIS EKSPRESI RESEPTOR ESTROGEN ALFA ($ER\alpha$) PADA
SEL KANKER AKIBAT DUTASTERIDA DENGAN
METODE WESTERN BLOT**



**SKRIPSI
AUDITA EKA WARDHANI
1908010058**

**PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PURWOKERTO
JANUARI 2024**

**ANALISIS EKSPRESI RESEPTOR ESTROGEN ALFA (ER α) PADA
SEL KANKER AKIBAT DUTASTERIDA DENGAN
METODE WESTERN BLOT**



SKRIPSI

Diajukan sebagai salah satu syarat
untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi

**AUDITA EKA WARDHANI
1908010058**

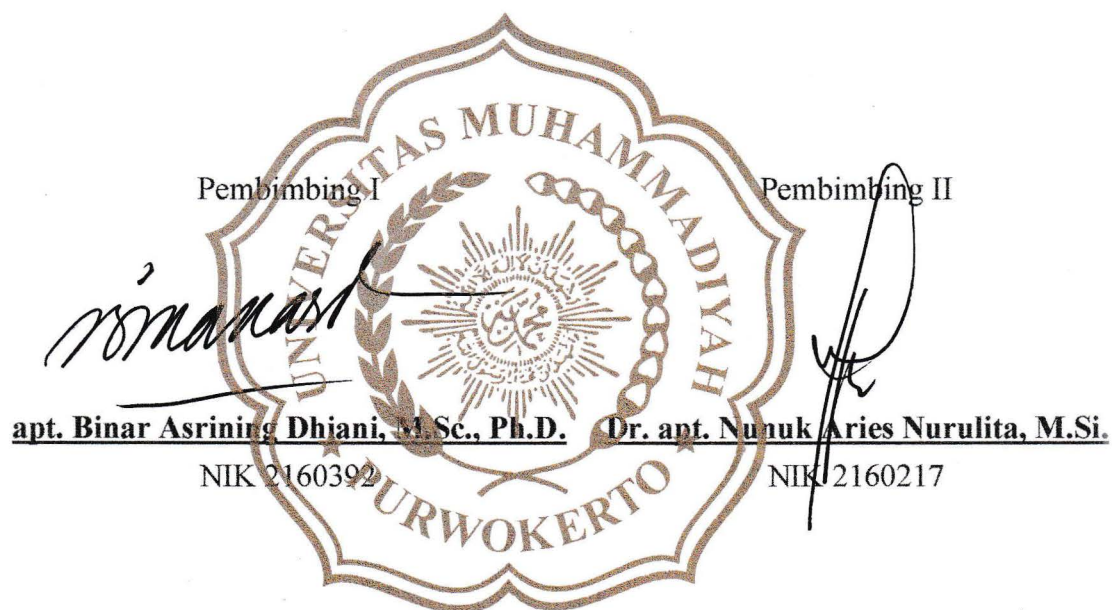
**PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PURWOKERTO
JANUARI 2024**

HALAMAN PERSETUJUAN

**ANALISIS EKSPRESI RESEPTOR ESTROGEN ALFA (ER α)
PADA SEL KANKER AKIBAT DUTASTERIDA
DENGAN METODE WESTERN BLOT**

**Audita Eka Wardhani
1908010058**

Skripsi ini telah disetujui oleh pembimbing untuk dipertahankan dalam ujian skripsi



HALAMAN PENGESAHAN

ANALISIS EKSPRESI RESEPTOR ESTROGEN ALFA
PADA SEL KANKER AKIBAT DUTASTERIDA
DENGAN METODE WESTERN BLOT

Audita Eka Wardhani
1908010058

Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Skripsi
Pada hari kamis tanggal 25 januari 2024

Purwokerto, 25 Januari 2024

SUSUNAN PANITIA

KETUA

SEKRETARIS

apt. Suparman, Ph.D.
NIK 2160446

Dr. Asmiventi Djaliasrin Djalil, M.Si.
NIP 197405222000122001

PENGUJI II

PENGUJI IV

apt. Binar Asrining Dhiani, M.Sc., Ph.D.
NIK 2160392

Dr. apt. Nunuk Aries Nurulita, M.Si.
NIK 2160217

Mengetahui,

Dekan Fakultas Farmasi

Universitas Muhammadiyah Purwokerto



apt. Binar Asrining Dhiani, M.Sc., Ph.D.

NIK 2160392

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Saya bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Audita Eka Wardhani

NIM : 1908010058

Program Studi : Farmasi

Fakultas : Farmasi

Perguruan Tinggi : Universitas Muhammadiyah Purwokerto

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa skripsi ini adalah hasil karya saya dan semua sumber baik yang dikutip maupun yang dirujuk telah saya nyatakan dengan benar serta bukan hasil penjiplakan dari karya orang lain.

Demikian pernyataan ini saya buat dan apabila kelak dikemudian hari terbukti ada unsur penjiplakan, saya bersedia mempertanggungjawabkan sesuai dengan ketentuan yang berlaku.

Purwokerto, 1 Mei 2024

Yang membuat pernyataan



Audita Eka Wardhani
NIM 1908010058

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah puji syukur saya panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa karena berkat karunia-Nya saya dapat menyelesaikan proposal skripsi ini. Pada proposal skripsi ini saya mengangkat judul “**ANALISIS EKSPRESI RESEPTOR ESTROGEN ALFA ($ER\alpha$) PADA SEL KANKER AKIBAT DUTASTERIDA DENGAN METODE WESTERN BLOT**”. Penulisan proposal skripsi ini dilakukan dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Farmasi pada Program Studi S1 Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Purwokerto.

Penulis menyadari bahwa tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak, dari masa perkuliahan sampai pada penyusunan proposal skripsi ini, sangatlah sulit untuk menyelesaikan proposal skripsi ini. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada yang terhormat:

1. Assoc. Prof. Dr. Jebul Suroso, S.Kp., Ns., M.Kep., selaku Rektor Universitas Muhammadiyah Purwokerto;
2. apt. Binar Asrining Dhiani, M.Sc., Ph.D selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Purwokerto;
3. apt. Suparman, Ph.D., selaku Ketua Program Studi S1 Farmasi yang telah memberi berbagai informasi dan bimbingan tentang tata laksana penyusunan skripsi;
4. apt. Binar Asrining Dhiani, M.Sc., Ph.D. dan Dr. apt. Nunuk Aries Nurulita, M.Si., selaku dosen pembimbing yang telah bersedia meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran untuk memberikan bimbingan, petunjuk, dan arahan sehingga peneliti dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi ini dengan lancar;
5. Segenap staff pengajar Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Purwokerto yang telah memberikan ilmu yang bermanfaat;
6. Bapak dan ibu serta saudara tercinta yang telah memberikan bantuan dan dukungan baik material maupun moral;
7. Semua pihak yang telah membantu penyelesaian skripsi ini yang tidak bisa disebutkan satu-persatu.

Penulis menyadari bahwa dalam skripsi ini masih memiliki banyak kekurangan. Semoga Allah SWT memberikan balasan atas segala kebaikan semua pihak yang telah terlibat dalam penyusunan skripsi ini. Penulis berharap skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi semua pihak yang membutuhkan informasi penelitian tersebut untuk pengembangan ilmu dan kemajuan bangsa Indonesia. Aamiin.

Purwokerto, 1 Mei 2024

Penulis



Audita Eka Wardhani
1908010058



RIWAYAT HIDUP

- Nama** : Audita Eka Wardhani
- Tempat dan tanggal lahir** : Jakarta, 16 September 2001
- Orang tua** : 1. Adhitya Surahman
2. Warsiyah
- Alamat** : Kota Cirebon, Jawa Barat
- Alamat email** : auditaeka1609@gmail.com
- Riwayat pendidikan** :
- Sekolah Dasar : SD Negeri Kebon Melati 1 Kota Cirebon
 - Sekolah Menengah Pertama: SMP Negeri 16 Kota Cirebon
 - Sekolah Menengah Atas : SMK Farmasi Muhammadiyah Cirebon
- Penghargaan akademik** :
- Lolos Pendanaan PKM-PM (Pekan Kreativitas Mahasiswa Pengabdian Masyarakat) 2020
 - Juara Harapan 3 Olimpiade Seni Islami Da'i Da'iyah Se-Jawa Tengah dan Daerah Indah Yogyakarta 2020
 - Juara Harapan 3 Mahasiswa Berprestasi Jenjang Sarjana Tingkat Universitas Muhammadiyah Purwokerto 2021
 - Juara 1 Mahasiswa Berprestasi Jenjang Sarjana Tingkat Universitas Muhammadiyah Purwokerto 2022
 - Juara 2 *The Best Project Istanbul Youth Summit 2022 of Youth Break the Boundaries*
 - Pembicara Internasional *Student Sharing Session 2 "Youth Scientific Collaboration in Science Research and Technology" Indonesian Student Association National Central University (NCU), Taiwan 2022*
 - Lolos Pendanaan PKM-K (Pekan Kreativitas Mahasiswa Kewirausahaan) 2022
 - HAKI Poster Ilmiah berjudul "Cur-Au NPs (Nanopartikel Emas Kurkumin) Sebagai Pembawa *Boron Neutron Capture Therapy* (BNCT) Pada Kanker Payudara 2022

- i. Juara 2 Poster APRO *Branding Competition of International Pharmaceutical Students Federation Asia Pacific Regional Office 2023*
- j. *Top 100 Selected Delegate of Young Research Forum 1st Crash Course International Pharmaceutical Students Federation 2023*
- k. *Top 200 Selected Participant of 1000+ applicant of Bio Farma x MIT (Massachusetts Institute of Technology) International Hacking Medicine Hackathon Competition and Conference 2023*
- l. Panelis Intelektual pada Debat Akbar Calon Presiden dan Wakil Presiden Universitas Muhammadiyah Purwokerto 2023
- m. Semi Finalis Musabaqah Debat Bahasa Inggris Kandungan Al-Qur'an 2023
- n. Finalis Musabaqah Karya Tulis Ilmiah Kandungan Al-Qur'an 2023 yang diselenggarakan oleh PUSPRESNAS dan KEMENDIKBUD.

Beadasiswa : PPA (Peningkatan Prestasi Akademik) 2021

Keanggotaan dalam organisasi :

- a. Anggota Bidang Immawati PK IMM Farmasi Universitas Muhammadiyah Purwokerto 2019-2020
- b. Sekretaris Bidang Immawati PK IMM Farmasi Universitas Muhammadiyah Purwokerto 2020-2021
- c. Ketua Bidang Immawati PK IMM Farmasi Universitas Muhammadiyah Purwokerto 2021-2022
- d. Bendahara Umum Excellent Scientific Club BEM Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Purwokerto 2020-2021

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI SKRIPSI
UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai *civitas* akademika Universitas Muhammadiyah Purwokerto dan demi pengembangan ilmu pengetahuan, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Audita Eka Wardhani
NIM : 1908010058
Program Studi : Farmasi
Fakultas : Farmasi
Perguruan Tinggi : Universitas Muhammadiyah Purwokerto
Jenis karya : Skripsi

Menyetujui untuk memberikan Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty-Free Right*) kepada Universitas Muhammadiyah Purwokerto atas karya ilmiah saya yang berjudul:

“ANALISIS EKSPRESI RESEPTOR ESTROGEN ALFA ($ER\alpha$) PADA SEL KANKER AKIBAT DUTASTERIDA DENGAN METODE WESTERN BLOT”

Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Muhammadiyah Purwokerto berhak menyimpan, mengalih media/mengalih formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan mempublikasikan skripsi saya dengan tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta. Pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya, tanpa paksaan dari siapapun.

Dibuat di : Purwokerto

Pada tanggal : 25 Januari 2024

Yang menyatakan,

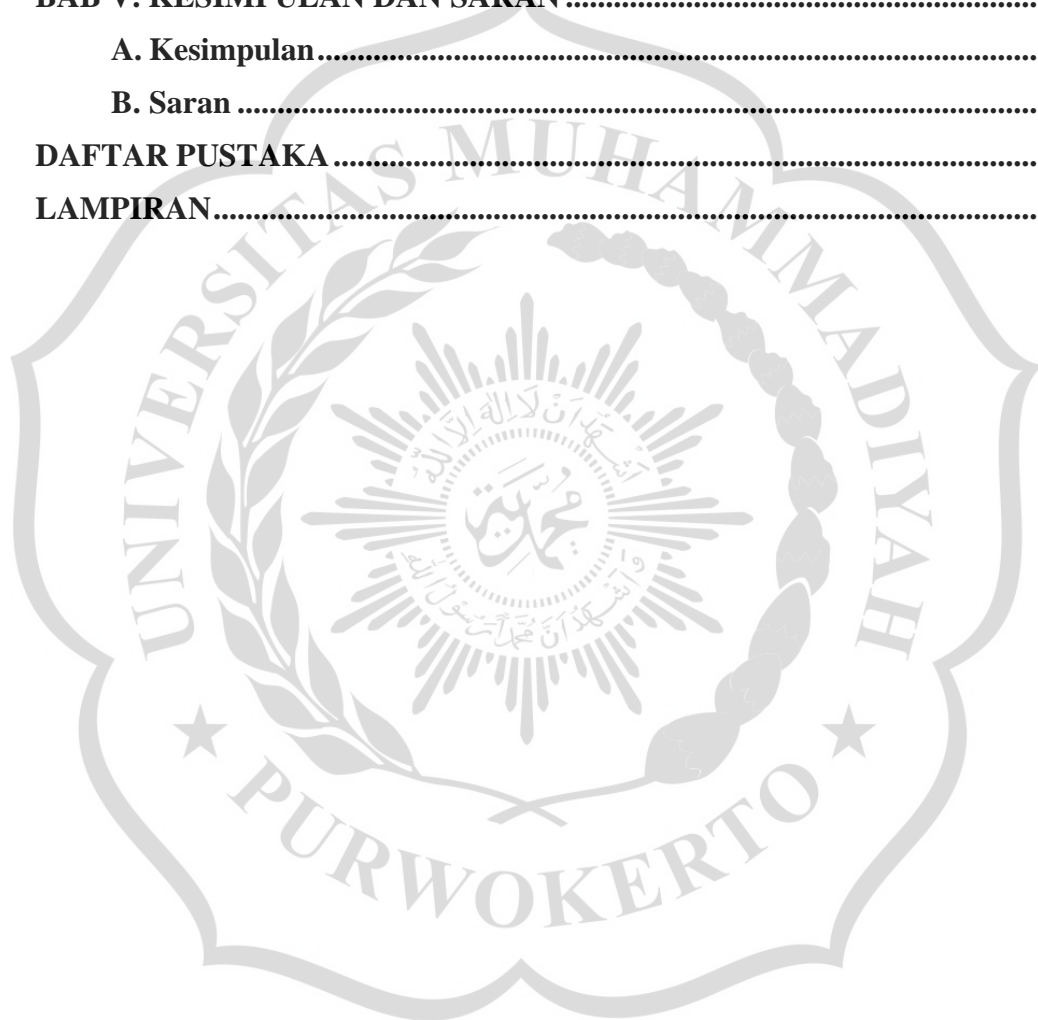


Audita Eka Wardhani
NIM. 1908010058

DAFTAR ISI

HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	iv
KATA PENGANTAR	v
RIWAYAT HIDUP	vii
HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI SKRIPSI UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR SINGKATAN	xii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
ABSTRAK	xvii
ABSTRACT	xviii
BAB I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Perumusan Masalah	1
C. Tujuan Penelitian	1
D. Manfaat Penelitian	2
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	3
A. Hasil Penelitian Terdahulu	3
B. Landasan Teori	4
C. Hipotesis	14
BAB III. METODE PENELITIAN	15
A. Jenis dan Rancangan Penelitian	15
B. Variabel Penelitian	15
C. Definisi Variabel Operasional	15
D. Waktu dan Tempat Penelitian	16
E. Alat dan Bahan	16
F. Cara Penelitian	18
G. Analisis Hasil	25

BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	26
A. Konfluensi Sel.....	26
B. Konsentrasi Protein Total.....	26
C. Pita Protein (SDS PAGE).....	27
D. Western Blot.....	29
E. <i>Imaging/Detection</i>.....	29
F. Keunggulan dan Keterbatasan Penelitian.....	31
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN.....	32
A. Kesimpulan.....	32
B. Saran.....	32
DAFTAR PUSTAKA.....	33
LAMPIRAN.....	38



DAFTAR SINGKATAN

APS	<i>Ammonium Persulphate Solution</i>
BPH	<i>Benign Prostatic Hyperplasia</i>
BSA	<i>Bovine Serum Albumine</i>
BSL	<i>Biosafety Level Laboratory</i>
ddH₂O	<i>Double Distilled Water (H₂O)</i>
DMSO	<i>Dimethyl Sulfoxide</i>
DHT	<i>Dihydrotestosterone Hormone</i>
ECL	<i>Enhanced Chemiluminescence</i>
ER	<i>Estrogen Receptor</i>
ERE	<i>Elemen Responsif Estrogen</i>
ESR 1	<i>Estrogen Receptor Alpha</i>
ERα	<i>Estrogen Receptor Alpha</i>
FBS	<i>Fetal Bovine Serum</i>
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
LD	<i>Letal Dose</i>
LH	<i>Luteinizing Hormone</i>
MOPS	<i>(3-(N-morpholino) propanesulfonic acid)</i>
MRHD	<i>Maximum Recommended Human Dose</i>
GLOBOCAN	<i>Global Observatory Cancer</i>
HCl	<i>Hydrogen Chloride</i>
HRP	<i>Horseradish Peroxidase</i>
PSA	<i>Prostate Spesific Antigen</i>
PBS	<i>Phosphate Buffer Saline</i>
Penstrep	<i>Penicillin Streptomycin</i>
PVDF	<i>Polyvinylidene difluoride</i>
SDS/PAGE	<i>Sodium Dodecyl Sulphate/Polyacrylamide Agarose Gel Electrophoresis</i>
TBST	<i>Tris-Cl Buffer Saline-Tween 20</i>

TEMED	<i>Tetramethylethylenediamine</i>
WB	<i>Western Blot</i>
WHO	<i>World Health Organization</i>
5ARIs	<i>5-Alpha Reductase Inhibitors</i>



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Struktur 2 dimensi Dutasterida.....	5
Gambar 2.2 Sel T47D	8
Gambar 2.3 Sel Vero.....	10
Gambar 2.4 Skema transfer protein metode western blot	11
Gambar 2.5 <i>Workflow of western blot</i>	13
Gambar 4.1 Sel T47D dan Vero yang sudah konfluen 80-90%.....	26
Gambar 4.2 Kurva Standar Regresi Linier Penentuan Kadar Protein Total	27
Gambar 4.3 Hasil Pewarnaan gel SDS PAGE menggunakan <i>Coomassie Brilliant Blue</i> dari Sampel Protein sel T47D dan Vero setelah perlakuan Dutasterida 1 μ M selama 1 jam dan 3 jam	27
Gambar 4.4 Hasil Pewarnaan gel SDS PAGE menggunakan <i>Coomassie Brilliant Blue</i> dari Sampel Protein sel T47D dan Vero setelah perlakuan Dutasterida 3 μ M selama 1 jam dan 3 jam	28
Gambar 4.5 Hasil pewarnaan membran PVDF menggunakan <i>ponceau staining</i> . 29	
Gambar 4.6 Visualisasi pita membran PVDF menggunakan ImageQuant LAS 500	29

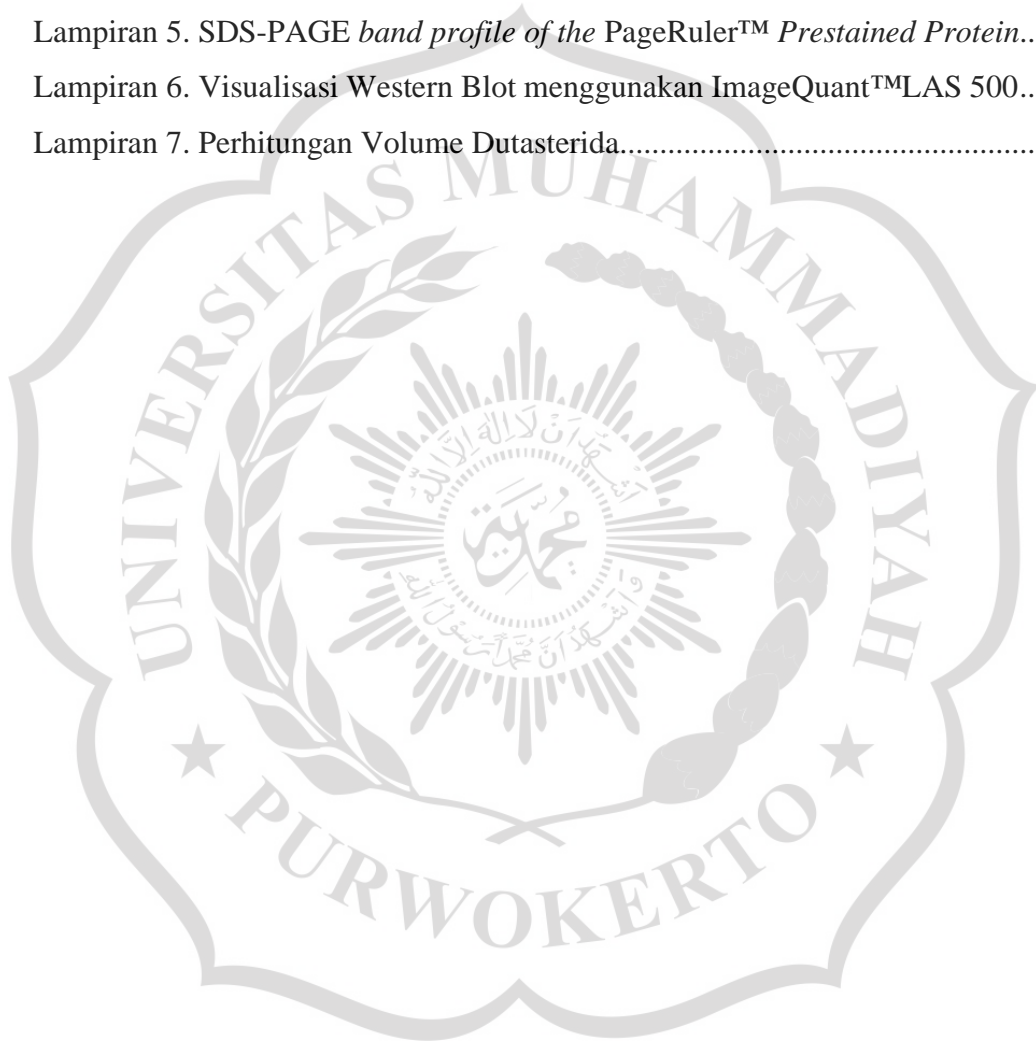
DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Hasil Penelitian Terdahulu.....	3
Tabel 4.1 Konsentrasi Protein Total.....	26



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Alat yang digunakan.....	39
Lampiran 2. Bahan yang digunakan.....	40
Lampiran 3. Perkembangan Kultur Sel Kanker	41
Lampiran 4. Data Perhitungan Ekstraksi Protein Total	43
Lampiran 5. SDS-PAGE <i>band profile of the PageRuler™ Prestained Protein</i>	45
Lampiran 6. Visualisasi Western Blot menggunakan ImageQuant™LAS 500....	46
Lampiran 7. Perhitungan Volume Dutasterida.....	47



Analisis Ekspresi Reseptor Estrogen Alfa (ER α) pada Sel Kanker Akibat Dutasterida dengan Metode Western Blot

Audita Eka Wardhani¹, Binar Asrining Dhiani², Nunuk Aries Nurulita³

ABSTRAK

Latar Belakang: Kanker memiliki mortalitas dan morbiditas yang tinggi dengan 219.497 kasus di Indonesia. Dutasterida merupakan senyawa *5-alpha reductase inhibitors* (5ARIs) yang disetujui oleh US FDA (*Food and Drug Administration*) dan digunakan untuk terapi hiperplasia prostat jinak. Interaksi antara ER α -TRIM56 dapat memicu proliferasi sel kanker payudara. Penambatan protein-protein dari senyawa dutasterida dapat melemahkan pengikatan energi antara ER α -TRIM56, sehingga dimungkinkan dapat berpotensi sebagai anti kanker payudara. Penelitian ini dilakukan untuk menentukan level ekspresi ER α akibat pemberian dutasterida pada sel kanker payudara (T47D) dan sel normal (sel Vero). **Metode:** Sel T47D dan Vero diberi perlakuan menggunakan dutasterida. Protein dipisahkan menggunakan SDS-PAGE. Western blot *semi-dry* digunakan untuk mentransfer protein ke membran PVDF. Visualisasi pita protein menggunakan ImageQuant LAS 500. **Hasil:** Pita hanya tampak pada *lane* sampel protein dari sel vero dan tidak tampak pada *lane* milik sel T47D. **Kesimpulan:** Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan, penelitian ini belum dapat menyimpulkan level ekspresi ER α pada sel kanker akibat pemberian dutasterida.

Kata Kunci: Dutasterida, Western Blot, Ekspresi Reseptor Estrogen Alfa, Sel Kanker

***Expression Analysis of Estrogen Receptor Alpha (ERα) of Cancer Cell Lines
Due to Dutasteride using Western Blot Method.***

Audita Eka Wardhani¹, Binar Asrining Dhiani², Nunuk Aries Nurulita³

ABSTRACT

Background: Cancer has high mortality and morbidity with 219.497 cases in Indonesia. Dutasteride is a 5-alpha reductase inhibitors (5ARIs) compound that is approved by the US FDA (Food and Drug Administration) and is used for the treatment of benign prostatic hyperplasia. Dutasteride weaken the energy binding between ERα-TRIM56 based on protein-protein docking studies, so it potential as an anti-breast cancer agent. This research was conducted to determine the level of ERα expression. Dutasteride administered breast cancer cells (T47D) and normal cells (Vero cells) **Methods:** T47D and Vero cells were treated using Dutasteride. Proteins were separated using SDS-PAGE. Semi-dry Western blot was used to transfer proteins to PVDF membranes. Visualization of protein bands using ImageQuant LAS 500. **Results:** Bands were only visible in the protein sample lane of Vero cells and not in the T47D cells protein lane. **Conclusion:** Based on the results of this research, the level of ERα expression in cancer cells cannot be defined after Dutasteride treatment.

Keywords: Dutasteride, Western Blot, Estrogen Receptor Alpha Expression, Cancer Cells