

**NETWORK PHARMACOLOGY, UJI AKTIVITAS ANTIKANKER  
DAN KEAMANAN KOMBINASI OBAT COSTUNOLID DENGAN  
DOXORUBICIN PADA MODEL KANKER PAYUDARA SEL T47D  
DAN SEL VERO**

**SKRIPSI**

**Oleh:  
NUR RASYID SAPUTRO  
NIM. 210703110019**



**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM  
MALANG  
2024**

**NETWORK PHARMACOLOGY, UJI AKTIVITAS ANTIKANKER  
DAN KEAMANAN KOMBINASI OBAT COSTUNOLID DENGAN  
DOXORUBICIN PADA MODEL KANKER PAYUDARA SEL T47D  
DAN SEL VERO**

**SKRIPSI**

**oleh  
NUR RASYID SAPUTRO  
NIM. 210703110019**

**Diajukan Kepada:  
Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan  
Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang  
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratn dalam Memperoleh Gelar Sarjana  
Farmasi (S.Farm)**

**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM  
MALANG  
2024**

**NETWORK PHARMACOLOGY, UJI AKTIVITAS  
ANTIKANKER DAN KEAMANAN KOMBINASI OBAT  
COSTUNOLID DENGAN DOXORUBICIN PADA MODEL  
KANKER PAYUDARA SEL T47D DAN SEL VERO**

**SKRIPSI**

oleh  
**NUR RASYID SAPUTRO**  
**NIM. 210703110019**

**Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji:**

**Tanggal: Desember 2024**

**Pembimbing 1**



**apt. Prof.Dr.Roihatul Mutiah,SF.,M.Kes**  
**NIP. 198002032009122003**

**Pembimbing 2**



**Dr. dr. Ermin Rachmawati, M.Biomed**  
**NIP. 198209242008012010**

**Mengetahui,**

**Ketua Program Studi Farmasi**



**Apt. Abdul Hakim, M.P.I., M.Farm**  
**NIP. 19761214 200912 1002**

**NETWORK PHARMACOLOGY, UJI AKTIVITAS ANTIKANKER  
DAN KEAMANAN KOMBINASI OBAT COSTUNOLID DENGAN  
DOXORUBICIN PADA MODEL KANKER PAYUDARA SEL T47D  
DAN SEL VERO**

**SKRIPSI**

oleh  
**NUR RASYID SAPUTRO**  
NIM. 210703110019

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi dan Dinyatakan Diterima  
Sebagai Salah Satu Persyaratan untuk Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi  
(S.Farm)

Tanggal: 2024

Ketua Penguji : 1. Dr. dr. Ermin Rachmawati, M.Biomed.

NIP. 198209242008012010

Anggota Penguji : 2. drg. Arief Suryadinata, Sp.Ort

NIP. 198507202009121003

3. apt. Prof.Dr.Roihatul Mutiah,SF.,M.Kes.

NIP. 198002032009122003

4. Ach. Nasichuddin, MA.

NIP. 197307052000031002



Mengetahui,  
Ketua Program Studi Farmasi

Abdul Hakim, M.P.I., M.Farm  
NIP. 19761214 200912 1002

(.....)  
(.....)  
(.....)  
(.....)

## HALAMAN PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Nur Rasyid Saputro  
NIM : 210703110019  
Program Studi : Farmasi  
Fakultas : Kedokteran dan Ilmu Kesehatan  
Judul Penelitian : *Network Pharmacology*, Uji Aktivitas Antikanker dan Keamanan Kombinasi Obat Costunolid dengan Doxorubicin pada Model Kanker Payudara Sel T47D dan Sel Vero

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-banar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 21 April 2024

Yang Membuat Pernyataan



Nur Rasyid Saputro

NIM. 210703110019

## KATA PENGANTAR

*Assalamu 'alaikum Warrahmatullahi Wabarakatuh*

Syukur alhamdulillah penulis haturkan kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan Rahmat dan Hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan studi di Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang sekaligus menyelesaikan tugas akhir/skripsi yang berjudul “*Network Pharmacology, Uji Aktivitas Antikanker dan Keamanan Kombinasi Obat Costunolid dengan Doxorubicin pada Model Kanker Payudara Sel T47d dan Sel Vero*” dengan baik.

Selanjutnya penulis haturkan ucapan terima kasih seiring do'a dan harapan jazakumullah ahsanal jaza' kepada semua pihak yang telah membantu terselesaikannya skripsi ini. Ucapan terima kasih ini penulis sampaikan kepada:

1. Bapak Prof. Dr. H. M. Zainuddin, M., selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Ibu Prof. Dr. dr. Yuyun Yuniewati PW, M.Kes., Sp.Rad (K)., selaku Dekan Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Bapak Apt. Abdul Hakim, M.P.I., M. Farm selaku ketua program studi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Ibu Prof. Dr. apt. Roihatul Muti'ah, M.Kes. dan Dr. dr. Ermin Rachmawati, M.Biomed, selaku dosen pembimbing skripsi, yang telah meluangkan waktu untuk membimbing penulis dan banyak memberikan pengarahan, pengalaman, motivasi serta semangat yang sangat berharga demi terselesainya skripsi ini.
5. Bapak, ibu serta sanak keluarga yang selalu memberikan dukungan, nasihat, dan doa kepada penulis.
6. Serta semua pihak secara langsung maupun tidak langsung telah ikut memberikan bantuan dan motivasi selama penyusunan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu, kritik dan saran yang membangun sangat penulis harapkan untuk perbaikan di masa mendatang. Semoga karya ini dapat memberikan manfaat bagi pembaca dan dunia ilmu pengetahuan pada umumnya.

Malang, 2024

Penulis

## DAFTAR ISI

|                                                                    |            |
|--------------------------------------------------------------------|------------|
| <b>HALAMAN JUDUL .....</b>                                         | <b>i</b>   |
| <b>HALAMAN PERSETUJUAN .....</b>                                   | <b>ii</b>  |
| <b>HALAMAN PENGESAHAN .....</b>                                    | <b>iii</b> |
| <b>HALAMAN PERSEMBAHAN .....</b>                                   | <b>iv</b>  |
| <b>HALAMAN PERNYATAAN.....</b>                                     | <b>v</b>   |
| <b>KATA PENGANTAR.....</b>                                         | <b>vi</b>  |
| <b>DAFTAR ISI.....</b>                                             | <b>vii</b> |
| <b>DAFTAR GAMBAR.....</b>                                          | <b>ix</b>  |
| <b>DAFTAR TABEL .....</b>                                          | <b>x</b>   |
| <b>ABSTRAK .....</b>                                               | <b>2</b>   |
| <b>BAB I PENDAHULUAN .....</b>                                     | <b>5</b>   |
| 1.1 Latar Belakang.....                                            | 6          |
| 1.2 Rumusan Masalah .....                                          | 13         |
| 1.3 Tujuan Penelitian .....                                        | 13         |
| 1.4 Manfaat Penelitian.....                                        | 14         |
| 1.5 Batasan Masalah.....                                           | 14         |
| <b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....</b>                                | <b>15</b>  |
| 2.1 Tinjauan Kanker Payudara .....                                 | 15         |
| 2.1.1 Definisi Kanker Payudara .....                               | 15         |
| 2.1.2 Epidemiologi Kanker Payudara .....                           | 15         |
| 2.1.3 Etiologi Kanker Payudara .....                               | 16         |
| 2.1.4 Patofisiologi Kanker Payudara .....                          | 17         |
| 2.1.5 Penatalaksanaan Terapi Kanker Payudara .....                 | 19         |
| 2.2 Tinjauan Sel Kanker Payudara T47D dan Sel Vero .....           | 22         |
| 2.2.1 Sel T47D .....                                               | 22         |
| 2.2.2 Sel Vero .....                                               | 23         |
| 2.3 Tinjauan <i>Network Pharmacology</i> .....                     | 24         |
| 2.3.1 Definisi <i>Network Pharmacology</i> .....                   | 24         |
| 2.4 Database dan Perangkat Lunak <i>Network Pharmacology</i> ..... | 25         |

|                                                                    |           |
|--------------------------------------------------------------------|-----------|
| 2.4.1 GeneCards.....                                               | 25        |
| 2.4.2 DisGeNet .....                                               | 25        |
| 2.4.3 STRING .....                                                 | 25        |
| 2.4.4 KEGG .....                                                   | 26        |
| 2.5 Tinjauan Senyawa.....                                          | 27        |
| 2.5.1 Tinjauan Costunolid.....                                     | 27        |
| 2.5.2 Tinjauan Doxorubicin .....                                   | 29        |
| 2.6 Tinjauan Uji Aktivitas Antikanker dan Keamanan .....           | 31        |
| 2.6.1 Kultur Sel.....                                              | 31        |
| 2.6.2 Metode MTT <i>assay</i> .....                                | 32        |
| 2.6.3 ELISA <i>Reader</i> .....                                    | 33        |
| <b>BAB III KERANGKA KONSEPTUAL.....</b>                            | <b>34</b> |
| 3.1 Kerangka Konseptual.....                                       | 34        |
| 3.2 Uraian Kerangka Konseptual.....                                | 34        |
| <b>BAB IV METODE PENELITIAN .....</b>                              | <b>37</b> |
| 4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian .....                           | 37        |
| 4.2 Waktu dan Tempat Penelitian .....                              | 37        |
| 4.3 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional .....             | 38        |
| 4.3.1 Variabel Penelitian.....                                     | 38        |
| 4.4 Definisi Operasional.....                                      | 38        |
| 4.5 Alat dan Bahan .....                                           | 39        |
| 4.5.1 Alat.....                                                    | 39        |
| 4.5.2 Bahan .....                                                  | 39        |
| 4.6 Prosedur Penelitian .....                                      | 40        |
| 4.6.1 Prosedur <i>Network pharmacology</i> .....                   | 40        |
| 4.6.2 Uji Aktivitas Antikanker dan Keamanan Menggunakan Metode MTT | 40        |
| 4.7 Skema Penelitian .....                                         | 43        |
| 4.7.1 Pendekatan <i>network pharmacology</i> .....                 | 43        |
| 4.7.2 Uji aktivitas antikanker dan uji keamanan kombinasi .....    | 44        |
| 4.8 Analisis Data .....                                            | 45        |
| 4.8.1 Analisis Data Pendekatan <i>Network Pharmacology</i> .....   | 45        |
| 4.8.2 Analisis Data Uji Aktivitas Antikanker dan Keamanan .....    | 45        |

|                                                                                                                                                          |           |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>                                                                                                                  | <b>48</b> |
| 5.1 Identifikasi Prediksi Gen Target dan Jalur Persinyalan Kanker Payudara,<br>Doxorubicin, dan Costunolid Menggunakan <i>Network Pharmacology</i> ..... | 48        |
| 5.1.1 Hasil Pengumpulan Gen Target melalui <i>GeneCards</i> .....                                                                                        | 49        |
| 5.1.2 Hasil Pengumpulan Gen Target Kanker Payudara melalui DisGeNet50                                                                                    |           |
| 5.1.3 Hasil Prediksi dan Visualisasi Gen Target Senyawa pada Kanker<br>Payudara .....                                                                    | 51        |
| 5.1.4 Analisis Interaksi Protein-Protein melalui STRING .....                                                                                            | 55        |
| 5.1.5 Analisis Gene Ontology melalui STRING .....                                                                                                        | 57        |
| 5.1.6 Analisis Jalur Persinyalan Kanker Payudara .....                                                                                                   | 61        |
| 5.2 Uji Aktivitas Antikanker dan Uji Keamanan Metode MTT <i>assay</i> .....                                                                              | 64        |
| 5.2.1 Analisis Data pada Sel T47D .....                                                                                                                  | 68        |
| 5.2.2 Analisis Data pada Sel Vero .....                                                                                                                  | 71        |
| 5.2.3 Analisis Nilai Indeks Selektivitas .....                                                                                                           | 72        |
| 5.2.4 Analisis Nilai Indeks Kombinasi pada sel T47D .....                                                                                                | 73        |
| 5.3 Perspektif Penelitian dalam Islam .....                                                                                                              | 78        |
| <b>BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>                                                                                                                 | <b>82</b> |
| 6.1 Kesimpulan .....                                                                                                                                     | 82        |
| 6.2 Saran .....                                                                                                                                          | 82        |
| <b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>                                                                                                                              | <b>84</b> |
| <b>LAMPIRAN .....</b>                                                                                                                                    | <b>92</b> |

## DAFTAR GAMBAR

|                                                                                                             |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Gambar 2.1.</b> Patofisiologi kanker payudara.. .....                                                    | 12 |
| <b>Gambar 2.2.</b> Sel T47D .....                                                                           | 17 |
| <b>Gambar 2.3.</b> Sel Vero .....                                                                           | 18 |
| <b>Gambar 2.4.</b> Struktur Senyawa Costunolid .....                                                        | 21 |
| <b>Gambar 2.5.</b> Costunolid menginduksi autophagy dan apoptosis.....                                      | 22 |
| <b>Gambar 2.6.</b> Struktur Kimia <i>Doxorubicin</i> .....                                                  | 23 |
| <b>Gambar 3.1.</b> Kerangka konseptual .....                                                                | 29 |
| <b>Gambar 4.1.</b> Skema Pendekatan <i>Network Pharmacology</i> .....                                       | 41 |
| <b>Gambar 4.2.</b> uji aktivitas antikanker dan keamanan.....                                               | 42 |
| <b>Gambar 5.1.</b> (a) Diagram venn gen target yang berhubungan antara senyawa dan penyakit.....            | 49 |
| <b>Gambar 5.1.</b> (b) Visualisasi network pharmacology melalui cytoscape.....                              | 49 |
| <b>Gambar 5.2.</b> Jejaring interaksi protein-protein.....                                                  | 52 |
| <b>Gambar 5.3.</b> <i>PI3K-Akt signaling pathway</i> .....                                                  | 58 |
| <b>Gambar 5.4.</b> Diagram % viabilitas sel pada sel T47D dengan pemberian doxorubicin dan costunolid.....  | 65 |
| <b>Gambar 5.5.</b> Diagram % viabilitas sel pada sel Vero dengan pemberian Doxorubicin dan Costunolide..... | 65 |
| <b>Gambar 5.6.</b> Persen (%) viabilitas sel vero pada variasi kombinasi.....                               | 68 |
| <b>Gambar 5.7.</b> Diagram viabilitas sel kombinasi myricetin dan doxorubicin pada sel T47D.....            | 71 |
| <b>Gambar 5.8.</b> Diagram combination index antara costunolid dan doxorubicin.....                         | 72 |

## DAFTAR TABEL

|                                                                                                                                |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tabel 4.1.</b> Interpretasi nilai <i>Combination Inde</i> .....                                                             | 44 |
| <b>Tabel 5.1.</b> Hasil Pengumpulan Gen Target melalui GeneCards.....                                                          | 46 |
| <b>Tabel 5.2.</b> Hasil Pengumpulan Gen Target Kanker Payudara melalui DisGeNet..                                              | 47 |
| <b>Tabel 5.3</b> Hasil Pembacaan visualisasi Network Pharmacology melalui Cytoscape.....                                       | 49 |
| <b>Tabel 5.4.</b> Proses biologi gen target sel T47D dan sel vero pada kanker payudara.....                                    | 55 |
| <b>Tabel 5.5.</b> Fungsi molekuler target sel T47D dan sel vero pada kanker payudara.....                                      | 56 |
| <b>Tabel 5.6.</b> KEGG pathway gen target sel T47D dan sel vero pada kanker payudara.....                                      | 57 |
| <b>Tabel 5.7.</b> Data absorbansi dan % viabilitas sel T47D dengan kontrol perlakuan pemberian Costunolid dan Doxorubicin..... | 65 |
| <b>Tabel 5.8</b> Data absorbansi dan % viabilitas sel Vero dengan kontrol perlakuan pemberian Costunolid dan Doxorubicin.....  | 67 |
| <b>Tabel 5.9.</b> Nilai indeks selektivitas dari Costunolid dan doxorubicin.....                                               | 69 |
| <b>Tabel 5.10.</b> Rata – rata persen (%) viabilitas sel pada T47D variasi kombinasi.                                          | 70 |
| <b>Tabel 5.11.</b> Hasil Combination index Costunolid dan Doxorubicin.....                                                     | 72 |

## DAFTAR SINGKATAN

|          |                                           |
|----------|-------------------------------------------|
| ATCC     | : American Type Culture Collection        |
| BCT      | : Breast Conservig Surgery                |
| CI       | : Combination index                       |
| DMEM     | : Dulbecco Modified Eagle's Medium        |
| DMSO     | : Dimetil Sulfoksida                      |
| FDA      | : Foof and Drug Administration            |
| GLOBOCAN | : Global Burder Cancer                    |
| GO       | : Gene ontology                           |
| KEGG     | : Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes |
| MAPK     | : Mitogen Activated Protein Kinase        |
| MTT      | : Metil Tetrazolium                       |
| PBS      | : Phosphate Buffer Saline Solution        |
| PPI      | : Protein-protein Interaction             |
| P53      | : Protein 53                              |
| ROS      | : Reactive Oxygen Species                 |
| RPMI     | : Roswell Park Memorial Institute         |
| SI       | : Selectivity Index                       |
| SDS      | : Sodium Dodecyl Sulfate                  |
| WHO      | : Wold Health Organization                |

## ABSTRAK

Saputro, N. R. 2024. *Network Pharmacology*, Uji Aktivitas Antikanker Dan Keamanan Kombinasi Obat Costunolid Dengan Doxorubicin Pada Model Kanker Payudara Sel T47d Dan Sel Vero. Skripsi. Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

Pembimbing (1) Prof. Dr. Apt. Roihatul Muti'ah, M. Kes  
(2) Dr. dr. Ermin Rachmawati., M. Biomed.

Kanker payudara merupakan salah satu jenis kanker dengan prevalensi tinggi pada wanita di seluruh dunia. Dalam terapi kanker, penggunaan kombinasi obat menjadi salah satu pendekatan untuk meningkatkan efektivitas dan mengurangi efek samping. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi aktivitas antikanker dan keamanan kombinasi costunolid dan doxorubicin menggunakan pendekatan network pharmacology serta pengujian secara in vitro terhadap sel T47D (kanker payudara) dan sel Vero (sel normal). Pendekatan network pharmacology digunakan untuk menganalisis interaksi target molekuler, jalur sinyal yang terlibat, serta potensi sinergisme antara myricetin dan doxorubicin. Pengujian in vitro dilakukan dengan metode MTT assay untuk menentukan efek sitotoksik pada sel T47D dan sel Vero. Parameter yang dianalisis meliputi IC50 masing-masing senyawa tunggal dan indeks kombinasi, serta selectivity index (SI) untuk menilai keamanan terhadap sel normal. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi costunolid dan doxorubicin memiliki 11 gen target yang saling berhubungan dan menghasilkan jalur persinyalan apoptosis yang berhubungan terhadap kanker payudara. Pengujian in vitro menunjukkan bahwa costunolid dan doxorubicin memiliki aktivitas antikanker kategori sitotoksik cukup aktif atau moderat dengan nilai IC50 sebesar 31,936 µg/mL dan 27,39 µg/mL. Kombinasi costunolid dengan doxorubicin memiliki hasil indeks kombinasi sebanyak 6 kombinasi sinergis 7 kombinasi sinergis kuat, dan 3 kombinasi sinergis sangat kuat. Dimana nilai kombinasi terbaik didapatkan pada konsentrasi costunolid 7,984 dan doxorubicin 3,423 didapatkan nilai indeks kombnasi sebesar 0,09 yang menunjukkan efek sinergis sangat kuat. Kesimpulannya, kombinasi Costunolid dan doxorubicin menunjukkan potensi sebagai terapi antikanker yang efektif dan relatif aman.

**Kata Kunci:** Costunolid, Doxorubicin, Network Pharmacology, Sel Vero, Sel T47D

## ABSTRACT

Saputro, N. R. 2024. Network Pharmacology, Anticancer Activity Test and Safety of Costunolid Drug Combination with Doxorubicin in Breast Cancer Models of T47d Cells and Vero Cells. Thesis. Department of Pharmacy, Faculty of Medicine and Health Sciences, Maulana Malik Ibrahim State Islamic University Malang.

Supervisor (1) Prof. Dr. Apt. Roihatul Muti'ah, M. Kes  
(2) Dr dr. Ermin Rachmawati, M. Biomed.

Breast cancer is one type of cancer with a high prevalence in women worldwide. In cancer therapy, the use of drug combinations is one approach to increase effectiveness and reduce side effects. This study aims to evaluate the anticancer activity and safety of the combination of costunolid and doxorubicin using a network pharmacology approach and in vitro testing against T47D cells (breast cancer) and Vero cells (normal cells). The network pharmacology approach was used to analyse molecular target interactions, signal pathways involved, and potential synergism between myricetin and doxorubicin. In vitro testing was conducted using MTT assay method to determine the cytotoxic effect on T47D cells and Vero cells. Parameters analysed included IC<sub>50</sub> of each single compound and combination index, as well as selectivity index (SI) to assess safety against normal cells. The results showed that the combination of costunolid and doxorubicin has 11 target genes that are interconnected and produce apoptotic signalling pathways related to breast cancer. In vitro testing showed that costunolid and doxorubicin have moderately active or moderate cytotoxic category anticancer activity with IC<sub>50</sub> values of 31.936 µg/mL and 27.39 µg/mL. The combination of costunolid with doxorubicin has a combination index of 6 synergistic combinations, 7 strong synergistic combinations, and 3 very strong synergistic combinations. Where the best combination value is obtained at a concentration of costunolid 7.984 and doxorubicin 3.423 obtained a combination index value of 0.09 which shows a very strong synergistic effect. In conclusion, the combination of Costunolid and doxorubicin shows potential as an effective and relatively safe anticancer therapy.

**Keywords:** Costunolid, Doxorubicin, Network Pharmacology, Vero Cells, T47D Cells

## مستخلص البحث

سافوترا، نور رشيد. 2024. علم الأدوية الشبكي والنشاط المضاد للسرطان واختبار السلامة لمزيج أدوية كوستونوليد مع دوكسوروبيسين في نماذج سرطان الثدي للخلايا T47d وخلايا فيرو. البحث الجامعي، قسم الصيدلة، كلية الطب والعلوم الصحية، جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية بمالانق.

الإشراف: 1. أ.د. رائحة المطيعة، الماجستير.

2. د. إيرمين رحماواتي، الماجستير

يعد سرطان الثدي من أنواع السرطان التي تنتشر بشكل كبير بين النساء في جميع أنحاء العالم. في علاج السرطان، كما يعد استخدام تركيبات الأدوية أحد الأساليب لزيادة الفعالية وتقليل الآثار الجانبية. استهدف هذا البحث إلى تقييم النشاط المضاد للسرطان وسلامة مزيج من كوستونوليد ودوكسوروبيسين باستخدام نهج علم الأدوية الشبكي بالإضافة إلى الاختبار المختبري لخلايا T47D (سرطان الثدي) وخلايا Vero (الخلايا الطبيعية). تم استخدام نهج علم الأدوية الشبكي لتحليل التفاعلات الجزيئية المستهدفة، ومسارات الإشارة المعنية، والتأزر المحتمل بين الميريسيتين والدوكسوروبيسين. تم إجراء الاختبار في المختبر بواسطة طريقة فحص MTT لتحديد التأثير السام للخلايا على خلايا T47D وخلايا Vero. تضمنت المعلومات التي تم تحليلها IC50 لكل مركب واحد ومؤشر الجمع، بالإضافة إلى مؤشر الانتقائية (SI) لتقييم السلامة ضد الخلايا الطبيعية. استنتج البحث أن الجمع بين كوستونوليد ودوكسوروبيسين يحتوي على 11 جينا مستهدفا مترابطا وأدى إلى مسارات إشارات موت الخلايا المبرمج المرتبطة بسرطان الثدي. أظهر الاختبار في المختبر أن كوستونوليد ودوكسوروبيسين لهما نشاط مضاد للسرطان في فئة السمية للخلايا مع أنشطة نشطة أو معتدلة مضادة للسرطان مع قيم IC50 تبلغ 31.936 ميكروغرام/مل و 27.39 ميكروغرام/مل. كان للجمع بين كوستونوليد والدوكسوروبيسين مؤشر مركب من 6 مجموعات تآزرية، و 7 مجموعات تآزرية قوية، و 3 مجموعات تآزرية قوية جدا. حيث تم الحصول على أفضل قيمة توليفية عند تركيز كوستونوليد 7.984 والدوكسوروبيسين 3.423، تم الحصول على قيمة مؤشر مركب قدرها 0.09، مما أظهر تأثيرا تآزريا قويا جدا. في الحاصل، يظهر الجمع بين كوستونوليد والدوكسوروبيسين إمكاناته كعلاج لمكافحة السرطان. فعال وآمن نسبيا.

**الكلمات الأساسية:** كوستونوليد؛ دوكسوروبيسين؛ علم الأدوية الشبكي؛ خلايا

فيرو؛ خلايا T47D

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Kanker merupakan penyakit yang ditandai oleh pertumbuhan sel yang tidak terkendali dan kemampuan untuk menyebar ke bagian tubuh lainnya (Bray *et al.*, 2024). Kanker merupakan salah satu dari penyakit yang menjadi mortalitas terbesar di dunia. Berdasarkan data dari *Global Burden Cancer* (Globocan) disebutkan bahwa angka kejadian kanker telah mencapai 18,1 juta kasus kanker baru dengan angka kematian sebesar 9,6 juta jiwa pada tahun 2018. Berdasarkan kasus tersebut, 1 dari 5 laki-laki dan 1 dari 6 perempuan di dunia mengalami kejadian kanker, dengan perbandingan 1 dari 8 laki-laki dan 1 dari 11 perempuan, meninggal karena kanker (Sari *et al.*, 2020).

Kanker payudara merupakan jenis kanker yang paling banyak diderita oleh perempuan yakni sebesar 42,1 per 100.000 penduduk dengan rata-rata kematian 17 per 100.000 penduduk (Sari *et al.*, 2020). Seperti halnya dengan kanker pada umumnya, kanker payudara adalah penyakit dimana sel - sel dalam jaringan payudara mengalami perubahan dan pembelahan yang tidak terkendali (American Cancer Society, 2020). Kanker payudara umumnya bermula di lobulus mammae atau di ductus (saluran) yang menghubungkan lobulus ke areola mammae. Tanda fisik yang paling umum adalah benjolan yang awalnya tidak nyeri, namun dapat menjadi nyeri disertai dengan retraksi areola maupun kulit dan adanya pus pada areola mammae (American Cancer

Society, 2020). Pada stadium lanjut, kanker payudara mengalami metastasis ke kelenjar getah bening (American Cancer Society, 2020).

Terapi utama pengobatan kanker payudara secara medis adalah kemoterapi, operasi, dan radioterapi yang diindikasikan berdasarkan stadiumnya (Nafi'ah & Kurniawati, 2020). Pengobatan kanker payudara dengan menggunakan operasi atau pembedahan membutuhkan waktu yang lama dan biaya yang sangat mahal, sehingga tidak sedikit dari beberapa penderita memilih untuk tidak mengobatinya lebih lanjut (Blumen *et al.*, 2016).

Kemoterapi merupakan pengobatan utama kanker payudara dengan menggunakan obat atau agen sitotoksik yang akan merusak DNA dan bertindak sebagai inhibitor umum pada pembelahan sel (Alifia *et al.*, 2022). Salah satu agen pengobatan kemoterapi yang banyak digunakan merupakan doxorubicin. Doxorubicin sendiri merupakan obat kemoterapi yang digunakan untuk berbagai macam jenis kanker termasuk kanker payudara. Doxorubicin merupakan agen kemoterapi pilihan pertama untuk kanker payudara. Doxorubicin bekerja dengan cara mengikat DNA sel kanker dan memblokir enzim yang penting seperti topoisomerase II sehingga membuat sel kanker tidak dapat berkembang (Kciuk *et al.*, 2023). Kemoterapi dengan menggunakan agen doxorubicin sebenarnya efektif untuk mengobati kanker payudara, tetapi memiliki beberapa keterbatasan. Meskipun dapat mengurangi ukuran tumor secara signifikan dan mengendalikan penyakit, kemoterapi dengan menggunakan doxorubicin ini sering kali gagal membasmi semua sel kanker secara tuntas, sehingga berpotensi menimbulkan kekambuhan. Selain itu, sifat kemoterapi yang tidak spesifik juga dapat merusak sel-sel normal,

sehingga menimbulkan efek samping yang serius. Pengobatan kanker payudara dengan kemoterapi mempengaruhi sel-sel normal dengan tingkat proliferasi cepat, seperti folikel rambut, sumsum tulang dan sel-sel saluran pencernaan, menghasilkan efek samping kemoterapi yang khas yaitu kerontokan rambut, hilangnya nafsu makan, mual muntah, perubahan pada biokimia darah (Lander *et al.*, 2001) dalam (Wijaya & Muchtaridi, 2017). Dalam literatur lain juga menyebutkan bahwa kemoterapi dengan menggunakan doxorubicin memiliki efek kardiotoxik. Pada pemakaian doxorubicin dapat meningkatkan produksi oksidan yang sangat berbahaya bagi jantung (Sebayang, 2019)

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Wong *et al.*, (2006) kegagalan terapi kanker payudara dengan metode kemoterapi banyak terjadi diakibatkan resistensi obat kemoterapi (Rollando & Prilianti, 2017). Resistensi pada kemoterapi dapat disebabkan oleh berbagai faktor yang kompleks. Salah satu faktor utama adalah inaktivasi obat, di mana sel kanker dapat meningkatkan ekspresi enzim detoksifikasi seperti glutathione-S-transferase (GST) yang mengurangi efektivitas obat antikanker (Khalidah, 2020).

Maka dari itu, kombinasi kemoterapi dengan pengobatan lain seperti obat herbal hingga saat ini masih terus dieksplorasi untuk meningkatkan efektivitasnya dan mengurangi efek sampingnya (Behranvand *et al.*, 2022). Perkembangan pengetahuan tentang kanker telah menciptakan beberapa pendekatan terapi baru dalam mengatasi kanker, khususnya dengan menggunakan kombinasi dari agen kemoterapi antikanker (Wijaya & Muchtaridi, 2017).

Terapi komplementer menggunakan herbal menjadi salah satu terobosan untuk pengobatan antikanker. Secara statistik, lebih dari 3000 spesies tumbuhan digunakan untuk mengobati kanker di seluruh dunia (Koehn, & Carter, 2005) dalam (Lin *et al.*, 2015). Agen antikanker yang berasal dari tumbuhan merupakan sumber penting obat antikanker karena kualitas molekuler “seperti obat” dan “ramah biologis” yang lebih beragam secara struktural dibandingkan senyawa sintetik murni secara acak (Panci *et al.*, 2010) dalam (Lin *et al.*, 2015). Allah Subhanahu wa Ta'ala berfirman bahwa Allah telah berbagai macam yang baik, seperti dalam QS. Asy-Syu'ara ayat 7 yang berbunyi

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ۝٧

Artinya : “Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh - tumbuhan yang baik?”

Pada QS. Asy-Syu'ara ayat 7 di atas, Terdapat dua kata yang ditekankan yakni kata zauj, dan kata karīm. Pada surah ini mengartikan bahwa kalimat zauj karīm adalah (pasangan) tumbuh tumbuhan yang baik. Fairuzabadi dalam kamusnya al-Muḥiṭ mengartikan zauj berarti pasangan, lawan dari sendiri, dan pola tersebut disajikan dalam bentuk yang/secara sederhana, dan jenis dari keindahan dan sebagainya (Majruddin, 2003). Menurut Abu Muhammad Ja'far Muhammad bin Jarir al-Ṭabari dalam kitabnya tafsirnya al-Ṭabari menjelaskan bahwa zauj di sini berarti bermacam pasangan tumbuhan yang telah ditumbuhkan oleh Allah setelah bumi itu mati dan tidak ada tumbuhan di dalamnya (Muhammad, 2008). Sedangkan penafsiran dari M. Quraish Shihab

sebagaimana yang kita ketahui kitab tafsir al-Misbah kata جوز berarti pasangan. Yang dimaksud dalam ayat ini adalah pasangan tumbuhan, tumbuhan muncul di celah celah hamparan bumi. Dengan demikian tumbuhan juga memiliki pasangan guna pertumbuhan dan perkembangannya. Tumbuhan yang memiliki putik dan benang sari dalam satu tumbuhan, dalam penyerbukannya ia tidak membutuhkan pejantan dari bunga lain, tetap jika hanya memiliki salah satunya saja maka ia membutuhkan penyerbukan dari tumbuhan lain (Shihab, 2002). Dengan demikian makna kata zauj di dalam al-Qur'an yang memiliki makna pasangan itu berbeda-beda dan dapat berubah sesuai dengan konteks ayatnya. Beberapa di antaranya menunjukkan makna zauj sebagai suami-istri, lawan kata dari sendiri, berpasangan, perkawinan antara jantan-betina, dan lain sebagainya.

Sedangkan pada kata Al – Karim sendiri ada beberapa pengertian kata karīm yang diambil dari beberapa tafsir. Pertama, dalam kitab tafsir al-Qurṭubi kata karīm atau al-karām asal kata dalam bahasa Arab yaitu al-Faḍl (keutamaan). Seperti nakhlah karīmah yang berarti kurma yang unggul yang berbuah banyak atau rajulun karīmun artinya mulia, unggul, dan suka memaafkan. Nabatat al Arḍu dan anbatat memiliki arti yang sama yaitu menumbuhkan (Al-Qurṭubi, 2007). Menurut al-Farrā' karīm sendiri memiliki makna “baik”, dikatakan pula sebagaimana ungkapan tersebut diumpamakan pada pohon kurma “mulialah/indahlah pohon kurma itu apabila muatannya (manfaat) baik, ataupun sebagian besar dicontohkan pada domba betina dan unta betina itu bagus/indah apabila melimpah (gemuk). Al-Farrā' juga mengatakan “dari setiap tumbuhan dan setiap jenisnya” (Yahya, 1955).

Sedangkan dalam kitab tafsir Al-Ṭabari al-Karīmu adalah al-Husnu yaitu bagus atau baik. Sebagaimana yang sudah dijelaskan dalam kitab tafsir al-Qurṭhubi, al-Ṭabari juga mengumpamakan pada kurma yang bagus yang sedang berputik, atau sebagaimana kambing atau unta betina yang subur yang menghasilkan susu yang banyak (Muhammad, 2008) Penjelasan ini berdasarkan penjelasan para ahli takwil. Mereka yang juga berpendapat serupa di antaranya adalah; Muhammad bin Amru, al-Qasim, dan al-Hasan.

Dari pandangan para mufassir yang telah dipaparkan sebelumnya, bahwasanya dalam Q.S. al-Syu'arā' [26]: 7 *zauj karīm* yang dimaksud ialah pasangan tumbuh-tumbuhan yang baik. Pada surah al-Syu'arā' [26]:7 ini yang dibahas yaitu mengenai pasangan tumbuhan yang baik. Yang dimaksud dengan tumbuhan yang baik yaitu tumbuhan yang tumbuh subur. Seperti yang terdapat dalam Q.S. al-Syūrā [42]: 11 bahwasanya penciptaan makhluk hidup yang berpasangan akan dijadikan-Nya berkembang biak. Dalam Q.S. al-Syu'arā' [26]: 7 kata *zauj karīm* memiliki arti pasangan tumbuhan yang baik. *Zauj* berarti pasangan (tumbuh-tumbuhan), yang dimaksud dari pasangan di sini adalah perkawinan atau pertemuan tumbuhan antara alat kelamin jantan (benang sari) dan alat kelamin betina (putik), sedangkan yang dimaksud dengan tumbuhan yang baik (*karīm*) yaitu tumbuhan yang tumbuh dengan subur dan menghasilkan buah yang lebat.

Tanaman memiliki banyak manfaat bagi manusia yang dapat diteliti dimanfaatkan untuk pengembangan pengobatan baru yang bersumber dari tanaman herbal. Salah satunya dalam pendekatan pengembangan obat baru sebagai antikanker. Penelitian mengenai pengembangan obat baru sangat perlu

untuk dilakukan. Hal ini bertujuan untuk mengetahui tentang bagaimana mekanisme, efek farmakologi, keterlibatan senyawa aktif terhadap penyakit, dan mengidentifikasi peranan dari suatu target terhadap penyakit yang dihasilkan dari tanaman herbal yang diteliti.

Penelitian ini mengkombinasikan antara doxorubicin, dan costunolid. Costunolid (CE) merupakan lakton seskuiterpen alami, yang terdapat di sejumlah tanaman obat seperti *Saussurea lappa* dan *Laurus nobilis*, telah menarik minat para peneliti karena potensi aktivitas antikankernya untuk kanker payudara (Choi, & Kim, 2010) dalam (Lin *et al.*, 2015). Costunolid memiliki berbagai manfaat farmakologis, termasuk anti-inflamasi, anti-alergi, dan antimikroba yang dapat berpotensi untuk meminimalisir efek samping seperti mual, muntah, dan kardiotosiknya. Costunolid diketahui menargetkan sinyal Nuclear Factor Kappa B (NF- $\kappa$ B) yang memainkan peran penting dalam perkembangan kanker payudara yang jalurnya berbeda dengan mekanisme kerja dari doxorubicin. Kemampuan costunolid untuk mengatur protein kunci yang terlibat dalam kelangsungan hidup sel kanker dan metastasis menunjukkan potensinya sebagai agen terapi baru untuk pengobatan kanker payudara. (Wei *et al.*, 2020).

Dari hasil studi literatur masih belum ditemukan mengenai adanya potensi antikanker dari kombinasi doxorubicin dan costunolid. Dari kombinasi antara doxorubicin dan costunolid diharapkan dapat meningkatkan efektifitas dalam pengobatan kanker. Selain itu dari kombinasi ini diharapkan dapat mengatasi resistensi dan efek samping dalam penggunaan pada pengobatan kanker payudara. (Hanifah & Da'i, 2022).

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, perlu dilakukannya penelitian *Network pharmacology* untuk melihat prediksi jalur persinyalan kerja dari senyawa aktif yang kemungkinan bisa melengkapi mekanisme kerja dari doxorubicin. Hasil dari *network pharmacology* ini dilanjutkan dengan uji *in vitro* untuk mengetahui efikasi dari kombinasi costunolid dengan doxorubicin pada sel T47D dan sel Vero. Penelitian ini diharapkan dapat mengungkap potensi yang sinergis antara senyawa costunolid dengan agen kemoterapi doxorubicin. Sehingga dengan adanya efek yang sinergis dari kombinasi tersebut diharapkan dapat menurunkan toksisitasnya terhadap sel normal.

### **1.2 Rumusan Masalah**

1. Apakah gen target dari costunolid, dan doxorubicin yang berhubungan dengan kanker payudara?
2. Apakah jalur persinyalan dari costunolid, dan Doxorubicin yang berhubungan dengan kanker payudara?
3. Apakah costunolid dan doxorubicin tunggal memiliki aktivitas antikanker terhadap sel T47D?
4. Apakah costunolid dan doxorubicin tunggal memiliki indeks selektivitas sebagai antikanker?
5. Apakah kombinasi costunolid dan doxorubicin memiliki efek yang sinergis?

### **1.3 Tujuan Penelitian**

1. Untuk mengidentifikasi gen target dari costunolid, dan doxorubicin yang berhubungan dengan kanker payudara.
2. Untuk mengidentifikasi jalur persinyalan dari costunolid, dan Doxorubicin yang berhubungan dengan kanker payudara.

3. Untuk mengetahui apakah doxorubicin dan costunolid memiliki aktivitas antikanker terhadap sel T47D.
4. Untuk mengetahui costunolid dan doxorubicin tunggal memiliki indeks selektivitas sebagai antikanker.
5. Untuk mengetahui apakah kombinasi costunolid dan doxorubicin memiliki efek yang sinergis.

#### **1.4 Manfaat Penelitian**

1. Memberikan informasi *network pharmacology* berupa target gen dan persinyalan senyawa metabolit sekunder dari kombinasi obat costunolid dan doxorubicin dalam menghambat pertumbuhan sel kanker.
2. Memberikan informasi mengenai aktivitas antikanker dan keamanan kombinasi penggunaan obat costunolid dan doxorubicin terhadap sel T47D dan sel vero.
3. Dapat dijadikan sebagai referensi dan perbandingan dalam penelitian sebelumnya maupun penelitian selanjutnya.

#### **1.5 Batasan Masalah**

1. Sel kanker payudara yang digunakan adalah sel T47D.
2. Kontrol positif yang digunakan pada penelitian ini adalah doxorubicin.
3. Senyawa yang digunakan dalam penelitian ini adalah senyawa isolat murni costunolid.
4. *Software* yang digunakan dalam visualisasi hasil *network pharmacology* adalah *cytoscape* 3.9.1
5. Pemeriksaan efek sitotoksik di sel T47D dan sel vero menggunakan metode MTT Assay.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Tinjauan Kanker Payudara**

##### **2.1.1 Definisi Kanker Payudara**

Kanker adalah sekelompok penyakit yang ditandai dengan pertumbuhan dan penyebaran sel-sel abnormal yang tidak terkendali (American Cancer Society, 2017). Kanker dapat tumbuh dari jenis sel apapun dan di dalam jaringan tubuh manapun, dan bukanlah suatu penyakit tunggal tetapi merupakan sejumlah besar penyakit yang digolongkan berdasarkan jaringan dan jenis sel asal. Kanker dapat tumbuh dari jenis sel apapun dan di dalam jaringan tubuh manapun, dan bukanlah suatu penyakit tunggal tetapi merupakan sejumlah besar penyakit yang digolongkan berdasarkan jaringan dan jenis sel asal (Parwata, 2014).

Kanker payudara adalah tumor ganas yang dapat menyerang jaringan payudara yang terdiri dari lobulus mammae, ductus (saluran) yang menghubungkan lobulus ke areola mammae, dan jaringan penunjang payudara. Kanker payudara menyebabkan sel dan jaringan payudara berubah bentuk menjadi abnormal dan bertambah banyak secara tidak terkendali (American Cancer Society, 2017). Kanker payudara adalah jenis kanker yang paling umum terjadi pada wanita, yang berasal dari jaringan payudara (Rizka *et al.*, 2022).

##### **2.1.2 Epidemiologi Kanker Payudara**

Data yang dikumpulkan dari berbagai sumber, seperti World Health Organization (WHO) dan International Agency for Research on Cancer, menunjukkan bahwa kanker payudara tetap menjadi salah satu jenis kanker yang

paling umum didiagnosis, dengan insiden yang signifikan terutama di negara berkembang. Selain itu, epidemiologi kanker payudara juga mengungkapkan bahwa faktor risiko seperti usia, hormon estrogen, riwayat keluarga, mutasi genetik, dan gaya hidup tidak sehat dapat meningkatkan risiko terkena kanker payudara (Liambo *et al.*, 2022).

Menurut Handbook Farmakologi edisi ke sembilan, dua variabel yang paling kuat terkait dengan terjadinya kanker payudara adalah jenis kelamin dan usia lanjut. Faktor risiko tambahan termasuk faktor endokrin (misalnya, menarche dini, nuliparitas, usia lanjut saat pertama kali melahirkan, dan terapi sulih hormon), faktor genetik (misalnya, riwayat pribadi dan keluarga) serta faktor lingkungan dan gaya hidup (misalnya, paparan radiasi) (Wells *et al.*, 2015).

### **2.1.3 Etiologi Kanker Payudara**

Dalam sebuah Studi yang dilakukan oleh (Hiatt *et al.*, 2020) disebutkan beberapa faktor etiologi kanker payudara yang kompleks, termasuk faktor biologis seperti endocrine-disrupting chemicals (EDCs) yang telah terbukti sebagai karsinogen manusia. Selain itu, faktor perilaku seperti konsumsi alkohol dan obesitas juga diidentifikasi sebagai faktor risiko modifiable yang signifikan, terutama pada wanita pasca-menopause. Faktor lingkungan seperti paparan bahan kimia seperti PAHs, PCBs, dan BPAs juga telah terkait dengan peningkatan risiko kanker payudara. Selain itu, faktor sosial seperti status sosial ekonomi (SES) juga memiliki hubungan kompleks dengan insidensi kanker payudara, meskipun belum sepenuhnya dipahami (Hiatt *et al.*, 2020).

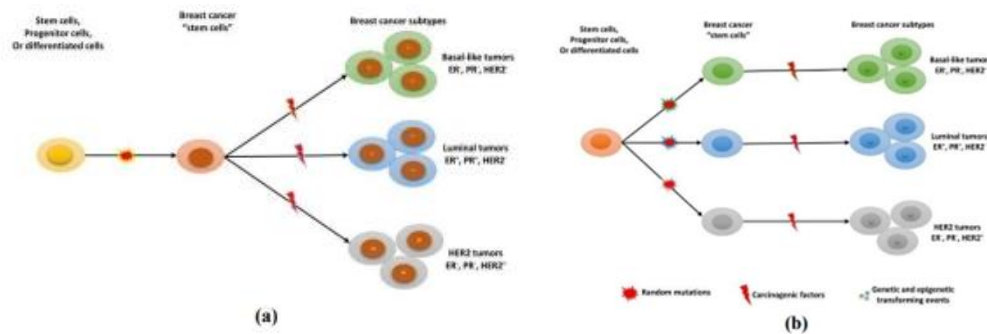
Sedangkan menurut studi lain yang dinyatakan oleh (Morton Cuthrell & Tzenios, 2023) Kanker payudara dapat disebabkan oleh kombinasi variabel, termasuk faktor makanan, lingkungan, dan warisan genetik seseorang. Proses

multistep mengubah epitel normal menjadi kanker. Faktor-faktor seperti usia, yang dapat berkontribusi pada peningkatan mutasi somatik seiring bertambahnya usia, serta faktor hormonal terkait dengan waktu paparan hormon ovarium, juga berperan dalam perkembangan kanker payudara. Mutasi genetik kompleks yang didapat diyakini menjadi penyebab kanker payudara, dengan hanya sekitar lima persen pasien kanker payudara memiliki riwayat keluarga signifikan yang menunjukkan adanya mutasi yang mendorong pertumbuhan tumor dalam garis germinal (Morton Cuthrell & Tzenios, 2023).

#### **2.1.4 Patofisiologi Kanker Payudara**

Tumor payudara biasanya dimulai dari hiperproliferasi duktus, dan kemudian berkembang menjadi tumor jinak atau bahkan karsinoma metastatik setelah terus menerus dirangsang oleh berbagai faktor karsinogenik (Sun *et al.*, 2017). Karsinogenesis diawali dengan proses inisiasi pada sel oleh senyawa karsinogenik dan dengan adanya agen pemacu pertumbuhan, baik intra maupun ekstra seluler, sel akan membentuk massa tumor (fase promosi). Jika pada fase promosi perubahan genetik berlangsung secara terus-menerus, pertumbuhan sel semakin tidak terkontrol (fase progresi). Sel kanker bersifat agresif dan memiliki kemampuan invasif (menyusup dan merusak jaringan di dekatnya) dan metastasis (menyebarkan ke jaringan lainnya melalui sistem pembuluh darah dan limpa (Widiyastuti *et al.*, 2019). Karsinogenesis dimulai dengan kerusakan atau mutasi gen *p53*. Protein *p53* merupakan protein yang berperan dalam proses apoptosis sel, namun pada kondisi yang tidak normal protein ini justru pertumbuhan sel yang tidak terkendali. Protein *p53* merupakan penekan tumor yang penting tetapi protein ini adalah protein yang paling sering bermutasi pada kanker manusia, sehingga fungsi sebagai penekan tumor dapat hilang (Chen *et al.*, 2022)

Pada pasien kanker, protein *p53* terakumulasi dalam jaringan tumor dan serum darah. Protein *p53* dalam serum pasien tumor meningkat dengan tingkat bahaya penyakit, sehingga dapat digunakan sebagai biomarker awal tumor (Sa'adah *et al*, 2016; Liambo *et al.*, 2022).



**Gambar 2.1.** Patofisiologi kanker payudara; (a) teori sel induk kanker; (b) teori stokastik (Sun *et al.*, 2017)

Terdapat dua teori hipotesis pada inisiasi dan perkembangan kanker payudara yaitu teori sel induk kanker dan teori stokastik. Teori sel induk kanker menunjukkan bahwa semua subtype tumor berasal dari sel batang yang sama atau sel yang memperkuat transit (sel progenitor). Mutasi genetik dan epigenetik yang didapat dalam sel batang atau sel progenitor akan menyebabkan berbagai fenotipe tumor dimana hal ini ditunjukkan pada gambar 2.1a. Teori stokastik menyatakan bahwa setiap subtype tumor dimulai dari jenis sel tunggal (sel induk, sel progenitor, atau sel terdiferensiasi) dimana hal ini ditunjukkan pada gambar 2.1b. Mutasi acak dapat berangsur-angsur menumpuk di setiap sel payudara, menyebabkan transformasi sel tersebut menjadi sel tumor ketika mutasi yang memadai telah menumpuk (Sun *et al.*, 2017).

Adanya benjolan atau penebalan pada payudara merupakan tanda dan gejala yang paling umum, sedangkan tanda dan gejala tingkat lanjut kanker payudara

meliputi kulit cekung, retraksi atau deviasi puting susu dan nyeri, nyeri tekan atau rabas khususnya berdarah dari puting. Kulit tebal dengan pori-pori menonjol sama dengan kulit jeruk dan atau ulserasi pada payudara merupakan tanda lanjut dari penyakit. Jika ada keterlibatan nodus, mungkin menjadi keras, pembesaran nodus limfa aksilaris membesar dan atau nodus supraklavikula teraba pada daerah leher. Metastasis yang luas meliputi gejala dan tanda seperti anoreksia atau berat badan menurun; nyeri pada bahu, pinggang, punggung bagian bawah atau pelvis; batu menetap; gangguan pencernaan; pusing; penglihatan kabur dan sakit kepala (Liambo *et al.*, 2022).

#### **2.1.5 Penatalaksanaan Terapi Kanker Payudara**

Penatalaksanaan dari kanker payudara meliputi terapi kuratif, penunjang, paliatif, dan simptomatis dengan penatalaksanaan medis dari kanker payudara adalah operasi, atau penyinaran yang dilaksanakan apabila diperkirakan angka kesembuhannya tinggi, dan dilanjutkan dengan terapi penunjang yaitu kemoterapi (Sjamsuhidajat R, 2005). Dasar pengobatan pada kejadian kanker payudara memiliki dua prinsip yaitu mengurangi kemungkinan kekambuhan lokal dan risiko penyebaran metastasis (Suanjaya & Utami, 2021). Penatalaksanaan kanker payudara dapat dilakukan dengan beberapa cara yaitu radioterapi atau penyinaran, kemoterapi dan pembedahan (Wijayanto & Sari, 2018). Berikut merupakan bentuk tatalaksana pada kanker payudara:

##### **a. Radioterapi**

Radioterapi merupakan perawatan kanker yang menggunakan sinar-berenergi tinggi atau jenis radiasi lain untuk membunuh sel-sel kanker atau menjaga mereka agar tidak tumbuh. Radioterapi atau terapi radiasi ialah jenis terapi yang memanfaatkan radiasi dari energi radioaktif. Pengobatan ini umum

diberikan pada para pasien kanker yang eringkali, nurhayatidiberikan sebagai terapi tunggal, tapi juga sering dikombinasikan dengan perawatan lainnya, seperti kemoterapi maupun tindakan operasi (Nurhayati & Mulyaningsih, 2020).

b. Kemoterapi

Terapi kanker yang diberikan dengan menggunakan obat-obatan dengan tujuan dapat menghentikan pertumbuhan sel kanker, baik dengan membunuh sel secara langsung maupun dengan menghentikan pembelahan selnya dinamakan kemoterapi (Chrisstyadi *et al.*, 2022). Doxorubicin merupakan salah satu agen kemoterapi yang sering digunakan. *Doxorubicin* dapat menginduksi kematian sel melalui beberapa target intraseluler seperti pembentukan spesies oksigen reaktif, pembentukan adduksi DNA, penghambatan topoisomerase II, regulasi Hemostatis  $Ca^{2+}$  dan Besi (Sritharan & Sivalingam, 2021). Ada dua mekanisme *doxorubicin* bekerja dalam sel kanker, pertama yaitu penyisipan ke dalam DNA dan gangguan perbaikan DNA yang dimediasi topoisomerase-II. Kedua yaitu pembentukan radikal bebas dan kerusakannya pada membran sel DNA serta protein. *Doxorubicin* dioksidasi menjadi semiquinone yang merupakan suatu metabolit tidak stabil yang diubah kembali menjadi *doxorubicin* dalam proses yang melepaskan spesies oksigen reaktif. Spesies oksigen reaktif dapat menyebabkan peroksidasi lipid dan kerusakan membran, kerusakan DNA, stres oksidatif, dan memicu jalur apoptosis kematian sel (Thorn *et al.*, 2011).

Resistensi terhadap kemoterapi dengan agen doxorubicin dapat terjadi dengan beberapa, obat kemoterapi berbasis platinum, terjadi melalui tiga tahap utama. Pada tahap pertama, yaitu pra-target, sel kanker mengalami penurunan

jumlah doxorubicin yang masuk ke dalam sel, meningkatkan pengeluaran obat, atau membuat doxorubicin tidak aktif karena penurunan kadar zat seperti thiol (contohnya glutathione). Selain itu, perubahan pada target doxorubicin dalam sel juga dapat mengurangi efektivitas obat. Setelah doxorubicin masuk ke dalam sel (tahap target), resistensi dapat terjadi jika sel kanker mampu memperbaiki kerusakan DNA yang disebabkan oleh doxorubicin. Mekanisme perbaikan DNA seperti DNA Damage Response (DDR) dan Mismatch Repair (MMR) memungkinkan sel kanker bertahan hidup jika kerusakan DNA berhasil diperbaiki. Pada tahap pasca-target, resistensi bisa muncul setelah kerusakan DNA terjadi, di mana mutasi genetik dalam sel kanker membuatnya lebih tahan terhadap doxorubicin. Selain itu, lingkungan mikro di sekitar tumor, seperti sel-sel pendukung dalam jaringan kanker, juga berperan dalam membantu sel kanker bertahan.

Penggunaan obat-obatan kemoterapi dapat memberikan efek toksik dan disfungsi sistemik meskipun bervariasi dalam keparahannya. Efek samping yang ditimbulkan oleh kemoterapi memberikan dampak terhadap penurunan status performa pasien kanker seperti mual, muntah, kurang energi, penurunan nafsu makan, penurunan ketahanan fisik yang dapat mempengaruhi quality of life dan status fungsional (Nurjayanti, 2019).

#### c. Pembedahan

Pembedahan merupakan cara dokter untuk mengobati kondisi yang sulit atau tidak mungkin disembuhkan hanya dengan obat-obatan sederhana (Wijayanto & Sari, 2018). Prosedur pembedahan pada kanker payudara dikerjakan baik untuk diagnostik maupun untuk terapi yang dilakukan tergantung pada stadium. Pada

stadium dini maka pembedahan dapat dilakukan secara terbatas (BCT: *breast conserving surgery*) ataupun dengan teknik modifikasi radikal mastektomi. Sedangkan pada stadium lanjut lokal teknik pembedahan dapat berupa modifikasi radikal mastektomi sampai mastektomi radikal klasik. Pada kasus tertentu pembedahan pada kanker payudara juga dilakukan pada stadium lanjut dengan tujuan prosedur paliatif yang ditujukan baik untuk tumor primer maupun pada lesi metastasis (Harahap, 2015).

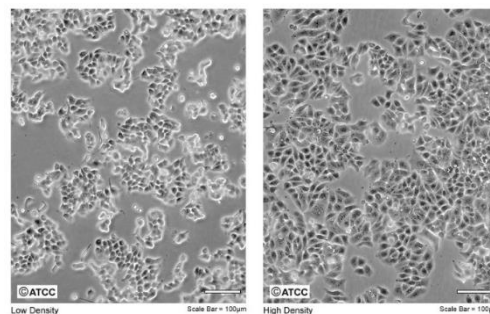
Penderita kanker payudara membutuhkan terapi dan pengobatan, sedangkan terapi maupun pengobatan untuk kanker payudara itu sendiri akan menimbulkan dampak baik positif maupun negatif. Masalah yang dialami penderita kanker payudara jangka panjang akan mempengaruhi kualitas hidup. Individu yang memiliki kualitas hidup yang baik akan memiliki kesehatan jasmani dan rohani yang baik, serta dapat menjalankan hidup di dalam masyarakat sesuai perannya masing-masing. Kualitas kehidupan dapat membantu menentukan masalah tertentu yang mungkin muncul pada penderita (Irawan *et al.*, 2017).

## **2.2 Tinjauan Sel Kanker Payudara T47D dan Sel Vero**

### **2.2.1 Sel T47D**

Sel T47D merupakan *continous cell line* yang diisolasi dari jaringan tumor duktal payudara seorang wanita berusia 54 tahun (CCRC 2009) dalam (Rahmawati & Muti, 2013). Sel T47D biasa dipakai dalam penelitian kanker secara *in vitro* karena mudah dalam penanganannya, memiliki kemampuan replikasi yang tidak terbatas, homogenitas yang tinggi dan mudah diganti dengan frozen stock jika terjadi kontaminasi (Dwitiyanti, 2015). Sel T47D merupakan model sel kanker payudara yang belum resisten terhadap agen kemoterapi *doxorubicin*, tetapi diketahui memiliki protein *p53* yang telah termutasi. Jika *p53* tidak dapat mengikat

respon elemen pada DNA, maka akan mengurangi atau menghilangkan kemampuannya dalam meregulasi siklus sel dan menginduksi apoptosis (Cristiandari, 2018). Sel T47D memiliki karakteristik ER (*Estrogen Receptor*)/PR (*Progesteron Receptor*) positif. Secara molekular sel mengalami mutasi pada *p53*, sehingga sel kehilangan kontrol pada regulasi *cell cyclenya* (Nurani, 2012). Sel T47D adalah sel kanker payudara manusia yang bersifat *estrogen receptor/progesterone receptor positive* dan berasal dari cairan pleural. Sel ini mengekspresikan suatu mutan dari protein *p53* dan sel ini sangat sensitif terhadap efek stimulan dari estradiol (Mahardika *et al.*, 2016). Medium yang digunakan untuk mengkultur sel T47D adalah media RPMI dimana media ini berguna untuk memberikan nutrisi yang dibutuhkan sel supaya sel dapat bertahan hidup dan dapat memperbanyak diri (Dwitiyanti, 2015).

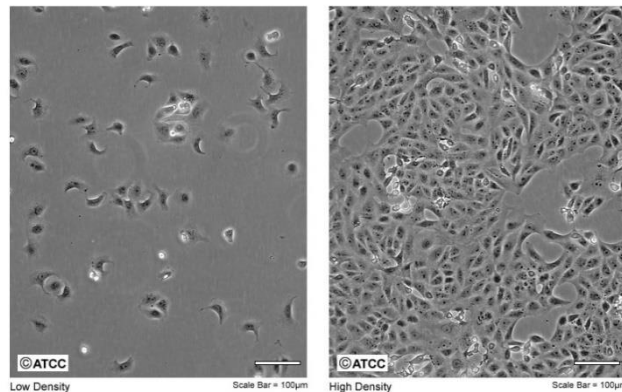


**Gambar 2.2.** Sel T47D (ATCC, 2022)

### 2.2.2 Sel Vero

Sel Vero pertama kali diambil dari ginjal African Green Monkey dewasa pada tanggal 27 Maret 1967 oleh T. Yasamura dan T. Kawalata dari Universitas Chiba, Chiba Jepang (Nurani, 2012). Sel Vero adalah garis keturunan sel yang digunakan dalam kultur sel. Garis keturunan Vero diisolasi dari sel epitel ginjal yang diekstraksi dari monyet hijau Afrika. Garis keturunan sel Vero bersifat kontinu dan aneuploid, artinya ia memiliki jumlah kromosom yang tidak normal. Garis keturunan sel yang berkesinambungan dapat direplikasi melalui banyak

siklus pembelahan dan tidak menjadi tua. Sel Vero rentan terhadap berbagai jenis mikroba dan racun dan berkontribusi besar tidak hanya pada mikrobiologi (Naoki *et al.*, 2014). Sel Vero merupakan jenis sel monolayer dengan karakteristik mirip sel epitel yang memiliki bentuk pipih dan berbentuk polygonal.



**Gambar 2.3.** Sel Vero (ATCC, 2022)

## **2.3 Tinjauan *Network Pharmacology***

### **2.3.1 Definisi *Network Pharmacology***

*Network Pharmacology* merupakan pendekatan yang mampu menggambarkan hubungan yang kompleks antara sistem biologis, obat, dan penyakit (Sakle *et al.*, 2020). *Network Pharmacology* dapat secara efektif mengungkap mekanisme molekuler dan farmakologis dari obat-obatan herbal. Selain itu, dapat menggambarkan secara interaktif hubungan di antara beberapa target dan penyakit. Dengan memvisualisasikan hubungan ini dalam *network pharmacology* dapat menjelaskan secara sistematis tindakan obat pada sistem biologis manusia (Mutiah *et al.*, 2023). *Network pharmacology* dapat digunakan untuk menentukan suatu senyawa yang memberikan efek sinergis bermanfaat untuk mengetahui interaksi-interaksi antar senyawa obat sehingga dapat diketahui mekanisme hubungan penyakit, protein target, tanaman, dan senyawa kimia (Adelina, 2022).

## **2.4 Database dan Perangkat Lunak *Network Pharmacology***

### **2.4.1 GeneCards**

*GeneCards* merupakan ringkasan informasi anotatif yang komprehensif dan otoritatif tentang gen manusia. *GeneCards* telah menyediakan genom ringkas, proteome, data transkriptom, penyakit dan fungsi pada semua gen manusia yang diketahui dan diprediksi (Safran *et al.*, 2010). *GeneCards* terdiri dari ringkasan gen manusia yang secara efektif dapat menavigasi dan menghubungkan berbagai macam gen manusia, penyakit, varian, protein, sel, dan jalur biologis (Stelzer *et al.*, 2016). *Database* ini digunakan dalam proses penentuan gen target pada pendekatan dengan *network pharmacology* yang dapat diakses melalui website (<https://www.genecards.org/>).

### **2.4.2 DisGeNet**

*DisGenet* merupakan sebuah *platform* manajemen pengetahuan yang mengintegrasikan dan menstandarisasi data tentang gen dan varian terkait penyakit dari berbagai sumber, termasuk literatur ilmiah. *DisGenet* mencakup seluruh spektrum penyakit manusia serta ciri-ciri normal dan abnormal. *DisGenet* adalah *platform* penemuan yang berisi salah satu koleksi gen dan varian terbesar yang terkait dengan penyakit manusia yang tersedia untuk umum (Piñero *et al.*, 2020). *Database* ini digunakan untuk menganalisis hubungan antara gen target dan target penyakit yang dapat diakses melalui (<https://www.disgenet.org/>).

### **2.4.3 STRING**

*STRING* bertujuan untuk mengumpulkan, menilai, dan mengintegrasikan semua sumber informasi interaksi protein-protein yang tersedia untuk umum, dan melengkapinya dengan prediksi komputasi. Unit interaksi dasar dalam *STRING* adalah asosiasi fungsional, yaitu hubungan antara dua protein yang keduanya

berkontribusi bersama terhadap fungsi biologis tertentu (Szklarczyk *et al.*, 2019). Berisi jaringan interaksi protein-protein (dan anotasi jalur fungsional protein) untuk >10.000 genom berbeda (Szklarczyk *et al.*, 2023). *Database* ini dapat diakses melalui (<https://STRING-db.org/>).

#### 2.4.4 KEGG

KEGG (*Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes*) merupakan sumber basis data terintegrasi untuk interpretasi biologis genom yang diurutkan secara lengkap dengan pemetaan jalur KEGG, prosedur untuk memetakan gen dalam genom ke peta jalur. KEGG dapat dipandang sebagai sumber daya tunggal yang mengandung berbagai objek biologis: jaringan interaksi/reaksi/relasi molekuler dalam kategori informasi sistem, gen dan protein organisme seluler dan virus dalam kategori informasi genom, senyawa kimia dan reaksi dalam kategori informasi kimia dan penyakit manusia serta obat-obatan pada kategori informasi Kesehatan (Kanehisa *et al.*, 2023). *Database* ini bertujuan untuk mengetahui proses dan jalur biologis atau pathway penyakit yang terkait. *Database* ini dapat diakses secara gratis melalui website berikut (<http://www.kegg.jp/> atau <http://www.genome.jp/kegg/>).

#### 2.4.5 Cytoscape

*Cytoscape* merupakan alat yang paling banyak digunakan karena efek grafisnya yang kuat dan memiliki kompatibilitas yang luas dengan program perangkat lunak dan *database* lain. Konstruksi jaringan, menciptakan pemetaan jaringan topologi dua dimensi dengan tepi dalam setiap node (senyawa, protein, penyakit), memungkinkan analisis yang akurat dan tidak ambigu mengenai dasar farmakologi dan mekanisme tanaman obat merupakan fungsi utama dari *Cytoscape*

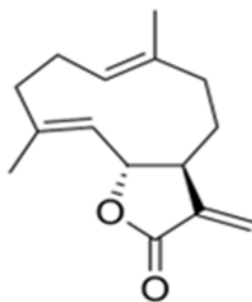
(Yi *et al.*, 2018). *Cytoscape* digunakan untuk melihat secara luas hubungan antara senyawa dan target yang dapat diakses melalui (<http://www.Cytoscape.org/>).

#### 2.4.6 Gene Ontology

*Gene Ontology* adalah sumber informasi terbesar di dunia mengenai fungsi gen. *Gene Ontology* penting dalam penelitian biomedis dan sering digunakan dalam penelitian metode komputasi karena dapat menghitung *semantic similarity* antara gen maupun protein (Akhmad, 2020). *Gene Ontology* digunakan untuk menanyakan *database* dalam mencari fungsi atau lokasi gen di dalam sel atau untuk mencari gen yang memiliki karakteristik yang sama. Salah satu kegunaan umum adalah untuk menyimpulkan kesamaan lokasi atau fungsi gen yang diekspresikan secara berlebihan atau kurang. *Gene Ontologi* terbagi menjadi 3 yaitu *Molecular Function* (MF), *Biological Process* (BP), dan *Cellular Component* (CC) (Gaudet *et al.*, 2017).

### 2.5 Tinjauan Senyawa

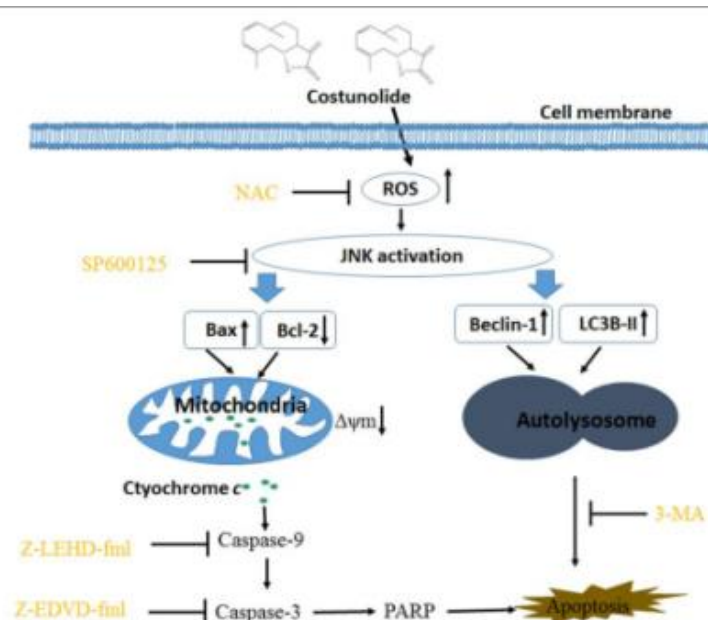
#### 2.5.1 Tinjauan Costunolid



**Gambar 2.4.** Struktur Senyawa Costunolid (Kim & Choi, 2019)

Costunolid adalah bubuk kristal yang tidak berwarna dengan rumus molekul  $C_{15}H_{20}O_2$  dan berat molekul 232,318 g/mol merupakan suatu seskuiterpen lakton

yang terkenal dalam seri germacranolida. Senyawa ini pertama kali ditemukan dalam akar costus (*Saussurea lappa Clarke*), dan kemudian diisolasi dari berbagai jenis tumbuhan lainnya. Secara struktural, Costunolid adalah asam monokarboksilat yang memiliki tiga ikatan rangkap. Setelah melalui proses hidrogenasi katalitik, Costunolid menghasilkan *hexahydro*Costunolid. Struktur dari senyawa Costunolid dapat dilihat pada gambar 2.4. Hidrogenasi parsial Costunolid menghasilkan *dihydro* Costunolid. Bioaktivitas Costunolid didasarkan pada bagian fungsionalnya, yaitu *α-methylene-γ-lactone*, yang mampu berinteraksi dengan gugus sistein sulfhidril dari berbagai protein. Interaksi ini mengubah keseimbangan redoks intraseluler. Costunolid menunjukkan efek anti-inflamasi, antioksidan, dan antikanker. Costunolid (COS) bertujuan untuk berbagai makromolekul penting, termasuk protein kinase yang diaktifkan oleh mitogen, protein kinase B, faktor nuklir- $\gamma$  B, transkripsi sinyal transduser, serta aktivator dan aktivator pro-tein-1 (Kim & Choi, 2019). Costunolid memiliki potensi anti tumor dengan menghambat

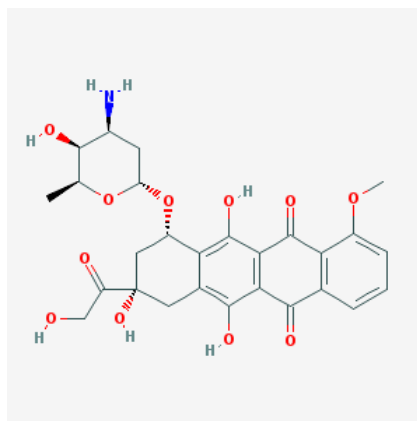


poliferasi, menginduksi apoptosis, dan mengurangi invasi dan metastasis dari sel tumor kanker payudara (Rasul *et al.*, 2012).

**Gambar 2.5** Costunolid menginduksi autophagy dan apoptosis  
(Fu *et al.*, 2020)

Pada Gambar 2.5. menunjukkan bahwa generasi ROS mendahului aktivasi JNK dalam sel 769-P yang diobati dengan Cos. Secara keseluruhan, temuan ini menunjukkan bahwa jalur ROS/JNK yang diaktifkan oleh pengobatan Cos (Costunolid) terlibat dalam induksi apoptosis dan autophagy. Mekanisme yang mungkin mendasari apoptosis yang diinduksi Cos pada sel HeLa masih perlu dilakukan penelitian lebih lanjut. Aktivasi kaskade caspases memainkan peran penting dalam apoptosis. Dua jalur aktivasi caspase utama (reseptor kematian dan jalur mitokondria) telah dijelaskan dengan baik. Jalur reseptor kematian dimulai dengan pengikatan ligan ke reseptor kematian, menghasilkan aktivasi caspase-8 . Jalur mitokondria bergantung pada pelepasan Cyt c dari mitokondria ke dalam sitoplasma, yang mengarah pada stimulasi caspase-9 dan aktivasi capase-3 yang terkait dengan pembentukan fitur apoptosis yang khas. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa Cos menginduksi kematian sel kanker melalui stimulasi caspase-8 atau caspase-9, bergantung pada jenis sel kanker atau faktor lainnya (Fu *et al.*, 2020).

### 2.5.2 Tinjauan Doxorubicin



**Gambar 2.6.** Struktur Kimia *Doxorubicin* (*National Center for Biotechnology, 2024*)

*Doxorubicin* merupakan bagian dari keluarga antrasiklin dan saat ini merupakan obat kemoterapi paling efektif yang digunakan untuk mengobati kanker payudara (Christowitz *et al.*, 2019). *Doxorubicin* telah terbukti memiliki potensi terapeutik yang signifikan dan diakui sebagai salah satu obat kemoterapi paling efisien yang telah disetujui oleh *Food and Drug Administration* (FDA) untuk pengobatan berbagai jenis kanker seperti kanker payudara. Aktivitas antikanker *doxorubicin* dapat dikaitkan dengan kemampuan obat untuk berinteraksi ke dalam DNA, menghambat topoisomerase II, mengganggu fungsi mitokondria, dan mempotensiasi pembentukan radikal bebas dan kerusakan oksidatif (Kciuk *et al.*, 2023).

*Doxorubicin* dapat menginduksi kematian sel melalui beberapa target intraseluler seperti pembentukan spesies oksigen reaktif, pembentukan adduksi DNA, penghambatan topoisomerase II, regulasi Hemostatis  $\text{Ca}^{2+}$  dan Besi (Sritharan & Sivalingam, 2021). Ada dua mekanisme *doxorubicin* bekerja dalam sel kanker, pertama yaitu penyisipan ke dalam DNA dan gangguan perbaikan DNA yang dimediasi topoisomerase-II. Kedua yaitu pembentukan radikal bebas dan kerusakannya pada membran sel DNA serta protein. *Doxorubicin* dioksidasi menjadi semiquinone yang merupakan suatu metabolit tidak stabil yang diubah kembali menjadi *doxorubicin* dalam proses yang melepaskan spesies oksigen reaktif. Spesies oksigen reaktif dapat menyebabkan peroksidasi lipid dan kerusakan membran, kerusakan DNA, stres oksidatif, dan memicu jalur apoptosis kematian sel (Thorn *et al.*, 2011).

Adanya gugus kuinon yang dimiliki *doxorubicin* mampu menghasilkan radikal bebas baik pada sel normal maupun sel kanker. *Doxorubicin* dapat membentuk intermediate radikal semikuinon yang dapat bereaksi dengan oksigen lalu menghasilkan radikal anion superoksida, selanjutnya akan menghasilkan hidrogen peroksida dan radikal hidroksil yang menyerang DNA dan mengoksidasi basa pada DNA. Pembentukan radikal bebas ini secara signifikan distimulasi oleh interaksi antara *doxorubicin* dengan besi. Pertahanan enzimatik dalam sel seperti superoksida dismutase dan katalase merupakan hal penting untuk menjaga sel dari toksisitas *doxorubicin*. Toksisitas kronis *doxorubicin* kemungkinan diperantarai oleh konversi metabolik *doxorubicin* menjadi *doxorubicinol* yang melibatkan berbagai enzim antara lain karbonil reduktase. Mekanisme utama toksisitas *doxorubicinol* terjadi karena interaksinya dengan besi dan pembentukan *reactive oxygen species* (ROS) yang merusak makromolekul. Hal inilah yang menyebabkan mielosupresi leukosit sehingga terjadi leukopenia (Rafli *et al.*, 2021)

## **2.6 Tinjauan Uji Aktivitas Antikanker dan Keamanan**

### **2.6.1 Kultur Sel**

Kultur sel adalah proses dimana suatu sel diambil dari suatu jaringan dan ditumbuhkan dalam keadaan yang dikontrol (Syahidah & Hadisaputri, 2016). Kultur sel merupakan teknik yang secara luas digunakan pada studi metabolisme manusia dan fisiologi manusia yang tidak mudah dilakukan secara *in vivo*. Sel dapat diisolasi dari jaringan, lalu membiakkan kultur sel selama sehari-hari sampai berminggu-minggu (Khumairoh & Puspitasari, 2016). Media yang banyak digunakan pada kultur sel adalah DMEM (*Dulbecco Modified Eagle's Medium*),

RPMI (*Roswell Park Memorial Institute*), EMEM (*Eagle's Minimum Essential Medium*), DMEM/F12, Ham's F12-K Medium (Syahidah & Hadisaputri, 2016).

### **2.6.2 Metode MTT assay**

MTT assay merupakan salah satu pengujian secara *in vitro*. Penelitian sitotoksitas yang dilakukan secara *in vitro* merupakan langkah pertama dalam proses berkembangnya obat antikanker yang berasal dari tanaman untuk menentukan senyawa aktif. Pengujian sitotoksitas dapat dilakukan dengan mengamati sel yang bertahan hidup setelah dilakukan pemberian sampel uji yang diduga memiliki aktivitas sitotoksik. Pengamatan sel yang bertahan hidup setelah pemberian sampel dapat dilakukan dengan melihat nilai absorbansi yang diperoleh menggunakan elisa reader. Sel-sel yang hidup setelah pemberian sampel dapat terdeteksi dari perubahan warna akibat pemberian reagen MTT (Renggana *et al.*, 2022). Reagen MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide) adalah garam mono-tetrazolium yang terdiri dari inti cincin tetrazole kuartener bermuatan positif yang mengandung empat atom nitrogen yang dikelilingi oleh tiga cincin aromatik termasuk dua gugus fenil dan satu cincin tiazolil (Ghasemi *et al.*, 2021).

Prinsip uji MTT adalah mengukur aktivitas selular berdasarkan kemampuan enzim mitokondria reduktase pada mitokondria dalam mereduksi garam Metiltiazol Tetrazolium (MTT). Ketika bermetabolisme, sel-sel hidup akan menghasilkan enzim mitokondria reduktase. Enzim ini bereaksi dengan MTT dan membentuk kristal formazan berwarna ungu. Intensitas warna ungu yang terbentuk proporsional dengan jumlah sel hidup, sehingga jika intensitas warna ungu semakin besar, maka jumlah sel hidup semakin banyak (Arifah *et al.*, 2015). Dehydrogenase mitokondria

dalam sitokrom dari sel-sel yang hidup dapat membelah cincin tetrazol, dan MTT berwarna kuning direduksi sehingga menghasilkan kristal formazan ungu. Zat ini larut dalam dimetil sulfoksida dan pelarut organik lainnya. Jumlah kristal yang terbentuk memiliki korelasi positif terhadap jumlah dan aktivitas dari sel tersebut, dan dengan mengukur nilai absorbansi menggambarkan jumlah sel hidup dan aktivitas dari sel tersebut (Renggana *et al.*, 2022).

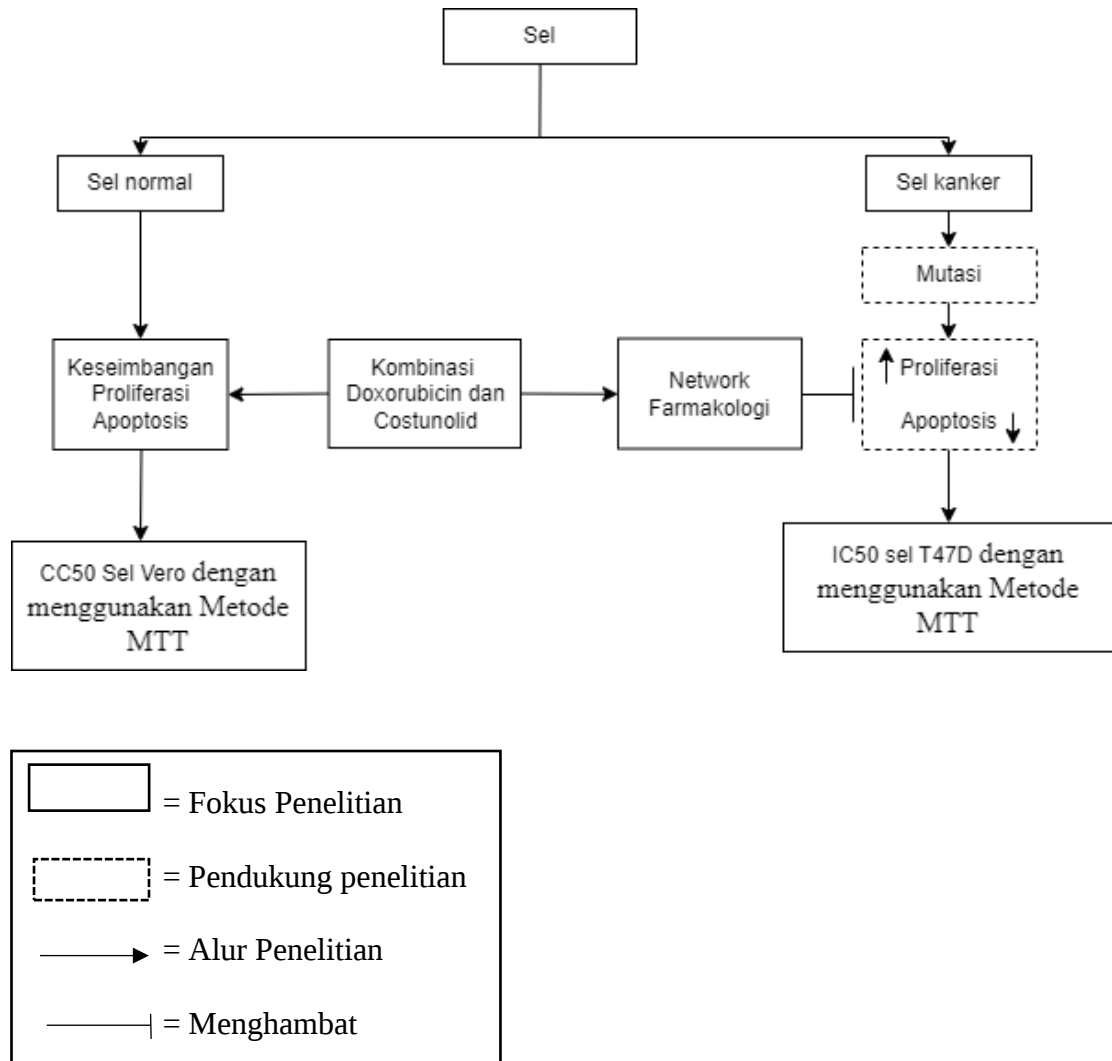
### **2.6.3 ELISA Reader**

ELISA *reader* merupakan salah satu instrumen yang cara kerjanya mirip dengan spektrofotometer UV-Vis dengan sensitivitas dan spesifitas yang lebih tinggi. ELISA *reader* memiliki kelebihan yaitu dalam teknik pengerjaan yang relatif cepat, sensitivitas tinggi, serta hasil yang lebih akurat walaupun larutan uji yang digunakan dalam jumlah sangat kecil (Maryam *et al.*, 2020). Pembacaan pada ELISA *reader* menunjukan tiap variasi waktu memiliki absorbansi yang berbeda dan kadar absorbansi menunjukkan adanya perbedaan dalam variasi waktu pembacaan (Hudaini *et al.*, 2020).

## BAB III

### KERANGKA KONSEPTUAL

#### 3.1 Kerangka Konseptual



**Gambar 3.1.** Kerangka Konseptual

### 3.2 Uraian Kerangka Konseptual

Kanker payudara merupakan penyakit yang menjadi penyakit yang menjadi penyebab kematian utama pada wanita. Kanker payudara merupakan penyakit yang diakibatkan sel-sel dalam jaringan payudara mengalami perubahan dan pembelahan yang tidak terkendali, seringkali menghasilkan benjolan. Dimana apabila benjolan ini ditangani dengan baik akan segera berubah menjadi kanker dan meluas menuju bagian tubuh lain dan dapat menimbulkan kematian. Tatalaksana terapi utama Terapi utama pengobatan kanker payudara secara medis biasanya ditangani dengan kemoterapi, operasi, dan radioterapi (Nafi'ah & Kurniawati, 2020). Pengobatan kanker payudara dengan menggunakan operasi, atau pembedahan mampu menyita waktu yang lama dan membutuhkan biaya yang sangat mahal. Sedangkan pengobatan dengan menggunakan kemoterapi Pengobatan kanker dengan kemoterapi masih memiliki kelemahan karena selain membunuh sel kanker ia juga mempengaruhi sel-sel normal dengan tingkat proliferasi cepat, seperti folikel rambut, sumsum tulang dan sel-sel saluran pencernaan, menghasilkan efek samping kemoterapi yang khas (Lander *et al.*, 2001) dalam (Wijaya & Muchtaridi, 2017).

Efek samping, dan kelemahan kelemahan ini menjadi landasan untuk menemukan alternatif pengobatan baru untuk menyempurnakan pengobatan kanker payudara. Salah satu cara yang dapat dilakukan adalah dengan terapi komplementer dan dikombinasikan dengan obat - obatan konvensional. Doxorubicin merupakan pilihan kemoterapi yang digunakan dalam penelitian ini, doxorubicin ini sendiri memiliki kekurangan yaitu dapat memicu terjadinya resistensi terhadap obat tersebut. Sehingga untuk meminimalisir resitensi

tersebut digunakan kombinasi terapi dengan menggunakan costunolid (Hanifah & Da'i, 2022). Doxorubicin merupakan salah satu jenis kemoterapi golongan antrasiklin yang efektif dan masih digunakan dalam pengobatan kanker payudara. Sedangkan costunolid sendiri merupakan lakton seskuiterpen alami, yang terdapat di sejumlah tanaman obat seperti *Saussurea lappa* dan *Laurus nobilis*, telah menarik minat para peneliti karena potensi aktivitas antikankernya untuk kanker payudara (Choi, & Kim, 2010) dalam (Lin *et al.*, 2015). Costunolid diketahui menargetkan sinyal NF-kB, yang memainkan peran penting dalam perkembangan kanker payudara. Kemampuan costunolid untuk mengatur protein kunci yang terlibat dalam kelangsungan hidup sel kanker dan metastasis menunjukkan potensinya sebagai agen terapi baru untuk pengobatan kanker payudara. Selain itu, potensi antikanker costunolid telah diidentifikasi dalam kanker payudara dan leukemia (Wei *et al.*, 2020). Senyawa costunolid dan Doxorubicin ini memiliki potensi untuk dikombinasikan menjadi agen antikanker payudara, namun sampai saat ini masih belum ditemukan penelitian terkait dengan potensi kombinasi tersebut.

Dalam penelitian ini, dilakukan dengan menggunakan 2 pengujian, yakni uji antikanker, dan uji keamanan kombinasi. Adapun uji kemanan kombinasi yang dilakukan dengan menggunakan pengujian *in silico*. Sedangkan uji aktifitas antikanker dilakukan dengan menggunakan network pharmacology untuk mengetahui mekanisme farmakologi atau jalur persinyalannya terhadap kanker payudara. Senyawa costunolid dan Doxorubicin ini memiliki potensi untuk dikombinasikan menjadi agen antikanker payudara, namun sampai saat

ini masih belum ditemukan penelitian terkait dengan potensi kombinasi tersebut.

### **3.3 Hipotesis Penelitian**

1. Costunolid dan doxorubicin memiliki aktivitas antikanker pada sel T47D.
2. costunolid dan doxorubicin tunggal memiliki indeks selektivitas sebagai antikanker.
3. Kombinasi costunolid dengan doxorubicin memberikan efek sinergis terhadap sel T47D dan sel vero.

## **BAB IV**

### **METODE PENELITIAN**

#### **4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian**

Penelitian ini menggunakan jenis penelitian *pre-eksperimental design* yaitu pada pengujian *Network pharmacology* dan *true-eksperimental design* pada studi invitro menggunakan sel T47D dan Sel Vero. Dimana peneliti rancangan penelitian secara singkat yaitu senyawa cotunolid yang dikombinasikan dengan doxorubicin akan dilakukan pendekatan *network pharmacology* menggunakan komputer terhadap kanker payudara. Pendekatan *network pharmacology* dilakukan dengan dikumpulkannya gen target melalui *GeneCards* kemudian dianalisis gen yang terkait penyakit melalui *database DisGenet*. Lalu, divisualisasi jaringan menggunakan software *Cytoscape*, serta kemudian dilakukan analisis *PPI dan Gen Ontology*, *KEGG Pathway* dan analisis data. Selanjutnya, dilakukan uji aktivitas antikanker dan keamanan dari kombinasi Obat costunolid dan doxorubicin terhadap sel T47D dan sel Vero dengan menggunakan metode MTT assay.

#### **4.2 Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian ini dilakukan pada bulan April – September 2024. Tempat pelaksanaan yang pertama akan dilakukan di Labolatorium Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Sedangkan labolatorium yang kedua adalah Labolatorium Parasitologi yang Berada di Universitas Gadjah Mada, Fakultas Kedokteran, Prodi Kedokteran Umum.

### **4.3 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional**

#### **4.3.1 Variabel Penelitian**

a. Variabel Bebas :

- Senyawa Costunoldie
- Doxorubicin

b. Variabel Terikat :

- IC<sub>50</sub> sel kanker payudara (T47D)
- CC<sub>50</sub> sel vero

c. Variabel Kontrol

- Software cystoscape dan database : GeneCards, DisGenet, STRING, KEGG Pathway, Gene Ontology
- Pelarut
- Suhu inkubasi
- Sel Vero
- Sel T47D

#### **4.4 Definisi Operasional**

- a. Costunolid adalah senyawa alkaloide yang diperoleh dari berbagai jenis tanaman, termasuk dari jenis tanaman *Costus woodsonii*, *Saussurea*, *Aucklandia*, dan *Inula*. Adapun dalam penelitian ini senyawa yang didapat dari pembelian senyawa costunolid murni.
- b. Doxorubicin merupakan salah satu jenis kemoterapi golongan antrasiklin yang efektif dan masih digunakan dalam pengobatan kanker payudara. Mekasisme kerja dari doxorubicin ini sendiri yaitu dengan peningkatan ekspresi dan fungsi NFκβ, yang dapat mengurangi sensitivitas sel kanker terhadap doxorubicin.

- c. Konsentrasi senyawa costunolid adalah konsentrasi yang digunakan untuk menguji aktivitas antikanker dan keamanan terhadap sel T47D dan sel vero.
- d. Konsentrasi doxorubicin adalah konsentrasi yang digunakan untuk menguji aktivitas antikanker dan keamanan terhadap sel T47D dan sel vero.
- e. Sel T47D merupakan suatu continuous cell line yang diisolasi dari jaringan tumor duktal payudara wanita 54 tahun yang biasanya dipakai dalam penelitian kanker secara *in vitro*
- f. Sel Vero adalah jenis sel normal didapatkan melalui ginjal monyet hijau Afrika (*Cercopithecus aethiops*) sering digunakan dalam penelitian sebagai sel mamalia yang terus tumbuh. Sel vero kerap dipakai dalam penelitian oleh sejumlah peneliti virologi, parasit, bakteri intraseluler, reproduksi sel, serta evaluasi dampak zat-zat kimia di tingkat molekuler.

## **4.5 Alat dan Bahan**

### **4.5.1 Alat**

Alat yang dipakai selama penelitian meliputi perangkat keras yaitu laptop merek HP, prosesor AMD Ryzen 5 series 5000, RAM 8 GB dan SSD 512 GB. Perangkat lunak berupa operating system Windows 11, dan Cytoscape. Database berupa PubChem, PASS Online, PkCSM, Prottox II Online Tool, Diagram venn, GeneCards, DisGeNet, STRING, KEGG Pathway.

### **4.5.2 Bahan**

#### **4.5.2.1 Bahan Uji Bioinformatik ( *Network pharmacology* )**

Bahan sampel yang digunakan dalam *Network pharmacology* adalah senyawa costunolid dan obat doxorubicin. Bahan yang dibutuhkan dalam proses identifikasi gen adalah GeneCards (<https://www.genecards.org>).

#### **4.5.2.2 Bahan Uji *In vitro* ( MTT Assay )**

Bahan yang digunakan dalam metode MTT adalah sel kanker payudara T47D, PBS, Trypsin-EDTA, media RPMI, media M<sub>199</sub>, MK (Media Komplit), DMSO 0,2%, MTT 5 mg/mL, SDS 10% dan etanol 70%.

#### **4.6 Prosedur Penelitian**

##### **4.6.1 Prosedur *Network pharmacology***

Tahapan dalam melakukan pendekatan *network pharmacology* yaitu diawali dengan pengumpulan gen target melalui database GeneCards, kemudian dilakukan pengumpulan gen terkait penyakit melalui database DisGenet. Gen target yang terkumpul dilakukan prediksi gen target yang saling berhubungan melalui diagram venn Setelah itu dilakukan visualisasi antara gen target penyakit dan senyawa kandungan menggunakan Cytoscape. Untuk memastikan adanya gen target dan target penyakit yang saling berhubungan dilakukan analisis PPI (*Protein-Protein Interaction*) menggunakan STRING dan analisis jalur persinyalan pathway menggunakan KEGG Pathway dan Gen Ontology.

##### **4.6.2 Uji Aktivitas Antikanker dan Keamanan Menggunakan Metode MTT**

###### **a. Penyiapan Sel (Thawing)**

Sel T47D dan sel Vero disiapkan dan dikeluarkan dari freezer dengan suhu -80 °C kemudian dilakukan penghangatan menggunakan waterbath pada suhu 37°C selama 2-3 menit. Sel kemudian dipindahkan kedalam *conical tube* dengan isi 10 mL media Rosewell Park Memorial Institute (RPMI) untuk sel T47D dan media M<sub>199</sub> untuk sel vero. Kemudian dilakukan pemisahan sel kanker dengan menggunakan sentrifugasi. Media lama yang sudah digunakan kemudian dibuang, diganti dengan media baru diberikan kedalam pelet, dan dilakukan pipetting. Selanjutnya dipindahkan ke Flash Culture T25 mm<sup>3</sup>. Setelah itu, diamati dengan menggunakan mikroskop inverted, lalu diinkubasi di suhu 37°C

5% CO<sub>2</sub>. Pemanenan sel baru dapat dilakukan apabila sel sudah konfluen dan 90% dan stabil sampai minimal passase ke -3.

b. Pemanenan Sel

Pemanenan sel dilakukan ketika sel telah konfluen sebanyak 80%. Pada pemanenan sel dilakukan pembuangan media menggunakan mikropipet lalu dilakukan dua kali pencucian menggunakan PBS dengan volume setengah dari volume awal media. Selanjutnya untuk memisahkan sel dengan matrik ditambahkan tripsin-EDTA (tripsin 0,25%) sebanyak 3 mL secara merata dan diinkubasi dalam inkubator selama 3 menit. Setelah itu, untuk menonaktifkan sel ditambahkan media RPMI pada sel T47D dan Media M<sub>199</sub> pada sel vero sebanyak 5 mL kemudian dilakukan pengamatan terhadap sel menggunakan mikroskop inverted dan dilakukan inkubasi pada 5% CO<sub>2</sub> dengan suhu 35°C selama 24 jam.

c. Perhitungan Sel

Sel yang telah dilakukan pemanenan, diambil sebanyak 10 µl kemudian ditempatkan ke dalam hemocytometer menggunakan mikropipet. Tahap berikutnya dilakukan perhitungan sel menggunakan mikroskop cahaya dengan tingkat perbesaran sebesar 100 kali. Selanjutnya, jumlah sel dapat ditentukan melalui proses perhitungan menggunakan rumus:

$$\sum sel/ml = \frac{\sum sel kamar A + \sum sel kamar B + \sum sel kamar C + \sum sel kamar D}{4} \times 10^4$$

d. Peletakan Sel Pada Plate

Banyaknya sel yang ditempatkan di tiap sumuran dapat diketahui menggunakan rumus berikut:

$$Volume\ panen\ sel\ yang\ ditransfer = \frac{\sum total\ sel\ yang\ diperlukan}{\sum\ terhitung/mL}$$

Jumlah panen sel yang telah dihitung ditambahkan media RPMI pada sel kanker dan pada sel normal diberi M<sub>199</sub> hingga total volume mencapai 10 mL. Beberapa sumur disisakan untuk kontrol media tanpa sel dan kontrol sel. Setelah itu diinkubasi dengan durasi 24 jam pada suhu 37°C dengan 5% CO<sub>2</sub>.

e. Pembuatan Larutan Uji dan Seri Kadar Senyawa Costunolid dan Doxorubicin

Pembuatan larutan uji dan seri kadar yaitu Larutan induk dengan konsentrasi 100.000 µg/mL atau ppm dibuat dengan melarutkan 20 mg senyawa costunolid murni dalam 200 µL DMSO. Selanjutnya, dilakukan pengenceran untuk menghasilkan seri kadar costunolid dengan konsentrasi 200; 100; 50; 25; 12,5; 6,25; 3,125 µg/mL. Untuk pembuatan seri konsentrasi doksorubisin, digunakan pelarut DMSO dengan konsentrasi larutan induk 100.000 µg/mL. Seri konsentrasi yang dibuat adalah 200; 100; 50; 25; 12,5; 6,25; 3,125 µg/mL.

f. Pemberian Larutan Sampel Pada Plate

Media dalam sumuran dibuang dengan membalikkan plate secara 180° dan sisa cairan ditiriskan dengan cara plate ditekan secara perlahan di atas tissue. Kemudian ditambahkan 100 µL PBS dan dibuang kembali. Selanjutnya ditambahkan larutan sampel pada tiap sumuran microplate 96-well dimana setiap konsentrasi diulang sebanyak 3 kali dan diinkubasi selama 24 jam.

g. Pemberian Larutan MTT

Larutan MTT ditambahkan kedalam sumuran sebanyak 100 µL. Selanjutnya microplate 96-well diinkubasi kembali selama 4 jam ke dalam inkubator CO<sub>2</sub> 5% dengan suhu 37°C. Setelah 4 jam, ditambahkan 100 µL SDS

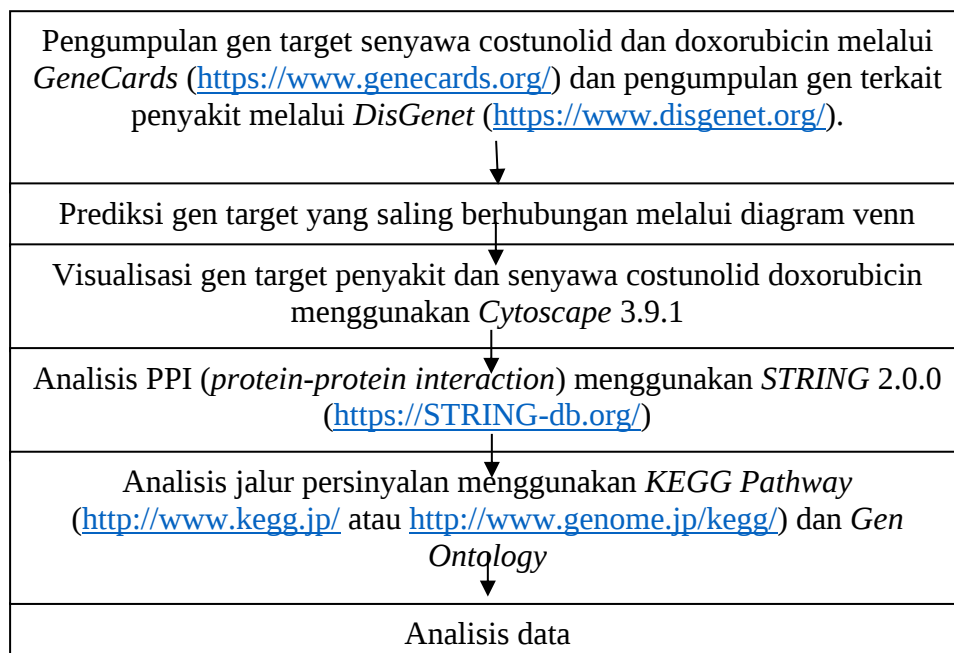
stopper, kemudian dilakukan inkubasi selama 24 jam dalam suhu ruang dengan keadaan gelap. Setelah selesai diinkubasi, sel dapat dianalisis menggunakan ELISA reader dengan panjang gelombang 595 nm.

#### h. Uji Kombinasi

Dibuat seri konsentrasi sampel (*costunolid*) dan agen kemoterapi (*doxorubicin*) untuk perlakuan (termasuk kontrol sel). Seri konsentrasi terdiri dari 4 konsentrasi:  $IC_{50}$ ,  $\frac{3}{4} IC_{50}$ ,  $\frac{1}{2} IC_{50}$ , dan  $\frac{1}{4} IC_{50}$ . Dilakukan uji sitotoksitas dengan metode MTT. Jumlah sel yang hidup dihitung dengan mengukur serapan dengan alat ELISA reader pada panjang gelombang 550 nm.

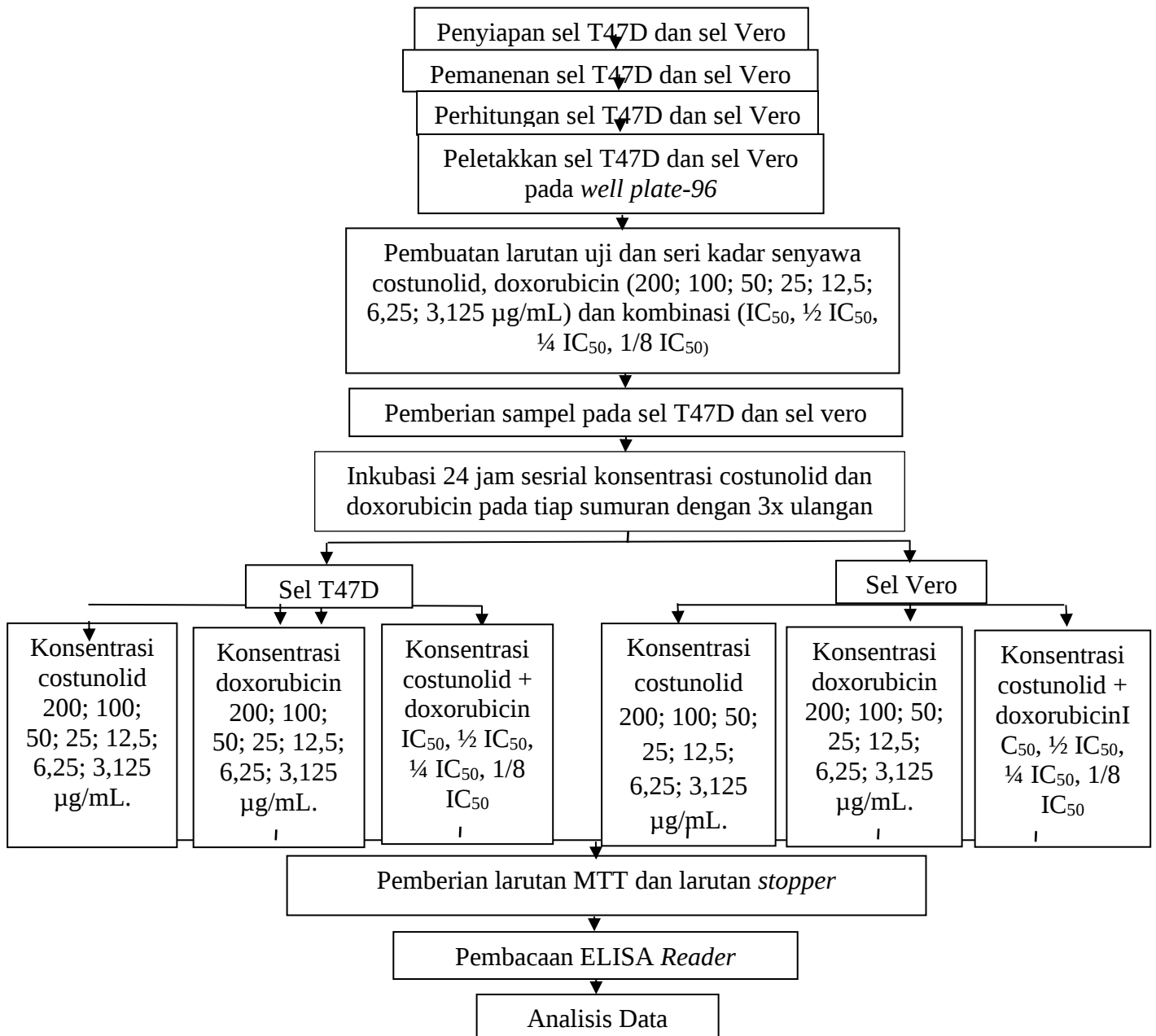
### 4.7 Skema Penelitian

#### 4.7.1 Pendekatan *network pharmacology*



**Gambar 4.1.** Skema Pendekatan *Network pharmacology*

#### 4.7.2 Uji aktivitas antikanker dan uji keamanan kombinasi



**Gambar 4.2.** Diagram alur penelitian uji aktivitas antikanker dan keamanan kombinasi costunolid dan doxorubicin pada sel T47D dan sel vero

## 4.8 Analisis Data

### 4.8.1 Analisis Data Pendekatan *Network Pharmacology*

Analisis data dari hasil *network pharmacology* ditentukan dari hasil gen target yang terkumpul, gen-gen yang terkait dengan penyakit, prediksi gen target yang saling berhubungan melalui diagram venn, visualisasi pada *cytoscape*, hasil analisis interaksi protein-protein, informasi terkait gen seperti fungsi molekuler, proses biologi dan komponen seluler, serta jalur pensinyalan gen target.

### 4.8.2 Analisis Data Uji Aktivitas Antikanker dan Keamanan

Data yang diperoleh berupa absorbansi dari ELISA *reader* yang kemudian dikonversi ke dalam viabilitas sel (% sel hidup):

$$\text{Viabilitas sel} = \frac{\text{Absorbansi perlakuan} - \text{Absorbansi kontrol media}}{\text{Absorbansi kontrol sel} - \text{Absorbansi kontrol media}} \times 100\%$$

Persentase sel hidup dihitung untuk memperoleh nilai IC<sub>50</sub> dari sel T47D (kanker payudara) dan nilai CC<sub>50</sub> dari sel vero. Nilai IC<sub>50</sub> menunjukkan konsentrasi yang menyebabkan penghambatan pertumbuhan sebanyak 50% dari populasi sel sehingga dapat diketahui potensi aktivitasnya dan nilai CC<sub>50</sub> menunjukkan kemampuan dalam menghambat proliferasi sel normal sejumlah 50%.

### 4.8.3 Perhitungan IC<sub>50</sub> dan CC<sub>50</sub>

Persentase sel hidup dihitung untuk memperoleh nilai IC<sub>50</sub> dari sel T47D (kanker payudara) dan nilai CC<sub>50</sub> dari sel vero. Nilai IC<sub>50</sub> menunjukkan konsentrasi yang menyebabkan penghambatan pertumbuhan sebanyak 50% dari populasi sel sehingga dapat diketahui potensi aktivitasnya dan nilai CC<sub>50</sub> menunjukkan kemampuan dalam menghambat proliferasi sel normal sejumlah 50%.

Untuk menghitung nilai IC<sub>50</sub> dan CC<sub>50</sub> dari suatu senyawa menggunakan kurva regresi, langkah pertama adalah mengumpulkan data eksperimental yang mencakup konsentrasi senyawa (x) dan persentase inhibisi atau viabilitas sel (y). Data ini kemudian dipetakan dalam grafik dengan sumbu X sebagai konsentrasi dan sumbu Y sebagai persentase inhibisi atau viabilitas. Setelah itu, analisis regresi linier dilakukan untuk mendapatkan persamaan garis yang paling sesuai, yang umumnya berbentuk  $y = a + b$   $y=ax+b$ , di mana a adalah kemiringan garis dan b adalah intersep. Dengan menggunakan persamaan ini, nilai y disubstitusikan

dengan 50 untuk menentukan konsentrasi yang diperlukan untuk mencapai 50% inhibisi atau kematian sel.

#### 4.8.4 Perhitungan Index Selektivitas

Hasil yang didapatkan dari nilai IC<sub>50</sub> dan CC<sub>50</sub> dapat dihitung indeks selektivitasnya menggunakan rumus berikut:

$$\text{Selektivity Index (SI)} = \frac{\text{CC}_{50} \text{ perlakuan sampel terhadap sel vero}}{\text{IC}_{50} \text{ perlakuan sampel terhadap sel T47D}}$$

#### 4.8.5 Perhitungan Combination Index

Sitotoksitas kombinasi ditetapkan dengan menghitung indeks interaksi antara agen kemoterapi doxorubicin dengan senyawa costunolid, menggunakan persamaan:

$$\text{Combination Index/CI} = (D)_1 / (D_x)_1 + (D)_2 / (D_x)_2$$

(D)<sub>1</sub> dan (D)<sub>2</sub> merupakan besarnya konsentrasi kedua senyawa untuk memberikan efek yang sama (D<sub>x</sub>) konsentrasi tunggal senyawa untuk memberikan efek. Angka CI atau *Combination Index* yang diperoleh dapat diinterpretasikan sebagai berikut:

Tabel 4.1. Interpretasi Nilai *Combination Index* (Mutiah *et al.*, 2018)

| CI      | Inerpretasi        | CI       | Interpretasi        |
|---------|--------------------|----------|---------------------|
| <0,1    | Strong synergist   | 0,9-1,1  | Additives           |
| 0,1-0,3 | Powerful synergist | 1,1-1,45 | Light Antagonist    |
| 0,3-0,7 | Synergist          | 1,45-3,3 | Antagonist          |
| 0,7-0,9 | Light synergist    | >3,3     | Powerful antagonist |

Untuk membandingkan hasil antara kelompok perlakuan, dilakukan analisis deskriptif untuk melihat dari *network pharmacology*, dan Uji aktivitas antikanker dan keamanan dengan menggunakan metode MTT assay. Pada *network pharmacology* dilihat gen target dari senyawa dan gen dari penyakitnya. Sedangkan pada uji aktivitas antikanker dan keamanan dengan menggunakan metode MTT assay dilihat nilai IC<sub>50</sub> pada sel T47D dengan pemberian costunolid dan doxorubicin tunggal, CC<sub>50</sub> dari sel vero dengan pemberian costunolid dan

doxorubicin tunggal, nilai indeks selektivitas costunolid dan doxorubicin, dan nilai indeks kombinasi pada sel T47D.

## BAB V

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 5.1 Identifikasi Prediksi Gen Target dan Jalur Persinyalan Menggunakan *Network Pharmacology*

Tahapan pertama dalam penelitian ini menggunakan pendekatan *network pharmacology*, yaitu suatu metode bioinformatika yang dapat mengeksplorasi hubungan multitarget senyawa dengan gen target serta jalur sinyal yang relevan. Pendekatan ini dimulai dengan pengumpulan gen target dari senyawa costunolid dan doxorubicin melalui database GeneCards ([www.GeneCards.com](http://www.GeneCards.com)). Data yang diperoleh mencakup gen target potensial yang berperan penting dalam berbagai jaringan atau jenis sel. Langkah ini bertujuan untuk mengidentifikasi gen-gen yang relevan dalam aktivitas biologis senyawa tersebut.

Selanjutnya, untuk memahami relevansi senyawa terhadap kanker payudara, dilakukan pengumpulan gen target spesifik untuk penyakit ini melalui database DisGeNet ([www.DisGeNet.com](http://www.DisGeNet.com)). Gen target yang berhubungan antara senyawa dan penyakit kemudian dianalisis menggunakan diagram Venn. Setelah memperoleh interseksi gen target, dilakukan visualisasi jaringan menggunakan perangkat lunak Cytoscape. Tujuan dari visualisasi ini adalah untuk memetakan hubungan dan interaksi antar gen serta mengidentifikasi gen kunci yang menjadi pusat dalam jaringan tersebut.

Tahap selanjutnya adalah analisis interaksi protein-protein menggunakan STRING. Analisis ini bertujuan untuk mengeksplorasi bagaimana gen-gen target berinteraksi dalam konteks biologis, serta mengidentifikasi hubungan signifikan

antar protein. Data yang diperoleh dari analisis ini membantu dalam memahami mekanisme molekuler senyawa dalam mengatur jalur-jalur biologis yang terkait dengan kanker payudara. Langkah terakhir dalam tahapan network farmakologi adalah analisis jalur sinyal menggunakan *KEGG Pathway* dan *GENE Ontology*. Analisis ini bertujuan untuk memetakan jalur-jalur biologis yang dilalui oleh gen target, termasuk jalur-jalur yang berkontribusi pada perkembangan kanker payudara.

### 5.1.1 Hasil Pengumpulan Gen Target melalui *GeneCards*

Tahapan pertama yang dilakukan pada *Network Pharmacology* adalah pengumpulan gen target dari senyawa costunolid dan doxorubicin dengan menggunakan database *GeneCards*. *GeneCards* menyediakan informasi gen target berdasarkan rentang relevansi dalam jaringan atau jenis sel tertentu. Hasil analisis menunjukkan bahwa gen target dari senyawa costunolid sebanyak 34 gen target. Sedangkan pada senyawa doxorubicin sendiri didapatkan sebanyak 3.407 gen target.

**Tabel 5.1.** Hasil Pengumpulan Gen Target melalui *GeneCards*

| Senyawa     | Jumlah Gen Target | Rentang Revalensi |
|-------------|-------------------|-------------------|
| Costunolid  | 34                | 0,24 - 4,25       |
| Doxorubicin | 3.407             | 0,13 - 27,33      |

Tabel 5.1. menunjukkan bahwa xsenyawa costunolid memiliki 34 gen target dengan relevansi 0,24 - 4,25, sedangkan doxorubicin memiliki 3.407 gen target dengan relevansi 0,13 - 27,33. Nilai Rentang Revalensi merupakan nilai adalah rentang skor atau penilaian yang mencerminkan seberapa besar peran gen tersebut dalam berbagai aspek biomedis. Semakin tinggi nilai relevansi dari gen maka semakin besar keterkaitan antara gen dengan suatu penyakit tertentu.

### 5.1.2 Hasil Pengumpulan Gen Target Kanker Payudara melalui DisGeNet

Tahap berikutnya dalam analisis network farmakologi adalah pengumpulan gen target yang berhubungan dengan kanker payudara menggunakan database DisGeNet. DisGeNET merupakan platform penemuan yang dirancang untuk menjawab berbagai pertanyaan terkait genetika yang menjadi dasar penyakit pada manusia (Piero et al., 2015). Analisis ini bertujuan untuk mengidentifikasi gen-gen yang memiliki relevansi tinggi dalam patogenesis kanker payudara. Hasil identifikasi gen target terkait kanker payudara yang dilakukan melalui database DisGeNet, dapat dilihat pada tabel 5.2.

**Tabel 5.2** Hasil Pengumpulan Gen Target Kanker Payudara melalui DisGeNet

| No.          | Penyakit                                  | Kode Penyakit | Jumlah Gen |
|--------------|-------------------------------------------|---------------|------------|
| 1.           | Breast Cancer,                            | C0006142      | 30         |
| 2.           | Triple-Negative Breast Cancers,           | C3539878      | 30         |
| 3.           | Invasive breast cancer,                   | C0853879      | 30         |
| 4.           | Breast cancer stage IV,                   | C0278488      | 31         |
| 5.           | Estrogen receptor-positive breast cancer, | C2938924      | 31         |
| 6.           | ER-negative breast cancer,                | C4733092      | 30         |
| 7.           | Breast cancer (ductal),                   | C1527349      | 30         |
| 8.           | Advanced breast cancer                    | C3495917      | 30         |
| 9.           | Carcinoma of breast                       | C0678222      | 30         |
| 10           | Triple-Negative Breast Carcinoma          | C4722518      | 30         |
| <b>Total</b> |                                           |               | <b>302</b> |

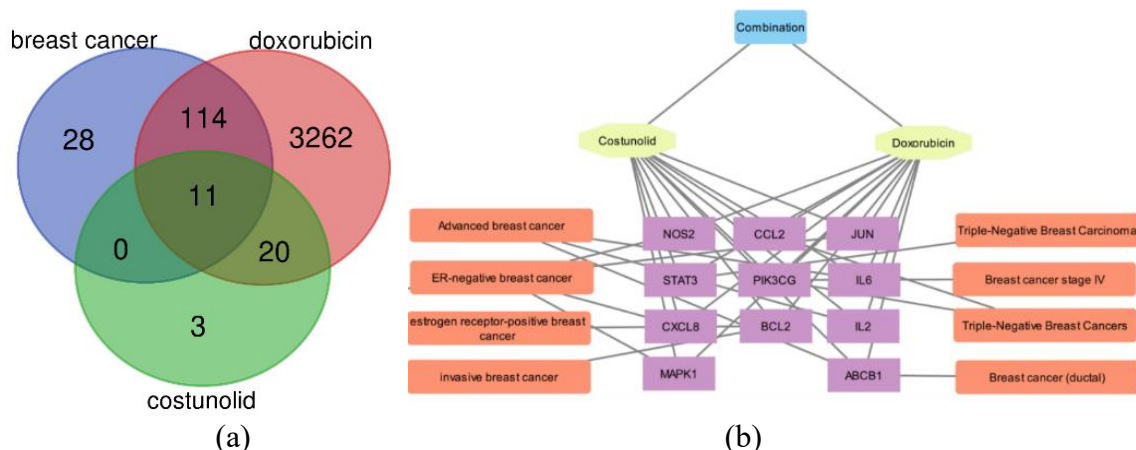
Hasil analisis menunjukkan bahwa kanker payudara secara umum (kode penyakit (C0006142) memiliki 30 gen target. Selain itu, beberapa subtype kanker payudara seperti kanker payudara triple-negatif (C3539878), kanker payudara invasif (C0853879), dan kanker payudara stadium lanjut (C0278488) juga memiliki 30 hingga 31 gen target. Subtipe lainnya, seperti kanker payudara reseptor estrogen positif (C2938924) dan kanker payudara reseptor negatif (C4733092),

memperlihatkan pola gen target yang serupa. Hasil pengumpulan gen target melalui DisGeNet mendukung bahwa kanker payudara adalah penyakit dengan banyak gen yang berperan dalam proses seperti proliferasi dan resistensi obat.

Data ini sejalan dengan penelitian yang menunjukkan bahwa kanker payudara adalah penyakit yang melibatkan banyak gen dengan peran beragam dalam regulasi proliferasi, apoptosis, inflamasi, dan resistensi obat. Contohnya adalah gen TP53, gen TP53 yang sering ditemukan pada berbagai subtype kanker payudara, memiliki peran penting dalam mekanisme apoptosis dan regulasi siklus sel (Pitolli et al., 2019). Penelitian ini memperkuat temuan yang dilaporkan oleh (Shi et al., 2019) di mana jalur-jalur biologis utama yang dipengaruhi oleh gen-gen tersebut, seperti PI3K-Akt berperan signifikan dalam perkembangan kanker payudara. Hasil pengumpulan gen target ini juga memberikan dasar untuk mengidentifikasi interseksi gen dengan senyawa costunolid, yang akan dianalisis lebih lanjut menggunakan diagram Venn.

### **5.1.3 Hasil Prediksi dan Visualisasi Gen Target Senyawa pada Kanker Payudara**

Prediksi target dari senyawa costunolid dan doxorubicin pada kanker payudara dilakukan untuk mengetahui gen target yang berhubungan antara senyawa dan penyakit yang dilakukan dengan bantuan diagram Venn.



**Gambar 5.1** (a) Diagram venn gen target yang berhubungan antara senyawa dan penyakit, dan (b) visualisasi network pharmacology melalui cytoscape

**Tabel 5.3** Hasil Pembacaan visualisasi Network Pharmacology melalui Cytoscape

| Senyawa    | Simbol Gen | Deskripsi Gen                                                                  | Penyakit                                                                                                  |
|------------|------------|--------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Costunolid | NOS2       | Nitric oxide synthase                                                          | ER-negative breast cancer                                                                                 |
| Costunolid | BCL2       | Apoptosis regulator Bcl-2                                                      | invasive breast cancer; estrogen receptor-positive breast cancer                                          |
| Costunolid | MAPK1      | Mitogen-activated protein kinase 1                                             | ER-negative breast cancer                                                                                 |
| Costunolid | CXCL8      | Interleukin-8                                                                  | ER-negative breast cancer                                                                                 |
| Costunolid | ABCB1      | TP-dependent translocase                                                       | Advanced breast cancer                                                                                    |
| Costunolid | STAT3      | Signal transducer and activator of transcription 3                             | Triple-Negative Breast Carcinoma                                                                          |
| Costunolid | CCL2       | C-C motif chemokine 2                                                          | Triple-Negative Breast Cancers                                                                            |
| Costunolid | IL6        | Interleukin-6                                                                  | Breast cancer (ductal), Advanced breast cancer                                                            |
| Costunolid | PIK3CG     | Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit gamma isoform | Advanced breast cancer; ER-negative breast cancer; Triple-Negative Breast Cancers, Breast cancer stage IV |

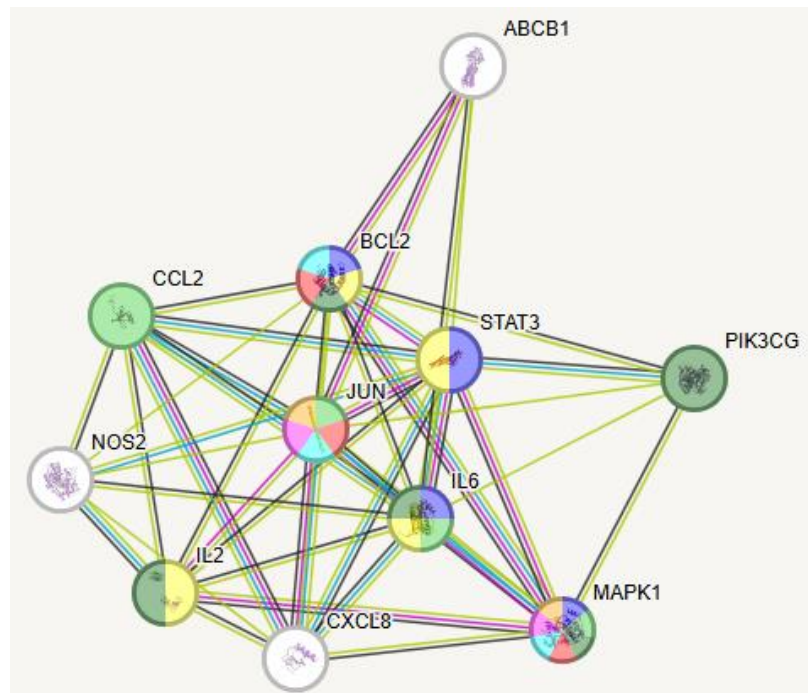
|             |        |                                                                                       |                                                                                                                  |
|-------------|--------|---------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Costunolid  | IL2    | <i>Interleukin-2</i>                                                                  | <i>Triple-Negative Breast Cancers, Advanced breast cancer</i>                                                    |
| Costunolid  | JUN    | <i>Transcription factor AP-1</i>                                                      | <i>ER-negative breast cancer</i>                                                                                 |
| Doxorubicin | NOS2   | <i>Nitric oxide synthase, inducible</i>                                               | <i>ER-negative breast cancer</i>                                                                                 |
| Doxorubicin | BCL2   | <i>Apoptosis regulator Bcl-2</i>                                                      | <i>invasive breast cancer, estrogen receptor-positive breast cancer</i>                                          |
| Doxorubicin | MAPK1  | <i>Mitogen-activated protein kinase 1</i>                                             | <i>ER-negative breast cancer</i>                                                                                 |
| Doxorubicin | CXCL8  | <i>Interleukin-8</i>                                                                  | <i>ER-negative breast cancer</i>                                                                                 |
| Doxorubicin | ABCB1  | <i>TP-dependent translocase</i>                                                       | <i>Advanced breast cancer</i>                                                                                    |
| Doxorubicin | STAT3  | <i>Signal transducer and activator of transcription 3</i>                             | <i>Triple-Negative Breast Carcinoma</i>                                                                          |
| Doxorubicin | CCL2   | <i>C-C motif chemokine 2</i>                                                          | <i>Triple-Negative Breast Cancers</i>                                                                            |
| Doxorubicin | IL6    | <i>Interleukin-6</i>                                                                  | <i>Breast cancer (ductal), Advanced breast cancer</i>                                                            |
| Doxorubicin | PIK3CG | <i>Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit gamma isoform</i> | <i>Advanced breast cancer, ER-negative breast cancer, Triple-Negative Breast Cancers, Breast cancer stage IV</i> |
| Doxorubicin | IL2    | <i>Interleukin-2</i>                                                                  | <i>Triple-Negative Breast Cancers, Advanced breast cancer</i>                                                    |
| Doxorubicin | JUN    | <i>Transcription factor AP-1</i>                                                      | <i>ER-negative breast cancer</i>                                                                                 |

Prediksi gen target dari senyawa costunolid dan doxorubicin pada kanker payudara dilakukan dengan analisis menggunakan diagram Venn, seperti yang ditampilkan pada Gambar 5.1 (a). Diagram tersebut mengidentifikasi adanya 11 gen target yang saling berhubungan antara kedua senyawa tersebut dengan kanker

payudara. Gambar 5.1 hanya menunjukkan jumlah gen target yang terdeteksi, oleh karena itu untuk menunjukkan nama-nama gen yang memiliki keterkaitan langsung divisualisasikan lebih lanjut menggunakan perangkat lunak Cytoscape, seperti yang diperlihatkan pada Gambar 5.1 (b). Gen-gen yang teridentifikasi meliputi ABCB1, CCL2, BCL2, PIK3CG, STAT3, JUN, IL6, NOS2, IL2, CXCL8, dan MAPK1. Gen-gen target ini memiliki peran penting dalam berbagai proses biologis yang relevan dengan perkembangan kanker payudara. Gen STAT3 dan IL6 berperan dalam jalur pensinyalan JAK-STAT yang mendukung inflamasi, proliferasi, dan kelangsungan hidup sel kanker (Xiao et al., 2017). Sementara itu, gen BCL2 berfungsi sebagai regulator anti-apoptosis yang membantu sel kanker menghindari mekanisme kematian terprogram (Droin & Green, 2004). Selain itu, gen CCL2 dan CXCL8 diketahui mendukung proses angiogenesis serta pembentukan mikro lingkungan tumor melalui rekrutmen sel imun (Ha et al., 2017).

Hasil visualisasi melalui Cytoscape (Gambar 5.1. (b)) menunjukkan bahwa gen STAT3, JUN, IL-6, dan BCL2 bertindak sebagai hub proteins atau protein kunci dalam jaringan. Protein-protein ini berfungsi sebagai pusat interaksi yang memainkan peran utama dalam regulasi inflamasi, resistensi obat, apoptosis, serta pertumbuhan tumor. Dengan demikian, kombinasi analisis diagram Venn untuk identifikasi jumlah gen target dan visualisasi jaringan melalui Cytoscape memberikan gambaran yang jelas mengenai hubungan molekuler senyawa costunolid dan doxorubicin terhadap kanker payudara.

#### 5.1.4 Analisis Interaksi Protein-Protein melalui STRING



**Gambar 5.2.** Jejaring interaksi protein-protein

Analisis interaksi protein pada kombinasi obat costunolid dan doxorubicin sebagai anti-kanker pada kanker payudara sel T47D dan sel vero dianalisis menggunakan STRING. Analisis STRING dilakukan berdasarkan *database* yang ada dengan memasukkan 11 gen target yang saling berkaitan yang diperoleh dari interaksi diagram venn (Gambar 5.1 (b)). Hasil STRING diperoleh *clustering* 11 *nodes* dan 43 *edges* dengan *p-value* sebesar  $3.45e-08$  (Gambar 5.2). Dalam STRING terlihat *nodes* yang merupakan gen target. Hasil ini menunjukkan interaksi 11 *nodes*, meliputi ABCB1, CCL2, BCL2, PIK3CG, STAT3, JUN, IL6, NOS2, IL2, CXCL8, dan MAPK1 dengan . Interaksi antar protein tersebut ditunjukkan oleh *edges* atau garis-garis dengan warna yang berbeda.

*Edges* merupakan garis dengan warna yang berbeda dengan mewakili tujuh jenis bukti yang digunakan dalam prediksi asosiasi atau hubungan antar gen. Warna hijau, merah, dan biru menjelaskan interaksi gen target. *Edges* menunjukkan

interaksi dan hubungan antar protein yang diilustrasikan dengan warna yang berbeda. Perbedaan warna tersebut menunjukkan interaksi yang berbeda antar protein (Rao et al., 2014). Berdasarkan gambar 5.2 diperoleh empat garis warna berbeda, yaitu merah muda, biru muda, hitam, dan kuning. Garis-garis tersebut menunjukkan pola interaksi yang berbeda. Garis hijau toska menunjukkan bahwa protein berasal dari database yang dikurasi, sedangkan warna ungu menunjukkan protein ditentukan secara eksperimental. Garis hijau menunjukkan interaksi protein yang berhubungan dengan lingkungan gen, garis merah menunjukkan interaksi fusi gen, dan biru menunjukkan interaksi ko-kemunculan gen. Garis kuning menjelaskan penambahan teks, sedangkan garis hitam menunjukkan ekspresi bersama. Sementara itu, garis abu-abu menunjukkan homologi protein.

Gambar 5.2. menunjukkan bahwa pada penelitian ini terdiri dari empat protein hub utama, yaitu JUN, STAT3, IL-6, dan BCL2. Protein tersebut berperan sebagai pusat dan membangun interaksi dengan protein lainnya dalam regulasi perkembangan tumor, inflamasi, apoptosis, dan resistensi obat. Regulasi pertumbuhan sel kanker diawali dengan pelepasan sitokin (IL-6 dan IL-2) yang menstimulasi respons inflamasi (Kitamura et al., 2017). Respons ini mengaktifkan regulasi pensinyalan JAK/STAT yang menyebabkan fosforilasi dan aktivitas STAT3 (Huang et al., 2022). STAT3 berkombinasi dengan BCL2 yang meningkatkan kelangsungan hidup sel dan mencegah terjadinya apoptosis (Tolomeo & Cascio, 2021). Selain itu, STAT3 berinteraksi dengan JUN sebagai stimulan dalam mendorong pertumbuhan sel kanker. Respons inflamasi yang ditimbulkan oleh sitokin merangsang produksi CCL2 dan CXCL8 (IL-8) yang memfasilitasi proses angiogenesis dan menyediakan lingkungan yang optimal untuk

pertumbuhan sel kanker. Selain itu, interaksi dengan NOS2 juga dapat menciptakan lingkungan yang optimal untuk sel kanker. Interaksi PIK3CG dengan MAPK1 meningkatkan proliferasi dan kelangsungan hidup sel kanker (Bouhaddou et al., 2019). ABCB1 berfungsi sebagai *drug efflux pump* yang memompa obat kemoterapi keluar dari dalam sel kanker sehingga meningkatkan resistensinya.

### 5.1.5 Analisis Gene Ontology melalui STRING

Hasil *clustering* pada analisis PPI pada STRING dianalisis lebih lanjut untuk mengetahui *gene ontology*. Analisis ini meliputi proses biologi, fungsi molekuler dan komponen seluler (Gaudet et al., 2017). Proses biologi (*biological process* (BP)) merupakan proses-proses biologis yang dicapai melalui kumpulan molekul/gen, sedangkan fungsi molekuler (*molecular function*) merupakan aktivitas biokimia spesifik yang dilakukan oleh produk gen, mencakup tindakan katalisis atau ikatan (Gaudet et al., 2017; Thomas, 2017). Sementara itu, komponen seluler (*cellular component*) menggambarkan lokasi spesifik di dalam sel tempat fungsi molekuler terjadi (Gaudet et al., 2017). *Gene ontology* dianalisis melalui *enrichment* pada STRING dan dipilih maksimal sepuluh teratas dari proses biologi, fungsi molekuler, dan komponen seluler yang memiliki nilai *false discovery rate*  $\leq 0,001$  (Nadeau et al., 2021). Hasil analisis ini menyajikan nilai terkait *count in network*, *strength*, dan *false discovery rate*. *Count in network* merupakan jumlah protein yang terhitung, angka pertama menunjukkan jumlah protein dalam jaringan dan angka kedua menunjukkan jumlah total protein (Szklarczyk et al., 2023). *Strength* merupakan nilai yang menunjukkan tingkat kekuatan suatu gen target dalam memberikan efek, yang mana semakin besar nilainya, maka semakin besar juga tingkat kekuatan gen target (Szklarczyk et al., 2023). *False discovery rate*

menjelaskan tingkat kesalahan suatu prediksi aktivitas, yang mana semakin kecil nilainya maka semakin kecil juga kemungkinan terjadinya kesalahan (Szkarczyk et al., 2023).

**Tabel 5.4.** Proses biologi gen target sel T47D dan sel vero pada kanker payudara

| <i>Go-term</i> | Description                                        | Count in network | Strength | False discovery rate |
|----------------|----------------------------------------------------|------------------|----------|----------------------|
| GO:1901700     | <i>Response to oxygen-containing compound</i>      | 10 of 1547       | 1.06     | 0.000148             |
| GO:0008283     | <i>Cell population proliferation</i>               | 8 of 712         | 1.3      | 0.000358             |
| GO:0002376     | <i>Immune system process</i>                       | 10 of 2121       | 0.93     | 0.000947             |
| GO:0009719     | <i>Response to endogenous stimulus</i>             | 9 of 1363        | 1.07     | 0.000947             |
| GO:0006954     | <i>Inflammatory response</i>                       | 7 of 538         | 1.37     | 0.000996             |
| GO:0030334     | <i>Regulation of cell migration</i>                | 8 of 927         | 1.19     | 0.000996             |
| GO:0030335     | <i>Positive regulation of cell migration</i>       | 7 of 529         | 1.37     | 0.000996             |
| GO:0044093     | <i>Positive regulation of molecular function</i>   | 9 of 1587        | 1.01     | 0.000996             |
| GO:0045321     | <i>Leukocyte activation</i>                        | 7 of 574         | 1.34     | 0.000996             |
| GO:0042127     | <i>Regulation of cell population proliferation</i> | 9 of 1669        | 0.98     | 0.00113              |

Tabel 5.4 menunjukkan hasil analisis *gene ontology* pada segmen proses biologi gen target sel T47D dan sel vero pada kanker payudara. Hasil analisis *enrichment* didapatkan 10 proses biologi, yang mana proses *Response to oxygen-containing compound* merupakan proses biologi paling baik yang terdiri dari 10 protein dari 1547 protein dengan nilai *strenght* 1.06 dan nilai kesalahan (*False discovery rate* / FDR) paling kecil 0.000148. Tabel 5.4 juga mengindikasikan bahwa proses biologi signifikan dalam kelangsungan hidup sel kanker payudara, yang mana dipengaruhi oleh *cell population proliferation* dan *positive regulation of*

*molecular function*. Kedua proses ini mendorong kemampuan sel kanker untuk tumbuh, bermigrasi, dan membentuk tumor (Januškevičienė & Petrikaitė, 2019). Sementara itu, proses biologis, seperti *response to oxygen-containing compound* dan *inflammatory response* yang berperan dalam merespons stres oksidatif atau inflamasi (Alamri & Tahir ul Qamar, 2023). Di sisi lain, proses biologis *immune system process* dan *leukocyte activation* mengindikasikan interaksi antara sel kanker dan sistem imun tubuh (X. Jiang & Shapiro, 2014).

**Tabel 5.5.** Fungsi molekuler target sel T47D dan sel vero pada kanker payudara

| <i>Go-term</i> | Description               | Count in network | Strength | False discovery rate |
|----------------|---------------------------|------------------|----------|----------------------|
| GO:0005125     | <i>Cytokine activity</i>  | 4 of 234         | 1.49     | 0.0316               |
| GO:0005126     | Cytokine receptor binding | 4 of 270         | 1.42     | 0.0316               |
| GO:0005515     | Protein binding           | 11 of 7242       | 0.43     | 0.0316               |

Hasil *enrichment* fungsi molekuler disajikan pada Tabel 5.5. Hasil ini menunjukkan tiga fungsi molekuler utama yang terdiri dari *cytokine activity*, *cytokine receptor binding*, dan *protein binding*. *Cytokine activity* dan *cytokine receptor binding* berperan secara signifikan dalam transmisi sel dan modulasi sistem imun dengan kekuatan masing-masing 1.49 dan 1.42 dan tingkat kesalahan penemuan yang kecil 0.0316 (Esquivel-Velázquez et al., 2015). Di sisi lain, fungsi molekuler *protein binding* mengindikasikan keterlibatan antara gen-gen sel target (11 protein dari 72472 total protein) dengan tingkat kesalahan penemuan yang kecil 0.0316 (Sun et al., 2017). Namun, kekuatan dari fungsi ini tidak terlalu kuat, hanya mencapai 0.43. Hasil analisis ini mengindikasikan bahwa sitokin berperan aktif dalam mekanisme molekuler yang mendasari kanker payudara.

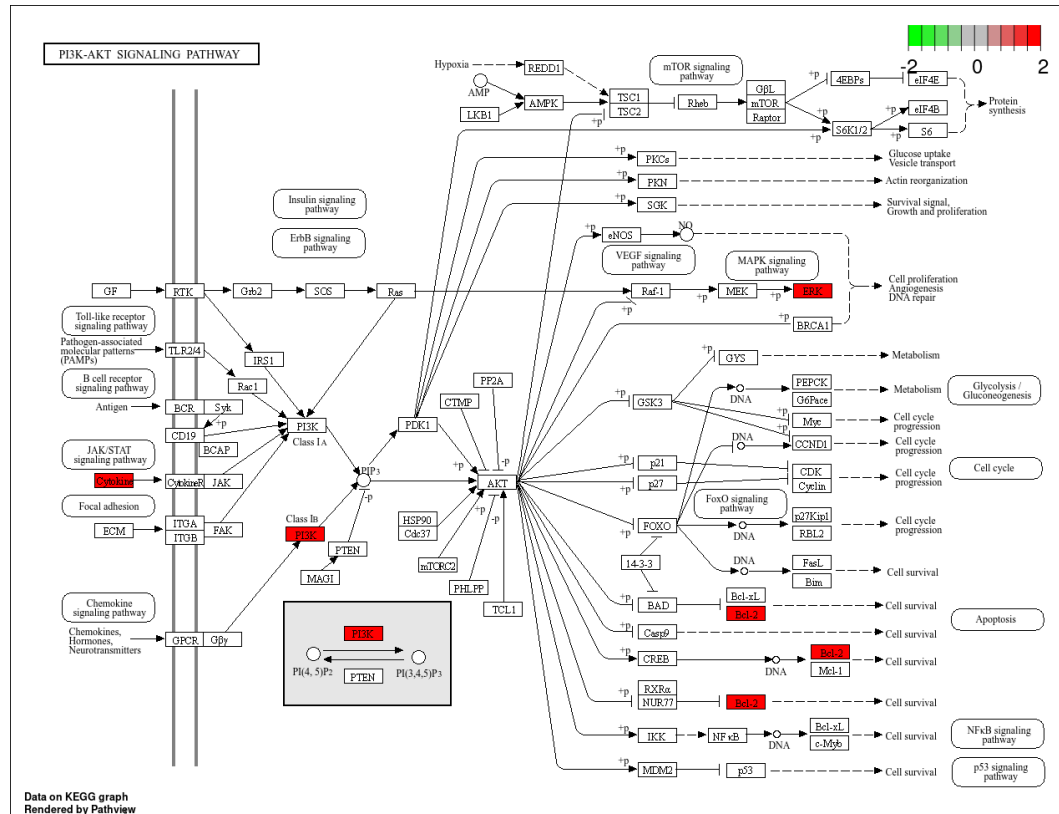
**Tabel 5.6.** KEGG *pathway* gen target sel T47D dan sel vero pada kanker payudara

| <i>Go-term</i> | Description                                      | Count in network | <i>P value</i> | <i>Q value</i> |
|----------------|--------------------------------------------------|------------------|----------------|----------------|
| hsa01521       | <i>EGFR tyrosine kinase inhibitor resistance</i> | 4 of 11          | 1.95056E-06    | 6.84407E-06    |
| hsa04668       | <i>TNF signaling pathway</i>                     | 4 of 11          | 9.55278E-5     | 2.51389E-05    |
| hsa04630       | <i>JAK-STAT signaling pathway</i>                | 4 of 11          | 3.73306E-05    | 9.06817E-05    |
| hsa04151       | <i>PI3K-Akt signaling pathway</i>                | 5 of 11          | 4.20636E-05    | 9.48804E-05    |
| hsa04210       | <i>Apoptosis</i>                                 | 3 of 11          | 0.001842003    | 0.000705073    |
| hsa04915       | <i>Estrogen signaling pathway</i>                | 3 of 11          | 0.001923459    | 0.000736252    |
| hsa05224       | <i>Breast cancer</i>                             | 2 of 11          | 0.025678181    | 0.009828969    |
| hsa04010       | <i>MAPK signaling pathway</i>                    | 2 of 11          | 0.080186045    | 0.00982896     |

Tabel 5.6. menunjukkan KEGG *pathway* yang terlibat dalam perkembangan kanker payudara dan potensi target terapi. Jalur terkuat ditunjukkan oleh *EGFR tyrosine kinase inhibitor resistance pathway* yang terdiri dari 4 protein dari 77 total protein dengan kekuatan paling tinggi 1.97 dan penemuan kesalahan paling kecil 1.59e-06. Jalur ini berperan penting dalam mekanisme resistensi obat pada kanker payudara (Guerrab et al., 2016). Selain itu, ditemukan *pathway* lain, seperti *TNF signaling pathway*, dan *JAK-STAT signaling pathway* yang berkontribusi terhadap inflamasi, pertumbuhan tumor, dan penghindaran imun dengan kekuatan masing-masing 1.81 dan 1.66 (Brooks & Putoczki, 2020; Guerrab et al., 2016). *PI3K-Akt signaling pathway* merupakan jalur utama yang mengatur regulasi proliferasi dan kelangsungan hidup sel (Miricescu et al., 2021). Jalur ini terdiri dari 5 protein dari 349 total protein dengan kekuatan 1.41 dan tingkat penemuan kesalahan yang kecil 1.08e-05. Selain *pathway-pathway* yang sudah dijelaskan sebelumnya, hasil *enrichment* menunjukkan *pathway* lain, termasuk apoptosis (*strength* 1.41), *estrogen signaling pathway*, dan *MAPK signaling pathway* yang memiliki peran

dalam tumorigenesis dan regulasi hormonal pada kanker payudara (Brufsky & Dickler, 2018; L. Jiang et al., 2018).

### 5.1.6 Analisis Jalur Persinyalan Kanker Payudara



**Gambar 5.3.** *PI3K-Akt signaling pathway*

*PI3K-Akt signaling pathway* merupakan salah satu jalur intra seluler yang berperan penting dalam metabolisme dan kelangsungan hidup sel kanker, proliferasi, dan pertumbuhan sel kanker (Miricescu et al., 2021). Kombinasi Doxorubicin dan Costunolid menunjukkan potensi sebagai terapi antikanker yang efektif dengan menargetkan jalur persinyalan PI3K/AKT. Doxorubicin adalah agen kemoterapi yang termasuk dalam kelompok antibiotik antrasiklin. Doxorubicin menghambat enzim topoisomerase II, yang penting untuk replikasi DNA, sehingga menyebabkan kerusakan DNA dan memicu apoptosis sel kanker. Selain itu, molekul Doxorubicin berinterkalasi dengan DNA, mengganggu sintesis DNA dan

RNA, yang berkontribusi pada efek sitotoksiknya. Sedangkan costunolid adalah senyawa alami yang ditemukan dalam beberapa tanaman obat, dikenal memiliki aktivitas antikanker. Costunolid dapat mempengaruhi jalur PI3K/AKT dengan menghambat aktivasi protein-protein kunci dalam jalur ini, sehingga mengurangi proliferasi sel kanker dan meningkatkan apoptosis. Dimana dalam sebuah penelitian menunjukkan bahwa kombinasi Costunolid dengan Doxorubicin dapat meningkatkan efek sitotoksik dibandingkan penggunaan masing-masing senyawa secara terpisah. Ini dapat terjadi melalui pengurangan resistensi sel kanker terhadap Doxorubicin (Babichev et al., 2016).

Rangsangan eksternal seperti sitokin pada reseptor membran sel, hormon, dan faktor pertumbuhan menstimulasi aktinya jalur ini. Aktivasi jalur ini terjadi akibat dimerisasi dan autofosforilasi reseptor-reseptor membran sel, seperti reseptor tirosin kinase (RTK), reseptor berpasangan protein G (GPCR), dan reseptor seperti tol (TLR). Fenomena tersebut menciptakan situs *docking* untuk protein adaptor seperti Grb2 dan IRS1 (*insulin receptor substrate 1*), yang mengikat PI3K (*phosphatidylinositol 3-Kinase*) ke membran plasma. Aktivasi ini menimbulkan fosforilasi lipid *fosfatidilinositol* (PI) sehingga mengubah PI(4,5)P<sub>2</sub> menjadi PI(3,4,5)P<sub>3</sub>, yang berperan dalam proses transmisi sel (Epan, 2017).

PI(3,4,5)P<sub>3</sub> mengikat Akt (protein kinase B) dan PDK1 (kinase-1 yang bergantung pada fosfoinositide) ke membran plasma melalui domain homologi pleckstrin (PH). PDK1 memfosforilasi Akt pada Thr308, sedangkan mTORC2 memfosforilasi Akt pada Ser473, sehingga mengaktifkan kinase sepenuhnya. Akt yang diaktifkan berpindah ke berbagai kompartemen seluler dan berperan memfosforilasi beberapa target hilir yang terlibat dalam kelangsungan hidup sel,

metabolisme, dan regulasi pertumbuhan (Epand, 2017). Kaskade ini memastikan bahwa sel merespons dengan tepat terhadap sinyal ekstraseluler, memungkinkan kelangsungan hidup dan pertumbuhan dalam kondisi yang menguntungkan.

Akt berperan penting dalam menstimulasi kelangsungan hidup sel dengan menghambat protein pro-apoptosis seperti faktor transkripsi Bad dan FoxO, serta meningkatkan aktivitas protein anti-apoptosis seperti Bcl-2 dan Bcl-xL (Khezri et al., 2022; Miricescu et al., 2021). Akt juga menghambat jalur pensinyalan p53 dengan memfosforilasi MDM2, yang menyebabkan degradasi p53 dan mencegah apoptosis. Selain itu, Akt mendukung perkembangan siklus sel dengan memfosforilasi dan menonaktifkan GSK3 (*glycogen synthase kinase 3*), menstabilkan siklin D1 dan mempromosikan transisi fase G1/S. Akt menghambat inhibitor CDK (p21 dan p27) dan menstimulasi proliferasi sel (Miricescu et al., 2021).

Akt juga mengatur metabolisme dengan meningkatkan penyerapan glukosa dan sintesis glikogen. Hal ini memfasilitasi translokasi pengangkut glukosa GLUT4 ke membran plasma dan menghambat GSK3 untuk meningkatkan sintesis glikogen. Selain itu, Akt memengaruhi metabolisme lipid dengan mengaktifkan jalur mTOR (target mekanistik rapamycin). mTOR berperan meningkatkan sintesis protein dan pertumbuhan sel dengan memfosforilasi efektor hilir seperti S6K1 dan 4EBP1, yang mengatur aktivitas ribosom dan inisiasi translasi (Miricescu et al., 2021). Regulasi ini mengintegrasikan status energi seluler dengan sinyal pertumbuhan.

Mekanisme umpan balik negatif mengontrol *PI3K-Akt signaling pathway* dengan ketat untuk mencegah aktivasi yang berlebihan (Miricescu et al., 2021). PTEN (*phosphatase and tensin homolog*) adalah regulator utama yang

mendefosforilasi PI(3,4,5)P3 kembali ke PI(4,5)P2, menghambat aktivitas PI3K dan meredam pensinyalan hilir. Demikian pula, PP2A (Protein Phosphatase 2A) mendefosforilasi Akt, mengurangi aktivitasnya dan memastikan dinamika jalur yang terkontrol. Proses regulasi ini sangat penting untuk mempertahankan homeostasis seluler dan mencegah pensinyalan yang menyimpang.

*PI3K-Akt signaling pathway* juga menunjukkan *crosstalk* yang luas dengan kaskade pensinyalan lainnya (Khezri et al., 2022). Jalur ini berinteraksi dengan jalur pensinyalan MAPK, mengaktifkan Raf dan MEK, yang berkontribusi pada proliferasi dan kelangsungan hidup sel. Jalur ini juga mengaktifkan jalur NF- $\kappa$ B, meningkatkan respons inflamasi dan kelangsungan hidup sel. Jalur AMPK memodulasi aktivitas Akt dan mTOR, menghubungkan ketersediaan energi dengan pertumbuhan dan metabolisme sel. Interaksi ini memungkinkan sel untuk mengintegrasikan banyak sinyal dan beradaptasi dengan lingkungan yang berubah.

## **5.2 Uji Aktivitas Antikanker dan Uji Keamanan Metode MTT assay**

Uji aktivitas antikanker terhadap sel kanker payudara (sel T47D) dan uji keamanan kombinasi terhadap sel vero dilakukan dengan menggunakan 2 sampel senyawa yakni senyawa costunolid dan doxorubicin. Kedua senyawa kemudian dilakukan pengkombinasian dengan konsentrasi tertentu. Uji aktivitas antikanker merupakan uji *in vitro* bertujuan mengetahui dan memastikan bahwa terdapat aktivitas sitotoksitas pada bahan uji terhadap sel kanker payudara (T47D) yang dapat dilihat berdasarkan nilai IC<sub>50</sub>. Uji keamanan merupakan uji yang bertujuan mengetahui efek toksik senyawa terhadap sel normal (sel vero) yang dapat dilihat berdasarkan nilai CC<sub>50</sub>. Dalam uji aktivitas antikanker dan keamanan digunakan

metode uji MTT assay. Prinsip kerja dalam uji MTT yakni pengukuran secara kolorimetri berdasarkan adanya pembentukan garam formazan yang tidak larut dan berwarna ungu yang timbul akibat adanya reaksi reduksi tetrazolium yang bersifat larut pada air.

Tahap awal yang dilakukan pada uji aktivitas antikanker dan keamanan adalah dilakukan penyiapan sel. Proses penyiapan sel dimulai dengan mengaktivasi kembali sel yang tidak aktif, kemudian menumbuhkannya hingga mencapai kondisi konfluen. Sel disebut konfluen ketika telah tumbuh secara merata, menempel, dan memenuhi wadah kultur. Media yang digunakan yaitu media RPMI untuk sel kanker (T47D) dan media M199 untuk sel normal (vero). Media digunakan untuk mendukung pertumbuhan sel dalam suspensi dan tumbuh sebagai monolayer. Pada penyiapan sel, sel juga diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C dengan kadar CO<sub>2</sub> 5% agar sel tumbuh dengan optimal. Tahapan selanjutnya adalah pemanenan sel, dimana memiliki prinsip yaitu melepaskan ikatan antar sel dan ikatan antar sel dengan matrik tanpa merusak sel (CCRC, 2009). Proses panen sel dilakukan ketika sel telah konfluen, disebut konfluen yaitu ketika sel tumbuh menempel dan berkembang pada cawan petri. Untuk mengetahui sel telah konfluen dilakukan pengamatan menggunakan mikroskop *inverted*. Setelah diketahui sel konfluen maka media dalam sel T47D dan sel Vero dibuang dan masing-masing sel dilakukan pencucian sebanyak dua kali menggunakan PBS dengan volume setengah dari volume media awal. Pencucian dengan PBS bertujuan untuk menghilangkan sel-sel yang tidak sehat serta menghilangkan serum dalam media yang tertinggal (Saraswati et al., 2020).

Panen sel menunjukkan sel menempel di cawan petri, sehingga untuk memisahkannya ditambahkan tripsin-EDTA (tripsin 0,25 %) sebanyak 3 mL. Dalam proses ini juga dilakukan inkubasi dalam inkubator selama 3 menit. Hal ini dilakukan untuk membiarkan sel berpenetrasi dengan tripsin yang berfungsi sebagai enzim protease dengan kerja utama melepaskan interaksi antara molekul glikoprotein dan peroteoglikan di permukaan flask. Akibatnya sel akan kehilangan kemampuan untuk melekat pada permukaan flask dan terlihat mengapung (Saraswati et al., 2020). Setelah itu, masing-masing sel ditambahkan media kembali sebanyak 5 mL untuk menginaktifkan tripsin. Kemudian sel diambil 10 µl dan dimasukkan ke dalam hemocytometer. Dihitung jumlah sel pada 4 kamar dalam hemocytometer di bawah mikroskop inverted menggunakan counter. Sel yang hidup ditandai dengan tampak bercahaya sedangkan sel yang mati tampak lebih gelap dan tidak bercahaya.

Tahap selanjutnya yaitu pembuatan larutan uji dan seri kadar senyawa costunolid dan doxorubicin untuk uji aktivitas antikanker dengan konsentrasi 200; 100; 50; 25; 12,5; 6,25; 3,125 µg/mL. Seri konsentrasi ini juga dipakai untuk uji keamanan pada sel vero. Setelah konsentrasi larutan uji dibuat, kemudian dimasukkan pada sumuran 96-well plate masing-masing 100 µl. Pada sumuran 96-well plate juga diberi kontrol sel dan kontrol media dengan tidak diberi perlakuan kemudian diinkubasi selama 24 jam dan setelah 24 jam dilakukan pengamatan menggunakan mikroskop inverted. Setelah inkubasi dilakukan tahapan selanjutnya yaitu dengan pemberian reagen MTT sebanyak 100 µl pada masing-masing sumuran 96-well plate dan diinkubasi kembali selama 4 jam. Penambahan reagen MTT dapat memudahkan pengamatan dalam perhitungan sel hidup. Setelah pemberian reagen MTT, sel hidup dan sel mati akan terlihat perbedaannya dimana

sel yang hidup akan membentuk kristal formazan berwarna ungu. Hal ini terjadi karena garam MTT dapat dipecah menjadi formazan oleh sistem succinate tetrazolium reductase yang terdapat pada jalur respirasi sel pada mitokondria yang aktif pada sel hidup. Enzim mitokondria pada sel aktif tersebut yang akan memetabolisme garam tetrazolium sehingga terjadi pemutusan cincin tetrazolium oleh enzim dehidrogenase yang menyebabkan tetrazolium berubah menjadi formazan yang tidak larut dan berwarna ungu (Rachma et al., 2020).

Tahap selanjutnya yaitu pembuatan larutan uji dan seri kadar senyawa costunolid dan doxorubicin untuk uji aktivitas antikanker dengan konsentrasi 200; 100; 50; 25; 12,5; 6,25; 3,125  $\mu\text{g/mL}$ . Seri konsentrasi ini juga dipakai untuk uji keamanan pada sel vero. Setelah konsentrasi larutan uji dibuat, kemudian dimasukkan pada sumuran 96-well plate masing-masing 100  $\mu\text{l}$ . Pada sumuran 96-well plate juga diberi kontrol sel dan kontrol media dengan tidak diberi perlakuan kemudian diinkubasi selama 24 jam dan setelah 24 jam dilakukan pengamatan menggunakan mikroskop *inverted*. Setelah inkubasi dilakukan tahapan selanjutnya yaitu dengan pemberian reagen MTT sebanyak 100  $\mu\text{l}$  pada masing-masing sumuran 96-well plate dan diinkubasi kembali selama 4 jam. Penambahan reagen MTT dapat memudahkan pengamatan dalam perhitungan sel hidup. Setelah pemberian reagen MTT, sel hidup dan sel mati akan terlihat perbedaannya dimana sel yang hidup akan membentuk kristal formazan berwarna ungu. Hal ini terjadi karena garam MTT dapat dipecah menjadi formazan oleh sistem succinate tetrazolium reductase yang terdapat pada jalur respirasi sel pada mitokondria yang aktif pada sel hidup. Enzim mitokondria pada sel aktif tersebut yang akan memetabolisme garam tetrazolium sehingga terjadi pemutusan cincin tetrazolium

oleh enzim dehidrogenase yang menyebabkan tetrazolium berubah menjadi formazan yang tidak larut dan berwarna ungu (Rachma et al., 2020). Perlakuan selanjutnya setelah pemberian reagen MTT yaitu penghentian reaksi MTT dengan penambahan reagen stopper 100µl Sodium Dodecyl Sulfate (SDS) 10% pada tiap sumuran dan disimpan di tempat gelap pada suhu ruang selama 24 jam. Reagen stopper berfungsi untuk menghentikan reaksi enzimatik serta melarutkan garam formazan sehingga kompleks warna ungu bisa ditetapkan secara spektrofotometri dengan ELISA reader pada panjang gelombang 595 nm. Semakin kuat intensitas warna ungu diperoleh absorbansi yang semakin besar. Hal ini menunjukkan bahwa semakin banyak sel yang hidup dan bereaksi dengan garam tetrazolium, sehingga formazan yang terbentuk juga semakin banyak (Rachma et al., 2020). Berdasarkan nilai absorbansi yang diperoleh dilakukan penentuan persen viabilitas. Persentase viabilitas sel ini membantu menentukan sejauh mana efek sitotoksik dari senyawa tersebut terhadap sel. Selanjutnya dari persen viabilitas akan digunakan analisis nilai IC<sub>50</sub> dan CC<sub>50</sub> untuk menentukan nilai SI (selectivity index).

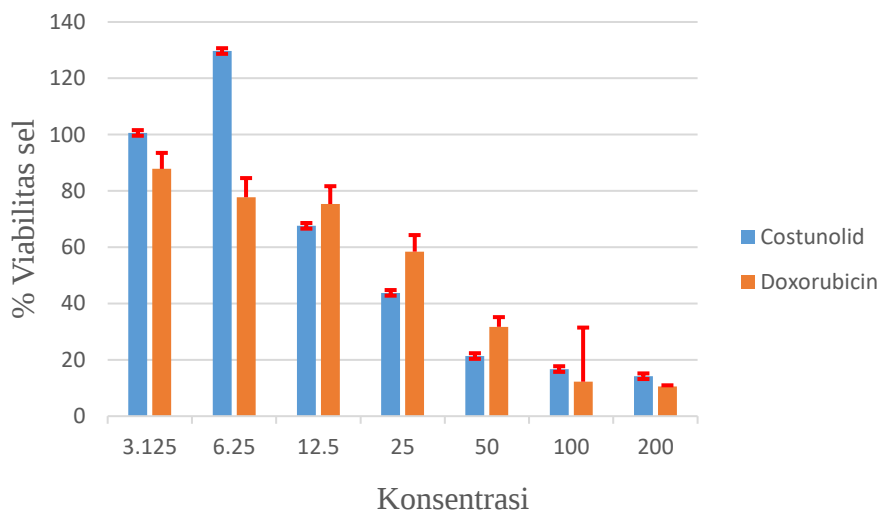
### 5.2.1 Analisis Data pada Sel T47D

Berdasarkan hasil absorbansi menggunakan ELISA reader didapatkan hasil absorbansi yang kemudian di konversikan menjadi persentase (%) viabilitas sel hidup. Viabilitas sel merupakan kemampuan sel untuk hidup dan menjalankan fungsi metabolismenya (Indrayati et al, 2016). Data ini disajikan pada tabel dibawah ini.

**Tabel 5.7** Data % viabilitas sel T47D dengan kontrol perlakuan pemberian Costunolid dan Doxorubicin

| Sampel | Konsentrasi | Rata-rata % Viabilitas ±<br>Simpangan Deviasi | Nilai IC <sub>50</sub><br>(µg/ml) |
|--------|-------------|-----------------------------------------------|-----------------------------------|
|--------|-------------|-----------------------------------------------|-----------------------------------|

|             |       |                |        |
|-------------|-------|----------------|--------|
| Costunolid  | 200   | 33,132 ± 6,981 | 31,936 |
|             | 100   | 49,070 ± 4,451 |        |
|             | 50    | 42,081 ± 5,858 |        |
|             | 25    | 54,852 ± 4,048 |        |
|             | 12,5  | 62,092 ± 6,881 |        |
|             | 6,25  | 70,689 ± 7,694 |        |
|             | 3,125 | 80,694 ± 6,965 |        |
| Doxorubicin | 200   | 6,083 ± 0,544  | 27,39  |
|             | 100   | 7,240 ± 0,713  |        |
|             | 50    | 23,58 ± 11,01  |        |
|             | 25    | 45,95 ± 0,858  |        |
|             | 12,5  | 60,13 ± 1,696  |        |
|             | 6,25  | 62,142 ± 4,017 |        |
|             | 3,125 | 70,639 ± 3,922 |        |



**Gambar 5.4.** Diagram % viabilitas sel pada sel T47D dengan pemberian doxorubicin dan costunolid

Data hasil uji aktivitas antikanker menggunakan metode MTT assay pada Tabel 5.7 menunjukkan bahwa peningkatan dosis costunolid dan doksorubisin memiliki pengaruh tren penurunan viabilitas sel T47D pada berbagai konsentrasi. Costunolid menunjukkan penurunan viabilitas sel secara bertahap seiring dengan meningkatnya konsentrasi, dengan viabilitas sel terendah tercatat pada konsentrasi 200 µg/mL sebesar 33,132 ± 6,981%. Penurunan viabilitas sel ini mengindikasikan kemampuan costunolid untuk menghambat pertumbuhan sel kanker T47D. Di sisi lain, doxorubisin juga menunjukkan pola serupa, dengan viabilitas sel terendah

pada konsentrasi 200 µg/mL sebesar  $6,083 \pm 0,544\%$ , yang menunjukkan efektivitas tinggi dalam menghambat sel T47D. Hal ini konsisten dengan karakteristik doxorubisin sebagai agen kemoterapi yang efektif.

Berdasarkan data persen (%) viabilitas sel, dilakukan perhitungan nilai  $IC_{50}$  untuk menegaskan bahwa sampel costunolid maupun doxorubicin memang memiliki aktivitas antikanker. Kemampuan suatu bahan menghambat 50% sel kanker dinyatakan dengan nilai  $IC_{50}$  dan menjadi parameter sifat sitotoksik bahan tersebut (Nurdiani et al., 2023). Dalam hal ini,  $IC_{50}$  untuk uji aktivitas antikanker dari Costunolid dan doxorubicin dapat dihitung melalui perangkat lunak SPSS versi 20.

Nilai dari  $IC_{50}$  masing masing senyawa dapat terlihat pada tabel diatas, sitotoksisitas dapat dikelompokkan menjadi empat kategori berdasarkan American National Cancer Institute yaitu kategori sangat toksik jika nilai  $IC_{50} \leq 20$  µg/mL, kategori sitotoksik cukup aktif atau moderat jika nilai  $IC_{50}$  21–200 µg/mL, kategori sitotoksik lemah jika nilai  $IC_{50}$  201– 500 µg/mL dan kategori tidak toksik jika nilai  $IC_{50} \geq 500$  µg/mL (Nurdiani et al., 2023). Dengan begitu, dapat diartikan bahwa semakin kecil nilai  $IC_{50}$  yang didapatkan pada suatu senyawa, maka semakin poten senyawa tersebut sebagai antikanker.

Dalam penelitian ini didapatkan nilai  $IC_{50}$  dari costunolid sebesar 31,936 µg/mL dan  $IC_{50}$  dari doxorubicin sebesar 27,39 µg/mL. Berdasarkan pengelompokan  $IC_{50}$ , costunolid menurut *American National Cancer Institute* termasuk kedalam kategori sitotoksik cukup aktif atau moderat karena memiliki nilai  $IC_{50}$  diantara 21-200 µg/mL (Nurdiani et al., 2023). Pada sel T47D, nilai  $IC_{50}$  Costunolide tercatat sebesar 31,936 µg/mL, yang menunjukkan bahwa

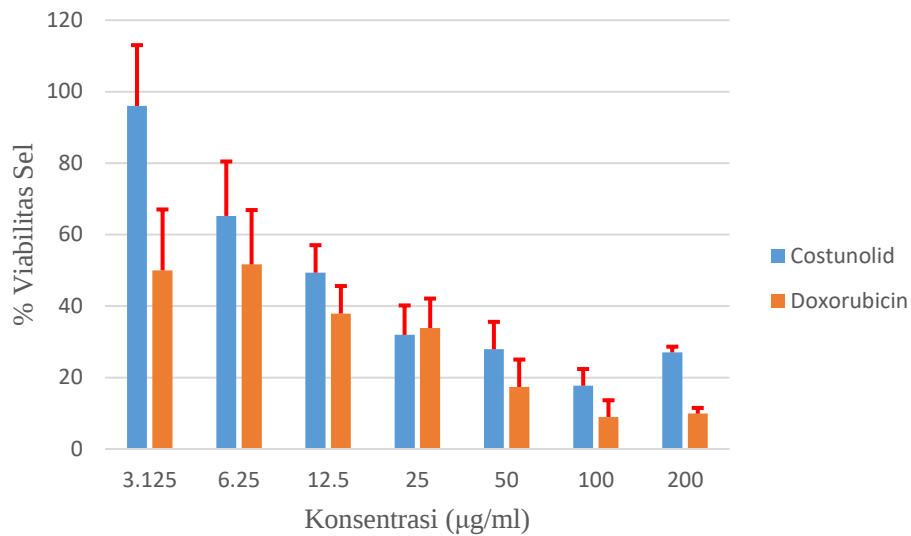
konsentrasi Costunolide yang diperlukan untuk menghambat 50% viabilitas sel kanker lebih tinggi dibandingkan Doxorubicin, dengan  $IC_{50}$  sebesar 27,39  $\mu\text{g/mL}$ . Hal ini mengindikasikan bahwa Doxorubicin memiliki potensi antikanker yang lebih kuat dibandingkan Costunolide pada sel T47D.

### 5.2.2 Analisis Data pada Sel Vero

**Tabel 5.8** Data absorbansi dan % viabilitas sel Vero dengan kontrol perlakuan pemberian Costunolid dan Doxorubicin

| Sampel      | Konsentrasi | Rata-rata % Viabilitas $\pm$ Standar Deviasi | Nilai $CC_{50}$ ( $\mu\text{g/ml}$ ) |
|-------------|-------------|----------------------------------------------|--------------------------------------|
| Costunolid  | 200         | 33,132 $\pm$ 6,981                           | 14,082 $\mu\text{g/ml}$              |
|             | 100         | 49,070 $\pm$ 4,451                           |                                      |
|             | 50          | 42,081 $\pm$ 5,858                           |                                      |
|             | 25          | 54,852 $\pm$ 4,048                           |                                      |
|             | 12,5        | 62,092 $\pm$ 6,881                           |                                      |
|             | 6,25        | 70,689 $\pm$ 7,694                           |                                      |
|             | 3,125       | 80,694 $\pm$ 6,965                           |                                      |
| Doxorubicin | 200         | 6,083 $\pm$ 0,544                            | 4,943 $\mu\text{g/ml}$               |
|             | 100         | 7,240 $\pm$ 0,713                            |                                      |
|             | 50          | 23,58 $\pm$ 11,01                            |                                      |
|             | 25          | 45,95 $\pm$ 0,858                            |                                      |
|             | 12,5        | 60,13 $\pm$ 1,696                            |                                      |
|             | 6,25        | 62,142 $\pm$ 4,017                           |                                      |
|             | 3,125       | 70,639 $\pm$ 3,922                           |                                      |

Berdasarkan hasil absorbansi menggunakan ELISA reader didapatkan hasil persentase (%) viabilitas sel hidup. Viabilitas sel merupakan kemampuan sel untuk hidup dan menjalankan fungsi metabolismenya (Indrayati et al, 2016). Hasil absorbansi dan persentase viabilitas sel Vero untuk Costunolid dan doxorubicin disajikan dalam tabel berikut.



**Gambar 5.5.** Diagram % viabilitas sel pada sel Vero dengan pemberian Doxorubicin dan Costunolide tunggal

Pada grafik sel Vero, terlihat bahwa Costunolide memiliki viabilitas sel yang lebih tinggi pada berbagai konsentrasi dibandingkan Doxorubicin, terutama pada konsentrasi rendah hingga menengah ( $\leq 50 \mu\text{M}$ ). Hal ini menunjukkan bahwa Costunolide lebih aman terhadap sel normal, dengan nilai  $\text{CC}_{50}$  yang lebih tinggi dibandingkan Doxorubicin, yang menunjukkan toksisitas lebih rendah terhadap jaringan sehat. Costunolide berpotensi untuk digunakan sebagai terapi kombinasi dengan Doxorubicin guna meningkatkan efikasi antikanker sekaligus mengurangi efek toksik pada sel normal. Berdasarkan data persen (%) viabilitas sel, dilakukan perhitungan nilai  $\text{CC}_{50}$  untuk uji keamanan dari costunolid dan doxorubicin dapat dihitung menggunakan analisis probit melalui perangkat lunak SPSS versi 20.

### 5.2.3 Analisis Nilai Indeks Selektivitas

Indeks selektivitas memiliki arti bahwa suatu bahan hanya membunuh sel kanker tetapi tidak membunuh sel normal. Indeks selektivitas menunjukkan selektivitas sitotoksik dari ekstrak terhadap sel kanker T47D versus sel normal (sel

vero. Mekanisme ini sangat berbeda dengan cara kerja obat kemoterapi pada umumnya yang menyerang sel kanker, namun juga menyerang sel normal. Akibatnya sel normal ikut rusak dan mati serta menimbulkan berbagai macam efek samping pada pasien (Nurdiani et al., 2023). Menurut Prayong (2008), suatu senyawa dikatakan selektif membunuh sel kanker dibandingkan dengan sel normal apabila memiliki nilai  $SI > 3$  (Rollando & Prilianti, 2017).

**Tabel 5.9** Nilai indeks selektivitas dari Costunolid dan Doxorubicin

| Sampel      | Nilai Indeks Selektivitas | Keterangan     |
|-------------|---------------------------|----------------|
| Costunolid  | <b>0,44</b>               | Tidak selektif |
| Doxorubicin | <b>0,18</b>               | Tidak Selektif |

Berdasarkan perhitungan indeks selektivitas dan hasilnya yang disajikan pada Tabel 5.9 yaitu didapatkan nilai indeks selektivitas pada costunolid dan doxorubicin adalah masing-masing 0,44 dan 0,18. Dengan melihat nilai indeks selektivitas tersebut mengindikasikan bahwa doxorubicin dan costunolid tidak memenuhi kriteria indeks selektivitas karena nilainya tidak memenuhi nilai  $SI > 3$ . Hal ini memiliki arti bahwa costunolid, doxorubicin adalah agen antikanker yang memang dapat membunuh sel kanker namun juga membunuh sel normal.

#### 5.2.4 Analisis Nilai Indeks Kombinasi pada sel T47D

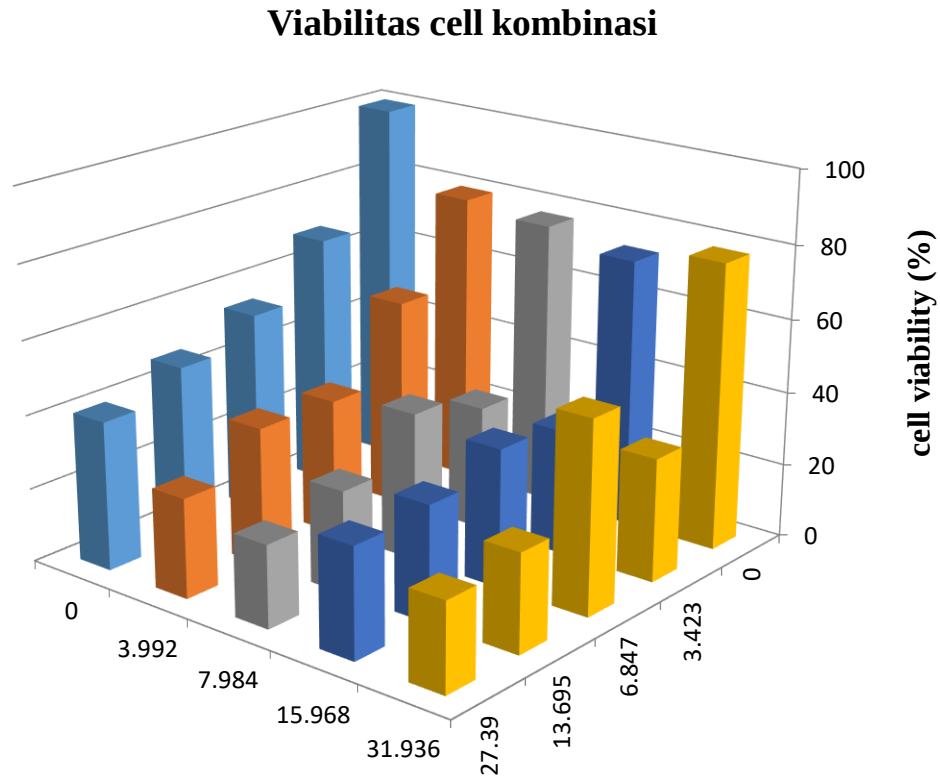
**Tabel 5.10.** Rata – rata persen (%) viabilitas sel pada T47D variasi kombinasi

| Costunolid $\mu\text{g/ml}$        | Doxorubicin 3,423 $\mu\text{g/ml}$ | Doxorubicin 6,847 $\mu\text{g/ml}$ | Doxorubicin 13,695 $\mu\text{g/ml}$ | Doxorubicin 27,39 $\mu\text{g/ml}$ |
|------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|------------------------------------|
| Costunolid 3.992 $\mu\text{g/ml}$  | 56.92                              | 36.89                              | 37.31                               | 26.9                               |
| Costunolid 7.984 $\mu\text{g/ml}$  | 33.7                               | 39.95                              | 27.51                               | 22.3                               |
| Costunolid 15.968 $\mu\text{g/ml}$ | 33.7                               | 37.31                              | 31.25                               | 29.71                              |

|                            |       |       |       |       |
|----------------------------|-------|-------|-------|-------|
| Costunolid 31.936<br>µg/ml | 33.46 | 52.08 | 26.59 | 24.02 |
|----------------------------|-------|-------|-------|-------|

Uji kombinasi dilakukan bertujuan untuk meminimalisir efek samping agen kemoterapi yang digunakan seperti doxorubicin. Dengan dilakukannya pengujian kombinasi senyawa diharapkan didapatkan konsentrasi kombinasi yang baik dan efisien dalam meminimalisir efek samping agen kemoterapi utama dan bekerja sinergis pada kanker serviks. Uji kombinasi dilakukan dengan menggunakan 4 konsentrasi sampel costunolid dan doxorubicin. Konsentrasi yang digunakan yakni  $IC_{50}$ ,  $1/2 IC_{50}$ , dan  $1/4 IC_{50}$ ,  $1/8 IC_{50}$  masing sampel yang kemudian divariasikan. Data yang didapatkan sebelumnya yakni nilai  $IC_{50}$  senyawa tunggal costunolid, dan doxorubicin pada sel T47D. Konsentrasi senyawa costunolid tunggal yang diambil adalah nilai  $IC_{50}$  myricetin yakni 31,936 µg/ml sedangkan konsentrasi doxorubicin yang digunakan adalah nilai  $IC_{50}$  cisplatin yakni 27,39 µg/ml. Terdapat total 14 variasi konsentrasi yang digunakan dalam uji kombinasi. Persentase sel kombinasi ditentukan menggunakan dengan uji MTT yang menghasilkan data absorbansi.

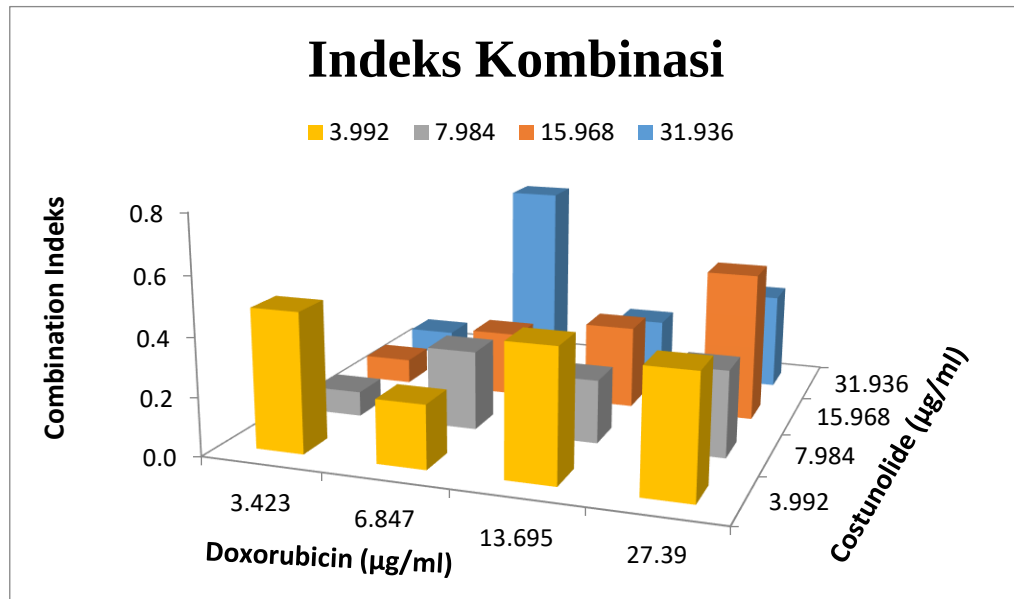
Data absorbansi kombinasi yang kemudian diolah menjadi data %viabilitas tersaji pada Tabel 5.9.



**Gambar 5.6.** Diagram viabilitas sel kombinasi Costunolid dan Doxorubicin pada sel T47D

Viabilitas sel digunakan sebagai dasar dalam perhitungan indeks kombinasi, indeks kombinasi digunakan untuk mengevaluasi kombinasi obat-obatan (Muti'ah, 2014). Nilai indeks kombinasi (CI) adalah ukuran kuantitatif dari tingkat interaksi obat dalam rentang sinergis dan antagonis untuk menentukan titik akhir efek pengukuran tertentu, dimana nilai  $CI < 1$ ,  $= 1$ ,  $> 1$  mengindikasikan efek sinergis, aditif dan antagonis (Rikantara et al., 2022). Dengan begitu, tujuan dari adanya combination index adalah untuk mengevaluasi efek interaksi antara dua atau lebih obat ketika digunakan secara bersamaan, terutama pada terapi kombinasi seperti pengobatan kanker. Adapun data combination index adalah untuk mengevaluasi

efek interaksi antara dua atau lebih obat ketika digunakan secara bersamaan, terutama pada terapi kombinasi seperti pengobatan kanker.



**Gambar 5.7.** Diagram *combination index* antara costunolid dan doxorubicin

**Tabel 5.11.** Hasil Indeks kombinasi costunolid dan doxorubicin

| No | Kombinasi           |                     | CI   | kategori efek        |
|----|---------------------|---------------------|------|----------------------|
|    | Costunolide (µg/ml) | Doxorubicin (µg/ml) |      |                      |
| 1  | 3.992               | 3.423               | 0.48 | sinergis             |
| 2  | 7.984               | 3.423               | 0.09 | sinergis sangat kuat |
| 3  | 15.968              | 3.423               | 0.09 | sinergis sangat kuat |
| 4  | 31.936              | 3.423               | 0.08 | sinergis sangat kuat |
| 5  | 3.992               | 6.847               | 0.22 | sinergis kuat        |
| 6  | 7.984               | 6.847               | 0.27 | sinergis kuat        |
| 7  | 15.968              | 6.847               | 0.22 | sinergis kuat        |
| 8  | 31.936              | 6.847               | 0.67 | Sinergis             |
| 9  | 3.992               | 13.695              | 0.45 | Sinergis             |
| 10 | 7.984               | 13.695              | 0.22 | sinergis kuat        |
| 11 | 15.968              | 13.695              | 0.29 | sinergis kuat        |
| 12 | 31.936              | 13.695              | 0.20 | sinergis kuat        |
| 13 | 3.992               | 27.39               | 0.40 | Sinergis             |
| 14 | 7.984               | 27.39               | 0.29 | sinergis kuat        |
| 15 | 15.968              | 27.39               | 0.51 | Sinergis             |
| 16 | 31.936              | 27.39               | 0.33 | Sinergis             |

Tabel diatas menunjukkan nilai indeks kombinasi yang diperoleh antara costunolid dan doxorubicin dalam berbagai dosis. Kombinasi kedua obat tersebut diteliti sebanyak 16 kombinasi dan didapatkan hasil bahwa semua kombinasi dosis yang digunakan menunjukkan interaksi yang sinergis. Meskipun demikian, tiap kombinasi dosis memiliki tingkat sinergisitas yang berbeda, yang mana terdapat tiga kombinasi dosis yang mengindikasikan tingkat sinergis sangat kuat, tujuh kombinasi menunjukkan tingkat sinergis kuat, dan enam kombinasi sisanya menunjukkan tingkat sinergis. Kombinasi yang menghasilkan efek sinergis sangat kuat, yaitu kombinasi 77,984 µg/mL costunolid + 3,423 µg/mL doxorubicin, 15,986 µg/mL costunolid + 3,423 µg/mL doxorubicin, dan 31,936 µg/mL costunolid + 3,423 µg/mL doxorubicin. Adapun kombinasi terbaik yang dapat direkomendasikan yakni kombinasi dengan konsentrasi Costunolid 7.984 µg/ml, dan doxorubicin 3.423 µg/ml. Kombinasi tersebut merupakan kombinasi yang paling direkomendasikan karena merupakan kombinasi dengan dosis costunolid, dan doxorubicin yang rendah namun, memberikan efek sinergis yang sangat kuat.

#### **5.2.5 Uji Kombinasi Costunolid dan Doxorubicin pada sel Vero**

Uji kombinasi costunolid dan doxorubicin pada sel vero ini dilakukan untuk mengetahui keamanan dari kombinasi costunolid dan doxorubicin terhadap sel vero. Uji kombinasi ini dilakukan setelah didapatkan nilai IC50 dari uji tunggal yang digunakan sebagai pedoman dalam membuat konsentrasi yaitu IC50,  $1/2$  IC50,  $1/4$  IC50, dan  $1/8$  IC50. Dan untuk uji kombinasi myricetin dan doxorubicin terhadap sel vero dipilih konsentrasi dengan kombinasi tertinggi yaitu IC50 doxorubicin dan IC50 costunolid. Jika kombinasi tidak menunjukkan efek toksik berlebihan pada sel

normal pada konsentrasi tinggi, maka penggunaan konsentrasi lebih rendah dianggap lebih aman.

**Tabel 5.12** persen viabilitas sel vero pada kombinasi konsentrasi tertinggi

| Kombinasi                                                                 | % Viabilitas sel |        |        | Rata Rata $\pm$ SD  |
|---------------------------------------------------------------------------|------------------|--------|--------|---------------------|
|                                                                           | 1                | 2      | 3      |                     |
| 27,39 $\mu\text{g/mL}$ Doxorubicin &<br>31,94 $\mu\text{g/mL}$ Costunolid | 54.986           | 35.613 | 56.695 | 49.098 $\pm$ 11.710 |

Berdasarkan tabel 5.12 menunjukkan bahwa persen (%) viabilitas sel dari kombinasi costunolid dan doxorubicin memiliki nilai rata rata persen (%) viabilitas sel sebesar 49.098  $\mu\text{g/mL}$ . Semakin rendah persentase viabilitas sel pada sel Vero, menandakan bahwa sampel tersebut tidak dapat menjadi obat antikanker yang baik karena dapat menimbulkan efek samping pada sel normal (Nurdiani et al., 2023). Hasil viabilitas yang ditunjukkan memiliki arti bahwa pada konsentrasi tertinggi kombinasi costunolid dan doxorubicin menunjukkan efek toksik pada sel normal. Meskipun demikian penggunaan kombinasi dengan konsentrasi yang lebih rendah belum tentu menunjukkan efek toksik pada sel normal. Penggunaan kombinasi pada konsentrasi tertinggi dapat menimbulkan sifat toksik pada sel normal karena konsentrasi yang tinggi dapat menyebabkan penghambatan pertumbuhan sel yang signifikan, yang berpotensi merusak sel normal.

### 5.3 Perspektif Penelitian dalam Islam

Di dalam Al-Qur'an, tidak secara langsung dijelaskan mengenai konsep "*Network* Farmakologi," "Uji Aktivitas Antikanker," dan "Tumbuhan sebagai Obat" secara terang. Akan tetapi, terdapat ayat yang memberikan gambaran bahwasannya Allah swt. telah menumbuhkan berbagai macam tanaman yang baik dan tentunya

memiliki banyak manfaat bagi manusia. Allah Subhanahu wa Ta'ala berfirman dalam QS. Asy-Syu'ara ayat 7 sebagai berikut.

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ۝

*Artinya : “Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh -tumbuhan yang baik?”*

Pada QS. Asy-Syu'ara ayat 7 di atas, Terdapat dua kata yang ditekankan yakni kata zauj, dan kata karīm. Pada surah ini mengartikan bahwa kalimat zauj karīm adalah (pasangan) tumbuh tumbuhan yang baik. Fairuzabadi dalam kamusnya al-Muḥiṭ mengartikan zauj berarti pasangan, lawan dari sendiri, dan pola tersebut disajikan dalam bentuk yang/secara sederhana, dan jenis dari keindahan dan sebagainya (Majruddin, 2003). Menurut Abu Muhammad Ja'far Muhammad bin Jarir al-Ṭabari dalam kitabnya tafsirnya al-Ṭabari menjelaskan bahwa zauj di sini berarti bermacam pasangan tumbuhan yang telah ditumbuhkan oleh Allah setelah bumi itu mati dan tidak ada tumbuhan di dalamnya (Muhammad, 2008). Sedangkan penafsiran dari M. Quraish Shihab sebagaimana yang kita ketahui kitab tafsir al-Misbah kata جوز berarti pasangan. Yang dimaksud dalam ayat ini adalah pasangan tumbuhan, tumbuhan muncul di celah celah hamparan bumi. Dengan demikian tumbuhan juga memiliki pasangan guna pertumbuhan dan perkembangannya. Tumbuhan yang memiliki putik dan benang sari dalam satu tumbuhan, dalam penyerbukannya ia tidak membutuhkan pejantan dari bunga lain, tetap jika hanya memiliki salah satunya saja maka ia membutuhkan penyerbukan dari tumbuhan lain (Shihab, 2002). Dengan demikian makna kata zauj di dalam al-Qur'an yang memiliki makna pasangan itu berbeda-beda dan dapat berubah sesuai

dengan konteks ayatnya. Beberapa di antaranya menunjukkan makna zauj sebagai suami-istri, lawan kata dari sendiri, berpasangan, perkawinan antara jantan-betina, dan lain sebagainya.

Sedangkan pada kata Al – Karim sendiri ada beberapa pengertian kata karīm yang diambil dari beberapa tafsir. Pertama, dalam kitab tafsir al-Qurṭubi kata karīm atau al-karām asal kata dalam bahasa Arab yaitu al-Faḍl (keutamaan). Seperti nakhlah karīmah yang berarti kurma yang unggul yang berbuah banyak atau rajulun karīmun artinya mulia, unggul, dan suka memaafkan. Nabatat al Arḍu dan anbatat memiliki arti yang sama yaitu menumbuhkan (Al-Qurṭubi, 2007). Menurut al-Farrā' karīm sendiri memiliki makna “baik”, dikatakan pula sebagaimana ungkapan tersebut diumpamakan pada pohon kurma “mulialah/indahlah pohon kurma itu apabila muatannya (manfaat) baik, ataupun sebagian besar dicontohkan pada domba betina dan unta betina itu bagus/indah apabila melimpah (gemuk). Al-Farrā' juga mengatakan “dari setiap tumbuhan dan setiap jenisnya” (Yahya, 1955). Sedangkan dalam kitab tafsir Al-Ṭabari al-Karīmu adalah al-Husnu yaitu bagus atau baik. Sebagaimana yang sudah dijelaskan dalam kitab tafsir al Qurṭubi, al-Ṭabari juga mengumpamakan pada kurma yang bagus yang sedang berputik, atau sebagaimana kambing atau unta betina yang subur yang menghasilkan susu yang banyak (Muhammad, 2008) Penjelasan ini berdasarkan penjelasan para ahli takwil. Mereka yang juga berpendapat serupa di antaranya adalah; Muhammad bin Amru, al Qasim, dan al-Hasan.

Dari pandangan para mufassir yang telah dipaparkan sebelumnya, bahwasanya dalam Q.S. al-Syu'arā' [26]: 7 zauj karīm yang dimaksud ialah pasangan tumbuh-tumbuhan yang baik. Pada surah al-Syu'arā' [26]:7 ini yang

dibahas yaitu mengenai pasangan tumbuhan yang baik. Yang dimaksud dengan tumbuhan yang baik yaitu tumbuhan yang tumbuh subur. Seperti yang terdapat dalam Q.S. al-Syūrā [42]: 11 bahwasanya penciptaan makhluk hidup yang berpasangan akan dijadikan-Nya berkembang biak. Dalam Q.S. al-Syu'arā' [26]: 7 kata zauj karīm memiliki arti pasangan tumbuhan yang baik. Zauj berarti pasangan (tumbuh-tumbuhan), yang dimaksud dari pasangan di sini adalah perkawinan atau pertemuan tumbuhan antara alat kelamin jantan (benang sari) dan alat kelamin betina (putik), sedangkan yang dimaksud dengan tumbuhan yang baik (karīm) yaitu tumbuhan yang tumbuh dengan subur dan menghasilkan buah yang lebat.

Allah menciptakan bumi beserta isinya bukan tanpa maksud dan tujuan. Allah mengajak hamba-Nya untuk belajar dari alam bahwa betapa banyaknya Allah tumbuhkan berbagai macam tanaman yang baik dan tentunya memiliki banyak manfaat bagi manusia. Hal tersebut merupakan pertanda atas kekuasaan dan anugerah dari Allah agar hanya Allah saja yang berhak untuk disembah. Tanaman memiliki banyak manfaat bagi manusia yang dapat diteliti dan dimanfaatkan untuk pengembangan pengobatan baru yang bersumber dari tanaman herbal, salah satunya dalam pendekatan pengembangan obat baru sebagai antikanker. Dalam penelitian ini sendiri digunakan ekstrak dari Costunolid yang merupakan sebuah senyawa yang berasal dari tanaman, yang salah satunya adalah *Saussurea Lappa*.

## BAB VI

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 6.1 Kesimpulan

1. Terdapat 11 gen target dari costunolid, dan doxorubicin yang saling berhubungan dengan kanker payudara, diantaranya ABCB1, CCL2, BCL2, PIK3CG, STAT3, JUN, IL6, NOS2, IL2, CXCL8, dan MAPK1.
2. Jalur persinyalan dari kombinasi costunolid dengan doxorubicin terdapat sebanyak 8 jalur persinyalan diantaranya *EGFR tyrosine kinase inhibitor resistance*, *TNF signaling pathway*, *JAK-STAT signaling pathway*, *PI3K-Akt signaling pathway*, *Apoptosis*, *Estrogen signaling pathway*, *Breast cancer*, dan *MAPK signaling pathway*.
3. Doxorubicin dan costunolid memiliki aktivitas antikanker kategori sitotoksik cukup aktif atau moderat yang ditunjukkan dengan nilai  $IC_{50}$  dari doxorubicin sebesar 27,39  $\mu\text{g/mL}$ , dan costunolid sebesar 31,936  $\mu\text{g/mL}$ .
4. Doxorubicin memiliki indeks selektivitas sebesar 0,18 dan costunolid memiliki indeks selektivitas sebesar 0,44 yang menunjukkan bahwa baik costunolid dan doxorubicin tidak selektif.
5. Penggunaan kombinasi costunolid dan doxorubicin bekerja sinergis dalam menghambat perkembangan sel T47D ditunjukkan dengan nilai indeks kombinasi terbaik dengan nilai 0,8 yang didapatkan pada kombinasi costunolid 15,968, dan doxorubicin 3,423.

## **6.2 Saran**

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan terdapat beberapa saran dari penulis untuk pengembangan penelitian selanjutnya yaitu:

1. Data yang diperoleh dapat dijadikan literatur dan dilakukan pengujian lanjutan dalam melakukan pengembangan obat antikanker
2. Melakukan uji aktivitas antikanker kombinasi costunolid dan doxorubicin pada berbagai jenis sel kanker lain, seperti sel kanker paru-paru, kanker serviks, dan kanker kolorektal.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adelina, R. (2022). Kajian Repurposing Drug sebagai Prioritas Metode Pengembangan Obat. *Pharmaceutical and Biomedical Sciences Journal (PBSJ)*, 3(2). <https://doi.org/10.15408/pbsj.v3i2.24345>
- Akhmad, D. M. (2020). Pengukuran kemiripan semantik berbasis graph pada. *Journal of Computer Science and Information Systems*, 2(4), 102–111.
- Alamri, M. A., & Tahir ul Qamar, M. (2023). Network pharmacology based virtual screening of Flavonoids from *Dodonaea angustifolia* and the molecular mechanism against inflammation. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 31(11). <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2023.101802>
- Alifia, N., Fauziah, N., Priani, S. E., & Mulyanti, D. (2022). Kajian Pengembangan Sediaan Nanokapsul Terkonjugasi Asam Folat untuk Penghantaran Tertarget Agen Sitotoksik pada Terapi Kanker. *Bandung Conference Series: Pharmacy*, 2(2), 281–290.
- American Cancer Society. (2017). Cancer Facts and Figures 2017. *Genes and Development*, 21(20), 2525–2538. <https://doi.org/10.1101/gad.1593107>
- American Cancer Society. (2020). Breast Cancer. In *Behavioral Health*. <https://doi.org/10.4324/9780203084632-26>
- Arifah, I. S., Khasanah, K., Lidy, D., Pandapotan, H., Farmasi, J., Matematika, F., Ilmu, D., & Alam, P. (2015). KOMBINASI EKSTRAK TEMU PUTIH (*Curcuma zedoaria*) DAN BAWANG PUTIH (*Allium sativum* L.) TERHADAP AKTIVITAS SEL LIMFOMA DENGAN METODE MTT ASSAY. In *KHAZANAH* (Vol. 7, Issue 2).
- ATCC. (2022). *Gambar Sel T47D*.
- Behranvand, N., Nasri, F., Zolfaghari Enameh, R., Khani, P., Hosseini, A., Garssen, J., & Falak, R. (2022). Chemotherapy: a double-edged sword in cancer treatment. *Cancer Immunology, Immunotherapy*, 71(3), 507–526. <https://doi.org/10.1007/s00262-021-03013-3>
- Blumen, H., Fitch, K., & Polkus, V. (2016). Comparison of treatment costs for breast cancer, by tumor stage and type of service. *American Health and Drug Benefits*, 9(1), 23–31.
- Bouhaddou, M., Eckhardt, M., Chi Naing, Z. Z., Kim, M., Ideker, T., & Krogan, N. J. (2019). Mapping the protein–protein and genetic interactions of cancer to guide precision medicine. In *Current Opinion in Genetics and Development* (Vol. 54). <https://doi.org/10.1016/j.gde.2019.04.005>
- Bray, F., Laversanne, M., Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Soerjomataram, I., & Jemal, A. (2024). Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 74(3), 229–263. <https://doi.org/10.3322/caac.21834>
- Brooks, A. J., & Putoczki, T. (2020). Jak-stat signalling pathway in cancer. In *Cancers* (Vol. 12, Issue 7). <https://doi.org/10.3390/cancers12071971>
- Brufsky, A. M., & Dickler, M. N. (2018). Estrogen Receptor-Positive Breast Cancer: Exploiting Signaling Pathways Implicated in Endocrine Resistance. *The Oncologist*, 23(5). <https://doi.org/10.1634/theoncologist.2017-0423>

- Chen, X., Zhang, T., Su, W., Dou, Z., Zhao, D., Jin, X., Lei, H., Wang, J., Xie, X., Cheng, B., Li, Q., Zhang, H., & Di, C. (2022). Mutant p53 in cancer: from molecular mechanism to therapeutic modulation. *Cell Death and Disease*, 13(11). <https://doi.org/10.1038/s41419-022-05408-1>
- Christstyadi, I. W., Lumadi, W., Pakarbudi, A., Adhi, I. T., & Surabaya, T. (2022). *Perancangan Basis Data Untuk Modul Kemoterapi Pada Sistem E-Tiket Kemoterapi Di RS ABC Surabaya*.
- Christowitz, C., Davis, T., Isaacs, A., Niekerk, G. Van, Hattingh, S., & Engelbrecht, A. (2019). *Mechanisms of doxorubicin-induced drug resistance and drug resistant tumour growth in a murine breast tumour model*. 1–10.
- Cristiandari, E. M. (2018). Uji EFEK EKSTRAK DAN FRAKSINASI DAUN SALUNG (*Psychotria viridiflora* Reinw. Ex. Blume) PADA SEL KANKER PAYUDARA T47D. *JPP ( Jurnal Kesehatan Palembang*, 13(1).
- Droin, N. M., & Green, D. R. (2004). Role of Bcl-2 Family Members in Immunity and Disease. *Biochimica*, 1644, 179–188. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2003.10.011>
- Dwitiyanti, D. (2015). Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.) sebagai Antikanker Payudara. *Pharmaceutical Sciences and Research*, 2(2), 79–88. <https://doi.org/10.7454/psr.v2i2.3323>
- Epand, R. M. (2017). Features of the Phosphatidylinositol Cycle and its Role in Signal Transduction. *Journal of Membrane Biology*, 250(4). <https://doi.org/10.1007/s00232-016-9909-y>
- Esquivel-Velázquez, M., Ostoa-Saloma, P., Palacios-Arreola, M. I., Nava-Castro, K. E., Castro, J. I., & Morales-Montor, J. (2015). The role of cytokines in breast cancer development and progression. In *Journal of Interferon and Cytokine Research* (Vol. 35, Issue 1). <https://doi.org/10.1089/jir.2014.0026>
- Fu, D., Wu, D., Cheng, W., Gao, J., Zhang, Z., Ge, J., Zhou, W., & Xu, Z. (2020). Costunolide Induces Autophagy and Apoptosis by Activating ROS/MAPK Signaling Pathways in Renal Cell Carcinoma. *Frontiers in Oncology*, 10(October), 1–12. <https://doi.org/10.3389/fonc.2020.582273>
- Gaudet, P., Škunca, N., Hu, J. C., & Dessimoz, C. (2017). Primer on the gene ontology. In *Methods in Molecular Biology* (Vol. 1446, pp. 25–37). Humana Press Inc. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3743-1\\_3](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3743-1_3)
- Ghasemi, M., Turnbull, T., Sebastian, S., & Kempson, I. (2021). The mtt assay: Utility, limitations, pitfalls, and interpretation in bulk and single-cell analysis. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(23). <https://doi.org/10.3390/ijms222312827>
- Guerrab, A. El, Bamdad, M., Kwiatkowski, F., Bignon, Y. J., Penault-Llorca, F., & Aubel, C. (2016). Anti-EGFR monoclonal antibodies and EGFR tyrosine kinase inhibitors as combination therapy for triple-negative breast cancer. *Oncotarget*, 7(45). <https://doi.org/10.18632/oncotarget.12037>
- Ha, H., Debnath, B., & Neamati, N. (2017). Role of the CXCL8-CXCR1 / 2 Axis in Cancer and Inflammatory Diseases. *Theranostics*, 7(6), 1543–1588. <https://doi.org/10.7150/thno.15625>
- Hanifah, Z. N., & Da'i, M. (2022). Uji AKTIVITAS SITOTOKSIK KOMBINASI DOKSORUBISIN DAN EKSTRAK ETANOL DAUN KEMANGI (*Ocimum sanctum* L.) TERHADAP SEL MCF-7. *Usadha: Journal of Pharmacy*, 1(3),

322–331.

- Harahap, W. A. (2015). Pembedahan Pada Tumor Ganas Payudara. In *Majalah Kedokteran Andalas* (Vol. 38).
- Hiatt, R. A., Engmann, N. J., Balke, K., & Rehkopf, D. H. (2020). A complex systems model of breast cancer etiology: The paradigm II conceptual model. *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention*, 29(9), 1720–1730. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-20-0016>
- Huang, B., Lang, X., & Li, X. (2022). The role of IL-6/JAK2/STAT3 signaling pathway in cancers. In *Frontiers in Oncology* (Vol. 12). <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.1023177>
- Hudaini, F., Santosa, B., & Kartika, A. I. (2020). Variasi Waktu Pembacaan Setelah Stop Solution Terhadap Nilai Absorbansi Anti Hbs Metode Elisa Article Info ABSTRACT. *Jurnal Analis Medika Biosains (JAMBS)*, 7(2), 107–111.
- Information, N. C. for B. (2024). *PubChem Compound Summary for CID 31703, Doxorubicin*.
- Irawan, E., Hayati, S., & Purwaningsih, D. (2017). Hubungan Dukungan Keluarga Dengan Kualitas Hidup Penderita Kanker Payudara. *Jurnal Keperawatan BSI*, 2.
- Januškevičienė, I., & Petrikaitė, V. (2019). Heterogeneity of breast cancer: The importance of interaction between different tumor cell populations. In *Life Sciences* (Vol. 239). <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2019.117009>
- Jiang, L., Wang, Y., Liu, G., Liu, H., Zhu, F., Ji, H., & Li, B. (2018). C-Phycocyanin exerts anti-cancer effects via the MAPK signaling pathway in MDA-MB-231 cells. *Cancer Cell International*, 18(1). <https://doi.org/10.1186/s12935-018-0511-5>
- Jiang, X., & Shapiro, D. J. (2014). The immune system and inflammation in breast cancer. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 382(1). <https://doi.org/10.1016/j.mce.2013.06.003>
- Kanehisa, M., Furumichi, M., Sato, Y., Kawashima, M., & Ishiguro-Watanabe, M. (2023). KEGG for taxonomy-based analysis of pathways and genomes. *Nucleic Acids Research*, 51(D1), D587–D592. <https://doi.org/10.1093/nar/gkac963>
- Kciuk, M., Gielecińska, A., Mujwar, S., Kołat, D., Kałuzińska-Kołat, Ż., Celik, I., & Kontek, R. (2023). Doxorubicin—An Agent with Multiple Mechanisms of Anticancer Activity. *Cells*, 12(4), 26–32. <https://doi.org/10.3390/cells12040659>
- Khalidah, A. R. (2020). Literature Review: Mekanisme Resistensi Kemoterapi Berbasis Platinum Literature Review: Mechanism Resistance of Platinum-Based Chemotherapy. *Jurnal Kesehatan*, 11(1), 151–157. <http://ejurnal.poltekkes-tjk.ac.id/index.php/JK>
- Khumairoh, I., & Puspitasari, I. M. (2016). *Farmaka KULTUR SEL*.
- Khezri, M. R., Jafari, R., Yousefi, K., & Zolbanin, N. M. (2022). The PI3K/AKT signaling pathway in cancer: Molecular mechanisms and possible therapeutic interventions. In *Experimental and Molecular Pathology* (Vol. 127). <https://doi.org/10.1016/j.yexmp.2022.104787>
- Kitamura, H., Ohno, Y., Toyoshima, Y., Ohtake, J., Homma, S., Kawamura, H., Takahashi, N., & Taketomi, A. (2017). Interleukin-6/STAT3 signaling as a

- promising target to improve the efficacy of cancer immunotherapy. In *Cancer Science* (Vol. 108, Issue 10). <https://doi.org/10.1111/cas.13332>
- Kim, D. Y., & Choi, B. Y. (2019a). Costunolide—A Bioactive Sesquiterpene Lactone with Diverse Therapeutic Potential. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(12), 2926. <https://doi.org/10.3390/ijms20122926>
- Kim, D. Y., & Choi, B. Y. (2019b). *Costunolide — A Bioactive Sesquiterpene Lactone with Diverse Therapeutic Potential*.
- Liambo, I. S., Frisitionhady, A., Malaka, M. H., & Kendari, M. (2022). Review: Patofisiologi, Epidemiologi, dan Lini Sel Kanker Payudara Review: Pathophysiology, Epidemiology, and Cell Line of Breast Cancer. *Jurnal Farmasi, Sains, Dan Kesehatan*, 8(1), 17–22. <https://doi.org/10.33772/pharmauho.v8i>
- Lin, X., Peng, Z., & Su, C. (2015). Potential anti-cancer activities and mechanisms of costunolide and dehydrocostuslactone. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(5), 10888–10906. <https://doi.org/10.3390/ijms160510888>
- Mahardika, A. B., Wahyuono, S., Sri, M., Wahyuningsih, H., Mahasiswa, A., Farmasi, F., & Kedokteran, F. (2016). SITOTOKSISITAS SENYAWA HASIL ISOLASI DAUN TITHONIA DIVERSIFOLIA (HEMSLEY) A. GRAY) TERHADAP SEL T47D, MCF7 DAN EVSA-T SITOTOXICITY OF COMPOUND ISOLATED FROM THE LEAVES OF TITHONIA DIVERSIFOLIA (HEMSLEY) A.GRAY) AGAINST T47D, MCF-7 AND EVSA-T CELLS. In *Majalah Farmaseutik* (Vol. 12, Issue 2).
- Maryam, S., Suhaenah, A., & Amrullah, N. F. (2020). *UJI AKTIVITAS PENGHAMBATAN ENZIM  $\alpha$ -GLUKOSIDASE EKSTRAK ETANOL BIJI BUAH ALPUKAT SANGRAI (Persea americana Mill.) SECARA IN VITRO* (Vol. 12, Issue 1).
- Morton Cuthrell, K., & Tzenios, N. (2023). Breast Cancer: Updated and DeepInsights. *International Research Journal of Oncology*, 6(1), 104–118. <https://www.sdiarticle5.com/review-history/100349>
- Miricescu, D., Totan, A., Stanescu-Spinu, I. I., Badoiu, S. C., Stefani, C., & Greabu, M. (2021). PI3K/AKT/mTOR signaling pathway in breast cancer: From molecular landscape to clinical aspects. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 22, Issue 1). <https://doi.org/10.3390/ijms22010173>
- Mutiah, R., Sukardiman, Milliana, A., Rahmawati, E., Fitrianiingsih, A. A., & Yueniwati, Y. (2023). Network Pharmacology, Apoptosis, and Cell Cycle Inhibition of Sesquiterpene Compounds From Qusthul Hindi Root Extract (Saussurea Lappa) in Breast Cancer: an in Silico and in Vitro Approach. *International Journal of Applied Pharmaceutics*, 15(6), 132–141. <https://doi.org/10.22159/ijap.2023v15i6.48798>
- Mutiah, R., Suryadinata, A., Nurani, S., Farmasi, D., Kedokteran, F., Kesehatan, I., Maulana, U., & Ibrahim, M. (2018). UJI SITOTOKSIK KOMBINASI CISPLATIN DENGAN EKSTRAK ETANOL BENALU ALPUKAT (Dendrophthoe pentandra (L) Miq.) PADA SEL HELA CYTOTOXIC EVALUATION OF CISPLATIN IN COMBINATION WITH ETHANOLIC EXTRACT OF AVOCADO PARASITE (Dendrophthoe pentandra (L) Miq.) AGAINST H. In *Majalah Kesehatan* (Vol. 5, Issue 3).
- Nadeau, R., Byvsheva, A., & Lavallée-Adam, M. (2021). PIGNON: a protein–protein interaction-guided functional enrichment analysis for quantitative

- proteomics. *BMC Bioinformatics*, 22(1). <https://doi.org/10.1186/s12859-021-04042-6>
- Nafi'ah, S., & Kurniawati, R. (2020). KEGUNAAN DAUN SIRSAK (*Annona Muricata* L) UNTUK MEMBUNUH SEL KANKER dan PENGANTI KEMOTERAPI. *Jurnal Ilmiah Keperawatan Dan Kesehatan Alkautsar*, 4(1), 9–15.
- Naoki, O., Arihiro, K., Toshiyuki, Y., Noriko, H., Fumio, K., Suyoshi, S., Makoto, K., Kentaro, H., & Hattori, M. (2014). The genome landscape of the African Green Monkey kidney-derived vero cell line. *DNA Research*, 21(6), 673–683. <https://doi.org/10.1093/dnares/dsu029>
- Nurani, L. H. (2012). *UJI SITOTOKSITAS DAN ANTIPROLIFERATIF SEL KANKER PAYUDARA T47D DAN SEL VERO BIJI Nigella sativa, L. CYTOTOXICITY AND ANTIPROLIFERATIVE TEST ON T47D AND VERO CELL LINES OF Nigella sativa, L SEED.*
- Nurhayati, N., & Mulyaningsih, N. N. (2020). Penerapan Radioterapi Pada Pengobatan Kanker Payudara. *Schrodinger Jurnal Ilmiah Mahasiswa Pendidikan Fisika*, 1(2), 88–94. <https://doi.org/10.30998/sch.v1i2.3137>
- Nurjayanti, I. (2019). DUKUNGAN KELUARGA PADA PASIEN KANKER PAYUDARA DENGAN KEMOTERAPI DI RUMAH SAKIT PKU MUHAMMADIYAH YOGYAKARTA. In *Nursing of Journal STIKES Insan Cendekia Medika Jombang* (Vol. 17, Issue 1).
- Parwata, I. M. O. A. (2014). Kanker dan antikanker. In *Jurnal Universitas Udayana* (Issue April).
- Piero, J., Rosinach, N., Bravo, A., Pons, J., Mehren, A., Baron, M., Sans, F., & Furlong, L. (2015). DisGeNET: a discovery platform for the dynamical exploration of human diseases and their genes. *Journal of Biological Database and Curation*, 1–17. <https://doi.org/10.1093/database/bav028>
- Piñero, J., Ramírez-Angueta, J. M., Saüch-Pitarch, J., Ronzano, F., Centeno, E., Sanz, F., & Furlong, L. I. (2020). The DisGeNET knowledge platform for disease genomics: 2019 update. *Nucleic Acids Research*, 48(D1), D845–D855. <https://doi.org/10.1093/nar/gkz1021>
- Pitoli, C., Wang, Y., Mancini, M., Shi, Y., Melino, G., & Amelio, I. (2019). Do Mutations Turn p53 Into an Oncogene? *International Journal of Molecular Sciences*, 20, 1–18.
- Qomariasih, N., Susetyo, B., & Afendi, F. M. (2016). Analisis Gerombol Simultan dan Jejaring Farmakologi antara Senyawa dengan Protein Target pada Penentuan Senyawa Aktif Jamu Anti Diabetes Tipe 2. *Jurnal Jamu Indonesia*, 1, 30–40.
- Rafli, R., Abdullah, D., & Sinulingga, B. Y. (2021). Gambaran Efek Samping dan Terapi Suportif Pasien Kanker Payudara Pasca Kemoterapi CAF di RSUP M. Djamil Padang. *Baiturrahmah Medical Journal*, 1(1), 8–13.
- Rahmawati, E., & Muti, A. F. (2013). AKTIVITAS ANTIKANKER EKSTRAK n-HEKSANA DAN EKSTRAK METANOL HERBA PACAR AIR ( *Impatiens balsamina* Linn ) TERHADAP SEL KANKER PAYUDARA T47D THE ANTICANCER ACTIVITY IN n-HEXANE AND METHANOL EXTRACTS OF *Impatiens balsamina* Linn HERBS AGAINST BREAST CANCER CEL. *Jurnal Ilmu Farmasi*, 10, 47–55.
- Rao, V. S., Srinivas, K., Sujini, G. N., & Kumar, G. N. S. (2014). Protein-Protein

- Interaction Detection: Methods and Analysis. *International Journal of Proteomics*. <https://doi.org/10.1155/2014/147648>
- Rasul, A., Parveen, S., & Ma, T. (2012). Costunolide: A novel anti-cancer sesquiterpene lactone. *Bangladesh Journal of Pharmacology*, 7(1), 6–13. <https://doi.org/10.3329/bjp.v7i1.10066>
- Renggana, H., Sadino, A., Susanti, R., & Sujana, D. (2022). SITOTOKSISITAS EKSTRAK ETANOL DAN FRAKSI-FRAKSI DAUN PEPAYA (*Carica papaya* L.) TERHADAP SEL KANKER PROSTAT DU 145 DENGAN METODE MTT ASSAY CYTOTOXICITY OF ETHANOL EXTRACT AND FRACTION PAPAYA LEAF (*Carica papaya* L.) ON PROSTATE CANCER CELLS DU 145 USING MTT. In *Medical Sains : Jurnal Ilmiah Kefarmasian* (Vol. 7, Issue 2).
- Rizka, A., Akbar, M. K., & Putri, N. A. (2022). CARCINOMA MAMMAE SINISTRA T4bN2M1 METASTASIS PLEURA. *AVERROUS: Jurnal Kedokteran Dan Kesehatan Malikussaleh*, 8(1), 23. <https://doi.org/10.29103/averrous.v8i1.7006>
- Rollando, & Prilianti, K. R. (2017). FRAKSI ETIL ASETAT KULIT BATANG FALOK (Sterculia quadrifida R.Br ) MENGINDUKSI APOPTOSIS DAN SIKLUS SEL PADA SEL KANKER PAYUDARA T47D. *JURNAL FARMASI SAINS DAN KOMUNITAS*, 14(1), 1–14.
- Safran, M., Dalah, I., Alexander, J., Rosen, N., Iny Stein, T., Shmoish, M., Nativ, N., Bahir, I., Doniger, T., Krug, H., Sirota-Madi, A., Olender, T., Golan, Y., Stelzer, G., Harel, A., & Lancet, D. (2010). GeneCards Version 3: the human gene integrator. *Database : The Journal of Biological Databases and Curation*, 2010. <https://doi.org/10.1093/database/baq020>
- Sakle, N. S., More, S. A., & Mokale, S. N. (2020). A network pharmacology - based approach to explore potential targets of *Caesalpinia pulcherima* : an updated prototype in drug discovery. *Scientific Reports*, 10(1), 1–17. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-74251-1>
- Saputra Liambo, I., Frisitionady, A., Hajrul Malaka, M., Farmasi Rumah Sakit Jiwa Provinsi Sulawesi Tenggara, I., Sutomo No, J., Farmasi Universitas Halu Oleo, F., & Hijau Bumi Tridharma Anduonohu Jl E A Mokodompit Kendari, K. H. (2022). Review: Patofisiologi, Epidemiologi, dan Lini Sel Kanker Payudara Review: Pathophysiology, Epidemiology, and Cell Line of Breast Cancer. *Pharmauho: Jurnal Farmasi*, 8(1). <https://doi.org/10.33772/pharmauho.v8i>
- Sari, P., Sayuti, S., Ridwan, M., Rekiaddin, L. O., & Anisa, A. (2020). Hubungan antara Pengetahuan dan Dukungan Tenaga Kesehatan dengan Perilaku Pemeriksaan Payudara Sendiri (SADARI) pada Wanita Pasangan Usia Subur (PUS). *Perilaku Dan Promosi Kesehatan: Indonesian Journal of Health Promotion and Behavior*, 2(2), 31. <https://doi.org/10.47034/ppk.v2i2.4132>
- Sebayang, A. N. O. (2019). EFEK KARDIOTOKSIK OBAT KEMOTERAPI DOXORUBICIN. *JMKI: Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kedokteran Indonesia*, 7(1), 1–5.
- Shi, X., Wang, J., Lei, Y. U., Cong, C., Tan, D., & Zhou, X. (2019). *Research progress on the PI3K / AKT signaling pathway in gynecological cancer ( Review )*. <https://doi.org/10.3892/mmr.2019.10121>
- Sritharan, S., & Sivalingam, N. (2021). A comprehensive review on time-tested anticancer drug doxorubicin. *Life Sciences*, 278(April), 119527.

<https://doi.org/10.1016/j.lfs.2021.119527>

- Stelzer, G., Rosen, N., Plaschkes, I., Zimmerman, S., Mazor, Y., Kaplan, S., Dahary, D., & Warshawsky, D. (2016). *The GeneCards Suite : From Gene Data Mining to Disease Genome Sequence The GeneCards Suite : From Gene Data Mining to Disease Genome Sequence*. June. <https://doi.org/10.1002/cpbi.5>
- Suanjaya, M. A., & Utami, S. (2021). Prevalence and Characteristics of Breast Cancer Patients in Mataram City for the 2015-2020 Period. *Jurnal Aisyah : Jurnal Ilmu Kesehatan*, 6(2), 403–408. <https://doi.org/10.30604/jika.v6i2.958>
- Sun, Y. S., Zhao, Z., Yang, Z. N., Xu, F., Lu, H. J., Zhu, Z. Y., Shi, W., Jiang, J., Yao, P. P., & Zhu, H. P. (2017). Risk factors and preventions of breast cancer. In *International Journal of Biological Sciences* (Vol. 13, Issue 11, pp. 1387–1397). Ivyspring International Publisher. <https://doi.org/10.7150/ijbs.21635>
- Syahidah, H. N., & Hadisaputri, Y. E. (2016). *REVIEW ARTIKEL: MEDIA YANG DIGUNAKAN PADA KULTUR SEL*.
- Szklarczyk, D., Gable, A. L., Lyon, D., Junge, A., Wyder, S., Huerta-cepas, J., Simonovic, M., Doncheva, N. T., Morris, J. H., Bork, P., Jensen, L. J., & Mering, C. Von. (2019). STRING v11 : protein – protein association networks with increased coverage , supporting functional discovery in genome-wide experimental datasets. *Nucleic Acids Research*, 47(November 2018), 607–613. <https://doi.org/10.1093/nar/gky1131>
- Szklarczyk, D., Kirsch, R., Koutrouli, M., Nastou, K., Mehryary, F., Hachilif, R., Gable, A. L., Fang, T., Doncheva, N. T., Pyysalo, S., Bork, P., Jensen, L. J., & Von Mering, C. (2023). The STRING database in 2023: protein-protein association networks and functional enrichment analyses for any sequenced genome of interest. *Nucleic Acids Research*, 51(1 D), D638–D646. <https://doi.org/10.1093/nar/gkac1000>
- Tacar, O., Sriamornsak, P., & Dass, C. R. (2013). Doxorubicin: an update on anticancer molecular action, toxicity and novel drug delivery systems. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 157–170. <https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.2012.01567.x>
- Thorn, C. F., Oshiro, C., Marsh, S., Hernandez-Boussard, T., McLeod, H., Klein, T. E., & Altman, R. B. (2011). Doxorubicin pathways: Pharmacodynamics and adverse effects. *Pharmacogenetics and Genomics*, 21(7), 440–446. <https://doi.org/10.1097/FPC.0b013e32833ffb56>
- Thomas, P. D. (2017). The gene ontology and the meaning of biological function. *The Gene Ontology Handbook*, 15–24.
- Tolomeo, M., & Cascio, A. (2021). The multifaced role of stat3 in cancer and its implication for anticancer therapy. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 22, Issue 2). <https://doi.org/10.3390/ijms22020603>
- Wei, M., Li, J., Qiu, J., Yan, Y., Wang, H., Wu, Z., Liu, Y., Shen, X., Su, C., Guo, Q., Pan, Y., Zhang, P., & Zhang, J. (2020). Costunolide induces apoptosis and inhibits migration and invasion in H1299 lung cancer cells. *Oncology Reports*, 43(6), 1986–1994. <https://doi.org/10.3892/or.2020.7566>
- Wells, B. G., Schwinghammer, T. L., & DiPiro, J. T. (2015). PHARMACOTHERAPY HANDBOOK. In *Laser Focus World* (Vol. 44, Issue 8). McGraw-Hill Education.
- Widiyastuti, Y., Marfuatush Sholikhah, I. Y., & Haryanti, S. (2019). Efek

- Sitotoksik Formula Jamu Daun Sirsak, Buah Takokak, dan Umbi Bidara Upas terhadap Sel Kanker Payudara MCF-7. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*, 9(2), 140–149. <https://doi.org/10.22435/jki.v9i2.1049>
- Wijaya, C. A., & Muchtaridi, M. (2017). Pengobatan Kanker Melalui Metode Gen Terapi. *Jurnal Universitas Padjadjaran*, 15(1), 53.
- Wijayanto, T., & Sari, M. Y. (2018). *HEALTH EDUCATION ON THE LEVEL OF PREOPERATIVE ANXIETY IN PATIENTS WITH BREAST CANCER*. 3(1).
- Xiao, J., Gong, Y., Chen, Y., Yu, D., Wang, X., Zhang, X., Dou, Y., Liu, D., Cheng, G., Lu, S., Yuan, W., Li, Y., & Zhao, Z. (2017). IL-6 promotes epithelial-to-mesenchymal transition of human peritoneal mesothelial cells possibly through the JAK2/STAT3 signaling pathway. *Journals Physiology*, 310–318. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00428.2016>
- Yi, F., Li, L., Xu, L. jia, Meng, H., Dong, Y. mao, Liu, H. bo, & Xiao, P. gen. (2018). In silico approach in reveal traditional medicine plants pharmacological material basis. *Chinese Medicine (United Kingdom)*, 13(1), 1–20. <https://doi.org/10.1186/s13020-018-0190-0>

## LAMPIRAN

**Lampiran 1.** Perhitungan % viabilitas sel hidup pada sel T47D dengan perlakuan pemberian Costunolid

$$Visabilitas\ sel = \frac{Absorbansi\ perlakuan - Absorbansi\ kontrol\ media}{Absorbansi\ kontrol\ sel - Absorbansi\ kontrol\ media} \times 100\%$$

### Absorbansi kontrol sel

| Ulangan 1 | Ulangan 2 | Ulangan 3 | Rata Rata |
|-----------|-----------|-----------|-----------|
| 0.864     | 0.582     | 0.865     | 0.770     |

### Absorbansi kontrol media

| Ulangan 1 | Ulangan 2 | Ulangan 3 | Rata Rata |
|-----------|-----------|-----------|-----------|
| 0.208     | 0.217     | 0.219     | 0.214     |

### Data absorbansi dan viabilitas sel T47D pada Pemberian Costunolid

| Konsentrasi | Absorbansi |       |       | R1     | R2     | R3     | Rata -<br>Rata | SD    |
|-------------|------------|-------|-------|--------|--------|--------|----------------|-------|
| 200         | 0.337      | 0.264 | 0.294 | 20.755 | 9.418  | 14.277 | 14.817         | 5.688 |
| 100         | 0.296      | 0.357 | 0.277 | 14.637 | 24.355 | 11.217 | 16.736         | 6.815 |
| 50          | 0.358      | 0.293 | 0.349 | 25.794 | 14.097 | 24.175 | 21.355         | 6.338 |
| 25          | 0.453      | 0.428 | 0.493 | 42.891 | 38.392 | 50.089 | 43.791         | 5.900 |

|       |           |           |           |             |             |             |         |        |
|-------|-----------|-----------|-----------|-------------|-------------|-------------|---------|--------|
| 12,5  | 0.60<br>8 | 0.57      | 0.59<br>3 | 70.785      | 63.947      | 68.086      | 67.606  | 3.444  |
| 6,25  | 1         | 0.99<br>4 | 0.81<br>2 | 141.33<br>1 | 140.25<br>1 | 107.49<br>8 | 129.694 | 19.229 |
| 3,125 | 0.77<br>6 | 0.77<br>3 | 0.77<br>2 | 101.01<br>9 | 100.47<br>9 | 100.29<br>9 | 100.599 | 0.374  |

### Perhitungan viabilitas sel hidup pada sel Vero

#### 1. Konsentrasi 200 µg/ml Costunolid

$$\begin{aligned}
 - \text{ Viabilitas sel (\%) R1} &= \frac{0.33 - 0.214}{0.770 - 0.214} \times 100 \% \\
 &= 20.755 \%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 - \text{ Viabilitas sel (\%) R2} &= \frac{0.267 - 0.214}{0.770 - 0.214} \times 100 \% \\
 &= 9.418 \%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 - \text{ Viabilitas sel (\%) R3} &= \frac{0.294 - 0.214}{0.770 - 0.214} \times 100 \% \\
 &= 14.277\%
 \end{aligned}$$

#### 2. Konsentrasi 100 µg/ml Costunolid

$$\begin{aligned}
 - \text{ Viabilitas sel (\%) R1} &= \frac{0.296 - 0.214}{0.770 - 0.214} \times 100 \% \\
 &= 14.637 \%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 - \text{ Viabilitas sel (\%) R2} &= \frac{0.35 - 0.214}{0.770 - 0.214} \times 100 \% \\
 &= 24.355 \%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 - \text{ Viabilitas sel (\%) R3} &= \frac{0.277 - 0.214}{0.770 - 0.214} \times 100 \% \\
 &= 11.217\%
 \end{aligned}$$

#### 3. Konsentrasi 50 µg/ml Costunolid

$$\begin{aligned}
 - \text{ Viabilitas sel (\%) R1} &= \frac{0.358 - 0.214}{0.770 - 0.214} \times 100 \% \\
 &= 25.794 \%
 \end{aligned}$$

- Viabilitas sel (%) R2  $= \frac{0.293 - 0.214}{0.770 - 0.214} \times 100 \%$   
= 14.097 %
- Viabilitas sel (%) R3  $= \frac{0.349 - 0.214}{0.770 - 0.214} \times 100 \%$   
= 24.175 %

#### 4. Konsentrasi 25 µg/ml Costunolid

- Viabilitas sel (%) R1  $= \frac{0.453 - 0.214}{0.770 - 0.214} \times 100 \%$   
= 42.891 %
- Viabilitas sel (%) R2  $= \frac{0.428 - 0.214}{0.770 - 0.214} \times 100 \%$   
= 38.392 %
- Viabilitas sel (%) R3  $= \frac{0.493 - 0.214}{0.770 - 0.214} \times 100 \%$   
= 50.089 %

#### 5. Konsentrasi 12,5 µg/ml Costunolid

- Viabilitas sel (%) R1  $= \frac{0.608 - 0.214}{0.770 - 0.214} \times 100 \%$   
= 70.785 %
- Viabilitas sel (%) R2  $= \frac{0.57 - 0.214}{0.770 - 0.214} \times 100 \%$   
= 63.947 %
- Viabilitas sel (%) R3  $= \frac{0.593 - 0.214}{0.770 - 0.214} \times 100 \%$   
= 68.086 %

#### 6. Konsentrasi 6,25 µg/ml Costunolid

- Viabilitas sel (%) R1  $= \frac{1.000 - 0.214}{0.770 - 0.214} \times 100 \%$   
= 141.331 %
- Viabilitas sel (%) R2  $= \frac{0.994 - 0.214}{0.770 - 0.214} \times 100 \%$   
= 140.251 %
- Viabilitas sel (%) R3  $= \frac{0.812 - 0.214}{0.770 - 0.214} \times 100 \%$   
= 107.498 %

7. Konsentrasi 3,125 µg/ml Costunolid

- Viabilitas sel (%) R1  $= \frac{0.776 - 0.214}{0.770 - 0.214} \times 100 \%$   
 $= 101.019 \%$
- Viabilitas sel (%) R2  $= \frac{0.773 - 0.214}{0.770 - 0.214} \times 100 \%$   
 $= 100.479 \%$
- Viabilitas sel (%) R3  $= \frac{0.772 - 0.214}{0.770 - 0.214} \times 100 \%$   
 $= 100.299 \%$

**Lampiran 2.** Perhitungan IC50 pada sel T47D dengan perlakuan pemberian Costunolid menggunakan analisis probit

Ulangan 1

| Confidence Limits   |             |                                       |             |             |                                                         |             |             |
|---------------------|-------------|---------------------------------------|-------------|-------------|---------------------------------------------------------|-------------|-------------|
|                     | Probability | 95% Confidence Limits for Konsentrasi |             |             | 95% Confidence Limits for log(Konsentrasi) <sup>b</sup> |             |             |
|                     |             | Estimate                              | Lower Bound | Upper Bound | Estimate                                                | Lower Bound | Upper Bound |
| PROBIT <sup>a</sup> | .010        | 1763.578                              | 278.609     | 8.835E+15   | 3.246                                                   | 2.445       | 15.946      |
|                     | .020        | 1055.777                              | 208.650     | 9.410E+13   | 3.024                                                   | 2.319       | 13.974      |
|                     | .030        | 762.427                               | 173.127     | 5.290E+12   | 2.882                                                   | 2.238       | 12.723      |
|                     | .040        | 596.827                               | 150.106     | 6.081E+11   | 2.776                                                   | 2.176       | 11.784      |
|                     | .050        | 489.036                               | 133.405     | 1.049E+11   | 2.689                                                   | 2.125       | 11.021      |
|                     | .060        | 412.771                               | 120.457     | 2.353E+10   | 2.616                                                   | 2.081       | 10.372      |
|                     | .070        | 355.753                               | 109.968     | 6357173671  | 2.551                                                   | 2.041       | 9.803       |
|                     | .080        | 311.417                               | 101.199     | 1972580461  | 2.493                                                   | 2.005       | 9.295       |
|                     | .090        | 275.912                               | 93.689      | 681524142.4 | 2.441                                                   | 1.972       | 8.833       |
|                     | .100        | 246.818                               | 87.136      | 256618573.2 | 2.392                                                   | 1.940       | 8.409       |
|                     | .150        | 155.603                               | 63.036      | 4605133.160 | 2.192                                                   | 1.800       | 6.663       |
|                     | .200        | 107.840                               | 46.293      | 198548.455  | 2.033                                                   | 1.666       | 5.298       |
|                     | .250        | 78.734                                | 32.484      | 14632.315   | 1.896                                                   | 1.512       | 4.165       |
|                     | .300        | 59.358                                | 19.684      | 1689.046    | 1.773                                                   | 1.294       | 3.228       |
|                     | .350        | 45.687                                | 8.444       | 334.738     | 1.660                                                   | .927        | 2.525       |
|                     | .400        | 35.639                                | 2.175       | 125.306     | 1.552                                                   | .338        | 2.098       |
|                     | .450        | 28.025                                | .388        | 73.052      | 1.448                                                   | -.411       | 1.864       |
|                     | .500        | 22.123                                | .059        | 52.190      | 1.345                                                   | -1.232      | 1.718       |
|                     | .550        | 17.463                                | .008        | 40.729      | 1.242                                                   | -2.092      | 1.610       |
|                     | .600        | 13.733                                | .001        | 33.118      | 1.138                                                   | -2.985      | 1.520       |
|                     | .650        | 10.712                                | .000        | 27.453      | 1.030                                                   | -3.919      | 1.439       |
|                     | .700        | 8.245                                 | .000        | 22.914      | .916                                                    | -4.911      | 1.360       |
|                     | .750        | 6.216                                 | .000        | 19.083      | .794                                                    | -5.987      | 1.281       |
|                     | .800        | 4.538                                 | .000        | 15.714      | .657                                                    | -7.189      | 1.196       |
|                     | .850        | 3.145                                 | .000        | 12.632      | .498                                                    | -8.593      | 1.101       |
|                     | .900        | 1.983                                 | .000        | 9.675       | .297                                                    | -10.364     | .986        |
|                     | .910        | 1.774                                 | .000        | 9.080       | .249                                                    | -10.792     | .958        |
|                     | .920        | 1.572                                 | .000        | 8.477       | .196                                                    | -11.257     | .928        |
|                     | .930        | 1.376                                 | .000        | 7.864       | .139                                                    | -11.769     | .896        |
|                     | .940        | 1.186                                 | .000        | 7.234       | .074                                                    | -12.341     | .859        |
|                     | .950        | 1.001                                 | .000        | 6.580       | .000                                                    | -12.993     | .818        |
|                     | .960        | .820                                  | .000        | 5.890       | -.086                                                   | -13.760     | .770        |
|                     | .970        | .642                                  | .000        | 5.143       | -.193                                                   | -14.702     | .711        |
|                     | .980        | .464                                  | .000        | 4.299       | -.334                                                   | -15.955     | .633        |
|                     | .990        | .278                                  | .000        | 3.247       | -.557                                                   | -17.932     | .512        |

a. A heterogeneity factor is used.

b. Logarithm base = 10.

Ulangan 2

### Confidence Limits

|                     | Probability | 95% Confidence Limits for Konsentrasi |             |             | 95% Confidence Limits for log(Konsentrasi) <sup>b</sup> |             |             |
|---------------------|-------------|---------------------------------------|-------------|-------------|---------------------------------------------------------|-------------|-------------|
|                     |             | Estimate                              | Lower Bound | Upper Bound | Estimate                                                | Lower Bound | Upper Bound |
| PROBIT <sup>a</sup> | .010        | 1131.028                              | 209.206     | 3.790E+15   | 3.053                                                   | 2.321       | 15.579      |
|                     | .020        | 691.745                               | 158.215     | 3.375E+13   | 2.840                                                   | 2.199       | 13.528      |
|                     | .030        | 506.372                               | 131.988     | 1.694E+12   | 2.704                                                   | 2.121       | 12.229      |
|                     | .040        | 400.458                               | 114.826     | 1.791E+11   | 2.603                                                   | 2.060       | 11.253      |
|                     | .050        | 330.870                               | 102.270     | 2.885E+10   | 2.520                                                   | 2.010       | 10.460      |
|                     | .060        | 281.253                               | 92.458      | 6113673560  | 2.449                                                   | 1.966       | 9.786       |
|                     | .070        | 243.911                               | 84.449      | 1571891397  | 2.387                                                   | 1.927       | 9.196       |
|                     | .080        | 214.702                               | 77.699      | 466868458.3 | 2.332                                                   | 1.890       | 8.669       |
|                     | .090        | 191.186                               | 71.873      | 155114631.5 | 2.281                                                   | 1.857       | 8.191       |
|                     | .100        | 171.824                               | 66.745      | 56381486.06 | 2.235                                                   | 1.824       | 7.751       |
|                     | .150        | 110.428                               | 47.357      | 885885.475  | 2.043                                                   | 1.675       | 5.947       |
|                     | .200        | 77.711                                | 32.976      | 35689.934   | 1.890                                                   | 1.518       | 4.553       |
|                     | .250        | 57.487                                | 20.183      | 2718.123    | 1.760                                                   | 1.305       | 3.434       |
|                     | .300        | 43.854                                | 8.718       | 400.981     | 1.642                                                   | .940        | 2.603       |
|                     | .350        | 34.124                                | 2.122       | 128.469     | 1.533                                                   | .327        | 2.109       |
|                     | .400        | 26.896                                | .340        | 71.264      | 1.430                                                   | -.469       | 1.853       |
|                     | .450        | 21.363                                | .046        | 50.336      | 1.330                                                   | -1.335      | 1.702       |
|                     | .500        | 17.031                                | .006        | 39.314      | 1.231                                                   | -2.229      | 1.595       |
|                     | .550        | 13.577                                | .001        | 32.164      | 1.133                                                   | -3.143      | 1.507       |
|                     | .600        | 10.784                                | .000        | 26.922      | 1.033                                                   | -4.083      | 1.430       |
|                     | .650        | 8.500                                 | .000        | 22.771      | .929                                                    | -5.061      | 1.357       |
|                     | .700        | 6.614                                 | .000        | 19.306      | .820                                                    | -6.098      | 1.286       |
|                     | .750        | 5.046                                 | .000        | 16.294      | .703                                                    | -7.220      | 1.212       |
|                     | .800        | 3.732                                 | .000        | 13.584      | .572                                                    | -8.472      | 1.133       |
|                     | .850        | 2.627                                 | .000        | 11.057      | .419                                                    | -9.935      | 1.044       |
|                     | .900        | 1.688                                 | .000        | 8.589       | .227                                                    | -11.778     | .934        |
|                     | .910        | 1.517                                 | .000        | 8.087       | .181                                                    | -12.223     | .908        |
|                     | .920        | 1.351                                 | .000        | 7.577       | .131                                                    | -12.708     | .879        |
|                     | .930        | 1.189                                 | .000        | 7.055       | .075                                                    | -13.240     | .849        |
|                     | .940        | 1.031                                 | .000        | 6.517       | .013                                                    | -13.835     | .814        |
|                     | .950        | .877                                  | .000        | 5.955       | -.057                                                   | -14.513     | .775        |
|                     | .960        | .724                                  | .000        | 5.359       | -.140                                                   | -15.311     | .729        |
|                     | .970        | .573                                  | .000        | 4.711       | -.242                                                   | -16.291     | .673        |
|                     | .980        | .419                                  | .000        | 3.971       | -.377                                                   | -17.595     | .599        |
|                     | .990        | .256                                  | .000        | 3.039       | -.591                                                   | -19.650     | .483        |

a. A heterogeneity factor is used.

b. Logarithm base = 10.

### Confidence Limits

|                     | Probability | 95% Confidence Limits for Konsentrasi |             |             | 95% Confidence Limits for log(Konsentrasi) <sup>b</sup> |             |             |
|---------------------|-------------|---------------------------------------|-------------|-------------|---------------------------------------------------------|-------------|-------------|
|                     |             | Estimate                              | Lower Bound | Upper Bound | Estimate                                                | Lower Bound | Upper Bound |
| PROBIT <sup>a</sup> | .010        | 854.662                               | 248.199     | 109878.947  | 2.932                                                   | 2.395       | 5.041       |
|                     | .020        | 558.864                               | 188.130     | 37334.406   | 2.747                                                   | 2.274       | 4.572       |
|                     | .030        | 426.829                               | 157.424     | 18866.940   | 2.630                                                   | 2.197       | 4.276       |
|                     | .040        | 348.498                               | 137.443     | 11309.837   | 2.542                                                   | 2.138       | 4.053       |
|                     | .050        | 295.512                               | 122.908     | 7469.184    | 2.471                                                   | 2.090       | 3.873       |
|                     | .060        | 256.810                               | 111.619     | 5253.305    | 2.410                                                   | 2.048       | 3.720       |
|                     | .070        | 227.069                               | 102.463     | 3862.803    | 2.356                                                   | 2.011       | 3.587       |
|                     | .080        | 203.375                               | 94.805      | 2936.290    | 2.308                                                   | 1.977       | 3.468       |
|                     | .090        | 183.979                               | 88.248      | 2290.456    | 2.265                                                   | 1.946       | 3.360       |
|                     | .100        | 167.765                               | 82.531      | 1824.141    | 2.225                                                   | 1.917       | 3.261       |
|                     | .150        | 114.502                               | 61.648      | 721.105     | 2.059                                                   | 1.790       | 2.858       |
|                     | .200        | 84.521                                | 47.579      | 354.384     | 1.927                                                   | 1.677       | 2.549       |
|                     | .250        | 65.141                                | 36.768      | 199.619     | 1.814                                                   | 1.565       | 2.300       |
|                     | .300        | 51.556                                | 27.847      | 124.888     | 1.712                                                   | 1.445       | 2.097       |
|                     | .350        | 41.510                                | 20.360      | 85.497      | 1.618                                                   | 1.309       | 1.932       |
|                     | .400        | 33.794                                | 14.294      | 63.144      | 1.529                                                   | 1.155       | 1.800       |
|                     | .450        | 27.696                                | 9.679       | 49.398      | 1.442                                                   | .986        | 1.694       |
|                     | .500        | 22.771                                | 6.367       | 40.182      | 1.357                                                   | .804        | 1.604       |
|                     | .550        | 18.721                                | 4.088       | 33.490      | 1.272                                                   | .611        | 1.525       |
|                     | .600        | 15.343                                | 2.562       | 28.300      | 1.186                                                   | .409        | 1.452       |
|                     | .650        | 12.491                                | 1.562       | 24.065      | 1.097                                                   | .194        | 1.381       |
|                     | .700        | 10.057                                | .920        | 20.466      | 1.002                                                   | -.036       | 1.311       |
|                     | .750        | 7.960                                 | .515        | 17.303      | .901                                                    | -.288       | 1.238       |
|                     | .800        | 6.135                                 | .269        | 14.437      | .788                                                    | -.570       | 1.159       |
|                     | .850        | 4.528                                 | .125        | 11.752      | .656                                                    | -.902       | 1.070       |
|                     | .900        | 3.091                                 | .048        | 9.120       | .490                                                    | -1.322      | .960        |
|                     | .910        | 2.818                                 | .038        | 8.584       | .450                                                    | -1.423      | .934        |
|                     | .920        | 2.550                                 | .029        | 8.040       | .406                                                    | -1.534      | .905        |
|                     | .930        | 2.283                                 | .022        | 7.482       | .359                                                    | -1.656      | .874        |
|                     | .940        | 2.019                                 | .016        | 6.907       | .305                                                    | -1.792      | .839        |
|                     | .950        | 1.755                                 | .011        | 6.308       | .244                                                    | -1.947      | .800        |
|                     | .960        | 1.488                                 | .007        | 5.671       | .173                                                    | -2.129      | .754        |
|                     | .970        | 1.215                                 | .004        | 4.979       | .085                                                    | -2.354      | .697        |
|                     | .980        | .928                                  | .002        | 4.190       | -.033                                                   | -2.653      | .622        |
|                     | .990        | .607                                  | .001        | 3.197       | -.217                                                   | -3.125      | .505        |

a. A heterogeneity factor is used.

b. Logarithm base = 10.

**Lampiran 3.** Perhitungan % viabilitas sel hidup pada sel T47D dengan perlakuan pemberian Doxorubicin

$$Visabilitas\ sel = \frac{Absorbansi\ perlakuan - Absorbansi\ kontrol\ media}{Absorbansi\ kontrol\ sel - Absorbansi\ kontrol\ media} \times 100\%$$

| Jenis Kontrol | Ulangan 1 | Ulangan 2 | Ulangan 3 | rata-rata |
|---------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| Kontrol sel   | 0.864     | 0.582     | 0.865     | 0.770     |
| Kontrol media | 0.208     | 0.217     | 0.219     | 0.215     |

| Konsentrasi (ug/ml) | 1              | 2    | 3    | % Viabilitas |       |       | Rata-rata | SD    |
|---------------------|----------------|------|------|--------------|-------|-------|-----------|-------|
|                     | Doxo pada T47D |      |      | R1           | R2    | R3    |           |       |
| 200                 | 0.27           | 0.27 | 0.27 | 10.31        | 10.67 | 11.57 | 10.85     | 0.649 |
|                     | 2              | 4    | 9    | 8            | 8     | 8     | 8         |       |
| 100                 | 0.28           | 0.28 | 0.27 | 11.93        | 13.19 | 11.57 | 12.23     | 0.850 |
|                     | 1              | 8    | 9    | 8            | 7     | 8     | 8         |       |
| 50                  | 0.43           | 0.42 | 0.30 | 40.37        | 38.21 | 16.61 | 31.73     | 13.13 |
|                     | 9              | 7    | 7    | 2            | 2     | 7     | 4         | 6     |
| 25                  | 0.54           | 0.53 | 0.54 | 58.72        | 57.28 | 59.26 | 58.42     | 1.023 |
|                     | 1              | 3    | 4    | 8            | 9     | 8     | 8         |       |

|       |      |      |      |       |       |       |       |       |
|-------|------|------|------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 12.5  | 0.63 | 0.62 | 0.64 | 75.10 | 73.12 | 77.80 | 75.34 | 2.349 |
|       | 2    | 1    | 7    | 5     | 5     | 4     | 5     |       |
| 6.25  | 0.64 | 0.62 | 0.67 | 76.54 | 73.66 | 83.02 | 77.74 | 4.793 |
|       |      | 4    | 6    | 5     | 5     | 3     | 4     |       |
| 3.125 | 0.68 | 0.68 | 0.73 | 85.36 | 85.00 | 93.28 | 87.88 | 4.679 |
|       | 9    | 7    | 3    | 3     | 3     | 1     | 2     |       |

1. Konsentrasi 200 µg/ml Costunolid

- Viabilitas sel (%) R1  $= \frac{0.272 - 0.215}{0.770 - 0.215} \times 100 \%$   
= 10.318 %
- Viabilitas sel (%) R2  $= \frac{0.274 - 0.214}{0.770 - 0.214} \times 100 \%$   
= 10.678 %
- Viabilitas sel (%) R3  $= \frac{0.279 - 0.214}{0.770 - 0.214} \times 100 \%$   
= 11.578 %

2. Konsentrasi 100 µg/ml Costunolid

- Viabilitas sel (%) R1  $= \frac{0.281 - 0.215}{0.770 - 0.215} \times 100 \%$   
= 11.938 %
- Viabilitas sel (%) R2  $= \frac{0.288 - 0.214}{0.770 - 0.214} \times 100 \%$   
= 13.197 %
- Viabilitas sel (%) R3  $= \frac{0.279 - 0.214}{0.770 - 0.214} \times 100 \%$   
= 11.578 %

3. Konsentrasi 50 µg/ml Costunolid

- Viabilitas sel (%) R1  $= \frac{0.439 - 0.215}{0.770 - 0.215} \times 100 \%$   
= 40.372 %
- Viabilitas sel (%) R2  $= \frac{0.427 - 0.214}{0.770 - 0.214} \times 100 \%$

$$= 38.212 \%$$

$$\begin{aligned} - \text{ Viabilitas sel (\%) R3} &= \frac{0.307 - 0.214}{0.770 - 0.214} \times 100 \% \\ &= 16.617 \% \end{aligned}$$

#### 4. Konsentrasi 25 µg/ml Costunolid

$$\begin{aligned} - \text{ Viabilitas sel (\%) R1} &= \frac{0.541 - 0.215}{0.770 - 0.215} \times 100 \% \\ &= 58.728 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} - \text{ Viabilitas sel (\%) R2} &= \frac{0.533 - 0.214}{0.770 - 0.214} \times 100 \% \\ &= 57.289 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} - \text{ Viabilitas sel (\%) R3} &= \frac{0.544 - 0.214}{0.770 - 0.214} \times 100 \% \\ &= 59.268 \% \end{aligned}$$

#### 5. Konsentrasi 12,5 µg/ml Costunolid

$$\begin{aligned} - \text{ Viabilitas sel (\%) R1} &= \frac{0.632 - 0.215}{0.770 - 0.215} \times 100 \% \\ &= 75.105 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} - \text{ Viabilitas sel (\%) R2} &= \frac{0.621 - 0.214}{0.770 - 0.214} \times 100 \% \\ &= 73.125 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} - \text{ Viabilitas sel (\%) R3} &= \frac{0.647 - 0.214}{0.770 - 0.214} \times 100 \% \\ &= 77.804 \% \end{aligned}$$

#### 6. Konsentrasi 6,25 µg/ml Costunolid

$$\begin{aligned} - \text{ Viabilitas sel (\%) R1} &= \frac{0.64 - 0.215}{0.770 - 0.215} \times 100 \% \\ &= 76.545 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} - \text{ Viabilitas sel (\%) R2} &= \frac{0.624 - 0.214}{0.770 - 0.214} \times 100 \% \\ &= 73.665 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} - \text{ Viabilitas sel (\%) R3} &= \frac{0.676 - 0.214}{0.770 - 0.214} \times 100 \% \\ &= 83.023 \% \end{aligned}$$

#### 7. Konsentrasi 3.125 µg/ml Costunolid

$$\begin{aligned} - \text{ Viabilitas sel (\%) R1} &= \frac{0.689 - 0.215}{0.770 - 0.215} \times 100 \% \\ &= 85.363 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} - \text{ Viabilitas sel (\%) R2} &= \frac{0.687 - 0.214}{0.770 - 0.214} \times 100 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 &= 85.003 \% \\
 - \quad \text{Viabilitas sel (\%) R3} &= \frac{0.733 - 0.214}{0.770 - 0.214} \times 100 \% \\
 &= 93.281 \%
 \end{aligned}$$

**Lampiran 4.** Perhitungan IC50 pada sel T47D dengan perlakuan pemberian doxorubicin dengan analisis probit

Ulangan 1

| Confidence Limits   |             |                                       |             |             |                                                         |             |             |
|---------------------|-------------|---------------------------------------|-------------|-------------|---------------------------------------------------------|-------------|-------------|
|                     | Probability | 95% Confidence Limits for Konsentrasi |             |             | 95% Confidence Limits for log(Konsentrasi) <sup>b</sup> |             |             |
|                     |             | Estimate                              | Lower Bound | Upper Bound | Estimate                                                | Lower Bound | Upper Bound |
| PROBIT <sup>a</sup> | .010        | 1268.748                              | 467.294     | 8078.509    | 3.103                                                   | 2.670       | 3.907       |
|                     | .020        | 805.603                               | 328.097     | 4204.310    | 2.906                                                   | 2.516       | 3.624       |
|                     | .030        | 603.907                               | 261.884     | 2780.881    | 2.781                                                   | 2.418       | 3.444       |
|                     | .040        | 486.209                               | 220.890     | 2039.083    | 2.687                                                   | 2.344       | 3.309       |
|                     | .050        | 407.608                               | 192.226     | 1585.083    | 2.610                                                   | 2.284       | 3.200       |
|                     | .060        | 350.800                               | 170.706     | 1279.781    | 2.545                                                   | 2.232       | 3.107       |
|                     | .070        | 307.544                               | 153.771     | 1061.275    | 2.488                                                   | 2.187       | 3.026       |
|                     | .080        | 273.360                               | 139.992     | 897.784     | 2.437                                                   | 2.146       | 2.953       |
|                     | .090        | 245.581                               | 128.496     | 771.308     | 2.390                                                   | 2.109       | 2.887       |
|                     | .100        | 222.513                               | 118.715     | 670.892     | 2.347                                                   | 2.075       | 2.827       |
|                     | .150        | 147.906                               | 85.222      | 377.973     | 2.170                                                   | 1.931       | 2.577       |
|                     | .200        | 106.910                               | 65.103      | 240.962     | 2.029                                                   | 1.814       | 2.382       |
|                     | .250        | 80.925                                | 51.358      | 164.771     | 1.908                                                   | 1.711       | 2.217       |
|                     | .300        | 63.020                                | 41.222      | 117.929     | 1.799                                                   | 1.615       | 2.072       |
|                     | .350        | 49.985                                | 33.361      | 87.187      | 1.699                                                   | 1.523       | 1.940       |
|                     | .400        | 40.118                                | 27.042      | 66.066      | 1.603                                                   | 1.432       | 1.820       |
|                     | .450        | 32.430                                | 21.837      | 51.053      | 1.511                                                   | 1.339       | 1.708       |
|                     | .500        | 26.304                                | 17.486      | 40.084      | 1.420                                                   | 1.243       | 1.603       |
|                     | .550        | 21.335                                | 13.827      | 31.869      | 1.329                                                   | 1.141       | 1.503       |
|                     | .600        | 17.246                                | 10.757      | 25.565      | 1.237                                                   | 1.032       | 1.408       |
|                     | .650        | 13.842                                | 8.198       | 20.602      | 1.141                                                   | .914        | 1.314       |
|                     | .700        | 10.979                                | 6.091       | 16.593      | 1.041                                                   | .785        | 1.220       |
|                     | .750        | 8.550                                 | 4.376       | 13.266      | .932                                                    | .641        | 1.123       |
|                     | .800        | 6.472                                 | 3.002       | 10.432      | .811                                                    | .477        | 1.018       |
|                     | .850        | 4.678                                 | 1.919       | 7.949       | .670                                                    | .283        | .900        |
|                     | .900        | 3.109                                 | 1.083       | 5.694       | .493                                                    | .035        | .755        |
|                     | .910        | 2.817                                 | .943        | 5.259       | .450                                                    | -.026       | .721        |
|                     | .920        | 2.531                                 | .810        | 4.825       | .403                                                    | -.091       | .684        |
|                     | .930        | 2.250                                 | .686        | 4.391       | .352                                                    | -.164       | .643        |
|                     | .940        | 1.972                                 | .569        | 3.954       | .295                                                    | -.245       | .597        |
|                     | .950        | 1.697                                 | .459        | 3.510       | .230                                                    | -.338       | .545        |
|                     | .960        | 1.423                                 | .357        | 3.054       | .153                                                    | -.447       | .485        |
|                     | .970        | 1.146                                 | .262        | 2.575       | .059                                                    | -.582       | .411        |
|                     | .980        | .859                                  | .173        | 2.054       | -.066                                                   | -.761       | .313        |
|                     | .990        | .545                                  | .090        | 1.442       | -.263                                                   | -1.044      | .159        |

a. A heterogeneity factor is used.

b. Logarithm base = 10.

## Ulangan 2

### Confidence Limits

|                     | Probability | 95% Confidence Limits for Konsentrasi |             |             | 95% Confidence Limits for log(Konsentrasi) <sup>b</sup> |             |             |
|---------------------|-------------|---------------------------------------|-------------|-------------|---------------------------------------------------------|-------------|-------------|
|                     |             | Estimate                              | Lower Bound | Upper Bound | Estimate                                                | Lower Bound | Upper Bound |
| PROBIT <sup>a</sup> | .010        | 1391.325                              | 533.351     | 7516.492    | 3.143                                                   | 2.727       | 3.876       |
|                     | .020        | 868.292                               | 367.211     | 3906.192    | 2.939                                                   | 2.565       | 3.592       |
|                     | .030        | 643.800                               | 289.505     | 2581.147    | 2.809                                                   | 2.462       | 3.412       |
|                     | .040        | 514.068                               | 241.939     | 1891.136    | 2.711                                                   | 2.384       | 3.277       |
|                     | .050        | 428.080                               | 208.973     | 1469.084    | 2.632                                                   | 2.320       | 3.167       |
|                     | .060        | 366.320                               | 184.403     | 1185.411    | 2.564                                                   | 2.266       | 3.074       |
|                     | .070        | 319.546                               | 165.192     | 982.476     | 2.505                                                   | 2.218       | 2.992       |
|                     | .080        | 282.756                               | 149.647     | 830.698     | 2.451                                                   | 2.175       | 2.919       |
|                     | .090        | 252.989                               | 136.745     | 713.329     | 2.403                                                   | 2.136       | 2.853       |
|                     | .100        | 228.365                               | 125.819     | 620.175     | 2.359                                                   | 2.100       | 2.793       |
|                     | .150        | 149.455                               | 88.815      | 348.668     | 2.175                                                   | 1.948       | 2.542       |
|                     | .200        | 106.703                               | 66.964      | 221.853     | 2.028                                                   | 1.826       | 2.346       |
|                     | .250        | 79.916                                | 52.247      | 151.421     | 1.903                                                   | 1.718       | 2.180       |
|                     | .300        | 61.645                                | 41.530      | 108.173     | 1.790                                                   | 1.618       | 2.034       |
|                     | .350        | 48.465                                | 33.314      | 79.823      | 1.685                                                   | 1.523       | 1.902       |
|                     | .400        | 38.574                                | 26.782      | 60.368      | 1.586                                                   | 1.428       | 1.781       |
|                     | .450        | 30.930                                | 21.460      | 46.553      | 1.490                                                   | 1.332       | 1.668       |
|                     | .500        | 24.888                                | 17.059      | 36.465      | 1.396                                                   | 1.232       | 1.562       |
|                     | .550        | 20.026                                | 13.397      | 28.911      | 1.302                                                   | 1.127       | 1.461       |
|                     | .600        | 16.058                                | 10.356      | 23.110      | 1.206                                                   | 1.015       | 1.364       |
|                     | .650        | 12.781                                | 7.848       | 18.540      | 1.107                                                   | .895        | 1.268       |
|                     | .700        | 10.048                                | 5.801       | 14.847      | 1.002                                                   | .764        | 1.172       |
|                     | .750        | 7.751                                 | 4.150       | 11.785      | .889                                                    | .618        | 1.071       |
|                     | .800        | 5.805                                 | 2.836       | 9.185       | .764                                                    | .453        | .963        |
|                     | .850        | 4.145                                 | 1.806       | 6.919       | .617                                                    | .257        | .840        |
|                     | .900        | 2.712                                 | 1.016       | 4.881       | .433                                                    | .007        | .688        |
|                     | .910        | 2.448                                 | .883        | 4.490       | .389                                                    | -.054       | .652        |
|                     | .920        | 2.191                                 | .759        | 4.102       | .341                                                    | -.120       | .613        |
|                     | .930        | 1.938                                 | .642        | 3.716       | .287                                                    | -.193       | .570        |
|                     | .940        | 1.691                                 | .532        | 3.328       | .228                                                    | -.274       | .522        |
|                     | .950        | 1.447                                 | .429        | 2.937       | .160                                                    | -.367       | .468        |
|                     | .960        | 1.205                                 | .333        | 2.536       | .081                                                    | -.477       | .404        |
|                     | .970        | .962                                  | .244        | 2.119       | -.017                                                   | -.612       | .326        |
|                     | .980        | .713                                  | .161        | 1.671       | -.147                                                   | -.792       | .223        |
|                     | .990        | .445                                  | .084        | 1.150       | -.351                                                   | -1.076      | .061        |

a. A heterogeneity factor is used.

b. Logarithm base = 10.

### Ulangan 3

#### Confidence Limits

|                     | Probability | 95% Confidence Limits for Konsentrasi |             |             | 95% Confidence Limits for log(Konsentrasi) <sup>b</sup> |             |             |
|---------------------|-------------|---------------------------------------|-------------|-------------|---------------------------------------------------------|-------------|-------------|
|                     |             | Estimate                              | Lower Bound | Upper Bound | Estimate                                                | Lower Bound | Upper Bound |
| PROBIT <sup>a</sup> | .010        | 571.135                               | 241.665     | 3000.292    | 2.757                                                   | 2.383       | 3.477       |
|                     | .020        | 397.015                               | 182.426     | 1749.312    | 2.599                                                   | 2.261       | 3.243       |
|                     | .030        | 315.213                               | 152.428     | 1243.791    | 2.499                                                   | 2.183       | 3.095       |
|                     | .040        | 264.988                               | 133.054     | 963.097     | 2.423                                                   | 2.124       | 2.984       |
|                     | .050        | 230.097                               | 119.053     | 782.674     | 2.362                                                   | 2.076       | 2.894       |
|                     | .060        | 204.044                               | 108.249     | 656.324     | 2.310                                                   | 2.034       | 2.817       |
|                     | .070        | 183.639                               | 99.542      | 562.683     | 2.264                                                   | 1.998       | 2.750       |
|                     | .080        | 167.106                               | 92.307      | 490.423     | 2.223                                                   | 1.965       | 2.691       |
|                     | .090        | 153.366                               | 86.154      | 432.949     | 2.186                                                   | 1.935       | 2.636       |
|                     | .100        | 141.720                               | 80.826      | 386.144     | 2.151                                                   | 1.908       | 2.587       |
|                     | .150        | 102.193                               | 61.798      | 241.451     | 2.009                                                   | 1.791       | 2.383       |
|                     | .200        | 78.805                                | 49.610      | 167.308     | 1.897                                                   | 1.696       | 2.224       |
|                     | .250        | 63.056                                | 40.828      | 122.915     | 1.800                                                   | 1.611       | 2.090       |
|                     | .300        | 51.614                                | 34.045      | 93.815      | 1.713                                                   | 1.532       | 1.972       |
|                     | .350        | 42.874                                | 28.559      | 73.575      | 1.632                                                   | 1.456       | 1.867       |
|                     | .400        | 35.953                                | 23.981      | 58.892      | 1.556                                                   | 1.380       | 1.770       |
|                     | .450        | 30.322                                | 20.076      | 47.894      | 1.482                                                   | 1.303       | 1.680       |
|                     | .500        | 25.642                                | 16.701      | 39.439      | 1.409                                                   | 1.223       | 1.596       |
|                     | .550        | 21.685                                | 13.763      | 32.783      | 1.336                                                   | 1.139       | 1.516       |
|                     | .600        | 18.288                                | 11.201      | 27.426      | 1.262                                                   | 1.049       | 1.438       |
|                     | .650        | 15.336                                | 8.971       | 23.014      | 1.186                                                   | .953        | 1.362       |
|                     | .700        | 12.739                                | 7.040       | 19.295      | 1.105                                                   | .848        | 1.285       |
|                     | .750        | 10.428                                | 5.376       | 16.081      | 1.018                                                   | .730        | 1.206       |
|                     | .800        | 8.344                                 | 3.951       | 13.229      | .921                                                    | .597        | 1.122       |
|                     | .850        | 6.434                                 | 2.739       | 10.616      | .808                                                    | .438        | 1.026       |
|                     | .900        | 4.640                                 | 1.713       | 8.114       | .666                                                    | .234        | .909        |
|                     | .910        | 4.287                                 | 1.528       | 7.612       | .632                                                    | .184        | .882        |
|                     | .920        | 3.935                                 | 1.349       | 7.104       | .595                                                    | .130        | .852        |
|                     | .930        | 3.581                                 | 1.176       | 6.588       | .554                                                    | .070        | .819        |
|                     | .940        | 3.222                                 | 1.008       | 6.057       | .508                                                    | .004        | .782        |
|                     | .950        | 2.858                                 | .845        | 5.507       | .456                                                    | -.073       | .741        |
|                     | .960        | 2.481                                 | .687        | 4.928       | .395                                                    | -.163       | .693        |
|                     | .970        | 2.086                                 | .532        | 4.301       | .319                                                    | -.274       | .634        |
|                     | .980        | 1.656                                 | .378        | 3.593       | .219                                                    | -.422       | .556        |
|                     | .990        | 1.151                                 | .221        | 2.712       | .061                                                    | -.656       | .433        |

a. A heterogeneity factor is used.

b. Logarithm base = 10.

**Lampiran 6.** Perhitungan % viabilitas sel hidup pada sel Vero dengan perlakuan pemberian Costunolid

$$Visabilitas\ sel = \frac{Absorbansi\ perlakuan - Absorbansi\ kontrol\ media}{Absorbansi\ kontrol\ sel - Absorbansi\ kontrol\ media} \times 100\%$$

| Jenis Kontrol | Ulangan 1 | Ulangan 2 | Ulangan 3 | rata-rata |
|---------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| Kontrol sel   | 0.887     | 0.837     | 0.819     | 0.848     |
| Kontrol media | 0.134     | 0.133     | 0.134     | 0.134     |

| Konsentrasi<br>(ug/ml) | 1                   | 2     | 3     | % Viabilitas |         |        | Rata-<br>rata | SD     |
|------------------------|---------------------|-------|-------|--------------|---------|--------|---------------|--------|
|                        | costu pada sel vero |       |       | R1           | R2      | R3     |               |        |
| 200                    | 0.33                | 0.314 | 0.336 | 27.498       | 25.257  | 28.338 | 27.031        | 1.593  |
| 100                    | 0.269               | 0.223 | 0.288 | 18.954       | 12.512  | 21.615 | 17.694        | 4.681  |
| 50                     | 0.38                | 0.273 | 0.346 | 34.500       | 19.514  | 29.739 | 27.918        | 7.657  |
| 25                     | 0.424               | 0.354 | 0.307 | 40.663       | 30.859  | 24.276 | 31.933        | 8.246  |
| 12.5                   | 0.549               | 0.461 | 0.448 | 58.170       | 45.845  | 44.024 | 49.346        | 7.695  |
| 6.25                   | 0.695               | 0.622 | 0.481 | 78.618       | 68.394  | 48.646 | 65.219        | 15.236 |
| 3.125                  | 0.898               | 0.88  | 0.679 | 107.049      | 104.528 | 76.377 | 95.985        | 17.028 |

1. Konsentrasi 200 µg/ml Costunolid

$$\text{- Viabilitas sel (\%) R1} = \frac{0.33 - 0.134}{0.848 - 0.134} \times 100 \%$$

$$= 27.498 \%$$

$$\begin{aligned} - \text{ Viabilitas sel (\%) R2} &= \frac{0.314 - 0.134}{0.848 - 0.134} \times 100 \% \\ &= 25.257 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} - \text{ Viabilitas sel (\%) R3} &= \frac{0.336 - 0.134}{0.848 - 0.134} \times 100 \% \\ &= 28.338 \% \end{aligned}$$

## 2. Konsentrasi 100 µg/ml Costunolid

$$\begin{aligned} - \text{ Viabilitas sel (\%) R1} &= \frac{0.269 - 0.134}{0.848 - 0.134} \times 100 \% \\ &= 18.954 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} - \text{ Viabilitas sel (\%) R2} &= \frac{0.223 - 0.134}{0.848 - 0.134} \times 100 \% \\ &= 12.512 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} - \text{ Viabilitas sel (\%) R3} &= \frac{0.288 - 0.134}{0.848 - 0.134} \times 100 \% \\ &= 21.615 \% \end{aligned}$$

## 3. Konsentrasi 50 µg/ml Costunolid

$$\begin{aligned} - \text{ Viabilitas sel (\%) R1} &= \frac{0.38 - 0.134}{0.848 - 0.134} \times 100 \% \\ &= 34.500 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} - \text{ Viabilitas sel (\%) R2} &= \frac{0.273 - 0.134}{0.848 - 0.134} \times 100 \% \\ &= 19.514 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} - \text{ Viabilitas sel (\%) R3} &= \frac{0.346 - 0.134}{0.848 - 0.134} \times 100 \% \\ &= 29.739 \% \end{aligned}$$

## 4. Konsentrasi 25 µg/ml Costunolid

$$\begin{aligned} - \text{ Viabilitas sel (\%) R1} &= \frac{0.424 - 0.134}{0.848 - 0.134} \times 100 \% \\ &= 40.663 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} - \text{ Viabilitas sel (\%) R2} &= \frac{0.354 - 0.134}{0.848 - 0.134} \times 100 \% \\ &= 30.859 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} - \text{ Viabilitas sel (\%) R3} &= \frac{0.307 - 0.134}{0.848 - 0.134} \times 100 \% \\ &= 24.276 \% \end{aligned}$$

## 5. Konsentrasi 12.5 µg/ml Costunolid

$$\begin{aligned} - \text{ Viabilitas sel (\%) R1} &= \frac{0.549 - 0.134}{0.848 - 0.134} \times 100 \% \end{aligned}$$

$$= 58.170 \%$$

$$\begin{aligned} - \text{ Viabilitas sel (\%) R2} &= \frac{0.461 - 0.134}{0.848 - 0.134} \times 100 \% \\ &= 45.845 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} - \text{ Viabilitas sel (\%) R3} &= \frac{0.448 - 0.134}{0.848 - 0.134} \times 100 \% \\ &= 44.024 \% \end{aligned}$$

#### 6. Konsentrasi 6,25 µg/ml Costunolid

$$\begin{aligned} - \text{ Viabilitas sel (\%) R1} &= \frac{0.695 - 0.134}{0.848 - 0.134} \times 100 \% \\ &= 78.618 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} - \text{ Viabilitas sel (\%) R2} &= \frac{0.622 - 0.134}{0.848 - 0.134} \times 100 \% \\ &= 68.394 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} - \text{ Viabilitas sel (\%) R3} &= \frac{0.481 - 0.134}{0.848 - 0.134} \times 100 \% \\ &= 48.646 \% \end{aligned}$$

#### 7. Konsentrasi 6,25 µg/ml Costunolid

$$\begin{aligned} - \text{ Viabilitas sel (\%) R1} &= \frac{0.898 - 0.134}{0.848 - 0.134} \times 100 \% \\ &= 104.528 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} - \text{ Viabilitas sel (\%) R2} &= \frac{0.88 - 0.134}{0.848 - 0.134} \times 100 \% \\ &= 104.528 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} - \text{ Viabilitas sel (\%) R3} &= \frac{0.679 - 0.134}{0.848 - 0.134} \times 100 \% \\ &= 76.377 \% \end{aligned}$$

**Lampiran 7.** Perhitungan CC50 pada sel vero dengan perlakuan pemberian Costunolid menggunakan analisis probit

Ulangan 1

| Confidence Limits   |             |                                       |             |             |                                                         |             |             |
|---------------------|-------------|---------------------------------------|-------------|-------------|---------------------------------------------------------|-------------|-------------|
|                     | Probability | 95% Confidence Limits for Konsentrasi |             |             | 95% Confidence Limits for log(Konsentrasi) <sup>b</sup> |             |             |
|                     |             | Estimate                              | Lower Bound | Upper Bound | Estimate                                                | Lower Bound | Upper Bound |
| PROBIT <sup>a</sup> | .010        | 5432.629                              | 751.640     | 10717468.17 | 3.735                                                   | 2.876       | 7.030       |
|                     | .020        | 2855.792                              | 496.939     | 2205729.966 | 3.456                                                   | 2.696       | 6.344       |
|                     | .030        | 1899.023                              | 381.534     | 810432.229  | 3.279                                                   | 2.582       | 5.909       |
|                     | .040        | 1397.115                              | 312.376     | 382053.667  | 3.145                                                   | 2.495       | 5.582       |
|                     | .050        | 1088.440                              | 265.225     | 207433.965  | 3.037                                                   | 2.424       | 5.317       |
|                     | .060        | 880.067                               | 230.554     | 123444.340  | 2.945                                                   | 2.363       | 5.091       |
|                     | .070        | 730.460                               | 203.754     | 78370.679   | 2.864                                                   | 2.309       | 4.894       |
|                     | .080        | 618.219                               | 182.285     | 52213.120   | 2.791                                                   | 2.261       | 4.718       |
|                     | .090        | 531.189                               | 164.622     | 36112.852   | 2.725                                                   | 2.216       | 4.558       |
|                     | .100        | 461.949                               | 149.784     | 25736.694   | 2.665                                                   | 2.175       | 4.411       |
|                     | .150        | 259.099                               | 100.397     | 6388.172    | 2.413                                                   | 2.002       | 3.805       |
|                     | .200        | 163.635                               | 71.862      | 2145.535    | 2.214                                                   | 1.857       | 3.332       |
|                     | .250        | 110.318                               | 52.795      | 859.694     | 2.043                                                   | 1.723       | 2.934       |
|                     | .300        | 77.424                                | 38.818      | 389.905     | 1.889                                                   | 1.589       | 2.591       |
|                     | .350        | 55.768                                | 27.889      | 196.154     | 1.746                                                   | 1.445       | 2.293       |
|                     | .400        | 40.849                                | 19.071      | 109.216     | 1.611                                                   | 1.280       | 2.038       |
|                     | .450        | 30.225                                | 12.135      | 67.432      | 1.480                                                   | 1.084       | 1.829       |
|                     | .500        | 22.471                                | 7.142       | 45.685      | 1.352                                                   | .854        | 1.660       |
|                     | .550        | 16.706                                | 3.927       | 33.128      | 1.223                                                   | .594        | 1.520       |
|                     | .600        | 12.361                                | 2.041       | 25.037      | 1.092                                                   | .310        | 1.399       |
|                     | .650        | 9.054                                 | 1.007       | 19.327      | .957                                                    | .003        | 1.286       |
|                     | .700        | 6.522                                 | .468        | 15.017      | .814                                                    | -.329       | 1.177       |
|                     | .750        | 4.577                                 | .202        | 11.605      | .661                                                    | -.694       | 1.065       |
|                     | .800        | 3.086                                 | .078        | 8.807       | .489                                                    | -1.106      | .945        |
|                     | .850        | 1.949                                 | .026        | 6.444       | .290                                                    | -1.589      | .809        |
|                     | .900        | 1.093                                 | .006        | 4.388       | .039                                                    | -2.201      | .642        |
|                     | .910        | .951                                  | .004        | 4.003       | -.022                                                   | -2.349      | .602        |
|                     | .920        | .817                                  | .003        | 3.625       | -.088                                                   | -2.511      | .559        |
|                     | .930        | .691                                  | .002        | 3.251       | -.160                                                   | -2.688      | .512        |
|                     | .940        | .574                                  | .001        | 2.879       | -.241                                                   | -2.886      | .459        |
|                     | .950        | .464                                  | .001        | 2.509       | -.334                                                   | -3.113      | .399        |
|                     | .960        | .361                                  | .000        | 2.135       | -.442                                                   | -3.379      | .329        |
|                     | .970        | .266                                  | .000        | 1.752       | -.575                                                   | -3.707      | .244        |
|                     | .980        | .177                                  | .000        | 1.348       | -.752                                                   | -4.143      | .130        |
|                     | .990        | .093                                  | .000        | .894        | -1.032                                                  | -4.830      | -.049       |

a. A heterogeneity factor is used.

b. Logarithm base = 10.

## Ulangan 2

### Confidence Limits

|                     | Probability | 95% Confidence Limits for Konsentrasi |             |             | 95% Confidence Limits for log(Konsentrasi) <sup>b</sup> |             |             |
|---------------------|-------------|---------------------------------------|-------------|-------------|---------------------------------------------------------|-------------|-------------|
|                     |             | Estimate                              | Lower Bound | Upper Bound | Estimate                                                | Lower Bound | Upper Bound |
| PROBIT <sup>a</sup> | .010        | 4593.434                              | 397.441     | 1.264E+18   | 3.662                                                   | 2.599       | 18.102      |
|                     | .020        | 2257.508                              | 266.611     | 5.794E+15   | 3.354                                                   | 2.426       | 15.763      |
|                     | .030        | 1438.437                              | 206.206     | 1.909E+14   | 3.158                                                   | 2.314       | 14.281      |
|                     | .040        | 1024.812                              | 169.526     | 1.468E+13   | 3.011                                                   | 2.229       | 13.167      |
|                     | .050        | 777.805                               | 144.243     | 1.827E+12   | 2.891                                                   | 2.159       | 12.262      |
|                     | .060        | 615.070                               | 125.470     | 3.105E+11   | 2.789                                                   | 2.099       | 11.492      |
|                     | .070        | 500.654                               | 110.826     | 6.579E+10   | 2.700                                                   | 2.045       | 10.818      |
|                     | .080        | 416.392                               | 98.992      | 1.642E+10   | 2.620                                                   | 1.996       | 10.215      |
|                     | .090        | 352.139                               | 89.169      | 4657537170  | 2.547                                                   | 1.950       | 9.668       |
|                     | .100        | 301.794                               | 80.843      | 1462669965  | 2.480                                                   | 1.908       | 9.165       |
|                     | .150        | 159.332                               | 52.352      | 12445088.44 | 2.202                                                   | 1.719       | 7.095       |
|                     | .200        | 95.902                                | 34.731      | 300562.597  | 1.982                                                   | 1.541       | 5.478       |
|                     | .250        | 62.041                                | 21.658      | 13895.129   | 1.793                                                   | 1.336       | 4.143       |
|                     | .300        | 41.959                                | 10.886      | 1144.159    | 1.623                                                   | 1.037       | 3.058       |
|                     | .350        | 29.203                                | 3.309       | 196.780     | 1.465                                                   | .520        | 2.294       |
|                     | .400        | 20.704                                | .540        | 73.308      | 1.316                                                   | -.268       | 1.865       |
|                     | .450        | 14.844                                | .062        | 42.376      | 1.172                                                   | -1.206      | 1.627       |
|                     | .500        | 10.699                                | .006        | 29.375      | 1.029                                                   | -2.205      | 1.468       |
|                     | .550        | 7.711                                 | .001        | 22.006      | .887                                                    | -3.238      | 1.343       |
|                     | .600        | 5.529                                 | .000        | 17.084      | .743                                                    | -4.304      | 1.233       |
|                     | .650        | 3.920                                 | .000        | 13.469      | .593                                                    | -5.417      | 1.129       |
|                     | .700        | 2.728                                 | .000        | 10.650      | .436                                                    | -6.597      | 1.027       |
|                     | .750        | 1.845                                 | .000        | 8.361       | .266                                                    | -7.875      | .922        |
|                     | .800        | 1.194                                 | .000        | 6.444       | .077                                                    | -9.302      | .809        |
|                     | .850        | .718                                  | .000        | 4.794       | -.144                                                   | -10.969     | .681        |
|                     | .900        | .379                                  | .000        | 3.331       | -.421                                                   | -13.070     | .523        |
|                     | .910        | .325                                  | .000        | 3.053       | -.488                                                   | -13.578     | .485        |
|                     | .920        | .275                                  | .000        | 2.778       | -.561                                                   | -14.129     | .444        |
|                     | .930        | .229                                  | .000        | 2.506       | -.641                                                   | -14.736     | .399        |
|                     | .940        | .186                                  | .000        | 2.234       | -.730                                                   | -15.414     | .349        |
|                     | .950        | .147                                  | .000        | 1.960       | -.832                                                   | -16.187     | .292        |
|                     | .960        | .112                                  | .000        | 1.682       | -.952                                                   | -17.096     | .226        |
|                     | .970        | .080                                  | .000        | 1.395       | -1.099                                                  | -18.214     | .144        |
|                     | .980        | .051                                  | .000        | 1.088       | -1.295                                                  | -19.700     | .037        |
|                     | .990        | .025                                  | .000        | .737        | -1.603                                                  | -22.043     | -.132       |

a. A heterogeneity factor is used.

b. Logarithm base = 10.

### Ulangan 3

#### Confidence Limits

|                     | Probability | 95% Confidence Limits for Konsentrasi |             |             | 95% Confidence Limits for log(Konsentrasi) <sup>b</sup> |             |             |
|---------------------|-------------|---------------------------------------|-------------|-------------|---------------------------------------------------------|-------------|-------------|
|                     |             | Estimate                              | Lower Bound | Upper Bound | Estimate                                                | Lower Bound | Upper Bound |
| PROBIT <sup>a</sup> | .010        | 23548.586                             | 1181.733    | 1.063E+12   | 4.372                                                   | 3.073       | 12.026      |
|                     | .020        | 9377.366                              | 681.222     | 4.196E+10   | 3.972                                                   | 2.833       | 10.623      |
|                     | .030        | 5228.382                              | 479.103     | 5412430670  | 3.718                                                   | 2.680       | 9.733       |
|                     | .040        | 3369.058                              | 367.012     | 1161590716  | 3.528                                                   | 2.565       | 9.065       |
|                     | .050        | 2356.457                              | 295.060     | 332681346.3 | 3.372                                                   | 2.470       | 8.522       |
|                     | .060        | 1738.275                              | 244.739     | 114913762.8 | 3.240                                                   | 2.389       | 8.060       |
|                     | .070        | 1331.240                              | 207.492     | 45299124.00 | 3.124                                                   | 2.317       | 7.656       |
|                     | .080        | 1048.373                              | 178.782     | 19705125.27 | 3.021                                                   | 2.252       | 7.295       |
|                     | .090        | 843.661                               | 155.969     | 9252597.940 | 2.926                                                   | 2.193       | 6.966       |
|                     | .100        | 690.749                               | 137.406     | 4618590.678 | 2.839                                                   | 2.138       | 6.665       |
|                     | .150        | 301.821                               | 80.058      | 264188.506  | 2.480                                                   | 1.903       | 5.422       |
|                     | .200        | 156.305                               | 50.514      | 28046.823   | 2.194                                                   | 1.703       | 4.448       |
|                     | .250        | 88.880                                | 32.457      | 4293.124    | 1.949                                                   | 1.511       | 3.633       |
|                     | .300        | 53.534                                | 20.112      | 863.207     | 1.729                                                   | 1.303       | 2.936       |
|                     | .350        | 33.467                                | 11.117      | 226.691     | 1.525                                                   | 1.046       | 2.355       |
|                     | .400        | 21.430                                | 4.954       | 81.493      | 1.331                                                   | .695        | 1.911       |
|                     | .450        | 13.922                                | 1.717       | 39.981      | 1.144                                                   | .235        | 1.602       |
|                     | .500        | 9.107                                 | .497        | 24.164      | .959                                                    | -.304       | 1.383       |
|                     | .550        | 5.957                                 | .129        | 16.264      | .775                                                    | -.889       | 1.211       |
|                     | .600        | 3.870                                 | .031        | 11.517      | .588                                                    | -1.509      | 1.061       |
|                     | .650        | 2.478                                 | .007        | 8.330       | .394                                                    | -2.163      | .921        |
|                     | .700        | 1.549                                 | .001        | 6.045       | .190                                                    | -2.862      | .781        |
|                     | .750        | .933                                  | .000        | 4.339       | -.030                                                   | -3.623      | .637        |
|                     | .800        | .531                                  | .000        | 3.032       | -.275                                                   | -4.474      | .482        |
|                     | .850        | .275                                  | .000        | 2.015       | -.561                                                   | -5.471      | .304        |
|                     | .900        | .120                                  | .000        | 1.215       | -.921                                                   | -6.729      | .085        |
|                     | .910        | .098                                  | .000        | 1.077       | -1.007                                                  | -7.033      | .032        |
|                     | .920        | .079                                  | .000        | .945        | -1.102                                                  | -7.364      | -.025       |
|                     | .930        | .062                                  | .000        | .818        | -1.206                                                  | -7.727      | -.087       |
|                     | .940        | .048                                  | .000        | .697        | -1.321                                                  | -8.134      | -.157       |
|                     | .950        | .035                                  | .000        | .581        | -1.454                                                  | -8.597      | -.236       |
|                     | .960        | .025                                  | .000        | .469        | -1.609                                                  | -9.142      | -.329       |
|                     | .970        | .016                                  | .000        | .361        | -1.800                                                  | -9.813      | -.442       |
|                     | .980        | .009                                  | .000        | .255        | -2.053                                                  | -10.704     | -.593       |
|                     | .990        | .004                                  | .000        | .148        | -2.453                                                  | -12.110     | -.830       |

a. A heterogeneity factor is used.

b. Logarithm base = 10.

**Lampiran 8.** Perhitungan % viabilitas sel hidup pada sel Vero dengan perlakuan pemberian Doxorubicin

$$Visabilitas\ sel = \frac{Absorbansi\ perlakuan - Absorbansi\ kontrol\ media}{Absorbansi\ kontrol\ sel - Absorbansi\ kontrol\ media} \times 100\%$$

|               | 1     | 2     | 3     | rata-rata |
|---------------|-------|-------|-------|-----------|
| Kontrol sel   | 0.887 | 0.837 | 0.819 | 0.848     |
| Kontrol media | 0.134 | 0.133 | 0.134 | 0.134     |

| Konsentrasi | 1                  | 2     | 3     | % Viabilitas |        |        | Rata-rata | SD    |
|-------------|--------------------|-------|-------|--------------|--------|--------|-----------|-------|
| (ug/ml)     | doxo pada sel vero |       |       | R1           | R2     | R3     |           |       |
| 200         | 0.188              | 0.217 | 0.208 | 7.610        | 11.671 | 10.411 | 9.897     | 2.079 |
| 100         | 0.2                | 0.211 | 0.182 | 9.290        | 10.831 | 6.769  | 8.964     | 2.050 |
| 50          | 0.263              | 0.255 | 0.255 | 18.114       | 16.993 | 16.993 | 17.367    | 0.647 |
| 25          | 0.348              | 0.389 | 0.389 | 30.019       | 35.761 | 35.761 | 33.847    | 3.315 |
| 12.5        | 0.39               | 0.442 | 0.381 | 35.901       | 43.184 | 34.641 | 37.908    | 4.612 |
| 6.25        | 0.538              | 0.498 | 0.471 | 56.629       | 51.027 | 47.246 | 51.634    | 4.721 |
| 3.125       | 0.461              | 0.49  | 0.521 | 45.845       | 49.907 | 54.248 | 50.000    | 4.202 |

1. Konsentrasi 200 µg/ml Costunolid

- Viabilitas sel (%) R1  $= \frac{0.188 - 0.134}{0.848 - 0.134} \times 100\%$   
= 7.610%
- Viabilitas sel (%) R2  $= \frac{0.217 - 0.134}{0.848 - 0.134} \times 100\%$   
= 11.671 %

$$\begin{aligned}
 - \text{ Viabilitas sel (\%) R3} &= \frac{0.208 - 0.134}{0.848 - 0.134} \times 100 \% \\
 &= 10.411 \%
 \end{aligned}$$

## 2. Konsentrasi 100 µg/ml Costunolid

$$\begin{aligned}
 - \text{ Viabilitas sel (\%) R1} &= \frac{0.2 - 0.134}{0.848 - 0.134} \times 100 \% \\
 &= 9.290\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 - \text{ Viabilitas sel (\%) R2} &= \frac{0.211 - 0.134}{0.848 - 0.134} \times 100 \% \\
 &= 10.831 \%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 - \text{ Viabilitas sel (\%) R3} &= \frac{0.182 - 0.134}{0.848 - 0.134} \times 100 \% \\
 &= 6.769 \%
 \end{aligned}$$

## 3. Konsentrasi 50 µg/ml Costunolid

$$\begin{aligned}
 - \text{ Viabilitas sel (\%) R1} &= \frac{0.263 - 0.134}{0.848 - 0.134} \times 100 \% \\
 &= 18.114 \%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 - \text{ Viabilitas sel (\%) R2} &= \frac{0.255 - 0.134}{0.848 - 0.134} \times 100 \% \\
 &= 16.993 \%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 - \text{ Viabilitas sel (\%) R3} &= \frac{0.255 - 0.134}{0.848 - 0.134} \times 100 \% \\
 &= 16.993 \%
 \end{aligned}$$

## 4. Konsentrasi 25 µg/ml Costunolid

$$\begin{aligned}
 - \text{ Viabilitas sel (\%) R1} &= \frac{0.348 - 0.134}{0.848 - 0.134} \times 100 \% \\
 &= 18.114 \%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 - \text{ Viabilitas sel (\%) R2} &= \frac{0.389 - 0.134}{0.848 - 0.134} \times 100 \% \\
 &= 35.761 \%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 - \text{ Viabilitas sel (\%) R3} &= \frac{0.389 - 0.134}{0.848 - 0.134} \times 100 \% \\
 &= 35.761 \%
 \end{aligned}$$

## 5. Konsentrasi 12,5 µg/ml Costunolid

$$\begin{aligned}
 - \text{ Viabilitas sel (\%) R1} &= \frac{0.39 - 0.134}{0.848 - 0.134} \times 100 \% \\
 &= 35.901 \%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 - \text{ Viabilitas sel (\%) R2} &= \frac{0.442 - 0.134}{0.848 - 0.134} \times 100 \% \\
 &= 43.184 \%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 - \text{ Viabilitas sel (\%) R3} &= \frac{0.381 - 0.134}{0.848 - 0.134} \times 100 \% \\
 &= 34.641 \%
 \end{aligned}$$

6. Konsentrasi 6,25 µg/ml Costunolid

$$\begin{aligned}
 - \text{ Viabilitas sel (\%) R1} &= \frac{0.538 - 0.134}{0.848 - 0.134} \times 100 \% \\
 &= 56.629 \%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 - \text{ Viabilitas sel (\%) R2} &= \frac{0.498 - 0.134}{0.848 - 0.134} \times 100 \% \\
 &= 51.027 \%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 - \text{ Viabilitas sel (\%) R3} &= \frac{0.471 - 0.134}{0.848 - 0.134} \times 100 \% \\
 &= 47.246 \%
 \end{aligned}$$

7. Konsentrasi 3,125 µg/ml Costunolid

$$\begin{aligned}
 - \text{ Viabilitas sel (\%) R1} &= \frac{0.461 - 0.134}{0.848 - 0.134} \times 100 \% \\
 &= 45.845 \%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 - \text{ Viabilitas sel (\%) R2} &= \frac{0.49 - 0.134}{0.848 - 0.134} \times 100 \% \\
 &= 49.907 \%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 - \text{ Viabilitas sel (\%) R3} &= \frac{0.521 - 0.134}{0.848 - 0.134} \times 100 \% \\
 &= 54.248 \%
 \end{aligned}$$

**Lampiran 9.** Perhitungan CC50 pada sel Vero dengan perlakuan pemberian doxorubicin dengan analisis probit

Ulangan 1

| Confidence Limits |             |                                       |             |             |                                                         |             |             |
|-------------------|-------------|---------------------------------------|-------------|-------------|---------------------------------------------------------|-------------|-------------|
|                   | Probability | 95% Confidence Limits for Konsentrasi |             |             | 95% Confidence Limits for log(Konsentrasi) <sup>a</sup> |             |             |
|                   |             | Estimate                              | Lower Bound | Upper Bound | Estimate                                                | Lower Bound | Upper Bound |
| PROBIT            | .010        | 2238.587                              | 934.168     | 8375.177    | 3.350                                                   | 2.970       | 3.923       |
|                   | .020        | 1087.157                              | 511.129     | 3377.177    | 3.036                                                   | 2.709       | 3.529       |
|                   | .030        | 687.498                               | 348.222     | 1900.219    | 2.837                                                   | 2.542       | 3.279       |
|                   | .040        | 487.030                               | 260.680     | 1233.940    | 2.688                                                   | 2.416       | 3.091       |
|                   | .050        | 367.937                               | 205.833     | 869.110     | 2.566                                                   | 2.314       | 2.939       |
|                   | .060        | 289.813                               | 168.236     | 645.334     | 2.462                                                   | 2.226       | 2.810       |
|                   | .070        | 235.089                               | 140.884     | 497.366     | 2.371                                                   | 2.149       | 2.697       |
|                   | .080        | 194.919                               | 120.122     | 394.135     | 2.290                                                   | 2.080       | 2.596       |
|                   | .090        | 164.379                               | 103.851     | 319.154     | 2.216                                                   | 2.016       | 2.504       |
|                   | .100        | 140.514                               | 90.779      | 262.955     | 2.148                                                   | 1.958       | 2.420       |
|                   | .150        | 73.394                                | 51.592      | 118.881     | 1.866                                                   | 1.713       | 2.075       |
|                   | .200        | 43.802                                | 32.418      | 64.248      | 1.641                                                   | 1.511       | 1.808       |
|                   | .250        | 28.130                                | 21.331      | 38.659      | 1.449                                                   | 1.329       | 1.587       |
|                   | .300        | 18.900                                | 14.304      | 25.085      | 1.276                                                   | 1.155       | 1.399       |
|                   | .350        | 13.074                                | 9.646       | 17.205      | 1.116                                                   | .984        | 1.236       |
|                   | .400        | 9.216                                 | 6.509       | 12.267      | .965                                                    | .814        | 1.089       |
|                   | .450        | 6.571                                 | 4.387       | 8.968       | .818                                                    | .642        | .953        |
|                   | .500        | 4.710                                 | 2.947       | 6.651       | .673                                                    | .469        | .823        |
|                   | .550        | 3.376                                 | 1.968       | 4.964       | .528                                                    | .294        | .696        |
|                   | .600        | 2.407                                 | 1.299       | 3.704       | .382                                                    | .114        | .569        |
|                   | .650        | 1.697                                 | .843        | 2.745       | .230                                                    | -.074       | .439        |
|                   | .700        | 1.174                                 | .534        | 2.007       | .070                                                    | -.273       | .303        |
|                   | .750        | .789                                  | .325        | 1.434       | -.103                                                   | -.488       | .157        |
|                   | .800        | .506                                  | .187        | .988        | -.295                                                   | -.729       | -.005       |
|                   | .850        | .302                                  | .098        | .641        | -.520                                                   | -1.010      | -.193       |
|                   | .900        | .158                                  | .043        | .373        | -.802                                                   | -1.365      | -.428       |
|                   | .910        | .135                                  | .035        | .327        | -.870                                                   | -1.451      | -.485       |
|                   | .920        | .114                                  | .029        | .284        | -.944                                                   | -1.544      | -.547       |
|                   | .930        | .094                                  | .023        | .243        | -1.025                                                  | -1.646      | -.615       |
|                   | .940        | .077                                  | .017        | .204        | -1.116                                                  | -1.761      | -.690       |
|                   | .950        | .060                                  | .013        | .167        | -1.220                                                  | -1.892      | -.777       |
|                   | .960        | .046                                  | .009        | .133        | -1.341                                                  | -2.045      | -.878       |
|                   | .970        | .032                                  | .006        | .099        | -1.491                                                  | -2.234      | -1.002      |
|                   | .980        | .020                                  | .003        | .068        | -1.690                                                  | -2.485      | -1.167      |
|                   | .990        | .010                                  | .001        | .037        | -2.004                                                  | -2.881      | -1.428      |

a. Logarithm base = 10.

## Ulangan 2

### Confidence Limits

|        | Probability | 95% Confidence Limits for Konsentrasi |             |             | 95% Confidence Limits for log(Konsentrasi) <sup>a</sup> |             |             |
|--------|-------------|---------------------------------------|-------------|-------------|---------------------------------------------------------|-------------|-------------|
|        |             | Estimate                              | Lower Bound | Upper Bound | Estimate                                                | Lower Bound | Upper Bound |
| PROBIT | .010        | 4143.457                              | 1519.617    | 19473.879   | 3.617                                                   | 3.182       | 4.289       |
|        | .020        | 1895.362                              | 795.591     | 7190.346    | 3.278                                                   | 2.901       | 3.857       |
|        | .030        | 1153.937                              | 527.117     | 3825.454    | 3.062                                                   | 2.722       | 3.583       |
|        | .040        | 794.442                               | 386.437     | 2381.495    | 2.900                                                   | 2.587       | 3.377       |
|        | .050        | 586.395                               | 300.005     | 1620.684    | 2.768                                                   | 2.477       | 3.210       |
|        | .060        | 452.842                               | 241.711     | 1168.621    | 2.656                                                   | 2.383       | 3.068       |
|        | .070        | 361.019                               | 199.892     | 877.760     | 2.558                                                   | 2.301       | 2.943       |
|        | .080        | 294.721                               | 168.540     | 679.676     | 2.469                                                   | 2.227       | 2.832       |
|        | .090        | 245.058                               | 144.246     | 538.892     | 2.389                                                   | 2.159       | 2.732       |
|        | .100        | 206.776                               | 124.929     | 435.442     | 2.315                                                   | 2.097       | 2.639       |
|        | .150        | 102.346                               | 68.386      | 181.480     | 2.010                                                   | 1.835       | 2.259       |
|        | .200        | 58.523                                | 41.763      | 91.818      | 1.767                                                   | 1.621       | 1.963       |
|        | .250        | 36.230                                | 26.836      | 52.168      | 1.559                                                   | 1.429       | 1.717       |
|        | .300        | 23.553                                | 17.596      | 32.190      | 1.372                                                   | 1.245       | 1.508       |
|        | .350        | 15.804                                | 11.575      | 21.158      | 1.199                                                   | 1.064       | 1.325       |
|        | .400        | 10.822                                | 7.587       | 14.567      | 1.034                                                   | .880        | 1.163       |
|        | .450        | 7.503                                 | 4.949       | 10.343      | .875                                                    | .694        | 1.015       |
|        | .500        | 5.232                                 | 3.209       | 7.476       | .719                                                    | .506        | .874        |
|        | .550        | 3.648                                 | 2.064       | 5.449       | .562                                                    | .315        | .736        |
|        | .600        | 2.529                                 | 1.311       | 3.973       | .403                                                    | .118        | .599        |
|        | .650        | 1.732                                 | .817        | 2.878       | .239                                                    | -.088       | .459        |
|        | .700        | 1.162                                 | .495        | 2.055       | .065                                                    | -.306       | .313        |
|        | .750        | .755                                  | .287        | 1.432       | -.122                                                   | -.542       | .156        |
|        | .800        | .468                                  | .156        | .960        | -.330                                                   | -.806       | -.018       |
|        | .850        | .267                                  | .077        | .603        | -.573                                                   | -1.114      | -.220       |
|        | .900        | .132                                  | .031        | .337        | -.878                                                   | -1.503      | -.473       |
|        | .910        | .112                                  | .025        | .293        | -.952                                                   | -1.597      | -.534       |
|        | .920        | .093                                  | .020        | .251        | -1.032                                                  | -1.699      | -.600       |
|        | .930        | .076                                  | .015        | .212        | -1.120                                                  | -1.811      | -.673       |
|        | .940        | .060                                  | .012        | .176        | -1.219                                                  | -1.937      | -.754       |
|        | .950        | .047                                  | .008        | .142        | -1.331                                                  | -2.080      | -.847       |
|        | .960        | .034                                  | .006        | .111        | -1.463                                                  | -2.248      | -.955       |
|        | .970        | .024                                  | .004        | .081        | -1.625                                                  | -2.455      | -1.089      |
|        | .980        | .014                                  | .002        | .054        | -1.840                                                  | -2.731      | -1.267      |
|        | .990        | .007                                  | .001        | .028        | -2.180                                                  | -3.165      | -1.546      |

a. Logarithm base = 10.

### Ulangan 3

#### Confidence Limits

|        | Probability | 95% Confidence Limits for Konsentrasi |             |             | 95% Confidence Limits for log(Konsentrasi) <sup>a</sup> |             |             |
|--------|-------------|---------------------------------------|-------------|-------------|---------------------------------------------------------|-------------|-------------|
|        |             | Estimate                              | Lower Bound | Upper Bound | Estimate                                                | Lower Bound | Upper Bound |
| PROBIT | .010        | 2306.832                              | 964.566     | 8573.148    | 3.363                                                   | 2.984       | 3.933       |
|        | .020        | 1121.457                              | 527.882     | 3466.849    | 3.050                                                   | 2.723       | 3.540       |
|        | .030        | 709.653                               | 359.695     | 1954.162    | 2.851                                                   | 2.556       | 3.291       |
|        | .040        | 502.973                               | 269.305     | 1270.656    | 2.702                                                   | 2.430       | 3.104       |
|        | .050        | 380.134                               | 212.670     | 895.927     | 2.580                                                   | 2.328       | 2.952       |
|        | .060        | 299.522                               | 173.845     | 665.842     | 2.476                                                   | 2.240       | 2.823       |
|        | .070        | 243.037                               | 145.598     | 513.569     | 2.386                                                   | 2.163       | 2.711       |
|        | .080        | 201.564                               | 124.156     | 407.251     | 2.304                                                   | 2.094       | 2.610       |
|        | .090        | 170.023                               | 107.352     | 329.975     | 2.231                                                   | 2.031       | 2.518       |
|        | .100        | 145.372                               | 93.851      | 272.018     | 2.162                                                   | 1.972       | 2.435       |
|        | .150        | 76.002                                | 53.378      | 123.227     | 1.881                                                   | 1.727       | 2.091       |
|        | .200        | 45.391                                | 33.576      | 66.671      | 1.657                                                   | 1.526       | 1.824       |
|        | .250        | 29.169                                | 22.127      | 40.129      | 1.465                                                   | 1.345       | 1.603       |
|        | .300        | 19.609                                | 14.869      | 26.030      | 1.292                                                   | 1.172       | 1.415       |
|        | .350        | 13.572                                | 10.050      | 17.840      | 1.133                                                   | 1.002       | 1.251       |
|        | .400        | 9.572                                 | 6.796       | 12.711      | .981                                                    | .832        | 1.104       |
|        | .450        | 6.828                                 | 4.589       | 9.288       | .834                                                    | .662        | .968        |
|        | .500        | 4.897                                 | 3.089       | 6.885       | .690                                                    | .490        | .838        |
|        | .550        | 3.512                                 | 2.066       | 5.138       | .546                                                    | .315        | .711        |
|        | .600        | 2.505                                 | 1.366       | 3.833       | .399                                                    | .135        | .584        |
|        | .650        | 1.767                                 | .888        | 2.841       | .247                                                    | -.052       | .453        |
|        | .700        | 1.223                                 | .563        | 2.077       | .087                                                    | -.250       | .317        |
|        | .750        | .822                                  | .343        | 1.484       | -.085                                                   | -.464       | .171        |
|        | .800        | .528                                  | .198        | 1.023       | -.277                                                   | -.704       | .010        |
|        | .850        | .315                                  | .104        | .664        | -.501                                                   | -.985       | -.178       |
|        | .900        | .165                                  | .046        | .386        | -.783                                                   | -1.338      | -.413       |
|        | .910        | .141                                  | .038        | .339        | -.851                                                   | -1.424      | -.470       |
|        | .920        | .119                                  | .030        | .294        | -.925                                                   | -1.516      | -.532       |
|        | .930        | .099                                  | .024        | .251        | -1.006                                                  | -1.619      | -.600       |
|        | .940        | .080                                  | .019        | .211        | -1.097                                                  | -1.733      | -.675       |
|        | .950        | .063                                  | .014        | .173        | -1.200                                                  | -1.863      | -.762       |
|        | .960        | .048                                  | .010        | .137        | -1.322                                                  | -2.016      | -.863       |
|        | .970        | .034                                  | .006        | .103        | -1.471                                                  | -2.204      | -.987       |
|        | .980        | .021                                  | .004        | .070        | -1.670                                                  | -2.455      | -1.152      |
|        | .990        | .010                                  | .001        | .039        | -1.983                                                  | -2.849      | -1.413      |

a. Logarithm base = 10.

## Lampiran 10. Perhitungan Indeks Selektivitas

### Selektivitas Indeks Costunolid

$$\begin{aligned}\text{Selectivity Index (SI)} &= \frac{\text{CC50 perlakuan sampel terhadap sel vero}}{\text{IC50 perlakuan sampel terhadap sel T47D}} \\ &= \frac{14,082}{31,936} \\ &= \mathbf{0,44}\end{aligned}$$

### Selektivitas Indeks Doxorubicin

$$\begin{aligned}\text{Selectivity Index (SI)} &= \frac{\text{CC50 perlakuan sampel terhadap sel vero}}{\text{IC50 perlakuan sampel terhadap sel T47D}} \\ &= \frac{4,943}{27,39} \\ &= \mathbf{0,18}\end{aligned}$$

**Lampiran 11.** Perhitungan viabilitas sel pada sel T47D dengan perlakuan pemberian kombinasi Costunolid dan Doxorubicin

**Absorbansi kontrol sel**

| Ulangan 1 | Ulangan 2 | Ulangan 3 | Rata-rata |
|-----------|-----------|-----------|-----------|
| 0.779     | 0.819     | 0.91      | 0.836     |

**Absorbansi kontrol media**

| Ulangan 1 | Ulangan 2 | Ulangan 3 | Rata-rata |
|-----------|-----------|-----------|-----------|
| 0.288     | 0.291     | 0.297     | 0.292     |

Data absorbansi sel T47D dengan perlakuan kombinasi

| Kombinasi            | Doxorubicin 3,423 |       |       | Doxorubicin 6,847 |       |       | Doxorubicin 13,695 |       |       | Doxorubicin 27,39 |       |       |
|----------------------|-------------------|-------|-------|-------------------|-------|-------|--------------------|-------|-------|-------------------|-------|-------|
| Costunolid<br>3.992  | 0.609             | 0.593 | 0.603 | 0.521             | 0.454 | 0.503 | 0.503              | 0.46  | 0.522 | 0.431             | 0.406 | 0.478 |
| Costunolid<br>7.984  | 0.483             | 0.483 | 0.46  | 0.577             | 0.477 | 0.474 | 0.422              | 0.442 | 0.461 | 0.421             | 0.428 | 0.391 |
| Costunolid<br>15.968 | 0.455             | 0.486 | 0.485 | 0.526             | 0.476 | 0.483 | 0.428              | 0.451 | 0.507 | 0.392             | 0.429 | 0.54  |
| Costunolid<br>31.936 | 0.499             | 0.435 | 0.487 | 0.551             | 0.59  | 0.585 | 0.421              | 0.455 | 0.434 | 0.4               | 0.396 | 0.472 |

Data viabilitas sel T47D dengan perlakuan kombinasi

| Kombinasi            | Doxorubicin 3,423 |       |       | Doxorubicin 6,847 |       |       | Doxorubicin 13,695 |       |       | Doxorubicin 27,39 |       |       |
|----------------------|-------------------|-------|-------|-------------------|-------|-------|--------------------|-------|-------|-------------------|-------|-------|
| Costunolid<br>3.992  | 58.27             | 55.33 | 57.17 | 42.10             | 29.78 | 38.79 | 38.79              | 30.88 | 42.28 | 25.55             | 20.96 | 34.19 |
| Costunolid<br>7.984  | 35.11             | 35.11 | 30.88 | 52.39             | 34.01 | 33.46 | 23.90              | 27.57 | 31.07 | 23.71             | 25.00 | 18.20 |
| Costunolid<br>15.968 | 29.96             | 35.66 | 35.48 | 43.01             | 33.82 | 35.11 | 25.00              | 29.23 | 39.52 | 18.38             | 25.18 | 45.59 |
| Costunolid<br>31.936 | 38.05             | 26.29 | 35.85 | 47.61             | 54.78 | 53.86 | 23.71              | 29.96 | 26.10 | 19.85             | 19.12 | 33.09 |

#### Lampiran 14. Perhitungan Combination Index

Combination Index (CI) =  $(D)1 / (Dx)1 + (D)2 / (Dx)2$

1. Kombinasi 3,992 µg/ml costunolid + 3,424 µg/ml doxorubicin

$$\text{Combination Index (CI)} = \frac{4,943}{27,39} + \frac{4,943}{27,39} =$$

2. Kombinasi 3,992 µg/ml costunolid + 3,424 µg/ml doxorubicin

$$\text{Combination Index (CI)} = \frac{4,943}{27,39} + \frac{4,943}{27,39} =$$

3. Kombinasi 3,992 µg/ml costunolid + 3,424 µg/ml doxorubicin

$$\text{Combination Index (CI)} = \frac{4,943}{27,39} + \frac{4,943}{27,39} =$$

4. Kombinasi 3,992 µg/ml costunolid + 3,424 µg/ml doxorubicin

$$\text{Combination Index (CI)} = \frac{4,943}{27,39} + \frac{4,943}{27,39} =$$

5. Kombinasi 3,992 µg/ml costunolid + 3,424 µg/ml doxorubicin

$$\text{Combination Index (CI)} = \frac{4,943}{27,39} + \frac{4,943}{27,39} =$$

6. Kombinasi 3,992 µg/ml costunolid + 3,424 µg/ml doxorubicin

$$\text{Combination Index (CI)} = \frac{4,943}{27,39} + \frac{4,943}{27,39} =$$

7. Kombinasi 3,992 µg/ml costunolid + 3,424 µg/ml doxorubicin

$$\text{Combination Index (CI)} = \frac{4,943}{27,39} + \frac{4,943}{27,39} =$$

8. Kombinasi 3,992 µg/ml costunolid + 3,424 µg/ml doxorubicin

$$\text{Combination Index (CI)} = \frac{4,943}{27,39} + \frac{4,943}{27,39} =$$

9. Kombinasi 3,992 µg/ml costunolid + 3,424 µg/ml doxorubicin

$$\text{Combination Index (CI)} = \frac{4,943}{27,39} + \frac{4,943}{27,39} =$$

10. Kombinasi 3,992 µg/ml costunolid + 3,424 µg/ml doxorubicin

$$\text{Combination Index (CI)} = \frac{4,943}{27,39} + \frac{4,943}{27,39} =$$

11. Kombinasi 3,992 µg/ml costunolid + 3,424 µg/ml doxorubicin

$$\text{Combination Index (CI)} = \frac{4,943}{27,39} + \frac{4,943}{27,39} =$$

12. Kombinasi 3,992 µg/ml costunolid + 3,424 µg/ml doxorubicin

$$\text{Combination Index (CI)} = \frac{4,943}{27,39} + \frac{4,943}{27,39} =$$

13. Kombinasi 3,992 µg/ml costunolid + 3,424 µg/ml doxorubicin

$$\text{Combination Index (CI)} = \frac{4,943}{27,39} + \frac{4,943}{27,39} =$$

14. Kombinasi 3,992 µg/ml costunolid + 3,424 µg/ml doxorubicin

$$\text{Combination Index (CI)} = \frac{4,943}{27,39} + \frac{4,943}{27,39} =$$

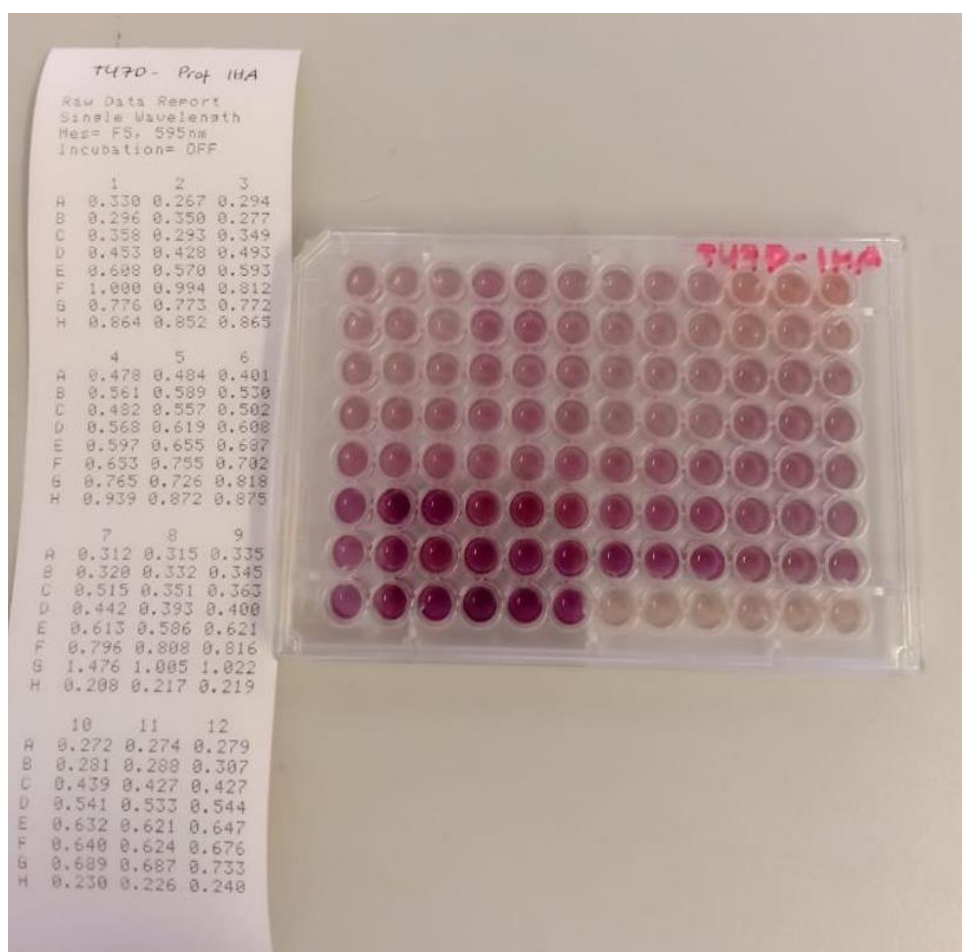
15. Kombinasi 3,992 µg/ml costunolid + 3,424 µg/ml doxorubicin

$$\text{Combination Index (CI)} = \frac{4,943}{27,39} + \frac{4,943}{27,39} =$$

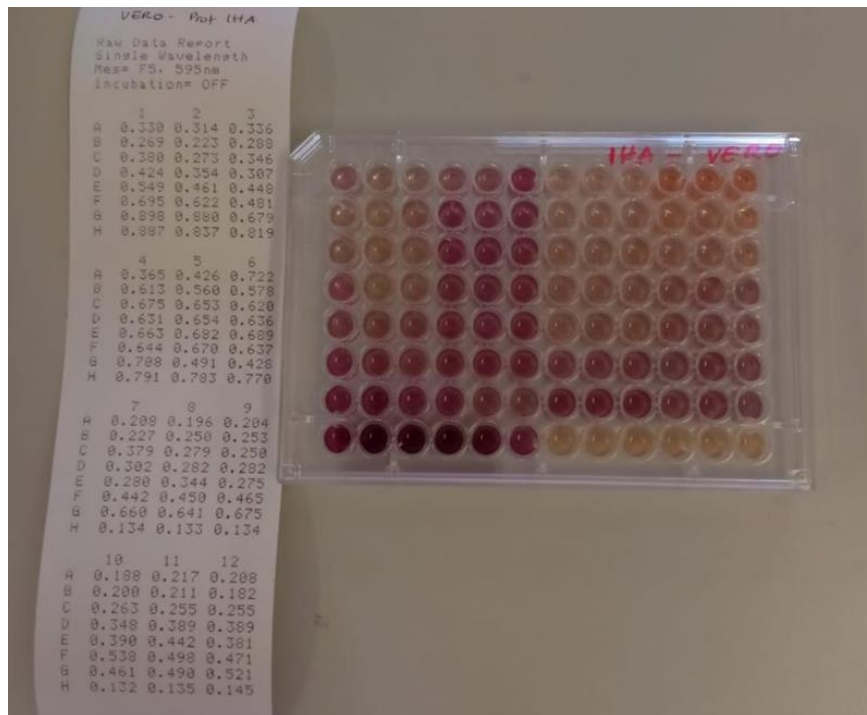
16. Kombinasi 3,992 µg/ml costunolid + 3,424 µg/ml doxorubicin

$$\text{Combination Index (CI)} = \frac{4,943}{27,39} + \frac{4,943}{27,39} =$$

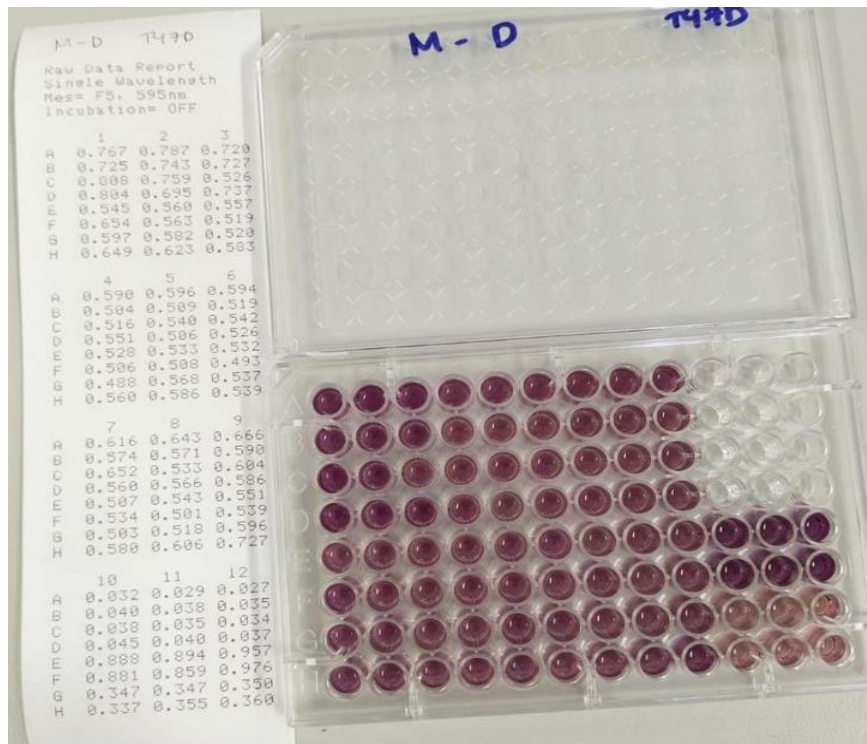
**Lampiran 11.** Data absorbansi dan plate senyawa tunggal pada sel T47D



## Lampiran 12. Data absorbansi dan plate senyawa tunggal pada sel Vero



**Lampiran 13.** Data absorbansi dan plate kombinasi pada sel T47D



**Lampiran 14.** Data absorbansi dan plate kombinasi pada sel Vero

