



PROPOSAL PROGRAM KREATIVITAS MAHASISWA
JUDUL PROGRAM
Penelusuran Potensi Kemopreventif Fraksi Kloroform Bandotan
(*Ageratum conyzoides*) terhadap Sel Kanker Serviks HeLa melalui
Uji Sitotoksik dan *Molecular Docking*

BIDANG KEGIATAN :
PKM ARTIKEL ILMIAH

Diusulkan oleh:

<i>Titi Komalasari</i>	<i>NIM 20130350110, angkatan 2013</i>
<i>Ega Hida Prabowo</i>	<i>NIM 20140350039, angkatan 2014</i>
<i>Aulia Rahma</i>	<i>NIM 20150350087, angkatan 2015</i>
<i>Nabila Kaulika</i>	<i>NIM 20150350085, angkatan 2015</i>

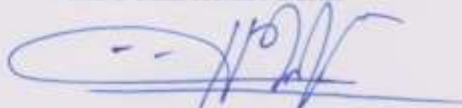
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH YOGYAKARTA
YOGYAKARTA
2017

PENGESAHAN PROPOSAL PKM-ARTIKEL ILMIAH

- | | |
|---------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1. Judul Kegiatan | : Penelusuran Potensi Kemopreventif Fraksi Kloroform Bandotan (<i>Ageratum conyzoides</i>) terhadap Sel Kanker Serviks HeLa melalui Uji Sitotoksik dan <i>Molecular Docking</i> |
| 2. Bidang Kegiatan | : PKM-AI |
| 3. Ketua Pelaksana Kegiatan | |
| a. Nama Lengkap | : Titi Komalasari |
| b. NIM | : 20130350110 |
| c. Jurusan | : Farmasi |
| d. Universitas/Institut/Politeknik | : Universitas Muhammadiyah Yogyakarta |
| e. Alamat Rumah dan No Tel./HP | : Jl. Pembangunan Kelurahan Kendo, Raba, Kota Bima, NTB(082324269556) |
| f. Email | : komalasari96@gmail.com |
| 4. Anggota Pelaksana Kegiatan/Penulis | : 3 Orang |
| 5. Dosen Pendamping | |
| a. Nama Lengkap dan Gelar | : Rifki Febriansah, M.Sc.,Apt |
| b. NIDN | : 0527028701 |
| c. Alamat Rumah dan No Tel./HP | : Yogyakarta (081804042212) |

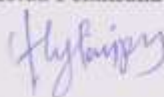
Yogyakarta, 06 Februari 2017

Menyetujui,
Wakil Dekan/Ketua Jurusan



(dr. Muhammad Kurniawan, M.Sc)
NIP/NIK. 19820111201104173147

Ketua Pelaksana Kegiatan,




(Titi Komalasari)
NIM. 20130350110

Wakil Rektor Bidang Kemahasiswaan,



(Ir. Sri Atmaja P. Rosyidi, Ph.D.)
NIK. 19780415200004123046

Dosen pendamping,



(Rifki Febriansah, M.Sc.,Apt)
NIDN. 0527028701

Penelusuran Potensi Kemopreventif Fraksi Kloroform Bandotan (*Ageratum conyzoides*) terhadap Sel Kanker Serviks HeLa melalui Uji Sitotoksik dan *Molecular Docking*

Titi Komalasari*, Nazariah Putri, Aulia Rahma, Mia Claudia

Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Yogyakarta

Jalan Lingkar Barat, Tamantirto, Kasihan, Bantul, Yogyakarta 55183

*Corresponding author: komalarit96@gmail.com

ABSTRAK

Kanker serviks merupakan kanker yang paling banyak diderita oleh wanita Indonesia dengan 91.692 kasus pada tahun 2013. Di sisi lain, pengobatan kanker menyebabkan banyak efek samping selama proses pengobatannya sehingga perlu dikembangkan agen kemopreventif dari bahan alam. Salah satu tanaman yang potensial adalah bandotan (*Ageratum conyzoides*) yang mengandung flavonoid seperti nobiletin yang diperkirakan dapat menghambat proliferasi dan viabilitas sel kanker. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas kemopreventif Fraksi Kloroform *Ageratum conyzoides* (FKAC) melalui uji sitotoksik dan *molecular docking*.

Ekstrak etanol bandotan difraksinasi dengan kloroform. Kromatografi Lapis Tipis (KLT) digunakan untuk mengidentifikasi senyawa flavonoid secara kualitatif dan uji sitotoksik dengan MTT Assay untuk mengetahui viabilitas sel kanker serviks HeLa setelah di beri perlakuan. *Molecular docking* dengan Autodock Vina untuk visualisasi interaksi dan afinitas nobiletin dan 5-Fluorourasil (5-FU) dengan Bcl-x1 (suatu protein reseptor antiapoptosis). Hasil KLT untuk FKAC adalah bercak pada Rf 0,80 dengan warna ungu pada UV 254 nm dan 0,56 dengan warna biru pada UV 366 nm yang menunjukkan kandungan flavonoid pada FKAC. Uji *Molecular docking* menghasilkan *score docking* (energi afinitas) sebesar -8,0 and -4,7 kcal/mol untuk Nobiletin dan 5-FU. Hasil ini menunjukkan interaksi dan energi afinitas nobiletin terhadap Bcl-x1 lebih besar daripada 5-FU. Nilai IC₅₀ berdasarkan uji sitotoksik untuk FKAC adalah 27,48 µg/ml, lebih rendah dari 5-FU dengan 41,46 µg/ml sehingga berdasarkan uji sitotoksik dan *molecular docking* serta hasil KLT, FKAC potensial untuk dikembangkan sebagai agen kemopreventif pada kanker serviks.

Kata kunci : *Ageratum conyzoides*, Kemopreventif, *Molecular Docking*

ABSTRAC

Cervical cancer is the biggest Indonesian female cancer with 91.692 cases in 2013. In the other side, cancer therapy induced many side effects for patient during the treatment. Further, its need to developed chemopreventive agent from nature. One of them is bandotan (*Ageratum conyzoides*) that containing flavonoid group such as nobiletin that estimated inhibit cancer cell proliferation and viability. The aim of this study is to find out chemopreventive activity of chloroform fraction of *Ageratum conyzoides* L. (CF) by cytotoxic and molecular docking study.

Ethanol extract of bandotan were fractionated with chloroform. Thin Layer Chromatography (TLC) used to identified flavonoid compound qualitatively and cytotoxic study with MTT Assay method to find out the viability

of HeLa cell line after treatment. Molecular docking with Autodock Vina to visualized molecular interaction and affinity between nobiletin and 5-florouracil (5-FU) with Bcl-xl (an anti-apoptotic protein receptor). The result of TLC for CF had Rf value 0,80 with violet color in UV 254 nm and 0,56 with blue color in UV 366 nm indicated that CF contained flavonoid compound. Molecular docking had score docking (affinity energy) for nobiletin and 5-FU are -8,0 and -4,7 kcal/mol respectively. This result showed that nobiletin affinity and interaction with Bcl-xl protein highest than 5-FU. The result IC_{50} of cytotoxic study for CF is 27,48 $\mu\text{g/ml}$ lowest than 5-Fluorouracil with 41,46 $\mu\text{g/ml}$. Based on cytotoxic and molecular docking study and support by TLC result, CF potential to developed as chemopreventive agent in servical cancer.

Keyword : *Ageratum conyzoides*, Chemopreventive, Molecular Docking

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Kanker serviks merupakan kanker yang paling banyak diderita oleh wanita Indonesia dengan 91.692 kasus pada tahun 2013 (Kemenkes RI, 2015) dan menjadi penyebab kematian terbanyak pada wanita sehingga perlu dilakukan upaya pencegahan dan penanganan yang tepat agar menghasilkan prognosis yang baik (Aziz, *et al.*, 2006). Pengobatan kanker serviks baik dengan kemoterapi, radiasi maupun operasi menghasilkan efek samping yang berat selama pengobatan (Ganiswara, 1995). Tanaman liar herba bandotan (*Ageratum conyzoides*) merupakan salah satu bahan alam yang potensial dikembangkan sebagai agen kemopreventif (Rahmawati dan Kuswandi, 2012) yang dapat mencegah pertumbuhan kanker dengan menghambat dan menekan proliferasi sel kanker (Kakizoe, 2003). Dengan adanya agen kemopreventif diharapkan dapat membantu pengobatan kanker sehingga penggunaan obat kemoterapi dengan efek samping yang berbahaya dapat dikurangi.

Kandungan flavonoid dalam *Ageratum conyzoides* diperkirakan berperan penting dalam aktivitas antikankernya (Okunade, 2002), salah satunya adalah Nobiletin (Hsiao, 2014). Oleh karena itu, perlu dilakukan uji aktivitas antikanker *Ageratum conyzoides* secara *in vitro* dengan metode MTT Assay dan secara *in silico* dengan *Molecular Docking* senyawa flavonoid *Ageratum conyzoides* terhadap protein Bcl-xl yaitu protein antiapoptosi, penghambatan pada aktivitas protein ini menjadi salah satu mekanisme pengobatan kanker. Untuk mengetahui kandungan senyawa flavonoid dilakukan uji pendahuluan dengan Kromatografi Lapis Tipis.

TUJUAN

Untuk mengetahui aktivitas kemopreventif fraksi kloroform bandotan (*Ageratum conyzoides*) melalui uji sitotoksik MTT Assay terhadap Sel Kanker Serviks HeLa dan Penambatan molekul (*Molecular Docking*) senyawa flavonoid *Ageratum conyzoides* terhadap protein Bcl-xl.

METODE PENELITIAN

Alat Penelitian

Seperangkat alat-alat ekstraksi dan fraksinasi, alat-alat gelas, timbangan analitik (Sartorius), eppendorf (Brand), chamber KLT, Autoklaf, magnetic stirer, Lampu UV 254 nm dan 366 nm, cawan petri, flakon, Oven (Mettler), Aluminium foil, vorteks, inkubator CO₂ (Heraceus), *Laminar Air Flow Hood* (Labconco), *tissue culture flask* (Nunc), tabung konikal 15 ml steril (Falcon), *centrifuge* (Sorvall), haemositometer (Nebauer), *yellow tip* (Brand), *blue tip* (Brand), *cell counter*, mikroskop inverted (Zeiss), mikropipet (Gilson), *96-well plate* (Nunc), *ELISA reader* (Bio-Rad), *24-well plate* (Nunc), Laptop (Lenovo).

Bahan Penelitian

Herba bandotan (*Ageratum conyzoides*) yang diperoleh dari daerah Bantul, Yogyakarta, etanol 70%, kloroform, aquadest, etanol 96 %, blender (Philip) Sel kanker serviks HeLa yang diperoleh dari koleksi Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran UGM, media *Roswell Park Memorial Institute* (RPMI) yang mengandung *Foetal Bovine Serum* (FBS) 10% (v/v) (Gibco), penisillin-streptomisin 1% (v/v) (Gibco), Larutan pencuci *Phosphat Buffer Saline* (PBS), dimetil sulfoksida (DMSO), MTT [3-(4,5-dimetil thiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromida] 5 mg/ml dalam media kultur, Reagen *stopper* sodium dodesil sulfat (SDS) dalam HCl 0,1%, Tripsin-EDTA, protein Bcl-xl dari *Protein Data Bank* (PDB) dan struktur senyawa flavonoid (Nobiletin dan Eupalestin), Aplikasi Autodock Vina, Open Babel GUI, Discovery Studio 4.1 Client, Phyton, dan Marvin Sketch.

Cara Kerja

1. Ekstraksi dan Fraksinasi

Ekstraksi dilakukan menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70% dengan perbandingan 1 : 10 selama 5 hari diremaserasi selama 2. Ekstrak yang dihasilkan kemudian difraksinasi dengan pelarut kloroform dengan perbandingan ekstrak dan kloroform yaitu 1 : 1. Hasil fraksi kloroform dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 60°C 100 rpm.

2. Kromatografi Lapis Tipis

Kandungan flavonoid fraksi kloroform diidentifikasi dengan KLT menggunakan fase diam silika gel GF₂₅₄ dan fase gerak kloroform. Plat dilihat di bawah sinar UV 254 dan 366 nm untuk diamati warna bercak dan jarak elusinya sehingga dapat diketahui hilai Rf masing-masing bercak.

3. *Molecular Docking* Autodock Vina

Molecular docking dimulai dengan mengunduh semua aplikasi yang dibutuhkan serta senyawa uji (Nobiletin dan 5-Fluorourasil diunduh di Pubchem.com) dan protein target (Bcl-xl dan *Native ligand*-nya diunduh di Protein Data Bank (PDB) (www.rcsb.org) dengan PDB ID 1YSG).

Selanjutnya preparasi protein target (yaitu 1YSG) dengan aplikasi DS Visualizer. Protein Bcl-xl disimpan dengan nama file 1ysg dengan aplikasi DS visualizer diubah formatnya menjadi .pdb dengan aplikasi Open Babel. Setiap senyawa yang akan di-*docking* diberikan 9 konformasi dengan nilai RMSD yang berbeda. Protokol *docking* yang valid adalah protocol docking yang menghasilkan konformasi dengan nilai RMSD kurang dari 2 Å lalu konformasi tersebut di-*docking*-kan hingga didapatkan energy afinitas atau *score docking*. Visualisasi menggunakan DS Visualizer untuk *Define Ligand* dan *Ligand Interaction* sehingga akan terlihat dengan jelas posisi ikatan senyawa uji dan protein Bcl-xl kemudian dilabeli asam amino yang berikatan dengan senyawa uji. Senyawa yang memiliki potensi penghambatan yang baik terhadap protein Bcl-xl adalah senyawa dengan energi afinitas atau nilai *score docking* terendah.

4. Uji Sitotoksik MTT Assay

Dibuat Larutan induk fraksi kloroform dengan kadar 10^5 µg/ml, lalu dibuat beberapa seri konsentrasi kadar. Sel dengan kepadatan 1×10^4 sel/sumuran didistribusikan ke dalam *plate* 96 sumuran dan diinkubasi selama 48 jam untuk beradaptasi dan menempel di dasar sumuran. Keesokannya media diambil, dicuci PBS kemudian ditambahkan 100 µL media kultur yang mengandung DMSO 0,2% saja (kontrol) atau sampel uji dalam bentuk tunggal (fraksi etanol daun waru) diinkubasi selama 48 jam. Pada akhir inkubasi, media kultur yang mengandung sampel dibuang, dicuci dengan 100 µL PBS. Kemudian ke dalam masing-masing sumuran ditambahkan 100 µL media kultur yang mengandung 5 mg/ml MTT, inkubasi lagi selama 4 jam pada suhu 37°C. Sel yang hidup akan bereaksi dengan MTT membentuk kristal formazan berwarna ungu. Setelah 4 jam, media yang mengandung MTT dibuang, dicuci PBS kemudian ditambahkan larutan *stopper* SDS dalam HCl 0,1% 200 µL untuk melarutkan kristal formazan. Digoyang di atas *shaker* selama 10 menit kemudian dibaca dengan dengan ELISA *reader* pada panjang gelombang 595 nm.

HASIL DAN PEMBAHASAN

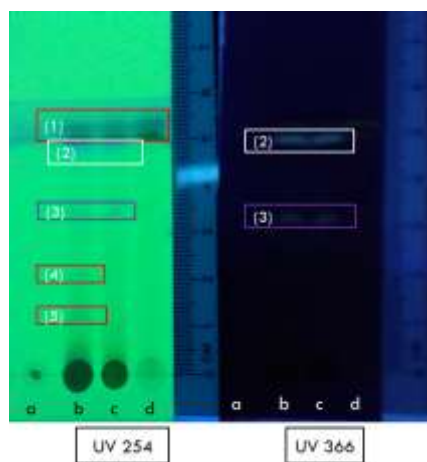
1. Ekstraksi dan Fraksinasi

Bahan baku simplisia yang digunakan diperoleh dari daerah Kasihan, Bantul. Dari 10 kg *Ageratum conyzoides* basah diperoleh 1,2 kg serbuk simplisia kering kemudian di ekstraksi sehingga dihasilkan 8,82 L ekstrak etanol *Ageratum conyzoides*. Diambil 800 ml ekstrak etanol kemudian di fraksinasi cair-cair dengan 800 ml kloroform sehingga dihasilkan 1,234 ml fraksi kloroform dan 350 ml sisa fraksi. Sebanyak 1 L fraksi kloroform

dikentalkan sehingga didapatkan 3,275 gram ekstrak kental fraksi kloroform *Ageratum conyzoides* dengan rendemen 0,327 % b/v.

2. Kromatografi Lapis Tipis

Uji pendahuluan dengan KLT untuk mendeteksi kandungan senyawa flavonoid dalam fraksi kloroform *Ageratum conyzoides* dengan fase diam silika gel 60 F₂₅₄ dan fase gerak kloroform. Plat kemudian diamati di bawah sinar UV 254 dan sinar UV 366. Berdasarkan uji KLT, fraksi kloroform positif mengandung senyawa flavonoid dengan nilai Rf 0,8 yang berpendar pada UV 366 dan berwarna biru pada UV 254.



Gambar 1. Profil KLT ekstrak dan fraksi *Ageratum conyzoides* (a)standar quersetin (b) ekstrak etanol (c) fraksi kloroform (d) fraksi hexan.

Senyawa flavonoid akan berpendar pada UV 254 dengan warna kuning atau ungu, beberapa senyawa flavonoid akan berpendar biru, sedangkan pada UV 366 fluoresensinya tergantung jenis semprot yang digunakan. Berdasarkan profil kromatografi lapis tipis, senyawa flavonoid terdapat pada bercak nomor 2 dengan warna pendaran ungu muda berupa flavonoid glikosida seperti quersetin glikosida (Cetkovic, *et al.*, 2003) dan bercak nomor 3 yang berpendar biru pada UV 254 nm dan kuning pada UV 366 nm menunjukkan kandungan senyawa flavon atau flavonon yang mengandung 5-OH (Markham, 1988).

Tabel 1. Profil Kromatografi Lapis Tipis Fraksi Kloroform *Ageratum conyzoides*

Nomor bercak	Nilai Rf	Warna bercak		Kandungan Flavonoid
		UV 254	UV 366	
1	0,90; 0,85	Biru Tua, hijau tua	-	-
2	0,80	Ungu Muda	Berpendar biru	+
3	0,56	Biru	Berpendar kuning	+
4	0,35	Coklat muda	-	-
5	0,21	Coklat muda	-	-

3. Molecular Docking Autodock Vina (In Silico)

Uji *in silico* juga digunakan untuk mengidentifikasi senyawa aktif (ligand) yang berpotensi menghambat aktivitas protein tertentu, mengetahui struktur tiga dimensi ligan-reseptor serta interaksi antara protein dan ligan yang diujikan secara komputasi. Kelebihan *molecular docking* adalah kemampuan memprediksi yang akurat (Ferreira, 2015).

Kekuatan ikatan antara ligand (senyawa uji) dan protein dapat dilihat dari nilai *score docking* yang menunjukkan energy afinitas ikatan, semakin kecil nilai *score docking*, maka semakin baik ikatan senyawa uji dan protein. Penelitian ini menggunakan protein Bcl-xl yang merupakan salah satu protein Bcl-2 yang bekerja sebagai antiapoptosis sel. Pada sel kanker, terdapat ekspresi protein Bcl-xl yang berlebihan sehingga menghambat proses apoptosis sel sehingga diharapkan senyawa yang diujikan dapat berikatan dengan protein Bcl-xl untuk menghambat kerjanya.

Tabel2. Hasil *Docking* Senyawa Uji terhadap Protein Bcl-xl

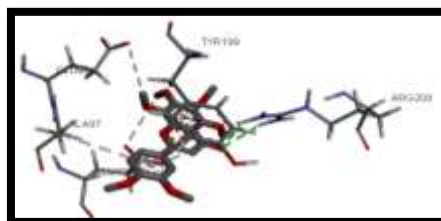
No.	Senyawa Uji	Konformasi	Nilai RMSD	Score Docking (kcal/mol)
1	Nobiletin	2	1,128	-8,0
2	5-FU	2	1,508	-4,7
3	Native Ligand 4FC	5	1,761	-6,9

Hasil *docking* dengan Autodock Vina dapat diketahui *score docking* yang menunjukkan energy ikatan antara protein dan senyawa uji. Berdasarkan hasil *docking* 3 senyawa uji, yaitu nobiletin (senyawa golongan flavonoid dalam *Ageratum conyzoides*), 5-Fluorourasil (Obat Kemoterapi), dan Native Ligand 4FC (Sebagai ligan asli protein Bcl-xl) menunjukkan bahwa Nobiletin pada konformasi kedua memiliki *score docking* terbaik dengan nilai -8,0 kcal/mol dibandingkan 5-FU dan 4FC dengan nilai *score docking* -4,7 dan -6,9 kcal/mol.




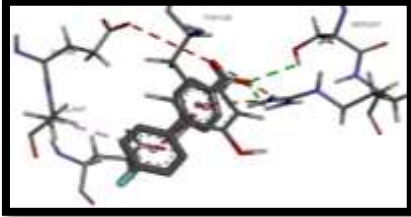
Nobiletin dan 4FC berikatan dengan 6 residu asam amino pada protein Bcl-xl, lebih banyak dari ikatan 5-FU dengan 3 residu asam amino sehingga kestabilan ikatan Nobiletin dan 4FC lebih baik daripada 5-FU terhadap protein Bcl-xl.

Tabel3. Potensi Ikatan Senyawa Uji dan Protein Bcl-xl

No.	Senyawa Uji	Potensi Ikatan Asam Amino
1	Nobiletin	Tiroksin (TYR199), Arginin (ARG208), Glutamin (GLU96 & 490), dan Alanin (ALA97)



Visualisasi ikatan antara nobiletin dan Bcl-xl

2	5-FU	Tiroksin (TYR177), Triptophan (TRP173) dan Histidin (HIS181)
		
Visualisasi ikatan antara 5-FU dan Bcl-x1		
3	Native Ligand 4FC	Tiroksin (TYR199), Serin (SER207), Glutamin (GLU96 & 490), dan Alanin (ALA97)
		
Visualisasi ikatan antara Native Ligand 4FC dan Bcl-x1		

Protein Bcl-x1 merupakan salah satu jenis protein Bcl-2 *family*, yaitu sekumpulan protein yang mengatur apoptosis dengan mempengaruhi permeabilitas *Mitochondrial Outer Membrane* (MOM) (Chipuk, J.E., *et al.*, 2010). Protein Bcl-2 *family* dibagi menjadi protein proapoptosis dan antiapoptosis, adapun Bcl-x1 masuk kelompok protein antiapoptosis yang akan berikatan dengan protein aktivator maupun protein Bcl-2 lainnya untuk menghasilkan apoptosis sel (Shamas-Din, A., *et al.*, 2013). Senyawa nobiletin memiliki aktivitas menurunkan ekspresi protein kelompok Bcl-2 (subkelas protein antiapoptosis) sehingga penghambatan pada protein antiapoptosis akan memudahkan sel untuk melakukan apoptosis (Luo, G., *et al.*, 2008). Berdasarkan hasil *molekuler docking*, senyawa nobiletin dalam *Ageratum conyzoides* memiliki nilai afinitas yang tinggi dengan protein Bcl-x1 sehingga potensial untuk dikembangkan sebagai agen kemopreventif.

4. Uji Sitotoksik MTT Assay (*In Vitro*)

MTT Assay adalah salah satu metode uji sitotoksik berdasarkan reaksi enzim suksinat dihidrogenase mitokondria sel kanker yang mereduksi garam MTT sehingga terbentuk kristal formazan yang berwarna ungu. Banyaknya sel hidup berbanding lurus dengan tingginya intensitas warna ungu pada sumuran sehingga dapat dibaca dengan ELISA *reader* (Mosmann, 1983). Hasil absorbansi yang dihasilkan kemudian dikonversi ke dalam % sel hidup dari setiap dosis pada masing-masing sampel kemudian dihitung nilai IC₅₀, yaitu konsentrasi dimana 50% sel kanker mati. Pada penelitian ini, nilai IC₅₀ fraksi

kloroform *Ageratum conyzoides* dibandingkan dengan IC₅₀ obat kemoterapi 5-Fluorourasil.

Tabel 4. Persen hidup sel HeLa dengan perlakuan fraksi kloroform *Ageratum conyzoides*

Konsentrasi (µg/ml)	Rata-rata Abs Sampel	Viabilitas sel (%)	Standar Deviasi	Profil Viabilitas sel HeLa
1,5625	0,873	94,45	10,91	
3,125	0,841	90,66	8,04	
6,25	0,799	85,70	3,95	
12,5	0,732	77,89	3,76	
25	0,554	56,99	3,36	
50	0,148	9,41	0,53	
Rata-rata Absorbansi	Kontrol Sel Media	0,912 0,067		
Persamaan	$y = -1.732x + 97.602$ $R^2 = 0,9967$ $IC_{50} = 27,48 \mu\text{g/ml}$			

Berdasarkan hasil uji sitotoksik terhadap fraksi kloroform *Ageratum conyzoides* menunjukkan bahwa pada konsentrasi terendah yaitu 1,5625 µg/ml sudah mampu membunuh 5,36% (100 - 94,45%), sedangkan pada konsentrasi tertinggi yaitu 50 µg/ml sudah mampu membunuh 90,59% (100 - 9,41%). Adapun nilai IC₅₀ fraksi kloroform adalah 27,48 µg/ml yang terletak antara kadar 25 µg/ml dan 50 µg/ml.

Tabel 3. Persen hidup sel HeLa dengan perlakuan 5-FU *Ageratum conyzoides*

Konsentrasi (µg/ml)	Rata-rata Abs Sampel	Viabilitas sel (%)	Standar Deviasi	Profil Viabilitas sel HeLa
1.69	0.778	83.32	7.19	
3.38	0.750	80.00	7.57	
9.76	0.755	80.59	2.38	
19.53	0.629	65.78	10.35	
39.06	0.475	47.82	2.01	
78.125	0.256	22.08	1.32	
Rata-rata Absorbansi	Kontrol Sel Media	0,921 0,067		
Persamaan	$y = -0.8183x + 83.932$ $R^2 = 0.983$ $IC_{50} = 41,46 \mu\text{g/ml}$			

Berdasarkan hasil uji sitotoksik terhadap 5-Fluorourasil *Ageratum conyzoides* menunjukkan bahwa pada konsentrasi terendah yaitu 1,69 µg/ml mampu membunuh 16,68% (100 – 83,32%), sedangkan pada konsentrasi tertinggi yaitu 78,125 µg/ml sudah mampu membunuh 79,92% (100 – 22,08%). Adapun nilai IC₅₀ 5-Fluorourasil adalah 41,46 µg/ml yang terletak antara kadar 39,06 µg/ml dan 78,125 µg/ml.

Fraksi kloroform *Ageratum conyzoides* dan 5-FU masing-masing memiliki nilai IC₅₀ 27,48 dan 41,46 µg/ml, jumlah sel kanker serviks Hela semakin menurun dengan peningkatan dosis. Nilai IC₅₀ yang diperoleh <100 µg/ml sehingga baik fraksi kloroform maupun 5-FU memiliki aktivitas sitotoksik yang kuat. Fraksi kloroform memiliki nilai IC₅₀ yang lebih rendah daripada 5-FU sehingga fraksi kloroform membutuhkan konsentrasi yang lebih kecil untuk membunuh 50% sel kanker serviks Hela dibandingkan 5-FU sebagai obat kemoterapi.

KESIMPULAN

1. Fraksi kloroform *Ageratum conyzoides* mengandung senyawa flavonoid yang dibuktikan dengan Uji KLT pada Rf 0,80 dan 0,56
2. Fraksi kloroform *Ageratum conyzoides* memiliki aktivitas sitotoksik yang kuat terhadap sel kanker serviks Hela dengan nilai IC₅₀ 27,48 µg/ml, lebih sitotoksik dari 5-FU dengan IC₅₀ 41,46 µg/ml.
3. Senyawa Nobiletin dalam *Ageratum conyzoides* lebih kuat interaksinya dengan protein Bcl-x1 dengan score docking -8,0 kcal/mol.

Berdasarkan hasil penelitian di atas, dapat disimpulkan bahwa Fraksi kloroform *Ageratum conyzoides* potensial untuk dikembangkan sebagai salah satu agen kemopreventif pada kanker serviks.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada dosen Pembimbing atas bimbingan, masukan dan sarannya selama penelitian dan penulisan artikel ini, juga kepada Laboratorium Teknologi Farmasi Universitas Muhammadiyah Yogyakarta dan kepada Laboratorium Parasitologi Universitas Gadjah Mada yang telah memberi sarana berlangsungnya penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Aziz, M.F., Andrijono, Saifuddin, A.B., (Eds.), 2006, *Buku Acuan Nasional Onkologi Ginekologi*, Jakarta: Yayasan Bina Pustaka Sarwono Prawiroharjo.
- Cetkovic, G.S., 2003, Thin Layer Chromatography analysis and scavenging activity of marigold (*Celendula officinalis* L.) extract, APTEFF, 34, 93-102.

- Chipuk, J.E., Moldoveanu, T., Llambi, F., Parsons, M.J., Green, D.R., 2010, The Bcl-2 Family Reunion, *Molecular Cell*, 37, 299-310.
- Ferreira, L.G., Santos, R.N., Oliva, G., Andricopulo, A.D., 2015, *Molecular Docking* and Structure-Based Drug Design Strategies, *Molecules*, 20, 13384-12421.
- Ganiswara, 1995, *Farmakologi Dan Terapi edisi IV*, Jakarta: UI.
- Hsiao, P.C., Lee, W.J., Yang, S.F., Tan, P., Chen, H.Y., Lee, L.M., Chang, J.L., Lai, G.M., Chow, J.M., Chien, M.H., 2014, Nobiletin suppresses the proliferation and induces apoptosis involving MAPKs and caspase-8/-9/-3 signals in human acute myeloid leukemia cells, *Tumor Biology*, 35(12), 11903-11911.
- Kakizoe, T., 2003, Chemoprevention of Cancer Focusing on Clinical Trial, National Cancer Center, *Jpn.J.Clin.Oncol.*, 33(9): 421-442.
- Luo, G., Guan, X., Zhou, L., 2008, Apoptotic effect of citrus extract nobiletin on lung cancer cell line A549 in vitro and in vivo, *Cancer Biology & Therapy*, 7(6), 966-973.
- Markham, K.R., 1998, *Cara Mengidentifikasi Flavonoid, Terjemahan Kosasih Padmawinata*, Bandung: ITB.
- Mosmann, 1983, Rapid Colorimetric Assay for Cellular Growth and Survival: Application of Proliferation and Cytotoxicity Assays, *Journal of Immunological Method*, 65, 55-63.
- Okunade, A. L., 2002, *Ageratum conyzoides L. (Asteraceae)*, *Fitoterapia*, 71, 1-16.
- Pusat Data dan Informasi Kementrian Kesehatan RI, 2015, *Situasi Penyakit Kanker*, Jakarta: Buletin Jendela Data dan Informasi Kesehatan
- Rahmawati, N., Kuswandi, 2012, Cytotoxic Effect of Ethanolic Extract of *Ageratum conyzoides L.* Against HeLa Cell Line, *International conference: research and application on traditional complementary and alternative medicine in health care (TCAM)*, Surakarta: Indonesia.
- Shamas-Din, A., Kale, J., Leber, B., Andrews, D.W., 2013, Mechanism of Action of Bcl-2 Family Proteins, *Cold Spring Herb Prespect Biol*, 5, 1-21.

LAMPIRAN-LAMPIRAN

Lampiran 1. Biodata Ketua, Anggota, dan Dosen Pendamping

1.1 Biodata Ketua Peneliti

A. Identitas Diri

1	Nama Lengkap	Titi Komalasari
2	Jenis Kelamin	P
3	Program Studi	Farmasi
4	NIM	20130350110
5	Tempat dan Tanggal Lahir	Bima, 23 Oktober 1996
6	E-mail	komalasarit96@gmail.com
7	Nomor Telepon/HP	082324269556

B. Riwayat Pendidikan

	SD	SMP	SMA
Nama Institusi	SDN 37 Kota Bima	SMPN 4 Kota Bima	SMAN 1 Kota Bima
Jurusan	-	-	IPA
Tahun Masuk-Lulus	2002-2007	2007-2010	2010-2013

C. Pemakalah Seminar Ilmiah (*Oral Presentation*)

No.	Nama Pertemuan Ilmiah / Seminar	Judul Artikel Ilmiah	Waktu dan Tempat
1	2 nd International Conference of Medical and Health Sciences & 2 nd Life Science Conference	Combination Cloroform Fraction of Bandotan (<i>Ageratum conyzoides</i> L.) and 5-Fluorouracil as Co-Chemotherapy Agent in HeLa Cervical Cancer Cell Line based <i>In Vitro</i> and <i>In Silico</i> Study (On Going Research)	Yogyakarta, 9-10 Desember 2016 di The Alana Hotel Yogyakarta

D. Penghargaan dalam 10 tahun Terakhir (dari pemerintah, asosiasi atau institusi lainnya)

No.	Jenis Penghargaan	Institusi Pemberi Penghargaan	Tahun
1	Finalis Lomba Pasiad tingkat SMP se-NTB	Pasiad	2010
2	Juara 1 Olimpiade Kimia Tingkat Kota Bima	Dikpora Kota Bima	2012
3	Juara 1 Olimpiade Kimia 'KNKB' Ibnu Sina tingkat Kota Bima	Departemen Agama Kota Bima	2012

4	Best Oral Presentator di 2 nd International Conference of Medical and Health Sciences & 2 nd Life Science Conference	ICMHS 2016	2016
---	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	------------	------

Semua data yang saya isikan dan tercantum dalam biodata ini adalah benar dan dapat dipertanggungjawabkan secara hukum. Apabila di kemudian hari ternyata dijumpai ketidaksesuaian dengan kenyataan, saya sanggup menerima sanksi.

Demikian biodata ini saya buat dengan sebenarnya untuk memenuhi salah satu persyaratan dalam pengajuan Hibah PKM Artikel Ilmiah

Yogyakarta, 06 Februari 2017

Pengusul,



(Titi Komalasari)

1.2 Anggota 1

A. Identitas Diri

1	Nama Lengkap	Ega Hida Prabowo
2	Jenis Kelamin	Perempuan
3	Program Studi	Farmasi
4	NIM	20140350039
5	Tempat dan Tanggal Lahir	Palembang, 19 April 1995
6	E-mail	egahidaprabowo@gmail.com
7	Nomor Telepon/HP	081392912861

B. Riwayat Pendidikan

	SD	SMP	SMA
Nama Institusi	SD Muhammadiyah sapan nitikan	SMP Yogyakarta	SMA Negeri 5 Yogyakarta
Jurusan	-	-	IPA
Tahun Masuk- Lulus	2002-2007	2007-2010	2010-2013

C. Pemakalah Seminar Ilmiah (*Oral Presentation*)

No.	Judul Seminar	Waktu dan Tempat
1	-	-

D. Penghargaan dalam 10 tahun Terakhir (dari pemerintah, asosiasi atau institusi dan lainnya)

No.	Jenis Penghargaan	Nama Institusi Pemberi Penghargaan	Tahun
1	-	-	-

Semua data yang saya isikan dan tercantum dalam biodata ini adalah benar dan dapat dipertanggungjawabkan secara hukum. Apabila di kemudian hari ternyata dijumpai ketidaksesuaian dengan kenyataan, saya sanggup menerima sanksi.

Demikian biodata ini saya buat dengan sebenarnya untuk memenuhi salah satu persyaratan dalam pengajuan Hibah PKM-P.

Yogyakarta, 04 Februari 2017

Pengusul,



(Ega Hida Prabowo)

NIM. 20140350039

A. Identitas Diri

1	Nama Lengkap	Aulia Rahma
2	Jenis Kelamin	P
3	Program Studi	Farmasi
4	NIM	20150350087
5	Tempat dan Tanggal Lahir	Sukoharjo, 21 Juli 1997
6	E-mail	auliarahma217@gmail.com
7	Nomor Telepon/HP	081225364595

B. Riwayat Pendidikan

	SD	SMP	SMA
Nama Institusi	SDIT Mutiara Insan	SMPIT Abu Bakar Yk	SMAIT Nur Hidayah
Jurusan	Umum	Umum	IPA
Tahun Masuk-Lulus	2003-2009	2009-2012	2012-2015

C. Pemakalah Seminar Ilmiah (*Oral Presentation*)

No.	Nama Pertemuan Ilmiah / Seminar	Judul Artikel Ilmiah	Waktu dan Tempat
1			
2			
3			

D. Penghargaan dalam 10 tahun Terakhir (dari pemerintah, asosiasi atau institusi lainnya)

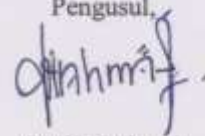
No.	Jenis Penghargaan	Institusi Pemberi Penghargaan	Tahun
1	Peserta Pelatihan " <i>Basic Life Support</i> "	Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UMY	2015
2	Peserta Olimpiade Farmasi Nasional " <i>PHARMADAYS</i> "	Fakultas Farmasi UGM	2016
3	Peserta Seminar Nasional "Spesialisasi Apoteker untuk Mencetak Apoteker yang Kompeten di Era MEA"	Fakultas Farmasi UGM	2016
4	Semifinalis Debat Olimpiade Farmasi Klinik Indonesia (OFKI)	Fakultas Farmasi UNPAD	2016

Semua data yang saya isikan dan tercantum dalam biodata ini adalah benar dan dapat dipertanggungjawabkan secara hukum. Apabila di kemudian hari ternyata dijumpai ketidaksesuaian dengan kenyataan, saya sanggup menerima sanksi.

Demikian biodata ini saya buat dengan sebenarnya untuk memenuhi salah satu persyaratan dalam pengajuan Hibah PKM Artikel Ilmiah

Yogyakarta, 06 Februari 2017

Pengusul,



(Aulia Rahma)

A. Identitas Diri

1	Nama Lengkap	Nabila Kaulika
2	Jenis Kelamin	P
3	Program Studi	Farmasi
4	NIM	20150350085
5	Tempat dan Tanggal Lahir	Sleman, 11 Agustus 1997
6	E-mail	nabilakaulika@gmail.com
7	Nomor Telepon/HP	085643717700

B. Riwayat Pendidikan

	SD	SMP	SMA
Nama Institusi	SDN Padokan 1	SMPN 16 Yogyakarta	SMAN 5 Yogyakarta
Jurusan	-	-	IPA
Tahun Masuk-Lulus	2003-2009	2009-2012	2012-2015

C. Pemakalah Seminar Ilmiah (*Oral Presentation*)

No.	Nama Pertemuan Ilmiah / Seminar	Judul Artikel Ilmiah	Waktu dan Tempat
1			
2			
3			

D. Penghargaan dalam 10 tahun Terakhir (dari pemerintah, asosiasi atau institusi lainnya)

No.	Jenis Penghargaan	Institusi Pemberi Penghargaan	Tahun
1	Peserta Pelatihan Basic Life Support	Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UMY	2015
2	Peserta Seminar Nasional "Management of Disaster and Shock Therapy"	Program Studi Farmasi FKIK UMY	2016
3	Peserta Olimpiade Farmasi tingkat Nasional "PHARMADAYS"	Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada	2016
4	Peserta Seminar Nasional "Spesialisasi Apoteker untuk Mencetak Apoteker yang Kompeten di Era MEA"	Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada	2016
5	Peserta Seminar Nasional & Talkshow Kefarmasian "Strategi Apoteker untuk Menghadapi Masyarakat Ekonomi ASEAN (MEA) dengan Peningkatan Daya Saing"	Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada	2016

Semua data yang saya isikan dan tercantum dalam biodata ini adalah benar dan dapat dipertanggungjawabkan secara hukum. Apabila di kemudian hari ternyata dijumpai ketidaksesuaian dengan kenyataan, saya sanggup menerima sanksi.

Demikian biodata ini saya buat dengan sebenarnya untuk memenuhi salah satu persyaratan dalam pengajuan Hibah PKM-AI.

Yogyakarta, 6 Februari 2017
Pengusul,



(Nabila Kaulika)
NIM:20150350085

1.5. Dosen Pendamping

A. Identitas Diri

1	Nama Lengkap	Rifki Febriansah, S.Farm., M.Sc., Apt.
2	NIDN	0527028701
3	Instansi	Universitas Muhammadiyah Yogyakarta
4	Tempat dan Tanggal Lahir	Bantul, 27 Februari 1987
5	Jenis Kelamin	Pria
6	E-mail	briansyah_rifki@yahoo.com
7	Nomor Telepon/HP	081804042212
8	Pangkat/Golongan	Asisten ahli / IIIB
9	Jabatan Struktural	-

B. Riwayat Pendidikan

	S1	S2	S3
Nama Institusi	UGM	UGM	UGM
Bidang Ilmu	Farmasi	Farmasi Sains	Ilmu biomedis
Tahun Masuk-Lulus	2005-2009	2010-2012	2016-sekarang

C. Pemakalah Seminar Ilmiah (*Oral Presentation*)

No.	Nama Pertemuan Ilmiah / Seminar	Judul Artikel Ilmiah	Waktu dan Tempat
1	Indonesian Society of Cancer Chemoprevention (ISCC)	Mechanism of Hesperidin as Preventive Resistance Agent in MCF-7 Breast Cancer Cells Line Resistant Doxorubicin By Inducing Cell Death And Inhibiting Pgp Expression	October 9 th 2010, Yogyakarta
2	2nd International Conference on Pharmacy and Advance Pharmaceutical Sciences (ICPAPS)	Study of Hesperidin as Preventive Resistance Agent in MCF-7 Breast Cancer Cell Lines Resistant Doxorubicin	July 20 th 2011, Yogyakarta
3	Indonesian-Japan Joint Scientific Symposium (IJSS)	Mechanism of Hesperidin as Preventive Resistance Agent in MCF-7 Breast Cancer Cells Line Resistant Doxorubicin By Inducing	July 24 th – 30 th 2012, Japan

	Symposium (IJSS)	in MCF-7 Breast Cancer Cells Line Resistant Doxorubicin By Inducing Cell Death And Inhibiting Pgp Expression	
4	24 th Federation of Asia Pharmaceutical Associations Congress (FAPA)	In-vitro Study og K-PGV-0 as Co-Chemotherapy Agent with Doxorubicin on HeLa Cervic Cancer Cell Line	September 13 rd – 16 th 2012, Bali

D. Penghargaan dalam 10 tahun Terakhir (dari pemerintah, asosiasi atau institusi lainnya)

No.	Jenis Penghargaan	Institusi Pemberi Penghargaan	Tahun
1	Beasiswa Pascasarjana Master	Dikti	2011-2012
2	Beasiswa Pascasarjana doktoral	LPDP	2016
3	Juara 1 pemilihan Peneliti Remaja Indonesia	LIPi	2009
4	Mahasiswa Berprestasi UGM	UGM	2009
5	Mahasiswa Berprestasi Farmasi UGM	Farmasi UGM	2009

Semua data yang saya isikan dan tercantum dalam biodata ini adalah benar dan dapat dipertanggungjawabkan secara hukum. Apabila di kemudian hari ternyata dijumpai ketidaksesuaian dengan kenyataan, saya sanggup menerima sanksi.

Demikian biodata ini saya buat dengan sebenarnya untuk memenuhi salah satu persyaratan dalam pengajuan Hibah PKM Artikel ilmiah

Yogyakarta, 06 Februari 2017
Dosen Pendamping,



(Rifki Febriansah, M.Sc., Apt)
NIDN. 0527028701



UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH YOGYAKARTA

Kampus Terpadu : Jl. Lingkar Barat, Tamantirto, Kasihan, Yogyakarta, 55183
Telp. (0274) 387656 (hunting) Fax. (0274) 387646

Lampiran 2

SURAT PERNYATAAN KETUA PENELITI/PELAKSANA

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama	: Titi Komalasari
NIM	: 20130350110
Program Studi	: Farmasi
Fakultas	: Kedokteran dan Ilmu Kesehatan

Dengan ini menyatakan bahwa usulan PKM Artikel Ilmiah saya dengan judul: Penelusuran Potensi Kemopreventif Fraksi Kloroform Bandotan (*Ageratum conyzoides*) terhadap Sel Kanker Serviks HeLa melalui Uji Sitotoksik dan *Molecular Docking* yang diusulkan untuk tahun anggaran 2017 bersifat original dan belum pernah dipublikasikan di proseding maupun jurnal manapun.

Bilamana di kemudian hari ditemukan ketidaksesuaian dengan pernyataan ini, maka saya bersedia dituntut dan diproses sesuai dengan ketentuan yang berlaku dan mengembalikan seluruh biaya penelitian yang sudah diterima ke kas negara.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan sesungguhnya dan dengan sebenar-benarnya.

Yogyakarta, 16 Februari 2017

Mengetahui,
Wakil Rektor Bidang Kemahasiswaan

Ir. Sri Atmaja H. Rosyidi ST, M.Sc.Eng., Ph.D.
NIK. 19780411200004123046

yatakan,
(Titi Komalasari)
NIM.20130350110

Surat Pernyataan Sumber Tulisan PKM-AI

Saya yang menandatangani Surat Pernyataan ini:

- Nama : Titi Komalasari
- NIM : 20130350110

- 1) Menyatakan bahwa PKM-AI yang saya tuliskan bersama anggota tim lainnya benar bersumber dari kegiatan yang telah dilakukan:
 - Penelitian Kelompok Penelitian Antikanker Universitas Muhammadiyah Yogyakarta (UMY) oleh penulis bukan oleh pihak lain dengan judul Penelusuran Potensi Kemopreventif Fraksi Kloroform Bandotan (*Ageratum conyzoides*) terhadap Sel Kanker Serviks HeLa melalui Uji Sitotoksik dan *Molecular Docking*.
 - Topik Kegiatan : Biologi Farmasi
 - Tahun pelaksanaan 2016 dan tempat pelaksanaan di laboratorium penelitian FKIK UMY dan laboratorium parasitology FK UGM.
- 2) Naskah ini belum pernah diterbitkan/dipublikasikan dalam bentuk prosiding maupun jurnal sebelumnya.

Demikian Surat Pernyataan ini dibuat dengan penuh kesadaran tanpa paksaan pihak manapun juga untuk dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Yang Membuat Pernyataan



(Titi Komalasari)
NIM. 20130250110

Yogyakarta, 06 Februari 2017

Mengetahui/Menyetujui
Ketua Program Studi



(Sabtanti Harimurti, Ph.D., Apt)
NIK. 19730223201310173127