

**SKRIPSI**  
**AKTIVITAS ANTIANGIOGENESIS METABOLIT**  
**SEKUNDER BAKTERI *ACTINOMYCETES* SIMBION**  
**SPONS DENGAN METODE CAM (CHORIO**  
**ALLANTOIC MEMBRANE)**

**ANTIANGIOGENESIS ACTIVITY OF SECONDARY**  
**METABOLITE BACTERIA *ACTINOMYCETES***  
**SIMBION SPONS BY CAM (CHORIO ALLANTOIC**  
**MEMBRANE) METHOD**

Disusun dan diajukan oleh

**ANISAH**  
**N011 17 1532**



**PROGRAM STUDI FARMASI**  
**FAKULTAS FARMASI**  
**UNIVERSITAS HASANUDDIN**  
**MAKASSAR**  
**2021**

**AKTIVITAS ANTIANGIOGENESIS METABOLIT SEKUNDER BAKTERI  
ACTINOMYCETES SIMBION SPON DENGAN METODE CAM (CHORIO  
ALLANTOIC MEMBRANE)**

**ANTIANGIOGENESIS ACTIVITY OF SECONDARY METABOLITE  
BACTERIA ACTINOMYCETES SIMBION SPONS BY CAM (CHORIO  
ALLANTOIC MEMBRANE) METHOD**

SKRIPSI

untuk melengkapi tugas-tugas dan memenuhi  
syarat-syarat untuk mencapai gelar sarjana

**ANISAH  
N011 17 1532**

**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2021**

**AKTIVITAS ANTIANGIOGENESIS METABOLIT SEKUNDER BAKTERI  
ACTINOMYCETES SIMBION SPON DENGAN METODE CAM (CHORIO  
ALLANTOIC MEMBRANE)**

**ANISAH**

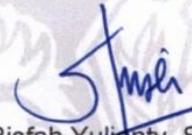
**N011 17 1532**

Disetujui oleh :

Pembimbing Utama

Pembimbing Pendamping

  
Dr. Herlina Rante, S.Si., M.Si., Apt.  
NIP. 19771125 200212 2 003

  
Dr. Risfah Yulianty, S.Si., M.Si., Apt..  
NIP. 19780716 200312 2 001

Pada tanggal 07/06/2021

**LEMBAR PENGESAHAN**

**AKTIVITAS ANTIANGIOGENESIS METABOLIT SEKUNDER BAKTERI  
ACTINOMYCETES SIMBION SPONS DENGAN METODE CAM  
(CHORIO ALLANTHOIC MEMBRANE)**

**ANTIANGIOGENESIS ACTIVITY OF SECONDARY METABOLITE  
BACTERIA ACTINOMYCETES SIMBION SPONS BY CAM (CHORIO  
ALLANTHOIC MEMBRANE) METHOD**

Disusun dan diajukan oleh:

**ANISAH  
N011 17 1532**

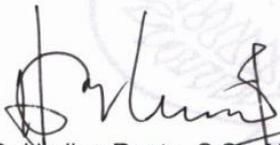
Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka  
Penyelesaian Studi Program Sarjana Fakultas Farmasi Universitas  
Hasanuddin

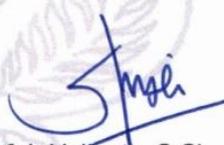
pada Tanggal 31/05/21  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui

Pembimbing Utama

Pembimbing Pendamping

  
Dr. Herlina Rante, S.Si., M.Si., Apt.  
NIP. 19771125 200212 2 003

  
Dr. Risfah Yulianty, S.Si., M.Si., Apt.  
NIP. 19780716 200312 2 001

Plt. Ketua Prodi S1 Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin



Prof. Dr. rer.nat Marianti A. Manggau, Apt.  
NIP. 19670319 199203 2 002

## PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini ;

Nama : Anisah  
NIM : N011171532  
Program Studi : Farmasi  
Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa Skripsi dengan judul Aktivitas Antiangiogenesis Metabolit Sekunder Bakteri *Actinomyces* Symbion Spons dengan Metode CAM (*Chorio Allantoic Membrane*) adalah karya saya sendiri dan tidak melanggar hak cipta pihak lain. Apabila di kemudian hari skripsi karya saya ini terbukti bahwa sebagian atau keseluruhannya adalah hasil karya orang lain yang saya pergunakan dengan cara melanggar hak cipta pihak lain, maka saya bersedia menerima sanksi.

Makassar, 31/05/2021

Yang Menyatakan

  
Anisah

## UCAPAN TERIMA KASIH

Segala puji ke hadirat Allah *subhanahu wa ta'ala*, atas kesempatan dan kesehatan yang senantiasa diberikan kepada penulis untuk menyelesaikan penelitian serta tugas akhir Skripsi. Syukur Alhamdulillah atas Hidayah-Nya sehingga skripsi yang berjudul “Aktivitas Antiangiogenesis Metabolit Sekunder Bakateri *Actinomycetes* Symbio Spons dengan Metode *Chorio Allantoic Membrane (CAM)*” telah selesai. Tidak lupa shalawat serta salam kepada junjungan Nabi Besar Muhammad *shallallahu alaihi wasallam*, yang menjadi suri tauladan bagi seluruh umat. Perjuangan yang panjang untuk menyelesaikan penelitian dan skripsi tidak lepas dari bantuan banyak pihak. Dalam menyelesaikan skripsi sebagai tugas akhir untuk memperoleh gelar sarjana, dengan hormat dan tulus penulis menyampaikan terima kasih dengan penuh rasa hormat kepada:

1. Dekan, Wakil Dekan, dan para dosen serta seluruh staf Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin yang telah memberikan ilmu, bimbingan dan membantu penulis dalam menyelesaikan pendidikan, penelitian dan skripsi penulis.
2. Para pembimbing, yaitu Ibu Dr. Herlina Rante, S.Si., M.Si., Apt., selaku pembimbing utama dan Ibu Dr. Risfah Yulianty, S.Si. M.Si., Apt., selaku pembimbing pendamping yang senantiasa meluangkan waktunya dalam memberikan masukan, bantuan, bimbingan dan saran dalam menyelesaikan penelitian dan skripsi penulis.

3. Para penguji, yaitu Bapak Usmar, S.Si., M.Si., Apt., dan Bapak Anshar Saud, S.Si., M.Farm., Apt., yang senantiasa memberikan kritik dan saran perbaikan kepada penulis.
4. Seluruh staf Fakultas Farmasi atas segala fasilitas yang diberikan selama penulis menempuh studi hingga menyelesaikan penelitian ini.
5. Kepada kedua orangtua yang sangat saya hormati dan cintai, ayahanda H. Lababa dan Ibunda Hj. Rahmah dengan tulus memberi doa dan dukungan moral serta bantuan berupa material disetiap langkah dalam menjalani perkuliahan, penelitian dan penyelesaian penyusunan skripsi penulis. Semoga Allah senantiasa menjaga dan melindungi kita.
6. Korps Asisten Laboratorium Mikrobiologi yang senantiasa memberi semangat kepada penulis dalam menyelesaikan penelitian dan skripsi ini.
7. Teman-teman sepenelitian, Nurul Inayah Muhtar dan Andi Nur Aulia El Firman yang telah membantu penulis dari awal pengerjaan penelitian hingga selesai dan juga dalam menyusun skripsi ini.
8. Teman-teman pondok Alhamdulillah, Andita Ayu Hapsari, Dinda Maharani Jamil Latif, dan Shabrina Zahra Annisa yang telah membantu penulis, memberikan semangat, serta dukungan dalam menyusun skripsi ini.
9. Sahabat dekat penulis Sri Resky Handayani, Uswati Niswah, Risky Nurcahyani Rachmat, Farhan Zulfadly dan Megatri Satria, serta teman-

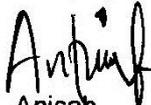
teman seperjuangan selama di Farmasi (CLOSTRIDIUM) dan Keluarga Besar Mahasiswa Fakultas Farmasi yang telah membantu dan memberikan semangat selama perkuliahan.

10. Teman penulis Aswar dari Fakultas Peternakan sehingga penulis mendapatkan banyak bantuan tenaga dan ilmu mengenai perawatan dan penanganan telur ayam sehingga penelitian penulis dapat terselesaikan.

11. Pihak yang tidak sempat disebut namanya satu persatu. Penulis menghaturkan terima kasih secara tulus.

Dalam penyusunan skripsi ini, penulis menyadari masih ada beberapa kekurangan dan masih jauh dari kesempurnaan, oleh karena itu saran dan kritik dibutuhkan untuk kelengkapan penyusunan selanjutnya. Semoga penelitian dan skripsi yang penulis lakukan bernilai ibadah dan bermanfaat.

Makassar, ~~10~~ 2021

  
Anisah

## ABSTRAK

**ANISAH.** Aktivitas Antiangiogenesis Metabolit Sekunder Bakteri *Actinomycetes* Simbion Spons Dengan Metode CAM (*Chorio Allantoic Membrane*) (dibimbing oleh Herlina Rante dan Risfah Yulianti).

Angiogenesis merupakan proses pembentukan pembuluh darah baru, proses yang penting dalam perkembangan embrio. Angiogenesis juga memiliki peran penting dalam patogenesis tumor. Pada penyakit kanker, proses ini merupakan proses untuk perkembangan dan pertumbuhan tumor padat melebihi 2–3 mm<sup>3</sup>. Bakteri *Actinomycetes* yang diisolasi dari lingkungan laut, diketahui memiliki metabolit dengan aktivitas antikanker yang baik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antiangiogenesis metabolit sekunder bakteri *actinomycetes* simbion spon dengan metode *chorio allantoic membrane* menggunakan telur ayam berusia 9 hari yang diinduksi bFGF 10 ng. Ekstrak etil asetat isolat *actinomycetes* BCD2-02a diberikan dengan variasi dosis 0,0625 µg; 0,125 µg; 0,25 µg; dan 0,5 µg mampu menghambat terjadinya angiogenesis. Berdasarkan analisis data statistik menunjukkan bahwa semua perlakuan yang diberikan ekstrak berbeda signifikan ( $p < 0,05$ ) dengan kontrol penginduksi bFGF yang tidak diberikan ekstrak. Dengan demikian, penelitian ini dapat disimpulkan bahwa metabolit sekunder bakteri *actinomycetes* simbion spon mampu menghambat terjadinya angiogenesis.

Kata kunci : Simbion spon, Angiogenesis, CAM, bFgF, *Actinomycetes*

## ABSTRACT

**ANISAH.** Angiogenesis activity of secondary metabolite bacteria actinomycetes symbiont sponges by CAM (*Chorio Allantoic Membrane*) method. (supervised by Herlina Rante and Risfah Yulianti)

Angiogenesis is the process of forming new blood vessels, an important process in embryonic development. Angiogenesis also has an important role in tumor pathogenesis. In cancer, this process is a process for the development and growth of solid tumors exceeding 2–3 mm<sup>3</sup>. Actinomycetes bacteria isolated from the marine environment are known to have metabolites with good anticancer activity. This study aims to determine the antiangiogenesis activity of secondary metabolites of *actinomycetes* symbiont sponge bacteria using the chorio allantoic membrane method using 9 days old chicken eggs induced by 10 ng bFGF. Ethyl acetate extract of actinomycetes isolate BCD2-02a was given with a variation of doses of 0.0625 µg; 0.125 µg; 0.25 µg; and 0.5 µg that can inhibit angiogenesis. Based on statistical data analysis, it shows that all treatments given extracts were significantly different ( $p < 0.05$ ) from the bFGF-induced control that was not given the extract. Thus, this study can be concluded that the secondary metabolites of spongy *actinomycetes* symbiont bacteria can inhibit the occurrence of angiogenesis.

Keywords : Sponge symbionts, Angiogenesis, CAM, bFGF, *Actinomycetes*

## DAFTAR ISI

	halaman
PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI	v
UCAPAN TERIMA KASIH	vi
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
I.1. Latar Belakang	1
I.2. Rumusan Masalah	3
I.3. Tujuan Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
II.1. Spons	4
II.2. Actinomycetes	5
II.3. Kanker	11
II.4. Angiogenesis	12
II.5. bFGF	13
II.6. CAM ( <i>Chorio Allantoic Membrane</i> )	14
BAB III METODE PENELITIAN	16

III.1. Waktu dan Lokasi Penelitian	16
III.2. Alat dan Bahan	16
III.3 Metode Kerja	16
III.3.1 Penyiapan Sampel	16
III.3.2 Pembuatan medium SNA ( <i>Starch Nitrate Agar</i> )	17
III.3.3 Pembuatan medium SNB ( <i>Starch Nitrate Broth</i> )	17
III.3.4 Fermentasi Isolat <i>Actinomyces</i>	17
III.3.5 Ekstraksi Hasil Fermentasi	17
III.4 Uji Antiangiogenesis	18
III.4.1 Sterilisasi Alat	18
III.4.2 Preparasi sediaan uji	18
III.4.3 Uji aktivitas angiogenesis	18
III.4.4 Analisis Data	20
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	22
IV.1. Peremajaan Metabolit <i>Actinomyces</i> BCD02-2a Symbion Spons	22
IV.2. Fermentasi dan Ekstraksi Isolat <i>Actinomyces</i> BCD02-2a	22
IV.3. Uji Antiangiogenesis	23
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	29
V.1. Kesimpulan	29
V.2. Saran	29
DAFTAR PUSTAKA	30
LAMPIRAN	33

## DAFTAR TABEL

Tabel	halaman
1. Hasil pengamatan respon antiangiogenesis	29

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	halaman
1. Isolat bakteri Actinomyces BCD2-02a	22
2. Respon angiogenesis kelompok kontrol	26
3. Isolat bakteri Actinomyces	37
4. Hasil fermentasi	37
5. Proses ekstraksi	37
6. Hasil ekstraksi	37
7. Kontrol <i>paper disc</i>	38
8. Kontrol bFGF	38
9. Kontrol DMSO	38
10. Kontrol DMSO + bFGF	38
11. 0,0625 µg ekstrak uji + bFGF	39
12. 0,125 µg ekstrak uji + bFGF	39
13. 0,25 µg ekstrak uji + bFGF	39
14. 0,5 µg ekstrak uji + bFGF	39

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	halaman
1. Skema Kerja Penelitian	31
2. Data Hasil Analisis Statistika	34
3. Dokumentasi Penelitian	36

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **I.1 Latar Belakang**

Angiogenesis merupakan proses pembentukan pembuluh darah baru, proses yang penting dalam perkembangan embrio, siklus reproduksi wanita, dan penyembuhan luka. Angiogenesis juga memiliki peran penting dalam patogenesis tumor. Pada penyakit kanker, proses ini merupakan proses yang tidak terhindarkan untuk perkembangan dan pertumbuhan tumor padat melebihi 2–3 mm<sup>3</sup>. Pembentukan pembuluh darah baru diperlukan untuk menopang penyebaran sel tumor (Abdolmaleki et al., 2016).

Berbagai upaya telah dilakukan untuk mengembangkan terapi kanker. Pencarian obat antikanker baru merupakan prioritas utama, dengan toksisitas yang rendah dan efek terapeutik yang lebih besar terhadap sel kanker. Asupan nutrisi melalui pembuluh darah untuk tumbuh dan berkembang sangat diperlukan oleh sel-sel kanker sehingga sel-sel kanker dapat mengeluarkan zat pertumbuhan untuk merangsang pembentukan pembuluh darah baru (angiogenesis) untuk memenuhi suplai nutrisinya (Mustafida et al., 2015). Oleh karena itu, terapi antiangiogenesis bertujuan untuk menghentikan pembentukan pembuluh darah baru sehingga sel tumor atau sel kanker akan mati. (Abdalla et al., 2018). Uji antiangiogenesis secara in vivo menggunakan CAM (Chorio

Allantoic Membran menggunakan telur ayam berembrio karena vaskularisasi pembuluh darah yang luas, mudah dilihat, murah, masa eksperimen lebih pendek, dan diferensiasi pembuluh darah yang baik (Ribatti, 2010).

Penelitian bahan alam telah banyak digunakan sebagai sumber antikanker baru yang menjanjikan. Bakteri Actinomycetes yang diisolasi dari lingkungan laut, diketahui memiliki metabolit dengan aktivitas antikanker yang baik. Telah dilaporkan bahwa lebih dari 10.000 metabolit sekunder bioaktif diproduksi oleh *actinomycets*, 70% di antaranya memiliki aktivitas antikanker (Davies-Bolorunduro *et al.*, 2019).

Data dari *National Cancer Institute* (2005) menunjukkan bahwa beberapa biota laut memiliki aktivitas biologi dan salah satunya yaitu spons. Lebih dari 20 senyawa bioaktif yang berbeda-beda dari spons telah ditemukan sebagai antikanker. *Actinomycetes* merupakan kelompok mikroba yang paling banyak menghasilkan senyawa bioaktif antikanker. Salah satu genus dari kelompok *Actinomycetes* yaitu *Streptomyces*, terbukti merupakan genus penghasil terbanyak antikanker. Hasil-hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa telah banyak senyawa aktif antikanker yang dihasilkan dari *Actinomycetes*.

*Actinofuranon* salah satu contoh antikanker kelompok poliketida yang dihasilkan oleh *Streptomyces sp. arenamida*, antikanker kelompok non ribosomal peptida yang dihasilkan oleh *Salinispora arenicola* CNT-088, T-Murolol, antikanker kelompok isoprenoid yang dihasilkan oleh

*Streptomyces* sp. M491, dan 3,6- indoles disubstitusi, antikanker kelompok indol yang dihasilkan oleh *Streptomyces* sp. BL-49-58-005 (Rambabu et al., 2015). Beberapa contoh poliketida lainnya yang diproduksi oleh *Streptomyces* adalah *rapamycin*, *oleandomycin*, *actinorhodin*, *daunorubicin*, dan *caprazamycin* (Risidian et al., 2019).

Pengujian aktivitas antikanker *Actinomycetes* spons yang dilakukan oleh Davies-Bolorunduro et al., (2019) dengan konsentrasi di bawah 1 mg/mL metabolit bioaktif dalam penelitian bersifat toksik terhadap *cell lines* oleh karna itu metabolit tersebut berpotensi untuk dikembangkan sebagai terapi antikanker.

Berdasarkan hal tersebut, maka penelitian ini dilakukan untuk mengetahui adanya aktivitas antiangiogenesis dari metabolit sekunder bakteri *Actinomycetes* simbion spons menggunakan metode *chorio allantoic membrane* (CAM).

## **I.2 Rumusan Masalah**

Apakah hasil metabolit sekunder dari bakteri *Actinomycetes* simbion BCD2-02a spons memiliki aktivitas antiangiogenesis?

## **I.3 Tujuan Penelitian**

Tujuan dilakukannya penelitian ini untuk mengetahui aktifitas antiangiogenesis metabolit sekunder dari bakteri *Actinomycetes* BCD2-02a simbion spons metode *chorio allantoic membrane* (CAM).

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **II.1 Spons**

Spons merupakan salah satu produk alami yang berasal dari laut yang sangat berharga karena berasal dari filum metazoan tertua yang masih ada sampai sekarang, yang memiliki bentuk berpori dan multisel koloni yang dapat menghasilkan berbagai metabolit sekunder. Metabolit sekunder yang dihasilkan sebagian besar merupakan golongan alkaloid bersifat toksik yang baik dan mempunyai peran penting sebagai senyawa pertahanan dan melindungi diri dari pemangsa dan organisme pengotoran (Jones, *et al.*, 2005).

spon adalah filter yang efisien pengumpan, penting untuk kesehatan dan ekonomi semua sistem kelautan oleh menghubungkan nutrisi kolom perairan terbuka dengan komunitas bentik. Simbion spons memainkan peran yang menentukan dalam siklus nitrogen banyak habitat dan dapat berkontribusi secara signifikan produksi organik di habitat oligotrofik. Spons khusus adalah bio-eroder penting di terumbu karang, dasar koral dan tempat tidur tiram dan mereka mungkin berhasil bersaing dengan sessile lainnya organisme seperti karang. Kelompok tertentu memiliki yang esensial berfungsi untuk mengikat substrat yang tidak terkonsolidasi seperti pecahan karang dan kerikil menjadi permukaan yang stabil. Banyak fosil spons dan yang kecil Sekelompok spons terkini

mampu membangun terumbu karang yang luas formasi yang saat ini, di beberapa lokasi, membentuk kontur benthos, dan sekarang membentuk habitat terestrial yang terangkat. Megabentik spesies dapat membentuk agregasi dengan kepadatan tinggi di banyak tepi rak dan wilayah gunung laut yang sejauh ini memainkan peran yang belum dijelajahi di laut dalam ekosistem (van Soest *et al.*, 2012).

Spons merupakan salah satu tempat tinggal mikroorganisme laut terletak di lapisan mesohil spons atau biasa disebut *High Microbial Abundance Sponge* (HMAS) termasuk bakteri. Peran bakteri di spons adalah sebagai pertahanan dari predator dan juga membantu dalam metabolisme spons (Kane *et al.*, 2016).

## **II.2 Actinomycetes**

### **II.2.1 Taksonomi**

Kingdom : Prokariot

Subkingdom : Cyanobacteria

Divisi : Bacteria

Phylum : Firmicutes

Class : Actinobacteria

Orde : Actinomycetales

Family : Actinomycetaceae

Genus : *Actinomycetes* (Ward and Bora, 2015)

### **II.2.2 Pengertian**

Actinobacteria merupakan mikroba gram positif dengan zat G + C tinggi. Di antara mikroba gram positif, aktinobakteri menunjukkan perbedaan morfologi terkaya, yang didasarkan pada tingkat organisasi berfilamen seperti jamur berfilamen. Karakteristik morfologi actinobacteria adalah pembentukan dan informasi mendasar dari sistematika filogenetik. Aktinomiset klasik memiliki miselium radial yang berkembang dengan baik, yang dapat diisolasi menjadi miselium substrat dan miselium ethereal menurut morfologi dan pekerjaan. Beberapa actinobacteria dapat membentuk struktur yang rumit, seperti spora, rantai spora, sporangia, dan sporangiospora. Struktur hifa dan ultrastruktur spora atau sporangia dapat dilihat dengan mikroskop. Actinobacteria memiliki karakteristik sosial yang beragam dalam berbagai jenis media kultur, yang penting dalam klasifikasi bukti yang dapat dikenali, umum dengan spora, hifa udara, dengan atau tanpa warna dan warna larut, kondisi pertumbuhan yang khas (Jiang, 2016).

### **II.2.3 Karakteristik Actinomycetes**

Actinobacteria menunjukkan pemisahan morfologi yang paling menonjol di antara bakteri gram positif; Meskipun demikian, struktur sel actinobacteria adalah prokariota biasa dan sangat berbeda dengan parasit. Perkembangan dan mode pemecahan miselium substrat, posisi spora, jumlah spora, struktur permukaan spora, bentuk sporangia, dan

apakah sporangiospore memiliki flagela atau tidak semuanya merupakan karakter morfologi penting dari klasifikasi aktinobakteri :

### **II.2.3.1 Miselium substrat**

Dikenal sebagai miselium vegetatif atau miselium primer, miselium substrat tumbuh menjadi media atau di permukaan media kultur. Fungsi utama substrat miselium adalah penyerapan nutrisi untuk pertumbuhan actinobacteria. Di bawah mikroskop, miselia substrat ramping, transparan, fase gelap, dan lebih bercabang daripada antena hifa. Hifa tunggal tebalnya sekitar 0,4 sampai 1,2  $\mu\text{m}$ , biasanya tidak membentuk diafragma dan fraktur, mampu mengembangkan cabang (Jiang, 2016).

Miselia substrat berwarna putih, kuning, oranye, kemerahan, hijau, biru, ungu, coklat, gelap, dan warna lainnya; beberapa hifa dapat menghasilkan warna yang larut dalam air atau larut dalam lemak. Naungan yang larut dalam air dapat merembes ke dalam media kultur, yang membuat media tersebut memiliki warna yang sesuai. Warna yang tidak larut dalam air (atau warna yang larut dalam lemak) membuat koloni dengan warna yang sesuai. Warna miselia substrat dan apakah terdapat pigmen pelarut memberikan referensi penting dalam jaminan spesies modern (Chaudhary *et al.*, 2013; Dhanasekaran & Jiang, 2016).

### **II.2.3.2 Miselium Udara**

Miselium udara adalah hifa yang dikembangkan miselium substrat ke tahap tertentu, dan tumbuh di udara. Terkadang, miselium udara dan substrat miselia sulit dibedakan. Ini mudah dibedakan dengan persiapan

cetakan pada kaca penutup, dilihat dalam sistem kering dengan mikroskop cahaya: hifa substrat ramping, transparan, dan fase gelap; udara hifa kasar, bias, dan terang fase. Hifa miselium udara adalah ditandai dengan selubung fibrosa, kecuali genera *Pseudonocardia* dan *Amycolata*. Ultramicroscopic, terdiri dari elemen fibrillar dan rodlet pendek, membentuk suatu karakteristik pola. Selubung fibrosa juga terdapat pada sporulasi hifa udara, yang menyebabkan perbedaan ornamen permukaan spora. Pembentukan semua jenis actinobacteria aerial hyphae tergantung pada karakteristik spesies, kondisi nutrisi, atau faktor lingkungan. Miselium udara dari beberapa genus berkembang ke tahap tertentu di rantai spora bentuk atas, yang merupakan spora penghasil hifa reproduksi (Chaudhary *et al.*, 2013; Dhanasekaran & Jiang, 2016).

### **II.2.3.3 Rantai Spora**

Aktinobakteri tumbuh ke tahap tertentu, dibedakan dalam hifa aerial, dapat membentuk hifa reproduksi yang disebut miselium bantalan spora. Memang, jenis pembentukan spora ini terjadi di sebagian besar genera actinobacteria. Menurut pengamatan, rantai spora dapat dibagi secara morfologis berdasarkan panjang dan jumlah spora: di- atau bisporous dengan dua spora, oligospora dengan sedikit spora, dan poli-spora dengan banyak spora. Panjang rantai spora aktinomiset, bentuk, posisi, warna merupakan dasar penting untuk klasifikasi (Chaudhary *et al.*, 2013; Dhanasekaran & Jiang, 2016).

#### II.2.3.4 Spora

Pembagian hifa dan produksi spora dimulai dengan pembentukan dinding silang. Secara umum ada tiga macam metode proses sporulasi aktinomiset, ketika hifa substrat terfragmentasi, septum, yang dikenal sebagai septum terbelah, dapat terjadi dan membentuk spora, seperti genus mikromonospora, Spora dibentuk oleh sekat dan disartikulasi elemen hifa yang sudah ada sebelumnya dengan selubung fibrosa tipis. Dinding spora terbentuk, setidaknya sebagian, dari lapisan dinding hifa induk; ini disebut sebagai perkembangan holothallic, dan ditemukan khas untuk banyak aktinomiset spora lainnya, seperti genus *Streptomyces*, Spora Globosa terbentuk di miselium aerial dan substrat dan dinding spora produk, seperti beberapa strain *Thermoactinomyces*. Spora adalah endospora klasik dengan semua sifat endospora bakterial, relatif terhadap proses pembentukan ultrastruktur, dan fisiologi. Selain pertumbuhan miselium, pembentukan spora adalah yang paling banyak kriteria morfologi penting yang dapat digunakan untuk mengenali aktinomiset. Kenyamanan-secara nasional, pembentukan spora dibatasi pada kelompok morfologi sporoaktinomi-cetes, di mana sporulasi terjadi di bagian miselium yang terdefinisi dengan baik. Diketahui bahwa sejumlah gen yang berbeda terlibat dalam pembentukan spora dan budidaya yang berbeda kondisi dapat mempengaruhi pembentukan spora (Chaudhary *et al.*, 2013; Dhanasekaran & Jiang, 2016).

### II.2.3.5 Sporangia

Banyak genera dari kelompok yang berbeda secara filogenetik membentuk spora yang tertutup dalam sporangia. Itu sporangium adalah struktur seperti karung, di mana spora dikembangkan dan disatukan sampai dilepaskan, biasanya meninggalkan amplop sporangial kosong. Sporangia sangat bervariasi baik dari segi ukuran maupun bentuk. Mereka berukuran antara 2 sampai 50  $\mu\text{m}$  dengan diameter 10  $\mu\text{m}$  menjadi ukuran yang paling umum. Bisa berbentuk silinder, klavat, tubular, berbentuk botol, campa-nulate, digitate, irregular, lobate, umbelliform, pyriform, atau globose. Itu sporangia muncul dari hifa substrat atau hifa udara. Pembentukan sporangia sebagian besar dibagi menjadi dua bentuk: pada beberapa marga, sporangia dibentuk oleh belitan filamen spora; di beberapa marga, sporangia diperluas oleh sporangiofor. Sporangia memiliki *sporangial envelope*, yang tidak memiliki dinding disebut pseudosporangial. Struktur internal klasik tipe terakhir dari sporangium menunjukkan baris spora melingkar atau paralel berorientasi, disatukan oleh sporangial amplop, yang berlanjut ke lapisan luar sporangiofor. Sporangiospore terbentuk melalui diferensiasi protoplasma dalam sporangia. Sebagai spora, bisa jadi tipe sporangial diklasifikasikan berdasarkan jumlah spora yang tertutup. Sporangia dengan sedikit spora mungkin disebut oligosporous, dengan perhatian khusus diberikan kepada mereka yang memiliki satu (monosporous) atau dua spora (bisporous). Sporangia yang mengandung banyak spora disebut polysporous. Paling

genera sporangiate menghasilkan spora motil, kecuali untuk *Stretosporangium* dan *Kutzneria* (Chaudhary *et al.*, 2013; Dhanasekaran & Jiang, 2016).

#### **II.2.3.6 Stabilitas Karakteristik Morfologi**

Karakteristik morfologi aktinobakteri akibat regulasi gen umumnya cukup stabil, andit adalah dasar penting untuk klasifikasi. Perkembangan dan pembentukan beberapa struktur, seperti miselium aerial, spora, dan sporangia, dipengaruhi oleh kondisi kultur. Di Beberapa media strain menghasilkan banyak sporangia atau spora, sedangkan pada media lain memiliki sedikit atau tidak ada (Chaudhary *et al.*, 2013; Dhanasekaran & Jiang, 2016).

### **II.3 Kanker**

Kanker adalah pertumbuhan sel yang abnormal disebabkan perubahan ekspresi gen yang mengarah ke disregulasi proliferasi sel, dan akhirnya berkembang menjadi populasi yang bisa menyerang jaringan serta bermetastasis ke tempat jauh, menyebabkan morbiditas dan jika tidak diobati mengakibatkan kematian (Ruddon, 2007).

Menurut Hanahan dan Weinberg (2000), sel kanker memiliki karakteristik sebagai berikut:

1. Sel kanker mampu mencukupi kebutuhan sinyal pertumbuhannya sendiri. Sinyal pertumbuhan diperlukan agar sel dapat terus membelah. Berbeda dari sel normal, sel kanker dapat tetap dan terus tumbuh.

2. Tidak sensitif terhadap sinyal antipertumbuhan. Sel kanker tidak merespon adanya sinyal yang dapat menghentikan terjadinya pertumbuhan dan pembelahan sel. Dengan demikian, sel kanker dapat terus membelah.
3. Sel kanker mampu menghindari dari mekanisme apoptosis. Apoptosis merupakan program bunuh diri sel ketika sel tersebut mengalami kerusakan, baik struktural maupun fungsional, yang tidak dapat ditolerir lagi. Namun sel kanker dapat menghindari dari kematian dengan mengblok jalur terjadinya apoptosis di dalam sel.
4. Sel kanker memiliki potensi tak terbatas untuk mengadakan replikasi.
5. Sel kanker mampu menginduksi angiogenesis untuk mencukupi kebutuhannya akan oksigen dan nutrisi. Pada tahap perkembangan tumor yang hiperproliferatif, sel-sel tumor akan mengekspresikan protein proangiogenik sehingga akan terbentuk cabang baru pada pembuluh darah yang menuju sel kanker yang kemudian akan mensuplai kebutuhan nutrisi dan oksigen dari sel kanker.
6. Sel kanker mampu menginvasi jaringan di sekitarnya dan membentuk anak sebar .

#### **II.4 Angiogenesis**

Angiogenesis merupakan proses pembentukan pembuluh darah baru. Angiogenesis fisiologis terjadi di bawah regulasi yang ketat dalam sistem reproduksi wanita dan selama penyembuhan luka. Patologis angiogenesis dapat terjadi pada berbagai penyakit termasuk

kanker, aterosklerosis, reumatoid arthritis, penyakit Crohn, diabetes, psoriasis, endometriosis, dan adipositas (Bisht *et al.*, 2010).

Angiogenesis adalah pertumbuhan pembuluh darah dari pembuluh darah yang ada. Itu terjadi sepanjang hidup baik dalam kesehatan maupun penyakit, dimulai dalam rahim dan berlanjut hingga usia tua. Tidak ada secara metabolik jaringan aktif dalam tubuh lebih dari beberapa ratus mikrometer dari kapiler darah dibentuk oleh proses angiogenesis. Kapiler dibutuhkan di semua jaringan untuk pertukaran difusi nutrisi dan metabolit. Perubahan aktivitas metabolik menyebabkan perubahan proporsional dalam angiogenesis dan, karenanya, perubahan proporsional dalam kapilaritas. Oksigen memainkan peran penting dalam regulasi ini. Faktor hemodinamik sangat penting untuk kelangsungan hidup jaringan vaskular dan untuk adaptasi structural dinding kapal (Jeong *et al.*, 2011).

## **II.5 bFGF**

Basic fibroblast growth factor (bFGF) adalah anggota penting dari keluarga protein pengikat heparin, yang mengontrol proliferasi, diferensiasi, dan migrasi berbagai jenis sel yang berasal dari mesodermal dan neuroektodermal. bFGF dapat bertindak sebagai stimulator perbaikan jaringan dan memiliki potensi terapeutik dalam penyembuhan luka, menyembuhkan kerusakan tulang, dan melindungi jantung dan otak dari cedera iskemia dan reperfusi. karena bFGF bersifat mitogenik dan angiogenik, dan angiogenesis merupakan fitur

penting dari pertumbuhan tumor dan metastasis (Weidner et al., 1991), retensi adaptif dari beberapa potensi diferensiasi dari sel-sel perantara TEB oleh sel epitel ganas, diamati sebagai, misalnya, ekspresi ektopik dari FGF dan reseptor afinitas tinggi untuk FGF, dengan demikian dapat mendukung pembentukan kanker payudara yang lebih berhasil bermetastasis (Esser *et al.*, 2015; Parsons-Wingerter *et al.*, 2000).

## **II.6 CAM (*Chorio Allantoic Membrane*)**

Metode CAM telah digunakan dalam rekayasa jaringan selama lebih dari 40 tahun dan sebagai langkah perantara antara model *in vitro* dan *in vivo*. Tidak seperti model *in vivo* lainnya, seperti itu sebagai implan subkutan tikus, metode CAM minimal invasif ke embrio ayam dan karenanya merupakan Model penyempurnaan untuk penelitian hewan. Sejumlah penelitian telah mengevaluasi konstruksi material di CAM tidak hanya untuk memeriksa respon angiogenik tetapi juga sebagai indikator biokompatibilitas jaringan bahan (Moreno-Jiménez *et al.*, 2016).

Selama perkembangan unggas, lapisan mesodermal dari allantois dan korion bergabung untuk membentuk chorioallantoic membran (CAM). Struktur ini berkembang pesat dan menghasilkan jaringan vaskular. CAM memungkinkan untuk mempelajari cangkok jaringan, pertumbuhan tumor dan metastasis, penyembuhan luka, pengiriman obat dan analisis toksikologi, dan molekul angiogenik dan anti-angiogenik. CAM relatif sederhana, cepat, dan biaya yang rendah,

tidak memerlukan prosedur administratif untuk mendapatkan persetujuan komite etika untuk eksperimen hewan. Selain itu, karena imunodefisiensi alami, embrio ayam dapat menerima transplantasi dari jaringan dan spesies yang berbeda, tanpa respons imun. Allantois embrio ayam muncul sekitar 3,5 hari inkubasi sebagai evaginasi dari dinding ventral belakang endo dermal usus untuk mendorong keluar dari tubuh embrio ke ekstraembrionik coelom. Bagian proksimalnya (tangkai allantoic) terletak sejajar dan hanya ekor ke kantung kuning telur, dan ketika bagian distal tumbuh bersih dari embrio, itu menjadi membesar (vesikula allantoic). Vesikel allantoic sangat membesar cepat dari hari ke-4-10 inkubasi. Selama proses ini, lapisan mesodermal dari allantois menyatu dengan lapisan mesodermal yang berdekatan korion untuk membentuk membran chorioallantoic). Dilapisan ganda ini mengembangkan jaringan vaskular yang sangat kaya terhubung ke sirkulasi embrio oleh dua arteri allantoic dan satu vena allantoic (Ribatti, 2010).