

**DAYA HAMBAT FRAKSI ETANOL SARANG SEMUT (*MYRMECODIA
PENDANS*) PADA SEL KANKER BURKITT'S LYMPHOMA (INVITRO)
MELALUI HAMBATAN ANGIOGENESIS INTERLEUKIN 8 (IL-8)**

SKRIPSI

*Diajukan Untuk Melengkapi Salah Satu Syarat
Mencapai Gelar Sarjana Kedokteran Gigi*

NURUL FAIZAH

J111 15 023



**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2018**

**DAYA HAMBAT FRAKSI ETANOL SARANG SEMUT (*MYRMECODIA
PENDANS*) PADA SEL KANKER BURKITT'S LYMPHOMA (INVITRO)
MELALUI HAMBATAN ANGIOGENESIS INTERLEUKIN 8 (IL-8)**

SKRIPSI

*Diajukan Kepada Universitas Hasanuddin
Untuk Melengkapi Salah Satu Syarat
Mencapai Gelar Sarjana Kedokteran Gigi*

Oleh :

NURUL FAIZAH

J111 15 023

**UNIVERSITAS HASANUDDIN
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
MAKASSAR**

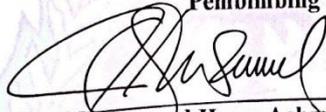
2018

HALAMAN PENGESAHAN

Judul : Daya Hambat Fraksi Etanol Sarang Semut (*Myrmecodia Pendans*) pada
Sel Kanker Burkitt's Lymphoma (Invitro) Melalui Hambatan
Angiogenesis Interleukin 8 (IL-8)
Oleh : Nurul Faizah / J111 15 023

Telah Diperiksa dan Disahkan
Pada Tanggal 19 September 2018
Oleh

Pembimbing



Dr. drg. Muhammad Harun Achmad, M.Kes, Sp.KGA

NIP. 19710523 200212 1 002

Mengetahui,

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi

Universitas Hasanuddin



Prof. Dr.drg. Baharuddin Thalib, M.Kes, Sp.Pros

NIP. 19640814 199103 1 002

SURAT PERNYATAAN

Dengan ini menyatakan mahasiswa yang tercantum di bawah ini :

Nama : Nurul Faizah

NIM : J11115023

Judul : Daya Hambat Fraksi Etanol Sarang Semut (*Myrmecodia* Pendans)
Pada Sel Kanker Burkitt's Lymphoma (*Invitro*) Melalui Hambatan
Angiogenesis Interleukin 8 (IL-8).

Menyatakan bahwa judul skripsi yang diajukan adalah judul yang baru dan tidak terdapat di Perpustakaan Fakultas Kedokteran Gigi Unhas.

Makassar, 19 September 2018

Koordinator Perpustakaan FKG Unhas



Amiruddin, S.Sos.

NIP.19661121 199201 1 003

**DAYA HAMBAT FRAKSI ETANOL SARANG SEMUT (*MYRMECODIA
PENDANS*) PADA SEL KANKER BURKITT'S LYMPHOMA (INVITRO)
MELALUI HAMBATAN ANGIOGENESIS INTERLEUKIN 8 (IL-8)**

ABSTRAK

Pendahuluan : Burkitt's Lymphoma merupakan suatu jenis kanker Limfoma Non Hodgkin yang berasal dari limfosit B. Burkitt's Lymphoma mempunyai kemampuan gradasi tinggi yang terbentuk dari sel kecil, tidak membelah (noncleaved), tidak berdiferensiasi, dan difus. Burkitt's Lymphoma merupakan kanker yang proliferasi dan penggandaan sel nya sangat agresif sehingga biasanya penderita meninggal dengan cepat. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui bagaimana daya hambatan angiogenesis interleukin 8 fraksi etanol ekstrak sarang semut pada kultur sel kanker Burkitt's lymphoma. **Metode :** Penelitian dilakukan dengan cara eksperimental murni laboratorik dengan menggunakan biakan sel kanker Burkitt's lymphoma. Penelitian secara bertahap dimulai dari determinasi , ekstraksi, fraksinasi, pembuatan medium DMEM, pengaktifan sel kanker Burkitt's Lymphoma, hingga uji sitotoksisitas dan uji hambatan angiogenesis fraksi flavonoid ekstrak sarang semut. Data dianalisis menggunakan ANOVA dua jalur dilanjutkan dengan uji Post Hoc LSD (*Least Significant Difference*) dengan derajat kemaknaan 95%. **Hasil :** Hasil penelitian uji sitotoksisitas menunjukkan bahwa fraksi ethyl asetat flavonoid pada konsentrasi 1000 µg/mL dapat menyebabkan kematian sel sebanyak 82,71%, dan pada konsentrasi terendah 7,8125 µg/mL dapat menyebabkan kematian sel sebesar 39,75% sel. Adapun hasil uji hambatan angiogenesis menunjukkan adanya perubahan ekspresi interleukin 8 yang signifikan pada larutan standar. Perubahan ekspresi interleukin 8 pada larutan etanol dan larutan ethyl asetat dengan konsentrasi 0 sampai konsentrasi 125 hasil yang diperoleh terus mengalami peningkatan. Namun, pada saat larutan etanol dengan kadar 250, hasil yang diperoleh mengalami penurunan yaitu dari 0,254 menjadi 0,237. Begitupula dengan perubahan ekspresi interleukin 8 pada larutan ethyl asetat dengan konsentrasi 250 hasil yang diperoleh mengalami penurunan yaitu dari 0,291 menjadi 0,261.

Kata kunci : Burkitt's Lymphoma, ekstrak etil sarang semut, sitotoksik, interleukin 8.

**RESISTIVITY OF ANT NEST (MYRMECODIA PENDANS) ON
ETHANOL FRACTION BURKITT'S LYMPHOMA CANCER CELLS
(INVITRO) THROUGH INTERLEUKIN 8 ANGIOGENESIS OBSTACLES
(IL-8)**

ABSTRACT

Introduction : Burkitt's Lymphoma is a type of Non-Hodgkin Lymphoma cancer that originates from B. Burkitt's Lymphoma lymphocytes with a high gradation ability formed from small, noncleaved, undifferentiated, and diffuse cells. Burkitt's Lymphoma is a proliferation and multiplication of cells that is very aggressive thus people usually die quickly. **Purpose**: This study aims to know how the inhibitory power of angiogenesis interleukin 8 ethanol fraction of ant nest extract in Burkitt's lymphoma cancer cell culture. **Method**: The study was conducted in a pure laboratory experimental method using Burkitt's lymphoma cancer cell cultures. Gradual research began with determination, extraction, fractionation, making DMEM medium, activation of Burkitt's Lymphoma cancer cells, up to cytotoxicity test and angiogenesis inhibition test of flavonoid fraction extract of ant nests. Data were analyzed using two-way ANOVA followed by Post Hoc LSD (Least Significant Difference) test with a significance level of 95%. **Results** : Cytotoxicity test results showed that the flavonoid ethyl acetate fraction at a concentration of 1000 µg / mL could cause cell death as much as 82.71%, and at the lowest concentration of 7.8125 µg / mL can cause cell death by 39.75% cells. The results of the angiogenesis inhibition test showed a significant change in the expression of interleukin 8 in standard solutions. Changes in the expression of interleukin 8 in ethanol solution and ethyl acetate solution with a concentration of 0 to a concentration of 125 results obtained continued to increase. However, when the ethanol solution with 250 levels, the results obtained decreased from 0.254 to 0.237. Likewise, changes in the expression of interleukin 8 in ethyl acetate solution with a concentration of 250 results obtained decreased from 0.291 to 0.261.

Keywords: Burkitt's Lymphoma, ethyl extract of ant nests, cytotoxic, interleukin 8.

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah Subhanahu Wata'ala yang telah memberikan rahmat, karuniaNya, pengetahuan serta kelancaran bagi penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Daya Hambat Fraksi Etanol Sarang Semut (*Myrmecodia Pendans*) pada Sel Kanker Burkitt's Lymphoma (Invitro) Melalui Hambatan Angiogenesis Interleukin 8 (Il-8)” dengan tepat waktu sekaligus menjadi syarat untuk menyelesaikan pendidikan strata satu di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin.

Shalawat dan salam penulis haturkan kepada Rasulullah Muhammad *Shallallahu 'Alahi Wasallam* sebagai tauladan kita yang telah mendakwahkan Islam hingga dapat kita nikmati hingga saat ini. *“Sungguh, telah ada pada (diri) Rasulullah itu suri tauladan yang baik bagimu (yaitu) bagi orang yang mengharap (rahmat) Allah dan (kedatangan) hari Kiamat dan yang banyak mengingat Allah”*(QS. Al-Ahzaab : 21)

Dalam skripsi ini, penulis mendapatkan banyak bimbingan, bantuan , semangat, doa dan dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini, penulis ingin menghaturkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. **Prof. Dr. drg. Bahrudin Thalib, M.Kes, Sp.Pros** sebagai Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin beserta seluruh staf atas bantuannya selama penulis mengikuti pendidikan.
2. **Dr.drg. Muhammad Harun Achmad, M.Kes, Sp.KGA** selaku dosen pembimbing skripsi yang telah meluangkan banyak waktu mendampingi, membimbing, mengarahkan dan memberi nasihat kepada penulis dalam menyusun skripsi ini dengan penuh kesabaran dan semangat yang besar.
3. **Dr. drg. Susilowati, SU** selaku penasihat akademik atas bimbingan, perhatian, nasihat dan dukungan bagi penulis selama perkuliahan.

4. Untuk kedua orang tua penulis, **Drs.Jasman** dan **Nur Asni**, saudara-saudari penulis, serta keluarga lainnya yang telah memberikan banyak doa, dukungan, dan perhatian selama pembuatan skripsi ini.
5. Untuk teman seperjuangan skripsi **Melyanti Sari** yang telah membantu, menyemangati, mendodoro, dan menunggu penulis hingga bisa menyelesaikan skripsi ini. Terima kasih banyak penulis ucapkan, mudah-mudahan cepat-cepat menikah dan mimpinya semua tercapai.
6. Untuk teman seperjuangan **PULPA 2015** yang telah memberi dukungan, bantuan, semangat dan persaudaraan yang tak akan penulis lupakan. Terima kasih semoga kita tetap kompak hingga akhir.
7. Untuk teman-temanku tercintah **Anissa fitri, Asfiani Arif, Musdalifah, dan Sri Hardiyanti** terimakasih sudah menjadi bagian dari teman dekat selama kuliah dan menjadi teman curhat, teman susah senang, dan teman segala-galanya buat penulis hehe. Dan teruntuk **Asfiani** terimakasih juga telah membantu penulis dalam membuat jurnal. Semoga kalian bisa mendapatkan pendamping hidup secepatnya. Aaamiin.
8. Untuk teman-teman sekaligus sahabatku **Hamilal Qur'an (Kia, Nad, Ifa, Lisa, Ayu, Pia, Dija)** terimakasih atas nasehat-nasehat dan semangat yang diberikan kepada penulis dalam menjalani kehidupan perskripsian yang begitu rumit ini.
9. Untuk teman-teman seperjuangan **KKN Tematik Desa Sehat Gowa Gel.99,khususnya teman-teman posko 2 (Mimi, Ilda, Indah, Fuji, Imong, Rahmat)** terimakasih sudah mendengarkan keluhan-keluhan penulis dan telah menyemangati serta mendoakan penulis agar dapat menyelesaikan skripsi.
10. Untuk **Abdul Malik Halik** selaku kordes Posko 2 terimakasih telah membantu, menyemangati, dan mendengarkan curhatan penulis walaupun terkadang membuat jengkel dan marah, hehe. Semoga cepat dapat jodohnya. Aamiin.

11. Untuk **Muharfian** selaku teman KKN yang telah membantu penulis dalam membaca data dan membantu mengoreksi data hasil penelitian terima kasih penulis ucapkan yang sebesar-besarnya. Semoga segala urusannya dimudahkan.
12. Untuk kakak-kakak senior, **Kak Feby, Kak Putri Khairunnisa, Zizi, Kak Surya** terimakasih telah membantu penulis dalam menyelesaikan skripsi.
13. Untuk **seluruh dosen dan staf karyawan** yang telah banyak membantu penulis. Untuk semua pihak yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan skripsi ini yang tidak dapat disebut satu-persatu

Akhir kata, penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu sekaligus meminta maaf bila dalam skripsi ini masih terdapat banyak kesalahan. Semoga hasil penelitian ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu kedokteran gigi ke depannya dan bermanfaat bagi semua makhluk hidup.

Makassar, 19 September 2018

Nurul Faizah

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
SURAT PERNYATAAN	iv
ABSTRAK	v
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	x
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL	xiii
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang Masalah	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.4 Manfaat Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Tinjauan Umum	6
2.1.1 Defenisi Burkitt's Lymphoma	6
2.1.2 Epidemiologi	6
2.1.3 Gambaran Klinis Burkitt's Lymphoma	7
2.1.4 Morfologi	8
2.1.5 Patogenesis	8
2.1.6 Pengobatan	10
2.2 Terminologi	11
2.3 Karsinogenesis	11
2.4 Uji Sitotoksisitas	14
2.5 Angiogenesis	16
2.5.1 Defenisi Angiogenesis	16
2.5.2 Tahapan Angiogenesis	17
2.5.3 Faktor-faktor Angiogenesis	18

2.5.4 Stimulator Angiogenesis	18
2.6 Interleukin 8	19
2.7 Tumbuhan Sarang Semut	21
2.7.1 Taksonomi	21
2.7.2 Morfologi Tumbuhan Sarang Semut	21
2.7.3 Kandungan dan Manfaat Tumbuhan Sarang Semut	23
BAB III KERANGKA TEORI DAN KERANGKA KONSEP	
3.1 Kerangka Teori	26
3.2 Kerangka Konsep	27
BAB IV METODE PENELITIAN	
4.1 Jenis Penelitian	28
4.2 Subjek Penelitian	28
4.3 Lokasi dan Waktu Penelitian	29
4.4 Variabel Penelitian	29
4.4.1 Variabel Independen	29
4.4.2 Variabel Terikat	29
4.5 Defenisi Operasional Variabel	29
4.6 Alat dan Bahan	29
4.7 Tata Kerja Penelitian	30
BAB V HASIL PENELITIAN	
Hasil Penelitian	39
BAB VI PEMBAHASAN	
Pembahasan	44
BAB VII PENUTUP	
7.1 Kesimpulan	48
7.2 Saran	48
DAFTAR PUSTAKA	49
LAMPIRAN	52

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.7.2 Tumbuhan sarang semut	22
Gambar 4.7.1.1 Bahan uji penelitian Sarang Semut (<i>Myrmecodya pendans</i>).....	31
Gambar 4.7.1.3 Bahan uji fraksi etil asetat dan fraksi etanol sarang semut.....	32
Gambar 4.7.1.5 A.Media DMEM; B.Biakan sel kanker Burkitt's Lymphoma....	33
Gambar 4.7.2 Kit Human IL-8	38

DAFTAR TABEL

Tabel 5.1 Hasil Uji sitotoksisitas	40
Grafik 5.1 Perbandingan presentasi kematian sel flavanoid fraksi ekstrak sarang semut	42
Grafik 5.2 Ekspresi Interleukin 8 pada sel kanker burkitts lymphoma pasca perlakuan dengan ekstrak flavonoid dan kontrol	43

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kanker merupakan salah satu penyakit utama penyebab kematian di dunia. Pada tahun 2012 diperkirakan terdapat 14 juta kasus baru kanker dan 8,2 juta kematian akibat kanker di dunia. World Health Organization (WHO) melaporkan lima besar jenis kanker yang ditemukan pada laki-laki di dunia pada 2012, yaitu kanker paru, prostat, kolorektum, kanker perut (stomach cancer), dan kanker hati. Sedangkan pada perempuan yang terbanyak adalah kanker payudara, kolorektum, paru-paru, serviks, serta kanker perut (stomach cancer). Seperti kematian akibat kanker berhubungan dengan 5 kebiasaan gaya hidup dan pola makan. Kelima faktor tersebut yaitu obesitas, diet rendah sayur dan buah, kurang aktivitas fisik, penggunaan tembakau, dan penggunaan alkohol¹.

Sebagian besar kasus kanker dan kematian dapat dicegah dengan menerapkan langkah-langkah pencegahan yang efektif, seperti pengendalian tembakau, vaksinasi, dan penggunaan tes deteksi dini. Berdasarkan strategi berbasis bukti (Eviden-Based Strategy), kejadian kanker dapat dicegah dan dikontrol hingga 30% dengan cara memodifikasi atau menghindari faktor risiko kunci. Dengan menghindari atau memodifikasi faktor risiko kunci yang telah dikaji oleh International Cancer Collaboration (Daniel et al: 2005) di WHO, diharapkan angka kesakitan dan kematian akibat kanker dapat dikontrol.. Laporan hasil survei Riskesdas 2007 menunjukkan bahwa prevalensi penyakit kanker berdasarkan diagnosis tenaga kesehatan di Indonesia sebesar 4,3 %. Prevalensi menurut provinsi berkisar antara 1,5% di Maluku hingga 9,6% di DI Yogyakarta. Terdapat 11 provinsi yang mempunyai prevalensi tumor lebih tinggi dari angka nasional¹.

Proses terjadinya kanker (onkogenesis) pada anak-anak sama dengan pada orang dewasa ditinjau dari aspek biomolekuler, perbedaannya yang mendasar adalah pada proses perjalanan penyakitnya. Kanker pada anak biasanya sudah terjadi pada stadium lebih lanjut dibanding pada orang dewasa pada saat mendiagnosisnya. Kanker pada anak cenderung lebih agresif, hal ini disebabkan karena sel kanker pada anak masih merupakan sel primitif sehingga lebih mudah dan cenderung cepat penyebarannya. Kecenderungan kanker terjadi pada tempat tertentu juga menjadi karakteristik pada perbedaannya pada anak. Limfoma merupakan salah satu jenis kanker dalam kelenjar getah bening atau organ lain dari sistem limfatik. Limfoma merupakan kanker urutan ketiga paling cepat tumbuh dan berkembang, setelah kanker kulit dan kanker paru-paru. Diperkirakan sekitar 1,5 juta penduduk dunia hidup dengan limfoma non Hodgkin (LNH), dan sekitar 300.000 orang setahun meninggal karena penyakit ini. Di Indonesia, limfoma atau lebih sering disebut kanker kelenjar masuk kelompok sepuluh besar kanker ganas².

Limfoma dibagi dalam dua kelompok utama, yaitu: Limfoma non Hodgkin (LNH) dan limfoma Hodgkin (LH). Burkitt's Lymphoma merupakan salah satu jenis kanker LNH dengan kemampuan daya gradasi tinggi dan terbentuk dari sel kecil, tidak membelah (*noncleaved*), tidak berdiferensiasi, difus dan berasal dari limfosit B. Proliferasi dan penggandaan limfoma Burkitt sangat agresif, sehingga biasanya penderita meninggal dengan cepat³.

Pengobatan kanker khususnya Burkitt's lymphoma meliputi penyinaran, radioterapi, pembedahan, dan kemoterapi masih menghadapi banyak kendala. . Kemoterapi menjadi pilihan utama pengobatan, antara lain prednison, siklofosamid, vinkristin, sitarabin, doksorubisin, dan metotreksat. Radioterapi tidak banyak dipergunakan dalam tatalaksana limfoma Burkitt's Lymphoma. Pengobatan ini terbukti kurang efektif karena karsinogen yang terdapat dalam sel kanker masih dapat menyebar ke jaringan lain bersama aliran darah⁴.

Meskipun terapi modern banyak memberikan hasil yang positif, di sisi lain banyak menimbulkan efek samping seperti mual muntah, penurunan sel darah merah (RBC), penurunan sel darah putih (WBC/leukosit), penurunan jumlah

trombosit, mukositis, rambut rontok, dan gangguan saraf tepi. Selain itu, tingkat survival lima tahun penderita tidak mengalami peningkatan sehingga dibutuhkan inovasi pengobatan untuk menangani dan mengobati kanker Burkitt's lymphoma sehingga proses karsinogenesisnya dapat dihentikan dengan efek minimal. Secara empiris, masyarakat Indonesia telah mengenal dan menggunakan obat tradisional dari bahan herbal alam untuk mencegah dan mengobati berbagai macam penyakit. Oleh karena itu, penggunaan bahan herbal dapat menjadi alternative lain untuk pengobatan kanker. Obat herbal yang digunakan biasanya dikembangkan atas dasar pengalaman dan informasi yang didapatkan secara turun-temurun. Agar obat herbal tersebut dapat diterima oleh masyarakat luas, maka dibutuhkan pembuktian berupa data-data laboratoris dan klinis yang dapat diupayakan melalui penelitian secara ilmiah yang bersifat ilmiah dan rasional⁵. Salah satu tanaman obat tersebut adalah sarang semut (*Myrmecodia* sp). Secara etnofarmakologi tumbuhan sarang semut telah digunakan sebagai obat oleh masyarakat pedalaman Papua, diantaranya penyembuh radang, menguatkan imunitas tubuh dan mengatasi nyeri otot. Masyarakat setempat memanfaatkan serbuk umbi (hipokotil) tanaman sarang semut sebagai minuman seduhan seperti teh. Salah satu khasiat utamanya adalah membantu pengobatan berbagai jenis tumor dan kanker seperti: kanker otak, kanker payudara, kanker hidung, kanker lever, kanker paru-paru, kanker usus, kanker rahim, kanker kulit, kanker prostat dan leukemia⁵.

Tumbuhan sarang semut juga efektif dalam membantu penyembuhan berbagai macam penyakit lainnya, misalnya gangguan jantung, ambien (wasir), reumatik, stroke ringan maupun berat, maag, gangguan fungsi ginjal dan prostat, pegal linu, melancarkan dan meningkatkan jumlah air susu ibu (ASI), melancarkan peredaran darah, dan memulihkan gairah seksual. Sarang semut merupakan tumbuhan yang secara empiris maupun secara ilmiah telah dibuktikan mampu meningkatkan sistem imun. Ekstrak etanol juga mempunyai kemampuan menghambat aktivitas xanthine oxidase dengan nilai IC₅₀ 112,40 µg/ml. Tumbuhan sarang semut (*M. pendens*) juga secara moderat dapat meningkatkan aktivitas sel dalam pengobatan kanker payudara dan uterus terhadap sel Hela dan sel MCM-B2⁶.

M. Ahkam Subroto, ahli peneliti utama LIPI mengungkapkan bahwa senyawa aktif yang terkandung dalam tanaman sarang semut adalah flavonoid, tanin dan polifenol yang berfungsi sebagai antioksidan dalam tubuh. Senyawa aktif polifenol yang terkandung dalam sarang semut memiliki banyak khasiat, yaitu sebagai antimikroba, antidiabetes, dan antikanker. Beberapa studi telah membuktikan efektivitas penggunaan *Myrmecodia pendans* sebagai alternatif pengobatan kanker dan juga sebagai agen kemopreventif dengan biaya yang lebih terjangkau dan efek samping minimal salah satunya adalah penelitian Sumarno menyimpulkan bahwa ekstrak *Myrmecodia pendans* bisa menginduksi apoptosis dan mereduksi aktivitas proliferasi sel kanker. Lazimnya setiap penelitian bahan alam yang diduga berpotensi sebagai obat maupun secara empiris telah digunakan masyarakat sebagai obat, diawali dengan uji pre-klinis toksisitas untuk memprediksi tingkat keamanannya, kemudian dilanjutkan dengan uji farmakologi lainnya. Metode uji toksisitas dapat dilakukan secara *in vitro*. Beberapa penelitian dalam uji *in vitro*, terbukti bahwa sarang semut ampuh mengatasi sel kanker⁷. Uji praklinik ini dirancang untuk mengetahui efek toksik suatu zat yang timbul setelah pemberian tunggal atau berulang suatu zat dalam 24 jam. Efek toksik yang dimaksud adalah semua efek yang menurunkan kemampuan fungsi organ yang mengganggu fungsional atau biokimiawi organisme secara umum⁸.

Interleukin 8 merupakan suatu oncoprotein dari famili kemokin, diproduksi oleh berbagai sel, termasuk sel kanker. IL-8 tidak terdapat pada angiogenesis fisiologis tapi terdapat pada angiogenesis kanker. Keberadaan IL-8 bersamaan dengan VEGF merupakan indikator terjadinya angiogenesis. Sitokin protein IL-8 terbukti berperan dalam proses inflamasi, tumorigenesis, angiogenesis, melalui pembentukan microvessel pada tumor dan metastasis. IL-8 dapat memacu adesi endotel, memicu migrasi transendotelial, dan mengaktivasi netrofil. Selain itu, IL-8 dapat berperan sebagai faktor kemotaktik terhadap infiltrasi sel T sehingga akan menambah infiltrasinya pada jaringan Kelejar Naso Faring. Penelitian peran IL-8 telah terbukti pada melanoma maligna meningkatkan potensi metastatiknya⁹.

Berdasarkan permasalahan diatas penelitian ini diharapkan mampu menjawab bagaimana uji sitotoksisitas tumbuhan Sarang Semut (*Myrmecodia pendans*) melalui hambatan angiogenesis interleukin 8 dan fraksi etanol pada kultur sel kanker Burkitt's lymphoma sehingga diharapkan dapat dijadikan bukti ilmiah untuk pengembangan penelitian bagi pengobatan kanker pada manusia dan pemamfaatan bahan herbal khususnya pada tumbuhan sarang semut (*Myrmecodia pendans*).

1.2 Rumusan Masalah

Bagaimana uji sitotoksisitas hambatan angiogenesis interleukin-8 dari fraksi etanol ekstrak sarang semut terhadap sel kanker Burkitt's lymphoma?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan latar belakang di atas, maka tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui bagaimana uji sitotoksisitas hambatan angiogenesis interleukin 8 fraksi etanol ekstrak sarang semut pada kultur sel kanker Burkitt's lymphoma.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Urgensi di bidang ilmiah yaitu untuk melengkapi landasan teoritis ekstrak *Myrmecodia pendans* yang berperan sebagai antitumor dengan subjek Burkitt's Lymphoma serta bagaimana efek sitotoksisitas dan hambatan angiogenesis interleukin dan fraksi etanol pada sel kanker Burkitt's Lymphoma.
2. Urgensi pada aplikasi penelitian untuk mengeksplorasi potensi dari ekstrak *Myrmecodia pendans* dalam rangka penggunaannya sebagai bahan herbal medik pada terapi kanker.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Umum

2.1.1 Defenisi Burkitt's Lyhmphoma

Burkitt's Lymphoma (BL) merupakan limfoma non-Hodgkin (NHL) yang menyerang sel B, sangat agresif dengan waktu penggandaan tercepat dibandingkan seluruh kanker yang menyerang manusia³.

Awalnya disebut limfoma yang tidak terdiferensiasi menurut klasifikasi Rapport, tumor ini berikutnya diklasifikasikan sebagai limfoma sel kecil yang tidak membelah tipe Burkitt's dalam perjalanan formulasinya kemudian disusun ulang sebagai Burkitt's lymphoma dalam klasifikasi Revised European American Lymphoma. Yang paling baru dari klasifikasi WHO mempertahankan Burkitt's Lymphoma sebagai kategori yang jelas dari limfoma sel B perifer. Pengenalan dan diagnosis Burkitt's Lymphoma secara klinis penting, disebabkan tumor ini merespon paling baik dengan kemoterapeutik spesifik, berbeda dengan limfoma sel B lainnya yang sangat agresif, seperti limfoma sel besar yang difus¹⁰.

Burkitt's lymphoma ditemukan oleh dr. Dennis Burkitt pada tahun 1950. Burkitt's lymphoma memiliki tingkat kecepatan proliferasi sel tertinggi manusia, malignansi sel dari BL memiliki index proliferasi (Ki67>95%) dan waktu penggandaan 24-26 jam per hari dan diameter mencapai 10-15 cm pada beberapa kasus¹¹.

2.1.2 Epidemiologi

Berdasarkan perbedaan pada gambaran klinis, morfologi dan sifat biologi, BL mempunyai 3 varian. Di Papua New Guinea dan area yang disebut The Lymphoma Belt di Afrika, varian endemik (eBL) paling banyak ditemukan terutama pada anak-anak. Tipe sporadik (sBL) tersebar di seluruh dunia dan paling banyak dijumpai pada anak-anak dan dewasa.

Immunodeficiency-associated BL merupakan suatu sub-tipe yang berhubungan dengan infeksi human immunodeficiency virus (HIV), juga keadaan immunosupresi lainnya seperti inherited immunodeficiency dan posttransplant recipients . Namun BL lebih sering terjadi pada penderita AIDS dibandingkan pada immunosuppressed transplant recipients, mengindikasikan bahwa immunosupresi sendiri tidak cukup untuk menyebabkan keganasan dan menjadi BL . Epstein Barr Virus (EBV) and malaria merupakan cofactors BL. Di Afrika kebanyakan kasus BL berhubungan dengan EBV, namun, di USA, EBV ditemukan hanya pada hampir 20% kasus sBL dan sekitar 50% BL yang berhubungan dengan AIDS. BL menjadi titik awal pengembangan pengetahuan limfomagenesis dan menginspirasi penelitian tumorigenesis di seluruh dunia¹².

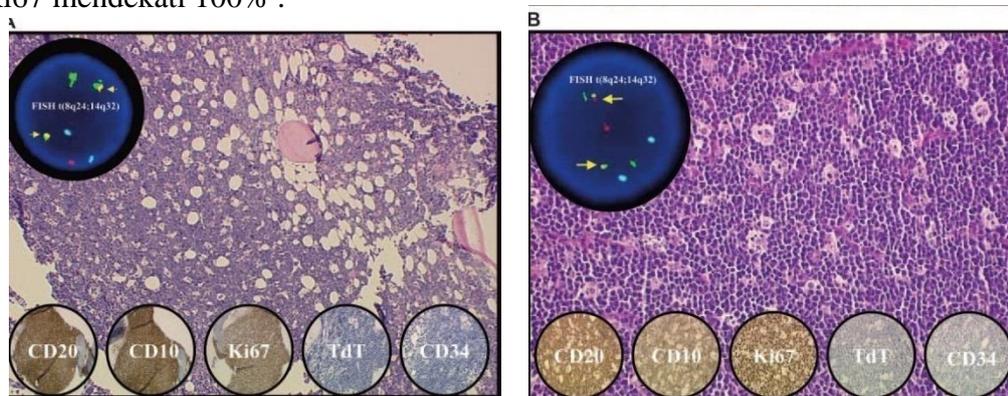
2.1.3 Gambaran Klinis Burkitt's Lymphoma

Burkitt's Lymphoma terbagi atas tiga jenis yaitu endemik, sporadis dan immunodeficiency-associated. Burkitt's Lymphoma tipe endemik paling banyak ditemukan pada anak usia 9 tahun, menyerang bagian kepala dan leher (60-80% kasus) dan jarang bermetastasis pada perut dan sum-sum tulang. Di bagian kepala, tanda dan gejala yang muncul yaitu obstruksi saluran nafas, *facial swelling*, perluasan tonsillar unilateral dan *lymphadenopathy* servikal. Tipe sporadik ditemukan pada anak usia >12 tahun, melibatkan daerah perut usus halus, *caecum*, dan mesenterik. Sementara, tipe *immunodeficiency-associated* umumnya terjadi pada orang dewasa yang berhubungan dengan penyakit HIV/AIDS, penyakit malaria, dan *Episstein-Barr* virus yang melibatkan saluran pencernaan dan sum-sum tulang. Secara umum, tanda dan gejala klinis yang tampak pada penderita Burkitt's lymphoma antara lain yaitu lesi terjadi pada daerah maksilla, mandibula dan abdomen. Tanda paling sering terlihat adalah tumor lokal pada rongga mulut dan kegoyangan gigi,. Adapun nyeri lokal, tenderness, paresthesia jarang ditemukan. Tampak radiografi Burkitt's lymphoma seperti radiolusensi akibat destruksi tulang dengan batas yang tidak jelas/difuse. Tampak mikroskopis "*starry sky*", monomorfik, *immature*, dan *undifferentiated lymphocytes interspaced* merupakan ciri khas Burkitt's lymphoma. Metode yang umum digunakan eksisi biopsi, pemeriksaan

massa sel tumor dari preparat, pengambilan dengan jarum, dan sitosentrifugasi dari cairan rongga tubuh¹³.

2.1.4 Morfologi

Secara histologi, BL terdiri dari sel-sel monomorfik yang uniform, tersebar difus, mempunyai ukuran medium dengan inti bulat, banyak anak inti, sitoplasma sedikit dan basofilik (Gambar A dan B). Sel-sel tumor memperbanyak diri secara cepat, yang dapat dilihat dengan proliferasi index Ki67 mendekati 100% .



Karena tingginya laju apoptosis maka ditemukan sebaran makrofag yang memakan sel-sel tumor yang telah apoptosis dengan latar belakang banyak sel tumor dengan inti hiperkromatik sehingga menghasilkan gambaran khas disebut starry sky (Gambar A dan B), sedangkan sel-sel tumor mengekspresikan IgM, CD19, CD20, CD22, CD79a, CD10 dan BCL6, sel-sel BL tidak mengekspresikan BCL2, CD5, CD23, CD34 dan TdT. Analisa sitogenetik, misalnya fluorescence in situ hybridization (FISH) telah digunakan secara luas dalam analisa limfoma jenis agresif termasuk pada diagnose BL¹³.

2.1.5 Patogenesis

B cell lymphoma (BCL), termasuk Burkitt's Lymphoma, berasal dari berbagai stadium diferensiasi sel B, karena itu pada umumnya, kebanyakan gambaran BCL mewakili stadium diferensiasi sel-sel B. Sel-sel B pada GC mengalami ekspansi klonal melalui modifikasi DNA yang meliputi somatic hypermutation (SHM), class switch recombination (CSR), dan receptor editing. Jika dalam proses tersebut terjadi masalah misalnya terjadi translokasi kromosom maka akan berlanjut dengan limfomagenesis. Pada BCL, translokasi

kromosom merupakan mekanisme yang terbanyak mempengaruhi aktivasi dan deregulasi protooncogenes. Translokasi kromosom pada BCL paling banyak melibatkan MYC dan lokus Ig. Pada GC, activation-induced cytidine deaminase (AID) memfasilitasi proses chromosomal breaks pada lokus MYC selama proses SHM dan CSR. Karena ko-ekspresi AID dan c-Myc pada subset dari c-Myc⁺ sel-sel B pada GC, maka aktivasi abnormal dari AID selama transkripsi MYC dapat menyebabkan translokasi sel-sel B pada GC. Baik MYC dan BCL6 (transcriptional repressor) berperan penting pada pembentukan dan pemeliharaan sel-sel pada GC. Translokasi menyandingkan transcriptional control elements pada lokus Ig ke MYC promoter. Hal ini dapat menghilangkan binding sites BCL6 ke region MYC 5' pada beberapa situasi dan kondisi. Karena kuatnya aktifitas enhancer gen Ig melebihi kemampuan represi BCL6, akan menghalangi penekanan transkripsi MYC oleh BCL6 pada zona gelap dari GC .

Ekspresi MYC yang berlebihan merupakan gambaran genetik umum BL yang disebabkan translokasi MYC ke gen Ig H, tetapi dijumpai juga sel B dengan translokasi MYC pada orang yang tidak menderita lymphoma. Hal ini menandakan bahwa MYC sendiri tidak cukup untuk menyebabkan BL. Mutasi tambahan seperti TP53, MYC sendiri, TCF3, ID3 (inhibitor TCF3) dan CCND3 dapat diidentifikasi pada BL. Peningkatan tonik signal reseptor sel B (BCR) melalui aktivasi TCF3 menyebabkan aktivasi posphatidylinositol3-OH kinase (PI3K) pathway, yang menyebabkan survival BL bertahan. Mutasi pada TCF3 dapat juga mengaktifkan CCND3. Cyclin D3 yang merupakan regulator siklus sel menjadi lebih stabil akibat mutasi CCND3 pada BL dan hal ini menyebabkan siklus sel tetap berlangsung. Karenanya mutan cyclinD3 berkontribusi pada patogenesis BL. Secara bersamaan kolaborasi MYC dan PI3K merupakan satu hal penting pada patogenesis BL. Satu studi gene expression profiling berhasil mengenali BL signature yang spesifik antara lain berupa ekspresi gen-gen yang menjadi target MYC6 . Gen-gen yang berhubungan dengan regulasi sel-sel limfosit B pada GC teridentifikasi sebagai highly expressed, sementara itu ekspresi gen-gen yang menjadi target dari NF-

κ B dan MHC complex class I semuanya menurun . Ekspresi Nfkb1 di hambat pada BL dan menurun pada sebagian besar sel-sel tumor pada tikus model E μ -Myc. Lenze dan kolega berhasil menunjukkan bahwa BL dan DLBCL merupakan dua tipe limfoma yang berbeda dengan menggunakan sistem microRNA profiles. Laju pertumbuhan sel-sel BL yang cepat mengindikasikan laju apoptosis yang rendah tetapi BL sendiri mempunyai laju proliferasi tinggi yang menandakan jalur apoptosis mengalami deregulasi. Sel-sel BL juga negatif pada pemulasan dengan Bcl-2 . Bukti dari satu tikus model menunjukkan bahwa adanya hubungan antara MYC dan phosphoinositide 3-kinase (PI3K) cascade saat progresi sel-sel BL¹³.

2.1.6 Pengobatan

Angka survival dapat mencapai angka 90% di negara-negara maju dengan infrastruktur dan pelayanan kesehatan yang baik dan dapat dijangkau oleh masyarakatnya . Sedangkan di negara-negara yang sedang berkembang, angka kesembuhan lebih rendah karena kualitas dan kuantitas pelayanan kesehatan yang masih kurang. Deteksi dan pengobatan sedini mungkin sangat penting untuk meningkatkan survival pasien-pasien BL. Penderita yang tidak diobati dapat meninggal dunia dalam hitungan bulan. Sel-sel BL mempunyai waktu pembelahan yang cepat. Karena itu pengobatan pasien-pasien BL harus menggunakan kemoterapi intensif dengan siklus singkat, namun efek samping sering muncul . Rituximab, suatu antibodi monoclonal humanized anti-CD20, baik tunggal maupun kombinasi terbukti dapat memperbaiki angka survival pasien-pasien NHL termasuk BL. Salah satu cara Rituximab membunuh sel-sel tumor adalah secara cross-linking CD. Penanganan pasien BL meliputi regimen CHOP-like berupa cyclophosphamide, mitoxantrone, vincristine and prednisone atau CNOP. Sampai saat ini berbagai modifikasi protokol terapi kombinasi dipakai dalam pengobatan NHL termasuk BL.

Salah satu pilihan adalah regimen intensif yang disebut sebagai regimen Berlin–Frankfurt– Münster berupa; cyclophosphamide, doxorubicin, methotrexate dosis tinggi atau ifosfamide, etoposide, and cytarabine dosis tinggi. Regimen lain adalah kombinasi regimen intensif dengan autologous

stem-cell transplantation. Satu grup studi mengaplikasikan protokol a low intensity-combination chemotherapy yang terdiri dari etoposide, prednisone, vincristine, cyclophosphamide, doxorubicin dan Rituximab (EPOCH-R) dan memberikan hasil yang lebih baik bagi pasien sBL dan immunodeficiency-associated BL dewasa. Sementara grup lainnya memberikan kemoterapi kombinasi CODOX-M/IVACRituximab pada pasien BL dengan positif-HIV menunjukkan tidak ada peningkatan toksisitas, kombinasi ini bahkan menunjukkan peningkatan survival pasien secara signifikan¹³.

2.2 Terminologi

Secara terminologi, tumor digunakan untuk menjelaskan dan menggambarkan pertumbuhan yang tidak normal sehingga membentuk suatu lesi atau benjolan di tubuh. Sedangkan kata kanker digunakan untuk menggambarkan penyakit yang timbul akibat hasil pertumbuhan tidak normal dari sel tumor yang berubah menjadi sel kanker. Tumor sendiri terbagi menjadi dua yaitu tumor jinak dan tumor ganas. Tumor jinak memiliki ciri-ciri yaitu tumbuh secara terbatas, memiliki selubung, tidak menyebar, dan bila dioperasi dapat dikeluarkan secara utuh sehingga dapat sembuh sempurna sedangkan tumor ganas memiliki kemampuan invasive dan metastasis sehingga dapat menyerang jaringan sekitarnya dan bermigrasi ke jaringan yang jauh^{14,15}.

2.3 Karsinogenesis

Proses terjadinya kanker (karsinogenesis) melalui beberapa tahap, yaitu dimulai dari inisiasi, promosi, progresi, sampai terjadi invasive dan metastasis. Dalam keadaan normal, pertumbuhan dan diferensiasi sel diatur oleh protoonkogen (growth promoting gens) yang berperan dalam berbagai aspek proliferasi dan diferensiasi sel, di antaranya gen ras, myc, c-erb. Di lain pihak, pertumbuhan itu dikendalikan secara ketat oleh antionkogen (tumor suppressor gens), P53, dan beberapa gen lain yang berfungsi menghambat pertumbuhan. Selain kontrol protoonkogen dan antionkogen, sel dikendalikan pula oleh mekanisme kematian sel terprogram (apoptosis), yaitu bertujuan menyingkirkan sel-sel yang sudah tidak dikehendaki. Dalam penelitian dalam biologi molekuler, para peneliti telah banyak mengungkapkan bahwa terjadinya mutasi atau aktivitas

onkogen secara berlebihan dan atau inaktivasi maupun mutasi gen supresor dapat menyebabkan proliferasi sel secara tak terkendali, satu atau lebih untai DNA bertambah (amplifikasi) atau hilang atau translokasi resiprokal maupun nonresiprokal sehingga terjadi rekombinasi DNA yang salah. Mutasi gen ini menyebabkan sel berfungsi abnormal¹⁶.

Kanker terjadi karena adanya kerusakan atau transformasi protoonkogen dan gen penghambat tumor sehingga terjadi perubahan dalam cetakan protein dari yang telah diprogramkan semula yang mengakibatkan timbulnya sel kanker. Karena itu terjadi kekeliruan transkripsi dan translasi gen sehingga terbentuk protein abnormal yang terlepas dari kendali normal pengaturan dan koordinasi pertumbuhan dan diferensiasi sel. Pengaturan sifat individu dilakukan oleh gen (DNA) dengan pembentukan protein melalui proses transkripsi dan translasi¹⁷.

Karsinogenesis merupakan suatu proses multistap. Dengan 3 tahapan¹⁸:

1. Inisiasi (Initiation)

Tahap pertama ialah permulaan atau inisiasi, dimana sel normal berubah menjadi premaligna. Karsinogen harus merupakan mutagen yaitu zat yang dapat menimbulkan mutasi gen. Pada tahap inisiasi karsinogen bereaksi dengan DNA, menyebabkan amplifikasi gen dan produksi copy multipel gen.

2. Promosi (Promotion)

Promoter adalah zat non mutagen tetapi dapat meningkatkan reaksi karsinogen dan tidak menimbulkan amplifikasi gen. Sifat-sifat promotor ialah: mengikuti kerja inisiator, perlu paparan berkali-kali, keadaan dapat reversible, dapat mengubah ekspresi gen seperti: hiperplasia, induksi enzim, induksi diferensiasi.

3. Progresi (Progression)

Pada progresi ini terjadi aktivasi, mutasi atau hilangnya gen. Pada progresi ini timbul perubahan benigna menjadi pre-maligna dan maligna. Dalam karsinogenesis ada 3 mekanisme yang terlibat²⁰:

- a) Onkogen yang dapat menginduksi timbulnya kanker.
- b) Antionkogen atau gen suppressor yang dapat mencegah timbulnya kanker.
- c) Gen modulator yang dapat mempengaruhi eksperimen karakteristik gen yang mempengaruhi penyebaran kanker. Bila ada kerusakan gen, tubuh berusaha mereparasi atau memperbaiki transkripsi gen yang rusak (DNA repair). Kerusakan transkripsi ini mungkin dapat dan mungkin pula tidak dapat diperbaiki lagi. Bila transkripsi gen itu dapat diperbaiki dengan sempurna, maka pada replikasi sel berikutnya terbentuklah sel baru yang normal. Tetapi bila tidak dapat diperbaiki dengan sempurna akan terbentuk sel baru yang defektif. Walaupun sel itu defektif masih tetap ada usaha mereparasi kerusakan transkripsi. Bila berhasil akan terbentuk sel yang normal dan bila gagal akan terbentuk sel yang abnormal, yaitu sel yang mengalami mutasi, atau transformasi, yang pada akhirnya dapat menjadi sel kanker.

Teori karsinogenesis untuk menerangkan bagaimana kanker itu terjadi didasarkan atas¹⁸:

- 1) Mutasi Somatik, yaitu perubahan urutan letak nukleotida dalam asam amino rantai DNA, yang menyebabkan perubahan kode genetik. Menghasilkan produksi protein yang abnormal, sehingga regulasi pertumbuhan dan diferensiasi sel terganggu, sel menjadi otonom dan lepas dari regulasi normal dan sel dapat tumbuh tanpa batas.
- 2) Penyimpangan Diferensiasi Sel (Teori Epigenetik), terjadinya gangguan sistem atau mekanisme regulasi gen seperti represif, depresi serta ekspresi regulasi, sehingga timbul gangguan pertumbuhan dan diferensiasi sel. Defek yang terjadi karena mekanisme regulasi gen yang mengatur pertumbuhan, dan bukan pada struktur gen itu sendiri, maka teori ini disebut teori epigenetik.
- 3) Aktivasi Virus. Virus masuk ke dalam inti sel dan berintegrasi dengan DNA penderita serta mengubah fenotipe sel dengan menyisipkan (insersi) informasi baru atau mengubah transkripsi dan translasi gen. Virus DNA dapat secara

langsung berintegrasi dengan DNA inang dan ditularkan secara vertikal kepada anak-anak sel inang, sedang virus RNA dengan bantuan enzim reverse transkriptase. Menurut teori ini kanker terjadi karena ada infeksi virus yang menyisipkan gennya ke dalam DNA inang yang dapat mengaktifkan protoonkogen menjadi onkogen.

4) Seleksi Sel. Pada sel tubuh manusia diperkirakan terdapat lebih dari 50.000 gen dan masing-masing gen mempunyai fungsi tersendiri. Di dalam tubuh setiap saat ada sel yang mati dan ada pula sel baru yang terbentuk melalui proses mitosis. Karena adanya mutasi maka timbul sel yang defektif dan akan mati atau tidak dapat mengadakan mitosis lebih lanjut. Hanya sel-sel yang baik dan memenuhi syarat tertentu yang akan dapat tetap bertahan hidup. Dalam menyeleksi sel mana yang boleh terus hidup dan berkembang, terjadi kekeliruan. Di sini ada sel yang mengalami mutasi atau transformasi yang lepas dari seleksi dan terus berkembang menjadi sel kanker. Keganasan pada sel eukariota terjadi akibat adanya perubahan perilaku sel yang abnormal, yaitu sel mempunyai kemampuan proliferasi dan diferensiasi yang sangat tinggi. Perubahan perilaku tersebut terjadi karena sel mengekspresikan berbagai protein yang abnormal. Berbagai protein abnormal muncul karena sel mengalami mutasi/kecacatan gen, khususnya gen yang mengkode protein, yang sangat berperan pada pengaturan siklus pembelahan sel. Contohnya adalah gen yang termasuk kelompok protooncogen atau kelompok tumor suppressorgene, serta gen yang mengatur dan menghambat pemendekan telomer pada ujung kromosom.

2.4 Uji Sitotoksisitas .

Sitotoksik merupakan kemampuan suatu senyawa yang potensial menginduksi kematian sel, mekanisme yang diharapkan dari kematian sel tersebut adalah kematian terprogram atau apoptosis. Uji sitotoksik dilakukan untuk melihat potensi suatu obat antikanker atau keamanan suatu senyawa. Sistem tersebut merupakan uji kualitatif dengan menetapkan kematian sel¹⁹.

Parameter dari uji sitotoksik adalah nilai IC50, yaitu yang nilai menunjukkan konsentrasi hambatan proliferasi sel sebesar 50% dan menunjukkan potensi

ketoksikan suatu senyawa terhadap sel. Semakin besar nilai IC₅₀ maka senyawa tersebut semakin tidak toksik. Salah satu uji sitotoksik yang sering digunakan adalah Uji MTT (3-[4,5-dimetilthiazol-2yl]- 2,5-difeniltetrazolium bromide). Uji ini didasarkan pada konversi MTT menjadi kristal formazan oleh sel hidup yang menentukan aktivitas mitokondria. Pengujian ini secara luas digunakan untuk mengukur efek sitotoksik obat secara *in vitro* pada cell line. Reaksi MTT merupakan reaksi reduksi selular yang didasarkan pada pemecahan garam tetrazolium MTT berwarnakuning menjadi kristal formazan berwarna biru keunguan²⁰.

Penelitian Meyer et al. juga melaporkan bahwa suatu ekstrak menunjukkan aktivitas ketoksikan dalam BSLT jika ekstrak dapat menyebabkan kematian 50% hewan uji pada konsentrasi kurang dari 1000 ppm. Nilai LC₅₀ dari ekstrak etanol lebih kecil dari 1000 ppm menunjukkan bahwa ekstrak tersebut mempunyai potensi aktivitas sitotoksik yang dapat dikembangkan sebagai antikanker. Penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol umbi sarang semut (*M. beccarii*) mempunyai aktivitas sitotoksik yang sangat tinggi. Hal tersebut berkaitan dengan senyawa yang terdapat dalam umbi sarang semut yaitu flavonoid, tanin, dan saponin dimana pada kadar tertentu memiliki aktivitas sitotoksik yang tinggi serta dapat menyebabkan kematian larva *A. salina*⁷.

Menurut penelitian Paulina Yessica dan Wildan, ekstrak etanol tanaman sarang semut memiliki efek sitotoksik pada kultur sel MCF-7 dan sel SiHa. Bila dibandingkan dengan penelitian uji sitotoksik ekstrak etanol tanaman sarang semut dan penentuan IC₅₀ terhadap sel MCF-7 (dosis IC₅₀ 353,183 µg/ml) dan sel SiHa (dosis IC₅₀ 41,30 µg/ml), ekstrak etanol tanaman sarang semut memiliki dosis IC₅₀ sebesar 121,059 µg/ml pada sel WiDr. Hal ini menunjukkan bahwa efektivitas ekstrak etanol tanaman sarang semut tidaklah sama pada setiap jenis sel. Selain itu, perlu dipertimbangkan ketika obat dikonsumsi oleh manusia, dalam hal ini ekstrak etanol tanaman sarang semut akan sangat dipengaruhi oleh faktor-faktor yang ada di dalam tubuh manusia sehingga dibutuhkan uji klinis sebelum ekstrak etanol tanaman sarang semut dapat digunakan sebagai obat alternatif terhadap kanker kolon. Dosis IC₅₀ di atas menunjukkan ekstrak etanol tanaman

sarang semut memiliki efek sitotoksik yang lebih baik terhadap kultur sel WiDr dibandingkan pada kultur sel MCF7. Pada tabel persentase kematian sel WiDr yang menggunakan ekstrak tanaman sarang semut dan 5- Fluorourasil menunjukkan hasil yang naik turun. Hal ini menunjukkan bahwa penambahan dosis tidak selalu memberikan efek kematian sel yang lebih banyak dibandingkan dengan dosis yang lebih rendah²¹.

2.5 Angiogenesis

2.5.1 Defenisi

Angiogenesis merupakan proses pertumbuhan dan proliferasi pembuluh darah baru untuk suplai oksigen dan nutrisi yang adekuat. Proses ini dapat terjadi pada jaringan normal, termasuk pada embriogenesis, postnatal dan menjadi aktif pada jaringan yang bertumbuh cepat, termasuk tumor yang solid. Angiogenesis itu penting pada berbagai proses fisiologi dan patologi, dapat terjadi pada pertumbuhan dan diferensiasi, juga penyembuhan luka, peradangan kronik, serta neoplasia. Angiogenesis diperlukan untuk asupan nutrisi tumor tersebut. Pertumbuhan tumor >1–2 mm bergantung pada pembentukan pembuluh darah baru. Diameter tumor tidak dapat melebihi 1–2 mm bila sedikit vaskularisasi, oleh karena terjadi hipoksia yang menyebabkan kematian sel-sel²².

Sel yang berperan pada proses angiogenesis adalah sel endotel, yaitu sel yang melapisi pembuluh darah dan berhubungan langsung dengan darah. Ekspresi protein permukaan sel endotel pembuluh darah yang terkena kanker menunjukkan perbedaan dengan sel endotel di pembuluh darah yang tidak terkena kanker²³.

2.5.2 Tahapan Angiogenesis

Umumnya rangkaian peristiwa proses angiogenesis, meliputi²⁴:

- (1) vasodilatasi dan kongesti vascular bed;
- (2) elongasi pembuluh berhubungan dengan perkembangan varikosa, sinus, atau perubahan struktur pilinan;
- (3) disolusi membran basal pembuluh darah;
- (4) pertunasan endotel ke dalam jaringan sekitarnya;
- (5) migrasi distal dari endotel menghadap sumber angiogenik, dengan mitosis proksimal;
- (6) proliferasi sel endotel,
- (7) pembentukan lumen (kanalisasi), melalui mekanisme intersel dan intrasel;
- (8) anastomosis dengan tunas endotel lainnya dan pembentukan simpul;
- (9) perkembangan sirkulasi;
- (10) maturasi dan evolusi saluran-saluran dengan segmen-segmen arteri dan vena.

Proses angiogenesis diawali dengan pelepasan dan pembentukan faktor pertumbuhan angiogenik yang berdifusi ke sekitar jaringan yang rusak. Faktor pertumbuhan angiogenik ini lalu berikatan dengan reseptor spesifik sel endotel di pembuluh darah terdekat dan mengaktifkan sinyal pertumbuhan dari permukaannya untuk diteruskan ke nukleus. Selanjutnya sel-sel endotel membentuk molekul-molekul baru termasuk berbagai enzim yang melarutkan protein dan membentuk lubang-lubang kecil pada membran basal untuk berproliferasi dan bermigrasi menuju jaringan. Integrin yang terdapat di permukaan membantu pembentukan dan perkembangan pembuluh darah yang baru. Enzim-enzim lain, seperti *matrix metalloproteinase* (MMP) diproduksi untuk menghancurkan jaringan yang rusak di ujung pembuluh darah baru yang sedang tumbuh. Akhirnya, sel-sel endotel yang terbentuk akan menyatu untuk saling berhubungan satu sama lain agar darah dapat bersirkulasi. Tahapan-tahapan terjadinya angiogenesis telah menjadi dasar pemikiran peneliti di bidang terapi kanker melalui herbal medik yang berperan sebagai antiangiogenesis. Tanpa angiogenesis, suplai darah dan makanan akan terhenti sehingga menghentikan pertumbuhan kanker. Oleh karena itu, analisis

kemampuan angiogenesis beserta penghambatannya dapat berperan dalam menentukan prognosis dan penatalaksanaan penderita kanker²⁴.

2.5.3 Faktor-Faktor Angiogenesis.

Angiogenesis dikontrol oleh berbagai faktor yang memulai, mengontrol, dan mengakhiri proses yang mempunyai banyak tahap dan rumit.

Faktor-faktor tersebut meliputi:

- (1) faktor pertumbuhan,
- (2) matriks ekstrasel,
- (3) molekul adhesi sel, dan
- (4) berbagai faktor angiogenesis lainnya.

2.5.4 Stimulator Angiogenesis.

Mekanisme angiogenesis secara umum dapat dibagi dalam tiga fase, yaitu: inisiasi, proliferasi/invasi, dan maturasi. Mulanya, stimulator angiogenik seperti faktor pertumbuhan atau sitokin dilepaskan dari sel-sel radang dan/atau tumor. Terdapat banyak stimulator potensial angiogenesis yang sudah diidentifikasi, seperti basic fibroblast growth factor (bFGF), transforming growth factor- α (TGF- α), dan vascular endothelial growth factor (VEGF), yang dilepaskan dari berbagai tumor. Faktor-faktor ini merangsang proliferasi dan sifat invasif sel vaskular, dengan demikian merangsang pertumbuhan pembuluh darah. Faktor-faktor pertumbuhan dan stimulator angiogenik lainnya yang berikatan dengan matriks ekstrasel dapat juga dilepaskan pada proteolisis matriks, yang merupakan bagian fase invasi. Reseptor-reseptor sel vaskular untuk bFGF, TGF- α , dan VEGF merupakan reseptor transmembran spesifik yang difosforilasi dalam residu-residu tirosin pada ligasi. Peristiwa ini memulai aliran transduksi sinyal yang memberikan perubahan dalam ekspresi gen. Penginduksi angiogenesis dapat bekerja secara langsung pada sel-sel endotel, atau secara tidak langsung melalui sel-sel aksesori (monosit, mastosit, dan sel-

sel T). Friedlander et al. menunjukkan dua jalur berbeda yang menginduksi angiogenesis: jalur pertama dipicu oleh bFGF dan TNF- α (tumor necrosis factor- α) dan memerlukan interaksi dengan integrin $\alpha\beta 3$; jalur kedua adalah melalui VEGF-A dan merupakan $\alpha\beta 5$ -dependent. Inhibitor angiogenesis. Inhibitor-inhibitor angiogenesis dapat mempengaruhi berbagai tahap angiogenesis, seperti destruksi membran basal pembuluh darah, proliferasi dan migrasi sel-sel endotel, atau pembentukan lumen. Hal ini membuktikan bahwa terdapat perbedaan golongan inhibitor endogen dari pertumbuhan dan motilitas endotel yang bekerja sesuai dengan molekul-molekul penginduksi untuk mengontrol angiogenesis. Mengurangi konsentrasi inhibitor atau meningkatkan konsentrasi penginduksi menghasilkan suatu angiogenic switch. Selain itu juga terdapat inhibitor-inhibitor angiogenesis yang berasal dari bahan alam, seperti flavonoid, karbohidrat-bersulfat, atau triterpenoid yang berperan penting dalam proses ini²⁴.

2.6. Interleukin 8 (IL-8)

Interleukin-8 (IL-8) adalah hormon golongan kemokina berupa polipeptida dengan massa sekitar 8-10 kDa yang digunakan untuk proses dasar, pengikatan heparin, peradangan dan perbaikan jaringan. Ciri khas IL-8 terdapat pada dua residu sisteina dekat N-terminus yang disekat oleh sebuah asam amino. Tidak seperti sitokina umumnya, IL-8 bukan merupakan glikoprotein. IL-8 diproduksi oleh berbagai macam sel, termasuk monosit, neutrofil, sel T, fibroblas, sel endotelial dan sel epitelial, setelah terpapar antigen atau stimulan radang (ischemia dan trauma). Dua bentuk IL-8 (77 CXC dan 72 CXC merupakan sekresi neutrofil pada saat teraktivasi. Produksi IL-8 yang berlebihan selalu dikaitkan dengan penyakit peradangan, seperti asma, *leprosy*, *psoriasis* dll. IL-8 juga dapat menginduksi perkembangan tumor sebagai salah satu efek angiogenik yang ditimbulkan, selain vaskularisasi. Dari beberapa kemokina yang memicu kemotaksis neutrofil, IL-8 merupakan *chemoattractant* yang terkuat. Sesaat setelah terpicu, neutrofil menjadi aktif dan berubah bentuk oleh karena aktivasi integrin dan sitoskeleton aktin. Basofil, sel T, monosit dan eosinofil juga

menunjukkan respon kemotaktik terhadap IL-8 dengan terpicunya aktivasi integrin yang dibutuhkan untuk adhesi dengan sel endotelial pada saat migrasi²⁵.

Interleukin-8 dihasilkan oleh berbagai sel normal dan sel tumor. Pada sel normal, IL-8 bertindak sebagai kemokin proinflamasi, sedangkan pada sel tumor, IL-8 banyak diekspresikan pada saat angiogenesis. Infiltrasi sel-sel inflamasi diaktivasi oleh kanker yang kemudian merangsang terjadinya angiogenesis. Tumor associated macrophage telah diketahui sebagai kandidat sel inflamasi untuk angiogenesis tumor. Macrophage yang menginfiltrasi tumor meningkatkan ekspresi VEGF dan TNF- α tidak merangsang angiogenesis secara langsung, namun dengan memodulasi induksi IL-8 dengan jalur yang diregulasi melalui mekanisme parakrin dan atau otokrin²⁶.

Regulator IL-8 adalah sebagai berikut:

1) Nitri Oksida (NO)

NO adalah molekul biologis poten yang memperantarai berbagai aktivitas, termasuk vasodilatasi, neurotransmisi, metabolise zat besi, dan pertahanan imun. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa NO yang berkaitan dengan tumor, yang dihasilkan oleh sel tumor dan/atau sel inang yang menginfiltrasi tumor, memiliki efek pleiotropik pada karsinogenesis, pertumbuhan tumor, dan metastasis. NO menekan ekspresi IL-8.

2) Hipoksia dan Anoksia

Pertumbuhan dan metastasis sel kanker tergantung pada perkembangan pembuluh darah yang memadai. Kekurangan oksigen memicu keadaan hipoksia dan anoksia pada daerah sekitar tumor. Hal tersebut memicu ekspresi IL-8 melalui aktivasi dan kerjasama NF κ B dan AP-180.

3) Asidosis

Abnormalitas dalam fungsi dan struktur pembuluh darah mengarah pada perkembangan daerah hipoksik pada kanker. Hipoksia meningkatkan metabolisme anaerob sel kanker dan menyebabkan peningkatan produksi metabolit asidik. Berkurangnya aliran darah mempengaruhi pembuangan metabolit tersebut, sehingga sebagai akibatnya ion hidrogen akan berakumulasi dan menyebabkan

penurunan pH ekstraseluler. Penelitian pada sel kanker pankreas COLO357 yang dinkubasi dalam pH media yang berbeda menunjukkan kadar IL-8 meningkat seiring dengan penurunan pH. Sehingga dapat disimpulkan bahwa keadaan asidosis dapat memicu ekspresi IL-8²⁶.

2.7 Tumbuhan Sarang Semut

2.7.1 Taksonomi

Kingdom : Plantae

Divisi : Tracheophyta

Kelas : Magnoliopsida

Subkelas : Lamiidae

Ordo : Rubiales

Famili : Rubiaceae

Genus : Myrmecodia

Spesies : Myrmecodia pendens Merr. & Perry

Kajian taksonomi tumbuhan sarang semut telah dilakukan sejak beberapa abad yang lalu. Penelitian pertama kali dilakukan oleh peneliti Belanda Georg Rumphius pada tahun 1750 di Ambon, Maluku. Setelah itu banyak peneliti yang melanjutkannya, termasuk diantaranya Joseph banks, J.D Hooker, William Jack, Odoardo Beccari, Valetton, Merril & Perry, A.C Smith, dan terakhir disempurnakan oleh C.R Huxley dan M.H.P. Jebb pada tahun 1993. Pada kurun waktu tersebut telah terjadi banyak revisi dan hingga tahun 1993 terdapat 26 spesies tumbuhan sarang semut dari genus Myrmecodia dan 16 subspecies atau varietas dari spesies *M. Tuberosa*²⁷.

2.7.2 Morfologi Tumbuhan Sarang Semut

Sarang semut merupakan bagian dari tumbuhan epifit bernama ilmiah Myrmecodia sp. Bentuknya mirip umbi, di bawah batang tanaman yang menggelembung. Di dalamnya itulah terdapat tiga jenis semut *Irydomyrmex*

menghuni. Jadi, bukan sembarang sarang semut seperti tampak di beberapa ranting pohon seperti pohon mangga.



Gambar 2.7.2 Tumbuhan sarang semut

Anggota marga Psychotriaceae terdiri dari 26 spesies tersebar di berbagai wilayah Indonesia, seperti Papua, Siberut, Mentawai, Jawa dan Kalimantan. Jenis yang banyak ditemukan adalah *Myrmecodia tuberosa*. Heyne (1987) menyebut spesies ini sebagai rumah semut. Semut merasa nyaman tinggal di caudex (bagian yang menggelembung lantaran inang memproduksi gula). Zat itu dimanfaatkan semut sebagai sumber pakan. Sebagai balas jasa, semut melindungi tumbuhan dari pemangsa herbivora.

Sebagai epifit, rumah semut antara lain menumpang pada batang-batang pohon tertentu. Bagian yang menggelembung itu yang kini mulai banyak dimanfaatkan sebagai bahan baku obat dan digunakan masyarakat sebagai tanaman obat²⁷.

Tumbuhan sarang semut umumnya hanya memiliki satu batang yang jarang bercabang serta mempunyai ruas yang tebal dan pendek. Pada ujung tumbuhan ini terdapat daun yang tebal. Batang bagian bawahnya secara progresif menggelembung membentuk umbi atau hipokotil (caudex). Tumbuhan sarang semut mulai berbunga pada saat terbentuk beberapa ruas (internodal) pada batangnya. Tumbuhan ini melakukan penyerbukan sendiri, bunga berwarna putih dan buah matang yang berwarna merah atau jingga.

Sarang semut termasuk sukulen yang dapat menyimpan air dalam jaringannya sehingga cukup toleran terhadap kekeringan. Bagian tumbuhan yang digunakan sebagai obat adalah bagian daging umbi/hipokotil (caudex) yang dapat berbentuk bulat, memanjang bahkan tidak beraturan. Umbi sarang semut rata-rata berdiameter 25 cm dan tinggi 45 cm dengan permukaan bertekstur untuk melindungi dari herbivora. Dalam umbi sarang semut terdapat labirin yang dihuni oleh semut dan cendawan. Keunikan tumbuhan ini terletak pada koloni semut yang bersarang pada umbi sehingga terbentuk labirin atau lorong-lorong di dalamnya. Di habitat aslinya, tumbuhan sarang semut dihuni oleh beragam jenis semut terutama *Ochetellus* sp. Kestabilan suhu yang ada di dalam umbi membuat koloni semut bersarang di dalam umbi tersebut. Dalam jangka waktu yang lama terjadi reaksi kimiawi secara alami antara senyawa yang dikeluarkan semut dengan zat yang terkandung dalam tumbuhan. Perpaduan inilah yang diduga membuat sarang semut memiliki kemampuan mengatasi berbagai jenis penyakit²⁸.

2.7.3 Kandungan dan Manfaat Tumbuhan Sarang Semut

Subroto & Saputro (2006), mengungkapkan bahwa senyawa aktif yang terkandung dalam Sarang Semut itu adalah flavonoid, tanin, dan polifenol yang berfungsi sebagai antioksidan dalam tubuh. Selain itu dalam sarang semut juga ditemukan kandungan senyawa yang bermanfaat lainnya, seperti tokoferol, magnesium, kalsium, besi, fosfor, natrium, dan seng. Senyawa aktif polifenol yang terkandung dalam sarang semut memiliki banyak khasiat, yaitu sebagai antimikroba, antidiabetes, dan antikanker⁷.

Kandungan senyawa aktif dalam sarang semut tergantung pada tempat tumbuh dan umur tanamannya. Sarang semut yang tumbuh liar di hutan akan menghasilkan senyawa yang berbeda dengan yang ditanam di dalam pot. Menurut penelitian zat aktif dalam sarang semut yang berkhasiat sebagai obat adalah senyawa golongan flavonoid dan tannin²⁷.

a. Flavonoid

Merupakan suatu kelompok senyawa fenol yang terbesar ditemukan di alam. Senyawa-senyawa ini merupakan zat warna merah, ungu, biru dan sebagian zat kuning yang terdapat dalam tumbuhan. Flavonoid telah banyak diteliti dibidang kesehatan. Fungsi umum flavonoid adalah sebagai antioksidant yang berkekuatan sangat tinggi, sehingga dapat menghilangkan efek merusak yang terjadi pada oksigen dalam tubuh manusia. Selain itu flavonoid juga berfungsi untuk melindungi struktur sel dalam tubuh, meningkatkan penyerapan dan penggunaan vitamin C dalam tubuh. Manfaat flavonoid yang lain adalah sebagai antiradang (antiinflamasi), Mencegah terjadinya pengeroposan tulang dan antibiotika dengan mengganggu fungsi dari virus atau bakteri. Selain itu, bioflavonoid juga berfungsi untuk meblokade terbentuknya prostaglandin penyebab nyeri, menstimulan sel darah putih, serta meningkatkan daya serang terhadap kuman. Penelitian secara *in vitro* maupun *in vivo* menunjukkan aktivitas biologis dan farmakologis dari senyawa flavonoid sangat beragam, salah satu diantaranya yakni memiliki aktivitas antibakteri.

b. Tanin

Tanin merupakan suatu senyawa polifenol yang banyak terdapat dalam tumbuhan. Tanin terdapat dalam bagian tanaman tertentu, seperti daun, buah, kulit kayu, dan batang. Tanin merupakan antiseptic untuk mencegah hama serangga dan kapang. Tanin mempunyai sifat mudah larut dalam air dan memiliki rasa asam dan sepat. Tanin mampu mengendapkan protein dari larutannya dan bersenyawa dengan protein tersebut, sehingga tidak dipengaruhi enzim protiolitik. Senyawa fenol dalam tannin bersifat adstrigensia atau pengelat, mempunyai daya antiseptic dan pemberi warna pada tumbuhan. Dalam dunia pengobatan tannin dimanfaatkan sebagai zat yang dapat mengobati diare, ambeien, keputihan, menghentikan perdarahan, antibakteri, antioksidan, penawar racun, mengatasi peradangan, dan untuk melangsingkan tubuh.

c. Tokoferol

Tokoferol atau yang lebih dikenal sebagai Vitamin E, walaupun sebenarnya berbeda, tetapi keduanya merupakan senyawa antioksidan yang kuat. Vitamin E memiliki fungsi utama, yaitu mampu menghilangkan atau juga membuang berbagai radikal bebas dan molekul oksigen merupakan tugasnya sebagai antioksidan alami. Fungsi lain dari Vitamin E adalah memperlambat penuaan dini, membantu mengurangi rasa lelah, mencegah adanya penyakit hati, mencegah sterilitas, dan juga destrodi otot. Kandungan Tokoferol dalam sarang semut cukup tinggi yaitu 31,34 mg/100gr sarang semut, dimana ini sudah mencukupi kebutuhan akan tokoferol untuk manusia.

d. Polifenol

Polifenol adalah asam fenolik dan flavonoid. Polifenol banyak ditemukan dalam buah-buahan, sayuran, serta biji-bijian. Polifenol berkhasiat sebagai antimikroba dan menurunkan kadar gula darah. Asam Fenolik merupakan kelas dari antioksidan atau senyawa yang menghilangkan radikal bebas. Molekul yang tidak stabil ini adalah produksi dari metabolisme normal yang menyumbat pembuluh darah dan mengakibatkan perubahan pada DNA yang dapat menimbulkan kanker dan penyakit lain.

e. Mineral lainnya

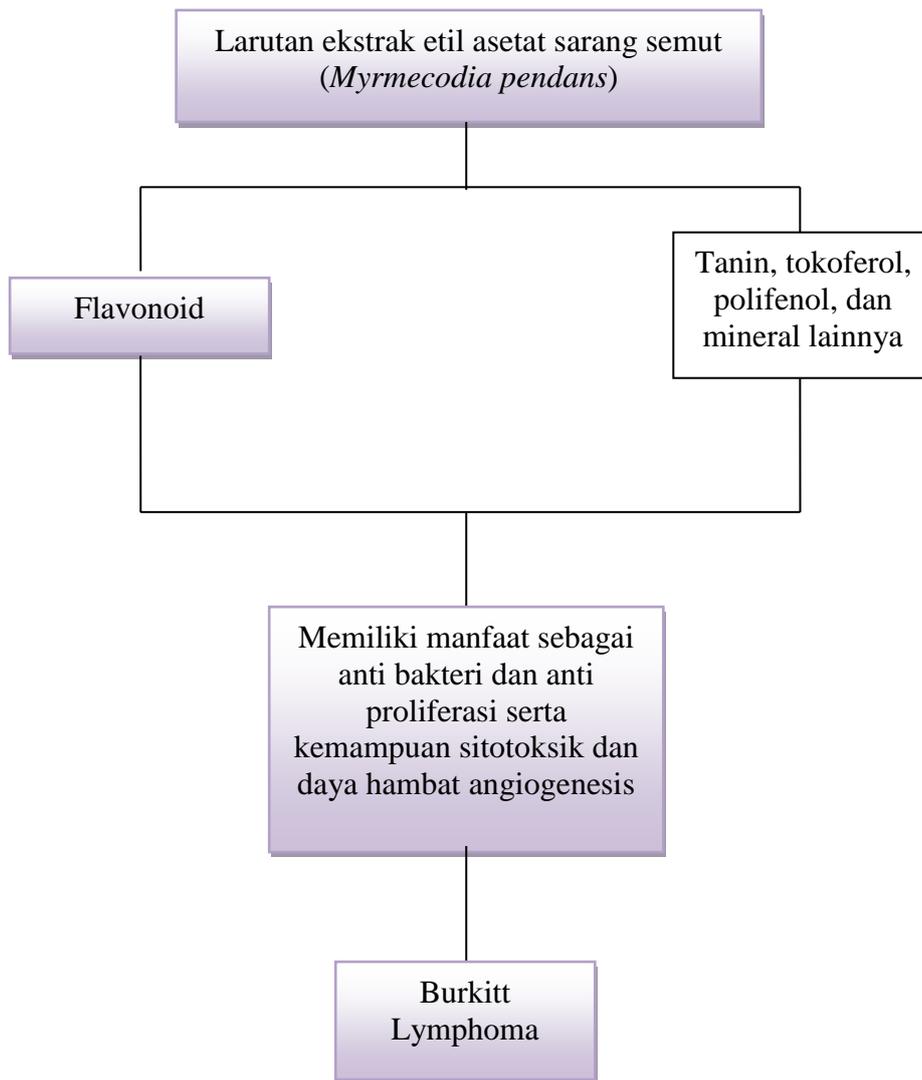
Mineral-mineral yang terkandung dalam Sarang Semut mempunyai fungsi sebagai berikut :

- Magnesium berperan dalam fungsi tulang, hati, otot, transfer air intraseluler, keseimbangan basa, dan aktivitas neuomuseluler
- Besi berperan dalam pembentukan transporoksigen, hemoglobin, dan aktivor enzim.
- Fosfor berperan dalam penyerapan produksi energy dan kalsium.
- Natrium berperan dalam volume cairan tubuh, keseimbangan elektrolit, impus saraf, dan keseimbangan asam-basa.
- Seng bermanfaat dalam penyimpanan insulin, metabolisme karbohidrat, sintesis protein dan penyembuhan luka.

BAB III

KERANGKA TEORI DAN KERANGKA KONSEP

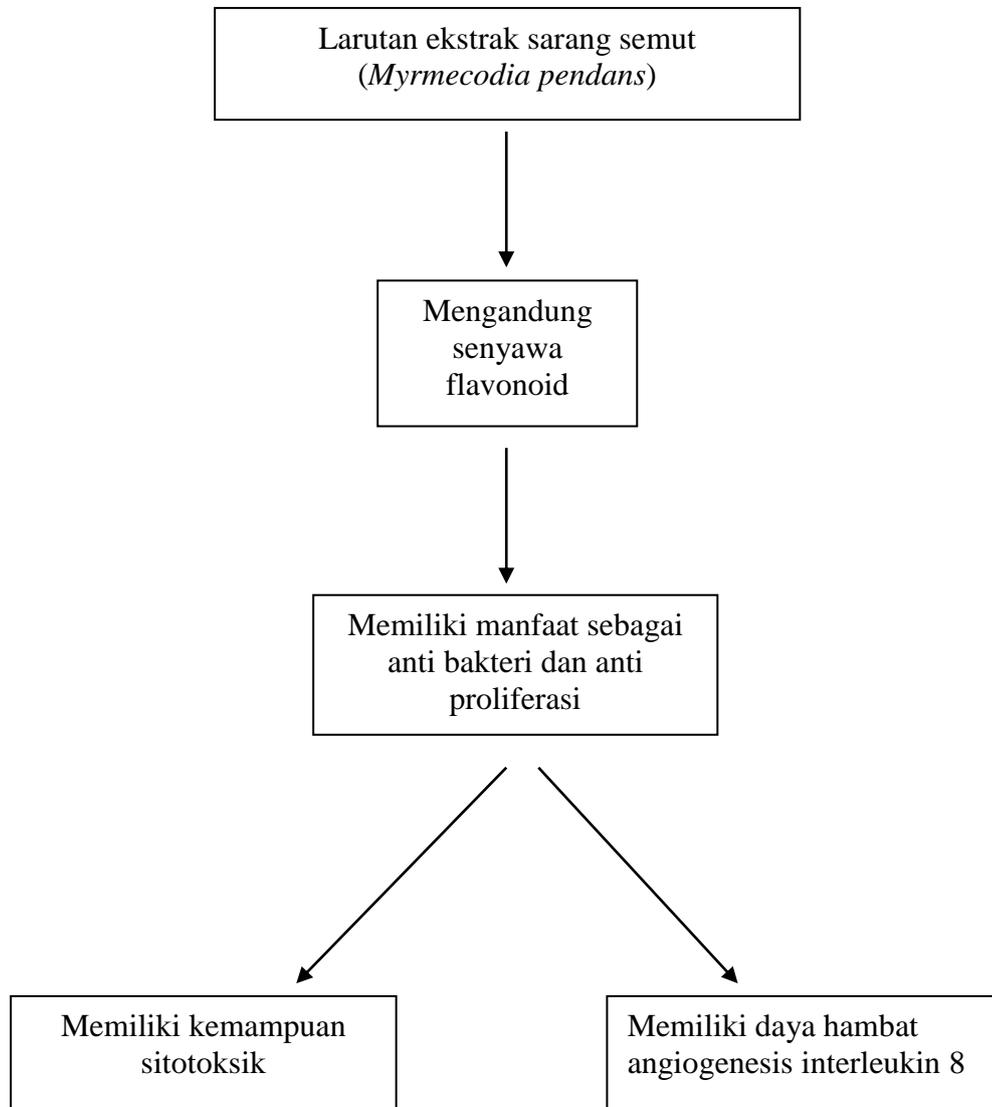
3.1 Kerangka Teori



= Variabel yang diteliti



3.2 Kerangka Konsep



BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Jenis Penelitian

Penelitian dilakukan dengan cara eksperimental murni laboratorik dengan menggunakan biakan sel kanker Burkitt's Lymphoma.

4.2 Subjek Penelitian

Subjek penelitian ini adalah Sel Burkitt's Lymphoma, merupakan sel kanker nasofaring. Sel Burkitt's Lymphoma mempunyai karakteristik pertumbuhan yang cepat, kemampuan invasi dan metastasis yang cepat, penyakit yang sukar disembuhkan, terjadinya rekurensi sangat tinggi walaupun telah dilakukan pembedahan secara radikal dan rerata lamanya hidup penderita pendek.

Sel kanker Burkitt's Lymphoma diambil dari tangki nitrogen cair lalu dicairkan dalam *water bath* suhu 37⁰C sampai mencair, kemudian *tube* disemprot alkohol 70%. Sel dimasukkan ke dalam tabung sentrifuse yang berisi 10 ml medium DMEM serum (DMEM ditambah FBS 10%, penisilin streptomisin 5%, dan Fungizone 0,5%) dalam ruang *laminary airflow*, dan disentrifuse dengan kecepatan 1200 rpm selama 5 menit. Supernatan dibuang, endapan yang terbentuk ditambahkan dengan DMEM serum. Setelah didiamkan 20 menit sel disentrifuse dengan kecepatan 1200 rpm selama 5 menit. Supernatan dibuang, disisakan 1 ml untuk resuspensi. Suspensi sel dimasukkan ke dalam *TFC (Tissue Culture Flask)* dengan media pertumbuhan yang mengandung FBS 10% dan dilihat di bawah mikroskop *inverted*. Sel hidup nampak pipih, utuh, jernih dan bersinar. *Tissue Culture flask* yang berisi sel diinkubasi dalam inkubator dengan tutup dikendorkan.

4.3 Lokasi Dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) Universitas Gadjah Mada pada bulan Maret – April 2018, dan di Laboratorium riset terpadu Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta pada bulan Mei – Juni 2018.

4.4 Variabel Penelitian

4.4.1 Variabel Independen

Variabel bebas dari penelitian ini ialah fraksi etanol sarang semut.

4.4.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dari penelitian ini ialah hambatan angiogenesis dan hambatan protein interleukin 8.

4.5 Definisi Operasional Variabel

1. Kultur sel kanker Burkitt's Lymphoma : Biakan sel *cloning* dari penderita kanker dalam media pertumbuhan yang sesuai (DMEM).
2. IL-8 adalah kemokin dihasilkan oleh makrofag dan jenis sel lain seperti sel-sel epitel. IL-8 meningkat pada saat pembentukan pembuluh darah. Dideteksi dengan menggunakan ELISA. Prinsip kerja berdasarkan pengukuran densitas warna kuning (OD) pada panjang gelombang 450 nm yang diproporsikan sebagai jumlah IL-8 manusia dari sampel uji. Pada setiap percobaan dibuat larutan standar beberapa konsentrasi IL-8 vs OD relatif standar (OD tiap sumuran-OD nol) untuk menampilkan kurva standar. Perhitungan konsentrasi IL-8 (dalam $\mu\text{g/ml}$) sampel didasarkan pada interpolasi pada kurva larutan standar: data yang dihasilkan tersaji dalam bentuk skala interval.

4.6 Bahan Dan Alat Penelitian

Bahan baku penelitian yang digunakan untuk mendapatkan senyawa murni adalah tanaman sarang semut (*myrmecodya pendans*) yang diperoleh dan

didatangkan dari daerah papua kemudian diproses dalam laboratorium LPPT untuk mendapatkan fraksinasi ekstrak sarang semut yang dibutuhkan untuk penelitian.

Bahan yang digunakan selama pengujian aktifitas sel adalah Burkitt's Lymphoma *cell lines* (LPPT-UGM Jogjakarta), tanaman umbi sarang semut (*Myrmecodia pendens*), Human VEGF ELISA Kit (Boster Immunoleader), Human IL-8 ELISA Kit (Boster Immunoleader), *Rabbit Anti-AKT3 Polyclonal Antibody* (Bioss-Usa), *Rabbit Anti-NFKB p65 Polyclonal Antibody* (Bioss-Usa), *Dulbeco's Modified Eagle Medium (DMEM, Sigma-Aldrich, USA)*, *Fetal bovine serum (FBS-Australia)*, *Fungizone liquid (Nacalai-Japan)*, *Penicillin-streptomisin*, *Trypsin-EDTA*, *Phosphat buffer saline (PBS)*, *Mill-Q* (Lab.Riset FKG-UGM, Jogjakarta), Membran polycarbonate 5 milipore (PVDF, BioRad-USA), ekstrak etil asetat, Alkohol 70%, Hematoksin, dan dimetilsulfoksida (DMSO; Nocalai, Japan).

Peralatan yang digunakan untuk uji aktivitas seperti ELISA microplate reader (BioRad-USA), Plat 96 sumuran (Iwaki Jepang), Sentrifuse HC-1180T (Health), Mikropipet berbagai ukuran (Eppendorf; Germany), Vortex (Maxi mix II), *Conical tube eppendorf* (15 ml), Inkubator 37⁰C, CO₂ 5%, *Refrigerator (Biomedical freezer)* 4⁰C, -20⁰C dan -30⁰C, *Laminar airflow* (Sanyo; Japan), *Water bath* (Eyela, Tokio rikakikai, 5-80⁰C), Neraca digital elektronik (Mettler Toledo; Swiss), *Flasks*, *Suction pump* (Asaniika), *Handyclave* (Rexall), Mikroskop cahaya (Nikon eclipse TE. 2000-U), Human IL-8 Elisa Kit (Boster-Cina), Human VEGF Elisa Kit (Boster-Cina).

4.7 Tata Kerja Penelitian

Penelitian meliputi dua tahap penelitian yang saling terkait yaitu, tahap penelitian pertama terdiri dari determinasi tanaman, ekstraksi, dan fraksinasi tanaman sarang semut (*Myrmecodya pendans*) dengan menggunakan ekstrak etil asetat untuk mendapatkan fraksi flavonoid. Setelah itu dilanjutkan dengan penelitian tahap kedua yaitu uji hambatan proliferasi sel kanker Burkitt's Lymphoma.

4.7.1 Penelitian Tahap Pertama

1. Determinasi tanaman sarang semut (*Myrmecodya pendans*)

Determinasi terhadap tumbuhan sarang semut dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui jenis sarang semut dan menghindari kesalahan terhadap tumbuhan yang digunakan pada uji penelitian yang dilakukan.



Gambar 4.7.1.1 Bahan uji penelitian Sarang Semut (*Myrmecodya pendans*)

2. Ekstraksi Tumbuhan Sarang semut

- a. Sarang semut yang diperoleh dari Papua dibersihkan dari kotoran. Kemudian dirajang kecil-kecil dan dikeringkan di udara terbuka. Umbi yang telah kering digiling hingga menjadi serbuk simplisia.
- b. Serbuk simplisia sarang semut dimasukkan ke dalam maserator yang bagian dasarnya telah dilapisi kapas. Kemudian ke dalam maserator dimasukkan ekstrak etil asetat - air dengan perbandingan sebanyak 9 : 1. Proses maserasi ditingkatkan selama 24 jam, sambil sesekali dilakukan pengadukan.
- c. Setelah 24 jam, maserat dikeluarkan dan ditampung. Seluruh hasil penampungan pelarut dicampurkan untuk kemudian dilakukan proses pemekatan ekstrak dengan menggunakan alat *rotary evaporator* sampai seluruh pelarut menguap dan didapatkan ekstrak etanol pekat.

3. Fraksinasi Tumbuhan Sarang semut

Fraksinasi adalah suatu proses pemisahan senyawa berdasarkan tingkat kepolaran. Jumlah dan senyawa yang dapat dipisahkan menjadi fraksi berbeda-beda tergantung pada jenis tumbuhan. Tanaman umbi sarang semut berasal dari Kabupaten Jayawijaya Papua. Sarang semut segar sebanyak 900 gram diekstraksi menggunakan etanol dan selanjutnya dievaporasi hingga dihasilkan ekstrak etanol. Ekstrak etil asetat kemudian dilarutkan dalam air suling dan selanjutnya dipartisi dalam corong pisah menggunakan *n*-heksana sehingga diperoleh fraksi *n*-heksana dan air (H₂O). Fraksi air yang diperoleh dipartisi kemudian antara air, etil asetat dan etanol. Ekstraksi dan fraksinasi dilakukan di Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) Universitas Gadjah Mada.



Gambar 4.7.1.3 Bahan uji fraksi etil asetat dan fraksi etanol sarang semut

4. Pembuatan Medium DMEM

Beberapa bahan dibutuhkan untuk pembuatan medium DMEM yang terdiri atas : Hapes 2 gram, NaCO₃ 2 gram, Serbuk DMEM 1 sachet, DH₂O add 1 liter.

5. Pengaktifan Sel kanker Burkitt's Lymphoma

Sel kanker Burkitt's Lymphoma diambil dari tangki nitrogen cair lalu dicairkan dalam *water bath* suhu 37°C sampai mencair, kemudian disemprot alkohol 70%. Sel dimasukkan ke dalam tabung sentrifuse yang berisi 10 ml medium DMEM serum (DMEM ditambah FBS 10%,

penicilin streptomisin 3%, dan Fungizone 0,5%) dalam ruang *laminary airflow*, dan disentrifuse dengan kecepatan 1200 rpm selama 5 menit. Supernatan dibuang, endapan yang terbentuk ditambahkan dengan DMEM serum. Setelah didiamkan 20 menit sel disentrifuse dengan kecepatan 1200 rpm selama 5 menit. Supernatan dibuang, disisakan 1 ml untuk resuspensi. Suspensi sel dimasukkan ke dalam *TFC (Tissue Culture Flask)* dengan media pertumbuhan yang mengandung FBS 10% dan dilihat di bawah mikroskop inverted.



A



B

Gambar 4.7.1.5 A. Media DMEM; B. Biakan sel kanker Burkitt's Lymphoma

6. Pemiakan Sel kanker Burkitt's Lymphoma

Hasil biakan sel kanker Burkitt's Lymphoma diamati setiap hari, dan media diganti dengan media baru selama 7 kali (*passage*). Apabila pertumbuhan sel telah *konfluen* (media menjadi kuning dan sel telah memenuhi flasks) sel dapat dipanen. Sel kanker dalam *flask* kemudian disentrifuse pada 2000 rpm selama 5 menit. Cairan supernatan dibuang dan disisakan sekitar 1 ml untuk suspensi ulang. Setelah suspensi sel homogen, tambahkan media DMEM yang mengandung FBS 10% kemudian sel kanker didistribusikan menjadi beberapa TCF. Dalam *laminary airflow* media lama dibuang lalu sel melekat disemprot perlahan dengan media baru. Suspensi sel yang didapatkan dibagikan menjadi beberapa *flask*, disimpan dalam inkubator pada suhu 37°C, CO₂5%.

7. Uji sitotoksitas fraksi falavonoid

Uji sitotoksitas pada penelitian ini dilakukan dengan menginkubasi sel dengan jumlah 2×10^4 sel selama 24 jam bersama seri konsentrasi flavonoid sarang semut. Analisis yang digunakan adalah uji MTT (3-(4,5 dimethyl thiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide), merupakan garam tetrazolium yang umum digunakan dalam penetapan kuantitatif sel mamalia yang hidup atau proliferasi dengan metode kalorimetri *in vitro*, metode tersebut hanya digunakan pada sel hidup dan tidak pada sel mati, karena didasarkan pada derajat aktivasi sel.

Nilai LC_{50} menunjukkan potensi suatu senyawa sebagai sitotoksik. Senyawa yang tidak atau kurang aktif tidak diteruskan dalam pengujian hambatan proliferasi dan angiogenesis.

1. Pembuatan larutan senyawa uji adalah sebagai berikut, 50 μg senyawa dilarutkan dengan 300 μl DMSO hingga homogen, Setelah homogen ditambahkan DMEM hingga mencapai 50 ml, ini merupakan larutan dengan konsentrasi 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$. Alikuot 10 ml dan dimasukkan ke *conical tube* terpisah.

2. Selanjutnya disiapkan 8 buah *conical tube* dan diberi label 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$; 500 $\mu\text{g}/\text{ml}$; 250 $\mu\text{g}/\text{ml}$; 125 $\mu\text{g}/\text{ml}$; 62,5 $\mu\text{g}/\text{ml}$; 31,2 $\mu\text{g}/\text{ml}$; 15,1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ serta 7,9 $\mu\text{g}/\text{ml}$. masing-masing tabung diisi dengan 4 ml DMEM. Alikuot 4 ml dari larutan 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ dan dimasukkan ke dalam tabung berlabel 500 $\mu\text{g}/\text{ml}$. selanjutnya alikuot 4 ml dari tabung 500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ dan dtambahkan ke dalam tabung berlabel 250 $\mu\text{g}/\text{ml}$. Demikian seterusnya untuk setiap konsentersasi 7,9 $\mu\text{g}/\text{ml}$. sebagai kontrol, digunakan larutan yang berisi DMEM.

3. Pembuatan berbagai konsentrasi larutan tersebut dilakukan pada setiap fraksi yang terdiri atas fraksi etanol, fraksi etil asetat, fraksi heksan dan fraksi air.

4. Larutan dengan berbagai konsentrasi sesuai jumlah fraksi yang telah dibuat dimasukkan ke dalam *refrigerator* dengan suhu 4°C selama 24 jam.

5. Sel BURKITT'S LYMPHOMA dikultur menggunakan media DMEM disuplementasi dengan FBS (10%), streptomisin (100 µg/ml), dan penisilin G (100 unit/ml).
6. Sel dibiarkan di dalam *flash* dan diinkubasi atmosfer 37⁰C, 37⁰C, 5% CO₂, dan kelembaban udara 95%. setiap 4-5 hari medium DMEM harus diganti dengan medium yang baru, sampai jumlah sel kanker dapat dipanen.
7. Setelah jumlah sel telah 80% memenuhi *flash* (dapat dilihat dengan mikroskop), medium diaspirasi, kemudian dicuci dengan PBS steril 5 ml selama 1 menit, kemudian diaspirasi lagi. Biakan sel dipanen dengan proses *trypsin-EDTA*.
8. Dimasukkan larutan *trypsin-EDTA* 0,25% 1 ml, kemudian diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 5 menit. Sel diberi DMEM untuk menghentikan *trypsin-EDTA*.
9. Semua sel dipanen dan dimasukkan dalam *conical tube* 20 ml. dan disentrifugasi 10 menit. Supernatan kemudian dibuang, sel diambil menggunakan pipet dan dimasukkan ke dalam *haemocytometer* untuk menghitung jumlah sel dengan menggunakan mikroskop dengan pembesaran 20x. Selanjutnya sel siap untuk pengujian hambatan pertumbuhan.
10. Disiapkan beberapa buah (sesuai jumlah senyawa murni yang berhasil diisolasi) *plate* yang berisi 96 sumuran untuk pengujian MTT Assay. Kemudian pada masing-masing *plate* dimasukkan sel kanker lidah Burkitt's Lymphoma sebanyak 2×10^4 sel/sumuran ditambahkan 100 µl DMEM. Semua sel diinkubasikan pada suhu 37⁰C dan CO₂ 5% selama 24 jam.
11. Setelah diinkubasi selama 24 jam, larutan DMEM dibuang dan diganti dengan 100 µl larutan DMEM senyawa berbagai konsentrasi (dibuat pada prosedur 2)-3)] per sumuran dan diinkubasi kembali selama 24 jam dalam suhu 37⁰C dan CO₂ 5%.

12. Setelah 24 jam, masukkan larutan MTT ke dalam *microplate* sebanyak 15 µl/sumuran kemudian diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 4 jam
13. Selama 4 jam, media dibuang dan diganti dengan larutan isopropanol 100µl (*stop solution*). Sel yang mengalami hambatan pertumbuhan akan berubah warna keunguan. *Plate* 96 sumuran diukur dengan *Bio- Rad* *Microplate Reader* dengan panjang gelombang 540 nm. *Microplate Reader* menunjukkan pembacaan optical density (OD) dan masing-masing sumuran. Persentasi jumlah sel yang mengalami hambatan pertumbuhan dari semua sel yang ada dalam sumuran dihitung melalui rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ Hambatan Pertumbuhan} = \frac{\text{OD kontrol} - \text{OD sampel}}{\text{OD kontrol}} \times 100\%$$

Fraksi flavonoid dengan LC₅₀ di bawah 1000 µg/ml selanjutnya dilanjutkan untuk pengujian hambatan proliferasi dan angiogenesis.

4.7.2 Penelitian Tahap Kedua (Uji hambatan Angiogenesis Fraksi Flavonoid)

Dua buah *plate* 96 sumuran disiapkan untuk analisis ekspresi IL-8. Sebanyak 2x10⁴ sel BURKITT'S LYMPHOMA dimasukkan ke dalam *plate* 96 dan ditambahkan 100 µl bahan fraksi flavonoid dengan beberapa konsentrasi. Sel kemudian diinkubasikan pada suhu 37⁰C selama 24 jam. Setelah 24 jam, supernatant dikumpulkan ke dalam *conical Eppendorf* sesuai dengan konsentrasi masing-masing supernatant kemudian disimpan dalam lemari pendingin bersuhu 4⁰C.

Beberapa prosedur yang dilakukan pada analisis ekspresi protein IL-8 dengan menggunakan kit.

1. Larutan standar IL-8 dibuat sesuai petunjuk pabrik yang yaitu dalam konsentrasi 2000 $\mu\text{g/ml}$, 1000 $\mu\text{g/ml}$, 500 $\mu\text{g/ml}$, 250 $\mu\text{g/ml}$, 125 $\mu\text{g/ml}$, 62,5 $\mu\text{g/ml}$, dan 31,2 $\mu\text{g/ml}$.
2. Pembuatan larutan standar IL-8 dimulai dengan melarutkan 10 μg larutan VEGF standar dengan 1 ml *buffer diluen*. Larutan disimpan dalam suhu ruangan selama 10 menit, kemudian dikocok.
3. Larutan standar konsentrasi 2000 $\mu\text{g/ml}$ dibuat dengan melarutkan 0,2 ml larutan standar 10.000 pg/ml di atas dengan 0,8 ml *buffer diluen*. Kemudian aliquot 0,3 ml larutan standar 2000 $\mu\text{g/ml}$ dan dimasukkan ke dalam *conicaltube* yang telah berisi 0,3 ml *buffer diluen* untuk membuat larutan standar 1000 $\mu\text{g/ml}$. Demikian seterusnya sampai konsentrasi 31,2 $\mu\text{g/ml}$.
4. Setelah larutan standar IL-8 siap, maka disiapkan 1 buah *plate* 96 sumuran yang telah dilapisi antibody manoklonal spesifik IL-8 manusia (telah tersedia dalam kit). Dua baris sumuran paling kiri diisi dengan 0,1 ml larutan standar no. 3). Dua sumuran terakhir diisi dengan *buffer diluen* sebagai kontrol. Sumurun kosong diisi dengan 0,1 ml supernatant berbagai konsentrasi. *plate* kemudian ditutup dan diinkubasi dalam *waterbath* selama 90 menit dengan suhu 37⁰C.
5. Setelah 90 menit, isi *plate* dibuang tanpa dicuci dan ditambahkan 0,1 ml antibody biotinilasi VEGF manusia ke dalam setiap sumuran. *Plate* diinkubasi kembali selama 60 menit.
6. *Plate* selanjutnya dicuci dengan 0.01 M PBS sebanyak 3 kali, setiap kali pencucian PBS didiamkan dalam *plate* selama 1 menit. kemudian ditambahkan 0,1 ml larutan kerja *Avidin-Biotin-peroksidase Complex* (larutan ABC, tersedia dalam kit) ke dalam setiap sumuran dan diinkubasi selama 30 menit.
7. *Plate* dicuci kembali dengan 0,01 M PBS sebanyak 5 kali, setiap kali pencucian didiamkan selama 1-2 menit. Larutan pencuci dibuang kemudian masing-masing sumuran ditambahkan 90 μl pewarna TMB (3,3', 5,5'' – tetramethylbenzidine) dan diinkubasi selama 15-20 menit.

Warna biru akan terlihat pada 4 larutan standar dengan konsentrasi IL-8 tertinggi, sumuran lain tidak terlihat perubahan warna yang nyata.

8. Setelah 20 menit, sumuran ditambahkan 0,1 ml larutan TMB stop perubahan warna menjadi kuning akan terlihat seketika.
9. *Optical density* (OD) dibaca menggunakan *microplate reader* pada panjang gelombang 450 nm. Segera setelah pemberian larutan stop.

Perhitungan didapat dengan rumus:

$$\text{OD relative} = \text{OD}_{\text{masing-masing sumuran}} - \text{OD}_{\text{sumuran}}$$

Kurva standar didapat dari OD larutan standar IL-8. Konsentrasi VEGF ataupun IL-8 sampel diinterpolasikan dari kurva standar



Gambar 4.7.2 Kit Human IL-8

4.8 Analisis Data

Data dianalisis menggunakan ANOVA dua jalur dilanjutkan dengan uji Post Hoc LSD (*Least Significant Difference*) dengan derajat kemaknaan 95%. Uji korelasi Pearson dilakukan untuk melihat hubungan yang kuat antara variabel. Analisis statistik dilakukan dengan menggunakan program SPSS 16.0.

BAB V

HASIL PENELITIAN

Penelitian mengenai uji sitotoksitas hambatan angiogenesis interleukin 8 (IL-8) tanaman sarang semut (*Myrmecodia pendans*) ini telah dilakukan pada bulan April – Juni 2018. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni laboratorik dengan menggunakan biakan sel kanker Burkitt's Lymphoma yang dilakukan di Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) Universitas Gadjah Mada pada bulan Maret – April 2018, dan di Laboratorium riset terpadu Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta pada bulan Mei – Juni 2018.

Penelitian ini menggunakan bahan baku tanaman sarang semut (*Myrmecodya pendans*) yang diperoleh dan didatangkan dari daerah papua kemudian diproses dalam laboratorium LPPT untuk mendapatkan fraksinasi ekstrak sarang semut yang dibutuhkan untuk penelitian.

Prosedur penelitian ini melalui dua tahap. Penelitian tahap pertama terdiri atas 7 fase. Fase pertama yakni determinasi sarang semut. Prosedur ini bertujuan untuk mengetahui jenis sarang semut yang digunakan dan menghindari kesalahan terhadap tumbuhan yang digunakan pada uji penelitian yang dilakukan. Fase kedua yakni ekstraksi. Ekstraksi dilakukan secara maserasi untuk mendapatkan ekstrak etil asetat sarang semut. Sarang semut yang diperoleh dari Papua dibersihkan dari kotoran. Kemudian dirajang kecil-kecil dan dikeringkan di udara terbuka. Umbi yang telah kering digiling hingga menjadi serbuk simplisia. Serbuk simplisia sarang semut dimasukkan ke dalam maserator yang bagian dasarnya telah dilapisi kapas. Kemudian ke dalam maserator dimasukkan ekstrak etil asetat - air dengan perbandingan sebanyak 9 : 1. Proses maserasi ditingkatkan selama 24 jam, sambil sesekali dilakukan pengadukan. Setelah 24 jam, maserat dikeluarkan dan ditampung. Seluruh hasil penampungan pelarut dicampurkan untuk kemudian dilakukan proses pemekatan

ekstrak dengan menggunakan alat *rotary evaporator* sampai seluruh pelarut menguap dan didapatkan ekstrak etanol pekat. Fase berikutnya ialah fraksinasi, yakni proses pemisahan senyawa berdasarkan tingkat kepolaran yang dimiliki. Selanjutnya dilakukan pengaktifan dan pembiakan sel kanker burkitt lymphoma. Dan yang terakhir dilakukan uji sitotoksisitas yang dilakukan dengan menginkubasi sel dengan jumlah 2×10^4 sel selama 24 jam bersama seri konsentrasi flavonoid sarang semut. Pada penelitian tahap kedua dilakukan uji hambatan angiogenesis dengan menggunakan protein interleukin 8 (IL-8) dan analisis data menggunakan ANOVA dua jalur dilanjutkan dengan uji Post Hoc LSD (*Least Significant Difference*) dengan derajat kemaknaan 95%. Uji korelasi Pearson dilakukan untuk melihat hubungan yang kuat antara variabel. Analisis statistik dilakukan dengan menggunakan program SPSS 16.0. Hasil penelitian ditampilkan dalam tabel berikut.

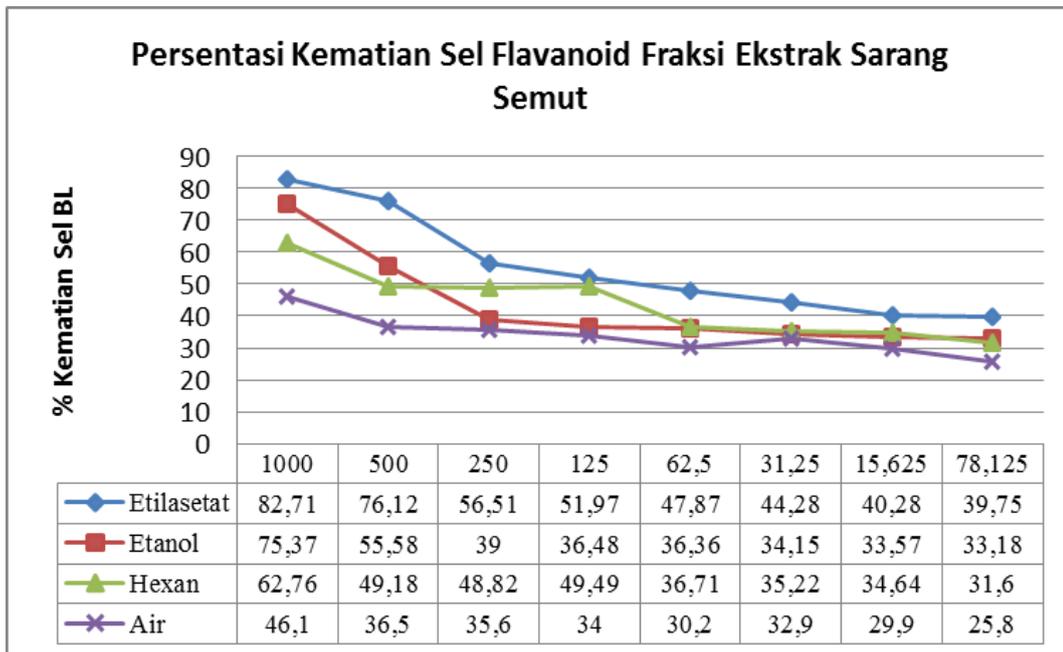
Tabel 5.1 Hasil Uji sitotoksisitas fraksi etil asetat, fraksi etanol, fraksi hexan dan fraksi air terhadap sel kanker Burkitts lymphoma dengan metode perhitungan langsung

Kadar ($\mu\text{g/ml}$)	Log Kadar	% Kematian sel				Probit			
		Etil asetat	Etanol	Hexan	Air	Etil asetat	Etanol	Hexan	Air
1000	4,80	82,71	75,37	62,76	46,1	5,38	5,38	5,08	4,9
500	3,980	76,12	55,58	49,18	36,5	5,03	4,90	4,72	4,6
250	3,927	56,51	39,00	48,82	35,6	4,72	4,45	4,59	4,6
125	3,097	51,97	36,48	49,49	34,0	4,56	4,36	4,53	4,6
62,5	2,996	47,87	36,36	36,71	30,2	4,39	4,36	4,45	4,5

31,25	2,195	44,28	34,15	35,22	32,9	4,36	4,29	4,42	4,6
15,625	1,894	40,28	33,57	34,64	29,9	4,36	4,27	4,42	4,5
7,8125	1,093	39,75	33,18	31,6	25,8	4,01	4,26	4,33	4,4

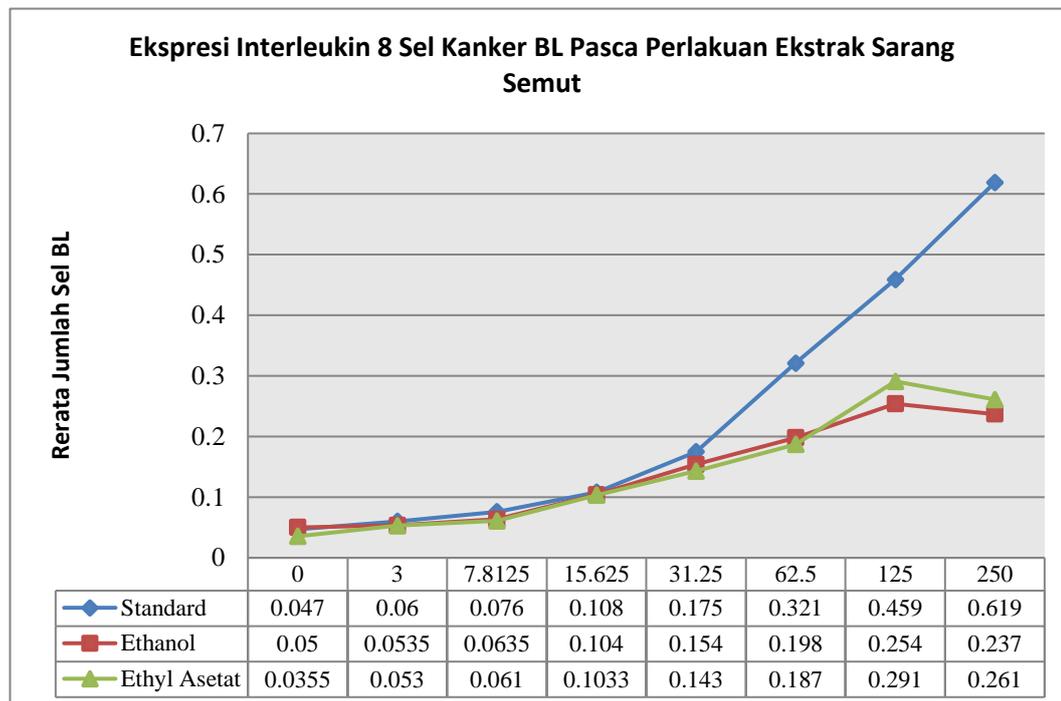
Hasil penelitian uji sitotoksitas pada tabel di atas menunjukkan persentase kematian sel kanker Burkitt's lymphoma terus mengalami peningkatan seiring dengan bertambahnya konsentrasi yang diberikan pada setiap fraksi, baik itu fraksi etanol, ethyl asetat, hexan dan air. Flavonoid fraksi etil asetat dan flavonoid fraksi etanol menghasilkan persentase kematian sel yang lebih tinggi dibandingkan fraksi hexan dan fraksi air untuk konsentrasi tertinggi yaitu 1000 µg/mL. Sedangkan untuk konsentrasi terendah yaitu 7,8125 µg/mL, daya hambatan pertumbuhan sel yang paling baik diperoleh dari flavanoid fraksi hexan dan fraksi air.

Fraksi ethyl asetat flavonoid pada konsentrasi tertinggi yaitu 1000 µg/mL menghasilkan persentase kematian sel sebanyak 82,71 %, dan konsentrasi terendah sebesar 7,8125 µg/mL menyebabkan kematian sel sebesar 39,78% sel. Untuk flavonoid fraksi flavonoid pada konsentrasi tertinggi sebesar 1000 µg/mL menghasilkan persentase kematian sebesar 75,37 % dan konsentrasi terendah sebesar 7,8125 µg/mL menyebabkan kematian sel sebesar 33,18 %. Sedangkan untuk flavanoid fraksi hexan pada konsentrasi 1000 µg/mL menghasilkan persentase kematian sebesar 62,76 % dan konsentrasi terendah 7,8125 µg/mL menyebabkan kematian sel sebesar 31,6%. Terakhir, pada flavanoid fraksi air dengan konsentrasi 1000 µg/mL menghasilkan persentase kematian sebesar 46,1 % dan konsentrasi terendah 7,8125 µg/mL menyebabkan kematian sel sebesar 25,8%.



Grafik 5.1 Perbandingan presentasi kematian sel flavanoid fraksi ekstrak sarang semut.

Untuk perbandingan nilai hambatan pertumbuhan sel masing-masing fraksi disajikan dalam diagram di atas. Dimana dapat dilihat untuk konsentrasi tertinggi diperoleh hambatan pertumbuhan sel yang potensial terdapat pada flavanoid fraksi ethyl asetat dan fraksi etanol. Fraksi ethyl asetat memperoleh kadar kematian sel sebesar 82,71% sedangkan flavanoid fraksi etanol dengan kadar kematian sel sebesar 75,37%. Untuk konsentrasi terendah, nilai hambatan pertumbuhan sel terbaik diperoleh dari flavanoid fraksi hexan sebesar 31,6% dan fraksi air sebesar 25,8%.



Grafik 5.2 Ekspresi Interleukin 8 pada sel kanker burkitts lymphoma pasca perlakuan dengan ekstrak flavonoid dan kontrol.

Berdasarkan gambar grafik di atas, hasil penelitian dari hambatan angiogenesis interleukin 8 menunjukkan bahwa terjadi perubahan ekspresi interleukin 8 yang signifikan pada larutan standar. Hal ini dapat dilihat pada saat larutan standar dengan konsentrasi 125 hasil yang diperoleh adalah 0,459. Ketika diberi larutan standar dengan konsentrasi 250 hasil yang diperoleh adalah 0,619. Adapun perubahan ekspresi interleukin 8 pada larutan etanol dengan konsentrasi 0 sampai konsentrasi 125 hasil yang diperoleh terus mengalami peningkatan. Namun, pada saat larutan etanol dengan kadar 250, hasil yang diperoleh mengalami penurunan yaitu dari 0,254 menjadi 0,237. Begitupula dengan perubahan ekspresi interleukin 8 pada larutan ethyl asetat dengan konsentrasi 0 sampai konsentrasi 125 hasil yang diperoleh terus mengalami peningkatan. Namun, pada saat larutan ethyl asetat dengan konsentrasi 250 hasil yang diperoleh mengalami penurunan yaitu dari 0,291 menjadi 0,261.

BAB VI

PEMBAHASAN

Telah dilakukan penelitian mengenai uji sitotoksitas hambatan angiogenesis interleukin 8 (IL-8) ekstrak etil asetat sarang semut (*Myrmecodia pendans*) pada sel kanker burkitt lymphoma. Subjek penelitian ini ialah sel Burkitt's Lymphoma yang diisolasi dari sel kanker nasofaring.

Burkitt's Lymphoma merupakan salah satu jenis kanker Limfoma Non Hadgkin (LNH) dengan kemampuan daya gradasi tinggi dan terbentuk dari sel kecil, tidak membelah (*noncleaved*), tidak berdiferensiasi, difus dan berasal dari limfosit B. Proliferasi dan penggandaan limfoma Burkitt sangat agresif, sehingga biasanya penderita meninggal dengan cepat³.

Uji sitotoksitas yang dilakukan pada sel kanker Burrkitt's lymphoma menunjukkan adanya peningkatan persentase kematian sel dari keempat fraksi yaitu fraksi etanol, ethyl asetat, fraksi hexan dan fraksi air terus meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi yang diberikan. Flavonoid fraksi ethyl asetat dan fraksi etanol menghasilkan kematian sel yang potensial dibanding fraksi air dan fraksi hexan. Hasil yang diperoleh dari fraksi ethyl asetat flavonoid pada konsentrasi 1000 µg/mL menghasilkan persentase kematian sel sebanyak 82,71%. Sedangkan pada fraksi etil asetat flavonoid pada konsentrasi 1000 µg/mL menghasilkan persentase kematian sel sebanyak 75,37 %. Hal ini membuktikan bahwa fraksi etil asetat dan fraksi etanol flavonoid dapat memberikan efek sitotoksik pada sel kanker burkitt's lymphoma yang signifikan.

Dari beberapa penelitian disebutkan bahwa ekstrak etanol dari sarang semut memiliki kemampuan toksik dari beberapa jenis sel kanker. Sitotoksik merupakan kemampuan suatu senyawa yang potensial menginduksi kematian sel, mekanisme yang diharapkan dari kematian sel tersebut adalah kematian terprogram atau apoptosis. Uji sitotoksik dilakukan untuk melihat potensi suatu obat antikanker atau keamanan suatu senyawa. Sistem tersebut merupakan uji kualitatif dengan

menetapkan kematian sel¹⁹. Parameter dari uji sitotoksik adalah nilai IC50, yaitu yang nilai menunjukkan konsentrasi hambatan proliferasi sel sebesar 50% dan menunjukkan potensi ketoksikan suatu senyawa terhadap sel. Semakin besar nilai IC50 maka senyawa tersebut semakin tidak toksik. Salah satu uji sitotoksik yang sering digunakan adalah Uji MTT (3-[4,5-dimetilthiazol-2yl]- 2,5-difeniltetrazolium bromide). Uji ini didasarkan pada konversi MTT menjadi kristal formazan oleh sel hidup yang menentukan aktivitas mitokondria. Pengujian ini secara luas digunakan untuk mengukur efek sitotoksik obat secara in vitro pada cell line. Reaksi MTT merupakan reaksi reduksi selular yang didasarkan pada pemecahan garam tetrazolium MTT berwarnakuning menjadi kristal formazan berwarna biru keunguan²⁰.

Menurut penelitian Paulina Yessica dan Wildan, ekstrak etanol *tanaman* sarang semut memiliki efek sitotoksik pada kultur sel MCF-7 dan sel SiHa. Bila dibandingkan dengan penelitian uji sitotoksik ekstrak etanol tanaman sarang semut dan penentuan IC50 terhadap sel MCF-7 (dosis IC50 353,183 µg/ml) dan sel SiHa (dosis IC50 41,30 µg/ml), ekstrak etanol tanaman sarang semut memiliki dosis IC50 sebesar 121,059 µg/ml pada sel WiDr. Hal ini menunjukkan bahwa efektivitas ekstrak etanol tanaman sarang semut tidaklah sama pada setiap jenis sel. Selain itu, perlu dipertimbangkan ketika obat dikonsumsi oleh manusia, dalam hal ini ekstrak etanol tanaman sarang semut akan sangat dipengaruhi oleh faktor-faktor yang ada di dalam tubuh manusia sehingga dibutuhkan uji klinis sebelum ekstrak etanol tanaman sarang semut dapat digunakan sebagai obat alternatif terhadap kanker kolon. Dosis IC50 di atas menunjukkan ekstrak etanol tanaman sarang semut memiliki efek sitotoksik yang lebih baik terhadap kultur sel WiDr dibandingkan pada kultur sel MCF-7. Pada tabel persentase kematian sel WiDr yang menggunakan ekstrak tanaman sarang semut dan 5-Fluorourasil menunjukkan hasil yang naik turun. Hal ini menunjukkan bahwa penambahan dosis tidak selalu memberikan efek kematian sel yang lebih banyak dibandingkan dengan dosis yang lebih rendah²¹.

Menurut penelitian Mardany dkk (2016), pengujian terhadap ekstrak etanol umbi sarang semut (*Myrmecodia beccarii*) menunjukkan harga LC50 sebesar 22,86 ppm, yang artinya pada konsentrasi 22,86 ppm ekstrak etanol umbi sarang semut (*M. beccarii*) sudah mampu menyebabkan kematian 50% larva udang *A. salina* Leach, sedangkan pada penelitian yang sudah ada mengenai uji BSLT terhadap ekstrak etanol sarang semut (*Myrmecodia* sp.) lokal Aceh menunjukkan harga LC50 sebesar 61,11 µg/ml (Frengki, 2014), dan pada uji BSLT ekstrak etanol sarang semut (*M. pendens*) asal Papua diperoleh LC50 sebesar 37,03 µg/ml (Bustanussalam, 2010)⁶.

Berdasarkan beberapa penelitian diatas, dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol dari sarang semut memiliki efek toksik terhadap beberapa sel kanker.

Hasil penelitian dari hambatan angiogenesis interleukin 8 menunjukkan bahwa terjadi perubahan ekspresi interleukin 8 yang signifikan pada larutan standar karena terus mengalami peningkatan seiring dengan penambahan konsentrasi tanpa adanya hambatan. Hal ini dapat dilihat pada saat larutan standar dengan konsentrasi 125 hasil yang diperoleh adalah 0,459. Ketika diberi larutan standar dengan kadar 250 hasil yang diperoleh adalah 0,619. Adapun perubahan ekspresi interleukin 8 pada larutan etanol dengan konsentrasi 0 sampai konsentrasi 125 hasil yang diperoleh terus mengalami peningkatan sama dengan larutan standar. Namun, pada saat larutan etanol dengan kadar 250, hasil yang diperoleh mengalami penurunan yaitu dari 0,254 menjadi 0,237. Begitupula dengan perubahan ekspresi interleukin 8 pada larutan ethyl asetat dengan konsentrasi 0 sampai konsentrasi 125 hasil yang diperoleh terus mengalami peningkatan. Namun, pada saat larutan ethyl asetat dengan konsentrasi 250 hasil yang diperoleh mengalami penurunan yaitu dari 0,291 menjadi 0,261. Penurunan pada larutan etanol dan larutan ethyl asetat mengalami penurunan akibat adanya hambatan yang dihasilkan oleh ekstrak flavonoid dari sarang semut.

Interleukin-8 dihasilkan oleh berbagai sel normal dan sel tumor. Pada sel normal, IL-8 bertindak sebagai kemokin proinflamasi, sedangkan pada sel tumor, IL-8 banyak diekspresikan pada saat angiogenesis. Infiltrasi sel-sel inflamasi diaktivasi oleh kanker yang kemudian merangsang terjadinya angiogenesis.

Tumor associated macrophage telah diketahui sebagai kandidat sel inflamasi untuk angiogenesis tumor. Macropage yang menginfiltrasi tumor meningkatkan ekspresi VEGF dan TNF- α tidak merangsang angiogenesis secara langsung, namun dengan memodulasi induksi IL-8 dengan jalur yang diregulasi melalui mekanisme parakrin dan atau otokrin²⁶. Sitokin protein IL-8 terbukti berperan dalam proses inflamasi, tumorigenesis, angiogenesis, melalui pembentukan *microvessel* pada tumor dan metastasis. IL-8 dapat memacu adesi endotel, memicu migrasi transendotelial, dan mengaktivasi netrofil. Selain itu, IL-8 dapat berperan sebagai faktor kemotaktik terhadap infiltrasi sel T sehingga akan menambah infiltrasinya pada jaringan KNF. Penelitian peran IL-8 telah terbukti pada melanoma maligna meningkatkan potensi metastatiknya⁹.

Menurut penelitian Eka Savitri (2014) , dari hasil yang diperoleh dapat dibuat kesimpulan sementara bahwa terdapat kecenderungan meningkatnya kadar IL-8 pada kanker yang progresif, walaupun secara statistik tidak bermakna. Di antara mediator inflamasi, beberapa sitokin dan chemokin, seperti *tumor necrosis factor* (TNF), Interleukin 1 (IL-1), interleukin 6 (IL-6), interleukin 8 (IL-8) merupakan sitokin yang berperan pada tumorigenesis. Pada *inflammation-like microenvironment* (pada daerah sekitar tumor), interaksi antara sel T cytotoxic (CTL) dan sel tumor penting dalam pertumbuhan Kanker Naso Faring (KNF). Interaksi tersebut dapat tumoral sel T (CTL) dengan prognosis buruk pada KNF, penelitian ini mendukung dugaan bahwa infiltrasi sel T berpengaruh pada progresifitas KNF. Interaksi tersebut dapat diperantarai oleh beberapa chemokine atau sitokin. Cara lain interaksi dapat melibatkan kontak sel melalui *ligand-receptor binding*, sebagai contoh tumor-infiltrating T sel dapat memberikan *survival signal* pada sel-sel KNF melalui CD40-CD40 *ligand interaction*, mencegah sel tumor dari CD95- *triggered apoptosis*. Kesimpulan hasil penelitian ini, IL-8 merupakan *marker* adanya karsinoma nasofaring dan progresifitas penyakit dan rasio IL-8 dan IL- 10 dapat digunakan untuk menilai prognosis KNF. Hasil rasio IL-8:IL-10 >1 menunjukkan prognosis buruk⁹.

BAB VII

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

Ekstrak flavonoid dari tumbuhan sarang semut memiliki efek sitotoksitas pada sel kanker Burkitt's Lymphoma. Hasil penelitian uji sitotoksitas menunjukkan adanya peningkatan kematian sel kanker Burkitt's lymphoma dari masing-masing perlakuan meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi. Flavonoid fraksi ethyl asetat dan fraksi etanol menghasilkan kematian sel yang potensial dibanding fraksi air dan fraksi hexan. Hasil yang diperoleh dari fraksi ethyl asetat flavonoid pada konsentrasi 1000 µg/mL menghasilkan persentase kematian sel sebanyak 82,71%. Sedangkan pada fraksi etil asetat flavonoid pada konsentrasi 1000 µg/mL menghasilkan persentase kematian sel sebanyak 75,37 %. Adapun hasil penelitian dari hambatan angiogenesis interleukin 8 menunjukkan bahwa terjadi perubahan ekspresi interleukin 8 yang signifikan pada larutan standar tanpa adanya hambatan. Hal ini dapat dilihat pada saat larutan standar dengan konsentrasi 125 hasil yang diperoleh adalah 0,459. Ketika diberi larutan standar dengan konsentrasi 250 hasil yang diperoleh adalah 0,619.

7.2 Saran

Semoga kedepannya penelitian mengenai ekstrak dari tumbuhan sarang semut ini dapat dijadikan sebagai acuan untuk menghasilkan suatu obat herbal yang dapat mencegah terjadinya kanker khususnya kanker Burkitt's lymphoma.

DAFTAR PUSTAKA

1. Dewi M. Sebaran Kanker Di Indonesia. Riset Kesehatan Dasar 2007. Indonesian Journal Of Cancer, 2017. 11 (1): 1-2.
2. Dona Rahma, Sulistyani Nanik, Nurani L.H. Uji Sitotoksitas Dan Antiproliferatif Ekstrak Etanol Daun Leunca (*Solanum Nigrum*, L.) Terhadap Sel Raji. *Yogyakarta. Pharmacia*, 2016. 6(2) : 181-190.
3. God J., Azizul H.(2010). Burkitt Lymphoma: Patogenesis And Immune Evasion. *Journal Of Oncology*, 2010. Charleston. Usa. p. 1-3.
4. Hamid I., Dewi R., Nazar D., Ratnani H.(2013). Hambatan Ekspresi Vascular Endothelial Growth Factor (Vegf) Oleh Ekstrak Daun Gynura Procumbens Pada Pembuluh Darah Membran Korioalantois Telur Ayam Berembrio. *Veterinaria Medika*, 2013. 6(1) : 27-32.
5. Dirgantara S., Dkk. Studi Botani Dan Fitokimia Tiga Spesies Tanaman Sarang Semut Asal Kabupaten Merauke, Povinsi Papua. *Jurnal Farmasi Sains Dan Terapan*, 2015. 2 (2). 20-22.
6. Mardany M.P, dkk. Skrining Fitokimia Dan Uji Aktivitas Sitotoksik Dari Tumbuhan Sarang Semut (*Myrmecodia Beccarii* Hook.F.) Asal Kabupaten Merauke. *Jurnal Biologi Papua*, 2016. 8(1) : 13-22.
7. Frengki, Roslizawaty, Desi Pertiwi. Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Sarang Semut Lokal Aceh (*Mymercodia* Sp.) Dengan Metode Bslt Terhadap Larva Udang. *Jurnal Medika Veterinaria*, 2014. Vol. 8 (1).
8. Hindrasyah Dm, Dkk. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Sarang Semut (*Myrmecodia Pendens*) Kalimantan Pada Mencit (*Mus Musculus*) Swiss . *Majalah Kesehatan Pharmamedika*, 2011. Vol 3(1).
9. Savitri Eka, Haryana Sm. Hubungan Kadar Il-8 Dan Il-10 Yang Berpengaruh Terhadap Progresifitas Karsinoma Nasofaring. *Orli*, 2014. Vol 44(1) : 45.
10. Jonathan L, Hecht, Aster Cj. Molecular Biology Of Burkitt's Lymphoma. *Journal Of Clinical Oncology*, 2000. Vol 18 9(21) : 3707.

11. Lacasce C. How I Treat Burkitt Lymphoma In Adults. *Blood Journal*, 2016. Vol.124 (19) : 2913-6.
12. Roseana F., Simone S., Lêda B. Oral Burkitt's Lymphoma-Case Report. *Brazilian Journal Of Otorhinolaryngology* The Rborl-Sgp Publishing Manager System, 2008. Vol.74(3): 458-61.
13. Musti Krisna. Burrkitt Lymphoma. *Jurnal Kedokteran Dan Kesehatan*, 2015. 2(2) : 501-6.
14. Birbrair A, Zhang T, Wang Zm, Et All. ["Type-2 Pericytes Participate In Normal And Tumoral Angiogenesis"](#). *American Journal Of Physiology*, 2014. 307 (1): 25–38.
15. Infodatin. Pusat Data Dan Informasi Kementrian Kesehatan Ri. 2015. Jakarta: 1-4.
16. Muliarta, Wibi Irawan, Fitri Armenia, Asnah. Pengaruh Ekstrak Akar *Taraxacum Officinale* (Dandelion) Dalam Mengaktifkan Gen Retenoid Acid Reseptor B2 Untuk Menekan Pertumbuhan Kanker Payudara Melalui Proses Demetilasi Sehingga Menginduksi Proses Apoptosis. *Indonesian Journal Of Cancer*, 2011. Vol. 5(2).
17. Suidiana I.K. *Patobiologi Molekuler Kanker*. Salemba Medika,2008. Jakarta: 53-9.
18. Robbins And Cotran. *Pathologic Basis Of Disease*. 7th Ed. Wb Saunders Co. Philadelphia, 2005: 309-13.
19. Anggriati, P. Uji Sitotosisitas Ekstrak Etanol 70% Buah Kemukus (*Piper Cubeba* L) Terhadap Sel Hela, 2008.
20. Anjar Mahardian Kusuma, Susanti, Gilang Akbariani. Potensi Sitotoksik Ekstrak Etanol Daun Berenuk (*Crescentia Cujete* L.) Terhadap Sel Kanker, 2014. Vol 2(2).
21. Wandy Margo, Hana Ratnawati, Heddy Herdiman. Efek Sitotoksik Ekstrak Etanol Tanaman Sarang Semut (*Myrmecodia Pendans Merr & Perry*) Terhadap Karsinoma Kolon pada Kultur Sel Widr. 2013.
22. Yulianti H., Bethy S. Hubungan Imunoekspresi Cd34 Dengan Gradasi Dan Stadium (Duke) Pada Adenokarsinoma Kolorektal. *Mkb*,2013. Vol.45(4).

23. Nasution A. Gen-Gen Pilihan Untuk Terapi Gen Antiangiogenesis Kanker (Kajian Pustaka). *Cakradonya Dent J*, 2010. Vol. 2(1): 83-158.
24. Sonny John Ruddy Kalangi. Peran Integrin Pada Angiogenesis Penyembuhan Luka Bagian Anatomi-Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulangi Manado, 2011. Vol.38 (3).
25. Kufe, Donald W, Pollock, Raphael E, Et Al. *Cancer Medicine*. Bc Decker Inc, 2003. Diakses Tanggal 2010-03-12.
26. Kumar, Abbas, Fausto. *Pathologic Basis Of Disease*, 9th Ed. Philadelphia : Elsevier & Saunders; 2014.
27. Subroto, M.A Dan H. Saputro. *Gempur Penyakit Dengan Sarang Semut*. Penebar Swadaya. Jakarta: 2006. Hal.15.
28. Hamida Siti, Sutiya B. Kadar Ekstraktif Sarang Semut (*Myrmecodia Sp*) Dari Kabupaten Barito Timur, 2011. Vo 12(31).

LAMPIRAN



KETERANGAN KELAIKAN ETIK PENELITIAN ("ETHICAL CLEARANCE")

No.00761/KKEP/FGK-UGM/EC/2016

Setelah Tim Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Gadjah Mada mempelajari dengan seksama rancangan penelitian yang diusulkan:

Judul : **Daya Hambat Fraksi Etil Aseat Flavonoid Sarang Semut (*Myrmecodia pendans*) Terhadap Transduksi Signal Akt, Induksi Apoptosis (Caspase-3 Dan Caspase-9), Hambatan Invasi, Dan Transduksi Signal NF-KB Sel Kanker Burkitt's Lymphoma**

Peneliti Utama : Putri Khairunnisa

Anggota Penelitian : 1. Mardiana
2. Andam Dewi Suci
3. Yunita Feby Ramadhany
4. Azimah Karni Auliya

Penanggung Jawab Medis : Dr. drg. Muh. Harun Achmad, M.Kes, Sp.KGA

Unit/Lembaga : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin

Lokasi Penelitian : Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran UGM

Waktu Penelitian : Agustus 2016 – Selesai

Maka dengan ini menyatakan bahwa penelitian tersebut telah memenuhi syarat atau laik etik.

Yogyakarta, 23 Agustus 2016

Wakil Dekan Bidang Akademik dan Kemahasiswaan



drg. Dian Nari Ratih, M.Kes., Sp. KG, Ph.D.

Ketua Komisi Etik Penelitian FKG UGM

drg. Suryono, S.H, Ph.D



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN NASIONAL
UNIVERSITAS HASANUDDIN
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
DEPARTEMEN ILMU KEDOKTERAN GIGI ANAK
Kampus Unhas Baraya, Jl. Kande'a No. 5 Makassar

Nomor : 02/UN4.13.7.7/PP.42/2018

Makassar, 14 Februari 2018

Lamp. :

Hal : Dosen Pembimbing

Kepada Yt.

Wakil Dekan Bid. Akademik dan Pengembangan

Fakultas Kedokteran Gigi

Universitas Hasanuddin

Di -

Tempat

Dengan hormat,

Bersama ini kami sampaikan bahwa sesuai surat nomor : 454/UN4.13.1/TU.15/2017 tanggal 8 Maret 2017 tentang mahasiswa yang mengambil matakuliah Blok Metode Penelitian dan Biostatistik, maka saya selaku Ketua Departemen IKGA melaporkan nama-nama Dosen Pembimbing bagi masing-masing mahasiswa tersebut dibawah ini :

No.	Stambuk	Nama Mahasiswa	Dosen Pembimbing
1	J11115011	Al Frida Ramdhani	Dr. drg. Marhamah, M.Kes
2	J11115012	Ummu Mujahidah	drg. Hendrastuti Handayani, M.Kes
3	J11115013	Nurmala Dewi	Prof. Dr. drg. Sherly Horax, MS
4	J11115015	Budiman Rusdi	drg. Muh. Amin Kansi, Ph.D, MS
5	J11115017	Pharadiba	Prof. Dr. drg. Fajriani, M.Si
6	J11115019	Melyanti Sari	Dr. drg. M.Harun Achmad, M.Kes, Sp.KGA
7	J11115525	Azimah Karni Auliya	drg. Nurhaedah Galib, Sp.KGA
8	J11115032	Serliawati	drg. Adam Malik Hamudeng, MMedEd
9	J11115506	Dian Lastriana	drg. Hendrastuti Handayani, M.Kes
10	J11115002	Mirdawati .K	Prof. Dr. drg. Sherly Horax, MS
11	J11115009	Anggi Lintang Cahyani	Dr. drg. Marhamah, M.Kes
12	J11115010	Eka Purnama Rati	Prof. Dr. drg. Fajriani, M.Si
13	J11115021	Muh. Fadhil	drg. Nurhaedah Galib, Sp.KGA
14	J11115023	Nurul Faizah	Dr. drg. M.Harun Achmad, M.Kes, Sp.KGA

Demikianlah penyampaian kami atas perhatian dan kerjasamanya. Hucapkan terima kasih.-



Tembusan :

1. Dekan FKG UNHAS
2. Kasubag. Akademik FKG UNHAS
3. Pertanggung



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
KAMPUS TAMALANREA
JL. PERINTIS KEMERDEKAAN KM. 10 MAKASSAR 90245
Telp. (0411) 586012, psw : 1114,1115,1116,1117, Fax : (0411) 584641
Website : www.dent.unhas.ac.id, Email : fkkg@unhas.ac.id

No : 916/UN4.13.1/PL.00.00/2018
Perihal : Izin Penelitian

16 April 2018

Kepada Yth.
Kepala Laboratorium Parasitologi
Fakultas Kedokteran UGM
Di
Tempat

Dengan hormat kami sampaikan bahwa mahasiswa Program Studi Sarjana Kedokteran Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin bermaksud untuk melakukan penelitian dalam rangka penyusunan karya ilmiah.

Sehubungan dengan hal tersebut, kiranya dapat diberikan **izin penelitian/Pengambilan Data** kepada Mahasiswa Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin:

Nama & Stambuk : Melyanti Sari (J111 15 019)
Nurul Faizah (J111 15 023)

Waktu Penelitian : 7 – 11 Mei 2018.

Tempat Penelitian : Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) FKG UGM

Judul Penelitian :

1. "Aktifitas Anti Kanker dan Anti *Proliferasi Etil Asetat Sarang Semut (Myrmecodia Pendans)* pada Sel Kanker *Burkit's Lymphoma*".
2. "Uji *Sitotoksitas* dan Hambatan *Angiogenesis Interleukin* dan *Fraksi Etanol Sarang Semut (Myrmecodia Pendans)* pada sel kanker *Burkit's Lymphoma*"

Demikian, atas perhatian dan kerjasama diucapkan terima kasih.


Dekan
Dekan Bidang Akademik dan
Pengembangan

Tembusan Yth:
1. Dekan FKG Unhas (sebagai laporan)
2. Kepala Bagian Tata Usaha FKG Unhas

Prof. Dr. drg. Edy Machmud, Sp. Pros(K)
NIP 19631104 199401 1 001





KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
KAMPUS TAMALANREA
JL. PERINTIS KEMERDEKAAN KM. 10 MAKASSAR 90245
Telp. (0411) 586012, psw : 1114,1115,1116,1117, Fax : (0411) 584641
Website : www.dent.unhas.ac.id, Email : fk@unhas.ac.id

SURAT PENUGASAN

No.917/UN4.13.1/PL.00.00/2018

Dari : Wakil Dekan Bidang Akademik dan Pengembangan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin

Kepada : 1. Dr. drg. Muh Harun Achmad, M.Kes, Sp.KGA
2. Melyanti Sari (J111 15 019)
3. Nurul Faizah (J111 15 023)

Isi : 1. Menugaskan kepada yang tersebut di atas untuk melakukan penelitian dengan judul:
a. "Aktifitas Anti Kanker dan Anti *Proliferasi Etil Asetat Sarang Semut (Myrmecodia Pendans)* pada Sel Kanker *Burkitt's Lymphoma*".
b. "Uji *Sitotoksitas* dan Hambatan *Angiogenesis Interleukin* dan Fraksi Etanol Sarang Semut (*Myrmecodia Pendans*) pada sel kanker *Burkitt's Lymphoma*"
2. Bahwa saudara yang namanya tersebut di atas dipandang mampu dan memenuhi syarat untuk melaksanakan tugas tersebut.
3. Agar Penugasan ini dilaksanakan dengan sebaik-baiknya dengan penuh rasa tanggung jawab.
4. Segala biaya yang dikeluarkan dibebankan kepada Peneliti.
5. Surat Penugasan ini berlaku sejak tanggal ditetapkan sampai dengan selesainya proses penelitian, dengan ketentuan bahwa apabila dikemudian hari terdapat kekeliruan dalam surat penugasan ini, akan diadakan perbaikan sebagaimana mestinya.

Ditetapkan di : Makassar
Pada Tanggal : 16 April 2018

Wakil Dekan Bidang Akademik dan Pengembangan,

Prof. Dr. drg. Edy Machmud, Sp. Pros(K)
NIP-19631104 199401 1 001

Tembusan Yth:
1. Dekan FKG Unhas (sebagai laporan)
2. Kepala Bagian Tata Usaha FKG Unhas,
3. Yang Bersangkutan.





KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
KAMPUS TAMALANREA
JL. PERINTIS KEMERDEKAAN KM. 10 MAKASSAR 90245
Telp. (0411) 586012, psw : 1114,1115,1116,1117, Fax : (0411) 584641
Website : www.dent.unhas.ac.id, Email : fkg@unhas.ac.id

No : 916/UN4.13.1/PL.00.00/2018
Perihal : Izin Penelitian

16 April 2018

Kepada Yth.
Kepala Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT)
Fakultas Kedokteran Gigi UGM
Di
Tempat

Dengan hormat kami sampaikan bahwa mahasiswa Program Studi Sarjana Kedokteran Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin bermaksud untuk melakukan penelitian dalam rangka penyusunan karya ilmiah.

Sehubungan dengan hal tersebut, kiranya dapat diberikan izin penelitian/Pengambilan Data kepada Mahasiswa Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin:

Nama & Stambuk : Melyanti Sari (J111 15 019)

Nurul Faizah (J111 15 023)

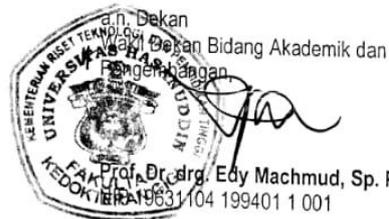
Waktu Penelitian : 7 – 11 Mei 2018 2018.

Tempat Penelitian : Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) FKG UGM

Judul Penelitian :

1. "Aktifitas Anti Kanker dan Anti *Proliferasi Etil Asetat Sarang Semut (Myrmecodia Pendans)* pada Sel Kanker *Burkit's Lymphoma*".
2. "Uji *Sitotoksitas dan Hambatan Angiogenesis Interleukin dan Fraksi Etanol Sarang Semut (Myrmecodia Pendans)* pada sel kanker *Burkit's Lymphoma*"

Demikian, atas perhatian dan kerjasama diucapkan terima kasih.



Tembusan Yth:

1. Dekan FKG Unhas (sebagai laporan)
2. Kepala Bagian Tata Usaha FKG Unhas





KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
DEPARTEMEN ILMU KEDOKTERAN GIGI ANAK (IKGA)
Kampus Unhas Baraya, Jl. Kande No. 5 Makassar
Telp (0411) 316356, 322423

KARTU KONTROL SKRIPSI

Nama : Nurul Faizah

Stambuk : J111 15 023

No.	Hari/Tanggal	Materi Konsultasi	Paraf	
			Pembimbing	Mahasiswa
1	15/03/2018	Diskusi Judul		
2	26/03/2018	Diskusi Judul		
3	09/04/2018	Pembahasan Bab I		
4	20/04/2018	Pembahasan Bab I		
5	30/04/2018	Pembahasan Bab II		
6	04/05/2018	Pembahasan Bab II		
7	06/05/2018	Penelitian		
8	07/05/2018	"		
9	08/05/2018	"		
10	09/05/2018	"		
11	10/05/2018	"		
12	04/06/2018	Diskusi Bab 3 dan 4		
13	18/06/2018	Diskusi Bab 3 dan 4		
14	29/06/2018	Diskusi Bab 5 dan 6		
15	06/07/2018	Diskusi Bab 5 dan 6		
16	20/07/2018	Diskusi Jurnal skripsi		
17	10/08/2018	Diskusi Jurnal skripsi		

Makassar,

Pembimbing

Dr. drg. Muhammad Harun Achmad, M.Kes, Sp.KGA

