

SITOTOKSISITAS EKSTRAK n-HEXSANE DAUN KEMANGI

(*Ocimum Sanctum* Linn.) PADA SEL HeLa

(Studi Eksperimental Invitro pada Kultur Sel HeLa Kanker Serviks)

Skripsi

Untuk memenuhi sebagian persyaratan

mencapai gelar Sarjana Kedokteran



disusun oleh:

Fahmy Amrullah

30101607644

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG

2021

SKRIPSI

**SITOTOKSISITAS EKSTRAK n-HEXSANE DAUN KEMANGI (OCIMUM
SANCTUM Linn.) PADA SEL HeLa**

Studi Eksperimental *in Vitro* pada Kultur Sel Kanker Serviks

Yang dipersiapkan dan disusun oleh

Fahmy amrullah

30101607644

Telah dipertahankan di depan Dewan Penguji

Pada tanggal, 3 maret 2020

Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Susunan Tim Penguji

Pembimbing I



Dr. dr. Chodidjah, M.Kes.

Penguji I



Dina Fatmawati, S.SiM.Sc

Pembimbing II



Dra. Eni Widayati, M.Si.

Penguji II



dr. Ika Rosdiana, Sp.KFR

Semarang, 12 Februari 2021

Fakultas Kedokteran

Universitas Islam Sultan Agung

Dekan,



Dr. dr. H. Setyo Trisnadi, S.H.,Sp.KF

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Fahmy Amrullah

NIM : 30101607644

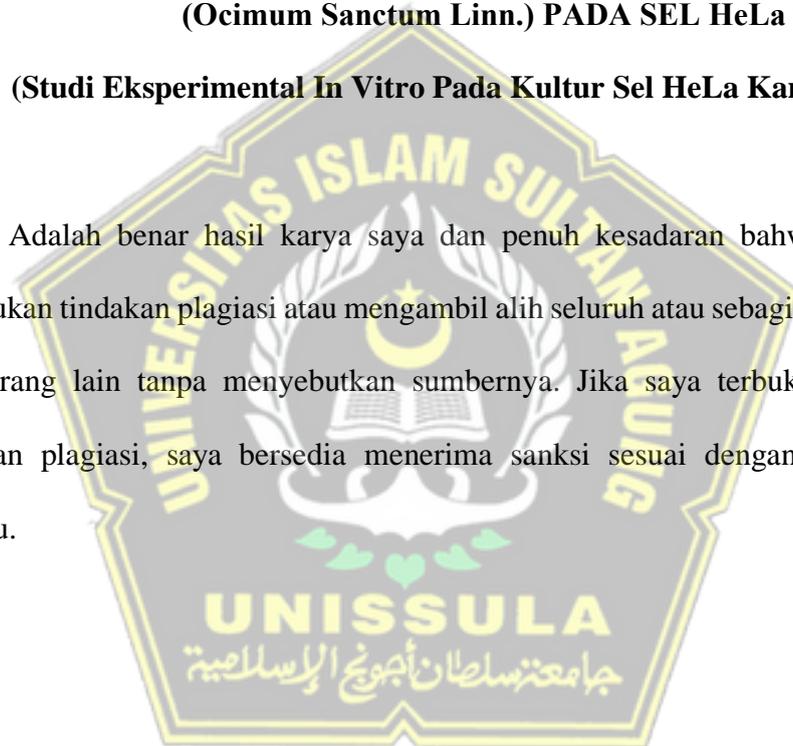
Dengan ini menyatakan bahwa skripsi berjudul :

“ SITOTOKSISITAS EKSTRAK n-HEXSANE DAUN KEMANGI

(Ocimum Sanctum Linn.) PADA SEL HeLa “

(Studi Eksperimental In Vitro Pada Kultur Sel HeLa Kanker Serviks)

Adalah benar hasil karya saya dan penuh kesadaran bahwa saya tidak melakukan tindakan plagiasi atau mengambil alih seluruh atau sebagian besar karya tulis orang lain tanpa menyebutkan sumbernya. Jika saya terbukti melakukan tindakan plagiasi, saya bersedia menerima sanksi sesuai dengan aturan yang berlaku.



Semarang, 15 februari 2021



Fahmy Amrullah

PRAKATA

Asalam'ualaikum wr wb

Segala puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul : **SITOTOKSISITAS EKSTRAK n-HEXSANE DAUN**

KEMANGI (Ocimum Sanctum Linn.) PADA SEL HeLa

(Studi Eksperimental In Vitro Pada Kultur Sel HeLa Kanker Serviks)

Skripsi ini dibuat dalam rangka memenuhi persyaratan kelulusan untuk mencapai gelar sarjana kedokteran di Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

Penulis menyadari skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik tidak lepas dari do'a, dukungan, bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak baik secara langsung maupun tidak langsung. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan ucapan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Dr. dr. H. Setyo Trisnadi, SH, Sp. KF selaku dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
2. Dr. dr. Chodidjah, M. Kes. selaku pembimbing I dan dra.Eni widayati M. Si selaku pembimbing II yang telah banyak menyediakan waktu, tenaga dan pikiran untuk membimbing dan mengarahkan penulis dalam menyusun skripsi ini.
3. selaku penguji I Dina fatmawati, S.si. M.Sc. dan dr. Ika Rosdiana, S.P.K.F.R selaku dosen penguji II yang telah berkenan untuk menguji penulisan skripsi ini dan memberikan saran perbaikan untuk penyempurnaan penelitian.

4. Kedua orang tua saya yang senantiasa mencurahkan kasih sayang dan pengorbanan-Nya dalam bentuk do'a, motivasi, nasihat serta hal lainnya yang mampu membangkitkan semangat penulis untuk menyelesaikan skripsi ini.
5. Terima kasih untuk sahabat seperbimbingan saya Khanza, Elvinna, Annisa, Citra dan Anam yang sudah memberikan doa, dukungan serta berjuang bersama dalam menyelesaikan skripsi ini.
6. Terimakasih kepada semua pihak yang tidak bisa disebutkan namanya satu persatu yang telah memberikan semangat dan do'a untuk keberhasilan penulis.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun. Semohga penelitian ini dapat bermanfaat bagi ilmu pengetahuan khusus-Nya dibidang kedokteran.

Wassalamu 'alaikum wr. wb.

Semarang, Agustus 2020

Penulis

DAFTAR ISI

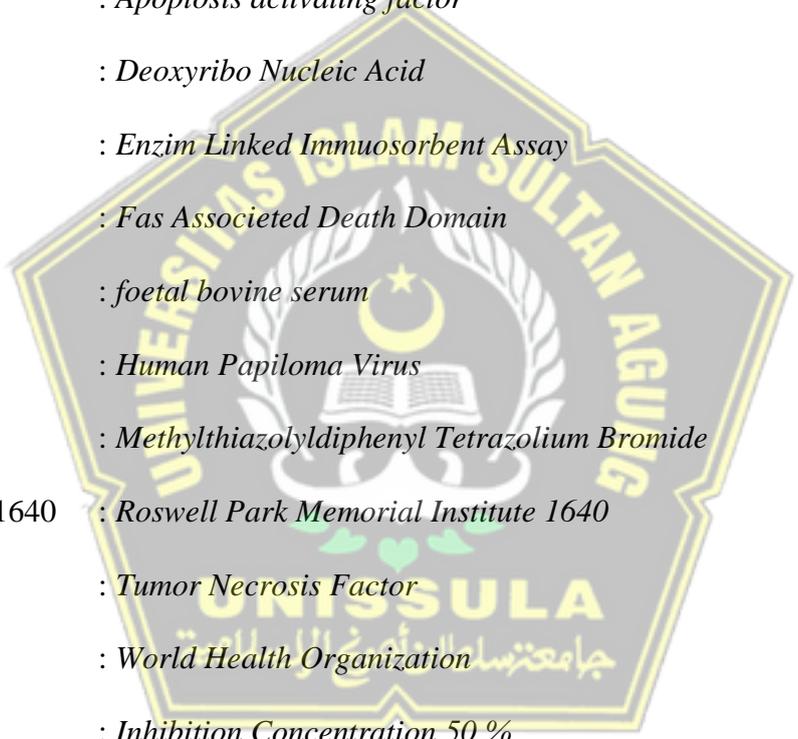
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
SURAT PERNYATAAN.....	iii
PRAKATA	iv
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR SINGKATAN	ix
DAFTAR GAMBAR.....	x
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
INTISARI	xiii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Rumusan Masalah	4
1.3. Tujuan Penelitian.....	4
1.3.1. Tujuan Umum	4
1.3.2. Tujuan Khusus	4
1.4. Manfaat Penelitian.....	5
1.4.1. Manfaat Teoritis.....	5
1.4.2. Manfaat Praktis	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1. Sitotoksik.....	6
2.2. Apoptosis	8
2.3. Perbedaan Apoptosis dan Nekrosis	9
2.4. Siklus Sel	11
2.5. Proses Apoptosis.....	14
2.5.1. Ekstrinsik Pathway	14
2.5.2. Intrinsik Pathway	15
2.6. Kanker Serviks	17
2.6.1. Definisi	17

2.6.2. Epidemiologi	18
2.6.3. Faktor Resiko.....	19
2.7. Patogenesis	23
2.8. Sel HeLa	26
2.9. Kemangi.....	27
2.9.1. Klasifikasi Kemangi	28
2.9.2. Morfologi kemangi	29
2.9.3. Kandungan senyawa Daun Kemangi Ekstrak n- Hexsane Daun Kemangi	30
2.10. Ekstrak n-Hexsane.....	31
2.11. Efek Sitotoksik Ekstrak n-HExsane Daun Kemangi Terhadap Sel HeLa	32
2.12. Kerangka Teori	35
2.13. Kerangka Konsep	36
2.14. Hipotesis	36
BAB III METODE PENELITIAN	
3.1. Jenis Rancangan Penelitian.....	37
3.2. Variabel dan Definisi Operasional.....	37
3.2.1. Variabel	37
3.2.2. Definisi Operasional	37
3.3. Subjek Uji.....	39
3.4. Alat dan Bahan Penelitian	39
3.4.1. Alat	39
3.4.2. Bahan	39
3.5. Cara Pengkulturan	40
3.5.1. Pengkulturan Sel HeLa.....	40
3.5.2. Cara Membuat Ekstrak	41
3.5.3. Uji Sitotoksik.....	41
3.6. Tempat dan Waktu.....	43
3.7. Analisis Data.....	43
3.8. Alur Penelitian.....	44

BAB IV	HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	45
4.1.	Hasil Penelitian.....	45
4.2.	Pembahasan	47
BAB V	KESIMPULAN DAN SARAN	52
5.1.	Kesimpulan.....	52
5.2.	Saran	52
DAFTAR PUSTAKA	53
LAMPIRAN	60



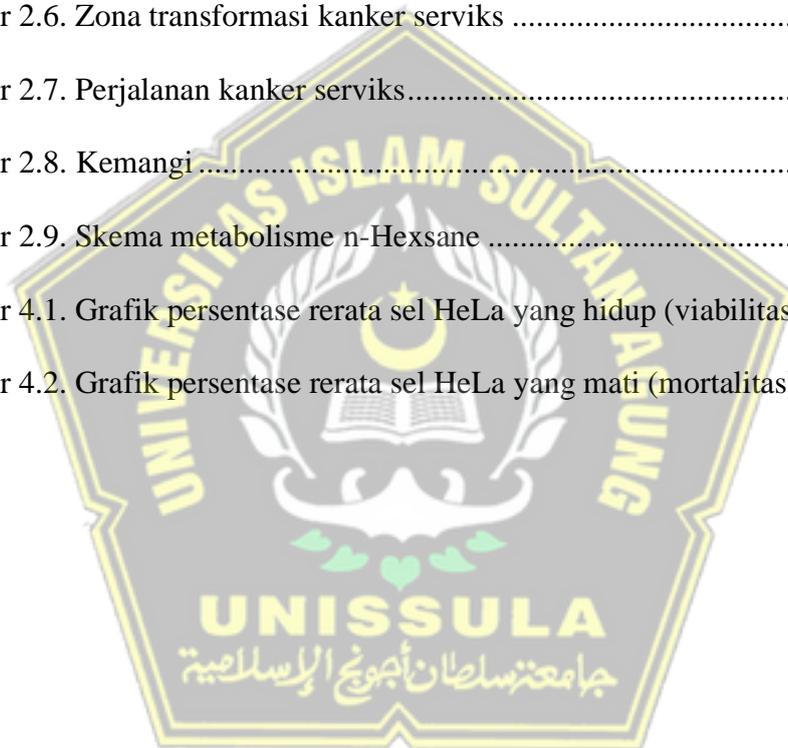
DAFTAR SINGKATAN



HPV	: <i>human papillomavirus</i>
NCI	: <i>National Cancer Insitute</i>
TNF	: <i>Tumor Nekrosis Factor</i>
FADD	: <i>Fas-Associated Death Domain</i>
Apaf	: <i>Apoptosis activating factor</i>
DNA	: <i>Deoxyribo Nucleic Acid</i>
ELISA	: <i>Enzim Linked Immuosorbent Assay</i>
FADD	: <i>Fas Associated Death Domain</i>
FBS	: <i>foetal bovine serum</i>
HPV	: <i>Human Papiloma Virus</i>
MTT	: <i>Methylthiazolyldiphenyl Tetrazolium Bromide</i>
RPMI 1640	: <i>Roswell Park Memorial Institute 1640</i>
TNF	: <i>Tumor Necrosis Factor</i>
WHO	: <i>World Health Organization</i>
IC ₅₀	: <i>Inhibition Concentration 50 %</i>
HCK1T	: <i>Human Cervical Kolumnar 1 T</i>
Si-HA	: <i>Stereotype Induced HeLa</i>
C33-A	: <i>Cell 33 A</i>
MCF 7	: <i>Michigan Cancer Foundation – 7</i>

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Jalur caspase dependen ekstrinsik dan intrinsik.....	9
Gambar 2.2. Sel pada nekrosis (kiri) dan apoptosis(kanan).....	11
Gambar 2.3. Siklus sel	13
Gambar 2.4. Perubahan sel saat mengalami apoptosis	16
Gambar 2.5. Bagian serviks	25
Gambar 2.6. Zona transformasi kanker serviks	25
Gambar 2.7. Perjalanan kanker serviks.....	25
Gambar 2.8. Kemangi	30
Gambar 2.9. Skema metabolisme n-Hexane	32
Gambar 4.1. Grafik persentase rerata sel HeLa yang hidup (viabilitas)	46
Gambar 4.2. Grafik persentase rerata sel HeLa yang mati (mortalitas).....	46



DAFTAR TABEL

Tabel 2.1. Perbedaan apoptosis dan nekrosis	10
Tabel 2.2. Fase tiap siklus sel.....	13
Tabel 3.1. Peta perlakuan pada tiap mikroplate	42
Tabel 4.1 Hasil pengamatan uji sitotoksik n-Hesane daun kemangi terhadap sel HeLa.....	45



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil analisis deskriptif persentasi sel HeLa yang hidup	60
Lampiran 2. Hasil analisis regresi probit	61
Lampiran 3. Ethical clearance	63
Lampiran 4. Surat bebas pinjaman laboratorium	64



INTISARI

Kanker serviks merupakan penyebab kematian wanita terbanyak terutama di negara berkembang. Dikarenakan kemampuan sel kanker yang dapat menyerang sel jaringan biologis lainnya serta pertumbuhan yang bersifat cepat. Daun kemangi (*Ocimum sanctum* Linn.) merupakan bahan alam yang dilaporkan sebagai agen pemicu apoptosis dan antiproliferatif terhadap sel kanker. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui sitotoksisitas senyawa non polar daun kemangi.

Penelitian ini menggunakan post test only control grup design. Daun kemangi di ekstrak menggunakan pelarut n-Hexane dengan dosis 1000 µg, 500 µg, 250 µg, 125 µg, 62,5 µg. sel HeLa di inkubasi dengan dosis ekstrak n-Hexane daun kemangi dengan kerapatan tiap well 1×10^4 . Selanjutnya data dianalisis dengan analisa probit untuk mencari nilai IC_{50} dan uji sitotoksisitas di ukur dengan menggunakan MTT *assay*.

Absorbansi sel diukur dengan menggunakan ELISA *reader*. Hasil penelitian ini menunjukkan sel hidup tertinggi pada dosis 62,5 µg/mL memiliki rerata absorbansi dan kematian tertinggi pada dosis 500 µg/mL dengan rerata 83,83. Nilai IC_{50} pada ekstrak n-Hexane daun kemangi (*Ocimum sanctum* Linn.) pada sel hela sebesar 123,931 µg/mL. Berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan ekstrak n-Hexane daun kemangi menunjukkan potensi sitotoksik sedang atau moderate terhadap sel HeLa.

Kata kunci : Sel HeLa, Sitotoksisitas, Absorbansi, Daun Kemangi

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Kanker merupakan suatu penyakit dengan ditandai pembelahan sel secara terus menerus dan memiliki kemampuan yang dapat menyerang jaringan biologis lainnya baik secara langsung pada jaringan bersebelahan (*invasi*) atau migrasi ke jaringan yang lebih jauh (*metastasis*) dengan cara sel akan kehilangan pengendalian dalam mekanisme normalnya terhadap daur sel maupun fungsi *homeostatis*, sehingga sel tersebut mengalami pertumbuhan secara cepat, tidak terkendali dan membentuk jaringan *abnormal*. (Pramita, 2008). Perubahan sel menjadi kanker membutuhkan waktu yang sangat lama. Kanker serviks adalah kumpulan sel yang mengalami hiperplasia terus menerus sampai sel tersebut membesar dan mengeluarkan cairan yang berbau busuk. Kanker tersebut merupakan penyebab kematian tersering pada perempuan di dunia, sekitar 490 ribu perempuan di seluruh dunia terdiagnosa penyakit ini (Darmawati, 2010).

Kanker serviks memiliki peran penting sebagai penyebab mordibitas dan mortalitas di seluruh dunia baik di negara maju maupun di negara berkembang termasuk di Indonesia. Diantara tumor ganas ginekologik, kanker serviks masih menduduki peringkat pertama di Indonesia. Di beberapa wilayah negara berkembang seperti di Asia Tenggara, Asia Selatan, Afrika, dan Amerika Latin tercatat sebagai negara dengan *prevalensi* kanker serviks tertinggi di dunia (WHO, 2007). Menurut data dari Yayasan Kanker Indonesia, insidensi kanker

serviks terus menerus meningkat pada rentan umur 25–34 tahun dan puncaknya pada kelompok rentan umur 45–54 tahun di seluruh Indonesia. Karena adanya periode laten dari fase *prainvasif* menjadi *invasif* yang membutuhkan waktu 10 tahun. (Kemenkes, 2015).

Kanker serviks mempunyai sel line yaitu sel HeLa, sel tersebut merupakan *continous cell* pada epitel serviks yang disebabkan infeksi *human papilloma virus* (Anggrianti, 2008). Virus berukuran kecil, memiliki DNA untai ganda dan tidak memiliki selubung (*envelope*) yang memudahkan virus berikatan dengan reseptor permukaan sel pada permukaan lapisan basal epitel karena lesi epitel (Purnadanti, 2012). Sel kanker serviks yang disebabkan oleh *human papillomavirus* 18 (HPV 18) dapat mengepresikan 2 protein onkogen yaitu E6 dan E7 yang menyebabkan sifat imortal pada sel kanker. Protein E6 dapat menginaktivasi gen p53 sebagai supresor tumor dan protein E7 dapat berikatan dengan reseptor Rb sehingga memicu siklus sel (Setiawati, 2014).

Pengobatan kanker dapat dilakukan dengan cara pembedahan, *kemoterapi* dan *radiasi*. Semua itu kurang selektif terhadap kanker yang telah metastasis, kemoterapi memberikan efek samping berbahaya pada jaringan normal dan menyebabkan resistensi pada sel kanker. Pengobatan kombinasi obat kemoterapi seperti cisplatin dan doksorubisin dengan kemoterapi dapat menyebabkan kerontokan rambut hingga kebutakan (Fitria *et al.*, 2017). Dengan demikian perlu dilakukan penelitian tentang pengobatan kanker yang selektif dan aman dengan menggunakan bahan dari alam salah satunya dengan menggunakan daun kemangi.

Daun kemangi merupakan agen kemopreventif terhadap sel kanker. Senyawa aktif yang terkandung adalah flavonoid, terpenoid, alkaloid, dan minyak atsiri. Senyawa terpenoid yang terkandung memiliki aktivitas sebagai antiproliferasi dan dapat memicu terjadinya apoptosis (Miranti, 2016). Adapun senyawa lain pada daun kemangi seperti asam heksauronat, pentosa, xilosa, asam metil homoanisat, molludistin dan asam ursolat (Erviana *et al.*, 2013). *Asam ursolat* merupakan senyawa turunan dari terpenoid yang mempunyai sifat antikanker dengan menghambat aktivasi dari *NF- κ B* yang merupakan protein *regulasi* ekspresi gen pembentuk kanker (Shishodia *et al.*, 2003). *NF- κ B* adalah protein faktor transkripsi yang berperan dalam pengembangan dan progresi terbentuknya kanker, karena protein ini mengatur banyak gen yang terlibat dalam *inflamasi*, *cell survival*, *proliferasi sel*, *invasi*, *angiogenesis* dan *metastasis*. Salah satu target dari protein ini adalah *Bcl-xL* (pro survival *Bcl-2*) yang merupakan regulator apoptosis (Arianingrum *et al.*, 2016).

Penelitian sebelumnya dilakukan oleh Dhinar Asti Pradana Putri di surakarta, dengan judul Uji Sitotoksik Ekstrak Etanol Daun Keladi Tikus (*Typonium flagelliforme* L.), Kemangi (*Ocimum sanctum* L.) dan Pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap Sel HeLa. Didapatkan IC_{50} sebesar 373,8 μ g/mL (Putri, 2016). Penelitian yang sama dilakukan oleh Nur Ismiyati dan Farisya Nurhaeni, berjudul Efek Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum Sanctum* L.) sebagai agen Kemopreventif Pada Sel HeLa melalui Aktivitas Sitotoksik dan Induksi Apoptosis. Memiliki sitotoksisitas dengan IC_{50} sebesar 209 μ g/L (Ismiyati, N., dan Nurhaeni, 2016). Penelitian dengan sel yang berbeda juga

dilakukan oleh tsaniyatul husna dengan judul Pengaruh Sitotoksik Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum sanctum* L.) terhadap Sel MCF-7 dan sel T47D. Didapatkan hasil IC_{50} sebesar 176,37 $\mu\text{g/mL}$ (Husna, 2018). Dari ketiga penelitian tersebut dengan ekstrak etanol didapatkan nilai IC_{50} masih diatas 100 $\mu\text{g/mL}$, maka dikategorikan sebagai senyawa moderate.

Dengan memberikan ekstrak n-Hexsane daun kemangi diharapkan dapat memberikan efek *sitotoksik* terhadap sel HeLa dengan menggunakan parameter IC_{50} .

1.2. Rumusan Masalah

“Bagaimana sitotoksisitas ekstrak n-Hexane daun kemangi pada sel HeLa”

1.3. Tujuan

1.3.1. Tujuan Umum

Mengetahui sitotoksisitas ekstrak n-Hexsane daun kemangi pada sel HeLa .

1.3.2. Tujuan khusus

1.3.2.1. Untuk mengetahui nilai IC_{50} ekstrak n-Hexsane daun kemangi pada sel HeLa.

1.3.2.2. Untuk mengetahui persentase sel hidup dan kematian setelah pemberian beberapa dosis ekstrak n-Hexane daun kemangi terhadap sel HeLa.

1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1. Manfaat Teoritis

Secara teori hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan pengetahuan ilmiah lebih lanjut mengenai sitotoksisitas ekstrak n-Hexane daun kemangi pada sel HeLa.

1.4.2. Manfaat Praktis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memiliki efek sitotoksik terhadap sel kanker serviks dengan melihat hasil IC_{50} dan nilai absorbansi.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Sitotoksik

Senyawa sitotoksik atau metabolit sekunder merupakan senyawa yang bersifat toksik sehingga dapat menghambat dan menghentikan pertumbuhan sel kanker (Masito, G *et al.*, 2014). Uji sitotoksik digunakan untuk memprediksi keberadaan obat sitotoksik dari bahan alam yang berpotensi sebagai antikanker, adapun dasar dari penelitian ini adalah bahwa sistem penetapan aktivasi biologi akan menghasilkan kurva dosis respon dan kriteria respon yang seharusnya menunjukkan berhubungan lurus dengan jumlah sel. Akhir dari uji sitotoksik adalah memberikan informasi konsentrasi obat yang masih memungkinkan sel untuk bertahan hidup karena adanya senyawa toksik. Uji toksisitas secara invitro merupakan uji sitotoksik dengan menggunakan kultur sel yang digunakan untuk mendeteksi adanya aktivitas senyawa antikanker (Anggrianti, 2008).

Uji sitotoksik merupakan salah satu uji yang digunakan untuk mengetahui aktivitas *antineoplastic* suatu senyawa dengan kultur sel secara invitro. Tahapan uji sitotoksik meliputi subkultur sel, preparasi sampel dan *treatment* sel. Pada tahap subkultur, sel akan dilakukan pemindahan dari kondisi konfluen ke tempat yg masih kosong. Tahapan ini mempunyai tujuan supaya sel yang digunakan dalam pengujian dapat tumbuh secara maksimal pada medianya. Tahapan selanjutnya adalah preparasi sampel yang meliputi pelarutan sampel

dan penentuan konsentrasi. Tahapan terakhir adalah treatment sel yang dilakukan dibawah mikroskop inverted pada setiap sample ekstrak (Rahardian, M, 2018).

Uji ini menggunakan parameter nilai IC_{50} yang merupakan parameter konsentrasi dengan menunjukkan suatu penghambatan pertumbuhan sel sebesar 50% dari populasi sel dan dapat memberikan potensi sitotoksik terhadap sel tertentu. Semakin besar nilai IC_{50} maka tingkat toksik senyawa tersebut semakin kecil atau bahkan tidak toksik sama sekali (Noveri Rahmawati *et al.*, 2008).

Suatu senyawa dikatakan memiliki sitotoksik apabila:

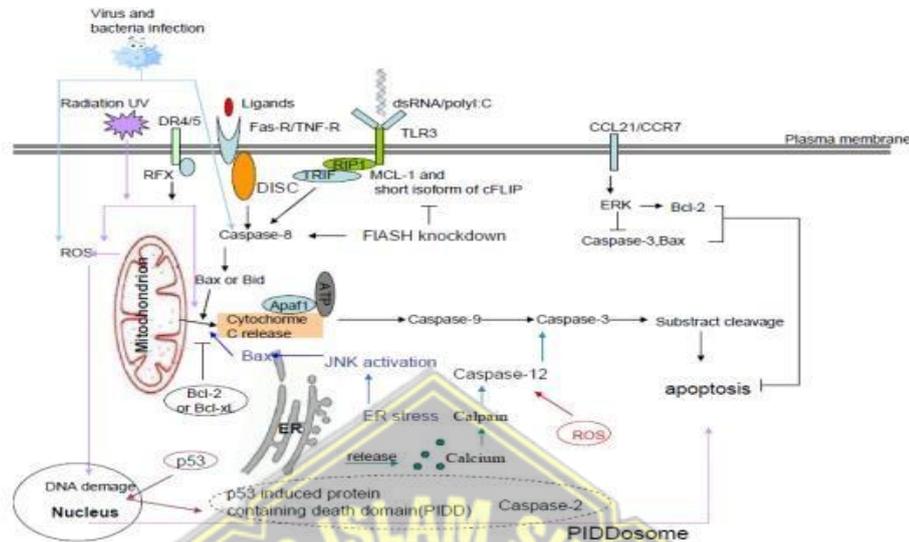
- a. Potent : $IC_{50} < 100 \mu\text{g/ml}$
- b. Moderate : $100 \mu\text{g/ml} - 1000 \mu\text{g/ml}$
- c. Tidak aktif : $> 1000 \mu\text{g/ml}$.

(Ikhwan, D *et al.*, 2018)

Uji MTT assay adalah salah satu uji sitotoksik yang menggunakan metode kolorimetrik. Sistem suksinat tetrazolium reductase akan memecah garam tetrazolium sebagai pereaksi MTT menjadi Kristal formazan pada jalur respirasi sel di mitokondria yang aktif. Kristal formazan akan berwarna ungu dan dapat dibaca absorbansinya dengan ELISA reader (Wati, E *et al.*, 2016).

2.2. Apoptosis

Sel merupakan unit terkecil pada struktur makhluk hidup yang struktur luarnya di batasi oleh membran dan bagian dalam terdapat nukleus (inti), sitoplasma, retikulum endoplasma, ribosom dan mitokondria. Mitokondria sel mempunyai fungsi menghasilkan ATP dan regulasi apoptosis (Kumar, *et al.*, 2007). Mitokondria dalam meregulasi apoptosis bertindak sebagai *crosstalk organelles* yakni organel yang berperan pada jalur caspase dependen dan independen. Jalur ekstraseluler yang diawali stimulus reseptor apoptosis dan jalur intraseluler yang diawali oleh pelepasan sinyal dari mitokondria bisa terjadi melalui sinyal apoptosis jalur caspase dependen (Sari, Liza, M., 2018). Apoptosis merupakan kematian sel yang terprogram dengan tujuan untuk menghilangkan sel yang tidak dibutuhkan atau berbahaya bagi tubuh dan mengurangi jumlah sel yang terlalu banyak, sehingga jumlah sel dalam jaringan organisme multiseluler dapat dikendalikan (Lumongga, 2008). Apoptosis adalah suatu proses yang penting, karena menggambarkan suatu patogenesis penyakit dan juga dapat memberikan petunjuk cara pengobatan dari penyakit (Lawen, 2007). Penyebab apoptosis sendiri dibagi menjadi dua yaitu secara *embrionik* yang berarti saat pembentukan jaringan dan secara *invulasi* fisiologis, seperti saat menstruasi (meluruhnya epitel endometrium) karena pergantian epitel rusak menjadi baru (Finks *et al.*, 2005).



Gambar 2.1. Jalur caspase dependen ekstrinsik dan intrinsik (Sari, Liza, M., 2018).

2.3. Perbedaan Apoptosis dan Nekrosis

Sel mengalami kematian terhadap berbagai respon dan saat proses apoptosis terdapat berbagai kontrol yang mengaturnya. Hal ini berbeda dengan proses kematian yang lainnya yang disebut nekrosis. Nekrosis merupakan proses patologis yang umumnya terjadi akibat respon terhadap faktor luar misalnya peradangan, iskemia atau bahan beracun. Berbeda dengan apoptosis yang terjadi baik dalam kondisi fisiologis maupun patologis dan dimana sel memainkan peran aktif terhadap kematian dirinya sendiri melalui jalur-jalur tertentu baik caspase dependen dan independen. Ciri dari nekrosis adanya pembengkakan mitokondria, membran plasma pecah, kromatin mengalami *dispersi* dan kerusakan dini pada struktur sel. Ciri pada apoptosis adalah terdapat *blebbing*, kromatin mengalami *kondensasi* dan aktifnya *endonukleolisis*. Sehingga sel mengalami *shrinkage* dan berkondensasi

membentuk *apoptotic bodies* yang merupakan target dari sel fagosit. Dengan demikian apoptosis disebut sebagai sel yang melakukan bunuh diri (Yani, C, 2007).

Tabel 2.1. Perbedaan Apoptosis dan Nekrosis (Behnia *et al.*, 2000)

	Apoptosis	Nekrosis
Morfologi	Volume berkurang	Peningkatan volume
	Kromatin berkondensasi	Inti utuh
	Organela utuh	Organela terganggu
Membran plasma	Tetap utuh	Mengalami kerusakan
Kerusakan DNA	Gambaran internukleosial	Kerusakan DNA secara acak
Mekanisme kerusakan DNA	Endonuklease	Injury secara acak
Reaksi jaringan	Tidak ada respon inflamasi	Tidak terdapat respon peradangan
	fagositosis	
Regulasi	Diregulas gen	Tidak diregulasi gen

Dua bentuk sel mati yang berbeda secara mendasar yaitu apoptosis dan nekrosis telah didefinisikan dalam istilah morfologi, biokimia dan insidennya. Dalam kondisi normal sel-sel tubuh dapat memberikan respon terhadap lingkungannya. Kesimbangan dalam respon tersebut tergantung stimulus yang mempengaruhi sel, apabila stimulus yang diberikan berlebih atau meningkat maka sel akan

mengalami hipertropi dan sebaliknya jika stimulus kurang maka sel akan mengalami atrofi (Tambayong, 2014).



Gambar 2.2. Gambaran sel pada nekrosis (kiri) dan apoptosis (kanan) (McGavin *et al.*, 2007)

2.4. Siklus Sel

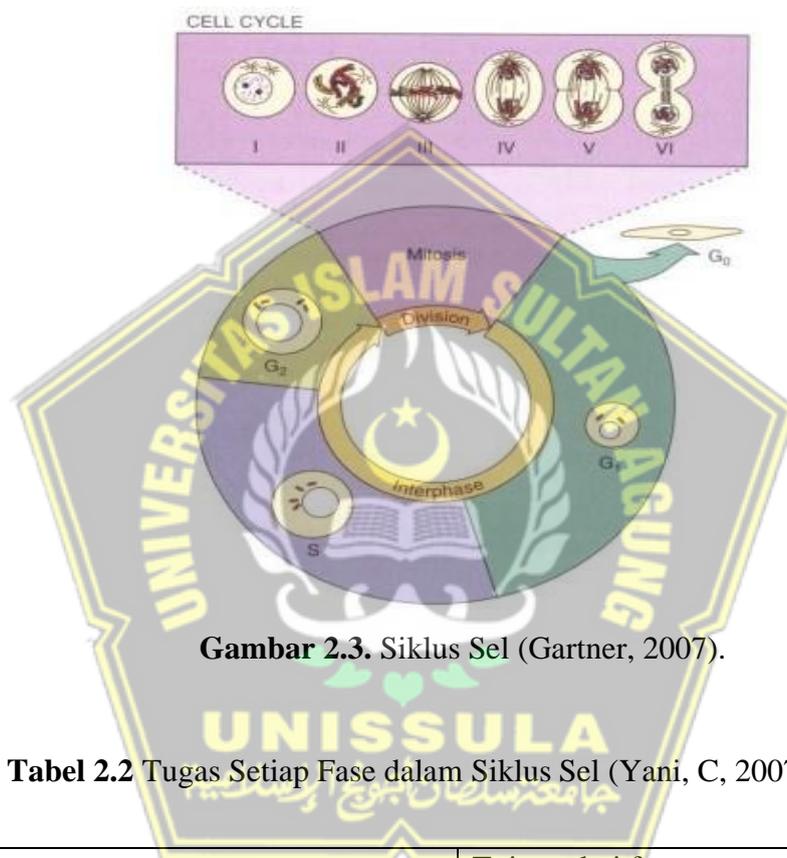
Secara struktural sel merupakan satuan terkecil makhluk hidup yang dapat melaksanakan kehidupan dan unit terkecil penyusun organisme hidup, secara fungsional sel berfungsi sebagai pengatur mekanisme dalam menjalankan kehidupan. Sel dapat memperbanyak diri dengan cara membelah diri (*mitosis*) atau *meiosis* dan didalam sel terdapat materi genetik yang bertugas sebagai penentu sifat-sifat organisme hidup. Siklus sel menggambarkan siklus pada makhluk hidup, salah satunya adalah sel pada jaringan rahim wanita yang mengalami pergantian saat menstruasi (Subagiarta, M, 2018). Faktor-faktor yang dapat memicu sel memasuki siklus sel antara lain : beban mekanis

(teregangnya otot polos), cedera pada jaringan (iskemia) dan kematian sel. Faktor tersebut mengakibatkan pelepasan ligand oleh sel-sel signaling yang terlibat, seringkali ligand yang berperan adalah growth factor untuk menginduksi *protooncogen* yang berperan dalam mengatur proliferasi sel (Gartner, 2007).

Secara garis besar siklus sel dibagi menjadi 2 yaitu : fase *mitosis* (pembelahan sel) dan *interphase*. Pada fase mitosis berlangsung lebih singkat dari pada interphase, karena terjadi pembagian inti (*nucleus*) dan sitoplasma sel, sehingga terbentuk 2 sel anak (Manson *et al.*, 2006). Sel anakan tersebut akan memasuki fase G₁ (sel-sel embrionik) yang berlangsung sangat cepat kecuali sel (*fibroblast, spermatogonia prepubertal*) yang berlangsung lama karena berada dalam fase G₀. Dalam fase ini terjadi pembentukan makromolekul yang penting untuk memulai replikasi DNA, sintesis RNA dan enzim untuk membawa keluar aktivitas sintesis. Proses replikasi *centrioles* ini baru sempurna pada fase G₂ karena fase ini RNA dan protein dipersiapkan untuk mitosis dan sintesis gelendong microtubulin. Setelah fase ini selesai berlanjut dengan fase mitosis yaitu proses terbaginya sitoplasma (*cytokinesis*) dan nukleus (*karyokinesis*) sama besar menjadi 2 sel yang indentik. Dalam fase ini dibagi menjadi 5 tahap yaitu profase, prometafase, metafase, anafase dan telofase (Muliani, 2016).

Interphase adalah proses diantara dua mitosis dan proses tahapannya dibagi menjadi 3 tahap, yaitu fase G₁ (presintesis), fase S (sintesis) dan fase G₂ (post duplikasi DNA). Sel neuron dan sel otot tidak memulai fase interphase, hal ini

dikarenakan sel tersebut tetap di fase G_0 (fase istirahat) dan sel tersebut tidak membelah terus (Janqueira, 2007). Memasuki fase G_2 , RNA dan protein penting akan disintesis serta terjadi penyimpanan energi yang diperlukan untuk mitosis dan sintesis gelendong tubulin (Gartner, 2007).



Gambar 2.3. Siklus Sel (Gartner, 2007).

Tabel 2.2 Tugas Setiap Fase dalam Siklus Sel (Yani, C, 2007).

Fase	Tujuan dari fase
G_1 (Presintesis) atau Gap_1	Pertumbuhan sel berupa sintesis RNA dan protein
G_0	Fase istirahat
S (Sintesis)	Sintesis dan replikasi DNA

G2	Memastikan replikasi DNA menjadi dua yang merupakan protein penting dalam proses mitosis
M	Mitosis dan cytokinesis
Interphase	Replikasi chromosome

2.5. Proses Apoptosis

Proses apoptosis pada sel-sel yang mati memberikan sinyal yang diperantarai oleh beberapa gen yang mengkode protein untuk enzim pencernaan atau enzim destruktif yang disebut dengan caspase. Gen caspase ini merupakan bagian dari cysteine protease yang akan aktif pada perkembangan sel maupun sinyal untuk aktif pada destruksi sel tersebut. Kematian sel melalui enzim destruktif berhubungan dengan pathway kematian sel melalui regulasi sel (Lumongga, 2008). Pada regulasi ini terdapat dua metode :

2.5.1. Ekstrinsik Pathway

Mekanisme ini di inisiasi oleh pengikatan receptor kematian pada permukaan berbagai sel. Reseptor kematian seperti TNF (*Tumor Nekrosis Factor*) berfungsi untuk mengirimkan sinyal apoptosis. Reseptor TNF tipe-1 akan berhubungan dengan protein Fas (CD95). Pada saat Fas berikatan dengan ligandnya menuju membran yaitu ligand (FasL). Tiga atau lebih molekul Fas akan bergabung dengan *sitoplasma death domain* sehingga membentuk *binding site* untuk

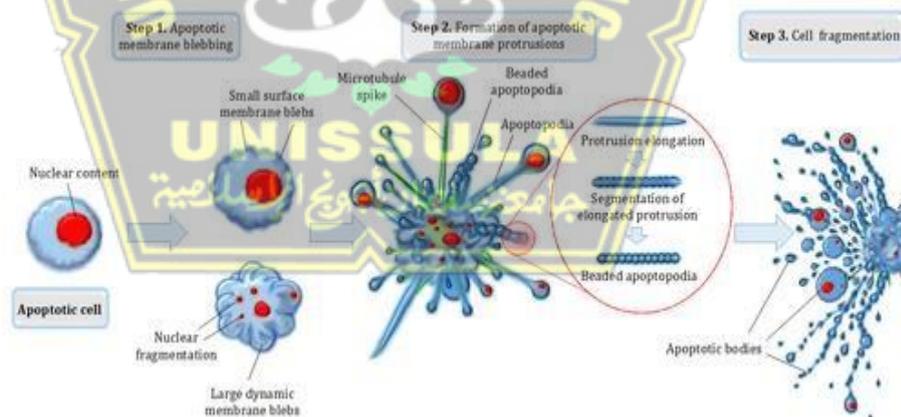
adapter domain protein, yang bisa di sebut FADD (*Fas-associated death domain*). FADD kemudian akan melekat pada reseptor kematian dan mulai berikatan dengan bentuk inaktif dari caspase 8. Molekul procaspase 8 ini kemudian akan di bawa dan dipecah menjadi caspase 8 aktif oleh enzim procaspase 8. Enzim inilah yang mencetuskan cascade aktivasi caspase dan kemudian mengaktifkan procaspase lainnya dan mengaktifkan enzim untuk mediator eksekusi (Sari, Liza, M., 2018).

2.5.2. Intrinsik Pathway

Mekanisme jalur ini terjadi dikarenakan akibat permeabilitas mitokondria dan pelepasan molekul pro-apoptosis ke sitoplasma tanpa memerlukan reseptor kematian. Karena melalui pembentukan protein antiapoptosis yaitu *Bcl-2* yang di induksi oleh faktor pertumbuhan dan sinyal lainnya. Sel normal terdapat protein antiapoptosis yang utama yaitu *Bcl-2* dan *Bcl-x* (Robbins, 2007). Pada keadaan stress, protein tersebut akan menghilang dari membran mitokondria dan akan digantikan oleh protein apoptosis yang lain seperti *Bak*, *Bax*, *Bim*. Pada keadaan dimana protein *Bcl* menurun disertai peningkatan permeabilitas mitokondria, sehingga akan mengakibatkan beberapa protein yang lainnya akan mengaktifkan cascade caspase. Diantaranya adalah cytochrom-c. Protein ini diperlukan untuk proses respirasi pada mitokondria. Apabila protein tersebut masuk ke cytosol, cytochrom-c akan berikatan dengan Apaf-

1 (*Apoptosis activating factor -1*) dan mengaktivasi caspase-9 (Sari, Liza, M., 2018)

Setelah sel menerima sinyal yang sesuai untuk apoptosis, selanjutnya organela-organela sel akan mengalami degradasi yang diaktifasi oleh caspase proteolitik dan terjadi perubahan pada morfologi sel (Lumongga, 2008). Perubahan morfologi sel saat terjadinya apoptosis yaitu kondensasi kromatin (DNA dan protein yang di dalam inti sel) semakin memadat, fragmentasi nuklear di dalam inti sel, pengurangan volume sel (piknosis) dan retraksi pseudopoda. Pada tahap awal apoptosis, kromatin pecah, namun membran sel masih utuh (karioheksis). Tahap akhir apoptosis terjadi penonjolan membran, modifikasi ultrastruktur organel sitoplasma dan integritas membran hilang (Kroemer, G *et al.*, 2005).



Gambar 2. 4. Sel Mengalami Perubahan Saat apoptosis
(Smith *et al.*, 2017)

2.6. Kanker Serviks

2.6.1. Definisi

Kanker serviks adalah pertumbuhan sel yang abnormal pada jaringan leher rahim (serviks), terletak pada kanalis servikalis dan portio. Serviks merupakan bagian ujung depan rahim yang menjulur ke vagina (Sari, A , 2014). Kanker serviks disebabkan karena adanya penggandaan sel, sehingga sifat sel berubah menjadi tidak normal. Sifat sel yang tidak normal dapat menyebar atau metastasis ke tubuh lainnya melalui pembuluh darah dan getah bening sehingga merusak fungsi jaringan (Dianti., *et al*, 2017). Pada stadium lanjut, kanker serviks dapat metastasis ke rongga pinggul dapat dijumpai dengan tanda lain berupa nyeri yang menjalar ke pinggul atau kaki. Beberapa pasien yang terkena kanker ini sering mengeluh nyeri saat berkemih, kencing berdarah dan perdarahan saat buang air besar. Kanker serviks juga dapat metastasis ke kelenjar bening tungkai bawah yang dapat menimbulkan bengkak pada tungkai bawah (Budiwidiyaningrum, Rani., 2010).

Kanker ini masih memungkinkan tidak menimbulkan tanda dan gejala. Tanda dini kanker serviks tidak spesifik seperti adanya keputihan yang banyak dan kadang adanya perdarahan yang berulang saat bersetubuh dengan pasangannya atau saat membersihkan vagina. Namun, kadang juga diartikan bahwa perdarahan yang terjadi saat haid yang berlangsung lama dan keputihan yang banyak serta berbau busuk juga berasal dari kanker ini (Rasjidi, 2009).

2.6.2. Epidemiologi

Kanker serviks (leher rahim) merupakan kanker pembunuh wanita nomor dua di dunia setelah kanker payudara. Setiap tahun terdapat kurang lebih 500.000 kasus baru kanker serviks, sebanyak 80% terjadi di negara berkembang. Hal ini terjadi karena pasien datang dalam keadaan stadium lanjut (Misgiyanto dan Susilawati, D., 2014). Berdasarkan data subdit Kanker Direktorat Pengendalian Penyakit Tidak Menular (PPTM) pada Kemenkes RI tahun 2007 sampai 2014 dengan menggunakan program skrining IVA test (inspeksi visual asetat) di 34 provinsi puskesmas Indonesia. melalui uji skrining terhadap 904.099 orang didapatkan dengan hasil IVA positif sebanyak 44.654 orang (4,94%) dan suspek kanker serviks sebanyak 1056 orang (1,2 per 1000 orang). Pada tahun 2015 di provinsi Jawa Tengah dari 875 puskesmas hanya 64 puskesmas yang menyediakan pelayanan IVA test, hal ini masih dibawah target fasilitas pelayanan kesehatan dalam melaksanakan deteksi kanker serviks dengan metode IVA test yaitu 88 puskesmas (Masturoh, 2016).

Kurang optimalnya dalam pelaksanaan IVA test disetiap puskesmas karena kurangnya kegiatan penyuluhan ke masyarakat dan rendahnya cakupan pemeriksaan IVA test di puskesmas yang masih dibawah target standar pelayanan masyarakat (Fritria, D, 2015).

2.6.3. Faktor Resiko

2.6.3.1. Usia dan Perkawinan

Wanita usia subur dengan usia diantara 14–49 tahun sering terdiagnosis menderita kanker serviks, karena pada rentan umur tersebut tingkat kesuburannya masih baik dan system reproduksi yang ditandai dengan menstruasi (Hartanto, 2003).

Rata-rata usia pasien yang terkena kanker serviks antara 30-60 tahun, terbanyak antara 45-50 tahun. Hal ini di karenakan periode laten dari fase *prainvasif* untuk menjadi *invasif* memakan sekitar waktu 7-10 tahun, sehingga kanker serviks dikenal sebagai *silent killer* (Sari, A., Syahrul, 2014). Untuk mendeteksi penampisan lesi prakanker serviks perlu untuk dilakukana pemeriksaan IVA test (Fritria, D, 2015).

Perkawinan dalam usia kurang dari 20 tahun cenderung rentan terkena kanker serviks, karena pada usia tersebut alat reproduksi belum siap untuk melakukan hubungan seksual (Dianti, D, N., Isfandiari, M, 2017).

Hal tersebut dapat meningkatkan resiko terkena kanker serviks sebesar dua kali dibanding dengan wanita yang melakukan hubungan seksual setelah usia 20 tahun. Selain itu periode rentan ini berhubungan dengan proses metaplasia pada usia pubertas, apabila ada yang mengganggu proses metaplasia

tersebut misalnya infeksi atau lesi saat berhubungan seksual akan memudahkan beralihnya proses displasia yang mempunyai potensi menjadi ganas (Amrisinta *et al.*, 2018).

2.6.3.2. Jumlah Paritas

Kehamilan yang optimal adalah kehamilan anak ke tiga, apabila kehamilan melebihi tiga dan jarak kehamilan terlalu dekat mempunyai faktor resiko yg untuk terjadinya kanker serviks (Darmayanti *et al.*, 2016). Perempuan dengan paritas tinggi dapat mengakibatkan eversi epitel kolumnar serviks selama kehamilan berlangsung, sehingga epitel tersebut mudah mengalami metaplastik imatur yang dapat meningkatkan resiko transformasi sel dan trauma pada serviks pada saat terminasi. Hal tersebut memudahkan HPV (human papillomavirus) untuk menginfeksi (Hidayat *et al.*, 2014). Pada saat kehamilan terjadi penurunan kekebalan seluler dan dapat menginduksi onkogen HPV (human papillomavirus) menjadi stabil yang diinduksi oleh hormone progesterone, sehingga terjadi integrasi DNA virus ke dalam genom sel penjamu dan menurunkan kekebalan mukosa zona transformasi (Setyarani, 2014).

2.6.3.3. Merokok

Wanita perokok mempunyai faktor resiko 2 kali lebih besar terkena kanker serviks dibandingkan yg tidak. Berdasarkan penelitian menunjukkan bahwa lendir serviks wanita perokok mengandung nikotin dan zat-zat lainnya di dalam rokok, sehingga akan dapat menurunkan daya tahan serviks dan menjadi ko-karsinogen infeksi HPV (*human papilloma virus*) (Darmayanti., *et al* , 2016). Nikotin dalam memicu kanker serviks sangat sederhana. Asap rokok yang dihirup dapat segera memasuki aliran darah dan dapat menyebar ke seluruh tubuh, salah satunya organ serviks yang merupakan anggota organ genitalia, sehingga dapat memicu terjadinya kanker serviks. Dengan cara zat nikotin yang masuk dapat mempengaruhi pertumbuhan sel dan sel tersebut mejadi tidak normal. Wanita yang menghirup asap rokok atau perokok pasif lebih rentan untuk membentuk sel jaringan serviks menjadi tidak normal (Septiana, 2018).

Molekul utama yang akan dirusak oleh radikal bebas adalah DNA, lemak dan protein. Dengan seiring bertambahnya usia maka akumulasi kerusakan sel akibat radikal bebas semakin mengambil peranan, sehingga dapat mengganggu metabolisme sel dan merangsang mutasi sel yang berakibat terjadinya kanker bahkan kematian (Murdiyo, M et al., 2013). Kombinasi

antara mutasi gen dan kerusakan DNA dapat mengganggu kestabilan genetic dan memicu terbentuknya kanker. Salah satunya adalah terbentuknya ROS (Reactive Oxidativ Stress) antara lain: kematian sel, mutasi DNA, kesalahan replikasi, DNA-crosslinking, modified deoksiribosa dan oksidasi basa nitrogen guanosim menjadi 8-oxoguanosine yang tidak lagi membentuk ikatan hydrogen dengan cystosine, tetapi berikatan dengan adenosine sehingga terjadi mutasi DNA yang dapat merusak gen dan akumulasi kerusakan DNA akan mengarah pada menurunnya fungsi seluler dan bahkan dapat memunculkan kanker. Salah satunya adalah kanker serviks (Fitria *et al.*, 2013).

2.6.3.4. Pasangan Pria yang Tidak Sirkumsisi

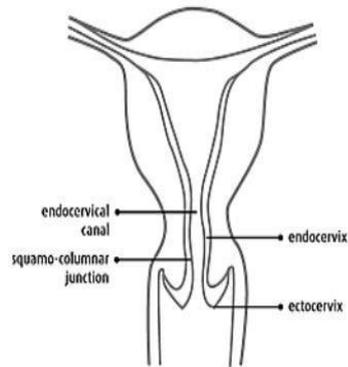
Sirkumsisi adalah tindakan medis dengan cara membuang preputium sebagian yang melingkupi kepala penis. Pasangan pria yang tidak melakukan sirkumsisi dapat meningkatkan resiko kanker serviks karena smegma yang terdapat di preputium menjadi tempat predileksi microorganisme (bakteri,virus serta jamur), debris, kotoran, sel mati dan keringat. Sehingga dapat meningkatkan resiko terjadinya kanker serviks pada wanita (Syatriani, 2015). Kelenjar subacea, terdapat di lapisan dalam yang terletak di dekat pertemuan preputium bawah dengan corona glans penis.

Kelenjar tersebut berfungsi sebagai memproduksi smegma yang berguna sebagai pelumas preputium (Amrisinta *et al.*, 2018). HPV (human papilloma virus) adalah penyebab utama terjadinya kanker serviks dengan menimbulkan lesi prakanker (Nindrea, R, 2017).

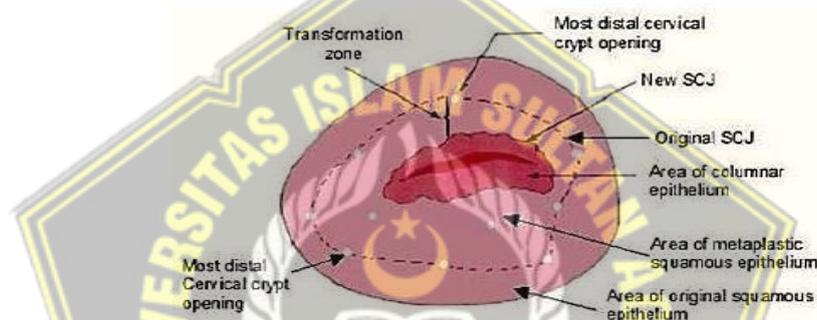
2.7. Patogenesis

Karsinoma serviks biasa timbul di daerah squamo-columnar junction atau daerah antara dari epitel squamous dan columnar yang melapisi ektoerviks (porcio) dan endoserviks (kanalis servikalis). Dimana terjadi perubahan epitel dari epitel squamous kompleks menjadi epitel kuboid atau columnar pendek selapis bersilia (Cahyawati Arisusilo, 2012). Pada masa kehidupan wanita terjadi perubahan fisiologis pada epitel serviks dari epitel columnar akan digantikan oleh epitel skuamosa, proses ini disebut metaplasia yang dikarenakan pH vagina rendah atau dalam kondisi asam yang sering dijumpai pada saat masa pubertas (Paulina, R & Yasmon, 2019). Aktivasi metaplasia ini secara morfogenik terdapat 2 SCJ, yaitu SCJ asli dan baru, daerah antara epitel ini disebut transformasi. Virus yang merupakan faktor penyebab terjadinya kanker serviks, terutama virus DNA yaitu HPV (human papillomavirus) yang dapat memutasikan sel. Sel yang mengalami mutasi dapat berkembang menjadi sel displatik atau displasia. Displasia sendiri dibagi menjadi ringan, sedang, berat dan karsinoma insitu atau tingkat pra-kanker yang mampu berkembang menjadi karsinoma invasif (Vinay, K, *et al.*, 2012).

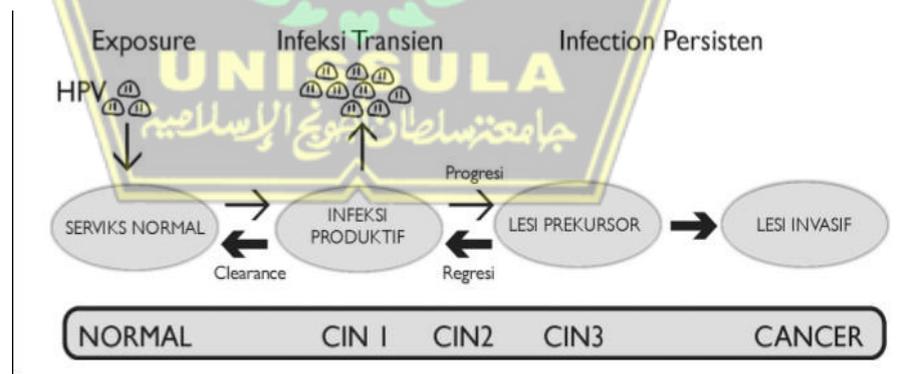
Diplasia dibedakan drajatnya melalui tebal epitel dan berat ringannya kelainan pada sel, sedangkan karsinoma insitu adalah gangguan maturasi epitel squamosa yang menyerupai karsinoma invasif tetapi membran basalis masih utuh (Budiwidiyaningrum, R, 2010). Untuk terjadinya karsinoma insitu dan displasia ringan memerlukan waktu sekitar 5 tahun, yaitu 3 tahun dari displasia sedang dan 1 tahun dari displasia berat. Tidak semua displasia menjadi karsinoma, hanya 15% displasia ringan berkembang menjadi displasia sedang, 30% displasia sedang menjadi berat dan 40% pada regresi menjadi displasia ringan, 45% displasia berat menjadi karsinoma insitu. Pada tingkat karsinoma insitu 100% akan menjadi karsinoma invasif (Vinay, K, *et al.*, 2012). Kecepatan pertumbuhan kanker serviks tidak sama antara satu kasus dengan kasus lainnya dan mekanisme kejadian tersebut belum dapat dijelaskan. Akan tetapi pada kasus tertentu bila diabaikan pertumbuhan kanker sangat lambat dan sebaliknya, pertumbuhan kanker sangat cepat bila di kenali secara dini. Dalam mengiginkan terapi yang adekuat dan hasilnya yang sempurna harus mendeteksi dini kanker dan memberikan pengobatan secara tepat (Rasjidi, 2009).



Gambar 2.5. Bagian Serviks (Vinay, K, *et al.*, 2012)



Gambar 2.6. Zona Transformasi Kanker Serviks (Vinay, K, *et al.*, 2012).



Gambar 2.7. Perjalanan Kanker Serviks (Rasjidi, 2009).

2.8. Sel HeLa

Sel HeLa merupakan continuous cell line yang merupakan turunan dari sel epitel kanker servix, sel ini dahulu ditemukan pada seseorang yang menderita kanker yang bernama Henrietta Lacks yang meninggal akibat kanker tersebut pada tahun 1951 dengan usia 31 tahun. (Anggrianti, 2008). Morfologi sel HeLa terbentuk akibat infeksi human papillomavirus (HPV 18) yang mengakibatkan sel tersebut berbeda dengan sel normal karena mengalami transformasi. Sel ini diketahui mengekspresikan 2 protein onkogen E6 dan E7, protein ini dapat menyebabkan sifat immortal pada kultur primer keratinosit manusia. Sel ini klasifikasinya masih di perdebatkan dan tidak mengalami apoptosis akibat penuaan karena dapat membelah secara tidak terbatas, selama memenuhi kondisi yang memungkinkan sel tersebut tetap bertahan hidup (Goodwin & Dimaio, 2000).

Protein E6 dapat membentuk kompleks E6AP yang merupakan seluler ubiquitin ligase. Kompleks tersebut dapat berikatan dengan gen p53, sehingga dapat memicu degradasi gen supresor tumor p53 oleh proteosom. Inaktivasi p53 menyebabkan virus dapat mencegah apoptosis dan memfasilitasi replikasi DNA virus. Protein E7 dapat berikatan dengan pRb yang merupakan gen supresor tumor, sehingga pRb tidak dapat berikatan dengan famili E2F. Hal tersebut menyebabkan E2F mengaktivasi siklus sel yang tidak terkontrol, sehingga pRb mengalami hipofosforilasi yang diinisiasi oleh cyclin-dependent kinase pada fase G₀, G₁, S, G₂ dan M. Protein E7 mengikat hipofosforilasi pRb yang mengakibatkan siklus sel dapat masuk ke fase S. Hal tersebut menyebabkan

protein E7 dapat menginduksi sintesis DNA dan proliferasi sel (Purnadanti, 2012). Peran protein E2F yang aktif akan megakibatkkkan stimulus siklus sel dan membantu c-ymc (factor transkripsi) untuk replikasi DNA. Protein c-ymc (protooncogen) adalah protein yang disandi oleh gen c-ymc yang berfungsi sebagai protein inti sel untuk proses transkripsi dan repliasi sel dalam siklus sel (Priyanto et al., 2005).

2.9. Kemangi

Indonesia memiliki keanekaragaman hayati terbesar ke 3 di dunia, karena terdiri dari banyak pulau dan didukung letak geografis yang di lewati oleh garis khatulistiwa yang dapat menyebabkan curah hujan tinggi hampir di seluruh wilayah indonesia. Keanekaragaman hayati ini menjadikan tanaman memiliki biokativitas tersendiri karena *bioresource*. Salah satunya adalah kemangi, yang merupakan genus dari *Ocimum* dikenal dengan kandungan minyak atsiri yang berlimpah. Bagian dari kemangi untuk di jadikan obat- obatan yaitu daun dan bunga, hal ini berkaitan dengan senyawa – senyawa yang terkandung. (Zahra, S dan Iskandar, Y., 2012). Kemangi merupakan tanaman hemafrodit yang tumbuh didaerah tropis seperti di Indonesia, tanaman ini biasanya di buat lalapan atau makanan (Ihsanto, M, 2018). Kemangi merupakan tanaman tahunan yang tumbuh liar di tepi jalan dan tepi kebun. Tanaman ini tumbuh di tanah yang terbuka maupun agak teduh. Kemangi dapat digunakan sebagai obat, peptisida nabati, penghasil minyak atsiri, sayuran dan minuman penyegar (Hasan, 2016).

2.9.1. Klasifikasi Kemangi

Klasifikasi tanaman ini menurut Syamsuhidayat, sebagai berikut :

Regnum : *Plantae*

Divisio : *Spermatophyta*

Sub division : *Angiospermae*

Clasis : *Dicotyledonae*

Ordo : *Tubiflorae*

Familia : *Labiatae*

Genus : *Ocimum*

Species : *Ocimum sanctum*

(Syamsuhidayat dan Johny R.H, 2001).

Terdapat berbagai macam istilah nama kemangi di indonesia, diantaranya selasih putih dan serawung. Di negara lain kemangi banyak dikenal dengan istilah ruku-ruku atau selasih (malaysia), sweet basil (inggris), tulsi (india), kinuka (afrika selatan) (Zahra, S & Iskandar, Y., 2012). Di negara indonesia yang berkepulauan istilah sebutan kemangi berbeda-beda pada tiap daerah, antara lain :

- a. Sumatera : ruku-ruku, ruruku
- b. Jawa : klampes , lampes, kemangen, koroko
- c. Nusa Tenggara : uku – uku
- d. Sulawesi : balakama
- e. Maluku : lufe–lufe, kemangi utan

(Singgah, L, 2013)

2.9.2. Morfologi Kemangi

Tanaman kemangi memiliki morfologi tajuk membulat, herba tegak atau semak, berbau harum, bercabangan banyak dengan tinggi 0,3-1,5cm, batang pokoknya tidak jelas, daun berwarna hijau keunguan dengan disertai rambut atau tidak dan tersusun dari bawah keatas. Tangkai daun memiliki panjang 0,2cm dan helaian daun berbentuk elips hingga bulat telur dan memanjang, ujungnya tumpul atau runcing. Bunga kemangi tersusun pada tangkai dan berbentuk menegak. Jenis bunga hemafrodit, berwarna putih dan berbau wangi dan majemuk. Di percabangan daun terdapat pelindung berbentuk bulat telur dengan panjang 0,5-1cm. kelopak bunga berbentuk bibir, sisi luar berambut, berwarna hijau atau ungu dan ikut menyusun buah, mahkota bunga berwarna putih dengan benang sari tersisip di dasar mahkota, kepala putik bercabang dua namun tidak sama (Kusuma, 2010). Daun berwarna hijau dengan berbentuk lenset (*lanceolate*) hingga bundar telur (*ovate*) dengan permukaan berombak dan rata serta panjang daun mencapai 4 - 6 cm dengan luas 4 – 13 cm dan mempunyai cabang 25–75 cabang (Zahra, S dan Iskandar, Y., 2012).



Gambar 2.8. Gambaran kemangi (*Singgah, L, 2013*).

2.9.3. Kandungan Senyawa Daun Kemangi

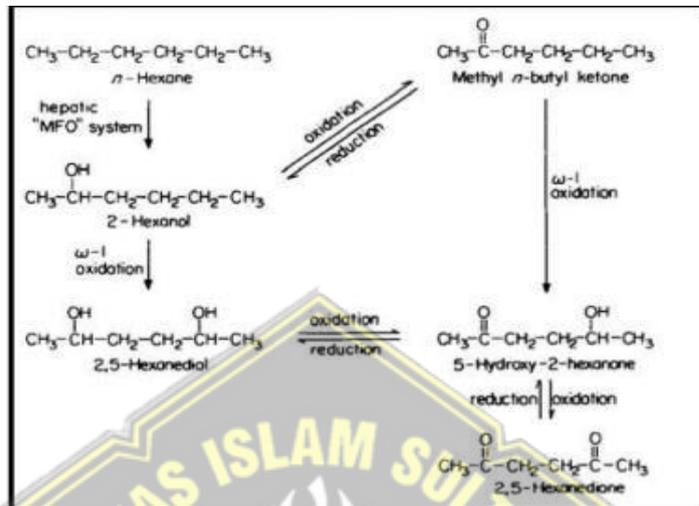
Berdasarkan pada penelitian sebelumnya bahwa daun kemangi mengandung senyawa alkaloid , flavonoid , tanin , triterpenoid , dan minyak atsiri (Ismiyati, N & Nurhaeni, 2016). Beberapa bahan kimia yang lain terkandung pada daun kemangi diantaranya adalah 1,8 sineol, anthol , apigenin , stigmasterol , triptofan , tanin , sterol dan boron. Sedangkan pada daunnya penelitian fitokimia membuktikan adanya senyawa flavonoid , alkaloid , saponin , terpenoid atau steroid dan juga tanin.(Kusuma, 2010). Kandungan senyawa daun kemangi berdasarkan polaritasnya berbeda-beda, seperti flavonoid bersifat polar, alkaloid bersifat semi polar dan saponin bersifat non polar (Zahra, S & Iskandar, Y., 2012). Daun kemangi juga kaya mineral makro seperti kalsium, fosfor, magnesium, betakaroten dan vitamin c (Bhattacharya et al., 2014). Senyawa metabolit sekunder adalah senyawa yang tidak esensial bagi pertumbuhan organisme dan ditemukan dalam bentuk unik dan

berbeda beda antara spesies satu dengan yang lainnya. Fungi dari metabolit sekunder adalah untuk mempertahankan diri dari kondisi lingkungan yang kurang menguntungkan, seperti mengatasi hama dan penyakit, menarik polinator sebagai molekul sinyal (Dinkes, 2016).

2.10. Ekstrak n-Hexsane

n-Hexsane atau C_6H_{14} merupakan senyawa hidrokarbon alifatik yang mudah menguap dan mempunyai titik didih rendah. n-Hexsane adalah gas alam dari fraksi minyak mentah, sehingga dapat di gunakan dalam reagen laboratorium dan industri. n-Hexsane mempunyai 6 rantai carbon dan memiliki isomer 2- metil pentane, 3- metil pentane serta bersifat nonpolar. (Utomo, S, 2016). Volatilitas dan kelarutan zat yang tinggi menandakan n-Hexsane adalah senyawa toksik jika terakumulasi di dalam tubuh. Senyawa tersebut dapat menginduksi gangguan syaraf, dengan ditandai *axopathy* pada distal perifer pusat. Namun mekanisme secara molecular masih belum jelas. Selain itu dapat memicu apoptosis sel kanker melalui jalur sinyal BCL-2, BAX dan caspase-3. BCL-2 merupakan gen supresor tumor, dengan cara mengganggu pelepasan Ca^{2+} pada reticulum endoplasma sel. BAX adalah protein analog dari BCL-2 yang bertindak sebagai antagonis dari BCL-2, sehingga protein ini disebut gen proapoptosis dan caspase berperan sebagai protein regulator dalam serangkaian apoptosis (Megawati & Herdiana, 2018). Berdasarkan sifat polaritas dan potensi sebagai apoptosis sel kanker, maka senyawa ini sering di gunakan sebagai ekstrak dalam uji laboratorium. Sifat nonpolar n-Hexsane yang dapat

melarutkan senyawa nonpolar lainnya, sehingga polar dan semipolar tidak ikut terlarut (Romandanu *et al.*, 2014).



Gambar 2.9. Skema Metabolisme n-Heksane (Megawati & Herdiana, 2018).

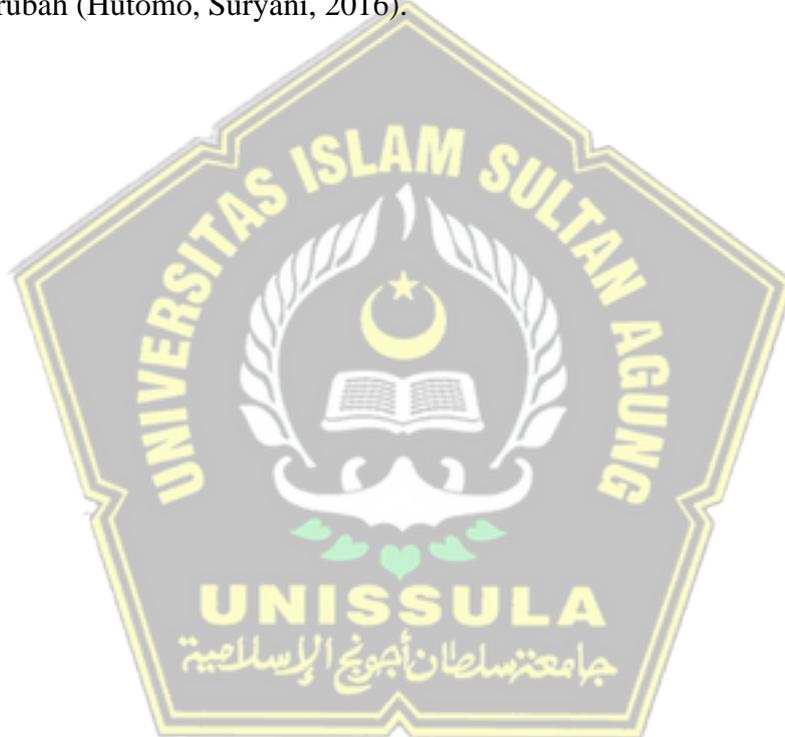
2.11. Efek Sitotoksik Ekstrak n-Heksane Daun Kemangi Terhadap Sel HeLa

Senyawa aktif yang terkandung dalam daun kemangi adalah flavonoid, terpenoid, alkaloid dan minyak atsiri. Terpenoid adalah senyawa bersifat nonpolar terbanyak di daun kemangi yang mempunyai kemampuan sebagai *antiproliferasi* dan *menginduksi apoptosis* dengan cara memblokir siklus sel pada fase G₂ dan menstabilkan gelendong benang-benang *spindel* (*tubulin*) pada fase M (Miranti, 2014). Interaksi antara senyawa terpenoid dengan sel HeLa mengakibatkan tahapan siklus pada sel tersebut terhambat (Rohmah, N,N., 2016). Senyawa terpenoid ini mampu memicu terjadinya apoptosis dengan menghambat enzim topoisomerase I/II pada sel mamalia yang mengakibatkan pemotongan pada untai DNA tidak terjadi dan menginduksi gen proapoptosis terhadap sel HeLa (Miranti *et al.*, 2014).

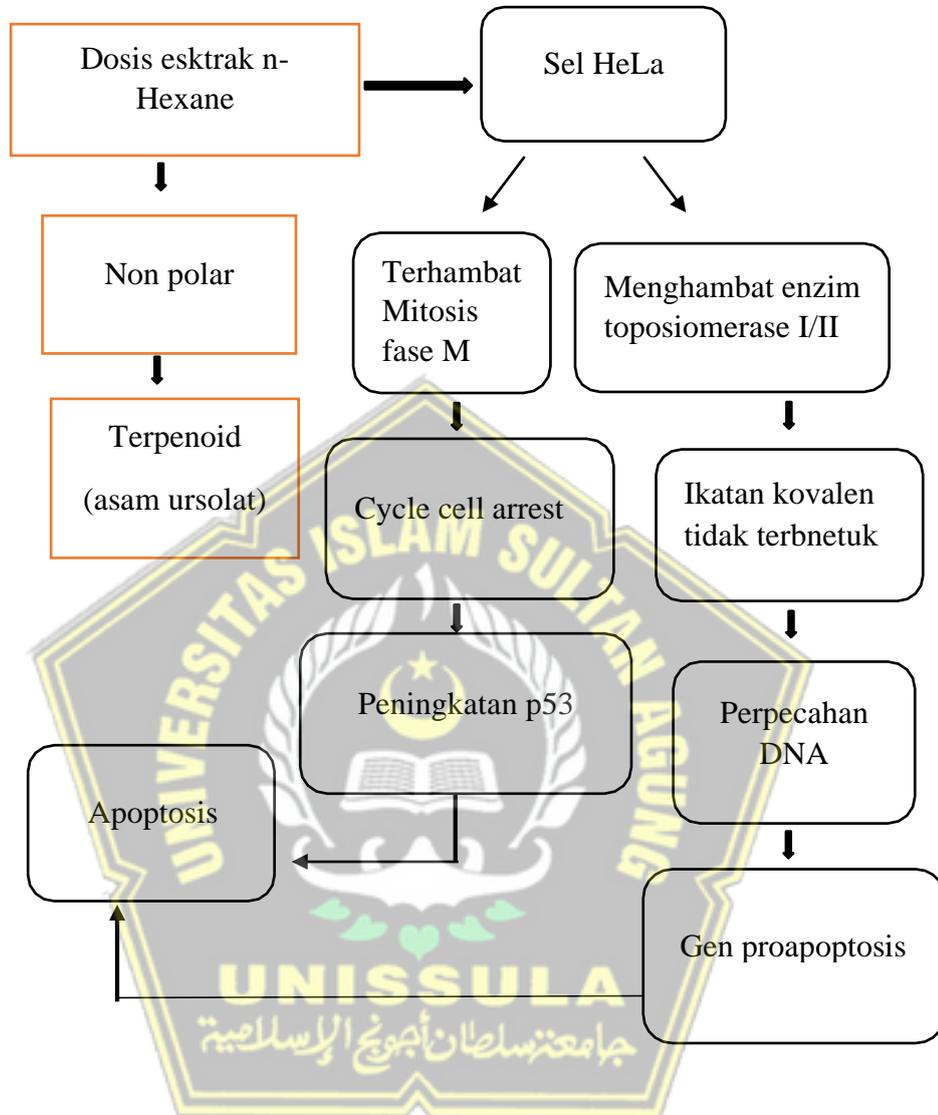
Topoisomerase adalah enzim yang mengkatalisis terbentuknya untaian DNA baru dalam proses replikasi. Topoisomerase I, II β , III α ditemukan di DNA mitokondria sel. Topoisomerase I berperan langsung dalam memotong DNA agar menjadi untaian ganda, melalui mekanisme kerja: relaksasi, *knotting* atau *unknotting* (pembuatan atau pelepasan simpul), *duplex formation* (pembentukan untaian ganda) dan *katensi* atau *dekatensi*. *Katensi* merupakan ikatan yang saling mengunci antar untai DNA melalui ikatan kovalen. Topoisomerase II akan langsung memotong untaian ganda DNA menjadi beberapa untaian (Srivastava, M & Raghvan, 2015). Topoisomerase II adalah target dari beberapa obat antikanker, senyawa terpenoid adalah racun bagi enzim topoisomerase II dengan meningkatkan konsentrasi perpecahan DNA melalui tidak terbentuknya ikatan kovalen yang akhirnya memicu terjadinya apoptosis (Octavianna et al., 2018).

Asam ursolat merupakan turunan dari terpenoid yang memiliki aktivitas antikanker, induksi diferensiasi sel kanker dan angiogenesis. Aktivitas tersebut diperantarai oleh kemampuan senyawa asam ursolat dalam menghambat aktivitas salah satu faktor transkripsi yaitu nuklear kappa B (NF- κ B). NF- κ B adalah protein yang mampu mengatur ekspresi gen yang berperan dalam proses perkembangan dan pembentukan kanker, gen proapoptosis dan gen yang mengatur adhesi molekul sebagai pengatur siklus sel. Dalam menghambat siklus sel, asam ursolat akan memblok pada fase M (*mitosis*) (Shishodia et al., 2003). Penghambatan siklus tersebut disebut dengan cell cycle arrest. Proses ini terjadi karena protein p53 yang menginduksi peningkatan protein p21 dengan

bertujuan memberikan waktu untuk reparasi atas kerusakan DNA yang terjadi akibat siklus sel yang terhenti. Apabila mekanisme perbaikan (repair) tidak mampu, hal ini mengakibatkan terjadinya peningkatan protein p53 yang dapat menginduksi terjadinya apoptosis (Sukamdi, D et al., 2010). Dalam proses apoptosis sel akan mengalami perubahan morfologi, salah satunya dengan berkondensasinya sitoplasma yang mengakibatkan ukuran dan bentuk sel berubah (Hutomo, Suryani, 2016).



2.12. Kerangka Teori



2.13. Kerangka Konsep



2.14. Hipotesis

Pemberian ekstrak daun kemangi dapat memberikan efek sitotoksik pada sel HeLa di kanker serviks dengan meninjau IC₅₀.



BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Jenis Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini adalah eksperimental dengan rancangan Post-Test Only Control Group Design. Disiplin ilmu pada penelitian ini meliputi bidang kimia dan biologi.

3.2. Variabel dan Definisi operasional

3.2.1. Variabel

3.2.1.1. Variabel Bebas

Ekstrak n-Hexsane daun kemangi

3.2.1.2. Variabel Tergantung

Sitotoksisitas sel HeLa

3.2.2. Definisi Operasional

3.2.2.1. Ekstrak n-Hexsane daun kemangi

Ekstrak n-Hexsane daun kemangi di buat di Laboratorium Kimia FK Unissula Semarang. Dosis yang digunakan 1000 μ g, 500 μ g, 250 μ g, 125 μ g, 62,5 μ g. Dengan Skala : Rasio.

Efek sitotoksik terhadap sel kanker serviks diketahui dengan menghitung persentase sel HeLa yang masih hidup setelah inkubasi dengan ekstrak n-Hexsane daun kemangi selama 24 jam dalam incubator CO₂. Sel hidup dideteksi menggunakan MTT assay yang kemudian dibaca menggunakan ELISA reader.

Sehingga didapatkan persentase sel HeLa yang hidup setelah perlakuan dengan menggunakan rumus :

$$\% \text{ sel hidup} = \frac{\text{abs. perlakuan} - \text{abs. kontrol media}}{\text{abs. kontrol sel} - \text{abs. kontrol media}} \times 100\%$$

Keterangan :

Abs. Perlakuan : Absorbansi Perlakuan (Media sel + Sel + Ekstrak Daun Kemangi)

Abs. Kontrol media : Absorbansi Kontrol Media (Media Sel)

Abs. Kontrol sel : Absorbansi Kontrol Sel (Media sel + sel)

Skala : Rasio

Selanjutnya dibuat kurva jumlah sel hidup vs dosis untuk menentukan persamaan garis dan menentukan harga IC50. Nilai IC50 yang kecil menunjukkan bahwa senyawa tersebut memiliki efek sitotoksik yang baik terhadap sel kanker. IC 50 merupakan kadar yang menyebabkan kematian 50% populasi sel HeLa. IC50 dihitung dengan persamaan $Y = B.X + A$, dengan Y adalah probit persen kematian sel dan X adalah log kadar. Semakin kecil nilai IC50 maka semakin poten senyawa uji tersebut. Suatu ekstrak dikatakan berpotensi bila nilai IC50-nya kurang dari atau sama dengan 100 $\mu\text{l/mL}$.

3.3. Subjek Uji

Subjek uji ini adalah sel Hela dari mencit yang diperoleh di tempat penyimpanan kultur di Laboratorium Biologi FK Unissula Semarang.

3.4. Alat dan Bahan Penelitian

3.4.1. Alat dan Bahan

- 1.) Micro pipet 200 μ l/mL, 1000 μ l/mL
- 2.) Tabung reaksi kecil
- 3.) Rak tabung kecil
- 4.) Tissue culture cluster 96
- 5.) Conical tube
- 6.) Incubator
- 7.) Haemocytometer
- 8.) ELISA reader

3.4.2. Bahan

- 1.) Daun kemangi
- 2.) Sel HeLa
- 3.) RPMI 1640 (1-glutamin)
- 4.) FBS (Fosfat Buffer serum)
- 5.) Fingizon 0,5%
- 6.) Penicillin streptomycin 2%
- 7.) Tripsin EDTA
- 8.) Doksorubisin

3.5. Cara Penelitian

3.5.1. Pengkulturan Sel HeLa

Siapkan media kultur RPMI 1640 (Rosewell Park Memorial Institute) sebanyak 3ml dalam conical tube. Keluarkan kultur sel HeLa yang disimpan dalam freezing nitrogen cair (-80°C), cairkan pada suhu 37°C. Ambil suspensi sel 1000uL dan teteskan ke media kultur. Sentrifuge conical tube pada 600g selama 5 menit, buang supernatant lalu tambahkan 4 ml media kultur RPMI 1640, resuspensi kembali sehingga sel homogeny. Transfer masing-masing 2 ml suspensi sel ke dalam dish, tambahkan 5 ml media kultur RPMI 1640 ke dalam masing-masing dish. Amati sel dengan mikroskop dan inkubasi sel selama 24-48 jam dengan suhu 37°C dalam inkubator.

Panen sel dilakukan setelah sel konfluen 80%, buang media RPMI 1640 menggunakan mikropipet dan cuci sel dengan PBS 2,5 ml sebanyak 2 kali. Tambahkan Tripsin-EDTA 0,25% dan inkubasi selama 3 menit dalam inkubator dengan suhu 37°C dan CO₂. Tambahkan 5 ml media RPMI 1640 dan amati dengan mikroskop, kemudian resuspensi kembali jika masih ada sel yang menggerombol. Pindahkan sel ke conical steril terbaru. Selanjutnya dihitung kerapatan sel mencapai 5×10^4 sel/100 uL.

3.5.2. Cara membuat Ekstrak

Bahan baku daun kemangi 1000gr dicucui sampai bersih, kemudian dipotong dan dikeringkan dalam oven pada suhu 40°C sampai kering. Selanjutnya di giling dengan ukuran partikel 50 mesh.

Pembuatan ekstrak daun kemangi dilakukan dengan cara maserasi, yaitu menimbang serbuk daun kemangi dan kemudian ditambahkan pelarut n-Hexsane dengan perbandingan bahan dan pelarut 1:6 (0,5 kg serbuk ditambahkan 3L pelarut). Bahan tersebut dilakukan pengadukan, campuran didiamkan selama satu malam dan di lanjutkan dengan penyaringan. Filtrate yang dihasilkan, akan diuapkan pelaurutnya dengan menggunakan evaporator dengan pengurangan tekanan sampai menghasilkan ekstrak kental.

3.5.3. Uji Sitotoksik

Suspensi sel HeLa pada kanker serviks sebanyak 100uL dengan kepadatan 1×10^4 sel / 100uL media. Disitribusikan ke dalam sumuran-sumuran pada 96-wellplate dan diinkubasi selama 24 jam di dalam sumuran. Kemudian dimasukan 100uL larutan uji dengan berbagai konsentrasi. Kontrol media ditambahkan 100uL medium kultur. Kontrol sel ditambahkan 100uL medium kultur ke dalam sumuran berisi 100uL suspensi sel dan diinkubasi selama 24 jam dalam inkubator dengan aliran CO₂ dan O₂.

Pada akhir inkubasi, medium kultur dibuang dan ditambahkan 10uL larutan MTT assay (5mg/mL PBS) dan mediumnya diganti 190uL

dengan medium RPMI-1640 komplet. Sel kemudian di inkubasi selama 3-4 jam. Reaksi MTT assay dihentikan dengan penambahan reagen stopper SDS (100uL). Mikroplate kemudian dibungkus dengan tissue dan diinkubasi selama satu malam pada suhu kamar dan ruangan gelap. Sel yang hidup bereaksi dengan MTT assay membentuk warna ungu. Hasil pengujian dibaca dengan ELISA reader pada panjang gelombang 595 nm.

Tabel 3.1. Peta Perlakuan pada Mikroplate

A1	A2	A3
B1	B2	B3
C1	C2	C3
D1	D2	D3
E1	E2	E3
F1	F2	F3
G1	G2	G3

Keterangan :

A1, 2, 3 :Kontrol (sel HeLa + Media Kultur)

B1, 2, 3 : Kontrol Media

C1, 2, 3 : Ekstrak daun Kemangi dengan dosis IC50 (1000ug)

D1, 2, 3 : Ekstrak daun kemangi dengan dosis IC 50 (500ug)

E1, 2, 3 : Ekstrak daun kemangi dengan dosis IC50 (250ug)

F1, 2, 3 : Ekstrak daun kemangi dengan dosis IC50 (125ug)

G1, 2, 3 : Ekstrak daun kemangi dengan dosis IC50 (62,5ug)

3.6. Tempat dan Waktu

Tempat : Laboratorium Biologi Fakultas Kedokteran Universitas Islam
Sultan Agung Semarang

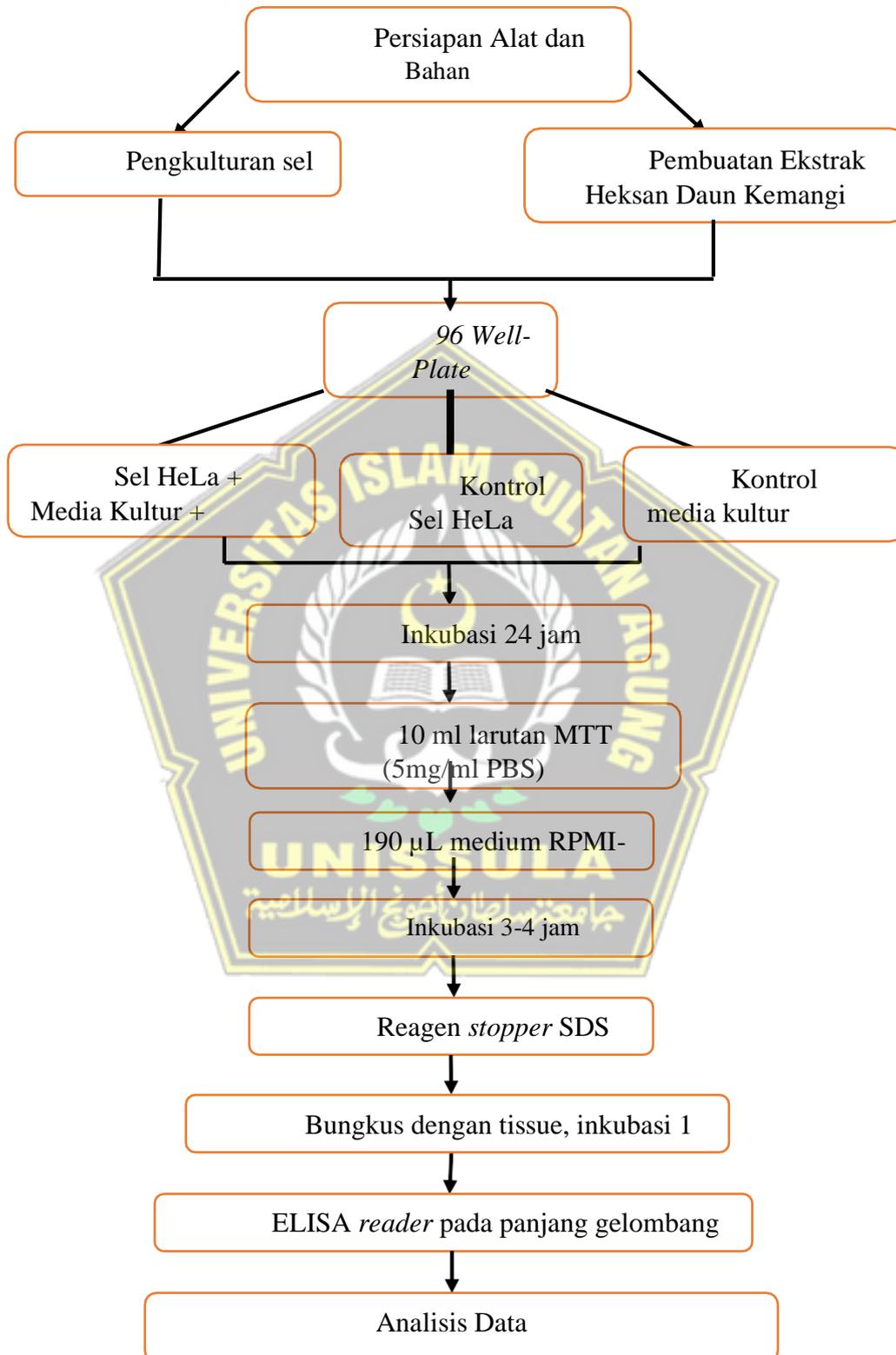
Waktu : November 2019- Februari 2020

3.7. Analisis data

Persentasi sel yang hidup dianalisis dengan menggunakan analisis regresi probit untuk menentukan nilai IC50 dari ekstrak n-Hexane daun kemangi dengan menggunakan bantuan SPSS 22.0.



3.8. Alur Penelitian



BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil penelitian

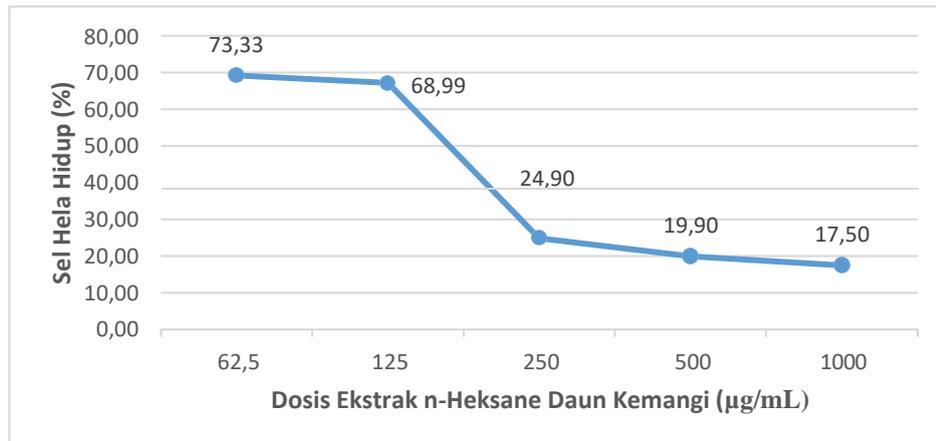
Hasil kultur sel HeLa dalam berbagai dosis ekstrak n-Heksane daun kemangi diperoleh persentasi sel HeLa yang hidup.

Tabel 4.1. Hasil Pengamatan Uji Sitotoksik Ekstrak n-Heksane Daun

Kemangi terhadap sel HeLa

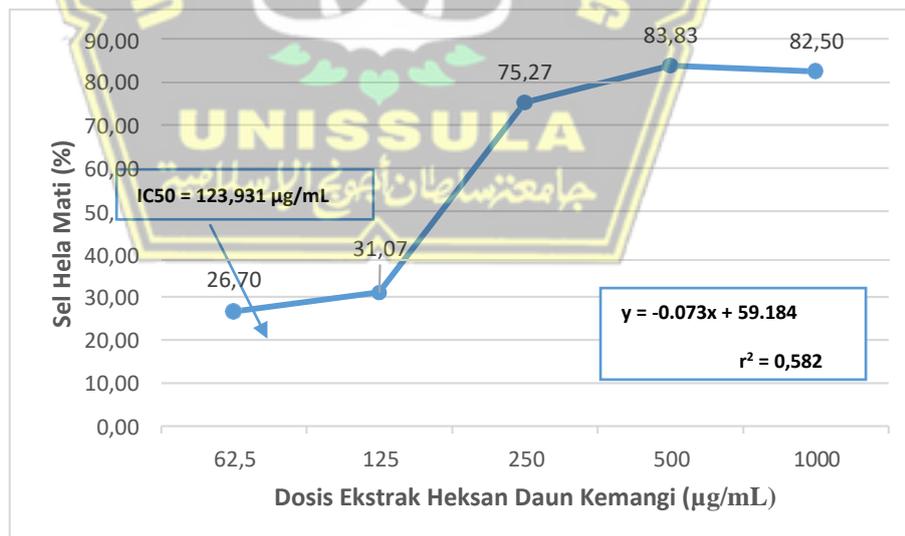
Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Log konsentrasi	% sel heLa yang hidup				
		Abs-1	Abs-2	Abs-3	Rerata	SD
62,5 $\mu\text{g/mL}$	1,796	0,692	0,753	0,754	0,733	0,036
125 $\mu\text{g/mL}$	2,097	0,647	0,671	0,750	0,689	0,054
250 $\mu\text{g/mL}$	2,398	0,248	0,249	0,245	0,247	0,002
500 $\mu\text{g/mL}$	2,699	0,199	0,195	0,191	0,195	0,004
1000 $\mu\text{g/mL}$	3,000	0,175	0,177	0,173	0,175	0,002

Tabel di atas memperlihatkan rerata sel HeLa yang hidup dengan mengetahui hasil absorbansi sel heLa pada setiap kelompok perlakuan yang didapatkan melalui ELISA reader. Pada absorbansi-1 (kelompok perlakuan), absorbansi -2 (kontrol sel) dan absorbansi-3 (kontrol media). Didapatkan rerata sel absorbansi tertinggi pada dosis 62,5 $\mu\text{g/mL}$ sebesar $0,733 \pm 0,036$ dan rerata absorbansi terendah pada dosis 1000 $\mu\text{g/mL}$ sebesar $0,175 \pm 0,002$. Hal ini dikarenakan semakin tinggi dosis konsentrasi maka semakin sedikit jumlah sel yang hidup dan sebaliknya semakin rendah dosis konsentrasi maka semakin tinggi jumlah sel yang hidup.



Gambar 4.1. Grafik Persentasi rerata sel HeLa yang hidup (Viabilitas)

Rerata persentasi sel HeLa yang hidup pada dosis 62,5 µg/mL sebesar 73,33% dan kemudian terus turun pada sampai dosis tertinggi 1.000 µg/mL sebesar 17,50%. Hal ini dikarenakan semakin tinggi dosis maka semakin rendah sel yang hidup.



Gambar 4.2. Grafik Persentasi rerata sel HeLa yang mati (Mortalitas)

Rerata persentase sel HeLa yang mati tertinggi pada dosis 500 µg/mL, yaitu sebesar 83,83% dan dosis 1.000 µg/mL sebesar 82,50%. Selanjutnya menurun sampai dosis

dosis 62,5 µg/mL, yaitu sebesar 26,70. Nilai IC₅₀ yang diperoleh menggunakan analisis regresi probit adalah sebesar 123,931 µg/mL, yang artinya penghambatan pertumbuhan sel sebesar 50% dari populasi sel HeLa menunjukkan potensi sitotoksik sedang atau moderate terhadap sel HeLa yang terletak di rentan dosis 62,5 µg/mL-125µg/mL. Karena nilai IC 50 masih dalam rentan 100µg/mL - 1000µg/mL dalam klasifikasi kategori potensial toksisitas.

4.2 Pembahasan

Absorbansi adalah perbandingan antara intensitas sinar yang diserap dengan intensitas sinar yang datang pada ELISA Reader. Nilai absorbansi ini akan bergantung pada kadar zat yang terkandung di dalamnya, semakin banyak kadar zat yang terkandung dalam suatu sampel, maka semakin banyak molekul yang akan menyerap cahaya pada panjang gelombang tertentu, sehingga nilai absorbansi semakin besar atau dengan kata lain berbanding lurus dengan konsentrasi zat yang terkandung di dalam suatu sampel (Neldawati, Ratnawulan, 2013). Prinsip metode MTT assay adalah terjadinya reduksi garam kuning tetrazolium MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromid) oleh sistem reduktase. Suksinat tetrazolium dalam rantai respirasi sel hidup di mitokondria membentuk kristal formazan berwarna ungu dan tidak larut air yang kemudian ditambahkan reagen stoper untuk melarutkan kristal tersebut dan selanjutnya dilakukan pengukuran absorbansi dengan ELISA Reader. Intensitas warna ungu yang terbentuk proposional dengan jumlah sel yang hidup. Sehingga jika intensitas warna ungu semakin besar maka berarti jumlah sel hidup semakin banyak (Pradarma, A *et al.*, 2009).

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa seiring peningkatan dosis dari ekstrak n-Hexsane daun kemangi, terjadi peningkatan persentasi sel HeLa yang mati. Terlihat bahwa 83,83% sel tersebut mengalami kematian pada dosis 5000 $\mu\text{g/mL}$. Persentase kematian sel HeLa disebabkan karena efek antikanker dari ekstrak n-Hexsane daun kemangi tersebut. Aktivitas sitotoksik ekstrak n-Hexsane daun kemangi terhadap sel HeLa didapatkan senyawa aktif apigenin, luteolin, eugenol dan asam urosolat (Husna, 2018). Senyawa daun kemangi juga terdapat flavonoid, steroid atau triterpenoid, alkaloid dan tanin. Senyawa-senyawa tersebut memiliki mekanisme yang berbeda terhadap sel lini kanker. Senyawa tersebut memiliki kepolaritasan yang berbeda diantaranya senyawa terpenoid memiliki sifat nonpolar dan senyawa fenolik bersifat polar (Sholihqin, H, 2018). Senyawa triterpenoid yang terkandung di daun kemangi dapat menghambat enzim topoisomerase 1 atau melalui penginduksian apoptosis melalui jalur intrinsik dengan merusak DNA. Sehingga menyebabkan gen p53 terinduksi dan meregulasi p53 dependent seperti : Bax, p21 dan Gadd45 yang dapat memstimulasi terjadinya apoptosis (Ismiyati, N dan Nurhaeni, 2016). Triterpenoid memiliki kemampuan menghambat aktivasi diferensiasi dan siklus sel dengan menghambat fase G1 dengan menginduksi ekspresi p21 dan menurunkan pengaturan ekspresi cyclin D1 dan cyclin E (protein pengatur siklus sel) (Ghante dan Jamkhande, 2019). Ketron dan Osherof (2014) mengemukakan bahwa terpenoid juga dapat menghambat aktivasi enzim topoisomerase, enzim yang terlibat dalam pengaturan keadaan topologi DNA seperti replikasi, transkripsi, rekombinasi dan agregasi kromosom selama mitosis. Selama proliferasi sel, kadar topoisomerase akan meningkat. Terpenoid secara

kompetitif akan menghambat topoisomerase I dan II dan pada akhirnya tidak akan terbrntuk kompleks pembelahan topoisomerase-DNA dan pemutusan DNA saat replikasi terjadi.

Beberapa penelitian terdahulu telah membuktikan ekstrak daun kemangi dengan berbagai pelarut terhadap sel lini kanker dan hasilnya memiliki potensi dan aktifitas sitotoksik (Ismiyati, N dan Nurhaeni, 2016). Peneletian lain juga melaporkan bahwa reaksi reduksi MTT assay dari ekstrak etanol daun kemangi memiliki aktivitas sitotoksik yang kuat terhadap sel HeLa (Pebriana *et al.*, 2008). Tidak hanya dilakukan dengan sel HeLa, sifat antikaker juga ditunjukkan ke kanker payudara dan HSC-4 (kanker mulut) yang dilakukan di india yang hasilnya mempuyai potensi sitotoksik kuat terhadap sel lini kanker tersebut melalui induksi apoptosis (Safitri, 2018) (Srichan dan Kaypetch, 2019). Esktrak yang di gunakan dalam penelitian sebelumnya adalah etanol sehingga akan melarutkan senyawa yang bersifat polar seperti flavonoid, minyak atsiri, alkaloid yang mekanisme kerjanya berbeda dengan senyawa yang bersifat non polar seperti terpenoid, steroid , tanin dalam meregulasi apoptosis (Romandanu *et al.*, 2014).

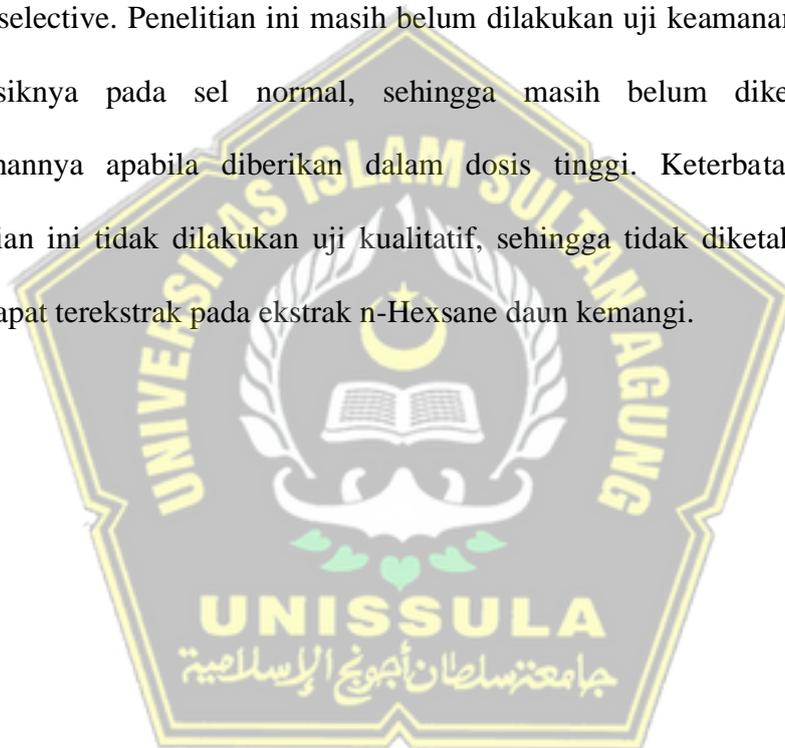
Penyebab perbedaan ketoksikan penelitian sekarang dengan sebelumnya adalah kemudahan senyawa dalam melewati struktur membran sel. Senyawa non polar yang terlarut dalam n-Hexane memiliki ukuran partikel lebih kecil dari pada senyawa yang terlarut etanol, sehinga partikel yang lebih kecil lebih mudah masuk ke dalam membran sel yang bersifat *hidrofobik* dan *hidrofilik*. (Rohmah, N,N., 2016). Perbedaan hasil antara penelitian ini dengan beberapa penelitian sebelumnya disebabkan oleh beberapa hal, antara lain : Perbedaan lokasi ditanamnya tanaman

kemangi. Perbedaan lokasi ini menyebabkan adanya perbedaan berbagai aspek non biologis dari tanaman tersebut, seperti kandungan zat hara pada tanah dan iklim. Selain itu genetik tanaman kemangi yang digunakan dapat berbeda. Sehingga mempengaruhi hasil toksisitas terhadap sel kanker (Sharma et al., 2016). dan perbedaan cara mengolah daun kemangi, mulai dari cara memanen, hingga proses pembuatan ekstrak, sehingga mempengaruhi kadar kandungan dari senyawa. (Husna, 2018).

Perbedaan target sel pada setiap kanker, golongan senyawa etanol partikanya cenderung besar dari pada terpenoid (steroid) yang umumnya memiliki kemiripan struktur membran molekul target, sehingga memudahkan senyawa tersebut untuk melewati membran sel. Hal ini menyebabkan senyawa tersebut akan lebih mudah masuk dan cepat dalam mempengaruhi aktivitas yang terjadi di dalam sel kanker. Secara keseluruhan proses metabolisme molekul obat baik obat kimia dan herbal dari senyawa aktif, hanya melibatkan sejumlah kecil tipe reaksi kimia dan melibatkan sejumlah besar sistem enzim (Rohmah, N.N., 2016). Sehingga hasil IC50 pada ekstrak daun kemangi berbeda-beda. berdasarkan hasil analisis sitotoksitas dengan metode *MTT assay* yang kemudian dibaca menggunakan ELISA reader yang telah dilakukan, diketahui bahwa ekstrak heksan daun kemangi memiliki pengaruh sitotoksitas sedang atau moderate ($IC_{50} < 1000 \mu\text{g/mL}$) terhadap sel HeLa.

Tampak bahwa ekstrak n-Heksane daun kemangi belum poten untuk dikembangkan sebagai obat kanker serviks, namun ada kemungkinan dapat dikembangkan sebagai kemoterapi dengan cara dikombinasikan dengan agen

kemoterapi agar dimanfaatkan untuk mengatasi efek sampingnya. Penelitian sebelumnya menunjukkan kombinasi antara ekstrak etanol daun kemangi pada dosis 130 µg/mL dengan doksorubisin 41nM mampu menghasilkan efek sitotoksik sinergis kuat terhadap lini sel kanker payudara T47D (Fita *et al.*, 2015). Keterbatasan dalam penelitian ini adalah penelitian ini tidak dilakukan fraksinasi sehingga masih belum dapat mengikat senyawa yang ada di dalam daun kemangi secara selective. Penelitian ini masih belum dilakukan uji keamanan dari aktifitas sitotoksiknya pada sel normal, sehingga masih belum diketahui tingkat keamanannya apabila diberikan dalam dosis tinggi. Keterbatasan lain dari penelitian ini tidak dilakukan uji kualitatif, sehingga tidak diketahui komponen yang dapat terekstrak pada ekstrak n-Hexsane daun kemangi.



BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

1. Nilai IC50 ekstrak heksan daun kemangi adalah 123,931 $\mu\text{g/mL}$.
2. Rerata persentase sel HeLa yang hidup tertinggi pada pada dosis 62,5 $\mu\text{g/mL}$, yaitu sebesar 73,33%, kemudian terus turun di tiap dosisnya sampai jumlah terendah pada dosis 1.000 $\mu\text{g/mL}$, yaitu sebesar 17,5%.
3. Rerata persentase sel HeLa yang mati pada dosis 5000 $\mu\text{g/mL}$, yaitu sebesar 83,83% dan terendah pada dosis 62,5 $\mu\text{g/mL}$ sebesar 26,70 %.
4. Ekstrak n-Hexane daun kemangi memiliki sitotoksisitas dengan kategori sedang atau moderate pada sel HeLa.

B. Saran

1. Untuk penelitian selanjutnya, gunakan *cell lines* selain sel HeLa, seperti sel HCK1T (Human Michigan-1 T), sel SiHa (stereotype induced HeLa), dan sel C-33A (Cel-33A kanker paru) dan sel serviks normal, untuk memastikan sitotoksisitas dari ekstrak heksan daun kemangi.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang uji aktivitas sitotoksik dari ekstrak heksan daun kemangi terhadap sel normal untuk mengetahui keamanan dari aktivitas sitotoksiknya.
3. Perlu dilakukan pengembangan untuk mengathui potensi lebih lanjut pada ekstrak n-Hexane daun kemangi dengan melakukan fraksinasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Anggrianti, P. (2008). Uji Sitotoksik Ekstrak Etanol 70% Buah Kemukus (*Piper cubeba* L.) Terhadap Sel HeLA. *Publikasi Ilmiah*, 2, 21–22. Dikutip dari: <http://eprints.ums.ac.id>
- Bhattacharya, A., Aggarwal, A., Sharma, N., & Cheema, J. (2014). Evaluation of some anti-oxidative constituents of three species of *Ocimum* ACCESS Life Sciences. *International Journal of Life Science*, 5(2091), 14–17. Dikutip dari: <http://nepjol.info/index.php/IJLS/index>.
- Budiwidiyaningrum, Rani. (2010). Prevalensi Kanker Serviks Pasien Rawat Inasp RSU Kabupaten Tangerang Pada Bulan Januari 2008 - Desember 2009. *Publikasi Ilmiah*, (64), 8–15. Dikutip dari: Uin.SHJ.ac.id
- Cahyawati Arisusilo. (2012). Kanker leher rahim (cancer cervix) sebagai pembunuh wanita terbanyak di negara berkembang. *Kanker Leher Rahim (Cancer Cervix) Sebagai Pembunuh Wanita Terbanyak Di Negara Berkembang*, 112–123. Dikutip dari: <http://ejournal.uin-malang.ac.id>
- Catherine, C, Neto, (2011). Ursolic Acid And Other Pentacyclic Triterpenoids : Anticancer Activities and Occurrence in Berries. *ResearchGate*, (1), 1-313. Dikutip dari: <https://www.researchgate.net/publication/226493077%0AUrsolic>.
- Darmawati, D. (2010). Kanker Serviks Wanita Usia Subur. *Idea Nursing Journal*, 1(1), 09–13. Dikutip dari : <http://ejournal.unsyiah.ac.id>
- Darmayanti, Hapisah, Kirana, K. (2016). Faktor-faktor Yang Berhubungan Dengan Kanker Leher Rahim Di RSUD Ulin Banjarmasin. *Epidemiologi Kesehatan Indonesia*, (6), 172–177. Poltekkes Kebidanan Kemenkes Banjarmasin.
- DeFillippis, R.A., Goodwin, E.C., Wu, L., DiMaio, D. (2003). Endogenous Human Papillomavirus E6 and E7 Proteins Differentially Regulate Proliferation, Senescence, and Apoptosis in Hela Cervical Carcinoma Cells, *Journal of Virology* 2(77), 1551-1563.
- Dianti, D, N., Isfandiari, M, A. (2017). Perbandingan Risiko Ca Serviks Berdasarkan Personal Hygiene Pada Wanita Usia Subur Di Yayasan Kanker Wisnuwardhana Surabaya. *Jurnal Promkes*, 4(1), 82. Dikutip dari: <https://doi.org/10.20473/jpk.v4.i1.2016.82-91>
- Dinas Kesehatan Provinsi Lampung, 2016, Profil Dinkes Provinsi Lampung 2016, Bandar Lampung, di akses tanggal 17 Desember 2018.
- Erviana, L., Malik, A., dan Najib, A. (2013). Uji Aktivitas ANtiradikal Bebas Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum basilicum* L.) Dengan Menggunakan Metode DPPH. *Fitofarmaka Indonesia*, 3(2), 164–168. Dikutip dari: <http://farmasi.ui.ac.id>.
- Fitria, N., Sinuraya, R., dan Puspita, I. (2017). Terapi Kanker dengan Radiasi:

Konsep Dasar Radioterapi dan Perkembangannya di Indonesia Cancer Therapy with Radiation : The Basic Concept of Radiotherapy and Its Development in Indonesia. *Jurnal Farmasi Klinik Indonesia*, 6(4), 6. Diikutip dari: <https://doi.org/10.15416/ijcp.2017.6.4.311>

- Finks, S, L., and Brad, T, C., (2005). Apoptosis, Pyroptosis, and Necrosis: Mechanistic Description of Dead and Dying Eukaryotic Cells. *Infect Immun*, 73(4),1907.
- Fritria, D, A. (2015). Surabaya, Faktor Yang Memepengaruhi Implementasi Program Deteksi Dini Kanker Serviks Melalui Pemeriksaan IVA (Inspeksi Visual Asam Asetat) di Puskesmas Wilayah Kota. *Jurnal Imliah Kesehatan*, 8(1), 29–40.
- Gartner, L, P., Hiatt, J, L. (2007). Nucleus in Cell, Textbook of Histology. Ed.Ke-3,3(97),8-61. Elsevier Saunders.Philadelphia.
- Goodwin, E, C., Dimaio, D. (2000). Repression of Human Papilloma Virus : Oncogens in HeLa Cervical Carcinoma Cells Causes the Orderly Reactivation of Dormant Tumor Supresor Pathways. Pubmed, 97(23),12513-8. National Cancer for Biotechnology Information. USA.
- Hasan, H. (2016). Pengaruh Ekstrak Daun Kemangi (Ocimum basilicum L) Terhadap Daya Tetas Telur Ikan Lele Dumbo (Clarias gariepinus) Yang Diinfeksi Jamur Saprolegnia Sp. *Jurnal Ruaya* Vol. 4. NO .1. TH 2016 ISSN 2541 – 3155.
- Hidayat, E., Hasibuan, D,H,S,., Fitriyati, Y. (2014). Dengan Jumlah Paritas Di RSUD DR. MOEWARDI Tahun 2013. *Jurnal Kedokteran Dan Kesehatan Indonesia*, 6(3), 128–136. Dikutip dari : <https://doi.org/10.20885/jkki.vol6.iss3.art4>
- Husna, T. (2018). Pengaruh Sitotoksik Ekstrak Etanol Daun Kemangi (Ocimum sanctum) Terhadap Sel MCF-7 dan Sel T47D. *Publikasi Ilmiah*, 1(18), 14–18. Dikutip dari : <http://farmasi.ums.ac.id>, Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Hutomo, Suryani. (2016). Perubahan morfologi sel HeLa setelah paparan ekstrak etanolik (Curcuma longa) kurkumin. *Majalah Kedokteran Gigi Indonesia*, 2(1), 1–5. Dikutip Pada: <https://doi.org/10.22146/majkedgiind.11248>
- Ihsanto, M. (2018). Pengaruh Rebusan Daun(Ocimum sanctum) Terhadap Penurunan Kadar Kolestrol Totl Tikus Putih (Rattus norvegicus) Hiperkolestrolemia. *Publikasi Ilmiah*,16, 9–10. Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Muhammadiyah Malang.
- Ikhwan, D., Harlia.,Widiyanto, A. (2018). Karakterisasi Senyawa Sitotoksik Dari Fraksi Etil Asetat Daun Kratom (Mitragyna speciosa Korth.) dan Aktivitasnya Terhadap Sel Kanker Payudara T47D. *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 7(2), 18–24. FMIPA Univesitas Tanjungpura.
- Ismiyati, N., Nurhaeni, F. (2016). Efek Ekstrak Etanol Daun Kemangi (Ocimum

sanctum L.) Sebagai Agen Kemopreventif Pada Sel Kanker Leher Rahim HeLa Melalui Aktivitas Stitotoksik dan INduksi Apoptosis. *Media Farmasi*, 13(1), 35–48. Dikutip dari: <http://webcache.googleusercontent.com>

Junqueira, L. C., Carneiro, J. (2007). *Histologi Dasar*. Ed. Ke-10. EGC. Jakarta. Diakses pada 29 November 2019.

Kemenkes. (2015). Stop Kanker. *Infodatin-Kanker*, hal 3. Dikutip dari: <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>

Kroemer, G., Zamzami, N., Susin, S.A. (1998). Mitochondria as Regulators of Apoptosis : Doubt no More. *Biochim. Biophys Acta*, 66(13), 151-165.

Kumar, V., Cotran, R. S., Robbins, S. L. (2007). *Buku Ajar Patologi*. Ed. Ke-7(1), 1-189. EGC, Jakarta.

Kusuma, W. (2010). Efek Ekstrak Daun KemangiI (*Ocimum sanctum L.*) Terhadap Kerusakan Hepatosit Mencit Akibat Minyak sawit Dengan Pemanasan Berulang. *Publikaasi Ilmiah*, 2(56), 9. Dikutip dari: perpustakaan.uns.ac.id

Lawen, A. (2007). Another piece of the puzzle of apoptotic cytochrome c release. *Journal Micro Moicrobiology*, 1(13), 1–4. Dikutip dari: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2007.05948.x>

Lumongga, F. (2008). Apoptosis. *Publikasi Ilmiah*, 14, 4–5. Dikutip dari: https://usu_repository.ac.id. Departemen Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Sumatera Utara.

Manson, G. A., Jones, E., Morris, A. (2006). *The Molecularr Basis of Genetics of Cell*. NCBI Ed. Ke 2, 7-72. Mosby, London.

Masito, G. A., Repite, D. W., Rogomulyo, R. (2014). Pengaruh Lima Macam Pupuk Organik Terhadap Pertumbuhan Dan Kandungan Senyawa Aktif Daun Sirsaka (*Annona muricata L.*). *Vegetalika*, 3(3), 97–105.

McGavin, M. D., Zachary, J. F. (2007). *Phatologic Basis Of Vaterinary Disease*. Ed. Ke-4. Affiliate and expertise. Elsevier Inc.

Megawati, k., & Herdiana, Y. (2018). Review Studi 2,5 Heksandiom Sebagai Molekul Toksik dan Biomarker paparan N-Heksana. *Farmaka*, 16(3), 213–221.

Miranti, Yeni, L. F., Nurdini, A. (2014). Uji Potensi Anti Kanker Ekstrak Biji Pinang Merah dan Implementasinya Dalam Pembelajaran Mitosis. *Artikel Penelitian*, (20), 8–9.

Misgiyanto dan Susilawati, D. (2014). Hubungan Antara Dukungan Keluarga Dengan Tingkat Kecemasan Penderita Kanker Serviks Paliatif. *Jurnal Keperawatan*, 5(I), 1–15.

- Muliani. (2016). Siklus Sel. *Cycle of Cell*, 2(41),3. Dikutip dari: <http://www.jurnal.udayana.ac.id>. Fakultas Kedokteran Udayana Bali.
- Mustika, A. D. (2014). Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Etanol Daun Kemangi (*Ocimum basilicum L.*) Terhadap Pertumbuhan *Salmonella typhi* Secara Invitro. *Naskah Publikasi*, (22), 12.
- Neldawati, Ratnawulan, G. (2013). Analisis Nilai Absorbansi dalam Penentuan Kadar Flavonoid untuk Berbagai Jenis Daun Tanaman Obat. *Pillar of Physics*, 2, 76–83. FMIPA UNP Padang.
- Nindrea, R. D. (2017). Prevalensi Dan Faktor Yang Mempengaruhi Lesi Pra Kanker Serviks Pada Wanita. *Jurnal Endurance*, 2(1), 53. Dikutip dari: <https://doi.org/10.22216/jen.v2i1.1538>.
- Noveri Rahmawati; Dian Handayani; Nofri Mulyanti. (2008). Skrining Aktivitas Sitotoksik Ekstrak dan Fraksi Beberapa Jenis Spon Laut Asal Pulau Mandeh Sumatera barat 1. *Publikasi Ilmiah*, 1(6), 58–63. Fakultas Farmasi Universitas Andalas Padang.
- Octavianna, N., Zuhrotun, A., & Chaerunnisa, A. Y. (2018). Aktivitas Senyawa aktif *Michelia Champaca* Sebagai Inhibitor Topoisomerase Antikanker. *Farmaka*, 4, 1-15.
- Pradarma, A., Ashari R, A., Nugroho, P, A., Monikawati, A., Fauzi, I, A., Hermawan, A., Meiyanto, E. (2009). Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etanolik Herba Ciplukan (*Physalis angulata L.*) Pada Sel Kanker Leher Rahim HeLa Melalui Modulasi Ekspresi Protein p53. *Cancer Chemoprevention Research*, 1(10), 5. Dikutip dari: <http://ccrc.farmasi.ugm.ac.id>
- Pramita, A. (2008). Harapan (Hope) Pada Remaja Penyandang Thalassaemia Mayor. *Publikasi Ilmiah*, (1), 18–40. Dikutip dari: <http://lib.ui.ac.id>.
- Priyanto, A., Dermawan, R., Yuliadi, I., & Mudigno, A. (2005). Ekspresi Protein p53, Rb dan c-ymc pada Kanker Serviks Uteri dengan Pengecatan Imunohistokimia. *BIODERVISITAS*, 6(3), 157–159. Dikutip dari: <https://doi.org/10.3057/biodiv/d060302>
- Purnadanti, S. (2012). Ekspresi Protein Fusi E6/GFP Dan E7/GFP Pada Sel HeLa. *Publikasi Ilmiah*, 2(52), 17–18. Dikutip dari: <http://ccrc.farmasi.ugm.ac.id>. FMIPA UI
- Putri, D. (2016). Uji Sitotoksik Ekstrak Etanol Daun Keladi Tikus (*Typhonium flagelliforme L.*), Kemangi (*Ocimum sanctum L.*) dan Pepaya (*Carica papaya L.*) Terhadap Sel HeLa. *Publikasi Ilmiah*, 14(2), 12. Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Rahardian, M, R.R., Utami, D. (2018). Uji Sitotoksik Antiproliferasi Ekstrak Eter Daun inahong (*Androdera cordifolia (Tenore) Steen.*) Terhadap Sel HeLa. *Media Farmasi Indonesia*, 13 No 1 di publikasikan : April, hal: 1287. Dikutip dari: <https://www.researchgate.net>

- Rasjidi, I. (2009). Epidemiologi Kanker Serviks. *Indonesian Journal of Cancer*, III(3), 103–108. Fakultas Kedokteran Universitas Pelita Harapan, Tangerang
- Rohmah, N,N. (2016). Uji Aktivitas Antikanker Ekstrak Akar Rumput Bambu (*Lophatherum gracile* B.) Yang Disembyhkan Pada Zeolit Nax Terhadap Sel Kanker Payudara (T47D). *Publikasi Ilmiah*, 2(128), 23. Dikutip dari: <https://uin.malang.ac.id>
- Romandanu, Rachmawati, S, H., Lestari, S, D. (2014). Pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Bunga Lotus (*Nelumbo nucifera*). *Fistech*, III(November), 1–7. Dikutip dari : <http://www.thi.fp.unisri.ac.id>
- Safitri, A. D. (2018). Uji Aktivitas Sitotoksik Kombinasi Ekstrak Etanol Kemangi (*Ocimum Sanctum L.*) Dan Daun Pepaya (*Carica Papaya L.*) Terhadap Sel Mcf-7. *Publikasi Ilmiah*.15,8. Dikutip dari :<http://eprints.ums.ac.id>. Fakultas Psikologi Universitas Indonesia.
- Sari, A., Syahrul, F. (2014). Faktor yang berhubungan dengan tindakan vaksinasi hpv pada wanita usia dewasa. *Jurnal Epidemiologi Indonesia*, 10, 321–330. Dikutip dari: e-jurnal.unair.ac.id.
- Sari, Liza, M. (2018). Apoptosis: Molecular Mechanisms Of Cellular Death. *Cakradonya Dental Journal*,10(2),65–70. Dikutip dari: <http://www.jurnal.unsyiah.ac.id>.
- Septiana, W. (2018). Hubungan Antara Perilaku Merokok dan Personal Hygiene Organ Reproduksi Dengan Kejadian Kanker Serviks Di RSUD DR. MOEWARDI Kota Surakarta. *Publikasi Ilmiah*, 16, 11–12. Dikutip dari :eprints.ums.ac.id
- Setiawati, D. (2014). Human Papilloma Virus Dan Kanker Serviks. *Human Papilloma Virus Dan Kanker Serviks Dewi*, Al-Sihah : Public Health Science Journal : 5,10, 450–459.Fakultas Ilmu Kesehatan UIN Alauddin Makassar
- Sharma, P., Prakash, O., Shukla, A., Singh Rajpurohit, C., G. Vasudev, P., Luqman, S., Khan, F. (2016). *Structure-Activity Relationship Studies on Holy Basil (*Ocimum sanctum L.*) Based Flavonoid Orientin and its Analogue for Cytotoxic Activity in Liver Cancer Cell Line HepG2*.Combinatorial Chemistry and High Through put Screening,19: 6. ikutip dari: <https://doi.org/10.2174/1386207319666160709192801>
- Shishodia, S., Majumdar, S., Banerjee, S., & Aggarwal, B. B. (2003). Ursolic acid inhibits nuclear factor- κ B activation induced by carcinogenic agents through suppression of I κ B α kinase and p65 phosphorylation: Correlation with down-regulation of cyclooxygenase 2, matrix metalloproteinase 9, and cyclin D1. *Cancer Research*, 63(15), 4375–4383. Dikutip dari: <https://doi.org/10.1158/1541-7786>
- Shukla, D. P., Shah, K. P., Rawal, R. M., & Jain, N. K. (2016). Anticancer and Cytotoxic Potential of Turmeric (*Curcuma longa*), Neem (*Azadirachta indica*),

- Tulasi (*Ocimum sanctum*) and Ginger (*Zingiber officinale*) Extracts on HeLa Cell line. *Int. J. Life. Sci. Scienti. Res*, 2(4), 2455–1716. Dikutip dari: <https://doi.org/10.21276/ijlssr.2016.2.4.2>
- Sholiqin, H, K. (2018). Uji Aktifitas Siototksik Fraksi n-Heksana Herba Kemangi (*Ocimum basilicum* L) Terhadap Kultur Sel HeLa. *Media Farmasi*, 10(2), 1–15.
- Singgah,Lumajang.(2013). Kemangi Hutan. Dikutip dari: <http://singgahlumajang.com>. Diakses pada 13 November 2013 pukul 09:08.
- Srichan, R., & Kaypetch, R. (2019). *The Effect of Ocimum sanctum Oil on Human Squamous Cell Carcinoma (HSC-4) In Vitro*.*Mahidol Dental Journal*, 39(2), 71-74. Dikutip dari :<https://he02.tci-thaijo.org/index.php/mdentjournal/article/view/213817>.
- Subagiarta, Made, I. (2018). The Structure C , Function and Regulation Of Cell. *Publikasi Ilmiah*, 3(28), 8–14. Dikutip dari: <http://www.jurnal.udayana.ac.id>
- Sukamdi, D, P., Ashyar, A., Febriasah, R., Ashari, R, A., Jennnie, R, I., & Meiyanto, E. (2010). Peningkatan Ekstrak Etanolik Rumpun Laut (Hedyotis Corymbosa) pada Sel Hepar Tikus Sprague Dawley Terinduksi 7, 12-Dimetil Benzenaantrasena. *Pharmacoin*, 11(1), 7–12.
- Syamsuhidayat, S., Johny, R,H., (2001). Inventaris Tanaman Obat Indonesia,2(1). Departemen Kesehatan RI, Jakarta.
- Tambayong, J. (2014). Patofisiologi untuk keperawatan (211). Jakarta: EGC. ISBN : 979-448-518-7.
- Utispan, K., Niyomtham, N., Yingyongnarongkul, B., & Koontongkaew, S. (2019). Ethanolic extract of *Ocimum sanctum* leaves reduced invasion and matrix metalloproteinase activity of head and neck cancer cell lines. *BioRxiv*, 59(12),14. Dikutip dari :<https://doi.org/1.0.1101/591214>
- Utomo, Suratmin. (2016). Pengaruh Konsentrasi Pelarut (n-Heksana) terhadap Rendemen Hasil Ekstraksi Minyak Biji Alpukat untuk Pembuatan Krim Pelembab Kulit. *Konversi*, 5(1), 5–8.Universitas Muhammadiyah Jakarta
- Vinay K, Stanley LA, Robbins. (2012),. Buku Ajar Patologi Robbins Edisi 7 Vol. 2. Jakarta: EGC. ISBN : 544-551.
- Wati, E., Rosita, A., dan Pangaribowo, D. A. (2016). Uji Sitotoksitas dan Proliferasi Senyawa 1- (4-nitrobenzoiloksi- metil) -5-fluorourasil terhadap Sel Kanker Payudara MCF-7 methyl) -5-fluorouracil) on Breast Cancer Cells MCF-7). *E -Jurnal Pustaka Kesehatan*, 4(3), 484–488. Dikutip dari: <https://jurnal.unej.ac.id/index.php/JPK/article/download/5397/4062>
- WHO (2007). Deparrtement of Reproductive Health and Research. Jakarta. dikutip dari ; eprints.undip.ac.id.
- Yani Corvianindya R, R. J. (2007). Jalur Molekuler Mekanisme Apoptosis. *Jurml*

Kedokteran Gigi Universitas Indonesia, 69–73. Diterbitkan di Jakarta

Zahra, S., Iskandar, Y. (2012). Kandungan Senyawa Kimia dan Bioaktivitas *Ocimum Basilicum L.* *Farmaka, 15(3)*, 143–152. Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran.



LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil analisis deskriptif persentase sel HeLa yang hidup

Case Processing Summary

	Cases					
	Included		Excluded		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
% sel HeLa hidup *	1	1	0	0.	1	1
Dosis	5	00.0%	0	0%	5	00.0%

Report

% sel HeLa hidup

Dosis	Mean	N	Std. Deviation	Median	Minimum	Maximum
62.5	75.3733	3	.0365	692.000	75.40	75.44
125.0	67.1167	3	.0541	647.000	67.11	75.00
250.0	24.9533	3	.00267	248.00	24.19	24.51
500.0	1.955	3	.00444	195.00	19.50	19.10
1000.0	1.755	3	.00248	177.00	17.70	17.30
Total	171.1533	15	0,93811	648.312	203.9	211.3

Lampiran 2. Hasil analisis regresi probit

Parameter Estimates

Parameter	Estimate	Std. Error	Z	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
PROBIT ^a Dosis	-2.452	4.106	-.597	.550	-10.499	5.596
Intercept	5.085	8.188	.621	.535	-3.103	13.273

a. PROBIT model: $PROBIT(p) = \text{Intercept} + BX$ (Covariates X are transformed using the base 10.000 logarithm.)

Chi-Square Tests

	Chi-Square	df ^b	Sig.
PROBIT Pearson Goodness-of-Fit Test	.125	2	.939 ^a

- a. Since the significance level is greater than .500, no heterogeneity factor is used in the calculation of confidence limits.
- b. Statistics based on individual cases differ from statistics based on aggregated cases.

Covariances and Correlations of Parameter Estimates

		Dosis	Natural Response
PROBIT	Dosis	16.859	-.614
	Natural Response	-.944	.140

Covariances (below) and Correlations (above).

Confidence Limits

Probability	95% Confidence Limits for Dosis			95% Confidence Limits for log(Dosis) ^a		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT .010	1054.884	.	.	3.023	.	.
.020	816.598	.	.	2.912	.	.
.030	694.158	.	.	2.841	.	.
.040	614.308	.	.	2.788	.	.
.050	556.180	.	.	2.745	.	.
.060	511.059	.	.	2.708	.	.
.070	474.519	.	.	2.676	.	.
.080	444.023	.	.	2.647	.	.
.090	417.994	.	.	2.621	.	.
.100	395.386	.	.	2.597	.	.
.150	314.076	.	.	2.497	.	.
.200	261.558	.	.	2.418	.	.
.250	223.560	.	.	2.349	.	.
.300	194.165	.	.	2.288	.	.
.350	170.388	.	.	2.231	.	.
.400	150.524	.	.	2.178	.	.
.450	133.512	.	.	2.126	.	.
→ .500	123.931	.	.	2.074	.	.
.550	105.439	.	.	2.023	.	.
.600	93.523	.	.	1.971	.	.
.650	82.620	.	.	1.917	.	.
.700	72.503	.	.	1.860	.	.
.750	62.969	.	.	1.799	.	.
.800	53.821	.	.	1.731	.	.
.850	44.822	.	.	1.651	.	.
.900	35.604	.	.	1.552	.	.
.910	33.679	.	.	1.527	.	.
.920	31.704	.	.	1.501	.	.
.930	29.667	.	.	1.472	.	.
.940	27.546	.	.	1.440	.	.
.950	25.311	.	.	1.403	.	.
.960	22.916	.	.	1.360	.	.
.970	20.280	.	.	1.307	.	.
.980	17.239	.	.	1.237	.	.
.990	13.345	.	.	1.125	.	.

a. Logarithm base = 10.

Lampiran 3. Ethical clearance

**YAYASAN BADAN WAKAF SULTAN AGUNG**
UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG (UNISSULA)
Jl. Raya Kaligawe Km.4 Semarang 50112 Telp. (024) 6583584 (B Sali) Fax.(024) 6582455
email : informasi@unissula.ac.id web : www.unissula.ac.id

FAKULTAS KEDOKTERAN  **MUHARRAM**
Bismillah Membangun Generasi Khaira Ummah

Kepada Yth :
dr. Mohamad Riza, M.Si
Ketua Bagian KTI
Fakultas Kedokteran Unissula

SURAT KETERANGAN
Nomor: 001/EC-KB/III/2020

Assalaamu'alaikum Wr.Wb,

Sehubungan akan di laksanakan sidang dengan syarat mahasiswa yang belum terpenuhinya syarat ujian atas nama :

Nama : Fahmy Amrullah
Nim : 301.0160.7644

Mahasiswa tersebut Ethical Clearance sedang dalam proses revisi dimohon untuk izinkan untuk memenuhi syarat KTI dan dapat di izinkan pengambilan undangan sidang. Demikian surat keterangan ini dibuat agar dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Wassalaamu'alaikum Wr.Wb.

Semarang, 2 Maret 2020
Reviewer Ethical Clearance

dr. M. Soffan, MH.Kes

Tembusan :
1. Arsip

UNISSULA
جامعنا سلطان أجوع الإسلامية

Lampiran 4. Surat bebas pinjaman laboratorium

 <p>FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG Jl. Raya Kaligawe Km. 4, Semarang 50112, Jawa Tengah</p> <p>Form Surat Bebas Laboratorium</p>	No. Dokumen	FORM-SA-K-PUS-009
	Tgl Berlaku	15 September 2014
	No. Revisi	01
	Halaman	1 dari 1

SURAT KETERANGAN BEBAS PINJAM LABORATORIUM
Nomor: 010 /P-FK/ ... /2020

Yang bertanda tangan di bawah ini, Kepala Laboratorium Biomedik Terintegrasi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang. Menerangkan bahwa:

Nama : FAHMY AMRULLAH
 NIM : 30101607644
 Progdj : Kedokteran Umum/ Farmasi/ Kebidanan/ S2-Biomedik (*
 Keterangan : Wisuda / Sumpah

Tidak memiliki tanggungan peminjaman maupun pembayaran di Laboratorium Biomedik Terintegrasi (IBL) Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

Semarang, 27 Februari 2020
 Ka. IBL FK UNISSULA

 Dina Fatmawati, M.Sc

*) Coret yang tidak perlu

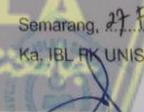
 <p>FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG Jl. Raya Kaligawe Km. 4, Semarang 50112, Jawa Tengah</p> <p>Form Surat Bebas Laboratorium</p>	No. Dokumen	FORM-SA-K-PUS-009
	Tgl Berlaku	15 September 2014
	No. Revisi	01
	Halaman	1 dari 1

SURAT KETERANGAN BEBAS PINJAM LABORATORIUM
Nomor: 010 /P-FK/ ... /2020

Yang bertanda tangan di bawah ini, Kepala Laboratorium Biomedik Terintegrasi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang. Menerangkan bahwa:

Nama : FAHMY AMRULLAH
 NIM : 30101607644
 Progdj : Kedokteran Umum/ Farmasi/ Kebidanan/ S2-Biomedik (*
 Keterangan : Wisuda / Sumpah

Tidak memiliki tanggungan peminjaman maupun pembayaran di Laboratorium Biomedik Terintegrasi (IBL) Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

Semarang, 27 Februari 2020
 Ka. IBL FK UNISSULA

 Dina Fatmawati, M.Sc

*) Coret yang tidak perlu

Lampiran 5. Surat undangan hasil ujian skripsi

	FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG <small>Jl. Raya Kaligawe Km. 4, Semarang 50112, Jawa Tengah</small>	No. Dokumen	FORM-SA-K-PPSK-019
	Surat Keterangan Pelaksanaan Ujian Hasil Penelitian Skripsi	Tgl Berlaku	01 Oktober 2013
		No. Revisi	01
		Halaman	1 dari 1

172

No. HP Mahasiswa : 0895363646696

Yang bertanda tangan di bawah ini, adalah Tim Penguji Skripsi untuk mahasiswa :

Nama	: FAHMY AMRULLAH
NIM	: 30101607644
Judul Skripsi	: uji sitotoksik ekstrak heksan daun kemangi (ocimum sanctum L) terhadap sel HeLa

Menyatakan persetujuan untuk menguji mahasiswa tersebut, pada :

Hari / Tgl	: 3 Maret 2013 / Selasa
Pukul	:
	Shift I (06.30 - 08.10) Shift II (08.10 - 09.50) Shift III (09.50 - 11.30) Shift IV (13.00 - 14.40) Shift V (14.40 - 16.40)
Tempat	: bedug (langkat)

TIM PENGUJI

1	Dina Fatmawati S.SiM,Sc	ttd :	
2	dr. Ika Rosdiana Sp.KFR	ttd :	
3	DR.dr. Chodidjah M.Kes.	ttd :	
4	Dra. Eni Widayati M.Si.	ttd :	

Catatan :

1 lembar surat keterangan ini (yang sudah ditandatangani seluruh penguji) diserahkan ke sekretariat pada saat melaporkan waktu ujian yang sudah disepakati (paling lambat 2 hari sebelum ujian). Tanpa itu, ujian bagi mahasiswa ybs tidak akan dipersiapkan.