

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL DAUN KEMANGI
(*Ocimum sanctum L.*) TERHADAP EKSPRESI PROTEIN BCL-2 PADA SEL
HELA (SEL KANKER SERVIKS)**

Skripsi

Untuk memenuhi sebagian persyaratan

Mencapai gelar Sarjana Kedokteran



Diajukan oleh:

Heaven Meuthiane

30101900095

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG
SEMARANG**

2023

SKRIPSI
**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL DAUN KEMANGI (*Ocimum sanctum*
L.) TERHADAP EKSPRESI PROTEIN BCL-2 PADA SEL HELA (SEL KANKER
SERVIKS)**

Yang dipersiapkan dan disusun oleh:

Heaven Meuthiane

30101900095

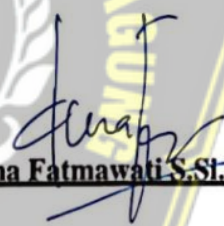
Telah dipertahankan di depan Dewan Penguji
pada tanggal 24 Maret 2023
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Susunan Tim Penguji:

Pembimbing I,


Dr. dr. Cholidah M. Kes

Anggota Tim Penguji


Dina Fatmawati S.Si., M.Sc

Pembimbing II,


Dra. Eni Widayati M.Si.


Dr. dr. Israhnanto Isradji M.Si

Semarang, 24 Maret 2023
Fakultas kedokteran Universitas Islam Sultan Agung



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

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Heaven Meuthiane

NIM : 30101900095

Dengan ini menyatakan bahwa skripsi saya yang berjudul:

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL DAUN KEMANGI

(Ocimum sanctum L.) TERHADAP EKSPRESI PROTEIN BCL-2 PADA SEL

HELA (SEL 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 menyebut sumbernya. Jika saya terbukti melakukan tindakan plagiasi, saya bersedia menerima sanksi-sanksi sesuai dengan aturan yang berlaku.

Semarang, 21 Maret 2023

Yang, menyatakan,



Heaven Meuthiane

PRAKATA

Assalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Alhamdulillahirabbilámin, segala puji syukur kepada Allah SET atas limpahan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Skripsi dengan judul “Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum sanctum L.*) Terhadap Ekspresi Protein BCL-2 Pada Sel Hela (Sel Kanker Serviks)”. Shalawat serta salam penulis haturkan pada junjungan Nabi Muhammad SAW beserta keluarga, sahabat, dan para pengikutnya yang senantiasa ikut membantu menegakkan sunnahnya.

Tujuan dari penyusunan Skripsi ini adalah untuk memenuhi tugas dan melengkapi syarat dalam menempuh serta menyelesaikan program pendidikan sarjana Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung. Pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terimakasih yang tulus dan penghargaan tertinggi kepada bapak ibu dosen, saudara, dan teman-teman yang selalu mendukung penulis menyelesaikan Skripsi. Penulis mengucapkan banyak terimakasih kepada:

1. Dr. dr. Setyo Trisnadi, S.H., Sp.KF., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
2. Dr.dr. Chodidjah M.Kes., selaku dosen pembimbing I dan ibu Dra. Eni Widayati M.Si., selaku dosen pembimbing II yang telah memberikan bimbingan dan pengarahan dengan sabar, serta memberikan kemudahan kepada penulis dalam proses pembuatan Skripsi.

3. Dina Fatmawati S.Si., M.Sc., dan Dr. Drs. Israhnanto Isradji, M.Si, selaku dosen penguji Skripsi ini yang telah berkenan memberikan pengarahan dan bimbingan berharga kepada penulis dalam penyelesaian Skripsi.
4. Suprihatin SE., MBA selaku teknisi Laboratorium parasitologi fakultas kedokteran UGM, Bagian LPPT UGM Yogyakarta, Laboratorium Kimia IBL FK UNISSULA yang telah membantu penulis.
5. dr. Alva Sinung Anindita, Sp.P.A., selaku dokter yang telah membantu penulis dalam penelitian.
6. Agustin, analis IHC laboratorium Patologi Anatomi RS Sarjito / Fakultas Kedokteran Universitas Gajah Mada.
7. Semua pihak yang terlibat secara langsung maupun tidak langsung dalam penelitian ini yang tidak dapat disebutkan satu persatu, guru dan rekan sejawat.

Penulis menyadari bahwa Skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu penulis sangat berterimakasih atas kritik dan saran yang bersifat membangun. Besar harapan saya Skripsi ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan di masa depan serta bermanfaat bagi pembaca.

Wassalamu 'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Semarang, 21 Maret 2023

Heaven Meuthiane

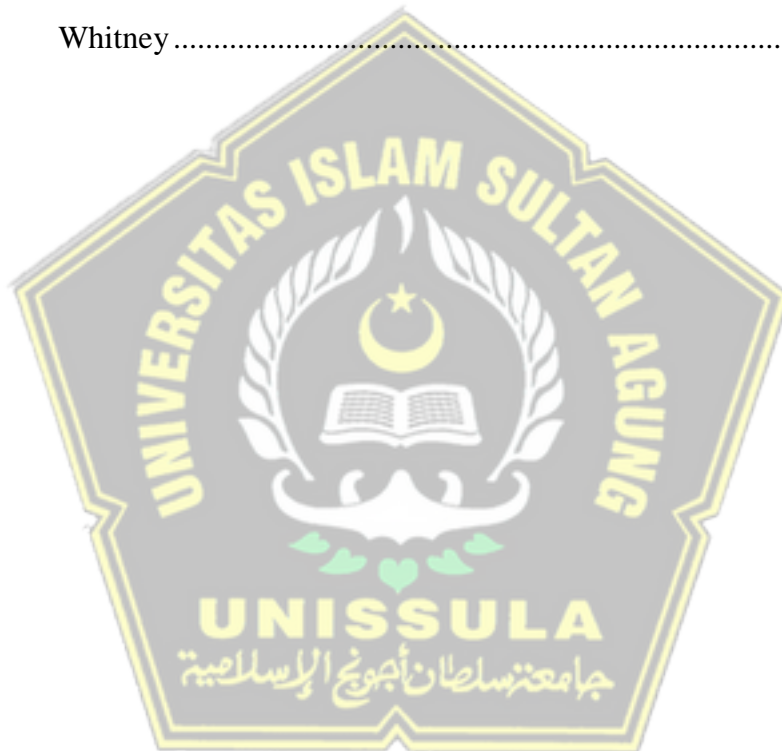
DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN	ii
SURAT PERNYATAAN.....	iii
PRAKATA.....	iv
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR TABEL.....	viii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR SINGKATAN	x
DAFTAR LAMPIRAN.....	xi
INTISARI.....	xii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Rumusan masalah.....	4
1.3. Tujuan.....	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. Protein Bcl-2.....	6
2.2. Apoptosis	7
2.3. Sel HeLa	10
2.4. Kemangi	13
2.4.1. Klasifikasi Kemangi.....	13
2.4.2. Morfologi Kemangi.....	14
2.4.3. Kandungan senyawa Kemangi (<i>Ocimum sanctum L</i>).....	15
2.5. Pengaruh Ekstrak Etanol Kemangi Terhadap Ekspresi Bcl-2 Sel Hela.....	15
2.6. Kerangka Teori.....	18

2.7. Kerangka Konsep	19
2.8. Hipotesis	19
BAB III METODE PENELITIAN	20
3.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian.....	20
3.2. Variabel dan Definisi Operasional	20
3.2.1. Variabel.....	20
3.2.2. Definisi Operasional	20
3.3. Subjek Penelitian	21
3.4. Instrumen dan Bahan Penelitian	21
3.4.1. Alat.....	21
3.4.2. Bahan	22
3.4.3. Cara penelitian	22
3.5. Tempat dan Waktu	28
3.6. Alur Penelitian.....	29
3.7. Analisis Hasil.....	30
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	31
4.1. Hasil Penelitian.....	31
4.2. Pembahasan	33
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	38
5.1. Kesimpulan.....	38
5.2. Saran.....	38
DAFTAR PUSTAKA	39
LAMPIRAN	44

DAFTAR TABEL

Tabel 3. 1	Skema Pengisian Ekspresi Bcl-2.....	25
Tabel 3. 2	Level Scoring Ekspresi Bcl-2.....	28
Tabel 4. 1	Hasil Pemeriksaan Ekspresi Bcl-2 (satuan %)	31
Tabel 4. 2	Hasil Uji Normalitas Ekspresi Bcl-2.....	32
Tabel 4. 3	Hasil Uji Kruskal Wallis Ekspresi Bcl-2.....	33
Tabel 4. 4	Hasil Analisis Post-Hoc Ekspresi Bcl-2dengan Metode Mann Whitney	33



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Perkembangan Kanker Serviks	13
Gambar 2. 2 Kerangka Teori.....	18
Gambar 2. 3 Kerangka Konsep	19
Gambar 3. 1 Alur Penelitian.....	29
Gambar 4. 1 Hasil pengecatan imunositokimia perbesaran 400 kali untuk ekspresi protein Bcl-2 pada sel Hela setelah perlakuan (a) Kelompok kontrol negatif, (b) P1, (c) P2. Sel yang mengekspresikan protein Bcl-2 ditunjukkan dengan panah warna merah.	31



DAFTAR SINGKATAN

BCL-2	: <i>B-cell lymphoma-2</i>
CIN	: <i>Cervical Intraepitelial Neoplasia</i>
P53	: <i>Protein53</i>
DNA	: <i>Deoxyribo Nucleic Acid</i>
HeLa	: <i>Henrietta Lacks</i>
HPV	: <i>Human Papilloma Virus</i>
IC ₅₀	: <i>Inhibition Concentration 50%</i>
PBS	: <i>Phospat Buffer Saline</i>
RPMI	: <i>Roswell Park Memorial Institute [medium]</i>
TCF	: <i>Transkripsi t cell factor</i>
UV	: <i>Ultraviolet</i>



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Analisis Ekspresi Bcl-2	44
Lampiran 2. Ethical Clereance	48
Lampiran 3. Surat Keterangan Bebas Pinjam Laboratorium	49
Lampiran 4. Surat Keterangan Telah Selesai Penelitian.....	50
Lampiran 5. Link Tabel Perhitungan Bcl-2 dan Ekspresi Bcl-2.....	52



INTISARI

Kanker serviks mempunyai angka mortalitas kanker yang tinggi. Pengobatan secara medis sudah banyak diupayakan, namun hingga kini masih banyak terjadi efek samping. Eksplorasi tumbuhan herbal yakni salah satu pendekatan dalam pengembangan obat-obatan herbal salah satunya yaitu daun kemangi. Pemberian ekstrak etanol daun kemangi dapat menyebabkan apoptosis dengan memodulasi baik secara langsung maupun tidak langsung terhadap ekspresi Bcl-2, p53 dan caspase. Kandungan flavonoid dapat menghambat dari kerja DNA topoisomerase yang mengatur replikasi DNA dalam sel, memodulasi signalling pathways, menurunkan ekspresi gen Bcl-2, Bcl-Xl dan meningkatkan ekspresi gen Bax dan Bak. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol daun kemangi berpengaruh terhadap ekspresi Bcl-2 pada sel HeLa.

Penelitian eksperimental dengan rancangan *Posttest-Only Control Group Design* ini menggunakan sel Hela. Pengamatan ekspresi Bcl-2 pada sel HeLa dilakukan dengan menggunakan metode pengecatan imunositokimia. Aktivitas sitotoksik ekstrak etanol daun kemangi dinyatakan dengan nilai IC_{50} yang didapatkan melalui penelitian kelompok bersama dan diperoleh nilai IC_{50} 52,94 $\mu\text{g/ml}$. Dosis yang digunakan dalam penelitian ini adalah dosis IC_{50} (52,94 $\mu\text{g/ml}$) dan dosis $\frac{1}{2} IC_{50}$ (26,47 $\mu\text{g/ml}$).

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kelompok yang mendapatkan ekstrak etanol daun kemangi dosis 26,47 $\mu\text{g/ml}$ atau $\frac{1}{2}$ dosis IC_{50} dan yang mendapatkan dosis ekstrak etanol daun kemangi dosis 52,94 $\mu\text{g/ml}$ akan mengekspresikan Bcl-2 dengan persentase lebih tinggi daripada kelompok kontrol negatif.

Berdasarkan hasil ekspresi Bcl-2 Ekstrak etanol daun kemangi dengan dosis 52,94 $\mu\text{g/ml}$ dan 26,47 $\mu\text{g/ml}$ berpengaruh terhadap ekspresi protein Bcl-2 pada sel Hela (sel kanker serviks).

Kata Kunci: Ekspresi Bcl-2, Ekstrak Etanol Daun Kemangi, Sel He

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Problematika kesehatan bukan hanya terjadi di negara maju akan tetapi, di negara berkembang juga. Kanker termasuk penyakit dengan angka mortalitas yang tinggi, salah satu diantaranya adalah kanker serviks. *World Health Organization* (WHO) melaporkan, kanker serviks yakni jenis kanker kedua yang paling lazim terjangkit oleh wanita setelah kanker payudara (WHO, 2020). Pengobatan secara medis sudah banyak diupayakan, namun hingga kini masih banyak terjadi efek samping, seperti kurang efektif untuk sel kanker yang sudah bermetastasis, kemoterapi maupun radiasi sering kali bukan hanya membunuh sel kanker dalam tubuh tetapi juga dapat membunuh sel tubuh yang sehat. Berdasarkan alasan tersebut maka perlu diupayakan dengan pengobatan alternatif yang lebih terjamin. Eksplorasi tumbuhan herbal yakni salah satu pendekatan dalam pengembangan obat-obatan herbal salah satunya yaitu daun kemangi. Ekstrak etanol daun kemangi terbukti telah menunjukkan efek anti-tumorgenik pada beberapa jenis kanker termasuk kanker lambung, kanker pankreas dan kanker paru-paru (Utispan *et al.*, 2020). Sejauh ini penelitian tentang pengaruh ekstrak etanol daun kemangi pada sel HeLa (sel kanker serviks) lewat pengamatan ekspresi Bcl-2 masih terbatas sehingga perlu riset lebih lanjut.

Masalah kesehatan kritis yang mempengaruhi seluruh dunia yaitu kanker serviks. Setiap tahun terdapat 300.000 kematian serta 600.000 kasus

baru diseluruh dunia (Ge'e *et al.*, 2021). Hampir 570.000 insiden baru kanker serviks dilaporkan pada tahun 2018, terhitung mewakili 7,5% dari total kematian terkait kanker pada wanita. Kanker serviks menduduki urutan tertinggi di negara berkembang dan urutan ke 10 di negara maju, urutan ke 5 secara global. Di Indonesia, kanker serviks menduduki urutan kedua dari 10 kanker terbanyak berdasarkan data dari Patologi Anatomi tahun 2010 dengan insiden sebesar 12,7%. Berdasarkan Riset Kesehatan Dasar tahun 2013, estimasi jumlah penderita kanker serviks dan kanker payudara di Indonesia bahwa provinsi Jawa Timur, Jawa Tengah dan Jawa Barat memiliki estimasi tertinggi dalam jumlah penderita kanker serviks dan kanker payudara (Pusat Data dan Informasi Kementerian, 2015). Insiden dan mortalitas kanker pada wanita di Indonesia terus meningkat, salah satunya yaitu kanker serviks, sekitar 0,8% per 1000 penduduk (Ge'e *et al.*, 2021). Untuk menekan peningkatan insiden dan mortalitas kanker serviks maka diperlukan senyawa untuk mengatasi hal tersebut dan dipakai sebagai agen kemopreventif dengan eksplorasi hasil bahan alam untuk mencegah maupun mengobati kanker serviks.

Sejauh ini sudah banyak penelitian yang dilakukan untuk menunjukkan bahwa ekstrak daun kemangi memiliki aktivitas sitotoksik yang mampu menghambat pertumbuhan sel kanker. Pemberian ekstrak etanol daun kemangi dapat menyebabkan apoptosis dengan memodulasi baik secara langsung maupun tidak langsung terhadap ekspresi Bcl-2, p53 dan caspase (Sri Rahayu *et al.*, 2021). Ekstrak etanol daun kemangi terbukti

memiliki pengaruh yang signifikan terhadap enzim metabolisme karsinogen (Wihadmadyatami *et al.*, 2019). Selain itu, ekstrak etanol daun kemangi dapat menurunkan ekspresi protein yang terlibat dalam proliferasi sel dan juga menghambat invasi, angiogenesis karsinoma lambung serta menghambat metastasis dari kanker (Utispan *et al.*, 2020). Pada penelitian yang dilakukan Mariadi *et al.*, (2021) ekstrak etanol flavonoid vincenin-2 pada daun kemangi mampu menurunkan aktivitas proliferasi pada sel kanker kolorektal dengan menahan siklus sel, dalam penelitian tersebut ditemukan peningkatan ekspresi Cytochrome C, Bax, caspase-3 dan terhambatnya ekspresi Bcl-2. Pada penelitian yang dilakukan Wihadmadyatami (2019) ekstrak etanol daun kemangi dapat menginduksi apoptosis pada sel adenokarsinoma paru-paru (A549) melalui jalur intrinsik mitokondria, dengan peningkatan rasio protein Bax proapoptosis dan supresi Bcl-2 antiapoptosis yang berperan pada aktivasi p53. Penelitian Dhandayuthapani (2015) juga menyatakan bahwa ekstrak etanol daun kemangi dapat menghambat proliferasi dan protein terkait angiogenesis melalui modulasi penurunan ekspresi Bcl-2 pada sel kanker prostat. Penelitian yang dilakukan Graidist *et al.*, (2015) bahwa flavonoid dapat menghambat kerja DNA topoisomerase yang mengatur replikasi DNA dalam sel, memodulasi *signalling pathways*, menurunkan ekspresi gen Bcl-2, Bcl-Xl dan meningkatkan ekspresi gen Bax dan Bak pada sel kanker payudara. Namun demikian, pengaruh pemberian ekstrak etanol daun kemangi terhadap ekspresi Bcl-2 pada sel Hela belum terbukti dan masih

jarang dilakukan, sehingga diharapkan pemberian ekstrak etanol daun kemangi dapat menurunkan ekspresi Bcl-2 pada sel HeLa.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol daun kemangi berpengaruh terhadap ekspresi Bcl-2 pada sel HeLa. Jika penelitian ini terbukti, diharapkan ekstrak etanol daun kemangi dapat dipakai sebagai agen kemopreventif dalam mencegah maupun mengobati kanker serviks. Penelitian dilakukan pada kultur sel HeLa dengan pemberian ekstrak etanol daun kemangi. Pengamatan ekspresi protein Bcl-2 dilakukan dengan metode imunositokimia. Penelitian ini merupakan penelitian kelompok bersama dengan judul “Efek Sitotoksik Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum sanctum*) Terhadap Sel HeLa (Sel Kanker Serviks)” yang salah satunya meneliti dosis IC_{50} yang selanjutnya akan diterapkan pada penelitian ini.

1.2. Rumusan masalah

Apakah pemberian ekstrak etanol daun kemangi dapat berpengaruh pada ekspresi protein Bcl-2 pada sel HeLa?

1.3. Tujuan

1.3.1. Tujuan Umum

Mengetahui pengaruh ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum sanctum L.*) terhadap ekspresi Bcl-2 sel kanker serviks HeLa.

1.3.2. Tujuan Khusus

1.3.2.1. Membandingkan persentase ekspresi Bcl-2 pada sel HeLa pada kelompok perlakuan dosis $\frac{1}{2} IC_{50}$ dan IC_{50} ekstrak

etanol daun kemangi dan kelompok yang tidak diberi perlakuan.

1.3.2.2. Mengetahui level *scoring* yang lebih kuat antara dosis $\frac{1}{2}$ IC₅₀ dan IC₅₀ ekstrak etanol daun kemangi terhadap ekspresi Bcl-2 pada sel HeLa.

1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1. Manfaat teoritis

Hasil penelitian ini bisa dijadikan dasar pengembangan penelitian lebih lanjut mengenai efek ekstrak etanol daun kemangi sebagai antikanker terhadap sel kanker pada sel HeLa.

1.4.2. Manfaat praktis

Penelitian ini bisa dijadikan dasar ilmiah untuk pemanfaatan bahwa ekstrak etanol daun kemangi sebagai antikanker.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Protein Bcl-2

Fungsi utama keluarga protein Bcl-2 yaitu untuk secara langsung mengontrol permeabilitas membran mitokondria serta mengatur faktor apoptosis dari ruang antar membran ke dalam sitoplasma. Protein Bcl-2 merupakan protein yang memiliki peran penting dalam regulasi apoptosis atau dikenal juga sebagai kematian *cell* terprogram (Amir, 2014). Keluarga Bcl-2 dapat dipisahkan menjadi tiga kelompok berdasarkan fungsi utamanya (1) protein antiapoptosis (BFL-1/A1, Bcl-2, MCL-1, Bcl-W, MCL-1, Bcl-XL), (2) pembentuk proapoptosis (BOK, BAK, BAX) serta (3) protein hanya BH3 proapoptosis (HRK, NOXA, PUMA BAD, BID, BIK, BIM, BMF, dll) (Kale *et al.*, 2018). Kematian *celluler* ditentukan oleh keseimbangan antara berbagai anggota protein pada kelompok tersebut. B-*cell* limfoma/gen leukemia-2 (Bcl-2) yaitu protein antiapoptosis yang berinteraksi serta diatur oleh gen supresor tumor p53 yang yakni bagian dari sistem regulasi yang mengontrol siklus *cell* serta induksi apoptosis (Rahmani *et al.*, 2012). Bcl-2 bersifat antiapoptosis karena dapat menghambat dari hilangnya potensial membran mitokondria sehingga tidak dapat menginisiasi jalur apoptosis intrinsik (Rodwell *et al.*, 2015). Penurunan dari aktivitas Bcl-2 akan menyebabkan peningkatan dari apoptosis. Bcl-2, sebaliknya, dapat menekan aktivitas caspase dengan cara berikatan dengan apoptosis activating factor (APAF-1), yang menghentikan

pelepasan mitokondria Cytochrom-c (Susanto *et al.*, 2018). Mutasi Bcl-2 pada *cell* kanker dapat mengakibatkan peningkatan sifat, yang dapat memblokir tindakan biasa protein proapoptosis. Aktivasi Bcl-2 dengan inaktivasi p53 atau hilangnya fungsi dapat mendorong perkembangan *cell* tumor metastatik (Arumugam *et al.*, 2017).

Dalam keadaan normal ekspresi Bcl-2 dipicu oleh tekanan seluler seperti kerusakan DNA (melalui p53), infeksi virus, kesalahan lipat protein, dan stress oksidatif (Fujimoto, 2008). Hipoksia pada mitokondria menyebabkan menurunnya protein Bcl-2 sebagai protein yang mempertahankan permeabilitas membran luar mitokondria (Hidayat *et al.*, 2011), ketika sel kehilangan sinyal untuk bertahan hidup atau mengalami stress, Bcl-2 akan hilang atau dinonaktifkan dari membran mitokondria dan digantikan dengan *family* proapoptosis. Bcl-2 menjalankan fungsi pemacu tumor dengan menghambat pensinyalan proapoptosis daripada secara langsung mendorong proliferasi sel sehingga membuat rasio Bcl-2 meningkat ketika apoptosis sel dihambat (Arianto *et al.*, 2016). Modifikasi pasca-translasi (PTM) dari protein keluarga Bcl-2 memiliki peran dalam mengatur interaksinya. PTM dapat memengaruhi stabilitas, lokalisasi dan fungsi keluarga Bcl-2 dan dapat mendorong atau menghambat apoptosis (Kale *et al.*, 2018).

2.2. Apoptosis

Sebagai bagian dari proses reguler perkembangan *cell*, apoptosis yaitu metode untuk mengatur proliferasi *cell* yang diikuti dengan kematian

cell terprogram saat terjadi kerusakan DNA yang tidak dapat diperbaiki. Kematian *cell* yang terprogram yakni respon *cell* terhadap berbagai stimulus yang ditandai dengan perubahan morfologis serta biokimia, atau biasa disebut dengan apoptosis. Perubahan morfologis pada apoptosis yaitu pemampatan kromatin atau kondensasi serta fragmentasi nuklear yang terjadi pada inti *cell*. Kromatin rusak *cell*ama karyohexis, tahap pertama apoptosis, meskipun membran *cell* masih utuh. Membran menonjol, organel sitoplasma diubah, serta integritas membran hilang pada tahap akhir apoptosis. Sesertagkan *cell* fagosit dapat mendeteksi perubahan membran, aktivasi caspase, degradasi DNA serta protein *cell*, serta perubahan biokimia lainnya *cell*ama apoptosis (Sari, 2018). Gen-gen yang terlibat dalam tumorigenesis secara langsung mengatur proliferasi *cell* serta mengatur *cell* yang terprogram untuk apoptosis serta terlibat dalam perbaikan DNA yang rusak. Tergantung pada bagaimana mereka mempengaruhi setiap proses, gen ini dapat disebut sebagai supresor tumor (penghambat pertumbuhan), protoonkogen (peningkat pertumbuhan) atau gen antiapoptosis (menghambat apoptosis)

Apoptosis dapat terjadi baik melalui jalur intrinsik (mitokondria) maupun ekstrinsik (*death receptors* di permukaan *cell*). Pada jalur ekstrinsik, proses apoptosis dapat dipicu oleh *cell* yang mensifatkan *death receptor* seperti *tumor-nerocis factor* (TNF) yang mengandung *death receptor* pada sitoplasmanya sehingga dapat terjadi hubungan dengan protein lain yang memiliki andil dalam penonaktifan *cell*, Ligan Fas (FasL)

yang dapat bersifat terhadap limfosit T yang aktif sehingga saat *cell* T mengetahui target yang membuat Fas maka akan disambung oleh FasL serta mengikat protein adaptor dengan *death receptor* (Kumar *et al.*, 2016). Ketika molekul Fas serta domain kematian sitoplasma bergabung, tempat pengikatan dibuat untuk protein adaptor FADD (Fas Associated Death Domain), yang kemudian berikatan dengan caspase-8 yang tidak aktif serta menempel pada reseptor kematian, menyebabkan protein procaspase-8 menjadi mengurangi serta mengaktifkan caspase-8 (Ishmatullah *et al.*, 2021).

Jalur yang kedua yaitu jalur intrinsik yang diinisiasi melalui mitokondria, yang diregulasi oleh anggota kelompok Bcl-2. Jalur intrinsik dapat dipicu oleh rangsangan stress di dalam *cell*, seperti kerusakan DNA atau oksigen reaktif. Saat *cell* mengalami stress serta terjadi penurunan dari kadar Bcl-2 maka akan terjadi kenaikan dari permeabilitas membran mitokondria serta aktivasi protein proapoptosis. Serta dapat meningkatkan protein yang meningkatkan cascade caspase. Sitokrom-c, protein yang dibutuhkan untuk respirasi mitokondria, merupakan salah satu protein yang meningkat. Chytpchrom-c berhubungan bersama Apaf-1 (Apoptosis Activating Factor-1) di sitoplasma serta memicu caspase-9 (Sari, 2018). Kadar p53 yang meningkat dapat megaktifkan transkripsi gen-gen secara kecelluruhan sehingga transit di sepanjang siklus *cell* dapat tertunda. *Cell* kanker dapat mengelakkan apoptosis apabila hilangnya fungsi protein proapoptosis atau oversifat dari protein antiapoptosis, sehingga dapat

memberikan keuntungan bagi *cell* kanker untuk terus membelah serta melanjutkan pertumbuhannya. *Cell* kanker memiliki kemampuan untuk mengelak apoptosis melalui mutasi yang dapat menyebabkan kemampuan proapoptosis kehilangan fungsinya serta oversifat dari antiapoptosis. P53 yaitu gen yang sering kali termutasi pada kanker. Berbagai rangsangan seperti kerusakan DNA, UV, hipoksia, *heat shock*, aktivasi onkogen serta obat sitotoksik dapat mengaktifkan gen p53. Respon p53 dimulai dari penghentian siklus *cell*, apoptosis, perbaikan serta diferensiasi DNA melalui aktivasi transkripsi dari target gen spesifik yang membawa *binding sites* p53 DNA (Rodwell *et al.*, 2015).

Keharmonisan fungsi protein pro- serta anti-apoptosis menentukan aktivitas enzim caspase. Caspase inisiator serta caspase efektor memainkan peran berbeda dalam apoptosis. Molekul utama dari inisiator caspase yaitu caspase-8, yang memicu apoptosis melalui jalur ekstrinsik serta caspase-9 melalui jalur intrinsik. Sementara itu, di antara caspase efektor, caspase-3 yaitu yang paling mendominasi (-3, -6, -7). Selain memastikan bahwa apoptosis efektif serta sensitif, caspase-3 juga dapat mencegah pembentukan ROS (Ishmatullah *et al.*, 2021).

2.3. Sel HeLa

Cell HeLa berbeda dengan *cell* serviks normal karena merupakan *cell* serviks atau *cell* kanker yang dibawa oleh infeksi Human Papillomavirus (HPV). E6 serta E7 yaitu dua onkogen yang disifatkan oleh *cell* HeLa yang terinfeksi HPV. Pada HPV, faktor onkogen E6 serta E7 dapat

mengubah ketidakstabilan genom, yang dapat menyebabkan degenerasi fenotip ganas. Protein penekan tumor p53 serta pRb dapat dihambat oleh adanya protein E6 serta E7, yang dapat menyebabkan *cell* menjadi imortal serta tidak dapat dikendalikan. Protein p53 diikat oleh onkogen E6 akibatnya tumor supresor gen p53 tidak memiliki fungsi yang semestinya, proses transkripsi pada p53 serta proses apoptosis mampu terhambat. Onkogen E7 mengikat pRb sehingga dapat menyebabkan lepasnya ikatan dari faktor transkripsi yang mengakibatkan siklus *cell* berjalan tanpa terkontrol serta *cell* menjadi immortal (Evriarti & Yasmon, 2019). Sel HeLa bersifat immortal yang tidak dapat mati karena tua dan dapat membelah secara tidak terbatas selama kondisi dasar sel masih tetap ada (Ismiyati & Nurhaeni, 2016). Sel HeLa telah mengalami transformasi akibat infeksi HPV 18 dan berbeda dengan sel serviks yang normal.

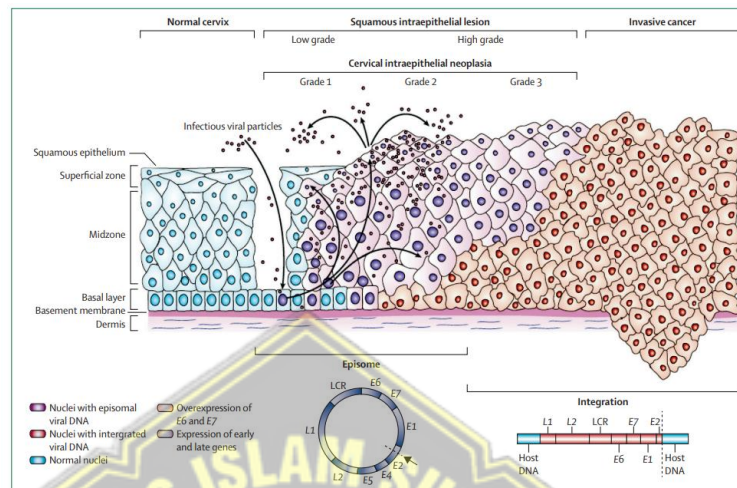
Sel Hela diturunkan dari sel epitel kanker serviks (kanker leher rahim) manusia. Insiden kanker serviks sebenarnya dapat ditekan dengan melakukan upaya penghindaran faktor risiko terkena kanker serviks. Adapun faktor risiko terjadinya kanker serviks yang telah dibuktikan antara lain: hubungan aktivitas seksual, karakteristik partner, riwayat ginekologis, dietilstilbesterol (DES), agen infeksius, HPV, virus herpes simpleks, merokok. Infeksi HPV (*Human Papilloma Virus*) diketahui memainkan peran penting dalam perkembangan kanker serviks (Wiranata *et al.*, 2015). HPV tipe 16 dan 18 sering kali dihubungkan dengan displasia berat yang jarang diikuti dengan regresi dan biasanya progresit menjadi karsinoma

insitu. Infeksi HPV yang presisten dapat berkembang menjadi *Cervical Intraepithelial Neoplasia* (CIN) (Evriarti & Yasmon, 2019).

Kanker serviks menjalani tahapan karsinogenesis pada pembentukannya dan membutuhkan waktu bertahun-tahun dari sel sehat ke sel prakanker dan akhirnya menjadi sel kanker. Waktu perkembangan yang panjang ini tergantung pada infeksi HPV dan faktor imun (respon HPV-*specific T-cell*, presentasi antigen) yang menyebabkan terjadinya genom dari sel yang terinfeksi berubah (Lilieek Pratiwi *et al.*, 2022).

HPV dapat menyebabkan sel-sel epitel pada serviks mengalami abrasi atau luka, sel epitel normal (warna sel biru) sel yang terluka inilah yang dapat menjadi pintu masuknya HPV ke sel-sel epitel pada bagian basal. Infeksi HPV mulai menyebar saat sel-sel mengalami deferensiasi sel (sel epitel warna pink dengan inti ungu). Saat menginfeksi sel basal, HPV menggabungkan genomnya ke sel host (sel warna jingga dengan inti merah) yang menyebabkan gen E2 virus kehilangan sebagian lengan kromosomnya (delesi). Delesi pada gen E2 menyebabkan oncoprotein E6 dan E7 overekspresi sehingga berujung pada terbentuknya kanker serviks (Evriarti & Yasmon, 2019). Infeksi HPV Virus HPV akan menginisiasi ekspresi gen yang mengkode protein strukturalnya atau kapsid virus yaitu protein akhir kapsid utama L1 dan protein kapsid minor L2. Protein L2 berperan sebagai pembungkus genom virus dan protein L1 berperan membentuk kapsid pada bagian luar virus (Chen *et al.*, 2016). Kemudian, virus HPV akan eksositosis

melewati membran plasma dari dalam ke luar sel untuk menginfeksi sel lain yang belum terinfeksi (non-litik) (Evriarti & Yasmon, 2019).



Gambar 2.1 Perkembangan Kanker Serviks

2.4. Kemangi

Kemangi yaitu tumbuhan yang dapat berkembang liar serta dapat dicari di kebun maupun di pinggir jalan. Kemangi termasuk dalam tumbuhan tahunan yang dapat tumbuh di tempat yang terbuka serta tidak tahan terhadap kekeringan serta harus berada di tanah yang lembab untuk bisa tumbuh (Berlian *et al.*, 2016). Tumbuhan kemangi (*Ocimum sanctum L.*) yakni tumbuhan yang dapat melakukan penyerbukan sendiri (*cellf pollination*), kemangi yakni tumbuhan dengan bunga bagus yang mempunyai benang sari serta putik atau biasa disebut dengan tumbuhan hermafrodit (Zahra & Iskandar, 2017).

2.4.1. Klasifikasi Kemangi

Kingdom : Plantae

Subkingdom : Tracheobionta
Superdivisi : Spermatophyta
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnliopsida
Subkelas : Asteridae
Ordo : Lamiales
Famili : Lamiaceae
Genus : Ocimum
Spesies : O. sanctum L.

(Pitojo, 1996)

2.4.2. Morfologi Kemangi

Tumbuhan kemangi memiliki batang tegak serta bercabang. Cabang dan batang kemangi memiliki warna kasertag atau hijau sampai memiliki warna ungu pucat. Tumbuhan kemangi mempunyai tinggi yang bermacam-macam sekitar 45 hingga 75 cm. Daunnya memiliki warna hijau berbentuk lenset (lanceolate) hingga benbentuk bundar telut (ovate) dan lapisan yang berombak ataupun rata (Agarwal *et al.*, 2013). Daun kemangi memiliki panjang 4 hingga 6 cm dengan lebar 4,49 cm serta berluaskan 4 hingga 13 cm. Daun kemangi biasanya bergigi serta mengandung banyak kelenjar minyak yang menyimpan minyak atsiri (Guntur *et al.*, 2021). Umumnya bunga tumbuhan kemangi berwarna putih hingga merah muda (Zahra & Iskandar, 2017).

2.4.3. Kandungan senyawa Kemangi (*Ocimum sanctum L*)

Daun kemangi memiliki berbagai macam zat yang terkandung, salah satunya yaitu kimia aktif, antara lain: flavonoid, saponin, fenolik, alkaloid, tanin, lignin, terpenoid, karbohidrat, fitosterol, antrakuinon, pati serta minyak atsiri (Larasati & Apriliana, 2016). Minyak atsiri daun kemangi, yang memiliki kandungan 70% eugenol serta 20% metil eugenol, merupakan zat yang paling banyak ditemukan. Zat fenolik yang dikenal sebagai eugenol diduga dapat mengurangi radikal bebas. Flavonoid dan zat fenolik lainnya diduga memiliki sifat anti radikal bebas yang serupa (Erviana *et al.*, 2016). Asam amino aromatik fenilalanin, tirosin, dan malonat digunakan oleh tanaman untuk membuat flavonoid. Flavonoid pada tumbuhan jarang ditemukan dalam bentuk tunggal melainkan dalam bentuk campuran. Suatu golongan bahan kimia yang larut dalam air yang dikenal sebagai flavonoid (Haeria, Hermawati, 2016).

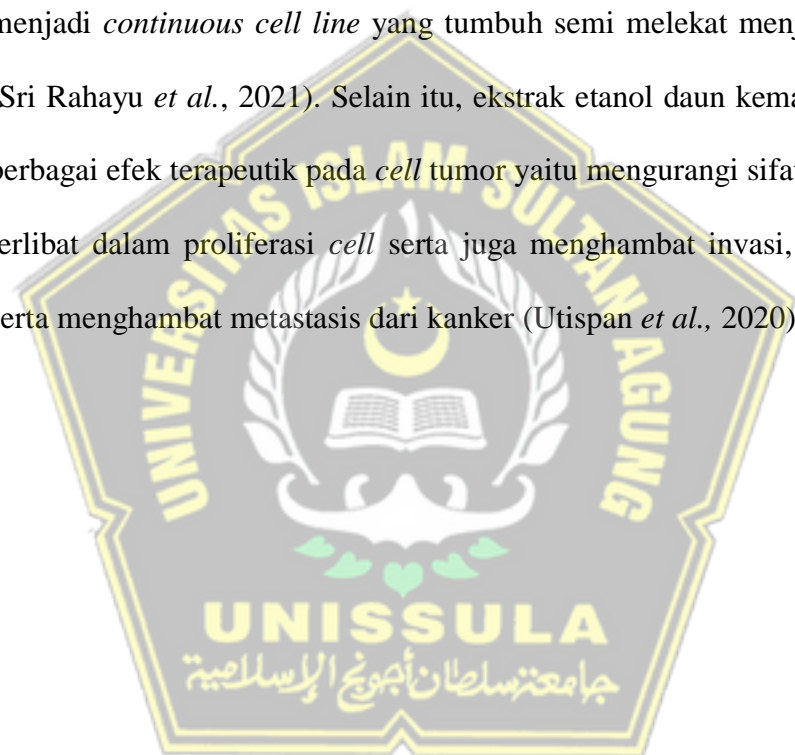
2.5. Pengaruh Ekstrak Etanol Kemangi Terhadap Ekspresi Bcl-2 Sel HeLa

Sel HeLa merupakan sel kanker dengan ciri sel produktif, sifat p53 yang buruk, dan kadar Bcl-2 yang tinggi (Sutedjo *et al.*, 2016). Pembuatan ekstrak menggunakan pelarut etanol 96% dimaksudkan agar semua senyawa kimia baik polar, semipolar sampai kurang polar dapat terekstraksi semaksimal mungkin. Selain itu, pelarut etanol dapat menghalangi kerja enzim yang mana mampu mengelak proses oksidasi serta hidrolisis (Erviana *et al.*, 2016). Secara umum, etanol mampu mengekstrak, flavonoid,

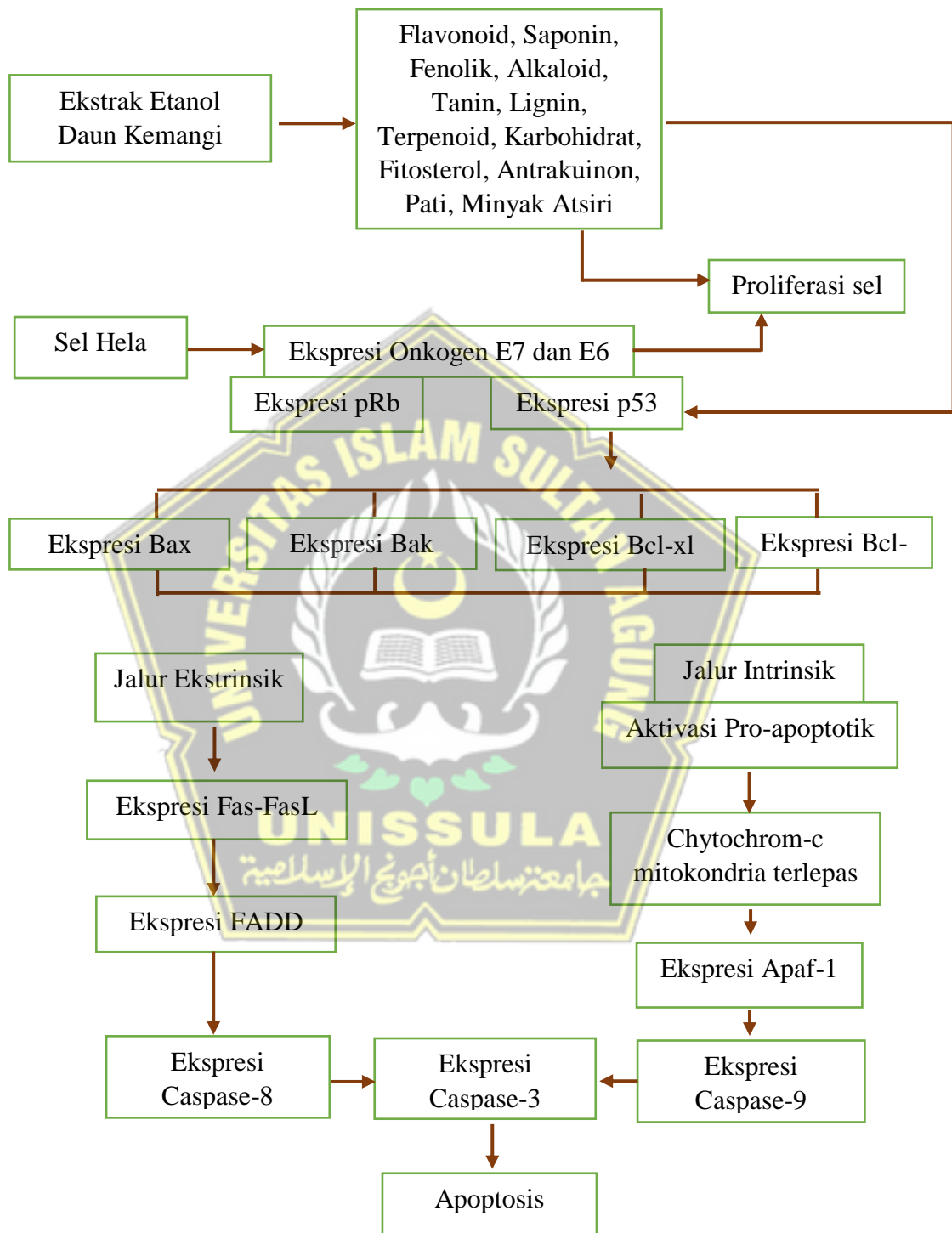
antrakuinon, glikosida alkaloid, sterol, dan saponin. Penggunaan pelarut etanol dapat melarutkan bahan kimia turunan fenolik sehingga memiliki aksi antioksidan. Gugus polar (OH) dan gugus non-polar (OH) adalah dua gugus fungsional yang ada dalam etanol kimia (R). Flavonoid dapat menangkap radikal bebas dengan menyumbangkan ion H^+ sehingga reaksi radikal bebas yang akan merusak *cell* normal dapat dihentikan (Husain *et al.*, 2019). Ekstrak etanol yang diperoleh dengan mengekstraksi daun kemangi dengan pelarut etanol 96% dengan metode maserasi, melalui maserasi cairan penyari akan menembus dinding sel simplisia dan akan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Prinsip ekstraksi dengan metode maserasi adalah terjadinya proses difusi larutan penyari ke dalam sel tumbuhan yang mengandung senyawa aktif. Difusi tersebut mengakibatkan tekanan osmosis dalam sel menjadi berbeda dengan keadaan di luar sel. Zat aktif akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif yang ada di dalam sel dan di luar sel, sehingga larutan yang pekat akan terdesak keluar (Hanni Endarin, 2016).

Menurut beberapa penelitian, menunjukkan bahwa ekstrak daun kemangi memiliki aktivitas sitotoksik mampu menghambat pertumbuhan sel kanker. Ekstrak daun kemangi memiliki sifat sitotoksik yang dapat menghentikan pertumbuhan sel kanker. Ekstrak etanol daun kemangi pada beberapa riset telah menunjukkan efek anti-tumorgenik pada beberapa jenis kanker termasuk kanker lambung, kanker pankreas serta kanker paru-paru (Utispan *et al.*, 2020). Daun kemangi memiliki kandungan 70% eugenol

dan 20% metyl eugenol. Eugenol adalah senyawa fenolik yang di percaya dapat menurunkan radikal bebas. Senyawa fenolik lain yang dipercaya juga dapat mengurangi radikal bebas yaitu flavonoid (Erviana *et al.*, 2016). Pemberian ekstrak etanol daun kemangi dapat menyebabkan apoptosis dengan memodulasi baik secara langsung maupun tidak langsung terhadap ekspresi Bcl-2, p53 dan caspase pada sel pra kanker serviks sebelum menjadi *continuous cell line* yang tumbuh semi melekat menjadi sel HeLa (Sri Rahayu *et al.*, 2021). Selain itu, ekstrak etanol daun kemangi memiliki berbagai efek terapeutik pada *cell* tumor yaitu mengurangi sifat protein yang terlibat dalam proliferasi *cell* serta juga menghambat invasi, angiogenesis serta menghambat metastasis dari kanker (Utispan *et al.*, 2020).



2.6. Kerangka Teori



Gambar 2. 2 Kerangka Teori

2.7. Kerangka Konsep



Gambar 2. 3 Kerangka Konsep

2.8. Hipotesis

Pemberian ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum sanctum L.*) berpengaruh pada ekspresi protein Bcl-2 pada sel HeLa.



BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini yakni jenis penelitian eksperimental dengan rancangan penelitian *Posttest-Only Control Group Design* terhadap sel HeLa (sel kanker serviks). Perlakuan yang diberikan yakni pemberian ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum sanctum L.*) terhadap sel HeLa.

3.2. Variabel dan Definisi Operasional

3.2.1. Variabel

3.2.1.1. Variabel Bebas

Dosis ekstrak etanol daun kemangi

3.2.1.2. Variabel Tergantung

Ekspresi Bcl-2 sel HeLa

3.2.2. Definisi Operasional

3.2.2.1. Ekstrak Etanol Daun Kemangi

Ekstrak etanol daun kemangi yakni diperoleh dengan mengekstraksi daun kemangi memakai etanol 96% melalui cara maserasi. Penambahan ekstrak etanol daun kemangi pada sel HeLa dilakukan dengan 3 variasi dosis yaitu P1 (Hela + Media + Ekstrak etanol IC₅₀), P2 (Hela+ Media +Ekstrak etanol ½ IC₅₀) dan kontrol negatif (Hela + Media) tanpa ditambahkan ekstrak etanol 96% daun kemangi. Dosis

diberikan pada masing-masing kelompok sebanyak tiga well, satuan pengukuran dosis yang digunakan mikrogram/ml.

Skala : nominal.

3.2.2.2. Ekspresi Bcl-2

Pengamatan ekspresi Bcl-2 pada sel HeLa dilakukan dengan pengecatan imunositokimia dan ditetapkan berdasarkan persentase banyaknya jumlah sel yang positif mengekspresikan Bcl-2 per lapang pandang terhadap total sel yang diamati dikalikan 100%.

Skala : rasio.

3.3. Subjek Penelitian

Populasi serta sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah kultur sel HeLa yang diperoleh dari tempat penyimpanan kultur di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran, Kesehatan Masyarakat dan Keperawatan UGM dengan kerapatan 2×10^4 sel/sumuran.

3.4. Instrumen dan Bahan Penelitian

3.4.1. Alat

- a. Lemari es pendingin (National NR-B22AF Deodorizer), penyampur (Thermolyne Maxi Mix II), Inkubator CO₂ (Heraeus HERAcell), lemari *laminar air flow* (Lobconco Purifier Class II Biosafety Cabinet), gelas objek (*Sail Brserta*®), plat mikrokultur 96 sumuran (SPL®), Mikropipet 20, 200, 1000 µL (Gilson®), Vortex, *Cover slip* (NUNC®), mikroskop cahaya

(Nikon YS100), tip kuning, putih serta biru, botol kaca steril 250 ml (Schott-Duran®), *Beaker glass* 1 L (Pyrex®).

3.4.2. Bahan

- a. Bahan utama yaitu daun kemangi dan larutan etanol 96 % (Merck).
- b. Bahan untuk pengamatan ekspresi Bcl-2 : larutan Mayer-Hematoxilin, etanol absolut, xylol, etelen, Antibodi anti Bcl-2, streptavidin (HRP), DAB, H₂O, larutan Hidrogen Peroksida (H₂O₂), Antibodi primer (*anti-Bcl2*) (Biocare®), metanol, PBS, aquades.

3.4.3. Cara penelitian

1. Pembuatan Serbuk Kemangi dan Pembuatan Ekstrak Etanol Kemangi

Daun kemangi sebanyak 300 gram yang telah diidentifikasi dicuci bersih dengan air mengalir. Setelah itu, dilakukan sortirasi (pemilihan) lalu dikeringkan dalam oven dengan suhu 40°C. Daun kering dihaluskan dan diayak menggunakan mesh 40 lalu ditimbang sebanyak 123 gram, dimaserasi dengan 500 ml etanol 96% diaduk dan didiamkan selama 72 jam pada suhu kamar. Larutan atau filtrat kemudian disaring dan dikumpulkan (filtrat 1). Kemudian ampas atau supernatan dilakukan remaserasi menggunakan 500 ml etanol 96% selama 72 jam dengan sesekali diaduk. Kemudian

ditampung lagi filtratnya (filtrat 2). Kemudian filtrat I dan II dikumpulkan kemudian diuapkan menggunakan rotary evapor, sehingga mendapatkan ekstrak kental daun kemangi. Bobot ekstrak kental yang didapatlan sebanyak 9,9 gram.

$$\begin{aligned}\text{Randemen \%} &= \frac{\text{Bobot Ekstrak}}{\text{Bobot Simplisia}} \times 100 \% \\ &= \frac{9,9 \text{ gram}}{123 \text{ gram}} \times 100 \% \\ &= 8,05\%\end{aligned}$$

2. Thawing Sel HeLa

Setelah dikeluarkan dari tank N₂ cair, sel ditaruh pada penangas air di temperatur 37° C hingga dicairkan, dan selanjutnya alkohol 80% disemprotkan ke atasnya. Sel-sel kemudian ditempatkan pada tabung centrifugasi dengan 10 mL media serum RPMI dan disentrifugasi selama 5 menit pada 1200 rpm. Endapan dicampur dengan serum RPMI 1640 setelah supernatan dibuang. Setelah didiamkan selama 20 menit, sel sekali lagi disentrifugasi selama 5 menit pada 1200 rpm. Satu mililiter disimpan untuk resuspensi setelah supernatan dibuang. TCF diisi menggunakan tempat pertumbuhan yang memiliki kandungan 20% FBS dan suspensi sel, setelah itu sel diperiksa di bawah mikroskop terbalik. Wadah isi *cell* ditaruh di inkubator CO₂ pada temperature 37°C dan penutup dibuka.

3. Kultur Sel HeLa

Inverted microscop digunakan untuk memantau sel, dan media pertumbuhan baru ditambahkan setiap hari. Sel-sel tersebar di antara banyak TCF jika pertumbuhan sel berwarna kuning. Tempat terdahulu dihilangkan serta *cell* yang terhubung disemprot dengan lembut dengan tempat baru selama teknik ini, yang dilakukan dalam aliran udara laminar. Suspensi sel yang diperoleh ditambahkan ke TCF dan disimpan dengan penutup TCF sedikit terbuka pada suhu 37°C dalam inkubator CO₂.

4. Plating Dan Pemberian Perlakuan Sel Hela

Setelah sel cukup, sel HeLa dipanen, dan media terus menerus disemprot dengan pipet Pasteur sampai sel lepas dari dinding TCF. Media kemudian diubah menjadi media RPMI segar. Sel-sel yang dibebaskan ditaruh di tabung centrifugasi dengan RPMI 1640, disentrifugasi selama 10 menit pada 1200 rpm. Supernatan dibuang, dan 1 mL media ditambahkan agar dilakukan suspensi sel ulang. Kemudian ditempatkan pada inkubator CO₂ 37°C. Kepadatan *cell* ditentukan melalui penumpulan 20 L suspensi sel dan menghitung sel dengan hemositometer di *microspoe* kontras. Total *cell* dihitung menggunakan pengalihan variabel pengenceran dan 104/mL. (Grandgirard *et al.*, 2002). Hitung kerapatan sel hingga mencapai 2×10^4 sel/100 L, kemudian distribusikan ke dalam

wells 96-well plate dan inkubasi selama 24 jam untuk adaptasi dan adhesi.

Setiap well pada pelat mikrokultur diisi dengan suspensi sel hela, dan sel dikultur dalam inkubator CO₂ di temperatur 37°C selama 24 jam. kemudian, tempat untuk masing-masing lubang dikeluarkan dan ditukar menggunakan tempat baru yang memiliki FBS 10%, serta sel diperlakukan secara tepat. Mikrokultur kemudian dikultur selama 24 jam lagi dalam inkubator 37°C CO₂.

5. Uji Ekspresi Bcl-2

Pengecatan imunositokimia untuk Bcl-2 dilakukan dengan menggunakan plat mikrokultur 96 sumuran. Total sumuran terbagi 3 baris (C, B, A). Di masing-masing baris memiliki 3 sumur (3, 2, 1). Rangkaian isi mikrokultur dapat dibaca pada tabel 3.

Tabel 3. 1 Skema Pengisian Ekspresi Bcl-2

	1	2	3
A	P1	P1	P1
B	P2	P2	P2
C	KN	KN	KN

Keterangan:

- P1 : *HeLa* + Media + Ekstrak etanol IC₅₀
 P2 : *HeLa* + Media + Ekstrak etanol ½ IC₅₀
 KN : *HeLa* + Media

Sampel *cell* hela yang telah diberi dosis kemudian dimasukkan ke dalam 300 ml metanol dingin selama 10 menit sebelum dibuang dengan mikropipet. Sel-sel selanjutnya dibersihkan 2 kali dengan PBS, setiap kali menggunakan 500 ml PBS, dan PBS dihilangkan dengan mikropipet. Sel kemudian dibersihkan dua kali dengan air suling, setiap kali menggunakan 500 ml air suling dan membuang air suling dengan mikropipet, sebelum menambahkan 300 ml larutan H₂O₂ (dengan perbandingan H₂O 1:9) hingga 5-10 menit dan membuang larutan hidrogen peroksida.

Setelah itu, sel-sel pada setiap pelat mikrokultur (baris A-C) diinkubasi hingga 1 hari di temperatur 4°C menggunakan antibodi primer (melawan Bcl-2). Sel kemudian dicuci dua kali dengan 500 ml PBS sebelum dibuang. Kemudian, *cell* dicampur dengan antibodi sekunder serta diinkubasi hingga 20 menit pada suhu kamar. Sel-sel selanjutnya dibersihkan dua kali menggunakan 500 ml PBS. Sel-sel kemudian diperlakukan dengan 100 ml streptavidin (HRP), diinkubasi hingga 10 menit di temperatur ruangan, serta dibilas dua kali dengan 500 ml PBS, setiap kali hingga 5 menit. Selanjutnya *cell* dicampur dengan 100 µL DAB serta diinkubasi hingga 2 menit atau berhenti saat berwarna coklat, kemudian dibilas menggunakan 500 µL akuades hingga dua kali. Setelah itu, taruh *cell* hingga 5

menit di 100 ml hematoxylin mayer, lalu cuci dengan air suling hingga murni (hingga warna biru lenyap). Kemudian, masukkan *cell* ke dalam etanol 100%, lalu xylol, dan dikeringkan. *Cell* tersebut kemudian diakhiri menggunakan etelen dan dihalangi menggunakan dek kaca. Mikroskop cahaya digunakan untuk melakukan pengamatan.

6. Penentuan Ekspresi Bcl-2

Ekspresi Bcl-2 ditentukan dengan menggunakan pengamatan kualitatif. Warna coklat menunjukkan ekspresi Bcl-2 dan warna ungu menunjukkan tidak terdapat ekspresi Bcl-2. Persentase diperoleh dengan mengalikan jumlah sel positif Bcl-2 per bidang peserta dengan 100%. Persentase kualitas Bcl-2 di 5 bidang representatif di area paling representatif dihitung. Pembacaan dilakukan oleh satu *expert* tanpa blind, dimana pengamat mengetahui kode kelompok yang diperiksa. Perhitungan level *scoring* ekspresi Bcl-2 digunakan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum sanctum L.*) terhadap sel Hela.

$$\% \text{ Ekspresi Bcl-2} = \frac{\text{Sel yang berwarna coklat}}{\text{Total sel satu lapang pandang}} \times 100 \%$$

7. Penentuan Level Scoring

Penentuan level scoring mengacu pada penelitian Bhutani et al., (2021) ; Adhikari *et al.*, (2022) yang dimodifikasi. Pola ekspresi Bcl-2 yang diamati pada penelitian ini meliputi ekspresi

pada nukleus, sitoplasma, membran maupun kombinasi ketiganya. Level scoring terhadap ekspresi Bcl-2 ditetapkan hanya dari kelompok perlakuan P1 dan P2. Penentuan level scoring ditetapkan berdasarkan nilai persentase ekspresi Bcl-2 dengan kaidah sebagai berikut:

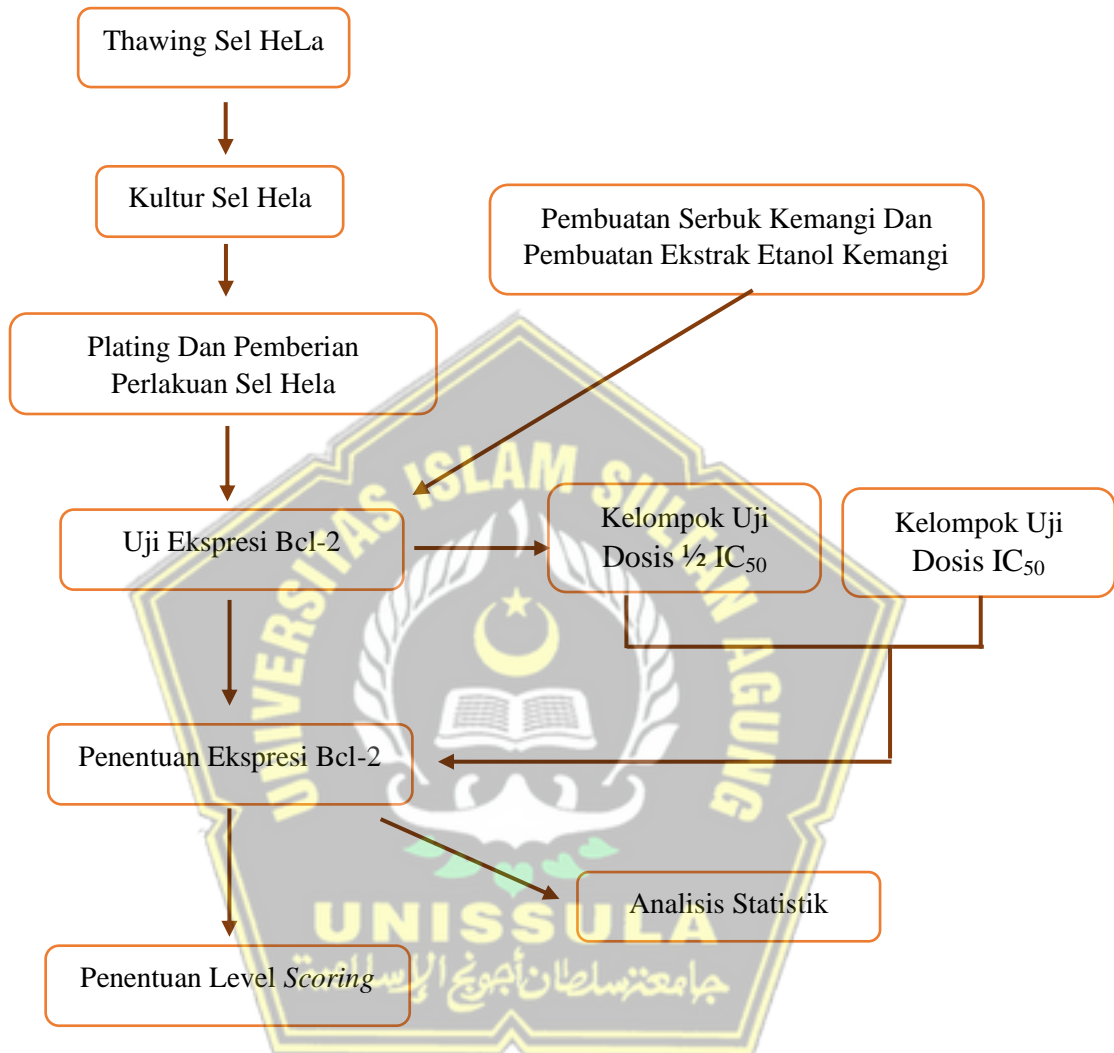
Tabel 3. 2 Level *Scoring* Ekspresi Bcl-2

% Ekspresi Bcl-2 pada sel Hela	Grade	Interpretasi Kemampuan Menghambat Proliferasi sel
>30%	1+ (<i>poor</i>)	Kuat
31-70%	2+ (<i>moderate</i>)	Sedang
71-100%	3+ (<i>strong</i>)	Lemah

3.5. Tempat dan Waktu

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kimia FK Unissula, Laboratorium Parasitologi UGM Yogyakarta dan Laboratorium Patologi Anatomi UGM Yogyakarta pada bulan oktober sampai dengan Maret 2023.

3.6. Alur Penelitian



Gambar 3. 1 Alur Penelitian

3.7. Analisis Hasil

Analisis data memakai aplikasi SPSS versi 23 *for Windows*. Data yang didapatkan pada penelitian ini, jumlah sampel yang digunakan kurang dari 50, sehingga uji normalitas yang digunakan adalah uji *Shaphiro–Wilk*, serta dikatan terdistribusi normal apabila Sig (p-value) $\geq 0,05$. Uji statistik yang akan digunakan adalah uji statistik non parametrik, yaitu uji *Kruskal-Wallis*. Rerata perbedaan antar kelompok ditentukan berdasarkan nilai Sig (p-value), dimana nilai p-value $< 0,05$ dikatakan tidak beda bermakna. Untuk mengetahui perbedaan antar 2 kelompok perlakuan ditetapkan melalui uji *Mann-Whitney*.



BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

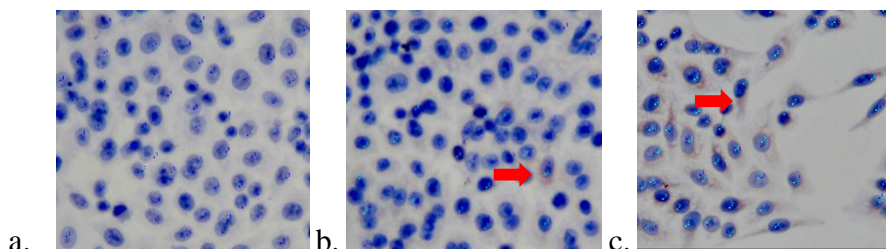
4.1. Hasil Penelitian

Tabel 4. 1 Hasil Pemeriksaan Ekspresi Bcl-2 (satuan %)

Kelompok	Rerata Ekspresi Bcl-2 (Satuan %)
Kontrol Negatif	3,6
P1	42
P2	69

Berdasarkan Tabel 4.1 menunjukkan bahwa secara deskriptif ekspresi Bcl-2 pada kelompok P1 sebesar 42% dan kelompok P2 sebesar 69% yang lebih tinggi dari pada kelompok kontrol negatif yaitu 3,6%, sedangkan pada kelompok P1 lebih rendah dari pada kelompok P2.

Data yang didapatkan berupa persentase sel yang mengekspresikan protein Bcl-2 (terlihat warna coklat pada nukleus, sitoplasma, membran maupun kombinasi ketiganya), sel yang mengekspresikan protein Bcl-2 ditunjukkan dengan panah warna merah. Hasil pengecatan imunositokimia untuk protein Bcl-2 pada sel Hela tampak pada gambar 4. 1.



Gambar 4. 1 Hasil pengecatan imunositokimia perbesaran 400 kali untuk ekspresi protein Bcl-2 pada sel Hela setelah perlakuan (a) Kelompok kontrol negatif, (b) P1, (c) P2. Sel yang

mengekspresikan protein Bcl-2 ditunjukkan dengan panah warna merah.

Berdasarkan Gambar 4. 1 distribusi sel Hela tidak merata pada kelompok P2, dimana jumlah sel Hela pada kelompok P2 lebih sedikit dibandingkan dengan jumlah sel pada kelompok P1.

Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol daun kemangi terhadap sel Hela, selanjutnya dilakukan uji beda rerata ekspresi Bcl-2 antar kelompok yang didahului uji normalitas dan uji homogenitas varian.

Pada penelitian ini, jumlah sampel yang digunakan kurang dari 50, sehingga uji normalitas yang digunakan adalah uji *Shaphiro–Wilk* yang hasilnya disajikan pada tabel 4.2.

Tabel 4. 2 Hasil Uji Normalitas Ekspresi Bcl-2

Kelompok	Signifikansi (p)
Kontrol Negatif	0,000
P1	0,194
P2	0,006

Dari hasil uji normalitas didapatkan nilai p pada kelompok kontrol negatif ($p = 0,000$) dan kelompok $\frac{1}{2}$ dosis IC_{50} ($p = 0,006$) $< 0,05$ yang menunjukkan distribusi datanya tidak normal. Pada kelompok dosis IC_{50} didapatkan nilai $p > 0,05$ ($p = 0,194$) yang menunjukkan distribusi datanya normal.

Berdasarkan hasil uji normalitas yang menunjukkan distribusi data tidak normal, sehingga tidak dilakukan uji homogenitas, dan selanjutnya untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol daun kemangi dan

perbedaan ekspresi Bcl-2 antar kelompok dilakukan uji Kruskal Wallis dan Mann whitney, yang hasilnya ditunjukkan pada tabel 4.3.

Tabel 4. 3 Hasil Uji Kruskal Wallis Ekspresi Bcl-2

Kelompok	Rerata	Nilai <i>p</i>
K	0,04	< 0,001
P1	0,42	
P2	0,69	

Dari hasil uji kruskal wallis didapatkan nilai $p= 0,001 (< 0,05)$ yang menunjukkan bahwa terdapat perbedaan signifikan rerata persentase ekspresi Bcl-2 antar berbagai kelompok atau paling tidak terdapat dua kelompok yang mempunyai rerata ekspresi Bcl-2 yang berbeda secara signifikan. Untuk mengetahui perbedaan yang signifikan antar 2 kelompok selanjutnya dilakukan uji Mann-whitney.

Tabel 4. 4 Hasil Analisis *Post-Hoc* Ekspresi Bcl-2 dengan Metode *Mann Whitney*

Kelompok	Rerata	Nilai <i>p</i>
KN vs P1	0,42	0,01
KN vs P2	0,69	0,00
P1 vs P2	0,27	0,00

Dari tabel 4.4 menunjukkan bahwa rerata persentase ekspresi Bcl-2 antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok P1, kelompok kontrol negatif dengan kelompok P2 dan antara kelompok P1 dan P2 terdapat perbedaan signifikan ($p = < 0,05$).

4.2. Pembahasan

Kanker serviks adalah merupakan keempat yang paling umum pada perempuan. Diperkirakan 570.000 perempuan didiagnosis menderita kanker

serviks di seluruh dunia dan sekitar 311.000 perempuan meninggal akibat penyakit tersebut pada tahun 2018 (WHO, 2018). Data Kementerian Kesehatan RI menunjukkan bahwa insidensi kanker serviks di Indonesia adalah sekitar 90-100 kasus per 100.000 penduduk atau sekitar 40.000 kasus baru setiap tahunnya dengan tingkat kematian sebesar 10,3% (Komite Penanggulangan Kanker Nasional, 2018). Meskipun pengobatannya melalui operasi, kemoterapi, dan radioterapi telah berkembang pesat, angka morbiditas dan mortalitas kanker serviks masih relatif tinggi. Hal ini menunjukkan perlunya eksplorasi suatu metode pengobatan alternatif atau komplementer baru, salah satunya pendekatan fitofarmaka menggunakan ekstrak daun kemangi.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kelompok yang mendapatkan ekstrak etanol daun kemangi dosis 26,47 $\mu\text{g/ml}$ atau $\frac{1}{2}$ dosis IC_{50} dan yang mendapatkan dosis ekstrak etanol daun kemangi dosis 52,94 $\mu\text{g/ml}$ akan mengekspresikan Bcl-2 dengan persentase lebih tinggi yaitu 69% dan 42% daripada kelompok kontrol negatif yang memiliki persentase 3,6%, sehingga ekstrak etanol daun kemangi dosis 26,47 $\mu\text{g/ml}$ atau $\frac{1}{2}$ dosis IC_{50} dan dosis 52,94 $\mu\text{g/ml}$ atau dosis IC_{50} berpengaruh terhadap ekspresi Bcl-2 pada sel Hela (sel kanker serviks). Perbedaan ekspresi Bcl-2 pada kelompok perlakuan dan kontrol negatif dipengaruhi oleh perbedaan rerata jumlah sel tiap lapang pandang dan jumlah sel yang terpulsa positif mengekspresikan Bcl-2, rerata jumlah total sel pada kelompok kontrol negatif yaitu 134 sel dengan 5 sel yang terpulsa positif mengekspresikan

Bcl-2, kelompok perlakuan dosis IC_{50} yaitu 94 sel dengan 32 terpulus positif mengekspresikan Bcl-2 dan kelompok dengan $\frac{1}{2}$ dosis IC_{50} 72 sel dengan rerata sel yang terpulus positif mengekspresikan Bcl-2 yaitu 49 sel.

Pada uji sitotoksik IC_{50} didapat pada dosis IC_{50} 52,94 $\mu\text{g/ml}$ viabilitas sel hela 50% kematian sel hela ini dimungkinkan tidak melewati jalur intrinsik dengan menghambat Bcl-2 tetapi melewati jalur ekstrinsik. Sehingga level *scoring* pengaruh ekstrak etanol daun kemangi terhadap persentase Bcl-2 dalam kemampuan menghambat proliferasi sel untuk dosis IC_{50} dan $\frac{1}{2}$ dosis IC_{50} (rerata persentase ekspresi Bcl-2 31-70%) termasuk kategori sedang.

Salah satu kandungan dari ekstrak etanol daun kemangi adalah flavonoid, flavonoid mampu menghambat Bcl-2 melalui jalur pensinyalan p53 yang merupakan target dari apoptosis, pada dosis ini ada perbedaan kadar flavonoid yang dapat meningkatkan antiapoptosis Bcl-2. Peran flavonoid dalam kelas yang berbeda memiliki mekanisme yang berbeda dalam memodulasi sel. Seperti kandungan pada salah satu kelas flavonoid yaitu Eupatilin yang mampu membalikkan apoptosis pada sel PC12 dengan meningkatkan ekspresi Bcl-2, menghambat protein Bax dan caspase-3 dinonaktifkan serta mencegah stres oksidatif pada garis sel PC12 (Rahman *et al.*, 2021). Menurut Marie Hardwick *et al.* (2013) antiapoptosis dapat menekan kematian sel dengan mengganggu kedua subkategori proapoptosis. Protein keluarga Bcl-2, protein multidominan dan protein BH3 saja.

Adanya perbedaan ekspresi Bcl-2 secara bermakna dapat dilihat dari hasil uji bahwa rerata persentase ekspresi Bcl-2 antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok P1, kelompok kontrol negatif dengan kelompok P2 dan antara kelompok P1 dan P2. Saat kedua dosis tersebut dibandingkan, didapatkan bahwa ekspresi Bcl-2 pada kelompok yang mendapatkan ekstrak daun kemangi dengan dosis 26,47 µg/ml secara signifikan lebih besar daripada kelompok yang mendapatkan ekstrak daun kemangi dengan dosis 52,94 µg/ml. Hal ini menunjukkan bahwa pengaruh pemberian ekstrak etanol daun kemangi dengan dosis 26,47 µg/ml lebih tinggi terhadap ekspresi Bcl-2 pada sel HeLa.

Secara teori, ekstrak daun kemangi mengandung senyawa kimia eugenol, cyclohexane, 1,2,4-triethene, dan caryophyllene. Efek anti kanker senyawa-senyawa tersebut dikaitkan dengan mengganggu interaksi karsinogen dengan DNA seluler, mengubah jalur pensinyalan intraseluler sebagai akibat dari mencegah perkembangan sel yang dimulai melalui perubahan pra-neoplastik menjadi sel ganas, menghambat angiogenesis, menyebabkan penghentian siklus sel, dan menginduksi apoptosis (Brito *et al.*, 2022), (Jang *et al.*, 2022). Ekstrak daun *Ocimum sanctum L* juga secara signifikan mengurangi degenerasi deoksiribosa yang diinduksi radikal hidroksil (OH), sehingga mencegah terbentuknya radikal bebas yang menjadi salah satu senyawa utama dalam tumorigenesis (Hasan *et al.*, 2023). Mekanisme lain yang dilaporkan adalah ekstrak daun kemangi dapat menghambat matriks metalloprotease serta mempengaruhi enzim

metabolisme karsinogen sitokrom P450, sitokrom b5, dan aril hidrokarbon hidroksilase, sehingga mendorong terjadinya apoptosis sel kanker (Koeduka *et al.*, 2006).

Berbeda dengan kedua penelitian tersebut, Sharma *et al.* (2016) melaporkan tidak ada efek nyata dari ekstrak *Ocimum sanctum L* dan analognya pada sel kanker hati manusia (HepG2). Selain itu, konsentrasi eksperimental 100 µg/mL tidak menunjukkan aktivitas yang signifikan dalam meningkatkan persentase sel mati (dengan hanya 41%) atau penurunan viabilitas dengan paparan jangka panjang. Diduga kandungan orientin maupun analognya menjadi non-sitotoksik terhadap HepG2 jika digunakan sebagai senyawa murni (Sharma *et al.*, 2016).

Penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan. Pertama, peneliti tidak menganalisis parameter lain yang mendukung efek anti kanker yang ditunjukkan, misalnya tingkat apoptosis, sehingga tidak terdapat data lain yang dapat digunakan untuk mendukung atau mengkonfirmasi hasil pengukuran ekspresi Bcl-2 selain itu juga peneliti hanya berfokus terhadap apoptosis jalur intrinsik Bcl-2 sehingga belum mengetahui efek ekstrak etanol daun kemangi jika dilihat jalur ekstrinsik apoptosis. Kedua, peneliti hanya menggunakan kontrol negatif saja dan Bcl-2 tidak terekspresi, sehingga tidak dapat membandingkan ekspresi Bcl-2 dengan kelompok dosis 52,94 µg/ml dan 26,47 µg/ml. Ketiga, pada penelitian ini belum dikaji tentang uji proliferasi flowcytometry dan hanya menggunakan satu pengamat.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

1. Ekstrak etanol daun kemangi dengan dosis 52,94 $\mu\text{g/ml}$ dan 26,47 $\mu\text{g/ml}$ berpengaruh terhadap ekspresi Bcl-2 pada sel Hela (sel kanker serviks).
2. Terdapat perbedaan persentase ekspresi Bcl-2 pada dosis 52,94 $\mu\text{g/ml}$ yaitu 42%, dosis $\frac{1}{2}$ IC_{50} (26,47 $\mu\text{g/ml}$) yaitu 69% dan kelompok kontrol negatif 3,6%.
3. Level *scoring* pengaruh ekstrak etanol daun kemangi terhadap persentase ekspresi Bcl-2 pada dosis IC_{50} dan dosis $\frac{1}{2}$ IC_{50} termasuk kategori sedang.

5.2. Saran

Uji proliferasi menggunakan metode uji *flowcytometry* atau metode lainnya selain ICC.

DAFTAR PUSTAKA

- Adhikari, A., & De, M. (2022). Chapter 8 - Correlation between oral cancer and betel quid: A molecular cytogenetics study. In S. Joshi, S. Mukherjee, & M. Nag (Eds.), *Contemporary Medical Biotechnology Research for Human Health* (pp. 73–78). Academic Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-323-91251-8.00017-9>
- Agarwal, C., L, S. N., & S, G. L. (2013). an Analysis of Basil (*Ocimum Sp.*) To Study the. *Indian Journal of Fundamental and Applied Life Sciences*, 3(3), 521–525.
- Arianto, B., Hadiati, D. R., & Nurdianti, D. S. (2016). PERBANDINGAN RERATA EKSPRESI Bcl-2 DAN Bcl-XL PADA PREEKLAMSI BERAT DAN KEHAMILAN NORMOTENSI. *Jurnal Kesehatan Reproduksi*, 2(2), 77–84. <https://doi.org/10.22146/jkr.12639>
- Arumugam, J., Jeddy, N., Ramamurthy, A., & Thangavelu, R. (2017). The expression of Bcl-2 in oral squamous cell carcinoma - A review. *Journal of Orofacial Sciences*, 9(2), 71–74. https://doi.org/10.4103/jofs.jofs_88_16
- Berlian, Z., Aini, F., & Lestari, W. (2016). AKTIVITAS ANTIFUNGI EKSTRAK DAUN KEMANGI (*Ocimum americanum L.*) TERHADAP FUNGI *Fusarium oxysporum* Schlecht. *Jurnal Biota*, 2(1), 99–105.
- Bhutani, N., Poswal, P., Moga, S., & Arora, S. (2021). Immunohistochemical expression of bcl-2; an apoptosis regulatory protein in squamous cell carcinoma of oropharynx: A diagnostic cross-sectional study: IHC expression of bcl-2 in oropharyngeal SCC. *Annals of Medicine and Surgery*, 67(April), 102480. <https://doi.org/10.1016/j.amsu.2021.102480>
- Brito, L. D., Araujo, C. de S., Cavalcante, D. G. S. M., Gomes, A. S., Zocoler, M. A., Yoshihara, E., Job, A. E., & Kerche, L. E. (2022). In vivo assessment of antioxidant, antigenotoxic, and antimutagenic effects of bark ethanolic extract from *Spondias purpurea L.* *Journal of Toxicology and Environmental Health. Part A*, 85(8), 336–352. <https://doi.org/10.1080/15287394.2021.2013373>
- Cancer, I. A. for R. on. (2018). Latest global cancer data: Cancer burden rises to 18.1 million new cases and 9.6 million cancer deaths in 2018. *Press Release, September*, 13–15.
- Chen, Z., Jing, Y., Wen, Q., Ding, X., Zhang, S., Wang, T., Zhang, Y., & Zhang, J. (2016). L1 and L2 gene polymorphisms in HPV-58 and HPV-33: implications for vaccine design and diagnosis. *Virology Journal*, 13(1), 1–12. <https://doi.org/10.1186/s12985-016-0629-9>
- Dhandayuthapani, S., Azad, H., & Rathinavelu, A. (2015). Apoptosis Induction by *Ocimum sanctum* Extract in LNCaP Prostate Cancer Cells. *Journal of Medicinal Food*, 18(7), 776–785. <https://doi.org/10.1089/jmf.2014.0008>

- Dr. Sri.Rahayu, S.Si.T., M., & Iting, SKp., M. B. (2021). Analisis Efek Ekstrak Daun Kemangi Terhadap Pra Kanker Serviks. In *ثقفثقث* *ثقفثقث* (Issue ثقفثقث). penerbit Yayasan Barcode.
- Erviana, L., Malik, A., & Najib, A. (2016). Uji Aktivitas Antiradikal Bebas Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum basilicum L.*) Dengan Menggunakan Metode DPPH. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 3(2), 164–168. <https://doi.org/10.33096/jffi.v3i2.217>
- Ervianti, P. R., & Yasmon, A. (2019). Patogenesis Human Papillomavirus (HPV) pada Kanker Serviks. *Jurnal Biotek Medisiana Indonesia*, 8(1), 23–32. <https://doi.org/10.22435/jbmi.v8i1.2580>
- Fujimoto. (2008). 基因的改变 NIH Public Access. *Bone*, 23(1), 1–7. <https://doi.org/10.1111/nyas.12045>. Getting
- Ge'e, M. E., Lebuan, A., & Purwarini, J. (2021). Hubungan antara Karakteristik, Pengetahuan dengan Kejadian Kanker Serviks. *Jurnal Keperawatan Silampari*, 4(2), 397–404. <https://doi.org/10.31539/jks.v4i2.1668>
- Graidist, P., Martla, M., & Sukpondma, Y. (2015). Cytotoxic activity of Piper cubeba extract in breast cancer cell lines. *Nutrients*, 7(4), 2707–2718. <https://doi.org/10.3390/nu7042707>
- Grandgirard, J., Poinot, D., Krespi, L., Nénon, J. P., & Cortesero, A. M. (2002). Costs of secondary parasitism in the facultative hyperparasitoid *Pachycrepoideus dubius*: Does host size matter? *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 103(3), 239–248. <https://doi.org/10.1023/A>
- Guntur, A., Selena, M., Bella, A., Leonarda, G., Leda, A., Setyaningsih, D., Dika, F., & Riswanto, O. (2021). Kemangi (*Ocimum basilicum L.*): Kandungan Kimia, Teknik Ekstraksi, dan Uji Aktivitas Antibakteri. *J.Food Pharm.Sci*, 2021(3), 513–528. www.journal.ugm.ac.id/v3/JFPA
- Haeria, Hermawati, P. A. (2016). Penentuan kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun bidara. *Journal of Pharmaceutical and Medical Sciences*, 1(2), 57–61.
- Hanni Endarin, L. (2016). *Farmakognisi dan Fitokimia*. 1–228.
- Hasan, M. R., Alotaibi, B. S., Althafar, Z. M., Mujamammi, A. H., & Jameela, J. (2023). An Update on the Therapeutic Anticancer Potential of *Ocimum sanctum L.*: “Elixir of Life.” *Molecules*, 28(3), 1193. <https://doi.org/10.3390/molecules28031193>
- Hidayat, A., Wiradisastra, K., Herwono, B. S., & Achmad, T. H. (2011). Ekspresi Bcl-2 dan Caspase-3 Pascapaparan Hipoksia Hipobarik Intermitten Bcl-2 and Caspase-3 Expression Post Exposure of Intermittent Hypobaric Hypoxia. *Mkb*, 43(4), 166–170.
- Husain, N., Bina, L. S., & Eti, S. (2019). *AKTIVITAS ANTIOKSIDAN dan*

PENETAPAN KADAR FLAVONOID FRAKSI ETIL ASETAT EKSTRAK ETANOL HERBA KEMANGI (Ocimum americanum L.).

- Ishmatullah, M. H., Megantara, S., Levita, J., Farmasi, S. S., Farmasi, F., Padjadjaran, U., Bandung-sumedang, J. R., Analisis, D., Medisinal, K., Farmasi, F., Padjadjaran, U., Bandung-sumedang, J. R., Farmakologi, D., Farmasi, F., & Padjadjaran, U. (2021). *Jurnal Ilmiah Farmako Bahari CASPASE: REVIEW OF THE OTHER ROLES IN APOPTOSIS, THE CHARACTER OF THE CATALYTIC SITE, AND THE INTERACTIONS WITH SUBSTRATES AND THEIR INHIBITORS KARAKTER KANTUNG KATALITIK, SERTA INTERAKSI*. 183–191.
- Ismiyati, N., & Nurhaeni, F. (2016). EFEK EKSTRAK ETANOL DAUN KEMANGI (*Ocimum sanctum L.*) SEBAGAI AGEN KEMOPREVENTIF PADA SEL KANKER LEHER RAHIM HELA MELALUI AKTIVITAS SITOTOKSIK DAN INDUKSI APOPTOSIS THE EFFECT OF *Ocimum sanctum L.* LEAVES ETHANOLIC EXTRACT AS A CHEMOPREVENTIVE AGENT IN H. *Media Farmasi*, 13(1), 35–48. <http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:dTw09n0h9F8J:journal.uad.ac.id/index.php/Media-Farmasi/article/download/5741/3099+&cd=1&hl=en&ct=clnk&gl=id>
- Jang, J. Y., Sung, B., & Kim, N. D. (2022). Role of Induced Programmed Cell Death in the Chemopreventive Potential of Apigenin. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(7). <https://doi.org/10.3390/ijms23073757>
- Kale, J., Osterlund, E. J., & Andrews, D. W. (2018). BCL-2 family proteins: Changing partners in the dance towards death. *Cell Death and Differentiation*, 25(1), 65–80. <https://doi.org/10.1038/cdd.2017.186>
- Komite Penanggulangan Kanker Nasional. (2018). *PANDUAN PENATALAKSANAAN KANKER SERVIKS*. Jakarta.
- Koeduka, T., Fridman, E., Gang, D. R., Vassão, D. G., Jackson, B. L., Kish, C. M., Orlova, I., Spassova, S. M., Lewis, N. G., Noel, J. P., Baiga, T. J., Dudareva, N., & Pichersky, E. (2006). Eugenol and isoeugenol, characteristic aromatic constituents of spices, are biosynthesized via reduction of a coniferyl alcohol ester. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(26), 10128–10133. <https://doi.org/10.1073/pnas.0603732103>
- Kumar, V., Abbas, A. k., & Aster, J. C. (2016). Robbins Basic Phatology. In *Elsevier*.
- Larasati, D. A., & Apriliana, E. (2016). Efek Potensial Daun Kemangi (*Ocimum basilicum L.*) sebagai Pemanfaatan Hand Sanitizer. *Jurnal Majority*, 5(5), 124–129. <http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:YrD2YIWQUfEJ:juke.kedokteran.unila.ac.id>

- Liliek Pratiwi, M.KM Harnanik Nawangsari, S.ST., M. K. (2022). *Kanker Serviks (Sudut Pandang Teori dan Penelitian)* (p. 100). CV Jejak. https://play.google.com/store/books/details/Liliek_Pratiwi_M_KM_Harnanik_Nawangsari_S_ST_M_Keb?id=52dhEAAAQBAJ
- Mariadi, I. K., Ocimum, L., & Linn, C. (2021). *POTENSI EKSTRAK DAUN KEMANGI (OCIMUM SANCTUM L.) DAN KUNYIT (CURCUMA LONGA L.) TERHADAP TERAPI KANKER KOLOREKTAL Program Studi Sarjana Kedokteran dan Profesi Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Departemen Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universi*. 10(8), 1–7.
- Marie Hardwick, J., & Soane, L. (2013). Multiple functions of BCL-2 family proteins. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 5(2), 1–22. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a008722>
- Pitojo, S. (1996). Karakterisasi Fraksi Aktif Antioksidan dari Ekstrak Etanol Biji Kemangi (*Ocimum Basilicum L.*). *Jurnal Kimia VALENSI*, 1(1), 39–49. <https://doi.org/10.15408/jkv.v0i0.3598>
- Pusat Data dan Informasi Kementerian. (2015). Situasi Penyakit Kanker. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53(9), 1689–1699.
- Rahman, N., Khan, H., Zia, A., Khan, A., Fakhri, S., Aschner, M., Gul, K., & Saso, L. (2021). Bcl-2 modulation in p53 signaling pathway by flavonoids: A potential strategy towards the treatment of cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(21). <https://doi.org/10.3390/ijms222111315>
- Rahmani, A., Alzohairy, M., Babiker, A. Y., Rizvi, M. A., & Elkarimahmad, H. G. (2012). Clinicopathological significance of PTEN and bcl2 expressions in oral squamous cell carcinoma. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, 5(9), 965–971.
- Rodwell, V. W., Bender, D. A., Botham, K. M., Kennelly, P. J., & Weil, A. P. (2015). *Harper's Illustrated Biochemistry Edition 30*.
- Sari, L. M. (2018). Apoptosis: Mekanisme Molekuler Kematian Sel. *Cakradonya Dental Journal*, 10(2), 65–70. <https://doi.org/10.24815/cdj.v10i2.11701>
- Sharma, P., Prakash, O., Shukla, A., Rajpurohit, C. S., Vasudev, P. G., Luqman, S., Srivastava, S. K., Pant, A. B., & 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 & High Throughput Screening*, 19(8), 656–666. <https://doi.org/10.2174/1386207319666160709192801>
- Susanto, T. H., Maryono, S., & Purwanto, B. (2018). PENGARUH EKSTRAK PROPOLIS TERHADAP EKSPRESI PROTEIN Bcl2, p21, DAN INDUKSI APOPTOSIS PADA SEL HELA. *Biomedika*, 9(2). <https://doi.org/10.23917/biomedika.v9i2.5837>
- Sutedjo, I. R., Putri, H., & Meiyanto, E. (2016). EKSTRAK ETANOLIK AWAR-

AWAR (*Ficus septica*) SEBAGAI AGEN KEMOPREVENTIF SELEKTIF PADA BERBAGAI MACAM SEL KANKER (ETHANOLIC LEAVES EXTRACT OF AWAR-AWAR (*Ficus septica*) AS SELECTIVE CHEMOPREVENTIVE AGENT ON VARIOUS CANCER CELLS). *NurseLine Journal*, 1(2).

Utispan, K., Niyomtham, N., Yingyongnarongkul, B. E., & Koontongkaew, S. (2020). Ethanolic Extract of *Ocimum sanctum* Leaves Reduced Invasion and Matrix Metalloproteinase Activity of Head and Neck Cancer Cell Lines. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 21(2), 363–370. <https://doi.org/10.31557/APJCP.2020.21.2.363>

WHO. (2020). *and Scaling-Up Services for the Management of Invasive Cervical Cancer*. https://www.who.int/health-topics/cervical-cancer#tab=tab_1S,

Wihadmadyatami, H., Karnati, S., Hening, P., Tjahjono, Y., Rizal, Maharjanti, F., Kusindarta, D. L., Triyono, T., & Supriatno. (2019). Ethanolic extract *Ocimum sanctum* Linn. induces an apoptosis in human lung adenocarcinoma (A549) cells. *Heliyon*, 5(11), e02772. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02772>

Wiranata, J. A., Saraswati, W., & Mulawardhana, P. (2015). Gambaran Faktor Risiko Pasien Kanker Serviks Di Rsud Dr. Soetomo Surabaya. *JUXTA: Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kedokteran Universitas Airlangga*, 7(1), 41–47.

Zahra, S., & Iskandar, Y. (2017). Review Artikel: Kandungan Senyawa Kimia dan Bioaktivitas *Ocimum Basilicum* L. *Farmaka*, 15(3), 143–152.

