

**EFEK PEMBERIAN EKSTRAK MASERASI DAN SOKLETASI  
DAUN SALAM, DAUN SIRIH MERAH DAN KOMBINASINYA  
TERHADAP HSP70 DAN ROS PADA SEL KANKER  
SERVIKS HELA CCL-2**

**TUGAS AKHIR  
Untuk Memenuhi Persyaratan  
Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi**



Oleh:

**Yitania Sari**

**105070500111014**

**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG**

**2014**

DAFTAR ISI

Judul.....	i
Halaman Pengesahan.....	ii
Kata Pengantar .....	iii
Abstrak.....	v
Abstract.....	vi
Daftar Isi.....	vii
Daftar Tabel.....	xiii
Daftar Gambar.....	xiv
Daftar Lampiran .....	xv
Daftar Singkatan .....	xvi

**BAB I PENDAHULUAN**

1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Luaran Penelitian.....	5
1.5 Manfaat Penelitian.....	5
1.5.1 Manfaat Akademik .....	5
1.5.2 Manfaat Praktis .....	6

**BAB II TINJAUAN PUSTAKA**

2.1 Kanker serviks .....	7
2.1.1 Definisi.....	7
2.1.2 Epidemiologi .....	8



2.1.3 Stadium Kanker Serviks.....	9
2.1.4 Patofisiologi .....	10
2.1.5 Pengobatan .....	14
2.1.6 Sel HeLa .....	14
2.1.6.1 Sel HeLa CCL-2 .....	15
2.2 Salam .....	16
2.2.1 Definisi dan Klasifikasi .....	16
2.2.2 Kandungan dan Manfaat.....	17
2.3 Sirih Merah .....	19
2.3.1 Definisi dan Klasifikasi .....	19
2.3.2 Morfologi.....	20
2.3.3 Kandungan dan Manfaat.....	21
2.4 Apoptosis.....	22
2.4.1 Definisi.....	22
2.4.2 Apoptosis Intrinsik.....	22
2.4.3 Apoptosis Ekstrinsik.....	24
2.4.4 Apoptosis Akhir.....	25
2.5 HSP70 .....	25
2.5.1 Definisi dan Peran HSP70.....	25
2.5.2 Peran HSP70 dalam Menghambat Apoptosis .....	29
2.5.3 Peran HSP70 di Intisel .....	33
2.6 ROS.....	35
2.6.1 Peran ROS dalam Apoptosis .....	35
2.6.2 Hubungan ROS dan p53.....	38

**BAB III KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN**

3.1 Kerangka Konsep Penelitian..... 40

3.2 Hipotesis Penelitian ..... 42

**BAB IV METODE PENELITIAN**

4.1 Rancangan Penelitian..... 43

    4.1.1 Optimalisasi Kualitas Ekstrak ..... 43

    4.1.2 Uji Jalur Mekanisme Antikanker ..... 44

4.2 Populasi dan Sampel..... 45

4.3 Variabel Penelitian..... 49

4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian..... 49

    4.4.1 Lokasi Penelitian..... 49

    4.4.2 Waktu Penelitian ..... 50

4.5 Bahan dan Alat Penelitian..... 50

    4.5.1 Bahan Penelitian..... 50

        4.5.1.1 Bahan Ekstraksi Maserasi ..... 50

        4.5.1.2 Bahan Ekstraksi Soxhlet..... 50

        4.5.1.3 Bahan Uji Penentuan Fenol Total..... 50

        4.5.1.4 Bahan Uji Penentuan Flavonoid Total ..... 51

        4.5.1.5 Bahan Kultur Sel HeLa ..... 51

        4.5.1.6 Bahan Imunitokimia HSP70 ..... 51

        4.5.1.7 Bahan Uji Penentuan Kadar ROS..... 51

    4.5.2 Peralatan Penelitian ..... 52

4.6 Definisi Operasional..... 52

4.7 Prosedur Penelitian ..... 56

    4.7.1 Kultur Sel HeLa..... 56



4.7.1.1 Penumbuhan Sel.....	56
4.7.1.2 Pergantian Media .....	57
4.7.1.3 Pemanenan Sel.....	57
4.7.1.4 Perhitungan Sel.....	58
4.7.1.5 Subkultur Sel.....	58
4.7.2 Maserasi Daun Salam dan Daun Sirih Merah .....	59
4.7.3 Ekstraksi Soxhlet Daun Salam dan Daun Sirih Merah.....	60
4.7.4 Pemaparan Ekstrak pada Kultur Sel .....	60
4.7.5 Penetapan Kadar Fenol Total .....	61
4.7.6 Penetapan Kadar Flavonoid Total.....	61
4.7.7 Imunositokima HSP70.....	62
4.7.8 Uji Penentuan Kadar ROS .....	66
4.8 Analisis Data.....	67
<b>BAB V HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA</b>	
5.1 Hasil Penelitian.....	69
5.1.1 Hasil Uji Kuantitatif Ekstrak .....	69
5.1.1.1 Fenol Total .....	69
5.1.1.2 Flavonoid Total.....	70
5.1.2 Uji Jalur Mekanisme Antikanker .....	71
5.1.2.1 HSP70.....	71
5.1.2.1.1 Ekspresi HSP70.....	71
5.1.2.1.2 Aktivasi HSP70 .....	74
5.1.2.2 Persentase Kadar ROS.....	78
5.2 Analisis Data.....	82
5.2.1 HSP70 .....	82

5.2.1.1 Ekspresi HSP70 .....	82
5.2.1.1.1 Perlakuan Ekstrak Tunggal .....	82
5.2.1.1.2 Perlakuan Ekstrak Kombinasi .....	83
5.2.1.2 Aktivasi HSP70.....	83
5.2.1.2.1 Perlakuan Ekstrak Tunggal .....	83
5.2.1.2.2 Perlakuan Ekstrak Kombinasi .....	85
5.2.1.3 Persentase Kadar ROS .....	87
5.2.1.3.1 Perlakuan Ekstrak Tunggal .....	87
5.2.1.3.2 Perlakuan Ekstrak Kombinasi .....	88

## **BAB VI PEMBAHASAN**

6.1 Analisis Hasil .....	91
6.1.1 Uji Kuantitatif.....	91
6.1.1.1 Fenol total .....	91
6.1.1.2 Flavonoid Total.....	92
6.1.2 HSP70 .....	94
6.1.2.1 Ekspresi HSP70 .....	94
6.1.2.1.1 Perlakuan Ekstrak Tunggal .....	94
6.1.2.1.2 Perlakuan Ekstrak Kombinasi .....	95
6.1.2.2 Aktivasi HSP70.....	96
6.1.2.2.1 Perlakuan Ekstrak Tunggal .....	96
6.1.2.2.2 Perlakuan Ekstrak Kombinasi .....	98
6.1.3 Persentase Kadar ROS.....	99
6.1.3.1 Perlakuan Ekstrak Tunggal.....	99
6.1.3.2 Perlakuan Ekstrak Kombinasi.....	101

**BAB VII PENUTUP**

7.1 Kesimpulan..... 103

7.2 Saran..... 103

**DAFTAR PUSTAKA..... 105**



**DAFTAR TABEL**

Tabel 2.1 Klasifikasi Sel HeLa .....	14
Tabel 2.2 Spesifikasi Sel HeLa CCL-2.....	15
Tabel 4.1 Peralatan Penelitian.....	52
Tabel 5.1 Kandungan Fenol Total Ekstrak .....	70
Tabel 5.2 Kandungan Flavonoid Total .....	71
Tabel 5.3 Indeks Ekspresi HSP70 dengan Pemberian Ekstrak Tunggal .....	72
Tabel 5.4 Indeks Ekspresi HSP70 dengan Pemberian Ekstrak Kombinasi .....	72
Tabel 5.5 Indeks Aktivasi HSP70 dengan Pemberian Ekstrak Tunggal .....	75
Tabel 5.6 Indeks Aktivasi HSP70 dengan Pemberian Ekstrak Kombinasi.....	75
Tabel 5.7 Persentase Kadar ROS dengan Pemberian Ekstrak Tunggal .....	78
Tabel 5.8 Persentase Kadar ROS dengan Pemberian Ekstrak Kombinasi.....	79





**DAFTAR GAMBAR**

Gambar 2.1 Organisasi genom HPV tipe 16 .....	12
Gambar 2.2 Penampakan Mikroskopis Sel HeLa CCL-2 dari ATCC .....	16
Gambar 2.3 Daun Salam .....	17
Gambar 2.4 Daun Sirih Merah .....	20
Gambar 2.5 Struktur HSP70 .....	26
Gambar 2.6 Peran HSP70 dalam Apoptosis dan Pertahanan Sel .....	31
Gambar 2.7 Peran HSP70 dalam Menghambat Apoptosis Intrinsik .....	32
Gambar 2.8 Peran HSP70 dalam Menghambat Apoptosis Ekstrinsik .....	32
Gambar 2.9 Peran HSP70 di Intisel .....	34
Gambar 2.10 Perbedaan Fungsi dan Kadar ROS pada sel normal dan sel yang bertransformasi .....	36
Gambar 2.11 Mekanisme ROS dalam menginduksi pelepasan sitokrom c .....	37
Gambar 2.12 Peran ROS pada apoptosis .....	38
Gambar 4.1 Desain Optimalisasi Ekstrak .....	43
Gambar 4.2 Desain Uji Mekanisme Antikanker .....	44
Gambar 5.1 Kurva kalibrasi standar asam galat .....	70
Gambar 5.2 Indeks Ekspresi HSP70 dengan Pemberian Ekstrak Tunggal .....	73
Gambar 5.3 Indeks Ekspresi HSP70 dengan Pemberian Ekstrak Kombinasi .....	74
Gambar 5.4 Indeks Aktivasi HSP70 dengan Pemberian Ekstrak Tunggal .....	76
Gambar 5.5 Indeks Aktivasi HSP70 dengan Pemberian Ekstrak Tunggal .....	77
Gambar 5.6 Persentase Kadar ROS dengan Pemberian Ekstrak Tunggal .....	80
Gambar 5.7 Persentase Kadar ROS dengan Pemberian Ekstrak Kombinasi .....	81
Gambar 6.1 Reaksi Flavonoid dengan $AlCl_3$ .....	93

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Pernyataan Keaslian Tulisan.....	111
Lampiran 2 Surat Keterangan Layak Etik.....	112
Lampiran 3 Surat Keputusan PIMNAS Dekan FKUB .....	113
Lampiran 4 Sertifikat sebagai Peserta Pimnas.....	117
Lampiran 5 Determinasi Tanaman Salam.....	118
Lampiran 6 Determinasi Tanaman Sirih Merah.....	119
Lampiran 7 Interpretasi Imunohistokimia HSP70 .....	120
Lampiran 8 Perhitungan Indeks Ekspresi HSP70 Ekstrak Tunggal .....	122
Lampiran 9 Perhitungan Indeks Ekspresi HSP70 Ekstrak Kombinasi .....	125
Lampiran 10 Perhitungan Indeks Aktivasi HSP70 Ekstrak Tunggal .....	127
Lampiran 11 Perhitungan Indeks Aktivasi HSP70 Ekstrak Kombinasi.....	130
Lampiran 12 Perhitungan Persentase Kadar ROS Ekstrak Tunggal .....	132
Lampiran 13 Perhitungan Persentase Kadar ROS Ekstrak Kombinasi .....	133
Lampiran 14 Hasil Uji Normalitas, Homogenitas, <i>one way</i> ANOVA, <i>Post Hoc Test</i> Indeks Aktivasi HSP70 Ekstrak Tunggal.....	135
Lampiran 15 Hasil Uji Normalitas, Homogenitas, <i>one way</i> ANOVA, <i>Post Hoc Test</i> Indeks Aktivasi HSP70 Ekstrak Kombinasi .....	140
Lampiran 16 Hasil Uji Normalitas, Homogenitas, <i>one way</i> ANOVA, <i>Post Hoc Test</i> Persentase Kadar ROS Ekstrak Tunggal.....	143
Lampiran 17 Hasil Uji Normalitas, Homogenitas, <i>one way</i> ANOVA, <i>Post Hoc Test</i> Persentase Kadar ROS Ekstrak Kombinasi.....	146
Lampiran 18 Dokumentasi Penelitian .....	153