

**EFEKTIVITAS NANOSILVER EKSTRAK PASAK BUMI
(*Eurycoma longifolia Jack*) TERHADAP PENGHAMBATAN
SEL KANKER PAYUDARA (KAJIAN IN VITRO PADA SEL
MCF-7 DAN HACAT)**



TESIS

Diajukan untuk memenuhi persyaratan mencapai derajat
Sarjana S-2 Magister Epidemiologi

ROPIK TAUFIK HIDAYAT
NIM 30000218410003

**PROGRAM STUDI MAGISTER EPIDEMIOLOGI
SEKOLAH PASCASARJANA
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2022**

HALAMAN PENGESAHAN
TESIS
EFFEKTIVITAS NANOSILVER EKSTRAK PASAK BUMI (*Eurycoma longifolia Jack*) TERHADAP PENGHAMBATAN SEL KANKER PAYUDARA (KAJIAN IN VITRO PADA SEL MCF-7 DAN HACAT)

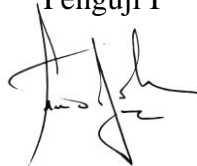
Oleh:
ROPIK TAUFIK HIDAYAT
NIM 30000218410003

Telah diujikan dan dinyatakan lulus ujian tesis pada Tanggal 23 Juni 2022 oleh tim penguji Program Studi Magister Epidemiologi Sekolah Pascasarjana Universitas Diponegoro

Semarang, 23 Juni 2022

Mengetahui,

Penguji I



Dr. dr. Andrew Johan, M.Si
NIP. 195804091987031002

Penguji II



Dr. Onny Setiani, Ph.D
NIP.196310191991032001

Pembimbing I



Dr. drh. Dwi Sutningsih, M.Kes
NIP. 197203051998022001

Pembimbing II



Dr. Drs. Mochamad Hadi, M.Si
NIP. 196001081987031002

Dekan
Sekolah Pasca Sarjana

Dr. R.B. Sularto, S.H.,M.Hum
NIP. 196701011991031005

Ketua Program Studi
Magister Epidemiologi



Dr. drh. Dwi Sutningsih, M.Kes
NIP. 197203051998022001

DEKLARASI ORISINALITAS

Yang bertanda tangan ini:

Nama : Ropik Taufik Hidayat

NIM :30000218410003

Dengan ini menyatakan bahwa:

- a. Karya tulis saya, tesis ini adalah asli dan belum pernah diajukan untuk mendapatkan gelar akademik (magister), baik di Universitas Diponegoro maupun di perguruan tinggi lain.
- b. Karya tulis ini adalah murni gagasan, rumusan dan penelitian saya sendiri, tanpa bantuan orang lain, kecuali Tim Pembimbing dan Para Narasumber.
- c. Dalam karya tulis ini tidak terdapat karya atau pendapat yang telah ditulis atau dipublikasikan orang lain, kecuali secara tertulis dengan jelas dicantumkan sebagai acuan dalam naskah dengan disebutkan nama pengarang dan judul buku aslinya serta dicantumkan dalam daftar pustaka.
- d. Pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya dan apabila di kemudian hari terdapat penyimpangan dan ketidak benaran dalam pernyataan ini maka saya bersedia menerima sanksi akademik berupa pencabutan gelar yang telah saya peroleh, dan sanksi lain sesuai dengan norma yang berlaku di Universitas Diponegoro Semarang.

Semarang, 23 Juni 2022



Ropik Taufik Hidayat
NIM: 30000218410003

HALAMAN PERSEMBAHAN



“Wahai orang-orang yang beriman, apabila dikatakan kepadamu, berilah kelapangan di dalam majelis-majelis, maka lapangkanlah. Niscaya Allah Swt. akan memberi kelapangan untukmu. Apabila dikatakan, berdirilah kamu, maka berdirilah. Niscaya Allah Swt. akan mengangkat (derajat) orang-orang yang beriman di antaramu dan orang-orang yang diberi ilmu beberapa derajat. Allah Swt. Mahateliti apa yang kamu kerjakan.” (Surah al-Mujadalah/58: 11)

Alhamdulillah, Segala puji hanya milik Alloh SWT dengan rahmat dan kasih sayangNya Penulis dapat menyelesaikan Tesis ini, Sholawat dan Salam semoga selalu tercurah kepada Nabi dan Rosul terkasih Muhammad SAW.

Tesis ini saya persembahkan kepada orang yang selalu mendukung dan tak henti mendo'akan kelancaran dan keberhasilan saya

Ayah dan Bunda Terkasih

Terimakasih atas tak hentinya mendo'akan anakmu ini dan mendukung semua yang anakmu ini kerjakan, semoga selalu dalam keadaan sehat wal'afiat, panjang umur dan tidak kurang suatu apapun

Keluarga Tercinta

Keluarga kecilku terima kasih ya atas segala yang telah berikan kepadaku selama menimba ilmu, semoga selalu dalam kebahagiaan sampai maut memisahkan kita.

Teman-Teman

Terimakasih buat temen-temen Angkatan 2018 yang selalu mendukung dan memotivasi untuk menyelesaikan penelitian tesisi ini, terimakasih ibu Nurhayani, Mbak Vrensca, Mba Putri yang super baik selalu membantu dalam suka dan duka.

Dosen dan Staf

Terima kasih yang tak terhingga untuk Paradosen yang sudah memberikan ilmu dan tak hentinya mendukung Penulis, terima kasih banyak kepada Pak Panji Munarso yang selalu membantu dan direpotkan, terima kasih yang tak terhingga untuk dosen pembimbing Ibu Dr. drh. Dwi Sutningsih, M.Kes, Bapak Dr. Drs. Mochamad Hadi, M.Si semoga Alloh SWT membalas kebaikan yang berlipat ganda selalu diberikan Kesehatan dan ada dalam lindungannya, teruntuk dosen penguji Bapak Dr. dr. Andrew Johan M.Si dan Ibu dr. Onny Setiani, Ph.D terima kasih sebesar-besarnya sudah memberikan masukan dan saran yang sangat berharga kepada penulis.

DAFTAR RIWAYAT HIDUP

Nama : Ropik Taufik Hidayat

Tempat, tanggal lahir : Garut, 15 April 1983

Agama : Islam

Riwayat Pendidikan Formal : SDN Mancagahar III (1996)
SMPN I Pameungpeuk (1999)
SMAN 3 Tarogong (2002)
D3 POLTEKKES Bandung (2005)
S1 Universitas Siliwangi Tasikmalaya (2012)

Riwayat Pekerjaan PNS Dinas Kesehatan Kota Tasikmalaya (2009 s.d
Sekarang)

Riwayat Organisasi -

ABSTRAK

Latar Belakang Masalah: Kasus Kanker setiap tahun mengalami peningkatan sebagai penyebab berasal dari faktor polusi lingkungan, merokok, obesitas dan keturunan, senyawa anti kanker atau sebagai regulator negatif onkogen salah satunya dapat dijumpai dalam tanaman Pasak Bumi (*Eurycoma longifolia Jack*) dengan kandungan quassinoid didalamnya terutama eurycomanone ditambah dengan penggunaan teknologi nanosilver maka akan semakin kuat untuk melawan sel kanker terutama sel Kanker MCF-7 dan efek samping yang ditimbulkan dengan minimalis.

Tujuan: Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan nanosilver ekstrak Pasak Bumi dapat menghambat pertumbuhan sel kanker MCF-7 dan tidak merusak sel HaCat sebagai sel sehat kajian secara *in vitro*.

Metode: Desain penelitian menggunakan laboratorik murni di Labaoratorium FK UNPAD jl. Prof Eijkman No.38 Bandung Provinsi Jawa Barat, konsentrasi yang dipakai terdiri dari 0 atau kontrol negatif, 5.5 μ l, 11 μ l, 21.9 μ l, 43.75 μ l, 87.5 μ l, 175 μ l, 350 μ l dan 700 μ l, dengan pengujian sitotoksik menggunakan *MTT Assay* dan Apoptosis menggunakan pewarnaan ganda *Annexin V Flous/PI*, indeks apoptosis dihitung menggunakan metode *flowcytometry*. Data yang dihasilkan dianalisis dengan menggunakan univariat dan bivariat yaitu uji Anova dengan *post hoc* atau *kruskal-wallis* serta *sigma plot* untuk menentukan nilai IC_{50} .

Hasil Penelitian: Sitotoksik tertinggi pada sel MCF-7 ditemukan pada konsentrasi 700 μ l rata-rata sitotoksik sebanyak 102.72% dan yang terendah pada konsentrasi 5.5 μ l rata-rata sitotoksik sebanyak 29.18%, analisis *Anova* ditemukan bahwa nilai signifikan masing-masing kelompok konsentrasi yaitu 0.001 lebih kecil dari 0.05 sehingga terdapat perbedaan yang signifikan secara statistik dengan nilai IC_{50} 79.065 μ l, apoptosis yang terjadi pada Q2 sebesar 8.98% dan Q3 sebesar 31.3Kontrol Negatif sedangkan pada Sel Hacat sel yang mengalami sitotoksik tertinggi yaitu pada konsentrasi 700 μ l sebanyak 112.45% dan terendah pada konsentrasi 5.5 μ l sebanyak 43.87% hasil analisis *Kruskal wallis* ditemukan bahwa nilai signifikan masing-masing kelompok konsentrasi yaitu 0.001 lebih kecil dari 0.05 sehingga terdapat perbedaan yang signifikan secara statistik, apoptosis yang terjadi pada Q2 sebesar 3.34% dan Q3 sebesar 0.05%.

Kesimpulan: Nanosilver ekstrak Pasak Bumi (*Eurycoma longifolia Jack*) terbukti efektif menghambat pertumbuhan sel kanker Payudara (sel kanker MCF-7) dengan semakin besar konsentrasi maka akan semakin berpotensi, akan tetapi penggunaan sediaan ini akan sedikit berdampak terhadap sel Hacat.

Kata Kunci: Nanosilver, Pasak Bumi, Sitotoksik, Apoptosis, Sel MCF-7, Sel Hacat

ABSTRACT

Background: Cancer cases are increasing every year as a cause of environmental pollution, smoking, obesity and heredity, anti-cancer compounds or as negative regulators of oncogenes, one of which can be found in the Pasak Bumi plant (*Eurycoma longifolia* Jack) with quassinoid content in it, especially eurycomanone. coupled with the use of nanosilver technology, it will be stronger to fight cancer cells, especially MCF-7 Cancer cells and minimize side effects.

Objective: This study aims to prove that the nanosilver extract of Pasak Bumi can inhibit the growth of MCF-7 cancer cells and does not damage HaCat cells as healthy cells in vitro studies.

Methods: The research design used a pure laboratory at the FK UNPAD Laboratory, Jl. Prof. Eijkman No.38 Bandung, West Java Province, the concentrations used were 0 or negative control, 5.5 μ l, 11 μ l, 21.9 μ l, 43.8 μ l, 87.5 μ l, 175 μ l, 350 μ l and 700 μ l, with cytotoxic testing using MTT Assay and Apoptosis using staining Double Annexin V Flous/PI, the apoptotic index was calculated using the flowcytometry method. The resulting data were analyzed using univariate and bivariate, namely the Anova test with pos hoc or kruskall-wallis and sigma plots to determine the IC50 value.

Results: The highest cytotoxicity in MCF-7 cells was found at a concentration of 700 μ l, the average cytotoxic was 102.72% and the lowest was at a concentration of 5.5 μ l, the average cytotoxic was 29.18%, Anova analysis found that the significant value of each concentration group was 0.001 more smaller than 0.05 so that there is a statistically significant difference with the IC50 value of 79,065 μ l, apoptosis that occurs in Q2 is 8.98% and Q3 is 31.3Kontrol Negatif, while in Hacat Cells the highest cytotoxicity is at a concentration of 700 μ l as much as 112.45% and the lowest is at a concentration of 5.5 l as much as 43.87% Kruskal Wallis analysis results found that the significant value of each concentration group was 0.001 less than 0.05 so that there was a statistically significant difference, apoptosis that occurred in Q2 was 3.34% and Q3 was 0.05%.

Conclusion: Nanosilver extract of Pasak Bumi (*Eurycoma longifolia* Jack) has been proven to be effective in inhibiting the growth of breast cancer cells (MCF-7) with the greater the concentration of food, the more potential it will be, but the use of this preparation will have little impact on Hacat cells.

Keywords: Nanosilver, Pasak Bumi, Cytotoxic, Apoptosis, MCF-7 Cells, Hacat Cells

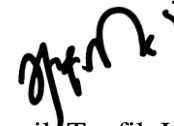
KATA PENGANTAR

Allhamdulillah, segala puji hanya milik Allah SWT berkat karunia yang diberikan akhirnya penulis dapat merampungkan tesis yang berjudul **“EFEKTIVITAS NANOSILVER EKSTRAK PASAK BUMI (*Eurycoma longifolia* Jack) TERHADAP PENGHAMBATAN SEL KANKER PAYUDARA (KAJIAN IN VITRO PADA SEL MCF-7 DAN HACAT)”**. Penulis haturkan terimakasih dan hormat saya yang tidak terhingga untuk dosen pembimbing Dr. drh. Dwi Sutiningsih, M.Kes yang telah memberikan sumbangsih baik materil maupun immaterial dan Dr. Drs. Mochamad Hadi, M.Si yang sudah membimbing dan memberikan masukannya. Penulis menghaturkan terima kasih yang tidak terhingga teruntuk:

1. Ibu Dr. drh. Dwi Sutiningsih, M.Kes selaku Ketua Program Magister Epidemiologi.
2. Dosen dan staf pengajar Magister Epidemiologi yang sudah memberikan pelayanan yang prima.
3. Ibu Ekana Listianawati, S.Hum yang telah banyak memberikan dukungan dan doa untuk penyelesaian tesis ini.
4. Teristimewa untuk orang tua dan keluarga terkasih, banyak memberikan dukungan dan doa untuk penyelesaian tesis ini.

Penulis mengharapkan saran dan masukan dalam rangka memperbaiki tesis dan kesempurnaan dari tesis yang penulis buat ini, semoga menjadi ilmu bagi semua.

Semarang, 23 Juni 2022
Hormat Saya,



Ropik Taufik Hidayat
NIM: 3000021841003

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN PENGESAHAN.....	i
HALAMAN PERNYATAAN.....	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	iii
RIWAYAT HIDUP.....	iv
ABSTRAK.....	v
ABSTRACT.....	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	x
DAFTAR LAMPIRAN.....	xi
DAFTAR SINGKATAN.....	xii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Perumusan Masalah.....	6
1.3 Tujuan Penelitian.....	7
1.4 Manfaat Penelitian.....	7
1.5 Keaslian Penelitian.....	8
1.6 Ruang Lingkup.....	13
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	15
2.1 Penyakit Kanker.....	15
2.2 Pasak Bumi (<i>Eurycoma longifolia Jack</i>).....	25
2.3 Nanopartikel.....	30
BAB III KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS.....	35
3.1 Kerangka Teori.....	35
3.2 Kerangka Konsep.....	40
3.3 Hipotesis.....	40
BAB IV METODE PENELITIAN.....	41
4.1 Desain Penelitian.....	41

4.2	Populasi dan Sampel.....	42
4.3	Variabel Penelitian dan Definisi Operasional.....	43
4.4	Instrumen Penelitian.....	45
4.5	Prosedur Penelitian.....	49
4.6	Pengujian Penelitian.....	57
4.7	Pengumpulan Data.....	61
4.8	Pengolahan dan Analisis Data.....	61
4.9	<i>Ethical Clearance</i>	64
BAB V	HASIL PENELITIAN.....	65
5.1	Determinasi dan Identifikasi Pasak Bumi.....	65
5.2	Pengujian Aktivitas Sitotoksik Nanosilver Ekstrak Pasak Bumi terhadap Sel Kanker Payudara dan Sel HaCat.....	66
5.3	Pengujian Induksi Apoptosis Nanosilver Ekstrak Pasak Bumi terhadap Sel Kanker Payudara dan Sel HaCat.....	82
BAB VI	PEMBAHASAN.....	91
6.1	Aktivitas Sitotoksik Nanosilver Ekstrak Pasak Bumi (<i>Eurycoma longifolia Jack</i>) Terhadap Sel Kanker Payudara dan Sel HaCat.....	91
6.2	Induksi Apoptosis Nanosilver Ekstrak Pasak Bumi (<i>Eurycoma longifolia Jack</i>) Terhadap Sel Kanker Payudara dan Sel HaCat.....	97
BAB VII	KESIMPULAN DAN SARAN.....	104
7.1	Kesimpulan.....	104
7.2	Saran.....	105
DAFTAR PUSTAKA		
LAMPIRAN – LAMPIRAN		

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Keaslian Penelitian.....	12
Tabel 2 Peralatan Pembuatan Masreasi dan Nanosilver Ekstrak Akar Pasak Bumi.....	50
Tabel 3. Hasil Determinasi Pasak Bumi (<i>Eurycoma longifolia Jack</i>)	68
Tabel 4. Hasil Pengujian Fitokimia Pasak Bumi (<i>Eurycoma longifolia Jack</i>).....	69
Tabel 5. Hasil Uji Aktivitas Sitotoksik Nanosilver Ekstrak Pasak Bumi (<i>Eurycoma longifolia Jack</i>) Terhadap Sel Kanker MCF-7.....	69
Tabel 6. Hasil Uji Aktivitas Sitotoksik Nanosilver Ekstrak Pasak Bumi (<i>Eurycoma longifolia Jack</i>) Terhadap Sel HaCat.....	72
Tabel 7. Hasil Uji Induksi Apoptosis Sel Kanker MCF-7 dengan Metode <i>Flowcytometri</i>	86
Tabel 8. Hasil Uji Induksi Apoptosis HaCat dengan Metode <i>Flowcytometri</i>	86

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Batang Pasak Bumi (<i>Eurycoma longifolia</i> Jack).....	28
Gambar 2. Daun Pasak Bumi (<i>Eurycoma longifolia</i> Jack).....	28
Gambar 3. Bunga Pasak Bumi (<i>Eurycoma longifolia</i> Jack).....	29
Gambar 4. Buah Pasak Bumi (<i>Eurycoma longifolia</i> Jack).....	30
Gambar 5. Akar Pasak Bumi (<i>Eurycoma longifolia</i> Jack).....	30
Gambar 6. Kerangka Teori	40
Gambar 7. Kerangka Konsep.....	42
Gambar 8. Sel Kanker Payudara Tanpa Treatment Nanosilver Ekstrak Pasak Bumi Konsentrasi Kontrol Negatif.....	71
Gambar 9. Sitotoksik Sel Kanker Payudara dengan Nanosilver Ekstrak Pasak Bumi Konsentrasi 0.78%.....	71
Gambar 10. Sitotoksik Sel Kanker Payudara dengan Nanosilver Ekstrak Pasak Bumi Konsentrasi 1.56%.....	71
Gambar 11. Sitotoksik Sel Kanker Payudara dengan Nanosilver Ekstrak Pasak Bumi Konsentrasi 3.13%.....	71
Gambar 12. Sitotoksik Sel Kanker Payudara dengan Nanosilver Ekstrak Pasak Bumi Konsentrasi 43.8µl.....	71
Gambar 13. Sitotoksik Sel Kanker Payudara dengan Nanosilver Ekstrak Pasak Bumi Konsentrasi 12.5 µl	71
Gambar 14. Sitotoksik Sel Kanker Payudara dengan Nanosilver Ekstrak Pasak Bumi Konsentrasi 175µl.....	71
Gambar 15. Sitotoksik Sel Kanker Payudara dengan Nanosilver Ekstrak Pasak Bumi Konsentrasi 350µl.....	71
Gambar 16. Sitotoksik Sel Kanker Payudara dengan Nanosilver Ekstrak Pasak Bumi Konsentrasi 700 µl.....	71
Gambar 17. Sel HaCat Tanpa <i>Treatment</i> Nanosilver Ekstrak Pasak Bumi	72

Konsentrasi Kontrol Negatif.....	
Gambar 18. Sitotoksik Sel HaCat dengan Nanosilver Ekstrak Pasak Bumi	73
Konsentrasi 5.5µl.....	
Gambar 19. Sitotoksik Sel HaCat dengan Nanosilver Ekstrak Pasak Bumi	73
Konsentrasi 11 µl.....	
Gambar 20. Sitotoksik Sel HaCat dengan Nanosilver Ekstrak Pasak Bumi	74
Konsentrasi 21.9 µl.....	
Gambar 21. Sitotoksik Sel HaCat dengan Nanosilver Ekstrak Pasak Bumi	74
Konsentrasi 43.8µl.....	
Gambar 22. Sitotoksik Sel HaCat dengan Nanosilver Ekstrak Pasak Bumi	74
Konsentrasi 87.5 µl.....	
Gambar 23. Sitotoksik Sel HaCat dengan Nanosilver Ekstrak Pasak Bumi	74
Konsentrasi 175µ.....	
Gambar 24. Sitotoksik Sel HaCat dengan Nanosilver Ekstrak Pasak Bumi	74
Konsentrasi 350 µl.....	
Gambar 25. Sitotoksik Sel HaCat dengan Nanosilver Ekstrak Pasak Bumi	74
Konsentrasi 700 µl.....	
	75

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	: Ethical Clearance
Lampiran 2	: Determinasi Tumbuhan
Lampiran 3	: Fitokima Pasak Bumi
Lampiran 4	: Surat – Surat Perizinan
Lampiran 5	: Hasil Pengujian Sitotoksik
Lampiran 6	: Hasil Pengujian Apoptosis
Lampiran 8	: Analisis <i>Jamovi</i>
Lampiran 7	: Poto – Poto Penelitian

DAFTAR SINGKATAN

APAF1	: <i>Apoptosis Protease Activating 1</i>
BAK	: Protein Bcl2 Pro Apoptosis
BAX	: Protein Ke-4
BFGF	: <i>Basic Fibroblast Growth Factor</i>
CIAP	: <i>Celullar Inhibitor of Apoptosis Protein</i>
DISC	: <i>Death Inducing Signaling Complex</i>
ERBB2	: <i>Protein-coding gene in the species Homo sapiens</i>
FADD	: <i>Fas Associated with Death Domain</i>
FBS	: <i>Fetal Bovine Serum</i>
HER2	: <i>Protein-coding gene in the species Saccharomyces cerevisiae</i>
JNK	: <i>c-JUN N-terminal Kinase</i>
MCF-7	: <i>Michigan Cancer Foundation-7</i>
MMP	: <i>Matrix Metallo Proteinases</i>
MMT	: <i>Microtetrazolium</i>
MOMP	: <i>Mitochondrial Outer Membrane Permeabilization</i>
NFFK β	: <i>Nuclear factor kappa β</i>

PAS	: <i>Particle Size Analysis</i>
PI	: <i>Propodium Iodida</i>
PS	: <i>Phosphatidylseine (PS)</i>
RIP	: <i>Receptor-Interecting Protein</i>
RPMI	: <i>Roswell Park Memorial Institute</i>
SMAC	: <i>Second mitochondria-derived activator of caspase</i>
tBID	: <i>truncated Bid</i>
TEM	: <i>Transmission Electron Microscopy</i>
TNRF1	: <i>Tumor Necrosis Factor receptor-1</i>
TRADD	: <i>TNFR-Associated Death Domain proteins</i>
TRAF2	: <i>TNFR Associated Factor-2</i>
TRAF5	: <i>TNFR-Associated Factor-5</i>
TRAIL	: <i>TNF Related Apoptosis-Inducing Ligand</i>
UV-Vis	: <i>Ultra-Violet Visible</i>
VEGF	: <i>Vasicular Endothelial Growth Factor</i>
xIAP	: <i>x-Linked Inhibitor Apotosis Protein</i>

