

**ANALISIS IN VITRO POTENSI ANTIKANKER EKSTRAK KASAR
POLISAKARIDA OKRA HIJAU (*Abelmoschus esculentus* L.)
PADA KULTUR SEL KANKER SERVIKS HeLa**

TESIS

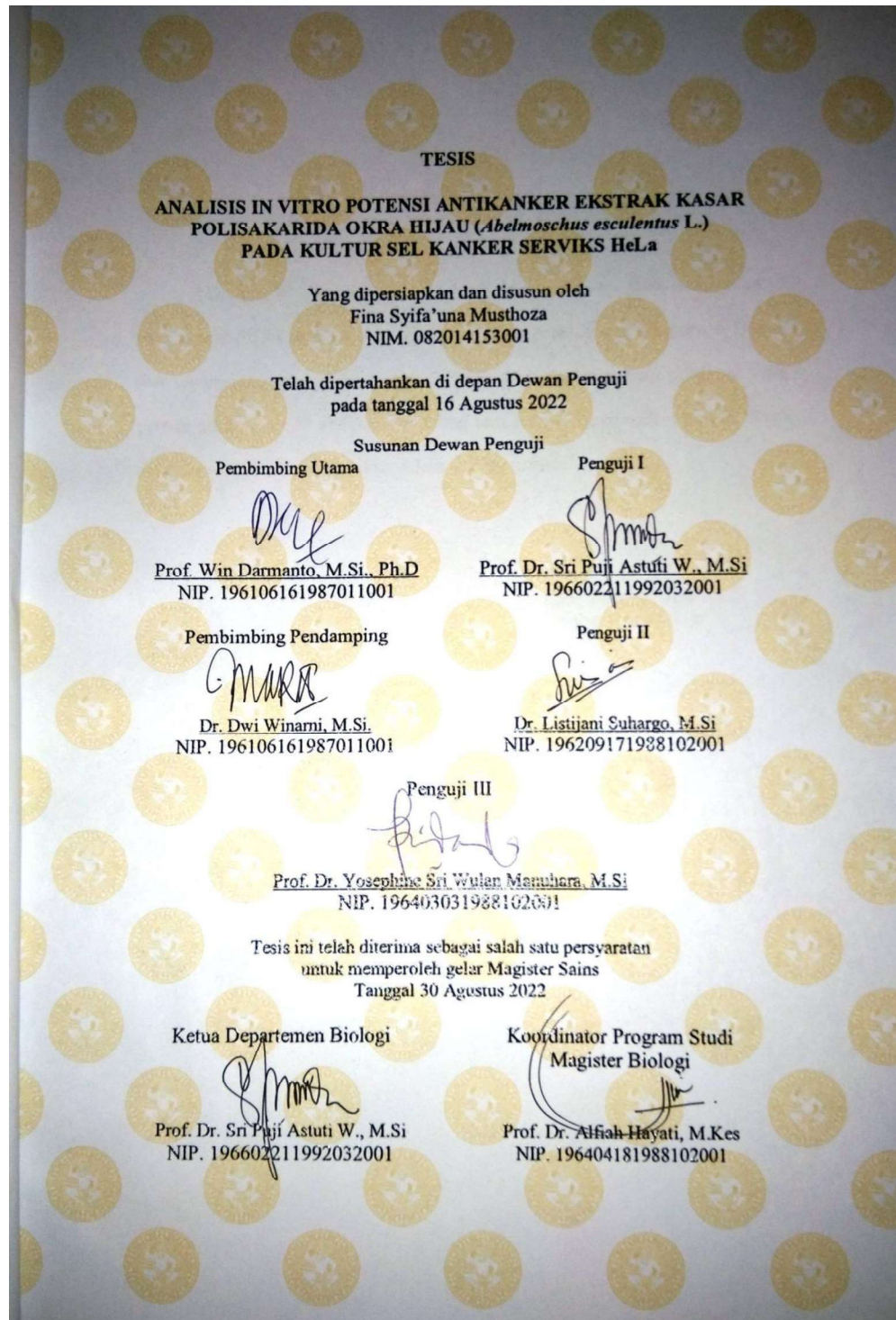
**untuk memenuhi sebagian syarat
mencapai gelar akademik Magister Sains (M.Si.)**



Fina Syifa'una Musthoza

082014153001

**PROGRAM STUDI S2 BIOLOGI
DEPARTEMEN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA SURABAYA
2022**



TESIS

ANALISIS IN VITRO POTENSI....

FINA SYIFA'UNA MUSTHOZA

TESIS

ANALISIS IN VITRO POTENSI ANTIKANKER...

FINA SYIFA'UNA MUSTHOZA

TESIS
PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam Tesis ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar Magister di suatu Perguruan Tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Surabaya, 27 Juli 2022



Fina Syifa'una Musthoza

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr.Wb.

Syukur alhamdulillah penulis haturkan kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan Rahmat dan Hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis dengan judul “Analisis In Vitro Potensi Antikanker Ekstrak Kasar Polisakarida Okra Hijau (*Abelmoschus esculentus* L.) pada Kultur Sel Kanker Serviks HeLa”. Shalawat serta salam senantiasa tercurahkan kepada Nabi Muhammad SAW beserta keluarga dan sahabatnya.

Selanjutnya penulis mengucapkan terima kasih seiring doa dan harapan *jazakumullah ahsanal jaza'* kepada semua pihak yang telah membantu terselesaikannya tesis ini. Ucapan terima kasih ini penulis sampaikan kepada:

1. Prof. Dr. Mohammad Nasih, SE., M.T., Ak., CMA, selaku Rektor Universitas Airlangga Surabaya.
2. Prof. Dr. Moh Yasin, M.Si., selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga Surabaya.
3. Prof. Dr. Sri Puji Astuti Wahyuningsih, M.Si., selaku Kepala Departemen Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga Surabaya.
4. Prof. Dr. Alfiah Hayati, M.Kes., selaku Kepala Program Studi Magister Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga Surabaya sekaligus dosen wali yang telah banyak memberikan saran dan motivasi selama perkuliahan.

5. Prof. Win Darmanto, M.Si., Ph.D dan Dr. Dwi Winarni, M.Si. sebagai dosen pembimbing yang telah sabar memberikan bimbingan, arahan dan memberikan waktu untuk membimbing penulis sehingga tesis ini terselesaikan dengan baik.
6. Prof. Dr. Sri Puji Astuti Wahyuningsih, M.Si, Dr. Listijani Suhargo, M.Si, dan Prof. Dr. Yosephine Sri Wulan Manuhara, M.Si sebagai dosen penguji yang telah memberikan saran terbaiknya.
7. Segenap Bapak dan Ibu dosen Universitas Airlangga Surabaya yang telah memberikan bimbingan kepada penulis selama menempuh studi.
8. Keluarga tercinta, AbiTajuddin Thalabi, Ibunda Amilah, Mas Yahya Muhammad, Dina Amaliyah Mushthoza, Muhammad Subhan, Hamdi Ahmadi Mushzabi, Iis Hasanah, Zidna Zuhdana Mushthoza, Ahmad Yahya, Dimas Tasbihi Muhammad Al-Attas, Syadzrah Arriviah Al-Athiyyah, Dihsyan Tasyrifu Ahmad Al-Attas, Hamish Jarvis El-Jawwad, Haisha Hayya El-Jannah yang selalu memberikan dukungan moril, materiil dan spiritual serta ketulusan do'anya sehingga penulisan tesis ini dapat terselesaikan.
9. Teman-temanku, Qurrotu 'Ayun, M.A, Nur Aini Fikriyah, Raden Joko Kuncoro Ningrat Susilo, Suhailah Hayaza yang telah memberikan semangat dan motivasi dalam menyelesaikan tesis ini.
10. Seluruh teman-teman S2 Biologi yang berjuang bersama-sama untuk mencapai kesuksesan yang diimpikan.

11. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang turut membantu dalam menyelesaikan tesis ini baik berupa materiil maupun moril.

Semoga Allah SWT memberikan balasan atas bantuan dan pemikirannya.

Akhir kata, penulis berharap tesis ini bisa memberikan manfaat bagi penulis khususnya dan bagi pembaca pada umumnya serta menambah khazanah ilmu pengetahuan. *Aamin Ya Rabbal Aalamiin.*

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Surabaya, 27 Juli 2022

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERNYATAAN	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR LAMPIRAN	x
ABSTRAK	xi
ABSTRACT	xii
 BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	6
1.3 Tujuan Penelitian	7
1.4 Manfaat Penelitian	8
 BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Kanker Serviks	9
2.2 Apoptosis Sel Kanker	13
2.3 Sel HeLa sebagai Model Studi in Vitro	15
2.4 Sitokin	16
2.4.1 Interleukin-2 (IL-2)	18
2.4.2 Interleukin-12 (IL-12)	19
2.4.3 Tumor necrosis factor alpha (TNF- α)	20
2.4.4 Interferon gamma (IFN- γ)	22
2.5 Doxorubicin	24
2.6 Tanaman Okra (<i>Abelmoschus esculentus</i> L.)	26
 BAB III KERANGKA KONSEP	
3.1. Kerangka Konsep Penelitian	31
3.2 Hipotesis	34
3.2.1 Hipotesis kerja	34
3.2.2 Hipotesis statistik	34
 BAB IV METODE PENELITIAN	
4.1 Waktu dan Tempat Penelitian	36
4.2 Alat dan Bahan Penelitian	36
4.2.1 Alat penelitian	36
4.2.2 Bahan penelitian	37
4.3 Rancangan Penelitian	37
4.4 Prosedur Penelitian	38
4.4.1 Sterilisasi alat	38
4.4.2 Pembuatan ekstrak kasar polisakarida okra hijau	38
4.4.3 Pengukuran pertumbuhan sel HeLa	39
4.4.4 Pengukuran kadar IL-2	39

4.4.5 Pengukuran kadar IL-12	40
4.4.6 Pengukuran kadar TNF- α	41
4.4.7 Pengukuran kadar IFN- γ	41
4.4.8 Pengukuran indeks apoptosis sel HeLa	42
4.5 Variabel dan Definisi Operasional	43
4.5.1 Variabel bebas	43
4.5.2 Variabel terikat	43
4.5.3 Variabel kendali	43
4.5.4 Definisi operasional variabel	43
4.6 Analisis Data	44
4.7 Kerangka Operasional	46
BAB V HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	
5.1 Hasil Penelitian	47
5.1.1 Pengaruh pemberian ekstrak kasar polisakarida okra hijau (<i>Abelmoschus esculentus L.</i>) terhadap viabilitas sel HeLa	47
5.1.2 Pengaruh pemberian ekstrak kasar polisakarida okra hijau (<i>Abelmoschus esculentus L.</i>) terhadap kadar IL-2	50
5.1.3 Pengaruh pemberian ekstrak kasar polisakarida okra hijau (<i>Abelmoschus esculentus L.</i>) terhadap kadar IL-12	52
5.1.4 Pengaruh pemberian ekstrak kasar polisakarida okra hijau (<i>Abelmoschus esculentus L.</i>) terhadap kadar TNF- α	54
5.1.5 Pengaruh pemberian ekstrak kasar polisakarida okra hijau (<i>Abelmoschus esculentus L.</i>) terhadap kadar IFN- γ	56
5.1.6 Pengaruh pemberian ekstrak kasar polisakarida okra hijau (<i>Abelmoschus esculentus L.</i>) terhadap indeks apoptosis sel HeLa	58
5.2 Pembahasan	63
5.2.1 Pengaruh pemberian Doxorubicin terhadap viabilitas sel HeLa, kadar sitokin, dan indeks apoptosis sel HeLa	63
5.2.2 Pengaruh pemberian ekstrak kasar polisakarida okra hijau terhadap viabilitas sel HeLa	65
5.2.3 Pengaruh pemberian ekstrak kasar polisakarida okra hijau terhadap kadar sitokin	67
5.2.4 Pengaruh pemberian ekstrak kasar polisakarida okra hijau terhadap indeks apoptosis sel HeLa	71
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	
6.1 Kesimpulan	77
6.2 Saran	77
DAFTAR PUSTAKA	79

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Perkembangan dari infeksi HPV produktif menjadi ganas	11
2.2 Struktur senyawa penyusun <i>doxorubicin</i>	24
2.3 Tanaman okra (<i>Abelmoschus esculentus L.</i>)	27
4.1 Kerangka operasional penelitian	46
5.1 Grafik presentase viabilitas pada kultur sel kanker serviks HeLa	48
5.2 Grafik kadar IL-2 pada kultur sel kanker serviks HeLa	51
5.3 Grafik kadar IL-12 pada kultur sel kanker serviks HeLa	53
5.4 Grafik kadar TNF- α pada kultur sel kanker serviks HeLa	55
5.5 Grafik kadar IFN- γ pada kultur sel kanker serviks HeLa	57
5.6 Grafik indeks apoptosis pada kultur sel kanker serviks HeLa	60
5.7 Hasil <i>flowcytometry</i> indeks apoptosis pada kultur sel kanker serviks HeLa	61

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
5.1 Lampiran data hasil analisis SPSS viabilitas sel HeLa	L-1
5.2 Lampiran data hasil analisis SPSS IL-2	L-2
5.3 Lampiran data hasil analisis SPSS IL-12	L-3
5.4 Lampiran data hasil analisis SPSS TNF- α	L-4
5.5 Lampiran data hasil analisis SPSS IFN- γ	L-5
5.6 Lampiran data hasil analisis SPSS indeks apoptosis sel HeLa	L-6
5.7 Lampiran dokumentasi penelitian	L-7

Fina Syifa'una Musthoza. 2022. Analisis In Vitro Potensi Antikanker Ekstrak Kasar Polisakarida Okra Hijau (*Abelmoschus esculentus* L.) pada Kultur Sel Kanker Serviks Hela.

Tesis ini dibawah bimbingan: Prof. Win Darmanto, M.Si., Ph.D dan Dr. Dwi Winarni, M.Si, Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga, Surabaya.

ABSTRAK

Okra hijau (*Abelmoschus esculentus* L.) merupakan salah satu tanaman yang kaya akan kandungan polisakarida, namun aktivitas antikankernya masih perlu dieksplorasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antikanker ekstrak polisakarida kasar okra hijau dengan mengukur pengaruhnya terhadap presentase viabilitas sel HeLa, kadar sitokin proinflamasi IL-2, IL-12, TNF- α , dan IFN- γ pada kultur sel kanker serviks HeLa, dan indeks apoptosis sel HeLa. Penelitian ini menggunakan sel HeLa sebagai model penelitian dengan empat kelompok, yaitu KN (media dan DMSO), K+ (doxorubicin 10 $\mu\text{g/mL}$), P1 (ekstrak *Abelmoschus esculentus* L. 200 $\mu\text{g/mL}$) dan P2 (ekstrak *Abelmoschus esculentus* L. 400 $\mu\text{g/mL}$). Okra hijau diekstraksi menggunakan etanol. Presentase viabilitas sel HeLa dianalisis dengan uji MTT. Kadar sitokin dianalisis dengan uji ELISA. Indeks apoptosis sel HeLa dianalisis dengan flowcytometry program *guava nexin software* 3.3. Hasil analisis *one way* ANOVA menunjukkan penurunan persentase viabilitas sel HeLa ($p < 0,005$), penurunan kadar sitokin IL-2 dan IL-12 ($p < 0,005$) pada kelompok perlakuan pemberian ekstrak kasar polisakarida okra hijau.. Hasil analisis Kruskal Wallis menunjukkan penurunan kadar TNF- α ($p < 0,005$) pada kelompok perlakuan pemberian ekstrak kasar polisakarida okra hijau.. Hasil analisis Brown-Forsythe menunjukkan penurunan kadar IFN- γ ($p < 0,005$) pada kelompok perlakuan pemberian ekstrak kasar polisakarida okra hijau.. Hasil analisis Kruskal Wallis menunjukkan peningkatan indeks apoptosis sel HeLa ($p < 0,005$) pada kelompok perlakuan pemberian ekstrak kasar polisakarida okra hijau. Kesimpulannya, ekstrak polisakarida okra hijau berpotensi sebagai antikanker dan agen terapi kanker. Penelitian tentang ekstrak kasar polisakarida okra hijau sebagai immunosupressant pada kultur sel kanker serviks HeLa diharapkan dapat menjadi sumber bioceutical yang potensial.

Kata kunci: Polisakarida, *Abelmoschus esculentus* L., Kanker serviks, Sel HeLa, Viabilitas sel, Sitokin proinflamasi, Apoptosis sel

Fina Syifa'una Musthoza. 2022. In Vitro Analysis of Anticancer Potential of Green Okra (*Abelmoschus esculentus* L.) Polysaccharide Extracts In Hela Cervical Cancer Cell Culture.

This thesis is under the guidance: Prof. Win Darmanto, M.Si., Ph.D dan Dr. Dwi Winarni, M.Si, Departement of Biology, Faculty of Sains dan Technology, Airlangga University, Surabaya.

ABSTRACT

Green okra (*Abelmoschus esculentus* L.) is one of the plant that is rich in polysaccharide content, but its anticancer activity is still need explore. This study aimed to explore the anticancer activity crude extract polysaccharide of Green okra by measure the effect on viability HeLa cells, levels of proinflammatory cytokines IL-2, IL-12, TNF- α , IFN- γ in HeLa cervical cancer cell culture, and apoptotic index of Hela cells. This study used HeLa cells as a research model with four groups, including KN (media and DMSO), K+ (doxorobicin 10 $\mu\text{g/mL}$), P1 (*Abelmoschus esculentus* L. extract 200 $\mu\text{g/mL}$) and P2 (*Abelmoschus esculentus* L. extract 400 $\mu\text{g/mL}$). The Green okra (*Abelmoschus esculentus* L.) was extracted using etahnol. Viability HeLa cells were analyzed using MTT assay. Cytokine levels were analyzed using the ELISA assay. Apoptotic index of HeLa cells were analyzed using flowcytometry with *guava nexin software 3.3*. The results of one way ANOVA analysis showed a decrease in the percentage of HeLa cell viability ($p < 0.005$), decreased levels of IL-2 and IL-12 cytokines ($p < 0.005$) in the treatment group with green okra polysaccharide crude extract. The results ofKruskal Wallis analysis showed a decrease in levels. TNF- ($p < 0.005$) in the treatment group with green okra polysaccharide crude extract. The results of Brown-Forsythe analysis showed a decrease in IFN- γ levels ($p < 0.005$) in the treatment group with green okra polysaccharide crude extract. Kruskal Wallis analysis results showed an increase in the apoptotic index of HeLa cells ($p < 0.005$) in the treatment group with green okra polysaccharide crude extract. In conclusion, the polysaccharide extract of Green okra has the potential as an anticancer and therapeutic agent for cancer. Research on crude extract polysaccharide of green okra okra as an immunosuppressant in culture cervical cancer cells HeLa is expected to be a potential bioceutical source.

Key word: Polysaccharide, *Abelmoschus esculentus* L., Cervical cancer, HeLa cell, Viability cells, Proinflammatory cytokine, Apoptotic cells