

**AKTIVITAS ANTI KANKER EKSTRAK POLISAKARIDA *Ganoderma
applanatum* UNTUK MENEKAN PERTUMBUHAN SEL HeLa**

TESIS

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



Nur 'Aini Fikriyah

NIM 082024153009

Program Studi Magister Biologi

Departemen Biologi

Fakultas Sains dan Teknologi

Universitas Airlangga

Surabaya

2022

TESIS

AKTIVITAS ANTI KANKER EKSTRAK POLISAKARIDA *Ganoderma applanatum* UNTUK MENEKAN PERTUMBUHAN SEL HeLa

Yang dipersiapkan dan disusun oleh

Nur 'Aini Fikriyah

NIM. 082024153009

Telah dipertahankan di depan Dewan Penguji pada tanggal 06 Juli 2022

Susunan Dewan Penguji

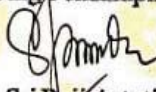
Pembimbing Utama



Prof. Win Darmanto, M.Si., Ph.D.

NIP. 196106161987011001

Pembimbing Pendamping



Prof. Dr. Sri Puji Astuti Wahyuningsih, M.Si.

NIP. 196602211992032001

Penguji I



Dr. Listyani Suhargo, M.Si.

NIP. 196209171988102001

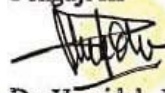
Penguji II



Prof. Dr. Alfiah Hayati, M.Kes.

NIP. 196404181988102001

Penguji III



Dr. Hamidah, M.Kes.

NIP. 196306101987012001

Tesis ini telah diterima sebagai salah satu persyaratan
Untuk memperoleh gelar Magister Sains tanggal 06 Juli 2022

Mengetahui,
Ketua Departemen Biologi



Prof. Dr. Sri Puji Astuti Wahyuningsih, M.Si.

NIP. 196602211992032001

Koordinator Program Studi
Magister Biologi



Prof. Dr. Alfiah Hayati, M.Kes.

NIP. 196404181988102001

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, 06 Juli 2022



Nur 'Aini Fikriyah, S.Si.

KATA PENGANTAR

Puji syukur ke hadirat Allah Subhanahu wata'ala yang telah melimpahkan rahmat, karunia, dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan tesis dengan tepat waktu dengan judul “Aktivitas anti kanker ekstrak polisakarida *Ganoderma applanatum* untuk menekan pertumbuhan sel HeLa”. Tesis ini merupakan syarat untuk memperoleh gelar magister sains bidang biologi.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa penyusunan tesis ini dapat selesai dengan baik karena adanya dukungan, semangat, doa dan bimbingan dari berbagai pihak. Oleh karenanya, penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada seluruh pihak yang sudah membantu selesainya tesis ini.

Penyusunan tesis ini disusun dengan sebaik - baiknya, namun masih terdapat kekurangan di dalam nya. Oleh karena itu, saran dan kritik yang membangun sangat diharapkan. Semoga tesis ini dapat bermanfaat tidak hanya bagi penyusun juga bagi pembaca.

Surabaya, 2022

Penulis

UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah puji syukur selalu penulis panjatkan ke hadirat Allah *Subhanahu wa Ta'ala* yang tak pernah henti memberikan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan tesis ini dengan baik. Penulis menyadari bahwa penyusunan tesis ini dapat berjalan baik karena adanya dukungan dan bantuan dari berbagai pihak sejak awal hingga akhir penulisan tesis ini. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada :

1. Prof. H. Win Darmanto, M.Si., Ph.D., selaku dosen pembimbing I yang telah meluangkan waktu, tenaga, dan pikirannya untuk membimbing, memberikan arahan dan bantuan selama penyusunan naskah tesis ini.
2. Prof. Dr. Sri Puji Astuti Wahyuningsih, M.Si., selaku dosen pembimbing II yang telah membantu meluangkan waktu, tenaga dan pikiran untuk membimbing penulis selama penyusunan naskah tesis ini.
3. Dr. Listyani Suhargo, M.Si., selaku dosen penguji I yang telah memberikan saran, masukan, dan arahan dalam penyusunan tesis ini.
4. Prof. Dr. Alfiah Hayati, M.Kes. selaku dosen penguji II yang telah memberikan saran, masukan, dan arahan dalam penyusunan tesis ini.
5. Dr. Hamidah, M.Kes. selaku peguji III yang telah memberikan saran, masukan, dan arahan dalam penyusunan naskah tesis ini.
6. Kedua orang tua penulis yang selalu mendoakan, memberikan support, dan mengarahkan selama penyusunan naskah tesis ini.
7. Kedua teman proyek penulis yang selalu berusaha, berdoa dan belajar bersama dari penelitian hingga sampai selesainya naskah tesis ini.
8. Teman dekat penulis yang selalu memberikan support dan bantuan dalam menyelesaikan naskah ini.

9. Semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu - persatu baik secara langsung maupun tidak langsung yang telah membantu menyelesaikan, memberi support, bantuan, dan doa kepada penulis dalam menyelesaikan naskah ini.

Penyusunan naskah tesis ini telah disusun dengan sebaik - baiknya, kiranya terdapat kesalahan saran dan kritik sangat diharapkan.

Surabaya,

Penyusun,

Nur 'Aini Fikriyah

DAFTAR ISI

JUDUL.....	1
LEMBAR PENGESAHAN	2
SURAT PERNYATAAN.....	3
KATA PENGANTAR	4
UCAPAN TERIMAKASIH.....	5
DAFTAR ISI.....	7
DAFTAR GAMBAR	10
ABSTRAK... ..	11
ABSTRACT.....	12
BAB I PENDAHULUAN.....	13
1.1 Latar Belakang	13
1.2 Rumusan Masalah	15
1.3 Tujuan Penelitian	16
1.4 Manfaat Penelitian	17
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	18
2.1 Tinjauan Kanker Serviks.....	18
2.2 Tinjauan sel Hela Kanker Serviks.....	19
2.3 Apoptosis Sel	21
2.4 Viabilitas sel.....	22
2.5 Caspase-9	23
2.6 Caspase-3	24
2.7 <i>Ganoderma applanatum</i>	24
2.8 Polisakarida <i>G. applanatum</i>	25
2.9 β -glukan	26
2.10 <i>Doxorubicin</i>	28
BAB III KERANGKA KONSEP.....	30
3.1 Kerangka Konsep.....	30

3.2 Hipotesis.....	32
3.2.1 Hipotesis kerja.....	32
3.2.2 Hipotesis statistik	32
BAB IV METODE PENELITIAN	34
4.1 Waktu dan Tempat Penelitian	34
4.2 Alat dan Bahan Penelitian	34
4.2.1 Alat penelitian	34
4.2.2 Bahan penelitian.....	34
4.3 Rancangan Penelitian	35
4.4 Variabel dan Definisi Operasional	35
4.4.1 Variabel penelitian	35
4.4.2 Definisi operasional variabel.....	35
4.5 Prosedur Kerja.....	37
4.5.1 Pembuatan serbuk polisakarida dari ekstrak jamur <i>G. applanatum</i>	37
4.5.2 Kultur sel HeLa	37
4.5.3 Pengukuran kadar caspase-9 dan caspase-3	37
4.5.4 Pengukuran indeks apoptosis sel HeLa.....	38
4.5.5 Pengukuran viabilitas sel HeLa menggunakan uji MTT.....	38
4.6 Analisis Data	39
4.7 Kerangka Operasional.....	40
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN.....	41
5.1 Hasil	41
5.1.1 Pengaruh pemberian ekstrak polisakarida <i>G. applanatum</i> terhadap kadar caspase-9	41
5.1.2 Pengaruh pemberian ekstrak polisakarida <i>G. applanatum</i> terhadap kadar caspase-3	42
5.1.3 Pengaruh pemberian ekstrak polisakarida <i>G. applanatum</i> terhadap indeks apoptosis sel HeLa	43
5.1.4 Pengaruh pemberian ekstrak polisakarida <i>G. applanatum</i> terhadap viabilitas sel kanker serviks	46

5.1.5 Analisis jalur pengaruh pemberian ekstrak polisakarida <i>G. applanatum</i> dan hubungan antar variabel penelitian	47
5.2 Pembahasan.....	49
5.2.1 Pengaruh pemberian ekstrak polisakarida <i>G. applanatum</i> terhadap kadar caspase-9	49
5.2.2 Pengaruh pemberian ekstrak polisakarida <i>G. applanatum</i> terhadap kadar caspase-3	50
5.2.3 Pengaruh pemberian ekstrak polisakarida <i>G. applanatum</i> terhadap indeks apoptosis sel	51
5.2.4 Pengaruh pemberian ekstrak polisakarida <i>G. applanatum</i> terhadap viabilitas sel kanker serviks	52
5.2.5 Analisis jalur pemberian polisakarida <i>G. applanatum</i> terhadap kadar caspase-9, caspase-3, indeks apoptosis dan viabilitas sel dalam menekan pertumbuhan sel kanker HeLa.	53
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	54
6.1 Kesimpulan	54
6.2 Saran.....	55
DAFTAR PUSTAKA	56
LAMPIRAN.....	60

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Anatomi reproduksi wanita (Norseth et al., 2014).....	18
Gambar 2. 2 Morfologi sel HeLa (Hutomo et al., 2016).....	20
Gambar 2. 3 Peran caspase-9 dan caspase-3 dalam proses apoptosis sel. (Rampal et al, 2012).....	23
Gambar 2. 4 Jamur Ganoderma applanatum.....	25
Gambar 2. 5 Struktur kimia β -Glukan	27
Gambar 2. 6 Struktur Senyawa Doxorubicin (Bruton et al, 2005).....	28
Gambar 5. 1 Hasil Kadar caspase-9 setelah pemberian ekstrak polisakarida <i>G. applanatum</i>	41
Gambar 5. 2 Hasil Kadar caspase-3 setelah pemberian ekstrak polisakarida <i>G. applanatum</i>	42
Gambar 5. 3 Hasil Indeks apoptosis terhadap pemberian ekstrak polisakarida <i>G. applanatum</i>	44
Gambar 5. 4 Hasil indeks apoptosis menggunakan flowcytometry.....	45
Gambar 5. 5 Hasil viabilitas sel setelah pemberian polisakarida <i>G. applanatum</i>	46
Gambar 5. 6 Bagan analisis jalur regresi linier pengaruh pemberian polisakarida <i>G. applanatum</i> terhadap variabel penelitian.....	47

Nur ‘Aini Fikriyah. 2022. Aktivitas Anti Kanker Ekstrak Polisakarida *Ganoderma applanatum* untuk Menekan Pertumbuhan Sel Kanker Serviks

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

ABSTRAK

Ekstrak polisakarida *Ganoderma applanatum* mengandung β -glukan yang memiliki kemampuan sebagai obat anti kanker dengan melalui jalur apoptosis. Tujuan penelitian ini yaitu menganalisis mekanisme polisakarida *G. applanatum* terhadap sel kanker serviks HeLa secara *in vitro*. Dalam penelitian ini dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan yaitu KN (media dan DMSO), K⁺ (*Doxorubicin*), P1 (ekstrak dosis 200 $\mu\text{g/mL}$) dan P2 (ekstrak dosis 400 $\mu\text{g/mL}$) dan dilakukan replikasi sebanyak 6 kali. Parameter yang diamati yaitu viabilitas, kadar caspase-9 dan 3, dan indeks apoptosis sel kanker HeLa. Uji viabilitas dilakukan pada waktu 24, 48, dan 72 jam, hasil terbaik yaitu pada waktu 48 jam maka semua perlakuan dilakukan pada waktu 48 jam. Uji kadar caspase-9 dan 3 diambil dari pelet yang telah diberi perlakuan ekstrak dan dilanjutkan dengan uji ELISA. Uji indeks apoptosis diambil dari pelet yang telah diberi perlakuan ekstrak dan diuji dengan *flowcytometry*. Hasil yang didapatkan yaitu pada uji viabilitas hasil dosis ekstrak tertinggi pada dosis 400 $\mu\text{g/mL}$, tetapi tidak signifikan dengan dosis 200 $\mu\text{g/mL}$ dan kontrol positif. Kadar caspase-9 dan 3 didapatkan hasil paling tinggi yaitu pada pemberian dosis 400 $\mu\text{g/mL}$ tetapi tidak signifikan pula dengan dosis 200 $\mu\text{g/mL}$ dan kontrol positif. Indeks apoptosis hasil pemberian ekstrak tertinggi pada dosis 400 $\mu\text{g/mL}$ dengan persentase sel hidup sebanyak 28,4%; apoptosis awal sebanyak 4,3%; apoptosis akhir sebanyak 56,1% dan nekrosis sebanyak 11,2%. sedangkan pada dosis 200 $\mu\text{g/mL}$ persentase sel hidup sebanyak 39,2%; apoptosis awal sebanyak 3,4%; apoptosis akhir sebanyak 45,6% dan nekrosis sebanyak 11,9%. Seiring bertambahnya dosis ekstrak polisakarida *G. applanatum* yang diberikan, maka semakin tinggi pula kadar caspase-9 (P2), kadar caspase-3 (P2), dan indeks apoptosis. Sedangkan hasil viabilitas sel menurun seiring dengan bertambahnya dosis ekstrak yang diberikan.

Kata Kunci : *Ganoderma applanatum*, polisakarida, β -glukan, apoptosis, sel HeLa

Nur ‘Aini Fikriyah. 2022. Anti-cancer activity of *Ganoderma applanatum* polysaccharide extract to suppress the growth of cervical cancer cells.

This thesis is under the guidance : Prof. Win Darmanto, M.Si., Ph.D. dan Prof. Dr. Sri Puji Astuti Wahyuningsih, M.Si., Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga, Surabaya

ABSTRACT

Ganoderma applanatum polysaccharides extract, especially β -glucan, are known to have the ability as anti-cancer drugs through the apoptotic pathway. The purpose of this study was to analyze the mechanism of the polysaccharide of *G. applanatum* in cervical cancer cells in vitro. In this study, they were divided into 4 treatment groups, there is KN (media and DMSO), K+ (*Doxorubicin*), P1 (extract dose of 200 g/mL) and P2 (extract dose of 400 g/mL) and replicated 6 times. Parameters observed were viability, levels of caspase-9 and 3, and HeLa cancer cell apoptosis index. The viability test was carried out at 24, 48, and 72 hours, the best results were at 48 hours, then all treatments were carried out within 48 hours. Caspase-9 and 3 levels were taken from the pellets that had been treated with extract and continued with the ELISA test. The apoptotic index test was taken from pellets that had been treated with extract and tested by flowcytometry. The results obtained were in the viability test the results of the highest extract dose at a dose of 400 g/mL, but not significant at a dose of 200 g/mL and a positive control. Caspase-9 and 3 levels were the highest at a dose of 400 g/mL but not significant at a dose of 200 g/mL and positive control. The apoptotic yield index given the highest extract was at a dose of 400 g/mL with the proportion of living cells being 28.4%; early apoptosis 4.3%; final apoptosis was 56.1% and necrosis was 11.2%. while at a dose of 200 g/mL the proportion of living cells was 39.2%; early apoptosis 3.4%; final apoptosis was 45.6% and necrosis was 11.9%. As the dose of *G. applanatum* polysaccharide extract increased, the levels of caspase-9, levels of caspase-3, and the apoptotic index increased. While the result of cell viability decreased with increasing the dose of the given extract.

Keywords : *Ganoderma applanatum*, polysaccharide, β -glucan, apoptotic, HeLa cells.