

**EKSPRESI SIKLOOOKSIGENASE-2 PADA MEMBRAN
KORIOALANTOIS TELUR AYAM BEREMBRIO SETELAH
PEMBERIAN EKSTRAK BIJI JINTEN HITAM (*Nigella sativa*) DAN
DIINDUKSI bFGF DENGAN METODE IMUNOHISTOKIMIA**



ALBERT SEBASTIAN GANI

2443013051

PROGRAM STUDI S1

FAKULTAS FARMASI

UNIVERSITAS KATOLIK WIDYA MANDALA SURABAYA

2017

**EKSPRESI SIKLOOOKSIGENASE-2 PADA MEMBRAN
KORIOALANTOIS TELUR AYAM BEREMBRIO SETELAH
PEMBERIAN EKSTRAK BIJI JINTEN HITAM (*Nigella sativa*) DAN
DIINDUKSI bFGF DENGAN METODE IMUNOHISTOKIMIA**

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi sebagian persyaratan
memperoleh gelar Sarjana Farmasi Program Studi Strata 1
di Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya

OLEH :

ALBERT SEBASTIAN GANI

2443013051

Telah disetujui pada tanggal 19 Mei 2017 dan dinyatakan **LULUS**

Pembimbing I



Dr. Iwan Sahrial Hamid, drh., M. Si.
NIP. 196807131993031009

Pembimbing II



Lisa Soegianto, M.Sc., Apt.
NIK. 241.07.0609

Mengetahui,
Ketua Penguji



Suryo Kuncorojakti, M Vet., drh
NIP. 198507012009121009

**LEMBAR PERSETUJUAN
PUBLIKASI KARYA ILMIAH**

Demi perkembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui skripsi/karya ilmiah saya, dengan judul **Ekspresi Siklooksigenase-2 pada Membran Korioalantois Telur Ayam Berembrio setelah Pemberian Ekstrak Jintan Hitam (*Nigella sativa*) dan Diinduksi bFGF dengan Metode Imunohistokimia** untuk dipublikasikan atau ditampilkan di internet atau media lain yaitu *Digital Library* Perpustakaan Unika Widya Mandala Surabaya untuk kepentingan akademik sebatas sesuai dengan Undang-Undang Hak Cipta.

Demikian pernyataan persetujuan publikasi karya ilmiah ini saya buat dengan sebenarnya.

Surabaya, Juni 2017



Albert Sebastian Gani

2443013051

Saya menyatakan dengan sesungguhnya bahwa hasil tugas akhir ini adalah benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri.

Apabila di kemudian hari diketahui bahwa skripsi ini merupakan hasil plagiarisme, maka saya bersedia menerima sanksi berupa pembatalan kelulusan dan atau pencabutan gelar yang saya peroleh.

Surabaya, Juni 2017



Albert Sebastian Gani

2443013051

ABSTRAK

EKSPRESI SIKLOOKSIGENASE-2 PADA MEMBRAN KORIOALANTOIS TELUR AYAM BEREMBRIO SETELAH PEMBERIAN EKSTRAK BIJI JINTEN HITAM (*Nigella sativa*) DAN DIINDUKSI bFGF DENGAN METODE IMUNOHISTOKIMIA

ALBERT SEBASTIAN GANI

2443013051

Nigella sativa (jinten hitam) merupakan salah satu tanaman yang dapat digunakan untuk pengobatan. Ekstrak etanol *Nigella sativa* mempunyai aktivitas sebagai kemopreventif. Aktivitas biologisnya terutama dipengaruhi oleh kandungan timokuinon. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak biji jinten hitam dan dosis efektifnya terhadap jumlah ekspresi COX-2 pada membran korioalantois telur ayam berembrio (TAB) yang diinduksi oleh bFGF. Subjek penelitian berupa telur ayam berembrio sebanyak 24 butir telur berumur 9 hari dengan 6 kelompok perlakuan, masing-masing kelompok menggunakan 4 butir telur. Kelompok K(+) menggunakan bFGF, kelompok K(-) menggunakan Tris-HCl, kelompok uji I menggunakan ekstrak *Nigella sativa* dengan dosis 75 µg, kelompok uji II menggunakan ekstrak *Nigella sativa* dengan dosis 90 µg, kelompok uji III menggunakan ekstrak *Nigella sativa* dengan dosis 110 µg, kelompok uji IV (pembanding) menggunakan celecoxib dengan dosis 3mg/kg BB. Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental laboratorik dengan menggunakan variabel bebas untuk mempengaruhi dampak pada variabel tergantung. Ekstrak *Nigella sativa* dibuat dengan metode sokhletasi dengan pelarut etanol. Penelitian ini menggunakan metode imunohistokimia dengan antibodi monoklonal anti siklooksigenase-2 (COX-2) dan dianalisis dengan skor imunoreaktif dari intensitas warna dan luas pewarnaan. Hasil penelitian membuktikan bahwa terjadi hambatan terhadap ekspresi COX-2 seiring dengan peningkatan dosis ekstrak etanol *Nigella sativa*. Dosis efektif dalam penelitian ini yaitu 110 µg yang menunjukkan ekspresi COX-2 kurang dari 10% jumlah sel teramati.

Kata kunci: *Nigella sativa*, imunohistokimia, COX-2, telur ayam berembrio, membran korioalantois, bFGF.

ABSTRACT

EXPRESSION OF CYCLOOXYGENASE-2 ON CHICK EMBRYO CHORIOALLANTOIC MEMBRANE AFTER THE ADMINISTRATION OF BLACK CUMIN SEEDS (*Nigella sativa*) AND INDUCED BY bFGF WITH IMMUNOHISTOCHEMISTRY METHOD

**ALBERT SEBASTIAN GANI
2443013051**

Nigella sativa (black cumin) is one of many plants that are used for medication. The ethanol extract of *Nigella sativa* has chemopreventive activity. Its biological activity is mainly influenced by the content of thymoquinon compounds. This study aimed to determine the effect and an effective dosage of ethanol extract of *Nigella sativa* against cyclooxygenase-2 (COX-2) expression on chick chorioallantoic membrane that was induced by bFGF. The subject of the study was 24 of embryonated 9 days old chicken embryo which were divided into 6 groups, each group using 4 eggs. Group K(+) was bFGF, group K(-) was Tris-HCl, group I was extract of *Nigella sativa* with dose 75 µg, group II was extract of *Nigella sativa* with dose 90 µg, group III was extract of *Nigella sativa* with dose 110 µg, group IV (comparator) was celecoxib with dose 3 mg/kg BB. This study was a true-experimental research type and used an independent variable to influence the impact of dependent variable. Extracts were prepared by soxhletation method using ethanol. This study used immunohistochemistry method with monoclonal antibody anti COX-2 and analyzed by immunoreactive score from colour intensity and staining area. The results of this study proved that ethanol extract of *Nigella sativa* could resist the expression of COX-2 on chick chorioallantoic membrane along with the increase of dosage. The effective dose based on this study was 110 µg which indicate the lowest expression of COX-2 with less than 10% from observed cells.

Keywords: *Nigella sativa*, immunohistochemistry, COX-2, chick embryo membrane, chorioallantoic membrane, bFGF

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa karena atas berkat, rahmat dan penyertaan-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Skripsi dengan judul “Ekspresi Siklooksigenase-2 pada Membran Korioalantois Telur Ayam Berembrio Setelah Pemberian Ekstrak Biji Jintan Hitam (*Nigella sativa*) dan Diinduksi bFGF dengan Metode Imunohistokimia” ini disusun untuk memenuhi persyaratan guna memperoleh gelar Sarjana Farmasi di Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.

Skripsi ini tidak dapat terselesaikan dengan baik tanpa adanya bantuan dari berbagai pihak, oleh karena itu pada kesempatan ini penulis menyampaikan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada pihak-pihak yang telah membantu dalam proses penyusunan naskah skripsi ini:

1. Tuhan Yesus Kristus atas berkat, rahmat, kekuatan dan penyertaan-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
2. Papa Arnoldus Soro, Mama Beatrix Dasowio, serta kakak-kakak saya, drg. Maria Claudia Melanie, Fransiskus Xaverius Junago, S.H., Lucia Clarisaa Arens yang telah menyayangi, mendampingi, memberikan doa dan semangat kepada penulis.
3. Dr. Iwan Sahrial Hamid, drh., M. Si. dan Lisa Soegianto, S.Si., M.Sc., Apt. selaku dosen pembimbing atas saran, nasehat, semangat, kesabaran dan waktu yang telah banyak diluangkan untuk mendampingi penulis selama proses pengerjaan dan penyusunan naskah skripsi ini.
4. Suryo Kuncorojakti, drh., M. Vet. dan Elisabeth Kasih, S. Farm., M. Farm. Klin., Apt selaku ketua penguji dan penguji atas saran yang diberikan.

5. Drs. Kuncoro Foe, G.Dip.Sc., Ph.D. selaku penasehat akademik yang turut memberi saran selama proses perkuliahan hingga terselesaikannya skripsi ini.
6. Mas Tri (laboran Lab. Farmakognosi-Fitokimia) dan Mas Dwi (laboran Lab. Penelitian) yang telah membantu selama proses pengerjaan skripsi ini.
7. Mas Anto (Laboran Lab. Mikrobiologi Analisis), Mas Rendi (Laboran Lab. Diagnostik Klinik), dan Mbak Tyas (Laboran Lab. Kimia Analisis) dan semua laboran yang telah membantu, memberi semangat dan mendengarkan keluh kesah penulis selama proses pengerjaan skripsi ini.
8. Teman seperjuangan Erdi Malutama, Bernardus, Elisabeth Kristin, Stella Calista, Maria Yosevine yang selalu bersama melewati masa perkuliahan
9. Angga Hadi dan Danny Cahya yang telah menemani dan memberi dukungan serta semangat kepada penulis dalam menyelesaikan penelitian hingga penyusunan naskah skripsi ini.
10. Natalia, Adit, Irma, Julius, Ivan, Feny, Mercy, Vika, Johan, Yeri, Happy, Jessica Novita, Jessica Vania dan seluruh teman SMA yang telah menjadi teman tertawa bersama disaat penulis mulai lelah.
11. RD. Yohanes Rudianada, RD.Yuventius Dhevi Ghawa, Mas Bagus Stevanus, Anastasia Yessy, Paskalia Yesninda, Stefania Maureen dan segenap keluarga Jaringan Aktivis Bunda Teresa yang selalu memberi dukungan serta semangat kepada penulis dalam menyelesaikan penelitian hingga penyusunan naskah skripsi ini.
12. Tim Basket Fakultas Farmasi yang telah menjadi teman tertawa bersama disaat penulis mulai lelah.

13. Agnestasia Widia dan Riadika Savitri yang telah menjadi teman tertawa bersama disaat penulis mulai lelah dan senantiasa memberikan semangat, serta kesediaannya untuk mendengarkan keluh kesah dan memberi saran kepada penulis.
14. Ibu Atin yang telah membantu dalam proses pengerjaan skripsi ini.
15. Semua pihak terkait yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Dengan keterbatasan pengalaman, pengetahuan maupun pustaka yang ditinjau, penulis menyadari kekurangan dalam penulisan naskah skripsi ini. Akhir kata penulis sangat mengharapkan kritik dan saran agar naskah skripsi ini dapat lebih disempurnakan.

Surabaya, April 2017

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK	i
<i>ABSTRACT</i>	ii
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	6
1.3 Tujuan Penelitian	6
1.4 Hipotesis Penelitian.....	7
1.5 Manfaat Penelitian	7
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	8
2.1 Tinjauan Umum tentang Tanaman Jintan Hitam.....	8
2.1.1. Tinjauan tentang Tanaman Jintan Hitam ..	8
2.1.2 Nama Daerah dan Nama Asing	8
2.1.3 Klasifikasi Tanaman.....	9
2.1.4 Nama Sinonim.....	9
2.1.5 Kandungan Kimia Tanaman	9
2.1.6 Kegunaan Tanaman.....	9
2.1.7 Tinjauan tentang Simplisia	10
2.2 Tinjauan tentang Ekstraksi	10
2.2.1. Metode Ekstraksi	10

	Halaman
2.3 Tinjauan tentang Ekstrak	12
2.4 Tinjauan tentang Standarisasi Ekstrak	12
2.4.1. Standarisasi	12
2.4.1.1 Parameter Non Spesifik.....	12
2.4.1.2 Parameter Spesifik.....	14
2.5 Skrining Fitokimia	15
2.5.1 Alkaloid.....	15
2.5.2 Saponin.....	16
2.5.3 Tanin.....	16
2.5.4 Flavonoid.....	16
2.5.5 Kuinon.....	17
2.5.6 Terpen.....	17
2.6 Tinjauan tentang Kanker	18
2.7 Tinjauan tentang Angiogenesis	19
2.8 Tinjauan tentang bFGF.....	23
2.9 Biji Tanaman Jintan Hitam Sebagai Kemopreventif Kanker	23
2.10 Membran Korioalantois Telur Ayam Berembrio sebagai Model Penelitian tentang Angiogenesis	24
2.11 Tinjauan tentang Siklooksigenase (COX)	26
2.12 Pengamatan Ekspresi Siklooksigenase-2 (COX-2) dengan Metode Imunohistokimia	27
BAB 3. METODE PENELITIAN	31
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	31
3.2 Bahan Penelitian	31
3.3 Alat Penelitian	32
3.4 Rancangan Penelitian	33

	Halaman
3.5 Tahapan Penelitian	34
3.5.1 Identifikasi Biji Jintan Hitam	34
3.5.2 Pembuatan Serbuk Simplisia Kering Tanaman	34
3.5.3 Standarisasi Mutu Simplisia	34
3.5.4 Pembuatan Ekstrak Kental Tanaman	36
3.5.5 Standarisasi Ekstrak Kental Tanaman	37
3.5.6 Skring Fitokimia	38
3.5.7 Penentuan Dosis Ekstrak Biji <i>Nigella sativa</i>	39
3.5.8 Pembuatan Larutan Uji	39
3.5.9 Induksi Angiogenesis dengan <i>basic Fibroblast Growth Factor</i>	40
3.5.10 Uji Daya Hambat terhadap Angiogenesis...	40
3.5.11 Metode Pewarnaan Imunohistokimia	43
3.6 Variabel Penelitian	44
3.7 Analisis Data	44
3.8 Alur Penelitian	46
BAB 4. HASIL PERCOBAAN DAN PEMBAHASAN	47
4.1 Hasil Penelitian	47
4.1.1 Hasil Makroskopis Biji Jintan Hitam	47
4.1.2. Proses Pembuatan Serbuk Biji Jintan Hitam	48
4.1.3. Hasil Standarisasi Simplisia Tanaman Uji .	48
4.1.4. Ekstraksi Serbuk Biji Jintan Hitam	49
4.1.5. Hasil Standarisasi Ekstrak Etanol Biji Jintan Hitam	50
4.2 Perhitungan Skor Imunoreaktif COX-2.....	55

	Halaman
4.3 Pembahasan.....	56
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	64
5.1 Kesimpulan	64
5.2 Saran	64
DAFTAR PUSTAKA	65
LAMPIRAN	74

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Tahap Proses Angiogenesis	21
2.2 Hasil Pewarnaan Imunohistokimia COX-2 pada <i>Undifferentiated carcinomasopharynx</i> terpulas pada <10% sel ganas dengan Intensitas Kuat (IHK COX-2,pembesaran 400x pada kotak kecil).....	29
2.3 Hasil Pewarnaan Imunohistokimia COX-2 pada <i>Undifferentiated carcinomasopharynx</i> terpulas pada 10-50% sel ganas dengan Intensitas Kuat (IHK COX-2, pembesaran 400x pada kotak kecil	29
2.4 Hasil Pewarnaan Imunohistokimia COX-2 pada <i>Undifferentiated carcinomasopharynx</i> terpulas pada >50% sel ganas dengan intensitas kuat (IHK COX-2,pembesaran 400x).....	30
3.1 Skema Alur Penelitian.....	46
4.1 Makroskopis Biji Jintan Hitam.....	47
4.2 Serbuk simplisia Biji jintan hitam	48
4.3 Ekstrak Etanol Biji <i>Nigella sativa</i>	50
4.4 Membran Korioalantois Telur Ayam Berembrio yang Menunjukan Pertumbuhan Pembuluh Darah yang Terbentuk pada dan Sekitar <i>Paper Disc</i>	52
4.5 Hasil mikroskopis ekspresi COX-2 dengan pewarnaan imunohistokimia menggunakan kromogen DAB pada membran korioalantois terinduksi bFGF yang diamati dengan mikroskop perbesaran 400x	54

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
3.1 Skor Intensitas dan Luas Pewarnaan	45
4.1 Hasil Pengamatan Makroskopis Biji Jintan Hitam	47
4.2 Hasil Standarisasi Serbuk Biji Jintan Hitam	49
4.3 Hasil Standarisasi Ekstrak Etanol Biji Jintan Hitam	51
4.4 Hasil Skrining Ekstrak Etanol Biji Jintan Hitam	51
4.5 Penentuan Skor Imunoreaktif Ekspresi COX-2	55

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A Dokumentasi Kegiatan Penelitian	74
B Perhitungan Bahan untuk Implantasi Telur Ayam Berembrio	82
C Perhitungan Rendemen Ekstraksi	84
D Perhitungan Pemeriksaan Karakterisasi Biji Jintan Hitam (<i>Nigella sativa</i>)	85
E Lokasi Penelitian	93
F Surat Keterangan Identifikasi	94