

AKTIVITAS ANTIANGIOGENESIS EKSTRAK BIJI *Nigella sativa* TERHADAP SEL HETEROFIL DAN MONOSIT DARAH MEMBRAN KORIOALANTOIS TELUR AYAM BEREMBRIO TERINDUKSI bFGF



E. KRISTIN YULIANA

2443013056

PROGRAM STUDI S1

FAKULTAS FARMASI

UNIVERSITAS KATOLIK WIDYA MANDALA SURABAYA

2017

**AKTIVITAS ANTIANGIOGENESIS EKSTRAK BIJI *Nigella sativa*
TERHADAP SEL HETEROFIL DAN MONOSIT DARAH
MEMBRAN KORIOALANTOIS TELUR AYAM BEREMBRIO
TERINDUKSI bFGF**

SKRIPSI

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

OLEH :

E. KRISTIN YULIANA

2443013056

Telah disetujui pada tanggal 30 Mei 2017 dan dinyatakan LULUS

Pembimbing I



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

Pembimbing II



Angelica Kreshamurti, M. Farm., Apt.
NIK. 241.00.0441

Mengetahui,
Ketua Penguji



Suryo Kuncorojakti, drh., M. Vet.
NIP. 198507012009121009

**LEMBAR PERSETUJUAN
PUBLIKASI KARYA ILMIAH**

Demi perkembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui skripsi/karya ilmiah saya, dengan judul: **Aktivitas Antiangiogenesis Ekstrak Biji *Nigella sativa* Terhadap Sel Heterofil dan Monosit Darah Membran Korioalantois Telur Ayam Berembrio Terinduksi bFGF** 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, 30 Mei 2017



E. Kristin Yuliana

2443013056

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, 30 Mei 2017



E. Kristin Yuliana

2443013056

ABSTRAK

AKTIVITAS ANTIANGIOGENESIS EKSTRAK BIJI *Nigella sativa* TERHADAP SEL HETEROFIL DAN MONOSIT DARAH MEMBRAN KORIOALANTOIS TELUR AYAM BEREMBRIO TERINDUKSI bFGF

**E. Kristin Yuliana
2443013056**

Kanker ditandai dengan timbulnya percabangan pembuluh darah baru atau yang dikenal dengan angiogenesis. Biji jintan hitam (*Nigella sativa*) memiliki senyawa yaitu *thymoquinone* yang berfungsi sebagai anti-inflamasi dan anti-kanker. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kemampuan antiangiogenesis dan dosis optimal ekstrak biji jintan hitam terhadap jumlah sel heterofil dan monosit membran korioalantois telur ayam berembrio yang diinduksi bFGF. Subjek penelitian berupa Telur Ayam Berembrio (TAB) 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, P0 menggunakan Celecoxib 60mg, kelompok P1(bFGF + 75 µg ekstrak), kelompok P2 (bFGF + 90 µg ekstrak), kelompok P3 (bFGF + 110 µg ekstrak). Telur diberi larutan uji dengan cara implantasi ke dalam membran korioalantois melalui lubang di atas posisi embrio. Hasil rata-rata jumlah sel heterofil tertinggi adalah kelompok K(+) ($40,50 \pm 3,697$), P1 ($27,25 \pm 1,708$), P2 ($17,25 \pm 0,957$), P0 ($11,75 \pm 2,754$) dan P3 ($8,25 \pm 1,258$). Kelompok dengan hasil terkecil adalah K(-) ($4,75 \pm 1,708$). Hasil rata-rata jumlah sel monosit tertinggi adalah kelompok K(+) ($18,50 \pm 0,577$), dilanjutkan P1 ($13,00 \pm 1,414$), P2 ($6,25 \pm 1,500$), P3 ($5,50 \pm 1,291$), P0 ($5,50 \pm 0,577$). Kelompok dengan hasil terkecil adalah K(-) ($2,25 \pm 0,500$). Berdasarkan dari penelitian ini ekstrak biji jintan hitam memiliki kemampuan sebagai antiangiogenesis dan dosis optimal nya adalah 110 µg untuk sel heterofil dan 90 µg untuk sel monosit.

Kata kunci: angiogenesis, ekstrak biji jintan hitam (*Nigella sativa*), heterofil, monosit, bFGF.

ABSTRACT

ANTIANGIOGENESIS ACTIVITY OF *Nigella sativa* SEED EXTRACT ON HETEROPHIL CELL AND MONOCYTE OF BLOOD CHORIOALLANTOIC MEMBRANE OF bFGF INDUCED EMBRYONATED CHICKEN EGG

E. Kristin Yuliana
2443013056

Cancer is characterized by the appearance of new blood vessels branch known as angiogenesis. Black cumin seed (*Nigella sativa*) has *Thymoquinone* compound that serves as anti-inflammatory and anti-cancer. The aim of this study was to know anti-angiogenesis effect and the optimal dose of black cumin seed (*Nigella sativa*) in heterophils and monocyte of chorioallantoic blood membrane of chicken eggs that have embryo which induced by bFGF. The subject of the study was 24 chicken eggs 9 days old divided into 6 groups, each group using 4 eggs. Group K(+) used bFGF, K(-) used Tris HCl, P0 used Celecoxib at a dose of 60, P1 used bFGF + 75 µg *Nigella sativa* seed extract, P2 used bFGF + 90 µg *Nigella sativa* seed extract, P3 used bFGF + 110 µg *Nigella sativa* seed extract. The eggs were given the test solution by implanting it to the *chorioallantoic membrane* through the hole over the position of the embryo. The highest average number of heterophils was found in the positive control group (40.50 ± 3.697), P1 (27.25 ± 1.708), P2 (17.25 ± 0.957), P0 (11.75 ± 2.754), P3 (8.25 ± 1.258). The smallest average number of heterophils found in the negative control group (4.75 ± 1.708). The highest average number of monocytes was found in the positive control group (18.50 ± 0.577), then P1 (13.00 ± 1.414), P2 (6.25 ± 1.500), P3 (5.50 ± 1.291), P0 (5.50 ± 0.577). The smallest average number of monocytes was found in the negative control group (2.25 ± 0.500). The result of this study could be concluded that black cumin seed had ability of anti-angiogenesis and the optimal dose was 110 µg in heterophils and 90 µg in monocyte.

Key words: angiogenesis, black cumin seed (*Nigella sativa*), heterophils, monocytes, bFGF.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa karena kasih dan penyertaan-Nya skripsi berjudul “AKTIVITAS ANTIANGIOGENESIS EKSTRAK BIJI *Nigella sativa* TERHADAP SEL HETEROFIL DAN MONOSIT DARAH MEMBRAN KORIOALANTOIS TELUR AYAM BEREMBRIO TERINDUKSI bFGF” dapat terselesaikan dengan baik.

Skripsi ini disusun dan diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi di Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya. Dalam penulisan skripsi ini tidak terlepas dari hambatan dan kekurangan. Semua ini karena keterbatasan penulis. Namun berkat bimbingan, bantuan, nasehat, saran serta kerjasama dari berbagai pihak khususnya dosen pembimbing, maka segala hambatan dapat teratasi dengan baik.

Dalam kesempatan ini penulis ingin mengucapkan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Tuhan Yesus Kristus yang telah menyertai dan memberkati saya dari awal hingga akhir penyusunan skripsi ini,
2. Mama, papa, Kristendi Sutadi, Lucia Kurniadi dan B-maks yang telah mendukung dan membantu saya dalam segala bentuk.
3. Dr. Drh. Iwan Sahrial Hamid, M.Si selaku pembimbing I dan Angelica Kresnamurti, M.Farm., Apt. selaku pembimbing II atas waktu, bimbingan, pengertian, kesabaran, dukungan dan ilmu yang telah diberikan selama proses pengerjaan skripsi ini hingga dapat terselesaikan,
4. Suryo Kuncorojakti, M.Vet., drh., dan Elisabeth Kasih, S.Farm.Klin, Apt selaku Dosen Penguji yang telah memberikan saran dan masukan untuk kesempatan skripsi ini.

5. Seluruh dosen Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya,
6. Para laboran Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya khususnya Pak Anang, mas Tri, Mas Dwi, Mbak Retno, Mbak Mega, Mbak Tyas, Pak Samsul dan lainnya.
7. Stella, Albert, Erdi, dan Bernardus selaku tim skripsi Antiangiogenesis yang telah banyak membantu dan mendukung selama proses penyusunan skripsi ini.
8. Wijaya Gunarto Putra, Yosevine, Adytya, Cilae, Christy, Marbel, Angela, Nani, Poppi dan seluruh mahasiswa Fakultas Farmasi UKWMS angkatan 2013 serta kerabat yang membantu, mendukung, memberikan waktu, kasih, doa, bantuan moril maupun materiil selama proses penyusunan skripsi ini,

Demikian skripsi ini dipersembahkan bagi almamater Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya, semoga skripsi ini bermanfaat serta memberikan pengetahuan bagi dunia kefarmasian pada masyarakat luas.

Akhir kata disadari bahwa skripsi ini jauh dari sempurna, oleh karenanya diharapkan kritik dan saran yang membangun dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini.

Berkah Dalem.

Surabaya, 30 Mei 2017

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK	i
ABSTRACT	ii
PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	v
DAFTAR LAMPIRAN	ix
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
BAB	
1. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	5
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.4 Hipotesis Penelitian	6
1.5 Manfaat Penelitian.....	6
2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Tanaman.....	7
2.1.1. Nama Daerah.....	7
2.1.2. Klasifikasi Tanaman	7
2.1.3. Morfologi Tanaman	8
2.1.4. Daerah Distribusi dan Habitat.....	8
2.1.5. Kandungan Kimia Biji Jintan Hitam (<i>Nigella sativa</i>).....	9
2.2 Ekstraksi.....	12
2.2.1. Metode Ekstraksi	12
2.3 Tinjauan tentang Ekstrak.....	17

	Halaman
2.4 Tinjauan mengenai Standarisasi Ekstrak.....	18
2.4.1. Standarisasi.....	18
2.5 Skrining Fitokimia.....	21
2.5.1. Alkaloid.....	21
2.5.2. Saponin	22
2.5.3. Tanin	22
2.5.4. Flavonoid.....	22
2.5.5. Kuinon.....	23
2.5.6. Terpen	24
2.6 Tinjauan Tentang Celecoxib.....	24
2.7 Angiogenesis	26
2.8 Fibroblast Growth Factor (FGF).....	30
2.9 Tinjauan Tentang Basic Fibroblast Growth Factor (bFGF)	31
2.10 Membran Korioalantois Telur Ayam Berembrio Sebagai Model Angiogenesis	33
2.11 Heterofil	37
2.12 Monosit	38
2.13 Hubungan Heterofil dan Monosit dengan Angiogenesis	39
 3. METODE PENELITIAN	
3.1 Jenis Penelitian	41
3.2 Bahan dan Materi Penelitian	41
3.2.1 Bahan Penelitian	41
3.2.2. Alat Penelitan	42
3.3 Metode Penelitian	43
3.3.1. Identifikasi Biji Jintan Hitam (<i>Nigella sativa</i>)	43

	Halaman
3.3.2. Standarisasi Mutu Simplisia	43
3.3.3. Pembuatan Ekstrak Kental Tanaman	45
3.3.4. Standarisasi Ekstrak Kental Tanaman	46
3.3.5. Skrining Fitokimia	47
3.3.6. Penentuan dosis ekstrak.....	49
3.3.7. Pembuatan Induktor Angiogenesis dengan bFGF	49
3.3.8. Pembuatan Larutan Uji.....	49
3.3.9. Uji Antiangiogenesis.....	50
3.4 Rancangan Penelitian.....	53
3.5 Perubahan yang Diamati	55
3.6 Analisis Data	55
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Pengamatan Standarisasi.....	57
4.1.1. Hasil makroskopis biji jintan hitam (<i>Nigella sativa</i>).....	57
4.1.2. Proses pembuatan serbuk biji jintan hitam	58
4.1.3. Hasil standarisasi simplisia tanaman uji.....	58
4.1.4. Ekstraksi serbuk biji jintan hitam.....	59
4.1.5. Hasil standarisasi ekstrak etanol biji jintan hitam	60
4.2 Pengamatan Sel	62
4.2.1. Pengamatan Sel Heterofil	62
4.2.2. Pengamatan Sel Monosit	66
4.3 Pembahasan.....	69
5. KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Kesimpulan	78

	Halaman
5.2 Saran	78
DAFTAR PUSTAKA.....	91
LAMPIRAN	92

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
A. Tabel hasil pengamatan sel heterofil	91
B. Tabel hasil pengamatan sel monosit	92
C. Analisis statistik penghitungan jumlah sel heterofil	93
D. Analisis statistik penghitungan jumlah sel monosit	96
E. Dokumentasi kegiatan penelitian	99
F. Perhitungan bahan untuk implantasi telur ayam berembrio ..	105
G. Perhitungan Rendemen Ekstraksi	107
H. Perhitungan pemeriksaan karakterisasi biji jintan hitam (<i>Nigella sativa</i>)	108
I. Lokasi penelitian	116
J. Surat Keterangan Identifikasi	117

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
4.1 Hasil pengamatan makroskopis biji jintan hitam.....	57
4.2 Hasil standarisasi serbuk biji jintan hitam.....	59
4.3 Hasil standarisasi ekstrak etanol biji <i>Nigella sativa</i>	61
4.4 Hasil skrining ekstrak etanol biji jintan hitam.....	61
4.5 Rata-rata jumlah sel heterofil pada setiap perlakuan	63
4.6 Rata-rata jumlah sel monosit pada setiap perlakuan.....	66

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1. Biji dan bunga jantan hitam.....	7
2.2. Mekanisme fisiologi angiogenesis.....	26
2.3. Mekanisme angiogenesis	28
2.4. Mekanisme tumor angiogenesis	29
2.5. <i>Chorio allantoic membrane</i> (CAM)	36
2.6. Heterofil.....	37
2.7. Monosit.....	38
3.1. Alur penelitian skematis dari preparasi ekstrak biji jantan hitam (<i>Nigella sativa</i>) sampai pengamatan jumlah sel heterofil dan monosit.....	56
4.1. Makroskopis biji jantan hitam	58
4.2. Serbuk simplisia biji jantan hitam.....	59
4.3. Ekstrak kental biji jantan hitam	60
4.4. Diagram rerata jumlah sel heterofil pada membran korioalantois telur ayam berembrio akibat pemberian ekstrak biji <i>Nigella sativa</i> dosis 75µg, 90 µg, 110 µg dan Celecoxib	64
4.5. Hasil pengamatan sel heterofil (A) Kontrol Positif; (B) Kontrol Negatif; (C) Kelompok Perlakuan 3; (D) Kelompok Perlakuan 0; Dengan pewarnaan Romanowsky dan perbesaran 500x	65
4.6. Diagram rerata jumlah sel monosit pada membran korioalantois telur ayam berembrio akibat pemberian ekstrak biji <i>Nigella sativa</i> dosis 75 µg, 90 µg, 110 µg dan Celecoxib	67
4.7. Hasil pengamatan sel heterofil (A) Kontrol Positif; (B) Kontrol Negatif; (C) Kelompok Perlakuan 3; (D) Kelompok Perlakuan 0; Dengan pewarnaan Romanowsky dan perbesaran 500x	68