



Dr. Yuly Peristiwati, S.Kep.Ns., M.Kes. Bertempat di Jl. Manila Sumberece 37, Kediri. Mengenyam pendidikan S1 bidang spesialisasi bidang Keperawatan di Universitas Airlangga Surabaya Keperawatan, S2 Biomedik di Universitas Brawijaya Malang Biomedik, dan menyelesaikan gelar S3 Program Doktor Ilmu Kedokteran Biomedik Universitas Airlangga Surabaya. Beliau mengampu mata kuliah Kesehatan Masyarakat dan Keperawatan

Beberapa judul penelitian yang dilakukan diantaranya Regulasi Catechins green tea GMB-4 dalam menghambat NADPH dan Peningkatan kadar Nitric Oxide (NO) pada kultur Human Umbilical Vein Endothelial Cells (HUVEC) yang mengalami stres oksidasi, Evaluasi pemberantasan Demam berdarah dengue dan identifikasi Type Virus Dengue dengan metode Spasial Geographic Information System (GIS) di Kota Kediri, Identifikasi Faktor yang mempengaruhi EPCHoming secara invitro pada kultur HUVEC yang di paparkan dengan EPC dengan perlakuan High Glikosa, dan lain sebagainya.

Aktif juga dalam beberapa publikasi ilmiah seperti Jurnal Kedokteran Brawijaya dengan judul Evaluasi Pemberantasan Demam Berdarah Dengue dengan Metode Spasial *Geographic Information System* (GIS) dan Identifikasi Tipe Virus Dengue di Kota Kediri, *Journal of Intercultural Ethno-pharmacology* dengan judul *The effects of catechin isolated from green tea GMB-4 on NADPH and nitric oxide levels in endothelial cells exposed to high glucose*, *International Journal of Academic Research* dengan judul *Antidiabetic Activity of GMB-4 Green Tea Catechins in Rats Developing Type 2 Diabetes Mellitus Mice with Insulin Resistance*, dan lain sebagainya. Beberapa karya juga sudah mendapatkan HKI yaitu Catechins Green Tea GMB-4 Sebagai Anti Diabetes Mellitus dan Metode Peningkatan Endothelial Progenitor Cells (EPC) Homing pada Penderita Diabetes Mellitus. Buku yang telah diterbitkan *Imunologi Diagnosis dan Teknik Biologi Molekuler* tahun 2014 Penerbit Nuha Medika, *Catechins Green Tea sebagai antidiabetik* tahun 2016 Penerbit Indomedia Pustaka.



Ns. Yenny Puspitasari, S.Kep., M.Kes. Lahir di Kediri, 23 Maret 1980, bertempat di Bandar Lor Gang IX B No. 16 Kediri STIKes Surya Mitra Husada Kediri. Mengenyam pendidikan D-III Keperawatan di AKPER RS. Baptis, Kediri dan S1-Program Studi Ilmu Keperawatan dan melanjutkan S2-Ilmu Kesehatan Reproduksi di Universitas Airlangga Surabaya. Riwayat pekerjaan beliau diantaranya Koordinator Praktik Profesi Program Studi Ilmu Keperawatan di STIKes Surya Mitra Husada, Sekretaris Program Studi Ilmu Keperawatan di STIKes Surya Mitra Husada, dan Wakil Ketua I (Bidang Akademik & Kemahasiswaan) di STIKes Surya Mitra Husada.

Banyak mengikuti pelatihan profesional dan kursus yang berkaitan dengan pendidikan diantaranya Pelatihan Asesor Kompetensi oleh Badan Nasional Sertifikasi Profesi, Pelatihan Perceptorship oleh STIKes Surya Mitra Husada bekerjasama dengan AIPNI, Pelatihan Item Review dan Aplikasi SIPENA Soal UKNI, AIPNI Regional Jatim, Item Review Soal bagi Dosen Institusi Keperawatan AIPNI Regional Jatim, dan lain sebagainya. Melakukan beberapa publikasi diantaranya *Journal Of Applied Environmental and Biological Sciences: Volume 6, September 2016* dengan judul *Effect of Papaya Leaf Extract on Cell Proliferation and Apoptosis Activities in Cervical Cancer Mice Model* dan juga seminar seperti Ikatan Alumni Jurusan Keperawatan FKUB, Seminar dan Workshop Revitaliasasi Kursus Calon Pengantin (SUSCATIN) dalam Upaya Akselerasi Penurunan Kematian Maternal oleh Ikatan Alumni Ilmu Kesehatan Reproduksi Jenjang Magister, Workshop Penyusunan Buku Pedoman Akademik oleh Kopertis Wilayah VII.



Dr. Yuly Peristiwati, S.Kep.Ns., M.Kes.
Yenny Puspitasari, S.Kep., M.Kes.

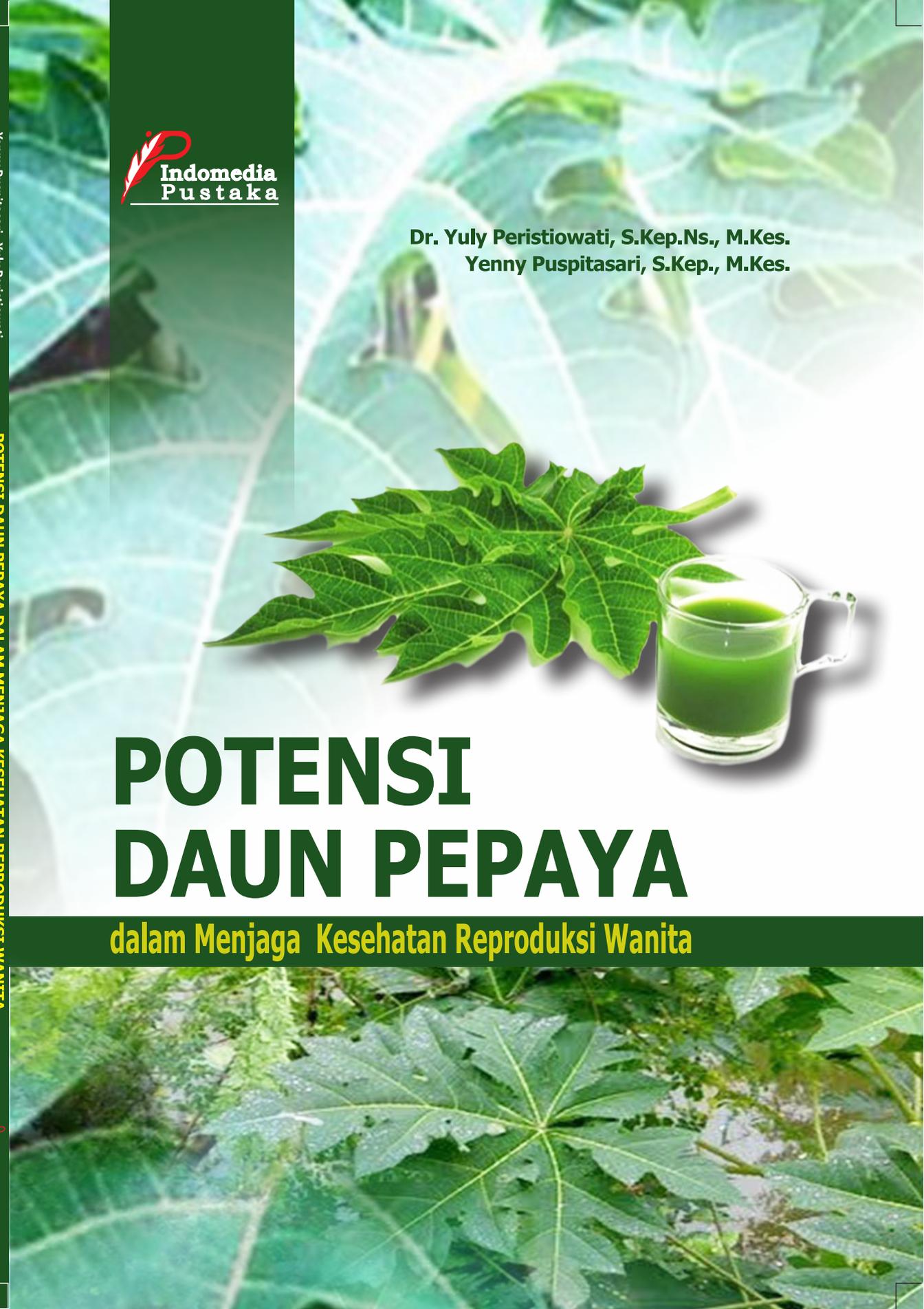


POTENSI DAUN PEPAYA

dalam Menjaga Kesehatan Reproduksi Wanita

Yenny Puspitasari - Yuly Peristiwati

POTENSI DAUN PEPAYA DALAM MENJAGA KESEHATAN REPRODUKSI WANITA



**Dr. Yuly Peristiowati, S.Kep.Ns., M.Kes.
Yenny Puspitasari, S.Kep., M.Kes.**



POTENSI DAUN PEPAYA

dalam Menjaga Kesehatan Reproduksi Wanita

POTENSI DAUN PEPAYA DALAM MENJAGA KESEHATAN REPRODUKSI WANITA

Dr. Yuly Peristiwati, S.Kep.Ns., M.Kes.

Yenny Puspitasari, S.Kep., M.Kes.



Edisi Asli

Hak Cipta © 2018 pada penulis

Griya Kebonagung 2, Blok I2, No.14

Kebonagung, Sukodono, Sidoarjo

Telp. : 0812-3250-3457

Website : www.indomediapustaka.com

E-mail : indomediapustaka.sby@gmail.com

Hak cipta dilindungi undang-undang. Dilarang memperbanyak sebagian atau seluruh isi buku ini dalam bentuk apa pun, baik secara elektronik maupun mekanik, termasuk memfotokopi, merekam, atau dengan menggunakan sistem penyimpanan lainnya, tanpa izin tertulis dari Penerbit.

UNDANG-UNDANG NOMOR 19 TAHUN 2002 TENTANG HAK CIPTA

1. Barang siapa dengan sengaja dan tanpa hak mengumumkan atau memperbanyak suatu ciptaan atau memberi izin untuk itu, dipidana dengan pidana penjara paling lama 7 (**tujuh**) tahun dan/atau denda paling banyak **Rp 5.000.000.000,00 (lima miliar rupiah)**.
2. Barang siapa dengan sengaja menyiarkan, memamerkan, mengedarkan, atau menjual kepada umum suatu ciptaan atau barang hasil pelanggaran Hak Cipta atau Hak Terkait sebagaimana dimaksud pada ayat (1), dipidana dengan pidana penjara paling lama 5 (**lima**) tahun dan/atau denda paling banyak **Rp 500.000.000,00 (lima ratus juta rupiah)**.

Peristiwati, Yuly

Puspitasari, Yenny

Manajemen Sumber Daya Manusia/ Yuly Peristiwati, Yenny Puspitasari

Edisi Pertama

—Sidoarjo: Indomedia Pustaka, 2018

1 jil., 17 × 24 cm, 104 hal.

ISBN: 978-602-1081-38-9

1. Kesehatan

2. Potensi Daun Pepaya dalam

Menjaga Kesehatan Reproduksi Wanita

I. Judul

II. Yuly Peristiwati, Yenny Puspitasari



KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, setelah disiapkan dalam waktu yang cukup lama akhirnya buku ini bisa terselesaikan. Pengobatan herbal adalah jenis penyembuhan dengan menggunakan tanaman dan sumber alami untuk mengobati penyakit dan cedera daripada menggunakan obat farmasi modern. Pengobatan herbal dianggap sebagai metode penyembuhan alternatif di Amerika Serikat saat ini. Tanaman obat dan herbal telah memainkan peran sentral dalam pengobatan selama ribuan tahun. Saat ini banyak Universitas dan Perguruan Tinggi menawarkan gelar sarjana pengobatan tradisional.

Pengobatan herbal dan penyembuhan alternatif telah menjadi populer karena keprihatinan atas efek langsung dan efek samping jangka panjang dari penggunaan obat-obatan farmasi. Banyak penelitian yang dilakukan untuk memvalidasi penggunaan obat herbal. Pengobatan herbal yang paling populer adalah pengobatan tradisional barat dan pengobatan cina. Sementara berbagai tumbuhan dan tanaman yang di gunakan dalam jenis pengobatan herbal sangat berbeda.

Banyak tumbuhan yang mengandung berbagai zat aktif yang di gunakan sebagai sumber perawatan medis tetapi juga sebagai sumber nutrisi dan pencegahan penyakit. Pengobatan dapat di kemas dalam bentuk suplemen yang dapat memberikan nutrisi yang di butuhkan oleh organ tubuh. Pengobatan herbal dengan menggunakan berbagai



zat aktif yang terdapat dalam bunga, daun, akar suatu tanaman mempunyai efek baik secara keseluruhan maupun pada organ-organ tertentu sebagai target dari pengobatan.

Dalam kesempatan ini penulis menyajikan buku monograf salah satu pengobatan herbal dengan menggunakan zat aktif yang ada papaya (*carica papaya linn*) yang telah di kembangkan BalaiMeteria Medika Malang dimana mempunyai kandungan *karpain* yang tinggi dimana digunakan dalam kesehatan reproduksi wanita baik sebagai pencegahan, pengobatan dan dalam menghambat komplikasi yang bisa terjadi.

Tentunya dalam penyusunan Buku ini masih banyak kekurangan, penulis mengharapkan masukan guna penyempurnaan penulisan buku inisehingga dapat di manfaatkan bagi kalangan yang membutuhkan. Semoga buku ii bermanfaat rangka penyelenggaraan dan peningkatan pendidikan kesehatan khususnyailmu biomedik di Indonesia, sehingga buku ii dapat menjadi amal sholeh bagi penulis dalam wujud ilmu yang manfaat bagi kemaslahatan umat. Amin

Penulis



DAFTAR ISI

Kata Pengantar	iii
Daftar Isi	v
Daftar Singkatan	ix
PENDAHULUAN	1
BAB 1 KEUNGGULAN PEPAYA UNTUK KESEHATAN REPRODUKSI WANITA.....	3
1.1 Abstrak.....	3
1.2 Pepaya (<i>Carica papaya L</i>).....	3
1.3 Latar Belakang	4
1.4 Tinjauan Pustaka	5
1.4.1 Taksonomi, Morfolofi dan Distribusi <i>Carica papaya linn</i> ...	5
1.4.2 Manfaat <i>Carica papaya linn</i>	6
1.4.3 Kandungan Kimia.....	6
1.4.4 Struktur Kimia <i>Carica papaya linn</i>	8

1.4.5	Morfologi Tanaman <i>Carica papaya linn</i>	8
1.4.6	Metabolisme <i>Carica papaya linn</i>	11
1.4.7	Ekstraksi <i>Carica papaya linn</i>	11
1.5	Daftar Pustaka.....	11
BAB 2	EKSPLORASI AKTIVITAS CARICA PEPAYA SEBAGAI THERAPI PENYAKIT REPRODUKSI WANITA	13
2.1	Abstrak.....	13
2.2	Pepaya sebagai Anti Kanker	14
2.3	Pepaya sebagai Antioksidan	15
2.4	<i>Carica papaya</i> sebagai Antifertilitas.....	16
2.5	<i>Carica Papaya</i> sebagai Antiinflamasi	17
2.5	<i>Carica Papaya</i> sebagai Antibakteri	18
BAB 3	IDENTIFIKASI SENYAWA ALKALOID PADA EKSTRAK DAUN PEPAYA (<i>CARICA PAPAYA LINN</i>) DENGAN METODE LC- MS/MS	19
3.1	Abstrak.....	19
3.2	Latar Belakang	20
3.3	Tujuan dan Manfaat Penelitian	20
3.3.1	Tujuan Umum	20
3.4	Bahan dan Metode.....	20
3.4.1	Tempat Penelitian.....	20
3.4.2	Pembuatan Fraksi Kloroform Daun Pepaya	21
3.4.3	Uji Carpain dengan LC-MS/MS	21
	Ethical Clearance	22
3.5	Hasil dan Pembahasan	22
3.5.1	Hasil	22
3.5.2	Pembahasan.....	22
3.5.3	Kesimpulan dan Saran.....	24
3.6	Daftar Pustaka.....	24
BAB 4	MODEL KANKER SERVIK PADA MENCIT TERINPLANTASI SEL HELA <i>CERVICAL CANCER MODEL ON IMPLANTATION</i> <i>HELA CELLS MICE</i>	27
4.1	Abstrak.....	27
4.2	Latar Belakang	28
4.3	Tujuan Penelitian.....	29
4.4	Metode Penelitian.....	29

4.5	Hasil dan Pembahasan	29
4.5.1	Hasil	29
4.5.2	Pembahasan	31
4.6	Kesimpulan dan Saran	33
4.6.1	Kesimpulan	33
4.6.2	Saran	33
4.7	Daftar Pustaka	33

BAB 5	PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN PEPAYA (<i>CARICA PAPAYA LINN</i>) TERHADAP AKTIVITAS PROLIFERASI SEL DAN APOPTOSIS PADA KANKER SERVIKS MENCIT C3H.....	35
5.1	Abstrak.....	35
5.2	Latar Belakang	36
5.3	Tujuan Penelitian.....	37
5.4	Metode Penelitian.....	37
5.4.1	Pembuatan Fraksi Kloroform Daun Pepaya	37
5.4.2	Pembuatan Model Hewan Coba Kanker Servik.....	38
5.4.3	Pembuatan Blok Paraffin pada Jaringan Tumor.....	38
5.4.4	Pulasan Immunohistokimia Caspase-3 dan KI67.....	39
	Ethical Clearance	40
5.5	Hasil dan Pembahasan	40
5.5.1	Hasil.....	40
5.5.2	Pembahasan.....	42
5.6	Kesimpulan dan Saran	44
5.6.1	Kesimpulan.....	44
5.6.2	Saran	44
5.7	Daftar Pustaka	44

BAB 6	EFEKTIFITAS PENGHAMBATAN PROLIFERASI SEL DAN INDUKSI APOPTOSIS EKSTRAK METHANOL DAUN PEPAYA (<i>CARICA PAPAYA LINN</i>) PADA TIKUS MODEL KANKER SERVIKS MELALUI JALUR NFKB DAN P53	47
6.1	Abstrak.....	47
6.2	Latar Belakang	48
6.3	Tujuan Penelitian.....	49
6.4	Metode Penelitian.....	49

6.4.1	Pulasan Immunohistokimia NFkB	49
6.4.2	Pulasan Immunohistokimia P53	50
	Ethical Clearance	51
6.5	Hasil dan Pembahasan	51
6.5.1	Hasil	51
6.5.2	Pembahasan	55
6.6	Kesimpulan dan Saran	58
6.6.1	Kesimpulan	58
6.6.2	Saran	59
6.7	Daftar Pustaka	59
BAB 7	UJI TOKSISITAS AKUT DAN SUB KRONIK EKSTRAK METANOL DAUN PEPAYA (<i>CARICA PAPAYA LINN</i>) TERHADAP MENCIT PUTIH STRAIN WISTAR	63
7.1	Abstrak	63
7.2	Latar Belakang	64
7.3	Tujuan Penelitian	65
7.4	Metode Penelitian	65
7.4.1	Pemilihan dan Penyiapan Hewan Uji	65
7.4.2	Penyiapan dan Perlakuan Hewan Uji	65
7.4.3	Pebuatan Ekstrak Daun Pepaya	66
7.4.4	Uji Kadar Enzim SGPT dan SGOT pada Mencit Jantan Setelah Pemberian Ekstrak Daun Papaya	67
7.5	Hasil dan Pembahasan	67
7.5.1	Hasil	67
7.5.2	Pembahasan	70
7.6	Kesimpulan dan Saran	71
7.6.1	Kesimpulan	71
7.6.2	Saran	72
7.7	Daftar Pustaka	72
BAB 8	METODE SONIKASI MENGHASILKAN LIPOSAM DARI EKSTRAK DAUN PEPAYA (<i>CARICA PAPAYA LINN</i>) SEBAGAI TERAPI KANKER SERVIK.....	75
8.1.	Abstrak	75
8.2	Latar Belakang	76
8.3	Tujuan dan Manfaat Penelitian	78

8.3.1 Penelitian Bertujuan	78
8.3.2 Manfaat Penelitian	78
8.4 Metode Penelitian	78
8.5 Hasil dan Pembahasan	79
8.5.1 Hasil	79
8.5.2 Pembahasan	79
8.6 Kesimpulan dan Saran	81
8.7 Daftar Pustaka	81
Indeks.....	83
Biodata Penulis	85





DAFTAR SINGKATAN

ADMA	: Asymmetric dimethylarginine
AGE	: Advanced Glycosilation end-product
Akt	: Protein kinase B
BH4	: tetrahydro-L-biopterin
CEC	: Circulating Endothelial Cells
CXC	: Chemokine receptor
CXCR4	: Chemokine receptor 4
EPC	: Endothelial Progenitor Cells
EPO	: Eritropoetin
eNOS	: Endothelial nitric oxide synthase
GH	: Growth factor
GM-CSF	: Granulocyte monosite-colony stimulating factor
HIF-1	: Hypoxia Inducible factor-1
HUVEC	: Human Umbilical Vein Endothelial Cell
IGFBP3	: Insulin-like growth factor bairding protein-3
IGF-1	: Insulin-like growth factor-1
IR	: Insulin reseptor
IRS-1	: insulin receptor substrate

MAPK	: Mitogen-Activated Protein Kinase
MMP-9	: Matrix metalloproteinase-9
mKit	: Membrane-bound Kit Ligan
NADP(H)	: Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate
NFκB	: Nuclear factor kappa Beta
NO	: Nitric Oxide
NOS	: Nitric Oxide Synthase
O ₂ -	: Superoxide anion
PAI-1	: Plasminogen Activator Inhibitor-1
PCNA	: Proliferating cell nuclear antigen
PDGF	: Platelet-Derived Growth Factor
PGE-2	: Prostaglandin E2
PGI-2	: Prostacyclin
PKC	: Protein Kinase-C
PI-3K	: Phosphoinositide-3 Kinase
PPAR-γ	: Peroxisome proliferator-activator reseptor γ
ROS	: Reactive Oxygen Species
SDF-1α	: Stromal cell-derived factor-1α
SIP	: Sphingosine 1-phosphate
VEGF	: Vascular Endothelial Growth Factor
VSMC	: Vascular Smooth Muscle Cell



PENDAHULUAN

Herbal medicine atau *phytopharmarca* yang dikenal sebagai obat tradisional adalah “ pengetahuan, ketrampilan dan praktek berdasarkan teori, keyakinan dan pengalaman, adat budaya yang berbeda, digunakan dalam pemeliharaan kesehatan dan pencegahan” (WHO, 2005). Ada banyak sistem yang berbeda dari sistem tradisional kedokteran, filsafat dan praktek. Masing-masing dipengaruhi oleh kondisi yang berlaku, lingkungan, dan wilayah geografis dimana dia pertama kali berevolusi (WHO, 2005), bagaimanapun filsafat umum adalah pendekatan holistik untuk hidup, keseimbangan pikiran, tubuh dan lingkungan, dan penekanan pada kesehatan daripada penyakit. Umumnya berfokus pada keseluruhan kondisi individu, bukan pada penyakit tertentu atau penyakit yang diderita pasien. Penggunaan herbal adalah bagian inti dari semua sistem pengobatan tradisional (Yogiraj, Goyal and Chauhan, 2015).

Obat tradisional dikenal secara luas di negara berpenghasilan rendah sampai menengah. Di beberapa negara berkembang, obat-obatan tradisional telah banyak digunakan untuk pelayanan kesehatan. Disisi lain penggunaan pengobatan tradisional dibanyak negara maju telah berkembang populer. Penggunaan obat tradisional di Indonesia merupakan bagian dari budaya nasional dan telah mulai dari abad yang lalu, namun efektivitas dan keamanan belum didukung oleh penelitian yang konperhensif. Mempertimbangkan fakta yang ada dimasyarakat ini maka perlu untuk menetapkan

kebijakan untuk obat-obat tradisional Indonesia yang aman digunakan untuk semua pihak.

Salah satu obat tradisional Indonesia adalah jamu, yang telah dinyatakan sebagai herbal Indonesia oleh Susilo Bambang Yudhoyono, Presiden Republik Indonesia. Ada 3 Klasifikasi obat tradisional Indonesia yaitu: 1. Herbal berbasis Empiris (JAMU), adalah obat tradisional yang telah di produksi dalam bentuk tradisional, seperti dalam bentuk seduhan, pil, atau cairan mendidih bercampur herbal. Secara umum jenis obat berdasarkan turun-temurun dari nenek moyang. Jamu tidak memerlukan persetujuan ilmiah melalui studi klinis, tetapi hanya dari empiris membuktikan dari kasiat yang telah di gunakan dan terbukti selama bertahun-tahun. 2. Herbal berbasis Ilmiah (Ekstrak distandarisasi) adalah obat tradisional yang dihasilkan dari ekstraksi bahan-bahan alami, dapat didasarkan dari tanaman herbal, hewan, atau bahan alami. Untuk proses itu sendiri membutuhkan peralatan canggih mahal dan lebih kompleks dan tenaga ahli yang trampil dan berpengalaman tinggi. Selain itu juga dibuktikan dengan penelitian ilmiah seperti studi pra-klinik untuk efisiensi bahan aktifnya, standarisasi proses ekstraksinya dan studi toksisitasnya. 3. Klinis obat berbasis herbal (fitomarmaka) adaah bentuk obat tradisional yang dapat dilihat sebagai obat moderen untuk proses standarisasi, didukung oleh sebuah studi klinis pada manusia. Dengan studi klinis, akan lebih meyakinkan bagi para profesional medis untuk menggunakan jenis obat pada pasien mereka.

Banyak tumbuhan yang mengandung berbagai zat aktif yang di gunakan sebagai sumber perawatan medis tetapi juga sebagai sumber nutrisi dan pencegahan penyakit. Pengobatan dapat di kemas dalam bentuk suplemen yang dapat memberikan nutrisi yang di butuhkan oleh organ tubuh. Pengobatan herbal dengan menggunakan berbagai zat aktif yang terdapat dalam bunga, daun, akar suatu tanaman mempunyai efek baik secara keseluruhan maupun pada organ-organ tertentu sebagai target dari pengobatan.

Dalam kesempatan ini penulis menyajikan buku monograf salah satu pengobatan herbal dengan menggunakan zat aktif yang ada papaya (*carica papaya linn*) yang telah di kembangkan Balai Meteria Medika Malang dimana mempunyai kandungan *karpain* yang tinggi dimana digunakan dalam kesehatan reproduksi wanita baik sebagai pencegahan, pengobatan dan dalam menghambat komplikasi yang bisa terjadi.

Tentunya dalam penyusunan Buku ini masih banyak kekurangan, penulis mengharapkan masukan guna penyempurnaan penulisan buku inisehingga dapat di manfaatkan bagi kalangan yang membutuhkan. Semoga buku ii bermanfaat rangka penyelenggaraan dan peningkatan pendidikan kesehatan khususnyailmu biomedik di Indonesia, sehingga buku ii dapat menjadi amal sholeh bagi penulis dalam wujud ilmu yang manfaat bagi kemaslahatan umat. Semoga buku ini bermanfaat untuk dasar penelitian selanjutnya dan dapat di kembangkan pada tatanan klinis.

Bab 1

KEUNGGULAN PEPAYA UNTUK KESEHATAN REPRODUKSI WANITA

1.1 Abstrak

Tanaman pepaya (*Carica papaya* L.) marga *Carica* suku *Caricaceae* merupakan tanaman yang banyak diteliti saat ini. Tanaman pepaya memiliki manfaat dalam pengobatan yang sangat beragam karena kandungan senyawa aktif yang kaya dalam tanaman pepaya yaitu enzim papain, karotenoid, alkaloid, monoterpenoid, flavonoid, mineral, vitamin, glukosinolat, karposida. Pada bab ini akan dipaparkan mengenai manfaat tanaman pepaya terutama untuk kesehatan reproduksi wanita antara lain sebagai antikanker, antioksidan, antidiabetes, antifertilitas, antiinflamasi, anthelmintika, antibakteri, anti malarial, antidengue, dan penyembuh luka serta senyawa aktif yang diduga berperan memperantarainya (Yogiraj, Goyal and Chauhan, 2015).

1.2 Pepaya (*Carica papaya* L)

Tanaman papaya berasal dari daerah Meksiko, tetapi sekarang tanaman papaya ini telah banyak dijumpai di daerah tropik maupun subtropik, antara lain India, Ceylon, Malaysia, Filipina, Amerika Selatan, Afrika Selatan, Hawaii dan Indonesia. Pohon pepaya dapat tumbuh dengan baik di dataran rendah hingga ketinggian 100 meter di



atas permukaan laut dan tumbuh optimal di daerah dengan ketinggian 600 – 700 meter di atas permukaan laut. Tanaman ini tergolong dalam family Caricaceae dan marga Cariot dari division Spermatophyta. Di daerah Jawa, tanaman ini dikenal dengan nama kates. Buah berbentuk bulat panjang yang bervariasi dengan warna kulit hijau waktu muda dan kuning setelah masak, dengan biji berwarna hitam dan banyak. Tanaman ini juga dikatakan sebagai tanaman serba guna karena dari bunga, akar, daun, batang hingga biji dapat dimanfaatkan untuk keperluan manusia atau hewan. Daun pepaya mengandung metabolic skunder alkhaloid yang cukup banyak dibandingkan dengan yang terdapat pada dalam buah. Selain itu, daunnya juga mengandung enzim papain. Karena kandungan enzim tersebut, daun pepaya sering dimanfaatkan untuk melunakkan daging dan sebagian masyarakat ada yang memanfaatkan untuk mengobati kanker (Puspitasari and Peristiowati, 2016).

1.3 Latar Belakang

Pepaya (*Carica pepaya Linn*) biasa disebut paw-paw dan termasuk dalam famili *Caricaceae*. Pepaya umumnya di ketahu sebagai makanan yang mempunyai nilai gizi tinggi di seluruh dunia. Bagian-bagian dari buah pepaya dikenal sebagai tanaman yang bermanfaat sebagai obat tradisional. Selama beberapa dekade terakhir kemajuan yang cukup besar telah dicapai terkait aktivitas biologis dan obat-obatan tanaman pepaya. Aplikasinya pepaya dan sekarang dianggap sebagai tanaman buah nutraceutical yang berharga. Pepaya memiliki sifat obat yang sangat baik untuk pengobatan berbagai penyakit. Bagian yang berbeda dari tanaman *Carica pepaya* termasuk daun, biji, getah dan buah diyakini memiliki nilai obat. Batang, daun dan buah pepaya banyak mengandung getah atau lateks. Lateks dari buah pepaya mentah mengandung enzim papain dan chymopapain.

Carica pepaya Linn merupakan keluarga *Caricaceae* umumnya dikenal sebagai pepaya di Indonesia dan di Inggris, Papita dalam bahasa Hindi dan Erandakarkati dalam bahasa Sanskerta. Tanaman ini asli tropis Amerika dan diperkenalkan ke India pada abad ke-16. Tanaman ini diakui oleh perusahaan yang lemah dan biasanya batang lunak yang tidak bercabang menghasilkan lateks putih yang berlebihan dan penuh sesak oleh sebuah terminal cluster daun yang besar dan panjang, tumbuh dengan cepat dan bisa tumbuh setinggi 20m. Daun secara tradisional telah digunakan untuk pengobatan berbagai macam penyakit, seperti di pengobatan malaria, demam berdarah, penyakit kuning, imunomodulator dan aktivitas antiviral. Daun muda kaya akan flavonoid (kaempferol dan myricetin), alkaloid (carpaine, Pseudocarpaine, dehydrocarpaine I dan II), senyawa fenolik (asam ferulic, asam caffeic, Asam klorogenat), senyawa sinogenetik (benzylglucosinolate) yang ditemukan pada daun. Kedua selain daun, buah dari pepaya



Carica memiliki karotenoid yaitu β -karoten, lycopene, anthraquinones glikosida, dibandingkan dengan daun matang dan karenanya memiliki obat sifatnya seperti anti-inflamasi hipoglikemik, anti-kesuburan, abortifacient, hepatoprotektif, mempercepat penyembuhan luka, baru-baru ini aktivitas antihipertensi dan sebagai antitumor. Daun pepaya menjadi bagian penting dari beberapa formulasi tradisional tersebut

Dilakukan untuk standardisasi untuk berbagai parameter seperti kadar air, ekstraktif, nilai abu, indeks pembengkakan, dll.

1.4 Tinjauan Pustaka

1.4.1 Taksonomi, Morfolofi dan Distribusi *Carica papaya linn*

TABEL 1.1
Klasifikasi Botani *Carica papaya linn*

Kingdom	Plantae
Sub Kingdom	Tracheobionta
Class	Magnoliopsida
Subclass	Dilleniidae
Superdivision	Spermatophyta
Phyllum	Steptophyta
Order	Brassicales
Family	Caricaceae
Genus	<i>Carica</i>
Botanical Name	<i>Carica papaya</i> Linn

Sumber: (Yogiraj, Goyal and Chauhan, 2015)

TABEL 1.2
Sinonim *Carica papaya linn*

Indonesia	Pepaya
India	Papita
Belanda	Tree melon
Prancis	Papaya
Australia	Paw paw
Brazil	Manao
UK	Papaya, Paw Paw

Sumber: (Parle Milind and Gurditta, 2011)

1.4.2 Manfaat *Carica papaya linn*

Tanaman pepaya ini mempunyai banyak sekali manfaat dan kegunaan dan telah digunakan secara tradisional untuk: arthiris dan reumatik di Indonesia dan Haiti; asma dan infeksi pernapasan di Mauritius, Meksiko dan Filipina; kanker di Australia dan Meksiko; konstipasi dan laksatif di Honduras, Panama dan Trinidad; meningkatkan produksi susu di Indonesia dan Malaysia; tumor (Uterus) di Ghana, Indochina, dan Nigeria; dan sifilis di Afrika.

Papain adalah enzim yang terkandung dalam pepaya dan telah banyak diteliti manfaatnya. Dalam industri, papain mempunyai banyak kegunaan antara lain dalam proses penggumpalan susu (rennet), proses penguraian protein, pembuatan bir, mengempukkan daging, proses ekstraksi minyak hati ikan tuna, dan membersihkan sutra dan wool sebelum pewarnaan (Duke, 1983).

Biji *Carica papaya* mengandung senyawa yang mempunyai aktivitas antibakteri yang menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif dan Gram negatif. Biji pepaya juga mempunyai efek antibakteri yang dapat bermanfaat untuk menyembuhkan penyakit kulit kronis, contohnya ektima (Dawkins dkk., 2003).

Benih pepaya tersebut, juga memiliki aktivitas antimikrobia terhadap *Trichomonas vaginalis*. Biji ini juga bisa digunakan untuk gangguan urinogenital seperti trikomoniasis dengan pemakaian yang hati-hati untuk mencegah toksisitas (Calzada dkk., 2007). Penelitian Sukadana, dkk (2008), menggunakan biji buah pepaya yang berwarna putih yang diambil dari daerah Kupang, NTT dapat menghambat *E. coli* dan *Staphylococcus aureus*.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan Juwita dkk. (2006), tentang tanaman jahe menunjukkan bahwa kandungan senyawa metabolit sekunder triterpenoid dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme patogen yang merugikan kehidupan manusia. Gunawan dkk. (2008), juga melakukan penelitian tentang herba meniran (*Phyllanthus niruri* Linn) yang mengandung metabolit sekunder terpenoid menunjukkan bahwa senyawa tersebut memiliki aktivitas sebagai antibakteri yaitu monoterpenoid linalool, diterpenoid, phytol, triterpenoid saponin, dan triterpenoid glikosida (Parle Milind and Gurditta, 2011).

1.4.3 Kandungan Kimia

Tanaman pepaya mempunyai kandungan kimia yang berbeda-beda pada buah, daun, akar maupun biji. Pada buah terkandung asam butanorat, metal butanoat, benzilglukosinolat, linalool, papain, asam alfa linoleat, alfa filandren, alfa terpinen, gamma terpinen, 4-terpineol, dan terpinolen. Pada daun terkandung alkaloid, dehidrokarpain, pesedokarpain, flavonol, benzilglukosinolat, papain dan tannin.

Seratus gram daun dilaporkan mengandung 74 kalori, 77.5 g H₂O, 7 g protein, 2 g lemak, 11.3 g karbohidrat total, 1.8 g serat, 2.2 g abu, 344 mg kalsium, 142 mg fosfor, 0.8 mg besi, 18 g natrium, 652 mg kalium, 11.565 µg beta karoten, 0.09 mg thiamin, 0.48 mg riboflavin, 2.1 mg niasin, 140 mg asam askorbat dan 136 mg vitamin E (Yogiraj, Goyal and Chauhan, 2015).

TABEL 1.
Analisis Komposisi Buah dan Daun Pepaya

Unsur Komposisi	Buah Masak	Buah Mentah	Daun
Energi (kalori)	46	26	79
Air (g)	86,7	92,3	75,4
Protein (g)	0,5	2,1	8
Lemak (g)	-	0,1	2
Karbohidrat (g)	12,2	4,9	11,9
Vitamin A (IU)	365	50	18,250
Vitamin B (mg)	0,04	0,02	0,15
Vitamin C (mg)	78	19	140
Kalsium (mg)	23	50	353
Besi (mg)	1,7	0,4	0,8
Fosfor (mg)	12	16	63

Sumber: Direktorat Gizi, Depkes RI (1979) dalam Kalie (1996)

TABEL 2.
Kandungan kimia tanaman pepaya

No	Organ	Kandungan Senyawa
1	Daun	enzim papain, alkaloid karpaina, pseudo-karpaina, glikosid, karposid dan saponin, sakarosa, dekstrosa, dan levulosa. Alkaloid karpaina mempunyai efek seperti digitalis
2	Buah	β-karotena, pektin, d-galaktosa, l-arabinosa, papain, papayotimin papain, serta fitokinase
3	Biji	glukosida kakirin dan karpain. Glukosida kakirin berkhasiat sebagai obat cacing, peluruh haid, serta peluruh kentut (karminatif)
4	Getah	papain, kemokapain, lisosim, lipase, glutamin, dan siklotransferase

Sumber: Dalimartha (2003)

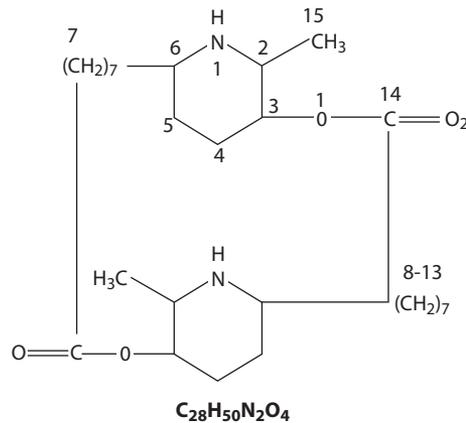
Karbohidrat yang terkandung dalam buah pepaya sebagian besar adalah gula. Komposisi gula dalam buah pepaya matang yaitu 48,3% sukrosa, 29,8% glukosa, dan 21,9% fruktosa (Inglet dan Charalambous, 1979).

Daun pepaya mengandung β -karoten (116-514 ppm), 4 % papain, 0,07 % karpain, polifenol, asamorganik, dan terpenoid (Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, 2000). Papain merupakan enzim proteolitik (pemutus ikatan protein). Dilihat dari strukturnya, papain merupakan rantai peptida tunggal yang terdiri dari 212 residu asam amino yang terlipat menjadi dua bagian, dengan bobot molekul 23.406 Da dan mempunyai satu gugus -SH.

Papain mempunyai rentang pH yang lebar (4,0-8,0), dengan pH optimum antara 6,0- 7,0. Papain bekerja optimum pada suhu 50-60 °C. Papain akan terdegradasi pada suhu lebih tinggi dari 60 °C. Papain mempunyai kemampuan exfoliating, yang bekerja pada kelenjar sebaceous (tempat sebum diproduksi), yaitu mengangkat sel kulit mati dan membantu pertumbuhan sel kulit baru, sehingga kulit wajah akan tampak lebih bersih, putih, dan bersinar.

1.4.4 Struktur Kimia *Carica papaya linn*

Karpain (suatu alkaloid) dan terpenoid yang terkandung dalam pepaya mempunyai efek antimikroba dan efek antiprotozoa (Cowan, 1999). Osato et al., menemukan bahwa getah dari lateks pepaya bersifat bakteriostatik terhadap *B. subtilis*, *Enterobacter cloacae*, *E. coli*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, dan *Proteus vulgaris*(3)



1.4.5 Morfologi Tanaman *Carica papaya linn*

a. Akar (*Radix*)

Akar adalah bagian pokok yang nomor tiga (disamping batang dan daun) bagi tumbuhan yang tubuhnya telah merupakan komus. Akar pepaya merupakan akar serabut (*radix advencita*), karena akar-akar ini bukan berasal dari calon akar yang asli atau yang disebut dengan akar liar, dan bentuknya seperti serabut. Sistem

akar serabut yaitu jika akar lembaga dalam perkembangan selanjutnya mati atau kemudian disusul oleh sejumlah akaryang kurang lebih sama besar dan semuanya keluar dari pangkal batang.

b. Batang (*Caulis*)

Batang (*caulis*) merupakan bagian tubuh tumbuhan yang amat penting, dan mengingat tempat serta kedudukan batang bagi tubuh tumbuhan. Bentuk batang pada tanaman pepaya yaitu berbentuk bulat, dengan permukaan batang yang memperlihatkan berkas-berkas daun. Arah tumbuh batang yaitu tegak lurus yaitu jika arahnya lurus keatas. Permukaan batang tanaman pepaya yaitu licin. Batangnya berongga, biasanya tidak bercabang, dan tingginya dapat mencapai 10 m.

c. Daun (*folium*)

Daun merupakan tumbuhan yang paling penting dan umumnya tiap tumbuhan mempunyai sejumlah besar daun. Daun pepaya merupakan daun tunggal, berukuran besar, dan bercangap, juga mempunyai bagian-bagian daun lengkap (*falicum completum*) berupa pelepah atau upih daun (*vagina*), tangkai daun (*petiolus*) dan helaian daun (*lamina*). Daun pepaya dikatakan mempunyai bangun bulat (*orbicularis*), ujung daun yang meruncing, tangkai daun panjang dan berongga. Dilihat dari susunan tulang daunnya, daun pepaya termasuk daun-daun yang bertulang menjari (*palmineruis*). Daun yang muda terbentuk dibagian tengah tanaman.

d. Bunga (*flos*)

Bunga merupakan bagian-bagian yang secara langsung berguna untuk mempertahankan kehidupan (untuk penyerapan makanan, pengolahan, bahan-bahan yang diserap menjadi bahan-bahan yang digunakan oleh tumbuhan untuk keperluan hidupnya: pernafasan, pertumbuhan, dll). Pepaya termasuk golongan tumbuhan poligam (*polygamus*), karena pada satu tumbuhan terdapat bunga jantan, bunga betina dan bunga sempurna. Biasanya poligam dimaksud untuk menunjukkan sifat tumbuhan bertali dengan sifat bunga tali yang memperlihatkan suatu kombinasi bukan berumah satu dan juga bukan berumah dua.

Perbedaan antara Bunga jantan, bunga betina dan bunga sempurna yaitu:

- Bunga Jantan (*masculus*)

Bunga jantan biasanya terdapat pada pohon jantan. Pohon jantan mudah dikenal karena memiliki malai, bunga bercabang banyak yang menggantung dengan bunga-bunga jantan yang lebat. Jenis pohon ini tidak akan menghasilkan buah karena bunganya tidak mempunyai bakal buah. Pohon jantan hanya bermanfaat sebagai penyerbuk pohon betina.

- Bunga Betina (*feminus*)

Bunga betina biasanya terdapat pada pohon betina. Pohon betina memiliki infloresensa dengan 3-5 bunga betina yang bertangkai pendek. Bahkan sering

hanya dengan sebuah bunga betina yang duduk diketiak daun. Ukuran bungannya agar besar. Tanpa adanya pohon jantan ataupun pohon sempurna, pohon betina ini tidak dapat menghasilkan buah. Bunga sempurna menjamin terjadinya penyerbukan secara sempurna.

- Bunga Sempurna (*hermaprodit*)
Bunga sempurna memiliki inflorescensia yang terdiri dari beberapa bunga sempurna dan 1-4 bunga jantan. Masing-masing bunga tersebut bertangkai pendek.
- Bakal Buah (*ovarium*)
Buah yaitu bagian putik yang membesar, dan biasanya terdapat ditengah-tengah dasar bunga. Pepaya merupakan salah satu bentuk bakal buah berumah satu (*unilocularis*). Bakal buah berumah satu dapat tersusun atas satu daun buah saja, misalnya pada bunga tumbuhan yang berbuah polong, dapat pula tersusun atas lebih dari pada satu daun buah.

e. Buah (*fructus*)

Pepaya termasuk dalam golongan buah sungguh (buah sejati) tunggal. Buah sejati tunggal yaitu buah sejati yang terdiri dari bunga dengan satu bakal buah saja. Buah ini dapat berisi satu biji atau lebih, dapat pula tersusun dari satu atau banyak daun buah dengan satu atau banyak naungan. Dalam buah pepaya terjadi dari beberapa daun buah dengan satu ruang dan banyak biji. Pepaya juga termasuk buah buni (*bacca*). Yang disebut dengan buah buni adalah buah yang dagingnya mempunyai dua lapisan, ialah lapisan luar yang tipis agak menjangat atau kaku seperti kulit (belulang) dan lapisan dalam yang tebal, lunak dan berair, sering kali dapat dimakan. Biji-biji terdapat bebas dalam bagian yang lunak itu. Buah buni dapat terjadi dari satu atau beberapa ruang. Pepaya termasuk buah buni yang berdinding tebal dan dapat dimakan. Buah pepaya juga bentuknya bulat sampai lonjong.

f. Biji (*semen*)

Yang dimaksud dengan biji yaitu penyerbukan yang diikuti dengan pembuahan, bakal buah tumbuh menjadi buah, dan bakal biji tumbuh menjadi biji. Melihat asal jaringan yang menjadi tempat penimbunan zat makanan cadangan biji pepaya termasuk putih lembaga dalam (*endospermium*). Maksud dari putih lembaga dalam yaitu jika jaringan penimbun makanan itu terdiri atas sel-sel yang berasal dari inti kandung lembaga sekunder yang kemudian setelah dibuahi oleh salah satu inti spermalelu membelah-membelah menjadi jaringan penimbun makanan ini. Melihat asalnya putih lembaga dalam ini, maka biji dengan bagian ini hanya dapat biji tumbuhan tertutup (*angiospermae*).

1.4.6 Metabolisme *Carica papaya linn*

1.4.7 Ekstraksi *Carica papaya linn*

a. Pembuatan Fraksi Kloroform Daun Pepaya

Pengambilan sampel berupa daun pepaya (*Carica papaya L*) yang berwarna hijau agak tua diambil pada helai kelima antara pukul 10.00 sampai 12.00 dengan keadaan cuaca yang cerah, hal ini dimaksudkan karena kandungan bahan berkhasiat yang ada dalam tumbuhan dalam keadaan dimana proses fotosintesis sedang berlangsung.

Pengolahan sampel daun pepaya (*Carica papaya L*) yang telah dipanen dipisahkan dari kotoran-kotoran atau bahan-bahan asing. Kemudian daun dicuci bersih menggunakan air mengalir, lalu dipotong kecil-kecil dan dikeringkan dibawah sinar matahari (secara tidak langsung) dengan dilapisi kain berwarna hitam sampai kering, lalu disortasi kering kemudian dihaluskan dengan blender.

Ekstraksi sampel menggunakan pelarut methanol. Untuk memperoleh fraksi kloroform daun pepaya (*Carica papaya L.*) maka sebanyak 350 gram serbuk daun pepaya (*Carica papaya L.*) dimaserasi terlebih dahulu dengan pelarut heksana untuk menghilangkan kandungan lemaknya (*defatted*). Maserasi dilakukan sampai ekstrak menunjukkan warna yang jernih. Ampas yang telah dimaserasi dengan heksana dan dimaserasi lebih lanjut dengan metanol suasana asam (pH 3) dengan penambahan asam tartrat 1% (El-Sayyad,1984), dilakukan berulang-ulang sampai ekstrak berwarna jernih. Tahapan selanjutnya adalah membasakan ekstrak metanolasam dengan NH₄OH 5% sampai pH 9. Tahapan ini bertujuan untuk menghidrolisis alkaloid dalam bentuk garam menjadi bentuk *base*-nya sehingga dapat ditarik oleh pelarut organik seperti kloroform. Fraksi kloroform yang didapat kemudian diuapkan dengan rotavapour sehingga didapatkan fraksi kloroform (Sukardiman, Ekasari and Hapsari, 2006)

b. Pengujian senyawa karpain

Pengujian karpain dilakukan dengan menimbang ± 0.1 gr, kemudian ditambahkan methanol 10 mL. Sonikasi dilakukan selama 10 menit pada kecepatan 4500 rpm. Supernatan disaring dengan PTFE filter 0.2 mikron. Filtrat dimasukkan pada botol vial dan volume 2 μ l injeksi sampel dianalisis pada LC-MS/MS.

1.5 Daftar Pustaka

Parle Milind and Gurditta (2011) 'Basketful Benefits Of Papaya', *International Research Journal Of Pharmacy*, 2(7), pp. 6–12.

- Puspitasari, Y. and Peristiowati, Y. (2016) 'Effect of Papaya Leaf Extract on Cell Proliferation and Apoptosis Activities in Cervical Cancer Mice Model', *J. Appl. Environ. Biol. Sci*, 6(9), pp. 78–83.
- Sukardiman, Ekasari, W. and Hapsari, P. P. (2006) 'Aktivitas Antikanker dan Induksi Apoptosis Fraksi Kloroform Daun Pepaya (*Carica papaya* L) terhadap Kultur Sel Kanker Mieloma', *Media Kedokteran Hewan*, 22(2), pp. 104–111.
- Yogiraj, V., Goyal, P. K. and Chauhan, C. S. (2015) 'Carica papaya Linn : An Overview', *International Journal of Herbal Medicine* 2014;, 2(5), pp. 1–8.

Bab 2

EKSPLORASI AKTIVITAS CARICA PEPAYA SEBAGAI THERAPI PENYAKIT REPRODUKSI WANITA (*Review Artikel*)

2.1 Abstrak

Pepaya sebagai anti kanker karena memiliki Alfa tokoferol, likopene, flavonoid, dan benzyliothiosianat, alkaloid (daun). Sedangkan carica papaya berfungsi sebagai antioksidan karena memiliki kandungan Flavonol, vitamin C, dan vitamin E, antraquinon, alkaloid seperti karpain (daun) vitamin C, beta karoten, licopen, dan vitamin E, flavonoid, alkaloid (buah). Selain sebagai anti kanker dan antioksidan Carica papaya juga berfungsi sebagai ant inflamasi dan antibakteri. Sebagai antiinflamsi terdapat zat aktif antara lain Alkaloid, tannin, glikosida jantung, dan saponin pada daunnya. Carica papaya sebagai anti bakteri dengan adanya zat aktif berupa Papain, flavonoid, alkaloid, saponin, glikosida, dan fenol. Kanker yang berhubungan dengan kesehatan reproduksi wanita antara lain kanker servik dan kanker mammae atau kanker payudara. Zat aktif yang terdapat dalam carica papaya di duga sebagai anti kanker karena berperan dalam menurunkan proliferasi sel kanker dan bersifat sitotoksis pada sel tumor. Selain itu fungsi carica papaya dalam meningkatkan kesehatan reproduksi wanita karena berperan sebagai antiinflamasi, dan anti bakteri. Banyak penyakit yang berhubungan dengan reproduksi wanita seperti infeksi saluran kencing yang bias di sebabkan oleh berbagai macam bakteri. Dengan fungsinya sebagai anti inflamasi dan anti bakteri carica papaya

sangat berpotensi dalam menjaga kesehatan reproduksi wanita. Peran carica pepaya yang tak kalah pentingnya dalam menjaga kesehatan reproduksi wanita adalah sebagai antifertilisasi.

Namun kali ini sasaran terapinya adalah kaum pria. Temuan baru ini bisa di gunakan sebagai alternatif alat kontrasepsi pada pria dengan berbahan herbal aman tanpa operasi dan tidak berpengaruh secara hormonal. Sebagai antifertilisasi carica pepaya mempunyai zat aktif berupa Caricain, glikosida oleanolat yang terdapat daalam bijinya. Mekanisme sebagai antifertilitas melalui penekanan pada proses spermatogenesis yang dimediasi oleh penekanan enzim esensial untuk sintesis testosteron dan estradiol yang diperlukan dalam produksi jumlah yang cukup dari spermatozoa untuk kebutuhan fertilitas pria.

Kata kunci: *Carica papaya limm*, anti kanker, anti oksidan, anti inflamasi, anti bakteri dan antifertilitas.

2.2 Pepaya sebagai Anti Kanker

Penelitian Otsuki tahun 2011 menyatakan bahwa ekstrak daun pepaya memiliki aktivitas immunomodulator dan dapat menghambat perkembangan sel line tumor seperti kanker serviks (sel hela), kanker payudara (sel MCF 7), kanker hati (sel HepG20), kanker paru-paru (sel PC14), kanker pancreas (sel Panc-1) dan kanker mesothelioma (sel H2452) dan sel line hemopoetik seperti kanker limfoma sel T (sel Jurkat), leukeumia plasma (se ARH77), Limfoma burkitt (sel raji), limfoma sel besar anaplastik (sel Karpas-299) dengan menginduksi kematian sel termasuk apoptosis (Otsuki.,*et al.*, 2010). Ekstrak daun pepaya dengan variasi konsentrasi 0.625–20 mg/ml memiliki efek biologis secara in vitro yang menunjukkan efek anti proliforative terhadap sel tumor, meningkatkan produksi sitokin tipe Th1, meningkatkan sitotoksisitas terhadap sel tumor, dan komponen aktif ekstrak pepaya harus terkandung dalam fraksi dengan komponen yang massa molekulernya kurang dari 1000 (Otsuki *et al.*, 2010). Komponen daun pepaya yang potensial sebagai antitumor adalah alfa tokoferol, likopene, flavonoid, dan benzyliothiosianat (Otsuki.,*et al.*, 2010). Penelitian Sukardiman tahun 2006 menyatakan bahwa fraksi kloroform daun pepaya yang kandungan utamanya alkaloid memiliki aktivitas antikanker dengan menginduksi apoptosis terhadap kultur sel kanker myeloma dengan mekanisme penghambatan enzim DNA topoisomerase II (Sukardiman *et al.*, 2006). Alkaloid yang terkandung dalam daun pepaya adalah karpaina, pseudokarpaina (golongan piperidina) dan senyawa golongan piperidina yang punya aktvitas antikanker dengan menginduksi apoptosis adalah flavopiridol (hasil sintesa alkaloid piperidina dan flavonoid) (Sukardiman *et al.*, 2006).

2.3 Pepaya sebagai Antioksidan

Aktivitas antioksidan ekstrak Carica pepaya yang diuji menggunakan metode DPPH dinyatakan berhubungan dengan kadar fenolik dan flavonoidnya (Maisarah *et al.*, 2013). Maisarah pada tahun 2013 menyatakan bahwa aktivitas antioksidan ekstrak methanol Carica pepaya terbaik adalah pada ekstrak daun muda pepaya lalu diikuti oleh ekstrak buah mentah, ekstrak buah matang, dan ekstrak biji pepaya (Maisarah *et al.*, 2013).

Fenolik merupakan senyawa utama yang memiliki aktivitas antioksidan dengan cara menetralkan lipid dari radikal bebas dan mencegah dekomposisi hidroperoksida menjadi radikal bebas sedangkan flavonoid memiliki gugus hidroksil yang dapat mendonasikan electron dan berperan sebagai penangkal radikal bebas (Maisarah *et al.*, 2013).

Sadek pada tahun 2012 melakukan pengujian antioksidan dengan memberikan ekstrak air buah pepaya mentah pada 60 tikus galur wistar albino yang kandungan stress oksidatifnya tinggi akibat induksi akrilamid sehingga sebabkan terjadinya peroksidasi lipid yang ditandai denganmeningkatnya MDA, menurunnya enzim GSH, dan adanya aktivitas SOD dan CAT pada lambung, hati, dan ginjal[6]. Hasil yang diperoleh yaitu ekstrak air buah pepaya mampu menormalkan kembali kadar MDA, enzim GSH, dan aktivitas SOD dan CAT serta memiliki aktivitas imunostimulan yang signifikan karena mampu meningkatkan IgG dan IgM saat akrilamid menurunkan kadar IgG tikus (Sadek., 2012). Pepaya mengandung vitamin C, beta karoten, licopen, dan vitamin E sebagai antioksidan yang dapat melawan stress oksidatif serta mengandung flavonoid, alkaloid, atau kombinasi keduanya sebagai hepatoprotektor yang berperan sebagai antioksidan (Sadek., 2012). Ekstrak air biji pepaya juga ditemukan memiliki aktivitas antioksidan pada fibroblast yang diinduksi dengan hydrogen peroksida (H₂O₂) apabila ekstrak diberikan berbarengan dengan 1 mM H₂O₂ bukan ditambahkan saat proses penyembuhan (Panzarini *et al.*, 2014)

Mekasisme antioksidannya yaitu bukan melalui modulasi aktivitas enzim katalase namun melalui pembentukan khelat dengan molekul oksidatif H₂O₂ dan menjaga proses reduksi/oksidasi seimbang di dalam sel (Panzarini *et al.*, 2014). Aktivitas antioksidan ekstrak air biji pepaya inilebih efisiendalam melindungi fibroblast dari stress oksidatif dibandingkan senyawa antioksidan yang sudah diketahui yaitu asam askorbat, asam askorbat lebih efektif dalam menghambat aktivitas stress oksidatif setelah stress oksidatif ditambahkan (Panzarini *et al.*, 2014).

Minyak dalam biji pepaya juga memiliki kemampuan sebagai antioksidan, terbukti dapat meningkatkan reduksi enzim GSH pada tikus dalam konsentrasi tinggi serta dapat menurunkan aktivitas peroksidase sehingga merupakan sumber antioksidan yang baik untuk digunakan dalam melawan radikal bebas pada eritrosit (Afolabi *et al.*, 2011).

Okoko pada tahun 2012 menyatakan bahwa ekstrak daun pepaya dapat digunakan sebagai produk farmasi atau nutrasetikal karena telah terbukti memiliki aktivitas

antioksidan saat diuji secara *in vitro* terhadap eritrosit yang diinduksi dengan hydrogen peroksida sebagai prooksidan walaupun tidak lebih baik dibandingkan dengan asam askorbat (Okoko *et al.*, 2012). Asam lemak tak jenuh pada membrane eritrosit akan dioksidasi oleh hydrogen peroksida dan menyebabkan hemolysis, ekstrak daun pepaya dapat mereduksi hydrogen peroksida dan dapat mengembalikan bentuk eritrosit yang teroksidasi menjadi normal kembali (Okoko *et al.*, 2012).

Pepaya dapat menjadi antioksidan karena kandungan kimia pada daun pepaya terdiri atas antraquinon, alkaloid seperti karpain, flavonol, vitamin C, dan vitamin E yang memiliki aktivitas biologis yang luas (Sagnia *et al.*, 2014)

2.4 *Carica Papaya* sebagai Antifertilitas

Ekstrak biji pepaya ditemukan berpotensi untuk dijadikan bahan kontrasepsi bagi pria karena memiliki kemampuan untuk menekan proses spermatogenesis yang dimediasi oleh penekanan enzim esensial untuk sintesis testosteron dan estradiol yang diperlukan dalam produksi jumlah yang cukup dari spermatozoa untuk kebutuhan fertilitas pria, enzim tersebut adalah kolesterol side chain cleavage enzyme (P450scc) dan aromatase (Uche-Nwachi *et al.*, 2011).

Ekstrak biji pepaya mampu menekan enzim p450scc secara signifikan namun tidak signifikan pada aromatasetikus yang diberikan ekstrak selama 84 hari dan dilihat aktivitas enzimnya melalui pewarnaan histokimia dan imunohistokimia (Uche-Nwachi *et al.*, 2011).

Pada penelitian serupa yang dilakukan oleh Lakshman (2012), disimpulkan bahwa ekstrak alkohol biji pepaya memiliki efek antispermatogenik dengan menurunkan steroidogenesis, ditandai dengan penurunan aktivitas enzim 3 β -HSD dan 17 β -HSD yang disebabkan oleh penurunan kolesterol sebagai substrat steroidogenesis pada testis tikus yang diuji (Lakshman *et al.*, 2013). Kandungan aktif pada biji pepaya adalah caricain, sebuah enzim carpasemin, inhibitor pertumbuhan tanaman, glikosida oleanolat yang menyebabkan sterilitas pada tikus jantan (Lakshman *et al.*, 2013). Melalui metode lain yang dilakukan Hamman tahun 2011, ekstrak biji pepaya terbukti memiliki kemampuan kontrasepsi bagi tikus jantan secara reversible (Hamman *et al.*, 2011). Berbeda dengan tikus betina yang dipasangkan dengan tikus kontrol yang hanya diberikan air, tikus betina yang dipasangkan dengan tikus yang diberikan ekstrak etanol biji pepaya 100 dan 250 mg/kg BB tikus/hari selama 90 hari tidak mengalami kehamilan, namun setelah 90 hari kemudian dilakukan penghentian pemberian ekstrak pada tikus jantan maka ditemukan kehamilan baik pada tikus betina yang dipasangkan dengan tikus kontrol maupun tikus jantan yang diberi ekstrak yang mungkin terjadi akibat semakin turunnya kadar ekstrak dalam darah dan adanya penyembuhan kembali fertilitas tikus (Hamman *et al.*, 2011).



Fraksi kloroform biji pepaya juga dilaporkan memiliki antifertilitas namun ternyata ekstrak biji pepaya yang telah difermentasi tidak bersifat androgenic (Lohiya *et al.*, 2002; Mansurah *et al.*, 2009). Hal tersebut dapat dimungkinkan karena benzilisotiosianat (BITC) sebagai zat aktif yang berperan dalam pepaya mungkin terdegradasi atau tidak lagi berpotensi menimbulkan efek yang berarti setelah fermentasi (Mansurah *et al.*, 2009).

Selain biji pepaya, daun pepaya dan akar tanaman pepaya juga dilaporkan memiliki efek antifertilitas dengan mekanisme yang sama yaitu merusak sel sperma (Nkeiruka *et al.*, 2013; Nwaehujor *et al.*, 2014).

2.5 *Carica Papaya* sebagai Antiinflamasi

Biji dan daun pepaya dilaporkan memiliki aktivitas antiinflamasi yang signifikan Anaga *et al.*, 2010; Lu Amazu *et al.*, 2010; Gammule *et al.*, 2012; Alex *et al.*, 2013; Owoloye *et al.*, 2008. Ekstrak methanol biji pepaya yang diujikan kepada tikus edema yang diinduksi oleh karagenan terbukti memiliki efek antiinflamasi lebih baik dibandingkan dengan pemberian indomethacin apabila diberikan 2 jam setelah induksi karagenan dan hal ini bergantung dosis yang diberikan Anaga *et al.*, 2010. Apabila dibandingkan dengan aspirin maka kemampuan antiinflamasi ekstrak methanol biji pepaya masih lebih rendah yaitu 57,1-64,2% dan 85,7% untuk ekstrak methanol biji pepaya dan aspirin secara berturut-turut *et al.*, 2013. Efek antiinflamasi ekstrak methanol biji pepaya diperoleh dengan mekanisme penghambatan mediator inflamasi, efek hormon adrenokortikoid, dan imunosupresi (Lu Amazu *et al.*, 2010).

Ekstrak berupa konsentrat daun pepaya matang memiliki aktivitas antiinflamasi pada tikus yang edema akibat induksi karagenan melalui mekanisme stabilisasi membran sebaik efek inhibisi terhadap edema dan menurunkan permeabilitas vascular yang menjadi penyebab inflamasi Gammule *et al.*, 2012.

Ekstrak air daun pepaya dosis 100 dan 200 mg/kg BB dapat menurunkan pembentukan edema yang diinduksi karagenan atau histamine karena kandungan dalam daun pepaya yaitu alkaloid, tannin, glikosida jantung, dan saponin (Alex *et al.*, 2013).

Efek antiinflamasi yang ditimbulkan masih bersifat buruk yaitu 13,5-22,3% karena daun tidak mengandung flavonoid, padahal flavonoid terlibat dalam fase akhir inflamasi akut (Alex *et al.*, 2013). Berbeda dengan ekstrak air daun pepaya, ekstrak etanol daun pepaya yang diteliti oleh Owoloye (2008) menunjukkan terdapat aktivitas antiinflamasi pada tikus yang diinduksi karagenan (Owoloye *et al.*, 2008). Perbedaan ini dikarenakan adanya kandungan flavonoid pada ekstrak etanol daun pepaya (Owoloye *et al.*, 2008). Indomethacin sebagai obat standar memiliki persen inhibisi inflamasi sebesar 70,7%, dengan persen inhibisi inflamasi ekstrak etanol daun pepaya yaitu 62,1-65,5% untuk dosis 25-200 mg/kg secara oral (Owoloye *et al.*, 2008).



2.5 *Carica Papaya* sebagai Antibakteri

Kandungan papain, flavonoid, alkaloid, saponin, glikosida, dan senyawa fenol dalam tanaman pepaya menyebabkan pepaya memiliki aktivitas antibakteri (Akujobi *et al.*, 2010; Nirosha *et al.*, 2013). Ekstrak tanaman pepaya baik bagian daun, akar, maupun batangnya memiliki aktivitas antibakteri yang lebih baik pada ekstrak organik dibandingkan dengan ekstrak air dan lebih efektif terhadap bakteri gram negatif dibandingkan gram positif Nirosha *et al.*, 2013 [38]. Namun pada penelitian Anibijuwon tahun 2009, ditemukan bahwa ekstrak akar pepaya lebih efektif aktivitas antibakterinya terhadap bakteri gram positif daripada negatif [37]. Aktivitas antibakteri tanaman pepaya meningkat pada suhu yang tinggi dan pH yang asam [36] [37] [38]. Ekstrak daun pepaya terbukti menunjukkan penghambatan 100% terhadap *S. aureus* dan mengurangi jumlah *E. coli* dari 65 menjadi 24 cfu/ml [33].

Ekstrak methanol tanaman pepaya menunjukkan efek bakterisidal paling tinggi dengan konsentrasi paling rendah pada *Salmonella typhi* yaitu dengan MIC 4,5 mg/ml [34]. Nilai MIC yang rendah ini menunjukkan bahwa ekstrak tanaman pepaya memiliki efikasi yang baik terhadap bakteri tersebut [36] [37] [38]. Pada penelitian Akujobi tahun 2010, ekstrak biji, epicarp, dan endocarp pepaya memiliki efek bakteriostatik pada *Escherichia coli* dan efek bakterisidal terhadap *Staphylococcus aureus* tetapi tidak menimbulkan efek pada *E. faecalis* [34]. Dinyatakan pula bahwa ekstrak alkoholnya menimbulkan zona hambat yang lebih baik, dikarenakan tingginya konsentrasi etanol menghasilkan ekstrak bakterisidal yang lebih poten baik bagi gram positif maupun negatif [34].

Bab 3

IDENTIFIKASI SENYAWA ALKALOID PADA EKSTRAK DAUN PEPAYA (*CARICA PAPAYA* *LINN*) DENGAN METODE LC- MS/MS

3.1 Abstrak

Carica papaya L atau pepaya merupakan tanaman buah menahun asli dari Amerika. Tumbuh pada ketinggian 1-100 m dpl. Pada daun, akar dan kulit batang *Carica papaya* mengandung senyawa alkaloid, saponin dan flavonoid. Sekrening fitokimia serbuk simplisia dan sampel dalam bentuk basah dapat mengidentifikasi adanya kandungan senyawa alkaloid, flavonoid, steroid, tannin dan saponin. Tujuan penelitian ini adalah mengidentifikasi senyawa alkaloid (carpain) pada ekstrak daun pepaya dengan menggunakan LC-MS/MS. Identifikasi carpain pada dilakukan kolom Hypersild Gold dengan campuran 0,1% formic acid dalam air dan 0,1% formic acid dalam acetonitrile dengan laju alir 0,3 ml/menit. ESI digunakan pada mode ion positive dengan metode SRM (Selected Reaction Monitoring). Target senyawa karpain pada 479 m/z sebagai ion precursor dan 240 m/z sebagai ion produk.

Kata Kunci: Daun pepaya, *Carica papaya*, LC-MS/MS, Carpain

3.2 Latar Belakang

Carica papaya L atau pepaya merupakan tanaman buah menahun asli dari Amerika. Tumbuh pada ketinggian 1-100 m dpl. Pada daun, akar dan kulit batang *Carica papaya* mengandung senyawa alkaloid, saponin dan flavonoid. Sekrening fitokimia serbuk simplisia dan sampel dalam bentuk basah dapat mengidentifikasi adanya kandungan senyawa alkaloid, flavonoid, steroid, tannin dan saponin [1,2].

Carica papaya L atau pepaya merupakan salah satu tanaman yang diketahui untuk terapi antikanker dengan meningkatkan apoptosis dan menghambat proliferasi. Ekstrak methanol daun pepaya (*Carica papain L*) memiliki aktivitas inhibisi terhadap enzim DNA Topoisomerase II, suatu enzim yang berperan penting dalam proses replikasi, transkripsi, rekombinasi DNA, dan proliferasi sel kanker juga akan meningkat, dan dengan dihambatnya aktivitas enzim tersebut maka akan terjadi ikatan antara enzim dengan DNA semakin lama dan terjadi Protein Linked DNA Brake (PLDB) dan diakhiri dengan kematian secara apoptosis. Penelitian ini bertujuan untuk melihat ekstrak daun pepaya dapat berperan sebagai antikanker, melalui penghambatan proliferasi sel dan induksi apoptosis [1,4].

3.3 Tujuan dan Manfaat Penelitian

3.3.1 Tujuan Umum

Untuk mengidentifikasi adanya senyawa alkaloid pada ekstrak ethanol daun pepaya menggunakan metode LC-MS/MS

3.3.2 Manfaat Penelitian

1. Manfaat Teoritis
Untuk membuktikn adanya senyawa alkaloid yang ada dalam ekstrak daun pepaya.
2. Manfaat Praktik
Dapat di gunakan sebagai tambahan informasi bagi masyarakat mengenai adanya senyawa alkaloid yang ada dalam ekstrak daun pepaya, sehingga dapat meyakinkan pengguna ekstrak daun pepaya untuk keperluan penelitian dan pengobatan.

3.4 Bahan dan Metode

3.4.1 Tempat Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksplorasi untuk mengetahui keberadaan senyawa kimia dengan sampel penelitian yaitu daun pepaya (*Carica papaya L*) yang di peroleh dari LIPI UPT Balai konservasi Tumbuhan kebun Raya purwodadi

Pasuruan, Jawa Timur. Penelitian ini dilakukan pada bulan April sampai dengan Agustus 2016. Proses ekstraksi daun pepaya di lakukan di laboratorium Nutrisi bahan Baku Obat fakultas farmasi Universitas Airlangga Surabaya. Sedangkan proses analisis HPLC di lakukan di laboratorium kimia Politeknik Negeri Malang.

3.4.2 Pembuatan Fraksi Kloroform Daun Pepaya

Pengambilan sampel berupa daun pepaya (*Carica papaya* L) yang berwarna hijau agak tua diambil pada helai kelima antara pukul 10.00 sampai 12.00 dengan keadaan cuaca yang cerah, hal ini dimaksudkan karena kandungan bahan berkhasiat yang ada dalam tumbuhan dalam keadaan dimana proses fotosintesis sedang berlangsung.

Pengolahan sampel daun pepaya (*Carica papaya* L) yang telah dipanen dipisahkan dari kotoran-kotoran atau bahan-bahan asing. Kemudian daun dicuci bersih menggunakan air mengalir, lalu dipotong kecil-kecil dan dikeringkan dibawah sinar matahari (secara tidak langsung) dengan dilapisi kain berwarna hitam sampai kering, lalu disortasi kering kemudian dihaluskan dengan blender[2].

Ekstraksi sampel menggunakan pelarut methanol. Untuk memperoleh fraksi kloroform daun pepaya (*Carica papaya* L.) maka sebanyak 350 gram serbuk daun pepaya (*Carica papaya* L.) dimaserasi terlebih dahulu dengan pelarut heksana untuk menghilangkan kandungan lemaknya (*defatted*). Maserasi dilakukan sampai ekstrak menunjukkan warna yang jernih. Ampas yang telah dimaserasi dengan heksana dan dimaserasi lebih lanjut dengan metanol suasana asam (pH 3) dengan penambahan asam tartrat 1% (El-Sayyad,1984), dilakukan berulangulang sampai ekstrak berwarna jernih. Tahapan selanjutnya adalah membasakan ekstrak metanolasam dengan NH₄OH 5% sampai pH 9. Tahapan ini bertujuan untuk menghidrolisis alkaloid dalam bentuk garam menjadi bentuk *base*-nya sehingga dapat ditarik oleh pelarut organik seperti kloroform. Fraksi kloroform yang didapat kemudian diuapkan dengan rotavapour sehingga didapatkan fraksi kloroform [2,7].

Pengujian karpain dilakukan dengan menimbang ± 0.1 gr, kemudian ditambahkan methanol 10 mL. Sonikasi dilakukan selama 10 menit pada kecepatan 4500 rpm. Supernatan disaring dengan PTFE filter 0.2 mikron. Filtrat dimasukkan pada botol vial dan volume 2 μ l injeksi sampel dianalisis pada LC-MS/MS.

3.4.3 Uji Karpain dengan LC-MS/MS

Uji senyawa karpain dengan peralatan LC-MS/MS. Kolom yang digunakan dengan spesifikasi Hypersil Gold (50mm x 2.1mm x 1.9 μ m). UHPLC merk ACCELLA type 1250 buatan Thermo Scientific yang terdiri dari degasser vakum, pompa quartener, autosampler termostatik dikendalikan Personal computer melalui program x-calibur

2.1. Fase gerak A terdiri dari 0,1% asam format dalam air, fase B terdiri dari 0,1% asam format dalam acetonitrile. Sebuah gradien linier dengan kecepatan 300 $\mu\text{L}/\text{menit}$ dengan pengaturan fase gerak sebagai berikut: a) 0-0.6 menit 10%B, 2.5-4.0 menit 100%B, 4 menit 10%B. Volume injeksi pada LC adalah 2 μL . Kolom dikontrol pada 30°C, dan kompartemen autosampler ditetapkan untuk 16°C.

Penggunaan MS/MS Triple Q (quadropole) spektrometer massa TSQ QUANTUM ACCESS MAX dari Thermo Finnigan dengan sumber ionisasi ESI (Electrospray Ionization) dikendalikan oleh software TSQ Tune yang dioperasikan dengan mode positive. Penentuan kuantitas dengan metode SRM (Selected Reaction Monitoring) diatur pada 479 m/z sebagai ion precursor dan 240 sebagai ion produk [13]. Kondisi ionisasi ESI adalah sebagai berikut: tegangan spray 3 kV; Suhu penguapan 250°C; Suhu kapiler, 300°C; nitrogen sebagai sheath gas pressure 40 psi, dan Aux gas pressure 10 psi dengan gas argon. Semua kondisi operasi diatur dengan program x-calibur 2.0.

ETHICAL CLEARANCE

Penelitian ini telah lulus Uji Kelayakan Etik oleh Komisi Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga dengan Nomor: 408-KE

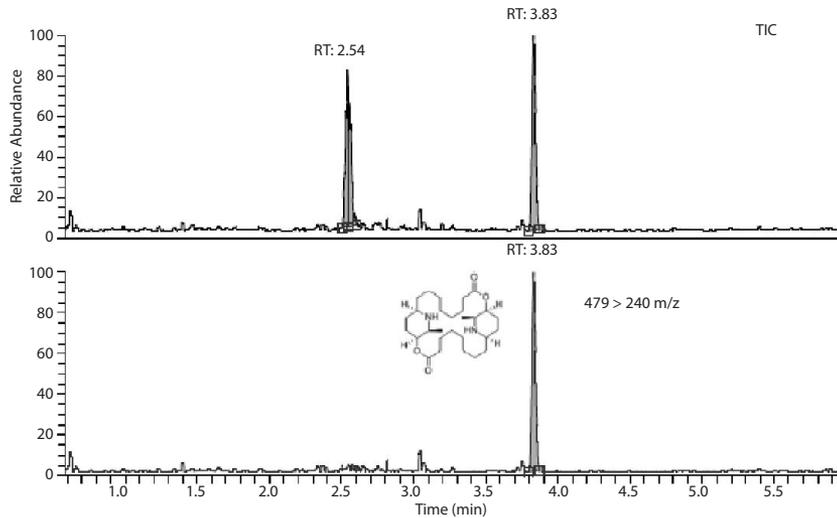
3.5 Hasil dan Pembahasan

3.5.1 Hasil

SRM digunakan untuk mengidentifikasi adanya senyawa karpain. Dari hasil analisis ekstrak daun pepaya terdapat senyawa *carpain* dengan menggunakan peralatan LC-MS/MS seperti yang ditunjukkan Gambar 1. Ada dua kromatogram yang ditampilkan untuk identifikasi *carpain*, dimana kromatogram atas sebagai TIC (Total Ion Chromatogram) dan kromatogram bawah sebagai XIC (Extracted Ion Chromatogram), Kromatogram menunjukkan bahwa terdapat puncak pada RT. 3.83 menit yang diduga sebagai *carpain*. Ada dua puncak pada TIC, hal ini menunjukkan terdapat dua senyawa yang mempunyai ion molekul 479 m/z. Pada XIC identifikasi senyawa karpain menunjukkan bahwa terdapat satu puncak dimana ion precursor pada 479 m/z dan ion produk pada 240.

3.5.2 Pembahasan

Senyawa metabolit sekunder yang menjadi objek utama dalam penelitian ini adalah alkaloid. Dengan mengetahui adanya potensi kandungan senyawa alkaloid pada daun pepaya (*Carica papaya lin*) dapat dijadikan sebagai bahan kajian lebih lanjut untuk pemanfaatan senyawa-senyawa kimia sebagai obat-obatan [3,4].

**GAMBAR 1.**

Kromatogram carpain dari ekstrak daun pepaya (*carica papaya linn*)

Secara umum alkaloid sering digunakan dalam bidang pengobatan [8]. Alkaloid dapat berfungsi sebagai zat antioksidan hal ini didukung oleh penelitian uji antioksidan [9]. Senyawa alkaloid yang terkandung dalam suatu jenis tanaman dapat bersifat sebagai bioaktif penolak (*repellent*) [10]. Alkaloid indol memiliki aktifitas antibakteri dari *Aspidosperma ramiflorum* [12].

Alkaloid merupakan suatu golongan senyawa organik yang terbanyak ditemukan di alam. Hampir seluruh alkaloid berasal dari berbagai jenis tumbuhan. Semua alkaloid mengandung atom nitrogen yang bersifat basa dan merupakan bagian dari cincin heterosiklik [2] Alkaloid mempunyai kegiatan fisiologi yang menonjol dan sering digunakan secara luas dalam bidang pengobatan. Alkaloid merupakan senyawa yang mempunyai satu atau lebih atom nitrogen biasanya dalam gabungan dan sebagian dari sistem siklik [8].

Daun pepaya mengandung senyawa karpain yaitu alkaloid bercincin laktonat dengan tujuh kelompok rantai metilen. Dengan kandungan senyawa karpain daun pepaya tak hanya mampu untuk melawan tumor dan kanker, tetapi juga mampu membunuh mikroorganisme yang berbahaya bagi tubuh [2,8].

Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa identifikasi senyawa alkaloid terdeteksi ekstrak daun pepaya yang di ambil dari LIPI UPT Balai konservasi Tumbuhan kebun Raya purwodadi Pasuruan, Jawa Timur terbukti mengandung *carpain* dengan berat molekul (BM) 479.000.

Menurut penelitian yang telah dilakukan oleh Abdul Muis dan kawan-kawan bahwa ekstrak daun pepaya menunjukkan adanya senyawa alkaloid, saponin dan flavonoid. Hardianzah Rahmat juga telah meneliti bahwa pada daun pepaya mengandung senyawa flavonoid meskipun dengan jumlah yang tidak terlalu banyak dengan menggunakan HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*) column C-18.

3.5.3 Kesimpulan dan Saran

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa identifikasi senyawa alkaloid pada ekstrak daun pepaya yang di ambil dari LIPI UPT Balai konservasi Tumbuhan kebun Raya Purwodadi Pasuruan, Jawa Timur terbukti mengandung *carpain* dengan berat molekul (BM) 479.000 dengan metode LC-MS/MS

3.6 Daftar Pustaka

- Sukardiman, Wiwied Ekasari, Pharmasinta Putri Hapsari. Aktivitas Antikanker dan Induksi Apoptosis Fraksi Kloroform Daun Pepaya (*Carica papaya* L) terhadap Kultur Sel Kanker Mieloma, *Media Kedokteran Hewan*, 2006;22(2):104-111.
- Muthmainnah B. Identifikasi Komponen Kimia Ekstrak Daun Pepaya (*Carica Papaya* L.) Yang Berasal Dari Bulupoddo Kabupaten Sinjai, *Journal of Pharmaceutical Science and Herbal Technology*, 2016;1(1):12-18.
- Septiani Rahayu, Ami Tjitraresmi. Review Artikel: Tanaman Pepaya (*Carica Papaya* L.) dan Manfaatnya Dalam Pengobatan, *Farmaka*, 2016:14(1):1-17
- Dalimartha, S. Ramuan Tradisional Untuk Pengobatan Kanker, Seri Agro sehat, *Penebar Swadaya Jakarta*, 2003;1(5):76-77.
- American Cancer Society. Cancer Facts and Figures, *American Cancer Society Inc. Atlanta*, 2006
- Gomez DT, Santos JL. Human papilloma-virus infection and cervical cancer: pathogenesis and epidemiology. *Comm Current Res Edu Topics Trends App Microbiol*. 2007: 680-8. 2
- Zauhani Kusnul, Enny Puspita, Umi Azizah, Kaliawan, Muhaimin Rifai, Edi Widjajanto. Identification and Quantification of Propolis's Active Compound in Various Solvents, *Journal of Applied Environmental and Biological Sciences*, 2016;6(9):94-99.
- Harbone, J.B. Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Edisi 4, terjemahan Kosasih P dan Soediro L. Bandung: *Institut Teknologi Bandung*, 1987
- Hanani, Endang. Abdul Mun'im dan Ryany Sekarin. Identifikasi senyawa antioksidan Dalam spons callyspongia sp Dari kepulauan seribu. *Majalah Ilmu Kefarmasian*, 2005; 2(3):127 – 133.



- Mustanir dan Rosnani. Isolasi Senyawa Bioaktif Penolak (Repellent) Nyamuk Dari Ekstrak Aseton Batang Tumbuhan Legundi (*Vitex trifolia*). *Jurusan Kimia FMIPA Universitas Syiah Kuala, Darusalam Banda Aceh. Bul. Littro*, 2008;29(2):174-180.
- Tanaka, J.C.A. C.C. da Silva, A.J.B. de Oliveira, C.V. Nakamura and B.P. Dias *Filho*. Antibacterial activity of indole alkaloids from *Aspidosperma ramiflorum*. Antimicrobial activity of *A. ramiflorum* Brazilian. *Journal of Medical and Biological Research*,2006; 39: 387-391
- Julianti T, Oufir M, Hamburger M, Quantification of the Antiplasmodial Alkaloid Carpaine in Papaya (*Carica papaya*) Leaves, *Planta Med* 2014; 80:1138–1142 © Georg Thieme Verlag KG Stuttgart, New York. ISSN 0032–0943





Bab 4

MODEL KANKER SERVIK PADA MENCIT TERINPLANTASI SEL HELA CERVICAL CANCER MODEL ON IMPLANTATION HELA CELLS MICE

4.1 Abstrak

Kanker servik penyebab kematian kedua setelah penyakit jantung, dengan prevalensi antara 100 dan 350 dari setiap 100.000 orang setiap tahunnya. Kanker servik merupakan kanker primer dari servik (kanalis servikalis dan atau porsio). Proses pembentukan kanker (karsinogenesis) merupakan kejadian somatic karena akumulasi perubahan genetic dan epigenetic menyebabkan perubahan dalam pengaturan normal kontrol molekuler perkembanganbiakan sel. Penelitian bertujuan melakukan pembuatan model kanker servik dengan mengimplantasikan sel HeLa pada mencit yang sudah dibuat immunosupresif. Metode true eksperimen dengan 5 ekor mencit DDY usia 2 bulan, BB 20-30 gram dari LPPT 4 UGM. Mencit di injeksi dexametazon 0,5 mg/kg BB sampai 7 hari untuk mensupresi imunitasnya. Selanjutnya mencit diinjeksi sel HeLa secara intrakutan di punggung 1 ml (sel HeLa 8×10^6 per mikrolit). Mencit di observasi terjadinya nodul pada daerah injeksi. Saat pertumbuhan nodul mulai mengecil, dilakukan pembedahan dan pemeriksaan histopatologi dengan Hematotoksin-Eosin (HE). Hasil penelitian didapatkan jaringan kulit mencit yang terimplantasi sel HeLa ukuran sel besar, volume nucleus lebih besar dari volume sitoplasma dan sel tidak saling terikat satu dengan yang

lain. Gambaran sel HeLa yang terimplantasi pada jaringan kulit tersebut menyerupai pulasan sitologik vagina dari penderita kanker servik yaitu sel yang telah tersapu dari permukaan tumor atau teraspirasi dari massa melali jarum halus

Kata kunci: model, kanker servik, sel HeLa

4.2 Latar Belakang

Kanker serviks merupakan kanker primer berasal dari serviks (kanalis servikalis dan atau porsio). Setengah juta kasus dilaporkan setiap tahunnya dan insidennya lebih tinggi di Negara sedang berkembang. Hal ini kemungkinan besar diakibatkan belum rutinnya program skrining pap smear yang dilakukan. Di Amerika latin, gurun Sahara Afrika dan Asia tenggara termasuk Indonesia kanker serviks menduduki urutan kedua setelah kanker payudara. Di Indonesia dilaporkan jumlah kanker serviks baru adalah 100 per 100.000 penduduk per tahun atau 180.000 kasus baru dengan usia antara 45-54 tahun dan menempati urutan teratas dari 10 kanker yang terbanyak pada wanita. Perjalanan penyakit karsinoma serviks merupakan salah satu model karsinogenesis yang melalui tahapan atau multistep, dimulai dari karsinogenesis yang awal sampai terjadinya perubahan morfologi hingga menjadi kanker invasive.

Sel HeLa dapat di gunakan sebagai tes antitumor, transformasi uji tumorigenitas, uji sitotoksisitas, biologi sel dan invasi bakteri. Sel HaLa secara morfologi merupakan sel epitel yang sudah di masuki oleh *Human papilloma virus* (HPV) tipe 18. Sel bersifat immortal dan sangat agresif sehingga mudah untuk menginvasi kultur sel lain/jaringan lain (Doyle dan Griffiths, 2000). Terapat beberapa alasan pemilihan sel HeLa pada penelitian yang berkaitan dengan kanker servik karena sel HeLa memiliki gen p53 yang dapat diinduksi dengan senawa yang diujikan sehingga terjadi apoptosis sel (Desaintes *et al.*, 1999).

Kanker servik diantaranya terjadi karena infeksi *Human papilloma virus* (HPV) yang menyebabkan terjadinya perubahan yang abnormal dari sel-sel leher Rahim (Riono., 1999). *Papillomavirus* merupakan virus DNA yang menginfeksi kulit dan membrane mukosa manusia (Desaintes *et al.*, 1997). Ketika menginfeksi sel, HPV tipe 18 akan mengekspresikan protein E6 dan E7 (Thierry *et al.*, 1987 cit Desaintes *et al.*, 1997). Protein ini merupakan protein supresor yang berpengaruh pada proiferasi dan kematian sel. E6 berikatan dengan p53 untuk mendegradasi p53 sehingga sel tidak mengalami apoptosis. Sedangkan E7 berikatan dengan pRb yang menyebabkan sel berproliferasi terus-menerus (Dyson *et al.*, 1989 cit Desaintes *et al.*, 1997)

Penelitian bertujuan melakukan pembuatan model kanker servik dengan mengimplantasikan sel HeLa pada mencit yang sudah dibuat immunosupresif.

4.3 Tujuan Penelitian

- a. Pembuatan model kanker servik dengan mengimplantasikan sel HeLa pada mencit yang sudah dibuat immunosupresif
- b. Mengidentifikasi pertumbuhan sel kanker hasil Implantasi dengan metode pengukuran pertumbuhan nodul dan pemeriksaan Hematotoksin-Eosin (HE).

4.4 Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain true eksperimen dengan 5 ekor mencit DDY usia 2 bulan, BB 20-30 gram dari LPPT 4 UGM. Mencit di injeksi dexametazon 0,5 mg/kg BB sampai 7 hari untuk mensupresi imunitasnya.

Sel HeLa di dapatkan dari LPPT 1 UGM dengan menumbuhkan sel HeLa dari penyimpanan Nitrogen cair dengan ethanol 70%. Sel dipindahkan ke tabung conical sterilyang berisi medium RPMI 1640. Selanjutnya sel di sentrifuse 325 G selama 5 menit. Pelet di tambahkan medium penumbuh yang mengandung 20% PBS. selanjutnya sel di tumbuhkan dalam *tissue culture flash* diinkubasi 37°C CO₂ 5%. Setelah sel confluence di panen dan di cusi dengan PBS tanpa Ca dan Mg. Sel di lepaskan dengan menambahkan tripsin 0,25%, selanjutnya di tambah RPMI 1640 sampai 10 ml. Sel di sentrifuse selama 5 menit. Selanjutnya sel ditambah medium penumbuh 20% PBS sehingga di peroleh konsentrasi $8 \times 10^6/100$ mikrolit.

Media yang di gunakan pada kultur sel HeLa RPMI 1640-serum, karena mengandung nutrisi yang di butuhkan sel seperti asam amino, vitamin, garam-garam organik dan glukosa, sedangkan serum mengandung hormone yang memicu pertumbuhan sel. Albumin sebagai protein transport, lipid untuk pertumbuhan sel dan mineral sebagai kofaktor enzim. Seluruh komponen media RPMI-serum tersebut untuk memberikan nutrisi yang cukup pada sel untuk tetap bertahan hidup dan membanyak diri (Freshney,1987).

Selanjutnya mencit diinjeksi sel HeLa secara intrakutan di punggung 1 ml (sel HeLa 8×10^6 per mikrolit). Mencit di observasi terjadinya nodul pada daerah injeksi. Saat pertumbuhan nodul mulai mengecil, dilakukan pembedahan dan pemeriksaan histopatologi dengan Hematotoksin-Eosin (HE).

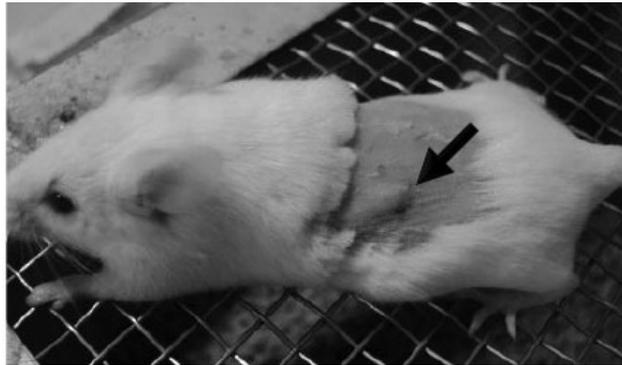
4.5 Hasil dan Pembahasan

4.5.1 Hasil

1. Induksi kanker servik mencit dengan Implantasi sel HeLa
Induksi kanker pada penelitian ini di lakukan dengan mengimplantasikan sel HeLa pada punggung mencit yang telah di supresi system imunnya. Implantasi di lakukan dengan menginjeksikan sel HeLa sejumlah 8×10^6 per mikrolit. Hasil

Implantasi menunjukkan bahwa pada kulit mencit dapat memunculkan nodul kanker mencapai 100%. Induksi kanker menghasilkan tumor bersifat local dan tidak mengalami metastase. Sel HeLa diimplantasikan secara intrakutan dengan tujuan mempertahankan sel tetap berada pada tempatnya. Keadaan ini memungkinkan tumbuhnya nodul pada daerah implantasi.

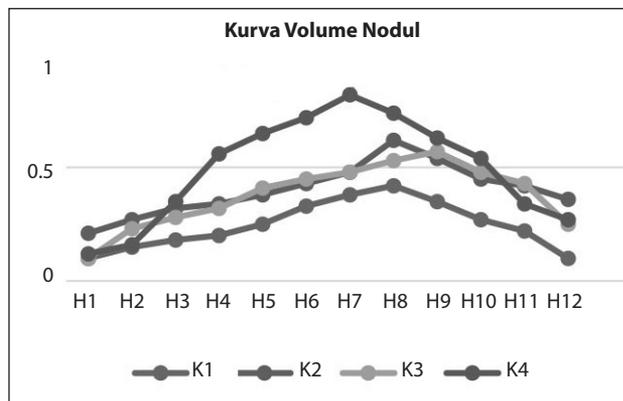
Nodul yang terbentuk pada awalnya memiliki konsistensi yang lunak karena berisi suspensi sel HeLa tetapi kemudian mengalami perunahan menjadi keras pada hari ke-3 setelah implantasi.



GAMBAR 1

Nodul hasil Implantasi sel HeLa pada punggung mencit. Nodul muncul pada hari ke-3 setelah implantasi secara intrakutan. Nodul memiliki konsistensi keras.

Pertumbuhan nodul diamati setiap hari selama 12 hari. Nodul mulai muncul pada hari ke-3 setelah implantasi. Nodul mencapai nilai optimum pada hari ke 8 kemudian mulai mengalami penurunan pada hari ke-9.

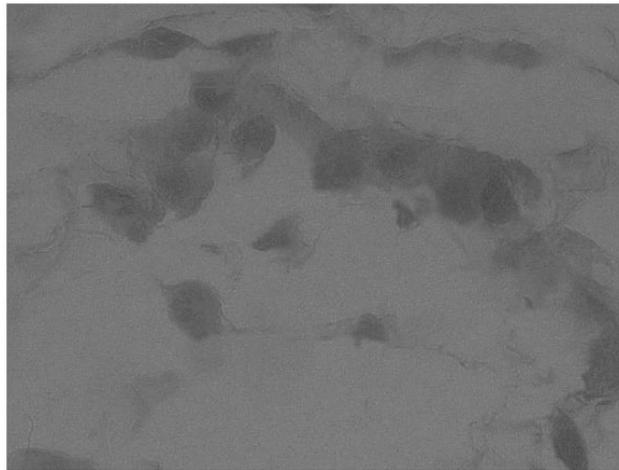


GAMBAR 2

Kurve volume nodul hasil implantasi sel HeLa

2. Gambaran Mikroskopik sel HeLa yang terimplantasi pada mencit

Hasil penelitian didapatkan jaringan kulit mencit yang terimplantasi sel HeLa ukuran sel besar, volume nucleus lebih besar dari volume sitoplasma dan sel tidak saling terikat satu dengan yang lain (*loss of contact inhibition*). Sel HeLa yang terimplantasi dalam jaringan kulit tidak dapat membentuk *massive tumor*. Gambaran sel HeLa yang terimplantasi pada jaringan kulit tersebut menyerupai pulasan sitologik vagina dari penderita kanker servik yaitu sel yang telah tersapu dari permukaan tumor atau teraspirasi dari massa melali jarum halus.



GAMBAR 3

Gambaran sel HeLa yang terimplantasi pada jaringan kulit. Hasil pengecatan H&E (pembesaran 1000x) menunjukkan sel memiliki ukuran yang besar dan volume nucleus lebih besar daripada volume sitoplasma. Sel tidak saling terikat satu dengan yang lain.

4.5.2 Pembahasan

Model kanker servik dengan menggunakan sel HeLa yang terimplantasi pada jaringan kulit pernah dilakukan oleh Marquez-Lemus *et al.*, 2005 secara intraepithelial pada kaki dengan implantasi $1,5 \times 10^6$ sel HeLa pada nu/nu mice betina berumur 3-4 minggu dapat menghasilkan tumor yang muncul pada hari ke 15 setelah implantasi tanpa terjari metastasis. Mencit jenis nu/nu *mice (nude mice)* merupakan mencit yang di mutasi secara genetic sehingga tidak mempunyaikelenjar timus (*athymic mouse*). Karena tidak mempunyai timus, nude mice tidak dapat memproduksi sel T (*lymphocytes*) yang berperan penting dalam system imun, sehingga tidak dapat menghasilkan respon imun. Dengan demikian *nude mice* tidak dapat menolak xenograft, yaitu transplantasi jaringan dari spesies lain.

Pada penelitian ini menggunakan mencit DDY yang berumur 2 bulan dengan berat badan 20-30 gram. Mencit yang di gunakan dalam penelitian ini di lakukan injeksi dexametazon 0,5 mg/kg BB secara intramuscular (IM) di paha selama 7 hari dengan tujuan mendepresi system imunnya. Dexametazon merupakan obat golongan steroid yang bersifat mendepresi system imun. Namun penggunaannya tidakboleh berlebih karena dapat merusak system kekebalan mencit sehingga terjadi kematian. Dari 5 mencit yang di gunakan penelitian terdapat 1 mencit yang mati setelah diinjeksi dexametazon. Tehnik immunosupresi yang di gunakan ini dapat mencapai 100% terbukti setelah injeksi dexametazon mencit tampak agak lemah dan nafsu makannya kurang. Namun supresi imun juga masih bersifat sementara sehingga secara alami nodul yang terbentuk akan mengecil dan pada akhirnya menghilang.

Salah satu bentuk respon imun terhadap implantasi sel adalah adanya peradangan. Pada daerah implantasi, arteriola prakapiler akan berdilatasi dan venula pascakapiler akan menyempit sehingga meningkatkan aliran darah lokal. Peristiwa tersebut dapat menyebabkan pembengkakan dan warna kemerahan yang khas pada peradangan (Campbell.,2004). Pembengkakan dan warna merah terjadi dapat secara jelas diamati setelah nodul diisolasi.

Respon peradangan di mulai oleh adanya sinyal kimiawi. Sinyal kimiawi tersebut muncul dari organisme/sel penyerang. Sinyal kimiawi tersebut perumakan sitokin proinflamasi diantaranya adalah histamine dan serotonin. Histamin di hasilkan oleh leukosit yang beredar disebut basofil dan sel mast yang di temukan pada jaringan ikat. Ketika terjadi perlukaan, sel-sel tersebut menstimulus pengeluaran histamine dan memicu pembesaran dan peningkatan permeabilitas kapiler. Leukosit dan sel-sel jaringan yang rusak mengeluarkan prostaglandin yang selanjutnya akan meningkatkan aliran darah ke daerah luka. Peningkatan aliran darah local dan permeabilitas kapiler akan meningkatkan migrasi sel makrofag ke daerah jaringan yang terluka. Selanjutnya makrofag bersama neutrophil akan memfagositosis jaringan yang mati/nekrosis. (Campbell.,2004).

Nodul yang terbentuk setelah implantasi sel HeLa berisi sel tumor dan sel-sel produk dari reaksi imun. Berdasarkan hasil terminasi optimum terlihat pada hari ke 7 dan 8 setelah implantasi. hal ini menunjukkan sel telah terjadi proses inflamasi akibat stimulasi dari sel HeLa yang diimplantasikan. Implantasi sel HeLa pada jaringan kulit menyebabkan terjadinya infiltrasi neutrophil menuju tempat implantasi sehingga mengakibatkan pembengkakan pada lapisan dermis. Implantasi yang dilakukan secara benar pada intrakutan di tunjukkan dengan keberadaan sel pada lapisan dermis.

Sel kanker mempunyai morfologi yang berbeda dengan sel normal (Price 1994). Untuk itu perlu di lakukan pengecatan Hematokdilin-Eosin (H&E) terhadap jaringan nodul yang timbul. Pada penelitian ini setelah di lakukan pemeriksaan jaringan kulit (Nodul) yang terimplantasi sel HeLa dengan metode H&E terlihat sel berukuran besar dengan inti berwarna merah muda dan volume nucleus lebih besar disbanding

sitopkasmanya. Sel tidak saling terikat satu dengan yang lain (*loss of contact inhibition*). Sel HeLa yang terimplantasi dalam jaringan kulit tidak dapat membentuk *massive tumor*.

Gambaran sel HeLa yang terimplantasi pada jaringan menyerupai sel-sel ganas pada pulasan sitologik vagina dari penderita kanker servik yaitu sel yang telah tersapu dari permukaan tumor atau teraspirasi dari massa melali jarum halus (Price.,1994). Sel tumor mempunyai inti besar yang berbentuk tidak teratur dengan nucleus yang menonjol dan sitoplasma sedikit (Damjanov.,2000).

4.6 Kesimpulan dan Saran

4.6.1 Kesimpulan

1. Pembuatan model kanker servik dengan mengimplantasikan sel HeLa pada mencit yang sudah dibuat immunosupresif sudah bisa mnggambarkan kondisi adanya kanker namun masih berlokasi pada bagian punggung mencit.
2. Hasil Indentifikasi pertumbuhan sel kanker hasil Implantasi dengan metode pengukuran pertumbuhan nodul di dapatkan ukuran nodul yang mengalami peningkatan diameter mulai hari pertama sampai dengan hari ke 7 sampai delaman, selanjutnya nodul mengalami penurunan diameter sampai dengan hari ke 12.
3. Hasil pemeriksaan Hematotoksilin-Eosin (HE) di dapatkan sel berukuran besar dengan inti berwarna merah muda dan volume nucleus lebih besar disbanding sitopkasmanya. Sel tidak saling terikat satu dengan yang lain (*loss of contact inhibition*).

4.6.2 Saran

1. Pada penelitian selanjutnya perlu dilakukan penelitian untuk implantasi sel HeLa pada daerah servik, sehingga dapat menggambarkan kondisi pertumbuhan kanker yang sesungguhnya dengan lingkungan nyata.
2. Pemeriksaan indentifikasi pertumbuhan sel kanker disarankan langsung pada servik yang telah dilakukan implantasi.

4.7 Daftar Pustaka

- Campbell, NA., Reece.,J.B Mitchell.,L.G., Biologi, Edisi ke-5 jilid 1, diterjemahkan oleh Wasmen Manalu, Penerbit Erlangga, Jakarta., 2004, hal 75.
- Damjonov, I.,Histopatologi, di terjemahkan oleh dr. Brahm U. Pendit, cetakan ke-1, Penerbit Medika, Jakarta., 2000, hal 65.
- Desaintes,C., Goyat, S., Yanif.,M., Thierry, F. Papilomavirus E2 indus p53-independent apoptosis in HeLa cells, *Oncogene*,1999. 18, 4538-4545.

- Griffiths, G.D., Leek, M.D. and Gee, D.J. The toxic plant proteins ricin and abrin induce apoptotic changes in mammalian lymphoid tissues and intestine, *J. Pathol.*, 1987., 151, 221-229.
- Marquez-Lemus, V.A., Noguez-Juarez, B.M., Salano-Rodriguez, L., Perez Zepata, A.J., Ramon-Gallegos, E., Schneider-Ehrenberg, O.P and Graue. Wiechers, F. In vivo study of Biological Effects of Photodynamic Therapy on Cervical Cancer, *Physica Scripta* 2005., 71, 1-4.
- Price, S.A. Patofisiologi: Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit, edisi ke-4 buku 1, diterjemahkan oleh Peter Anugerah, 119-120, Penerbit buku Kedokteran EGC., 1994, Jakarta

Bab 5

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN PEPAYA (*CARICA PAPAYA LINN*) TERHADAP AKTIVITAS PROLIFERASI SEL DAN APOPTOSIS PADA KANKER SERVIKS MENCIT C3H

5.1 Abstrak

Kanker serviks merupakan kanker yang primer berasal dari serviks (kanalis servikalis dan atau porsio). Pertumbuhan tumor dapat terjadi karena proliferasi yang tak terkontrol dan berkurangnya apoptosis. Pengembangan pengobatan antikanker diarahkan pada induksi pemacuan apoptosis. *Carica papaya L* atau pepaya merupakan salah satu tanaman yang diketahui untuk terapi antikanker dengan meningkatkan apoptosis dan menghambat proliferasi. Ekstrak methanol daun pepaya (*Carica papain L*) memiliki aktivitas inhibisi terhadap enzim DNA Topoisomerase II, suatu enzim yang berperan penting dalam proses replikasi, transkripsi, rekombinasi DNA, dan proliferasi sel kanker juga akan meningkat, dan dengan dihambatnya aktivitas enzim tersebut maka akan terjadi ikatan antara enzim dengan DNA semakin lama dan terjadi Protein Linked DNA Brake (PLDB) dan diakhiri dengan kematian secara apoptosis. Penelitian ini bertujuan untuk

melihat ekstrak daun pepaya dapat berperan sebagai antikanker, melalui penghambatan proliferasi sel dan induksi apoptosis. Penelitian ini menggunakan metode *true experiment* dengan 24 ekor mencit DDY usia 2 bulan, BB 20-30 gram dari LPPT 4 UGM. Pembuatan model kanker servik dengan mengimplantasikan sel HeLa pada mencit yang sudah dibuat immunosupresif dengan injeksi dexametazon 0,5 mg/kg BB sampai 7 hari. Selanjutnya mencit diinjeksi sel heLa secara intrakutan di punggung 1 ml (sel HeLa 8×10^6 per mikrolit). Mencit di observasi terjadinya nodul pada daerah injeksi. Mencit dibagi menjadi 4 kelompok, yaitu kelompok Kontrol (K), Perlakuan I (PI), Perlakuan II (PII), Perlakuan III (PIII). Masing-masing kelompok terdiri dari 6 mencit. Setelah semua kelompok di inokulasi sel tumor kanker dan terbentuk nodul (1-2 minggu), selanjutnya diberikan perlakuan sebagai berikut: K diet standar tanpa ekstrak daun pepaya, P1 diet standar dan ekstrak daun pepaya 225 mg/kg BB. P2 diet standard dan ekstrak daun pepaya 450 mg/kg BB. P3 diet standard dan ekstrak daun pepaya 750 mg/kg BB. Masing-masing di berikan perlakuan selama 2 minggu. Setelah masa perlakuan berakhir, mencit diterminasi dengan anastesi eter dan di lakukan pembedahan untuk diambil jaringan tumornya. Jaringan tumor diproses menjadi blok paraffin, kemudian dibuat preparat untuk pemeriksaan histopatologik dengan pewarnaan jaringan dengan HE. Selanjutnya dilakukan pengecatan imunohisto-kimia Ki67 untuk pendeteksi proliferasi dan pemeriksaan caspase -3 untuk mendeteksi apoptosis. Hasil penelitian didapatkan jaringan tumor terdeteksi adanya proliferasi menggunakan antibody KI-67 dengan nilai 54,7% analisa imunoRasio dan terdeteksi adanya apoptosis menggunakan antibody Caspase-3 dengan nilai 73,3% analisa imunoRasio.

Kata kunci: Kanker servik, Proliferasi, Apoptosis, *Carica papaya L*

5.2 Latar Belakang

Kanker merupakan penyebab kematian kedua setelah penyakit jantung, kematian akibat kanker di seluruh dunia antara 100 dan 350 dari setiap 100.000 orang setiap tahunnya [1,2]. Kanker serviks merupakan kanker yang primer berasal dari serviks (kanalis servikalis dan atau porsio) [2]. Di Indonesia dilaporkan jumlah kanker serviks baru adalah 100 per 100.000 penduduk per tahun atau 180.000 kasus baru dengan usia antara 45-54 tahun dan menempati urutan teratas dari 10 kanker yang terbanyak pada wanita [3,4]. Pertumbuhan tumor dapat terjadi karena proliferasi yang tak terkontrol dan berkurangnya apoptosis. Proliferasi sel adalah pembelahan sel (*cell division*) dan pertumbuhan sel (*cell growth*). Gangguan keseimbangan antara apoptosis dan proliferasi adalah faktor penting untuk terjadinya perkembangan dari tumor dan progresi tumor. Pertumbuhan tumor dapat terjadi karena proliferasi yang tak terkontrol dan berkurangnya

apoptosis. Penilaian apoptosis dan proliferasi untuk mengevaluasi pertumbuhan atau pengurangan masa tumor [5,6,7].

Carica papaya L atau pepaya merupakan salah satu tanaman yang diketahui untuk terapi antikanker dengan meningkatkan apoptosis dan menghambat proliferasi. Ekstrak methanol daun pepaya (*Carica papain L*) memiliki aktivitas inhibisi terhadap enzim DNA Topoisomerase II, suatu enzim yang berperan penting dalam proses replikasi, transkripsi, rekombinasi DNA, dan proliferasi sel kanker juga akan meningkat, dan dengan dihambatnya aktivitas enzim tersebut maka akan terjadi ikatan antara enzim dengan DNA semakin lama dan terjadi Protein Linked DNA Brake (PLDB) dan diakhiri dengan kematian secara apoptosis. Penelitian ini bertujuan untuk melihat ekstrak daun pepaya dapat berperan sebagai antikanker, melalui penghambatan proliferasi sel dan induksi apoptosis [8,9].

5.3 Tujuan Penelitian

- a. Mengidentifikasi aktivitas proliferasi dan induksi apoptosis pada mencit C3H yang tidak di buat model kanker servik
- b. Mengidentifikasi aktivitas proliferasi dan induksi apoptosis pada sel kanker serviks mencit C3H yang tidak diberi ekstrak daun pepaya (*Carica papaya L*) yaitu di ganti dengan pemberian obat antikanker.
- c. Mengidentifikasi aktivitas proliferasi dan induksi apoptosis pada sel kanker serviks mencit C3H antar kelompok yang diberi ekstrak daun pepaya (*Carica papaya L*) dengan dosis bertingkat 225 mg/kgBB/hari, 450 mg/kgBB/hari dan 750 mg/kgBB/hari.

5.4 Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental laboratorium, menggunakan desain *post test controlled group* dengan hewan coba mencit betina Populasi penelitian meliputi mencit strain C3H yang diperoleh dari Laboratorium Penelitian Pusat Terpadu (LPPT) Universitas Gadjahmada Yogyakarta. Penelitian menggunakan 24 ekor mencit usia 2 bulan, BB 20-30 gram.

5.4.1 Pembuatan Fraksi Kloroform Daun Pepaya

Bahan uji daun pepaya (*Carica papaya L*) diperoleh dari LIPI UPT Balai konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi, Pasuruan Jawa Timur, dan diekstraksi di bagian Laboratorium Nutrisi Bahan baku Obat UNAIR di Fakultas Farmasi.

Untuk memperoleh fraksi kloroform daun pepaya (*Carica papaya* L.) maka sebanyak 350 gram serbuk daun pepaya (*Carica papaya* L.) dimaserasi terlebih dahulu dengan pelarut heksana untuk menghilangkan kandungan lemaknya (*defatted*). Maserasi dilakukan sampai ekstrak menunjukkan warna yang jernih. Ampas yang telah dimaserasi dengan heksana dan dimaserasi lebih lanjut dengan metanol suasana asam (pH 3) dengan penambahan asam tartrat 1% (El-Sayyad, 1984), dilakukan berulang-ulang sampai ekstrak berwarna jernih. Tahapan selanjutnya adalah membasakan ekstrak metanolasam dengan NH_4OH 5% sampai pH 9. Tahapan ini bertujuan untuk menghidrolisis alkaloid dalam bentuk garam menjadi bentuk *base*-nya sehingga dapat ditarik oleh pelarut organik seperti kloroform. Fraksi kloroform yang didapat ke mudian diuapkan dengan rotavapour sehingga didapatkan fraksi kloroform [8,9].

5.4.2 Pembuatan Model Hewan Coba Kanker Servik

Pembuatan model kanker servik dengan mengimplantasikan sel HeLa pada mencit yang sudah dibuat immunosupresif dengan injeksi dexametazon 0,5 mg/kg BB sampai 7 hari. Selanjutnya mencit diinjeksi sel heLa secara intrakutan di punggung 1 ml (sel HeLa 8×10^6 per mikrolit). Mencit di observasi terjadinya nodul pada daerah injeksi. Mencit dibagi menjadi 5 kelompok, yaitu kelompok Kontrol Negatif (K -), Kelompok Kontrol Positif (K +), Perlakuan I (PI), Perlakuan II (PII), Perlakuan III (PIII). Masing-masing kelompok terdiri dari 6 mencit. Setelah semua kelompok di inokulasi sel tumor kanker dan terbentuk nodul (1-2 minggu), selanjutnya diberikan perlakuan sebagai berikut: K (-) diet standar tanpa ekstrak daun pepaya, K (+) diet standar dengan obat anti kanker (P1 diet standar dan ekstrak daun pepaya 225 mg/kg BB. P2 diet standard dan ekstrak daun pepaya 450 mg/kg BB. P3 diet standard dan ekstrak daun pepaya 750 mg/kg BB. Masing-masing di berikan perlakuan selama 2 minggu.

Setelah masa perlakuan berakhir, mencit diterminasi dengan anastesi eter dan di lakukan pembedahan untuk diambil jaringan tumornya. Jaringan tumor diproses menjadi blok paraffin, kemudian dibuat preparat untuk pemeriksaan histopatologik dengan pewarnaan jaringan dengan HE. Selanjutnya dilakukan pengecatan imunohistokimia Ki67 untuk pendeteksi proliferasi dan pemeriksaan caspase -3 untuk mendeteksi apoptosis.

5.4.3 Pembuatan Blok Paraffin pada Jaringan Tumor

Blok parafin berisi jaringan biopsy kanker dipotong dengan ketebalan $4\mu\text{m}$ menggunakan mikrotom, kemudian dilakukan deparafinasi dengan xilol. Selanjutnya dilakukan rehidrasi dengan etanol konsentrasi menurun, diikuti dengan *Phosphat Buffer Saline* (PBS) 3×5 menit. Sediaan jaringan kemudian diinkubasi pada DAKOR Buffer Antigen

Retrieval pada *microwave* dengan suhu 94 oC selama 20 menit dan dilanjutkan dengan pendinginan selama 20 menit pada suhu ruangan. Sediaan dicuci dengan PBS 3 × 5 menit, dan diinkubasi pada Blok Peroksidase (NovocastraR). Selanjutnya sediaan dicuci kembali dengan PBS 3 × 5 menit dan diinkubasi semalam dengan anti bodi MIB-1 pada suhu 4 oC. Setelah pencucian dengan PBS 3 × 5 menit, sediaan kembali diinkubasi dengan antibodi ke 2 yaitu Novolink *Horse Radish Peroksidase* (HRP), Novocastra R selama 60 menit pada temperatur ruang. Setelah inkubasi, sediaan dicuci dengan PBS 3 × 5 menit dan dilakukan *counter stain* dengan hematoksilin (NovocastraR). Selanjutnya, dilakukan dehidrasi pada sediaan menggunakan etanol konsentrasi meningkat, dilanjutkan dengan proses penjernihan dengan xilol, dan *mounting* [10,11].

5.4.4 Pulasan Immunohistokimia Caspase-3 dan KI67

Sediaan mikroskopik jaringan tumor dideparafinasi dengan xilol, kemudian dilakukan rehidrasi dengan etanol konsentrasi menurun, dan diikuti dengan PBS 3 × 5 menit. Sediaan jaringan kemudian diinkubasi pada DAKOR Buffer antigen Retrieval pada *microwave* suhu 98 oC selama 10 menit dan dilanjutkan dengan pendinginan selama 20 menit pada suhu ruangan. Setelah dicuci dengan PBS/Tween 3 × 3 menit, sediaan jaringan diinkubasi pada *Quench Peroksidase Cell Signaling* R, dan dicuci kembali dengan PBS/Tween 2 × 3 menit. Proses selanjutnya adalah inkubasi pada *blocking solution* selama 60 menit dan antibodi primer (apoptosis) pada suhu 4 oC selama 1 malam. Sediaan dicuci dengan PBS/Tween 3 × 5 menit lalu diinkubasi pada antibodi kedua selama 30 menit dan dicuci kembali dengan PBS/Tween 3 × 5 menit dan DAB (*Deamino Benzidine*) yang bersifat chromogen selama 2 – 10 menit. Selanjutnya dilakukan *counter stain* pada sediaan dengan hematoksilin eosin dan dilakukan dehidrasi dengan etanol konsentrasi meningkat, penjernihan dengan xilol, dan penempelan [11, 12].

Pewarnaan apoptosis dilakukan dengan teknik immunohistokimia menggunakan *Apoptosis Marker: SignalStain Cleaved Caspase-3* (Asp175), IHC *Detection Kit*. Sedangkan pewarnaan KI67 juga di lakukan dengan teknik immunohistokimia menggunakan Rabbit Anti-Ki-67 (Proliferation Marker) Polyclonal Antibody – 100 UI-Bioss.

Indeks apoptosis caspase-3 yang merupakan persentase jaringan kanker positif dievaluasi secara acak untuk menghindari hasil yang bias. Sedangkan Antigen proliferasi Ki-67 yang diidentifikasi sebagai antigen nuklear yang terkait dengan proliferasi sel. Analisis siklus sel secara rinci terhadap Ki-67 telah menunjukkan bahwa antigen terdapat dalam inti sel pada semua fase serta pada fase mitosis, sementara pada fase istirahat (G0) tidak mengekspresikan Ki-67 [11,12].

Pengamatan mikroskop dilakukan dengan tiga lapangan pandang dipilih secara acak, minimal berisi 1000 sel (menggunakan foto pada perbesaran mikroskop 400×). Untuk meminimalkan variasi dilakukan penghitungan ulang sehingga diperoleh variasi

tidak lebih dari 5%. Indeks apoptosis caspase-3 dengan kadar di atas 0,02 dikelompokkan sebagai apoptosis tinggi, dan kadar dibawah 0,02 dinilai sebagai apoptosis rendah (18). Hasil foto mikroskop akan di hitung indek apoptosis berdasarkan adanya warna coklat dengan menggunakan *soft ware* immunoRatio *online* [11,12].

ETHICAL CLEARANCE

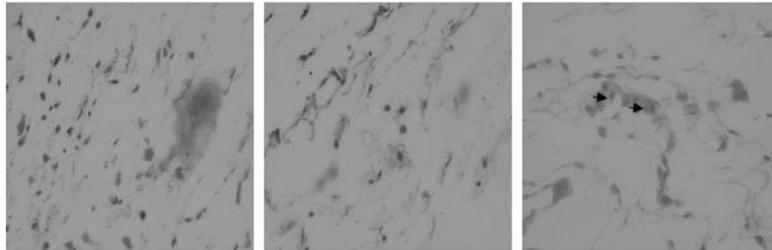
Penelitian ini telah lulus Uji Kelaikan Etik oleh Komisi Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga dengan Nomor: 408-KE

5.5 Hasil dan Pembahasan

5.5.1 Hasil

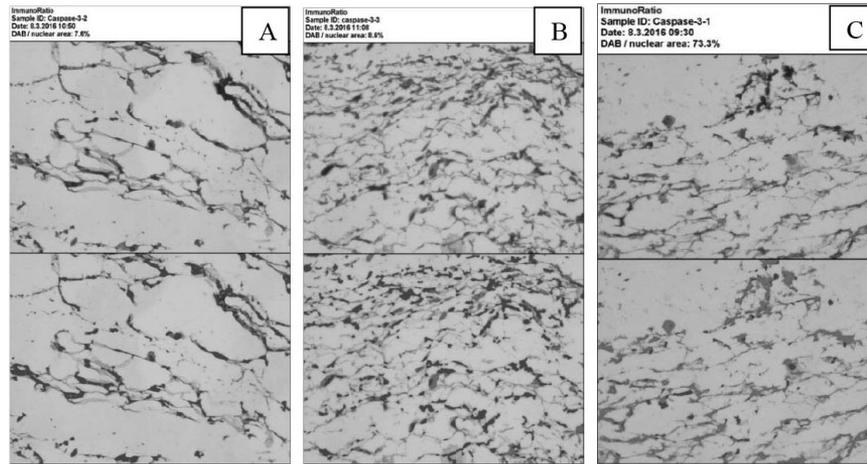
1. Hasil Pemeriksaan HE

Hasil pemeriksaan Histopatologi organ kulit mencit dengan pengecatan hematosilin dan Eosin di dapatkan hasil



- Kelompok K (-): terlihat area radang terkapsulasi jaringan ikat dengan pusat radang terdapat infiltrasi neutrophil dan makrofag. Terlihat sel HeLa di pusat radang.
- Kelompok K (+): Nekrosis epitel epidermis. Tampak adanya hyperkeratosis dan hancuran sel di epidermis disertai infiltrasi neutrophil dan limfosit di epidermis
- Kelompok P1: infiltrasi neutrophil, limfosit dan plasma sel dermis sampai muskularis
- Kelompok P2: Nekrosis epitel epidermis. Tampak adanya hyperkeratosis dan hancuran sel di epidermis di sertai infiltrasi neutrophil dan limfosit di epidermis.
- Kelompok P3: Tidak ada perubahan patologi, struktur kulit Nampak normal.

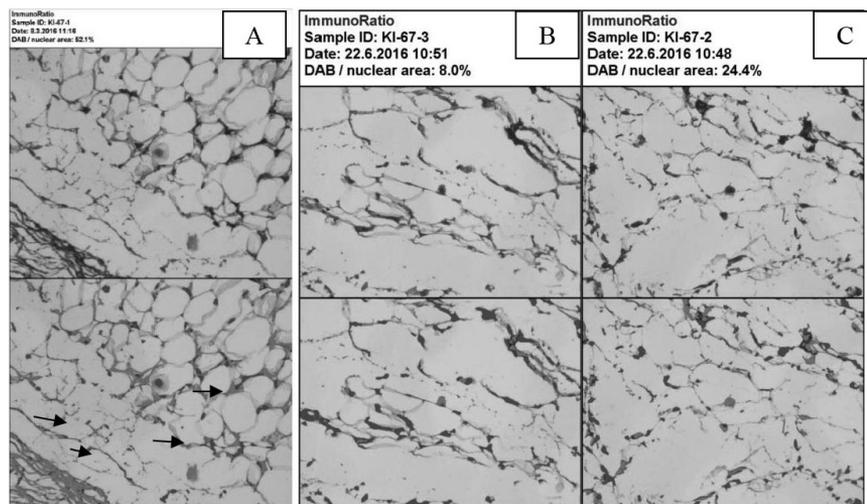
2. Identifikasi Indek Apoptosis dengan antibody Caspase-3



GAMBAR 2

Hasil Pemeriksaan Immunohistokimia apoptosis sel kanker dengan antibody caspase-3 kelompok perlakuan kelompok Kontrol Negatif sebesar 7,6% (Gambar A), dan perlakuan control positif dengan indek apoptosis 8.5% (Gambar B), perlakuan ekstrak daun pepaya dosis 500 mg/kgBB dengan indek apoptosis 73.3 % (Gambar C) di tunjukkan dengan adanya warna kecoklatan dengan analisa ImmunoRasio.

3. Identifikasi Aktivitas Proliferasi dengan antibody KI-67



GAMBAR 3

Hasil Pemeriksaan Immunohistokimia proliferasi sel kanker dengan antibody KI-67 kelompok control negatif dengan aktivitas proliferasi 57.4 % (Gambar A), dan kelompok control positif dengan aktivitas proliferasi 24.4% (Gambar B) dan kelompok perlakuan ekstrak daun pepaya dosis 500 mg/kgBB dengan aktivitas proliferasi 8.0% (Gambar C) di tunjukkan dengan adanya warna kecoklatan dengan analisa ImmunoRasio.

5.5.2 Pembahasan

1. Identifikasi ekspresi apoptosis sel kanker dengan antibody Caspase 3

Hasil pengamatan pada sediaan mikroskopis jaringan kanker servik dengan pemeriksaan imunohistokimia terhadap ekspresi apoptosis dengan menggunakan antibody caspase 3 di tunjukkan pada gambar 2. Ekspresi apoptosis caspase-3 (berwarna coklat) pada inti sel kanker servik caspase-3 dapat dilihat pada Gambar 1-3. Penilaian apoptosis dengan pemeriksaan imunohistokimia dengan antibody caspase 3 menunjukkan nilai rata-rata 73%.

Pada penelitian ini di gunakan ekstrak daun pepaya pada 3 dosis yaitu 225, 450, 750 mg/kgBB. Dari ketiga dosis yang di gunakan yang paling memberikan ekspresi apoptosis pada dosis 2 yaitu 450 mg/kgBB yang di tunjukkan dengan nilai ekspresi caspase-3 73,3%. Pada hasil penelitian Sheridan, indeks apoptosis pada kanker indeks apoptosis pada kanker servik diamati dengan metode Tunel berkisar antara 0,01 – 0,08.

Apoptosis yang dideteksi dengan caspase-3 berkaitan dengan kematian sel dan repopulasi sel tumor. Apoptosis dideteksi dengan caspase-3 terkait dengan kematian sel kanker yang terjadi akibat kegagalan mitosis seperti yang diamati secara *in vitro* pada sel *HeLa*. Pemberian ekstrak daun pepaya berfungsi sebagai proapoptosis dapat meningkatkan ekspresi apoptosis sel kanker servik. Dalam proses apoptosis baik di tingkat embryogenik atau bersifat patologik berperan suatu peptida dari kelompok protein sistein protease yang disebut dengan caspase. Caspase pada apoptosis masuk ke dalam kelompok caspase yang berperan dalam proses inflamasi. Caspase-3 merupakan kelompok caspase yang paling penting dalam proses apoptosis, dan dengan teknik imunohistokimia apoptosis ini akan terlihat sebagai gumpalan coklat dalam nukleus (13,14).

2. Identifikasi ekspresi penghambatan proliferasi sel kanker dengan antibody KI67

Hasil pengamatan pada sediaan mikroskopis jaringan kanker servik dengan pemeriksaan imunohistokimia terhadap ekspresi proliferasi dengan menggunakan antibody KI67 di tunjukkan pada gambar 2. Ekspresi proliferasi KI67 (berwarna coklat) pada inti sel kanker servik dapat dilihat pada Gambar 2B. Penilaian proliferasi dengan pemeriksaan imunohistokimia dengan antibody KI67 menunjukkan nilai rata-rata 54,7%.

Antigen proliferasi Ki-67 yang diidentifikasi sebagai antigen nuklear yang terkait dengan proliferasi sel. Analisis siklus sel secara rinci terhadap Ki-67 telah menunjukkan bahwa antigen terdapat dalam inti sel pada semua fase serta pada fase mitosis, sementara pada fase istirahat (G0) tidak mengekspresikan Ki-67. Meskipun Struktur dan sifat protein ini telah dipahami, namun peranan fungsionalnya masih belum diketahui secara pasti [15].

Keterkaitan gen Ki-67, BRCA dan p53 yaitu ketiga gen ini merupakan protoonkogen dan gen suppressor tumor yang normalnya berfungsi untuk mengontrol pertumbuhan sel, tetapi jika terjadi mutasi pada ketiga gen ini menyebabkan sel-sel tidak terkontrol dan terjadi hiperproliferasi. P53 merupakan gen suppressor tumor dan molekul efektor *checkpoint* fase G1, G2, S dan M melalui induksi inhibitor siklus sel p21 sehingga menyebabkan berhentinya siklus sel. Mutasi pada gen p53 akan mengakibatkan proliferasi sel menjadi tidak terkendali. BRCA juga merupakan gen suppressor tumor yang memiliki peran penting dalam memperbaiki kerusakan DNA rantai ganda, berkurangnya BRCA akibat mutasi mengakibatkan ketidakstabilan gen sehingga menyebabkan pertumbuhan sel tumor [16].

Ki-67 merupakan protein inti non histon yang mempunyai dua isoform dengan berat molekul 359kD dan 320kD, gen ini terletak pada kromosom 11q25, protein ini ditemukan pada korteks nukleolus dan pada komponen fibrin yang padat di nukleolus selama fase interfase. Waktu paruh dari Ki-67 berkisar antara 1-1,5 jam. Jaringan payudara yang sehat mengekspresikan Ki-67 dalam level yang rendah (< 3%) [17,18].

Ekspresi Ki-67 bervariasi sesuai dengan fase siklus sel. Sel mengekspresi antigen ini selama *Growth phase-1* (G1), *Synthetic phase* (S), *Growth phase-2* (G2) dan *Mitotic phase* (M), tetapi tidak diekspresi selama fase istirahat (G0). Kadar Ki-67 rendah pada fase G1 dan S, mulai meningkat sampai mencapai titik tertinggi pada fase mitosis sedangkan pada fase anaphase dan telophase terjadi penurunan ekspresi secara tajam. Protein ini mempunyai peran penting dalam proses pembelahan sel, namun sampai saat ini fungsi yang pasti dari antigen ini belum diketahui [15].

Ki-67 merupakan petanda biologis yang dapat mencerminkan keadaan proliferasi sel. Banyak data yang menunjukkan bahwa Ki-67 merupakan faktor prognostik pada *carcinoma mammae* [15]. Ki-67 merupakan protein pada jaringan yang mengalami pembelahan dan menunjukkan bahwa protein ini berperan penting sebagai suatu penanda pembelahan sel. Peningkatan kadar akan diikuti oleh lesi dengan *grading* yang tinggi dan adanya mikroinvasi, oleh karena itu tidaklah mengherankan bahwa Ki-67 adalah merupakan prediktor untuk rekurensi pada *carscnoma duktal in situ* (DCIS) [19].

Proliferasi sel adalah pembelahan dan pertumbuhan sel, yang mekanisme dan pengaturannya didasari oleh adanya siklus sel. Aktifitas proliferasi sel dapat juga dideteksi menggunakan pengecatan imunohistokimia Ki-67. Ki-67 akan terekspresi pada sel yang berproliferasi pada *Growth phase-1* (G1), *Synthetic phase* (S), *Growth phase-2* (G2), *Mitotic phase* (M) kecuali fase istirahat (G0) dari siklus sel [15].

Sel secara normal mengalami pembelahan secara mitosis dalam suatu siklus yang dinamakan siklus sel, berfungsi untuk menghasilkan sel-sel yang baru yang

berguna untuk regenerasi dan untuk memperbaiki kerusakan, rangkaian ini diatur oleh rangkaian DNA pada setiap sel. Sel mempunyai gen yang mengatur proliferasi sel yang disebut protoonkogen seperti gen KI-67 dan gen yang berfungsi untuk mengatur penghentian atau penghambatan proliferasi sel yang disebut supresor gen seperti p-53. Gen-gen ini berfungsi sebagai kontrol, bila gen ini mengalami mutasi maka protein yang terkait tidak terbentuk dengan baik dan terjadilah pembelahan sel yang seharusnya tidak terjadi. Mutasi gen Ki-67 pada fase mitosis menyebabkan terjadinya pembelahan sel yang tidak terkontrol mengakibatkan pergerakan sel yang mengalami pembelahan dan mendorong sel tumor berjalan menembus membran basal yang telah rusak atau lisis dan masuk kedalam sirkulasi (aliran darah). Sel tumor yang membentuk gumpalan ini akan menyebar secara hematogen dan akhirnya masuk ke pembuluh darah dan dapat langsung menginvasi masuk ke pembuluh darah melalui vena kava sehingga dapat dideteksi dalam darah [20].

Ki-67 merupakan salah satu marker proliferasi sel yang berguna untuk menentukan *growth fraction* pada sel tumor selama fase aktif siklus sel [16,22]. Ekspresi Ki-67 di nilai berdasarkan tiga kelompok yaitu ekspresi Ki-67 *low grade* <15%, *intermediate* 16-30% dan *high grade* >30%) [15,21].

5.6 Kesimpulan dan Saran

5.6.1 Kesimpulan

1. Hasil pengamatan pada sediaan mikroskopis jaringan kanker servik dengan pemeriksaan imunohistokimia terhadap ekspresi apoptosis dengan menggunakan antibody caspase 3 di tunjukkan adanya warna coklat pada inti sel dengan nilai rata-rata 73%.
2. Hasil pengamatan pada sediaan mikroskopis jaringan kanker servik dengan pemeriksaan imunohistokimia terhadap ekspresi proliferasi dengan menggunakan antibody KI67 di tunjukkan adanya berwarna coklat pada inti dengan nilai rata-rata 54,7%.

5.6.2 Saran

Perlu adanya penelitian lebih lanjut terkait ididentifikasi apoptosis dan proliferasi dengan metode lain yang lebih spesifik.

5.7 Daftar Pustaka

American Cancer Society. Cancer Facts and Figures, *American Cancer Society Inc. Atlanta*, 2006



- Gomez DT, Santos JL. Human papilloma-virus infection and cervical cancer: pathogenesis and epidemiology. *Comm Current Res Edu Topics Trends App Microbiol.* 2007: 680-8.
- Badan Registrasi Kanker Perhimpunan Dokter Spesialis Patologi Indonesia Yayasan Kanker Indonesia. Kanker di Indonesia Tahun 2007. Data Histopatologik. Jakarta: *Direktorat Jenderal Pelayanan Medik Departemen Kesehatan RI*; 2007.
- Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics 2012. *CA Cancer J Clin.* 2012; 62:10-29.
- Marjorie C, Flavier P, Thaddeus J. The correlation of Ki-67 expression with tumor recurrence and survival rates in early stage carcinoma of the cervix. *Phil J Obst Gyn.* 2009; 33: 1-9.
- Zamora PC, Peris AD, Casado OF, Reina SO, Frias LS, Solano JG, *et al.* Effect of human papillomavirus on cell cycle-related protein p16, Ki-67, cyclin D1, p53, and proex C in precursor lesions of cervical carcinoma. *Am J Clin Pathol.* 2009; 132:378-90.
- Man-man N, Yin R, Xie C, Kang D, Tang X. The expression of RhoC and Ki67 in cervical intraepithelial neoplasma and squamous carcinoma of cervix. *J Sichuan Univ.* 2009; 40:236-39.
- Sukardiman, Wiwied Ekasari, Pharmasinta Putri Hapsari. Aktivitas Antikanker dan Induksi Apoptosis Fraksi Kloroform Daun Pepaya (*Carica papaya L*) terhadap Kultur Sel Kanker Mieloma, *Media Kedokteran Hewan*, 2006;22(2):104-111.
- Dalimartha, S. Ramuan Tradisional Untuk Pengobatan Kanker, Seri Agrosehat, *Penebar Swadaya Jakarta*, 2003;1(5):76-77.
- Kurnia I, Ohno T, Kato S, Ezawa H, Noguchi J, Tsujii H. Histopathological radiation effect and MIB-1 expression in cervical cancer: comparison of early response by radiotherapy with or without cisplatin. *Austral – Asian Journal of Cancer*, 2005;4(4):201-204.
- Iin Kurnia, Budiningsih Siregar, Setiawan Soetopo, Irwan Ramli, Tjahya Kurjana, Andriano, Maringan DL Tobing, Bethy Suryawathi, Devita Tetriana. Korelasi Antara Mib-1, Agnor Dan Apoptosis Caspase-3 Dengan Respons Kemoradioterapi Pada Kanker Servik. *Jurnal sains dan Tehnologi Nuklir Indonesia*, 2013;14(1):51-63.
- Nita Hertati, Heni Maulani, Zulkarnain Musa, Zen Hafy. Hubungan antara Ekspresi Ki-67 dengan Stadium Klinis dan Derajat Histopatologis Karsinoma Sel Skuamosa Serviks. *Majalah Patologi*, 2014;23(3):17-23.
- Tschopp J, Martinon F, Burns K. NALPs: a novel protein family involved in inflammation. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2003;4: 95-104.
- Xia L, Xue XZ. Immunohistochemical study of NF- κ B p65, c-IAP2 and caspase-3 expression in cervical cancer. *Oncology Letters* 2012;3: 839- 44.



- Yang Xue-Qin. High Ki-67 Expression is a Poor Prognostic Indicator of 5-Year Survival in Patients with Invasive Breast Cancer. *Department of Oncology, Zhongnan Hospital of Wuhan University*. 2011;12:3101-3102.
- Rahayu. Perbedaan Rerata Ekspresi Protein Ki-67 Pada Adenoma Dan Karsinoma Kolorektal Pada Biopsi Kolonoskopi, 2013: 16-17. Diakses 15 Oktober 2014. Available from: www.pps.unud.ac.id/
- Dowsett. Proliferation Marker Ki-67 in Early Breast Cancer. *American Society of Clinical Oncology* 2005. Diakses 3 September 2014. Available from: jco.ascopubs.org
eelramah@yahoo.com
- Haroon S. Ki67 Index in Breast Cancer: Correlation with Other Prognostic Markers and Potential in Pakistani Patients. Department of Medical Oncology, Sindh Institute of Urology and Transplantation. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 2013.
- Annals of Oncology. Is the Ki-67 Labelling Index ready for Clinical Use? *Published by Oxford University Press on behalf of the European Society for Medical Oncology*, 2011.
- Desen Wan. Kanker payudara. *Onkologi Klinik. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia*, 2011: 366-71.
- Hassan. Ki-67 marker useful for classification of malignant invasive ductal breast cancer. Department of Anatomical Pathology, *Faculty of Medicine*, 2013
- Munhoz NG, Rodriques DA, Pedregosa JF, Rodriques JO, Junqueira MS, Yunamine PTK, The use of molecular markers (p16, Ki-67 and E-cadherin) in uterine cervical biopsies. *Open Pathol J*. 2009; 3: 10-7

Bab 6

EFEKTIFITAS PENGHAMBATAN PROLIFERASI SEL DAN INDUKSI APOPTOSIS EKSTRAK METHANOL DAUN PEPAYA (*CARICA PAPAYA LINN*) PADA TIKUS MODEL KANKER SERVIKS MELALUI JALUR NFKB DAN P53

6.1 Abstrak

Carica papaya L atau pepaya merupakan salah satu tanaman yang diketahui untuk terapi antikanker dengan meningkatkan apoptosis dan menghambat proliferasi. Ekstrak methanol *Carica papain L* memiliki aktivitas inhibisi terhadap enzim DNA Topoisomerase II, suatu enzim yang berperan penting dalam proses replikasi, transkripsi, rekombinasi DNA, dan proliferasi sel kanker juga akan meningkat, dan dengan dihambatnya aktivitas enzim tersebut maka akan terjadi ikatan antara enzim dengan DNA semakin lama dan terjadi Protein Linked DNA Brake (PLDB) dan diakhiri dengan kematian

secara apoptosis. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisa ekstrak daun pepaya sebagai antikanker, melalui penghambatan proliferasi sel dan induksi apoptosis melalui jalur NF κ B dan P53. Penelitian ini menggunakan metode *true experiment* dengan 24 ekor mencit DDY usia 2 bulan, BB 20-30 gram dari LPPT 4 UGM. Pembuatan model kanker servik dengan mengimplantasikan sel HeLa pada mencit yang sudah dibuat immunosupresif dengan injeksi dexametazon 0,5 mg/kg BB sampai 7 hari. Selanjutnya mencit diinjeksi sel hella secara intrakutan di punggung 1 ml (sel HeLa 8×10^6 per mikrolit). Mencit di observasi terjadinya nodul pada daerah injeksi. Mencit dibagi menjadi 5 kelompok, yaitu kelompok Kontrol Negatif (P1) dengan perlakuan cmc Na 5%, Perlakuan II (dosis 225mg/kgBB), Perlakuan III (dosis 450 mg/kgBB),Perlakuan IV (dosis 750 mg/kgBB) dan perlakuan PV (pemberian obat anti kanker alkaren 2 mg). Masing-masing kelompok terdiri dari 5 mencit. Setelah semua kelompok di inokulasi sel tumor kanker dan terbentuk nodul (1-2 minggu), selanjutnya diberikan perlakuan. Masing-masing di berikan perlakuan selama 2 minggu. Setelah masa perlakuan berakhir, mencit diterminasi dengan anastesi eter dan di lakukan pembedahan untuk diambil jaringan tumornya. Jaringan tumor diproses menjadi blok paraffin,kemudian dibuat preparat untuk pemeriksaan histopatologik dengan pewarnaan jaringan dengan HE. Selanjutnya dilakukan pengecatan imunohisto-kimia Ki67 untuk mendeteksi proliferasi dan pemeriksaan caspase -3 untuk mendeteksi apoptosis. Untuk mengetahui ekspresi NF κ B dideteksi dengan imunohistokimia dengan antibody NF κ B (abcam) dan ekspresi P53 menggunakan antibody P53 (santa cruz). Selanjutnya data di analisa menggunakan *ImmunoRatio soft ware program* didapatkan kelompok perlakuan ekstrak daun pepaya dosis 450 mg/kgBB/hari menunjukkan hasil paling tinggi meningkatkan ekspresi NF κ B dengan rerata 79,3% dan dapat meningkatkan ekspresi P53 dengan rerata 98,3%.

Kata kunci: Kanker servik, Proliferasi, Apoptosis, *Carica papaya L*

6.2 Latar Belakang

Kanker merupakan penyebab kematian kedua setelah penyakit jantung, kematian akibat kanker di seluruh dunia antara 100 dan 350 dari setiap 100.000 orang setiap tahunnya [1,2]. Kanker serviks merupakan kanker yang primer berasal dari serviks (kanalis servikalis dan atau porsio) [2]. Di Indonesia dilaporkan jumlah kanker serviks baru adalah 100 per 100.000 penduduk per tahun atau 180.000 kasus baru dengan usia antara 45-54 tahun dan menempati urutan teratas dari 10 kanker yang terbanyak pada wanita [3,4]. Pertumbuhan tumor dapat terjadi karena proliferasi yang tak terkontrol dan berkurangnya apoptosis. Prolifersi sel adalah pembelahan sel (*cell division*) dan pertumbuhan sel (*cell growth*). Gangguan keseimbangan antara apoptosis dan proliferasi adalah faktor penting untuk terjadinya perkembangan dari tumor dan progresi tumor.

Pertumbuhan tumor dapat terjadi karena proliferasi yang tak terkontrol dan berkurangnya apoptosis. Penilaian apoptosis dan proliferasi untuk mengevaluasi pertumbuhan atau pengurangan masa tumor [5,6,7].

Carica papaya L atau pepaya merupakan salah satu tanaman yang diketahui untuk terapi antikanker dengan meningkatkan apoptosis dan menghambat proliferasi. Ekstrak methanol daun pepaya (*Carica papain L*) memiliki aktivitas inhibisi terhadap enzim DNA Topoisomerase II, suatu enzim yang berperan penting dalam proses replikasi, transkripsi, rekombinasi DNA, dan proliferasi sel kanker juga akan meningkat, dan dengan dihambatnya aktivitas enzim tersebut maka akan terjadi ikatan antara enzim dengan DNA semakin lama dan terjadi Protein Linked DNA Brake (PLDB) dan diakhiri dengan kematian secara apoptosis. Penelitian ini bertujuan untuk melihat ekstrak daun pepaya dapat berperan sebagai antikanker, melalui penghambatan proliferasi sel dan induksi apoptosis [8,9].

6.3 Tujuan Penelitian

- a. Mengidentifikasi ekspresi NFκB dan ekspresi P53 pada model tikus yang tidak di buat kanker servik
- b. Mengidentifikasi ekspresi NFκB dan ekspresi P53 pada sel kanker serviks mencit C3H yang tidak diberi ekstrak daun pepaya (*Carica papaya L*) yaitu di ganti dengan pemberian obat antikanker.
- c. Mengidentifikasi ekspresi NFκB dan ekspresi P53 pada sel kanker serviks mencit C3H antar kelompok yang diberi ekstrak daun pepaya (*Carica papaya L*) dengan dosis bertingkat 225 mg/kgBB/hari, 450 mg/kgBB/hari dan 750 mg/kgBB/hari.

6.4 Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental laboratorium, menggunakan desain *post test controlled group* dengan hewan coba mencit betina Populasi penelitian meliputi mencit strain C3H yang diperoleh dari Laboratorium Penelitian Pusat Terpadu (LPPT) Universitas Gadjahmada Yogyakarta. Penelitian menggunakan 24 ekor mencit usia 2 bulan, BB 20-30 gram.

6.4.1 Pulasan Immunohistokimia NFκB

Dilakukan pengumpulan blok parafin dari 24 sediaan tersebut dan dilakukan pewarnaan HE dan imunohistokimia NF-κ B. Imunoekspresi NF-κ B memberikan hasil positif berdasarkan warna coklat pada sitoplasma dan inti dari sel tumor[13]. Perhitungan sel imunoreaktif dilakukan ImmunoRatio software program. Pewarnaan imunohistokimia NF-κ B dengan menggunakan rabbit polyclonal to NFκB p65-CHIP Grade (ab7970)

(abcam), masing-masing dengan prosedur manual dilanjutkan menggunakan mesin IntelliPATH FLX automated slide stainer. Blok parafin yang telah dikumpulkan dipotong dengan mikrotom dengan ketebalan 4 μm dan kemudian diletakkan pada object glass yang telah dilakukan coating, kemudian dilakukan pewarnaan imunohistokimia dengan metode avidin-biotin. Dilakukan deparafinisasi dengan xylol selama 3x5 menit, rehidrasi dengan etanol selama 3x5 menit, kemudian dengan alkohol 90%, 80%, 70% selama 5 menit, bilas dengan air yang mengalir, rendam dalam larutan hydrogen peroxidase 3% selama masing-masing 5 menit. Bilas dengan akuades, lakukan antigen unmasking retrieval dengan bufer sitrat yang mendidih selama 2x5 menit. Dinginkan dalam suhu ruangan selama 15 menit. Inkubasi dengan H₂O₂ 0,3% dalam metanol selama 10 menit. Bilas dengan phosphat buffered saline (PBS). Setelah ditetaskan blocking serum sebesar 1,5% kemudian diinkubasi selama 5 sampai 10 menit. Selanjutnya ditetaskan antibodi primer rabbit polyclonal to NF- κ B p65 antibody-ChIP Grade (ab 7970) (abcam) dengan pengenceran 1:200, kemudian di inkubasi selama 60 menit. Bilas dengan PBS selama 3x5 menit, kemudian ditetaskan antibodi sekunder TrekAvidin universal link (Biocare Medical), dan diinkubasi pada suhu ruangan selama 20 menit, selanjutnya ditetaskan chromogen, kemudian di inkubasi selama 5–10 menit. Setelah dibilas dengan air mengalir selama 5 menit, dilakukan *counterstain* dengan *mayer hematoxylin* selama 2 menit, kemudian dicuci dengan air mengalir. Setelah dilaksanakan dehidrasi dengan alkohol 70%, 80%, 90%, dan juga etanol selama 3 menit, kemudian dimasukkan dalam *xylol*, dan terakhir dilakukan *mounting*. Penilaian imunoekspresi NF κ B dikategorikan berdasarkan persentase sel-sel mukosa kandung empedu yang terwarna coklat pada inti dengan berbagai intensitas.

6.4.2 Pulasan Imunohistokimia P53

Langkah-langkah pemeriksaan Imunohistokimia p53 (CCRC, 2009): 1) Potong jaringan 4 mikrometer, kemudian ditempelkan pada gelas objek yang sebelumnya telah dilapisi poly-L-lysine. 2). Inkubasi dalam oven dengan suhu 37°C selama satu malam. 3). Lakukan deparafinisasi dengan xylene sebanyak tiga kali, masing-masing tiga menit. 4). Rehidrasi preparat dengan menggunakan etanol 100%, etanol 95% dan etanol 70%, masing-masing selama dua menit, dua menit, satu menit dan terakhir dengan air selama satu menit. 5). Rendam dalam peroxidase blocking solution pada suhu kamar selama sepuluh menit. 6). Inkubasi preparat dalam prediluted blocking serum 25°C selama sepuluh menit. 7). Rendam preparat di dalam antibodi monoclonal anti-p53 25°C selama sepuluh menit. 56 h. Cuci preparat dengan Phospate Buffer Saline (PBS) selama lima menit. 8). Inkubasi preparat dengan antibodi sekunder (conjugated to horse radisperoxidase) 25°C selama sepuluh menit, 9). Cuci preparat dengan PBS selama lima menit, 10). Inkubasi preparat

dengan peroksidase 25°C selama sepuluh menit. 11). Cuci preparat dengan PBS selama lima menit. 12). Inkubasi preparat dengan kromogen Diaminobenzinidine (DAB) 25°C selama sepuluh menit. 13). Inkubasi preparat dengan Hematoxylin Eosin selama tiga menit, 14). Cuci preparat dengan air mengalir. 15). Bersihkan preparat dan tetesi dengan mounting media. 16). Tutup preparat dengan coverslip.

Kemudian setelah dilakukan pengecatan imunohistokimia p53 atau dipulas dengan antibodi monoklonal p53 (*santa cruz*), selanjutnya sediaan dilakukan interpretasi sebagai berikut: a. Interpretasi p53 dilakukan tanpa mengetahui data klinis dan patologik dari setiap kasus. b. Perhitungan ekspresi p53 dilakukan secara semikuantitatif. Pertama, dilakukan penghitungan presentase sel ganas yang tercatat positif diantara 200 sel ganas, menggunakan *software ImmunoRatio online* c. Pewarnaan yang dinyatakan positif hanya membran sel yang berwarna coklat. Prosentasi ekspresi akan terlihat pada hasil analisa immunoratio.

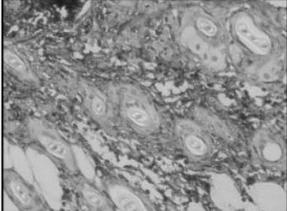
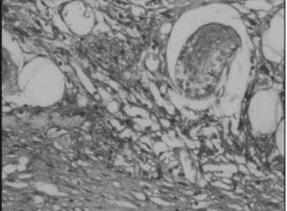
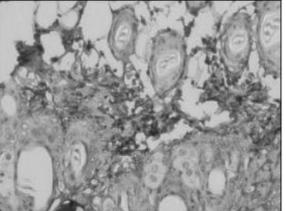
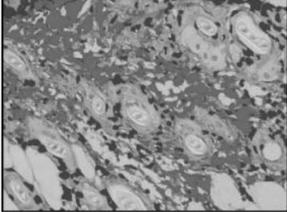
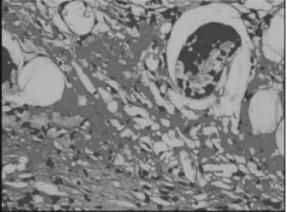
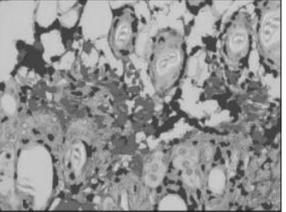
ETHICAL CLEARANCE

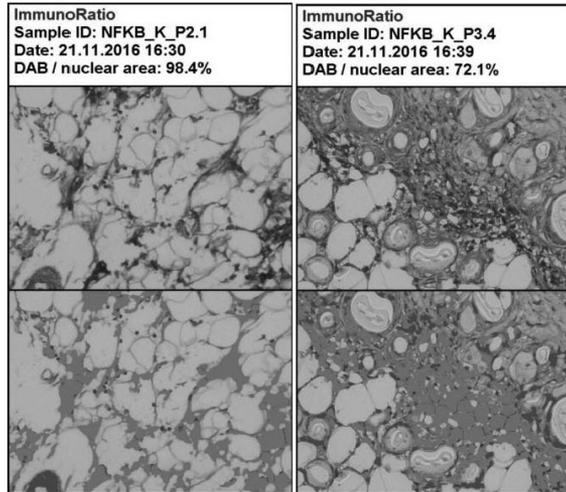
Penelitian ini telah lulus Uji Kelayakan Etik oleh Komisi Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga dengan Nomor: 408-KE

6.5 Hasil dan Pembahasan

6.5.1 Hasil

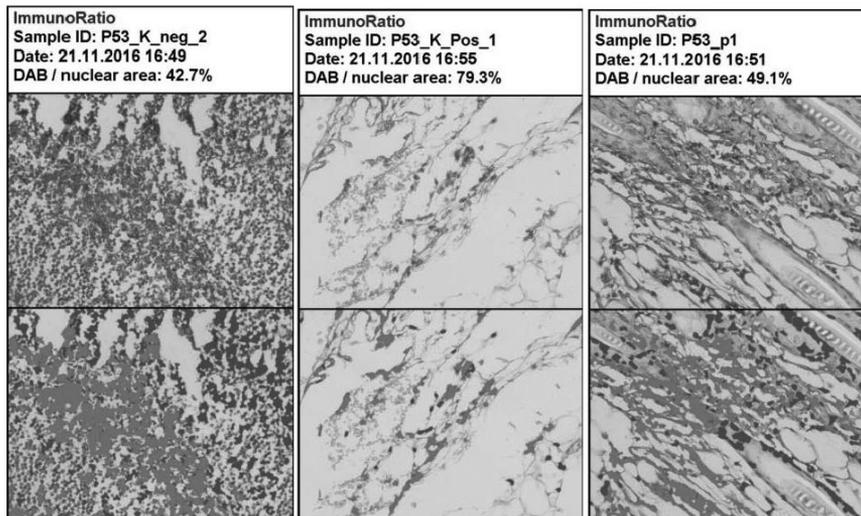
1. Ekspresi NFkB

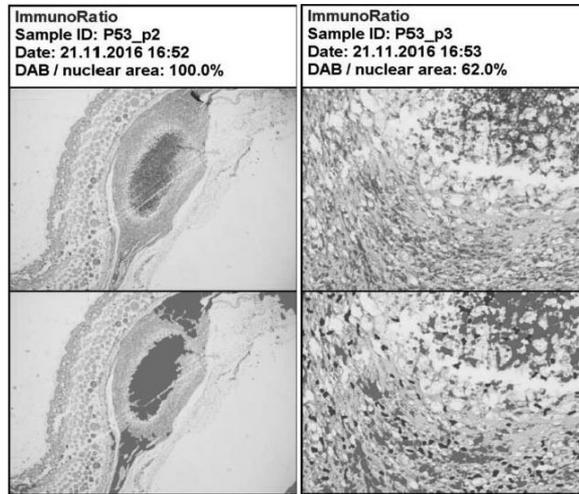
ImmunoRatio Sample ID: NFKB_K_neg Date: 21.11.2016 16:22 DAB / nuclear area: 48.1%	ImmunoRatio Sample ID: NFKB_K_pos_2 Date: 21.11.2016 16:27 DAB / nuclear area: 51.5%	ImmunoRatio Sample ID: NFKB_K_P1 Date: 21.11.2016 16:28 DAB / nuclear area: 23.8%
		
		

**GAMBAR 3**

Hasil Pemeriksaan Imunohistokimia Ekspresi NFkB pada sel kanker dengan antibody NFkB kelompok perlakuan cmc Na 0,5% dengan ekspresi NFkB 48.1 % (Gambar A), dan kelompok perlakuan alkaren 2 mg dengan ekspresi NFkB 51.5 % (Gambar B) dan kelompok perlakuan ekstrak daun pepaya dosis 225 mg/kgBB/hari dengan ekspresi NFkB 23.8 % (Gambar C), kelompok perlakuan ekstrak daun pepaya dosis 450 mg/kgBB/hari dengan ekspresi NFkB 98.4%, sedangkan kelompok perlakuan ekstrak daun pepaya dosis 750 mg/kgBB/hari dengan ekspresi NFkB 72.1 %, di tunjukkan dengan adanya warna kecoklatan dengan analisa ImmunoRasio.

2. Ekspresi P53

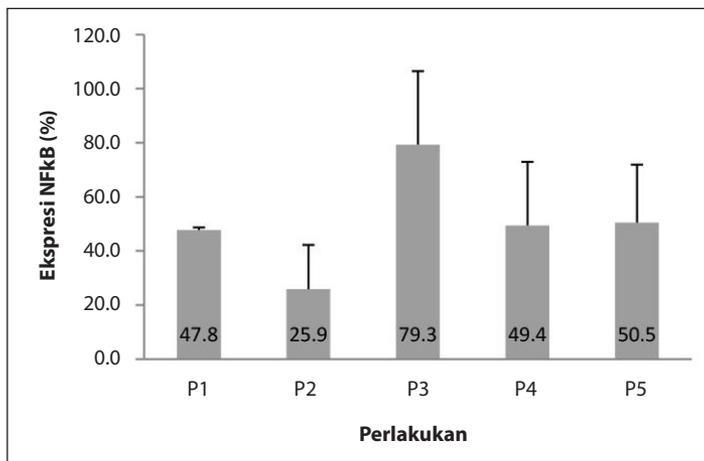




GAMBAR 4

Hasil Pemeriksaan Immunohistokimia Ekspresi P53 pada sel kanker dengan antibody NFκB kelompok perlakuan cmc Na 5% dengan ekspresi NFκB 42.7 % (Gambar A), dan kelompok perlakuan alkaren 2 mg dengan ekspresi NFκB 79.3 % (Gambar B) dan kelompok perlakuan ekstrak daun pepaya dosis 225 mg/kgBB/hari dengan ekspresi NFκB 49.1 % (Gambar C), kelompok perlakuan ekstrak daun pepaya dosis 450 mg/kgBB/hari dengan ekspresi NFκB 100 %, sedangkan kelompok perlakuan ekstrak daun pepaya dosis 750 mg/kgBB/hari dengan ekspresi NFκB 62.0 %, di tunjukkan dengan adanya warna kecoklatan dengan analisa ImmunoRasio.

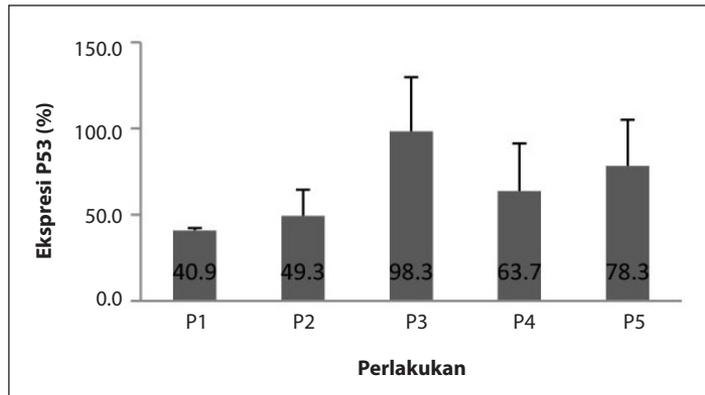
3. Diagram batang ekspresi NFκB



GAMBAR 7

Dari hasil pemeriksaan Immunohistokimia dengan menggunakan analisis ImmunoRatio didapatkan kelompok perlakuan ekstrak daun pepaya dosis 450 mg/kgBB/hari (P3) menunjukkan hasil paling tinggi meningkatkan ekspresi NFκB dengan rerata 79,3% pada jaringan kanker dibanding kelompok kontrol negatif yaitu di berikan perlakuan dengan cmc Na 5% (P1) dan di bandingkan dengan perlakuan (P5) yaitu dengan menggunakan obat antikanker alkaren 2 mg.

3. Diagram batang ekspresi P53



GAMBAR 7

Dari hasil pemeriksaan Immunohistokimia dengan menggunakan analisis ImmunoRatio didapatkan kelompok perlakuan ekstrak daun pepaya dosis 450 mg/kgBB/hari (P3) menunjukkan hasil paling tinggi meningkatkan ekspresi P53 dengan rerata 98,3% pada jaringan kanker dibanding kelompok kontrol negatif yaitu di berikan perlakuan dengan cmc Na 5% (P1) dan di bandingkan dengan perlakuan (P5) yaitu dengan menggunakan obat antikanker alkaren 2 mg.

4. Analisa Statistik

Pada uji manova dengan langsung melihat pada perlakuan yang diketahui memiliki nilai sig < 0.05 artinya berarti bahwa perlakuan (P1, P2, P3, P4, P5) mempengaruhi NFkB, dan P53. Dengan besar pengaruh pada casepase3 besar pengaruh perlakuan sebesar 93,8%. Pada KI67 besar pengaruh perlakuan sebesar 96,2%. Pada NFkB pengaruh perlakuan sebesar 83% dan pada P53 besar pengaruh perlakuan sebesar 99.5%.

Dari uji Regresi Dami didapatkan hasil:

- a. Dependent Variable: NFkB. Didapatkan perlakuan p2, p3, p4, dan p5 memiliki nilai sig < 0.05. tetapi yang memiliki pengaruh paling besar dari p1 sampai p3 adalah p3 karena nilai B paling besar, yaitu perlakuan ekstrak daun pepaya dosis 450 mg/kgBB.
- b. Dependent Variable: P 53. Didapatkan perlakuan p2, p3, p4, dan p5 memiliki nilai sig < 0.05. tetapi yang memiliki pengaruh paling besar dari p1 sampai p3 adalah p3 karena nilai B paling besar, yaitu perlakuan ekstrak daun pepaya dosis 450 mg/kgBB.

6.5.2 Pembahasan

1. Identifikasi ekspresi NFkB pada sel kanker dengan antibody NFkB (abcam)

Dari hasil pemeriksaan Immunohistokimia dengan menggunakan analisis ImmunoRatio didapatkan kelompok perlakuan ekstrak daun pepaya dosis 450 mg/kgBB/hari (P3) menunjukkan hasil paling tinggi meningkatkan ekspresi NFkB dengan rerata 79,3% pada jaringan kanker dibanding kelompok kontrol negatif yaitu di berikan perlakuan dengan cmc Na 5% (P1) dan di bandingkan dengan perlakuan (P5) yaitu dengan menggunakan obat antikanker alkaren 2 mg.

Nuclear factor-kappaB (NF-kB) mengaturrekspreasi gen yang terlibat pada berbagai proses yang mempunyai peran dalam perkembangan serta progresivitas kanker seperti proliferasi, migrasi, dan apoptosis. *Nuclear factor-kappaB* bukan suatu *single gen*, tetapi famili yang erathubungannya dengan faktor transkripsi, termasuk 5 gen *NF-kB1* (p50/p105), *NF-kB2* (p52/p100), *RelA* (p65), *c-Rel*, dan *RelB*.^{12,13} *Nuclear factor-kappaB* terlihat pada semua sel yang teraktivasi, yang mengatur ekspresi dari bermacam target gen yang mempromosi proliferasi sel, pengaturan imun, respons inflamasi, dan juga berkontribusi dalam patogenesis berbagai penyakit termasuk juga keganasan. *Nuclear factor-kappaB signaling pathway* diregulasi oleh *inhibitor kappaB* (IkB) family. *Nuclear factor-kappaB* banyak terdapat dalam sitoplasma, NF-kB akan berikatan dengan IkB yang akan menahan NF-kB tetap berada dalam sitoplasma. Aktivasi NF-kB *pathway* merupakan salah satu kunci mekanisme kelangsungan hidup pada berbagai tipe keganasan.

Keluarga protein NF-kB merupakan salah satu keluarga faktor transkripsi yang penting dalam regulasi ekspresi gen yang terkait dengan fungsi-fungsi biologis seperti halnya respon imun dan inflamasi, pertumbuhan dan proliferasi sel, serta pertahanan sel terhadap stres (sinar UV, iradiasi, oksidan, kerusakan DNA, dll.). NFkB merupakan dimer yang dapat berupa heterodimer maupun homodimer yang terbentuk diantara 5 jenis protein, yaitu p50, p52, p65 (Rel-A), Rel-B, dan c-Rel.

Sebagaimana yang kita ketahui, NFkB banyak umumnya berperan dalam aktivasi daur sel untuk pemacu proliferasi sel maupun penghambatan apoptosis. Ternyata NFkB juga dapat berperan dalam penghambatan daur sel. Namun, inti dari aktivasi jalur IKK/NFkB ini adalah tetap sama yaitu untuk "*cell survival*". Aktivitas IKK/NFkB menghambat daur sel juga terkait dengan sistem pertahanan sel agar tetap dapat bertahan hidup sebagai respon dari stres yang dalam hal ini utamanya adalah kerusakan DNA.

Sel dengan aktivitas proliferasi yang tinggi, misalnya sel fibroblas dan sel kanker, akan senantiasa memasuki daur sel. Paparan suatu senyawa yang merusak DNA dapat menginduksi sel untuk mengaktivasi NFkB untuk penghentian daur

sel. Ini merupakan salah satu respon emergensi dari sel untuk mempertahankan hidupnya karena jika sel masih terus melanjutkan daur sel, kemungkinan sel akan mati. NF-kB mempunyai fungsi fisiologis sebagai faktor transkripsi.

Kematian sel kanker mieloma secara apoptosis karena pengaruh fraksi kloroform daun pepaya (*Carica papaya* L) dengan kandungan utama alkaloid diduga melalui tahapan awal menghambat enzim DNA Topoisomerase II. Dengan dihambatnya aktivitas enzim DNA Topoisomerase, maka proses terjadinya ikatan antara enzim dengan DNA sel kanker semakin lama. Sehingga akan terbentuk Protein Linked DNA Breaks (PLDB), akibatnya terjadi fragmentasi atau kerusakan DNA sel kanker dan selanjutnya berpengaruh terhadap proses replikasi sel kanker.

2. Identifikasi ekspresi P53 pada sel kanker dengan antibody P53 (Santa Cruz)

Dari hasil pemeriksaan Immunohistokimia dengan menggunakan analisis ImmunoRatio didapatkan kelompok perlakuan ekstrak daun pepaya dosis 450 mg/kgBB/hari (P3) menunjukkan hasil paling tinggi meningkatkan ekspresi P53 dengan rerata 98,3% pada jaringan kanker dibanding kelompok kontrol negatif yaitu di berikan perlakuan dengan cmc Na 5% (P1) dan di bandingkan dengan perlakuan (P5) yaitu dengan menggunakan obat antikanker alkaren 2 mg.

Gen p53 sebagai gen supresor tumor akan terakumulasi, menghentikan replikasi DNA pada check point dan memberi kesempatan kepada DNA untuk memperbaiki diri. Bila proses perbaikan gagal, p53 akan merangsang mitokondria men geluarkan sitokrom c ke sitosol, dan dalam hal ini akan dihalangi oleh anti-apoptosis member yaitu gen Bcl-2. Di dalam sitosol sitokrom c bersama dengan Apoptosis Protease Activating Factor-1 (Apaf-1) dan pro-caspase 9 membentuk caspase 9, kompleks ini disebut apopto-some. Terbentuk caspase 9 sebagai caspase awal akan mengaktifkan caspase eksekusioner, yaitu caspase 3, 6 dan 7 sehingga dapat menyebabkan kematian sel secara apoptosis [25]

Riset Sismindari., 2006 [23] sejalan dengan penelitian Sukardiman.,2006[8] dari Fakultas Farmasi Universitas Airlangga. Sismindari mengekstrak 350 g serbuk daun pepaya dengan pelarut kloroform. Kemudian ia memanfaatkan ekstrak itu untuk menginkubasi sel kanker mieloma tikus dalam inkubator bersuhu 37°C. Dosis berjenjang: 25 µg, 50 µg, 100 µg, 150 µg, 200 µg, dan 300 µg per ml. Setelah 24 jam, diamati viabilitas atau tingkat kehidupan sel kanker. Hasil penelitian menunjukkan viabilitas sel mieloma semakin turun seiring bertambahnya dosis ekstrak daun pepaya. Pada dosis 25 µg tingkat kehidupan sel mieloma mencapai 81,5%; sedangkan pada dosis 300 µg, viabilitas turun hingga 4,77%. Sukardiman., 2006 menyebutkan bahwa nilai IC₅₀ ekstrak kloroform daun pepaya pada dosis 104,4 µg/ml.

Daun pepaya bersifat antikanker karena mengandung ribosome inactivating protein (RIP). Protein tersebut mampu membunuh dan menekan perkembangan

sel kanker. RIP merupakan protein toksik yang mampu menghambat sintesis protein melalui menonaktifkan ribosom yang merupakan tempat sintesis protein, sehingga protein gagal terbentuk. Bila proses sintesis protein terganggu maka perkembangan sel kanker juga terhambat [23]. Penelitian Sukardiman, 2006 [8] di dukung oleh hasil penelitian Duke, 2005 [24] menyebutkan bahwa kandungan metabolit sekunder daun pepaya antara lain adalah senyawa alkaloid karpaina, pseudokarpaina yang merupakan alkaloid golongan piperidina. Adapun senyawa alkaloid golongan piperidina memiliki antivitas antikanker, sedangkan senyawa flavopiridol mempunyai aktivitas anti kanker dengan menginduksi apoptosis, dimana senyawa flavopiridol merupakan senyawa hasil semisintesa dari alkaloid piperidina dengan senyawa flavonoid [26].

Potensi aktivitas antikanker dari fraksi kloroform daun pepaya (*Carica papayalinn*) jika di bandingkan dengan aktivitas ekstrak methanol daun pepaya yang telah di lakukan sebelumnya oleh Huda., 2001, terlihat adanya peningkatan aktivitas sitotoksik pada kultur sel meiloma. Indrayuda P., 2007 menyebutkan bahwa protein golongan RIP mampu memotong RNA dan DNA superkoil untai ganda menjadi nick circular yang merupakan lingkaran semu dan linier. Hal ini sejalan dengan penelitian Rumiyati *et al.*, 2006 [23], bahwa dosis 6 mg/ml protein daun pepaya mampu memotong DNA superkoil menjadi lingkaran semu dan linier. Kemampuan memotong meningkat seiring penambahan konsentrasi protein yang digunakan.

Selain itu protein daun tanaman anggota *famili Caricaceae* itu memicu apoptosis alias program bunuh diri sel kanker. Hasil penelitian Sisindari., *et al.*, 2006 [23] menunjukkan ekstrak protein daun pepaya meningkatkan ekspresi protein p53 hingga 59,4%. Hebatnya daun pepaya juga tokcer menekan ekspresi protein Bcl2 63%. Protein P53 berperan dalam menekan pertumbuhan tumor dan kanker serta merangsang apoptosis pada sel kanker. Sedangkan Bcl2 merupakan protein antiapoptosis atau penghambat program bunuh diri sel.

Menurut Sukardiman., 2006 [8] daun pepaya juga mampu menghambat aktivitas topoisomerase II. Topoisomerase adalah enzim yang dibutuhkan sel kanker untuk berkembang biak. Bila aktivitas enzim itu dihambat, maka DNA sel kanker akan rusak dan tidak mampu bereplikasi. Dengan demikian, sel kanker pun gagal berkembang. Penghambatan aktivitas topoisomerase II juga berimbas terhadap peningkatan ekspresi protein p53, pemicu apoptosis.

Pada pengujian menggunakan ekstrak kloroform, kejadian apoptosis juga melonjak seiring peningkatan konsentrasi ekstrak yang diberikan. Apoptosis tertinggi terjadi pada kelompok yang diberi dosis 300 µg/ml yaitu 46,86%. Sedangkan apoptosis terendah terjadi pada kelompok yang diberi dosis 25 µg/ml, yakni hanya 3,76%.

Dari hasil penelitian ini, ekstrak etanol daun pepaya telah dilakukan pengujian analisis HPLC menggunakan metode MS (Quasi Protanasi) didapatkan hasil total ion kromatogram terdeteksi ekstrak daun pepaya terdapat senyawa *carpain* dengan berat molekul (BM) 479.000. Senyawa *carpain* dalam daun pepaya di duga sebagai anti kanker.

Sedangkan hasil penelitian pada hewan coba tikus model kanker servik dengan metode insersi sel HeLa di dapatkan hasil bahwa pemberian ekstrak daun pepaya pada dosis 450 mg/kgBB dapat meningkatkan ekspresi NFkB dengan nilai rata-rata 79% yang di deteksi pada jaringan kanker dengan pemeriksaan IHC dengan antibody NFkB (abcam). Sedangkan ekspresi P53 yang di deteksi menggunakan pemeriksaan IHC dengan antibody P53 (santa cruz) menunjukkan adanya peningkatan secara bermakna pada dosis 450 mg/kgBB.

Meskipun sudah terbukti pada penelitian tahap 1 bahwa ekstrak etanol daun pepaya dapat menurunkan indek proliferasi sel kanker dan meningkatkan apoptosis sel kanker pada model hewan coba yang di buat kanker servik, serta dapat bekerja meningkatkan ekspresi NFkB serta gen P53, namun masih perlu dilakukan penelitian lanjut terkait uji toksitas pada ekstrak etanol daun pepaya, untuk menentukan dosis maksimal yang bisa di gunakan pada hewan coba model kanker servik. Setelah uji toksitas, perlu dilakukan lagi studi pre klinik dengan menggunakan placebo sebelum di dimanfaatkan penggunaannya secara klinik

6.6 Kesimpulan dan Saran

6.6.1 Kesimpulan

1. Hasil pemeriksaan Immunohistokimia dengan menggunakan analisis ImmunoRatio didapatkan kelompok perlakuan ekstrak daun pepaya dosis 450 mg/kgBB/hari menunjukkan hasil paling tinggi meningkatkan ekspresi NFkB dengan rerata 79,3% pada jaringan kanker dibanding kelompok kontrol negatif yaitu di berikan perlakuan dengan cmc Na 5% dan di bandingkan dengan perlakuan yaitu dengan menggunakan obat antikanker alkaren 2 mg.
2. Hasil pemeriksaan Immunohistokimia dengan menggunakan analisis ImmunoRatio didapatkan kelompok perlakuan ekstrak daun pepaya dosis 450 mg/kgBB/hari menunjukkan hasil paling tinggi meningkatkan ekspresi P53 dengan rerata 98,3% pada jaringan kanker dibanding kelompok kontrol negatif yaitu di berikan perlakuan dengan cmc Na 5% dan di bandingkan dengan perlakuan yaitu dengan menggunakan obat antikanker alkaren 2 mg.
3. Pada uji manova dengan langsung melihat pada perlakuan yang diketahui memiliki nilai sig < 0.05 artinya berarti bahwa perlakuan (P1, P2, P3, P4, P5) mempengaruhi NFkB, dan P53. Dengan besar pengaruh pada casepase3 besar pengaruh perlakuan

sebesar 93,8%. Pada KI67 besar pengaruh perlakuan sebesar 96,2%. Pada NFKB pengaruh perlakuan sebesar 83% dan pada P53 besar pengaruh perlakuan sebesar 99.5%.

6.6.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lanjut terkait dosis maksimum dan uji toksisitas untuk mengetahui letal dose pada ekstrak daun pepaya,

6.7 Daftar Pustaka

- American Cancer Society. Cancer Facts and Figures, *American Cancer Society Inc. Atlanta*, 2006
- Gomez DT, Santos JL. Human papilloma-virus infection and cervical cancer: pathogenesis and epidemiology. *Comm Current Res Edu Topics Trends App Microbiol*. 2007: 680-8.
- Badan Registrasi Kanker Perhimpunan Dokter Spesialis Patologi Indonesia Yaya-san Kanker Indonesia. Kanker di Indonesia Tahun 2007. Data Histopatologik. Jakarta: *Direktorat Jenderal Pelayanan Medik Departemen Kesehatan RI*; 2007.
- Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics 2012. *CA Cancer J Clin*. 2012; 62:10-29.
- Marjorie C, Flavier P, Thaddeus J. The correlation of Ki-67 expression with tumor recurrence and survival rates in early stage carcinoma of the cervix. *Phil J Obst Gyn*. 2009; 33: 1-9.
- Zamora PC, Peris AD, Casado OF, Reina SO, Frias LS, Solano JG, *et al*. Effect of human papilomavirus on cell cycle-related protein p16, Ki-67, cyclin D1, p53, and proex C in precursor lesions of cervical carcinoma. *Am J Clin Pathol*. 2009; 132:378-90.
- Man-man N, Yin R, Xie C, Kang D, Tang X. The expression of RhoC and Ki67 in cervical intraepithelial neoplasia and squamous carcinoma of cervix. *J Sichuan Univ*. 2009; 40:236-39.
- Sukardiman, Wiwied Ekasari, Pharmasinta Putri Hapsari. Aktivitas Antikanker dan Induksi Apoptosis Fraksi Kloroform Daun Pepaya (*Carica papaya* L) terhadap Kultur Sel Kanker Mieloma, *Media Kedokteran Hewan*, 2006; 22(2):104-111.
- Dalimartha, S. Ramuan Tradisional Untuk Pengobatan Kanker, Seri Agro sehat, *Penebar Swadaya Jakarta*, 2003; 1(5):76-77.
- Kurnia I, Ohno T, Kato S, Ezawa H, Noguchi J, Tsujii H. Histopathological radiation effect and MIB-1 expression in cervical cancer: comparison of early response by radiotherapy with or without cisplatin. *Austral – Asian Journal of Cancer*, 2005; 4(4):201-204.

- In Kurnia, Budiningsih Siregar, Setiawan Soetopo, Irwan Ramli, Tjahya Kurjana, Andriano, Maringan DL Tobing, Bethy Suryawathi, Devita Tetriana. Korelasi Antara Mib-1, Agnor Dan Apoptosis Caspase-3 Dengan Respons Kemoradioterapi Pada Kanker Servik. *Jurnal sains dan Tehnologi Nuklir Indonesia*, 2013;14(1):51-63.
- Nita Hertati, Heni Maulani, Zulkarnain Musa, Zen Hafy. Hubungan antara Ekspresi Ki-67 dengan Stadium Klinis dan Derajat Histopatologis Karsinoma Sel Skuamosa Serviks. *Majalah Patologi*, 2014;23(3):17-23.
- Tschopp J, Martinon F, Burns K. NALPs: a novel protein family involved in inflammation. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2003;4: 95-104.
- Xia L, Xue XZ. Immunohistochemical study of NF- κ B p65, c-IAP2 and caspase-3 expression in cervical cancer. *Oncology Letters* 2012;3: 839- 44.
- Yang Xue-Qin. High Ki-67 Expression is a Poor Prognostic Indicator of 5-Year Survival in Patients with Invasive Breast Cancer. *Department of Oncology, Zhongnan Hospital of Wuhan University*. 2011;12:3101-3102.
- Rahayu. Perbedaan Rerata Ekspresi Protein Ki-67 Pada Adenoma Dan Karsinoma Kolorektal Pada Biopsi Kolonoskopi, 2013: 16-17. Diakses 15 Oktober 2014. Available from: www.pps.unud.ac.id/
- Dowsett. Proliferasi Marker Ki-67 in Early Breast Cancer. *American Society of Clinical Oncology* 2005. Diakses 3 September 2014. Available from: jco.ascopubs.org eelramah@yahoo.com
- Haroon S. Ki67 Index in Breast Cancer: Correlation with Other Prognostic Markers and Potential in Pakistani Patients. Department of Medical Oncology, Sindh Institute of Urology and Transplantation. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 2013. *Annals of Oncology*. Is the Ki-67 Labelling Index ready for Clinical Use? *Published by Oxford University Press on behalf of the European Society for Medical Oncology*, 2011.
- Desen Wan. Kanker payudara. *Onkologi Klinik. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia*, 2011: 366-71.
- Hassan. Ki-67 marker useful for classification of malignant invasive ductal breast cancer. Department of Anatomical Pathology, *Faculty of Medicine*, 2013
- Munhoz NG, Rodriques DA, Pedregosa JF, Rodriques JO, Junqueira MS, Yunamine PTK, The use of molecular markers (p16, Ki-67 and E-cadherin) in uterine cervical biopsies. *Open Pathol J*. 2009; 3: 10-7
- Rumiyati, Sismindari dan Ariyani. Efek fraksi protein daun *Carica papaya L.* pada ekspresi protein p53 dan Bcl-2 pada kultur sel kanker payudara. *Majalah Farmasi Indonesia*, 2006; 17(4), 170 – 176.
- Duke, J. *Phytochemical and Etnobotanical Database*, Marland Beltsuille Agricultural Reseach Center, 2006.

Cotran RS, Kumar V, Collin T. Neoplasia in Robbins Pathologic Basic of Disease, Sixth Edition, Philadelphia: W.B. *Saunders Company*, 1999; 260-325.

Wittmann S, Bali P, Donapaty S, Nimmanapalli R, Guo F, Yamaguchi H, Huang M, Jove R, Wang HG & Bhalla K. Flavopiridol down-regulates antiapoptotic proteins and sensitizes human breast cancer cells to epothilone B -induced apoptosis. *Cancer Res* 2003;63: 93-99.



Bab 7

UJI TOKSISITAS AKUT DAN SUB KRONIK EKSTRAK METANOL DAUN PEPAYA (*CARICA PAPAYA LINN*) TERHADAP MENCIT PUTIH STRAIN WISTAR

7.1 Abstrak

Daun pepaya (*Carica pepaya linn*) merupakan salah satu tanaman yang digunakan untuk pengobatan kanker serviks. *Carica papaya linn* mengandung zat aktif papain dan carpain. Ekstrak metanol (*Carica papain L*) memiliki aktivitas penghambatan terhadap enzim DNA Topoisomerase II, enzim yang berperan penting dalam proses replikasi, transkripsi, rekombinasi DNA, dan proliferasi sel kanker. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui potensi toksisitas akut dan kronis pada ekstrak daun pepaya. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan *post test only design*. Pada penelitian sebelumnya peneliti menggunakan ekstrak daun pepaya pada dosis 250 mg/kg BB sampai dengan 750 mg/kg BB pada hewan coba dengan kanker serviks. Metode uji toksisitas yang digunakan adalah toksisitas akut dan subkronis. Uji toksisitas akut dilakukan selama 24 jam dan uji toksisitas subkronis dengan menghitung nilai *letal dose* (LD50). Pada penelitian ini dosis yang di gunakan mulai dari dosis 200 mg, 400 mg, 800 mg, 1600 mg dan 3200 mg/kg BB. Hasil uji toksisitas akut pada semua dosis tidak menunjukkan adanya dosis kematian dan tidak ada perubahan tingkah laku pada hewan coba. Selanjutnya perlakuan dilanjutkan selama 2 bulan (60 hari) untuk melihat uji toksisitas subkronis. Setelah perlakuan 60 hari semua tikus tidak ada mati, selanjutnya

dilakukan pemeriksaan kadar SGOT dan kadar SGPT dari sampel darah. Rerata tingkat SGOT pada semua dosis antara 111-327 U/L dan tingkat rerata SGPT pada semua dos antara 51-267 U/L. Pada kelompok kontrol rerata kadar SGOT 45 U/L dan SGPT 35 U/L. Hasil uji statistik Uji Kruskal-Wallis diperoleh signifikan untuk SGOT dan tidak signifikan untuk kadar SGPT. Ekstrak methanol *Carica pepaya linn* tidak menunjukkan adanya toksisitas pada tikus model. Hasil penelitian ini merekomendasikan ekstrak methanol *Carica pepaya linn* aman untuk digunakan.

Keyword: *Carica papaya linn*, Toxicity test, LD 50, SGOT,SGPT

7.2 Latar Belakang

Daun pepaya merupakan salah satu tanaman berkasiat yang tumbuh di daerah tropik maupun subtropik, antara lain India, Ceylon, Malaysia, Filipina, Amerika Selatan, Afrika Selatan, Hawaii dan Indonesia. Daun pepaya mengandung metabolic skunder alkhaloid yang cukup banyak dibandingkan dengan yang terdapat pada dalam buah. Selain itu, daunnya juga mengandung enzim papain. Karena kandungan enzim tersebut, daun pepaya sering dimanfaatkan untuk melunakkan daging dan sebagian masyarakat ada yang memanfaatkan untuk mengobati kanker [1,2].

Ekstrak methanol daun pepaya (*Carica papain L*) memiliki aktivitas inhibisi terhadap enzim DNA Topoisomerase II, suatu enzim yang berperan penting dalam proses replikasi, transkripsi, rekombinasi DNA, dan proliferasi sel kanker juga akan meningkat, dan dengan dihambatnya aktivitas enzimtersebut maka akan terjadi ikatan antara enzim dengan DNA semakin lama dan terjadi Protein Linked DNA Brake (PLDB) dan diakhiri dengan kematian secara apoptosis [3].

Penelitian tentang fraksi kloroform daun pepaya memiliki aktivitas antikanker terhadap sel myeloma dan mampu menginduksi apoptosis dengan metode pewarnaan etidium bromide dan acridine orange. Ekstrak methanol daun pepaya memiliki aktivitas sitotik terhadap kultur sel myeloma [4].

Pada penelitian ini akan dilakukan uji toksisitas akut dan sub kronik ekstrak methanol daun pepaya yang di gunakan sebagai anti kanker. Uji toksisitas di bedakan menjadi uji toksisitas akut, subkronik, dan kronik. Uji toksisitas akut di rancang untuk menentukan *Lethal dose* atau disingkat LD₅₀ suatu zat. Uji toksisitas akut dilakukan dengan memberikan zat kimia yang sedang di uji sebanyak satu kali, atau beberapa kali dalam jangka waktu 24 jam [5]. Uji toksisitas akut merupakan uji pra klinik yang bertujuan mengukur derajat efek toksik suatu senyawa dalam waktu tertentu setelah pemberian dosis tunggal. Tolak ukur kuantitatif yang sering digunakan untuk menyatakan kisaran dosis letal pada uji toksisitas akut adalah LD₅₀. Tanaman obat harus melalui berbagai proses uji untuk keamanan konsumsinya, salah satunya uji toksisitas akut [6,7].



Sedangkan uji toksisitas subkronis adalah uji untuk mengetahui toksisitas suatu senyawa yang dilakukan pada hewan coba dengan sedikitnya tiga tingkat dosis, umumnya dalam jangka waktu 60-90 hari. Uji Toksisitas kronis adalah uji untuk mengetahui toksisitas suatu senyawa yang dilakukan pada hewan coba dalam jangka waktu relatif lama sekitar 6 bulan [8].

Penentuan LD₅₀ penting untuk menilai potensi akut ekstrak daun pepaya. Terdapat 3 metode untuk menghitung nilai yaitu metode profit grafik, Weil C.S dan Farmakope Indonesia III.

7.3 Tujuan Penelitian

1. Mengidentifikasi gejala toksisitas akut pada mencit jantan yang di berikan ekstrak daun pepaya dosis 200 mg, 400 mg, 800 mg, 1600 mg dan 3200 mg/gr BB selama 48 jam dilihat dari *Letal Dose* (LD₅₀).
2. Mengidentifikasi gejala toksisitas subkronis pada mencit jantan yang di berikan ekstrak daun pepaya dosis 200 mg, 400 mg, 800 mg, 1600 mg dan 3200 mg/gr BB selama 60 hari dilihat dari *Letal Dose* (LD₅₀).
3. Mengidentifikasi kadar enzim SGOT pada mencit jantan yang di berikan ekstrak daun pepaya dosis 200 mg, 400 mg, 800 mg, 1600 mg dan 3200 mg/gr BB selama 60 hari.
4. Mengidentifikasi kadar enzim SGPT pada mencit jantan yang di berikan ekstrak daun pepaya dosis 200 mg, 400 mg, 800 mg, 1600 mg dan 3200 mg/gr BB selama 60 hari.

7.4 Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain eksperimental dengan pendekatan *post test only desaign*. Penelitian ini dilakukan di Institut Biosain Universitas Brawijaya Malang mulai bulan April sampai dengan September 2017.

7.4.1 Pemilihan dan Penyiapan Hewan Uji

Hewan coba yang digunakan 30 mencit jantan strain wistar yang sehat, aktivitas gerak lincah, bulunya bersih, umur 2-3 bulandengan bobot badan 20-30 gram.

7.4.2 Penyiapan dan Perlakuan Hewan Uji

Perlakuan ekstrak daun pepaya dengan 5 dosis yaitu 200 mg, 400 mg, 800 mg, 1600 mg dan 3200 mg/kg BB. Masing –masing dosis terdiri dari 5 ekor hewan uji. Kelompok kontrol tanpa di berikan ekstrak daun pepaya hanya diit standart.



Uji toksisitas akut dengan menggunakan metode Thomson dan Weil. Sebelum diberi perlakuan dengan memberikan ekstrak daun pepaya, mencit diadaptasikan selama 1 minggu, pakan dan minum di berikan *ad libitum*. Semua mencit di puasakan selama 24 jam sebelum perlakuan. Pengamatan terhadap kematian mencit dilakukan selama 24 jam dengan menggunakan kamera CCTV.

Untuk uji toksisitas subkronis dilakukan selama 60 hari dengan dosis yang sama bila selama uji toksisitas akut tidak ada dosis letal. Data yang di ambil dari mencit yang memperlihatkan gejala abnormal setelah pemberian ekstrak daun pepaya di bandingkan dengan kelompok kontrol. Data LD50 di ambil dari jumlah mencit yang mati dan masih hisap pada setiap kelompok.

7.4.3 Pembuatan Ekstrak Daun Pepaya

Pengambilan sampel berupa daun pepaya (*Carica papaya* L) yang berwarna hijau agak tua diambil pada helai kelima antara pukul 10.00 sampai 12.00 dengan keadaan cuaca yang cerah, hal ini dimaksudkan karena kandungan bahan berkhasiat yang ada dalam tumbuhan dalam keadaan dimana proses fotosintesis sedang berlangsung.

Pengolahan sampel daun pepaya (*Carica papaya* L) yang telah dipanen dipisahkan dari kotoran-kotoran atau bahan-bahan asing. Kemudian daun dicuci bersih menggunakan air mengalir, lalu dipotong kecil-kecil dan dikeringkan dibawah sinar matahari (secara tidak langsung) dengan dilapisi kain berwarna hitam sampai kering, lalu disortasi kering kemudian dihaluskan dengan blender.

Ekstraksi sampel menggunakan pelarut methanol. Untuk memperoleh fraksi kloroform daun pepaya (*Carica papaya* L.) maka sebanyak 350 gram serbuk daun pepaya (*Carica papaya* L.) dimaserasi terlebih dahulu dengan pelarut heksana untuk menghilangkan kandungan lemaknya (*defatted*). Maserasi dilakukan sampai ekstrak menunjukkan warna yang jernih. Ampas yang telah dimaserasi dengan heksana dan dimaserasi lebih lanjut dengan metanol suasana asam (pH 3) dengan penambahan asam tartrat 1% (El-Sayyad,1984), dilakukan berulangulang sampai ekstrak berwarna jernih. Tahapan selanjutnya adalah membasakan ekstrak metanolasam dengan NH₄OH 5% sampai pH 9. Tahapan ini bertujuan untuk menghidrolisis alkaloid dalam bentuk garam menjadi bentuk *base*-nya sehingga dapat ditarik oleh pelarut organik seperti kloroform. Fraksi kloroform yang didapat kemudian diuapkan dengan rotavapour sehingga didapatkan fraksi kloroform.

Pengujian karpain dilakukan dengan menimbang ± 0.1 gr, kemudian ditambahkan methanol 10 mL. Sonikasi dilakukan selama 10 menit pada kecepatan 4500 rpm. Supernatan disaring dengan PTFE filter 0.2 mikron. Filtrat dimasukkan pada botol vial dan volume 2 μ l injeksi sampel dianalisis pada LC-MS/MS.

7.4.4 Uji Kadar Enzim SGPT dan SGOT pada Mencit Jantan Setelah Pemberian Ekstrak Daun Papaya

Setelah pemberian ekstrak daun papaya selama 60 hari, dilakukan pembedahan untuk pengambilan sampel darah dari jantung. Darah yang diambil dimasukkan dalam tabung tube steril, selanjutnya di sentrifugase dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Serum yang termisah diambil dan dimasukkan dalam tabung lainnya yang bersih dan kering dan ditutup. Jika serum tidak langsung di periksa maka serum harus di simpan di lemari es pada suhu 2-8° C selama maksimal 4 hari. Karena jika lebih dari 4 hari akan mengalami degradasi aktivitas sebesar 10% (Rafika *et al.*,2005)

Pengukuran aktivitas enzim SGOT dan SGPT dilakukan dengan pengambilan serum sebanyak 50 µl dan di tambahkan 500 µl larutan pereaksi kemudian di homogenkan dan di tunggu selama 1 menit sebelum di ukur. Setelah 1 menit di ukur absorbansinya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 340 nm, dan dicatat penurunan absorbansinya setiap menitnya selama 3 menit. Pembuatan larutan pereaksi dengan melarutkan tablet reagen SGPT dan SGOT dalam larutan buffer dengan perbandingan 1:10.

7.5 Hasil dan Pembahasan

7.5.1 Hasil

1. Berat badan hewan Coba

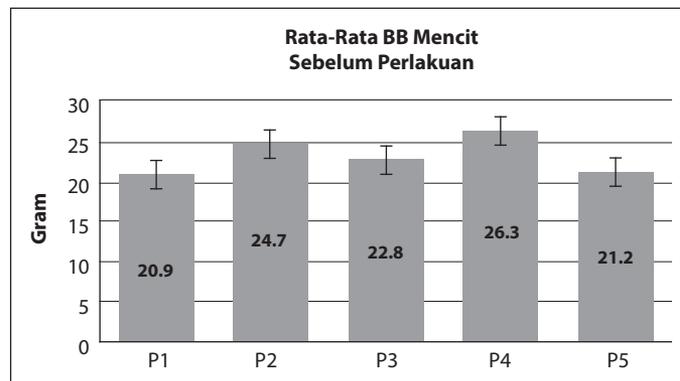


DIAGRAM 1

Rerata berat badan hewan coba sebelum perlakuan

2. Perlakuan Pemberian ekstrak daun pepaya

Lima kelompok mencit @ 3 ekor diberi bahan uji dengan dosis (200mg, 400 mg, 800 mg, 1600 mg dan 32000 mg/kg BB) dengan menggunakan satu faktor kelipatan tertentu, dan bahan diberikan secara oral dengan menggunakan sonde, observasi dilakukan selama 24 jam dengan melihat adanya kematian mencit. Uji toksisitas ini I lakukan untuk mengetahui toksik akut suatu bahan. Bila mencit tidak mati maka di lanjutkan uji toksisitas subkronis sampai 2 bulan (60) dengan pemberian 5 dosis tersebut.

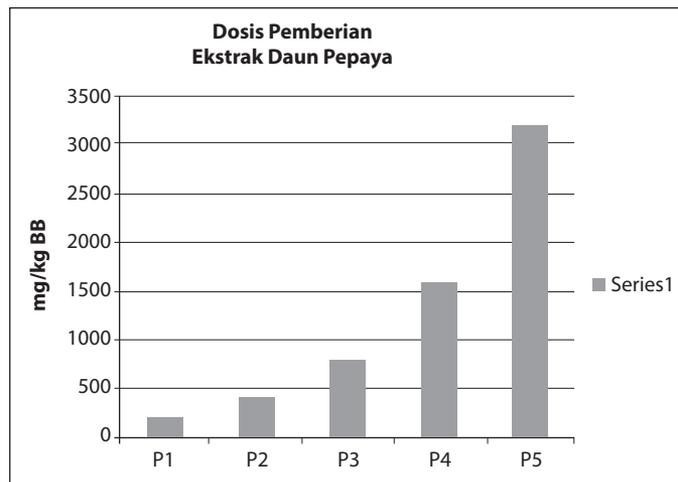


DIAGRAM 2

Perlakuan pemberian ekstrak daun pepaya

3. Hasil Uji Toksisitas

Setelah pemberian ekstrak daun pepaya dengan dosis 200 mg, 400 mg, 800 mg, 1600 mg dan 3200 mg/kg BB selama 24 jam (uji toksisitas akut) tidak didapatkan adanya kematian mencit dan perubahan perilaku pada mencit seperti menggaruk-garuk, lemas, ekornya bengkok, gerakan berkurang.

Pada uji toksisitas sub kronis dengan pemberian ekstrak daun pepaya pada dosis 200 mg, 400 mg, 800 mg, 1600 mg dan 3200 mg/kg BB selama 60 hari (8 minggu) juga tidak di temukan adanya kematian serta perubahan perilaku pada mencit. Sehingga di nilai LD_{50} dikatakan 0 karena tidak ada dosis letal.

Selanjutnya dilakukan pembedahan untuk pengambilan sampel serum darah untuk pemeriksaan faal Hepar SGOT dan SGPT.

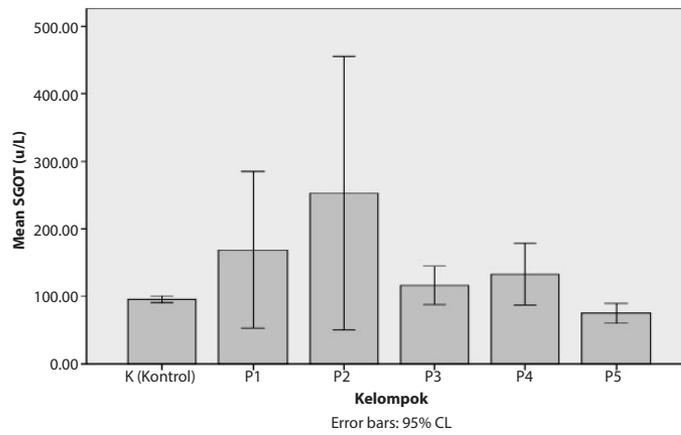


DIAGRAM 3

Kadar SGOT setelah perlakuan ekstrak daun pepaya selama 60 hari

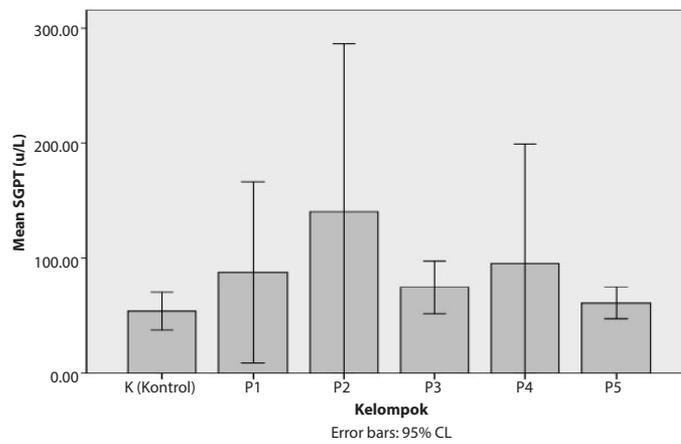


DIAGRAM 4

Kadar SGPT setelah perlakuan ekstrak daun pepaya selama 60 hari

TABEL 5

Hasil Uji Statistik *Kruskal-Wallis*

Parameter	Uji <i>Kruskal-Wallis</i>		
	Statistik Uji <i>Chi-square</i>	<i>p-value</i>	Keterangan
SGOT	14.754	0.011	Signifikan
SGPT	10.291	0.067	Tidak Signifikan

Dari hasil uji statistic *kruskal-wallis* di dapatkan nilai p-value 0,011 untuk kadar SGOT dan p-value 0,067 untuk kadar SGPT.

Sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan pengaruh antara kelompok perlakuan pada variabel SGOT saja di bading kelompok kontrol. Sedangkan untuk kadar SGPT tidak ada perbedaan dibanding kelomok kontrol.

7.5.2 Pembahasan

Pemberian ekstrak daun pepaya pada dosis 200 mg, 400 mg, 800 mg, 1600 mg dan 3200 mg/kg BB selama 24 jam untuk uji toksisistas akut dan 60 hari untuk uji toksisitas sub kronis tidak menunjukkan adanya *letal dose* pada mencit jantan wistar.

Hal ini membuktikan bahwa ekatrak daun pepaya tidak menimbulkan efek toksisitas bila dikonsumsi. Hasil penelitian ini didukung oleh beberapa penelitian sebelumnya diantaranya yang di lakukan oleh Tarkang *et al.*,2012 yang menggunakan ekstrak ethanol daun papaya selama 90 hari pada hewan coba dengan dosis 1 gram/kg BB. Pada penelitian ini tidak menunjukkan adanya kematian dan tidak adanya kelainan fungsi hati dan fungsi ginjal [9].

Hasil analisis menunjukkan bahwa rata-rata kadar SGPT dan SGOT mencit jantan yang diberi ekstrak daun pepaya setiap 1 hari sekali selama 60 hari berbeda secara signifikan pada ke 5 perlakuan dengan tingkat kemaknaan $\alpha = 5\%$ uji *kruskal-wallis* terhadap kadar SGPT mencit kontrol. Sedangkan pada kadar SGPT tidak ada perbedaan yang signifikan di dibandingkan dengan kelompok kontrol. Hal ini diduga karena ekstrak daun pepaya pada kisaran dosis tersebut dapat mempengaruhi kadar enzim SGPT, terutama yang paling menonjol pada dosis 2. Kadar normal enzim SGOT yaitu sebesar 23,2-48,4 u/L dan normal kadar enzim SGPT yaitu sebesar 2,1-23,8 u/L. Namun pada kelompok kontrol penelitian ini di dapatkan rerata kadar SGOT 96 u/L dan rerata kadar SGPT 54 u/L[10].

Pada perlakuan dosis 2 kadar SGPT dan SGOT mengalami peningkatan yang paling besar dibandingkan dengan perlakuan lainnya dengan rerata 252,97 u/L dan kadar SGPT pada dosis 2 reata 140,33 u/L. Berbeda dengan perlakuan 3 dimana kadar enzim SGOT dan SGPT kembali menurun, namun pada perlakuan 4 kadar enzim SGPT dan SGOT kembali sedikit meningkat dan pada perlakuan 5 menurun lagi. Hal ini menunjukkan konsentrasi (dosis) tidak mempengaruhi kadar enzim SGPT dan SGOT.

Kerusakan hati dapat dinilai dengan peningkatan kadar enzim SGPT dan SGOT. Peningkatan kadar SGPT dan SGOT 20-100 kali di atas normal dapat terjadi pada nekrosis sel hati yang disebabkan oleh obat-obatan dan racun. Pada penelitian ini dilakukan uji kadar ekstrak daun pepaya yaitu dengan mengkaji pengaruh ekstrak daun pepaya terhadap kadar enzim SGPT dan SGOT mencit jantan [11].

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun pepaya pada mencit jantan tidak mempengaruhi kadar enzim SGPT dan SGOT. Melalui uji analisis statistik *kruskal-wallis* setelah pemberian ekstrak daun pepaya terdapat perbedaan bermakna terhadap kadar enzim SGOT dan tidak terdapat perbedaan bermakna terhadap kadar enzim SGOT, yang artinya bahwa ekstrak daun pepaya berpengaruh terhadap fungsi hati mencit terutama pada dosis 2.

Fungsi hati yang tidak normal sering berindikasi terjadi kerusakan pada hati. Sebaliknya pada tes fungsi hati yang normal tidak selalu menunjukkan hati dalam keadaan normal. Contohnya pada pasien dengan sirosis hati setelah melakukan tes fungsi hati ternyata menunjukkan tes fungsi hati dengan kadar enzim SGPT dan SGOT yang normal meskipun hati pada pasien tersebut mengalami kerusakan. Hal ini menunjukkan bahwa enzim SGPT dan SGOT bukan merupakan indikator yang spesifik dari kelainan hati [12]. Enzim SGOT selain terdapat di hati, ditemukan juga di jantung, otot skelet, otak, ginjal, dan pankreas. Dalam jumlah yang sedikit enzim SGPT juga dapat ditemukan dalam jantung, otot skelet, ginjal, dan pancreas [5,13]. Transaminase bersifat sensitif sebagai indikasi kerusakan sel hati tetapi tidak spesifik dan tidak dapat digunakan untuk prediksi prognosis penyakit hati.

Ekstrak carica papaya tidak menimbulkan gejala toksisitas pada tikus *Sprague Dawley* pada dosis 5, 50, 300 dan 2000 mg/kg BB. Tidak adanya gejala toksisitas diketahui dengan tidak adanya kematian pada hewan coba setelah perlakuan 14 hari. Namun terdapat peningkatan yang bermakna terhadap kadar hemoglobin (HGB), hematokrit (HCT), sel darah merah (RBC) dan protein total yang di duga akibat dehidrasi [5].

Penelitian serupa juga telah dilakukan terhadap keamanan konsumsi daun pepaya secara oral dengan uji toksisitas subkronis pada tikus jenis *Sprague Dawley*. Dosis yang diberikan adalah 0.01, 0.14, dan 2 g/kg berat badan (BW) selama 13 minggu. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun pepaya selama 13 minggu tidak menyebabkan kematian dan perubahan perilaku pada hewan coba. Hasil penelitian ini juga menunjukkan tidak adanya perbedaan yang signifikan pada parameter hematologi namun pada parameter biokimia terdapat perbedaan yang signifikan dibanding kelompok control. Parameter biokimia yang di lihat antara lain high density lipoprotein (HDL), kreatinin, total protein, dan albumin. Pada penelitian ini disimpulkan bahawa pemberian ekstrak daun pepaya selama 13 minggu dengan dosis bertingkat tidak menyebabkan efek toksik [13,14].

7.6 Kesimpulan dan Saran

7.6.1 Kesimpulan

1. Pemberian ekstrak daun pepaya pada semua tidak menyebabkan toksik pada uji toksisitas akut selama 48 jam.

2. Pemberian ekstrak daun pepaya pada semua dosis tidak menyebabkan toksik pada uji toksisitas subkronik selama 60 hari.
3. Pemberian ekstrak daun pepaya dosis 200 mg, 400 mg, 800 mg, 1600 mg dan 3200 mg/gr BB pada mencit jantan ada perbedaan secara nyata terhadap kadar enzim SGOT
4. Pemberian ekstrak daun pepaya dosis 200 mg, 400 mg, 800 mg, 1600 mg dan 3200 mg/gr BB pada mencit jantan tidak terdapat perbedaan yang nyata terhadap kadar enzim SGPT.
5. Kadar enzim SGOT mencit jantan lebih besar dibandingkan kadar enzim SGPT.
6. Pemberian ekstrak daun pepaya dosis 400 mg/gr B dapat meningkatkan kadar SGOT dan SGPT pada mencit jantan namun tidak menyebabkan toksik pada uji toksisitas akut dan subkronik.

7.6.2 Saran

Perlu dilanjutkan uji toksisitas kronik untuk mengetahui toksisitas bahan secara keseluruhan.

7.7 Daftar Pustaka

- Dalimartha, S. Ramuan Tradisional Untuk Pengobatan Kanker, Seri Agro sehat, Penebar Swadaya Jakarta, 2003;1(5):76-77.
- Tietze, H.W., 2002. Terapi Pepaya, PT. Prestasi Pustaka Raya, Jakarta.
- Sukardiman, Wiwied Ekasari, Pharmasinta Putri Hapsari. Aktivitas Antikanker dan Induksi Apoptosis Fraksi Kloroform Daun Pepaya (*Carica papaya* L) terhadap Kultur Sel Kanker Mieloma, Media Kedokteran Hewan, 2006; 22(2):104-111.
- Huda, N., 2001. Uji Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Metanol Daun *Carica papaya* Linn. pada Kultur Sel Mieloma Mencit dengan Metode Viabilitas Sel, Skripsi, Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, Surabaya.
- S. Z. Halim, N. R. Abdullah, A. Afzan, B. A. Abdul Rashid, I. Jantan, and Z. Ismail, "Study of acute toxicity of *Carica papaya* leaf extract in Sprague Dawley rats," *Journal of Medicinal Plants Research*, vol. 5, no. 10, pp. 1867–1872, 2011.
- Madiah, Nining Ratningsih, Desak Made Malini, Adela Hani Faiza, Johan Iskandar. Uji toksisitas akut ekstrak etanol kulit buah jengkol (*Archidendron pauciflorum*) terhadap tikus Wistar betina., 2017. *Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon*; 3 (1): 33-38.
- Amiyatun N. Uji toksisitas akut ekstrak daun *psidium guava* linn (daun jambu biji) terhadap mencit (*Mus Musculus*)., 2004. *Indonesian Journal of Dentistry*;11(2):63-65.
- K. L. Krishna, M. Paridhavi, and J. A. Patel, "Review on nutritional, medicinal and pharmacological properties of *Papaya (Carica papaya* Linn.)," *Natural Product Radiance*, vol. 7, no. 4, pp. 364–373, 2008

- P. A. Tarkang, G. A. Agbor, T. D. Armelle, T. L. R. Yamthe, K. David, and Y. S. Mengue Ngadena, "Acute and chronic toxicity studies of the aqueous and ethanol leaf extracts of *Carica papaya* Linn in Wistar rats. *Journal of Natural Products and Plant Resources*, 2012; 2 (5):617–627.
- Afzan, N. R. Abdullah, S. Z. Halim et al., "Repeated dose 28-days oral toxicity study of *Carica papaya* L. leaf extract in Sprague Dawley rats," *Molecules*, vol. 17, no. 4, pp. 4326–4342, 2012.
- N. Otsuki, N. H. Dang, E. Kumagai, A. Kondo, S. Iwata, and C. Morimoto, "Aqueous extract of *Carica papaya* leaves exhibits anti-tumor activity and immunomodulatory effects," *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 127, no. 3, pp. 760–767, 2010.
- M. B. Ekong, M. U. Akpan, T. B. Ekanem, and M. I. Akpaso, "Morphometric malformations in fetal rats following treatment with aqueous leaf extract of *Carica papaya*," *Asian Journal of Medical Sciences*, vol. 2, no. 1, pp. 18–22, 2011.
- P. B. Ayoola and A. Adeyeye, "Phytochemical and nutrient evaluation of *Carica papaya* (Pawpaw) leaves," *International Journal of Research and Reviews in Applied Sciences*, vol. 5, no. 3, p. 325, 2010.
- Zakiah Ismail, Siti Zaleha Halim, Noor Rain Abdullah, Adlin Afzan, Badrul Amini Abdul Rashid, dan Ibrahim Jantan. Safety Evaluation of Oral Toxicity of *Carica papaya* Linn. Leaves: A Subchronic Toxicity Study in Sprague Dawley Rats., 2014. Evidence - Based Complementary and Alternative Medicine Volume 2014, Article ID 741470, 10 page



Bab 8

METODE SONIKASI MENGHASILKAN LIPOSAM DARI EKSTRAK DAUN PEPAYA (*CARICA PAPAYA LINN*) SEBAGAI TERAPI KANKER SERVIK

8.1. Abstrak

Liposom merupakan partikel berbentuk vesikel yang dindingnya tersusun atas molekul lipid (konstituen utamanya adalah fosfolipid) lapis ganda yang membungkus kompartemen cairan didalamnya. Liposom dapat dibuat dari bahan alami yang berupa turunan alami fosfolipid yang dicampur dengan rantai lemak (misalkan fosfatidilkolin) dengan cara didispersikan. Liposom dari ekstrak daun pepaya (*Carica Papaya Linn*) di buat dengan tujuan meningkatkan efektivitas kerja obat dan biokompatibel, serta melindungi jaringan yang sehat dari pengaruh toksik obat. Proses pembuatan liposom ekstrak daun pepaya menggunakan metode sonikasi dengan mencampurkan lesitin dari kedelai dengan ekstrak daun pepaya. Selanjutnya di lakukan pemanasan dan sonikasi. Metode ini dilakukan untuk mengurangi ukuran partikel. Penelitian ini bertujuan untuk menghasilkan nanoliposom ekstrak daun pepaya formulasi dari lesitin kedelai fosfolipid dengan menggunakan kombinasi pemanasan dan sonikasi. Metode untuk menghasilkan liposom dengan ukuran $<150\text{nm}$ menggunakan kombinasi pemanasan 40°C selama 40 menit dan dilakukan pengadukan dengan menggunakan ultraturrax pada kecepatan 15.000 rpm selama 30 menit, selanjutnya dilakukan pengadukan dengan sonikator selama 30 menit. Hasilnya menunjukkan nano liposom ekstrak daun pepaya formulasi

dari lesitin kedelai dengan metode PSA (*Particle Size Analyzer*) type 1090/Cilas didapatkan produk liposom berbentuk cair, berwarna Hijau muda dan susu putih dan tidak berbau. Distribusi Partikel size didapatkan range 0,04 μm - 500.00 μm / 100 Classes dan rata-rata pH 5.45.

8.2 Latar Belakang

Kanker merupakan salah satu penyakit yang menjadi penyebab utama kematian di seluruh dunia dan menyumbang 8,2 juta kematian (22% dari semua kematian dari penyakit tidak menular) pada tahun 2012. Di Indonesia, angka kematian akibat penyakit kanker mencapai 111 per 100.000 populasi (WHO, 2014). Jenis kanker yang saat ini banyak diderita oleh pasien kanker di dunia antara lain kanker payudara, serviks, paru-paru, usus, perut, hati, ovarium, esofagus, pankreas, darah, dan kulit (Pusat Data dan Informasi Kementerian kesehatan RI, 2015).

Kanker servik di Indonesia menempati urutan nomer 2 tertinggi di dunia. Pada 2014, lebih dari 92 ribu perempuan Indonesia meninggal karena kanker dengan 10,3 persen di antaranya karena kanker serviks (American Cancer Society, 2011). Penyakit kanker serviks dan payudara merupakan penyakit kanker dengan prevalensi tertinggi di Indonesia pada tahun 2013, yaitu kanker serviks sebesar 0,8‰ dan kanker payudara sebesar 0,5‰. Faktor perilaku dan pola makan memiliki peran penting terhadap timbulnya kanker. Secara umum kurangnya konsumsi sayur dan buah merupakan faktor risiko tertinggi pada semua kelompok umur. Proporsi penduduk yang merokok, obesitas, dan sering mengonsumsi makanan berlemak tertinggi pada kelompok umur 25-34 tahun, 35-44 tahun, dan 45-54 tahun. Sementara itu, kebiasaan mengonsumsi makanan dibakar/ dipanggang dan mengonsumsi makanan hewani berpengawet cenderung lebih tinggi pada kelompok umur yang lebih muda. Oleh karena itu, karena terdapat perbedaan perilaku dan pola makan pada tiap kelompok umur, maka diperlukan upaya pencegahan dan promosi kesehatan yang tepat (Pusat data dan Informasi kementerian RI., 2017).

Kanker dapat diterapi dengan operasi, radiasi, kemoterapi, hormon, dan imunoterapi (Mugi Wahidin, 2015). Kemoterapi adalah tipe terapi penyakit kanker yang ditujukan untuk membunuh atau memperlambat pertumbuhan sel kanker, yang tumbuh dan membelah secara cepat. Namun, kemoterapi ini dapat juga merusak sel normal tubuh yang membelah cepat, seperti sel pada mulut, usus, maupun rambut. Kerusakan pada sel normal ini dapat menyebabkan efek samping yang tidak diinginkan pada pasien penderita kanker (American Cancer Society, 2011). Untuk meminimalisasi efek samping obat dalam tubuh tersebut, penggunaan ekstrak alami sebagai senyawa antikanker sudah cukup banyak diteliti, seperti ekstrak brokoli ekstrak manggis, ekstrak kunyit dan banyak ekstrak tanaman lainnya (Pasaribu and Sagita, 2016).

Daun pepaya memiliki nama latin (*Carica papaya* L) merupakan salah satu jenis sayuran yang diolah pada saat masih muda menjadi makanan yang lezat dan bergizi tinggi. Disamping dapat diolah menjadi makanan yang lezat, daun pepaya dapat pula dijadikan obat untuk beberapa jenis penyakit. Daun pepaya merupakan salah satu tanaman yang di kenal sebagai antikanker. Sifat anti kanker terbesar dari pepaya terkonsentrasi pada ekstrak daunnya. Menurut penelitian yang dilakukan dalam **jurnal Ethnopharmacology**, jus daun pepaya mengandung enzim yang memiliki sifat melawan kanker, seperti kanker leher rahim, kanker payudara, kanker hati, kanker paru-paru dan kanker pankreas tanpa efek toksik pada tubuh. Dengan demikian, ekstrak daun pepaya juga sering direkomendasikan di beberapa negara sebagai bagian dari kemoterapi. Dengan mengatur sel- T, ekstrak daun pepaya akan meningkatkan respon sistem kekebalan tubuh terhadap kanker (Sukardiman, Ekasari and Hapsari, 2006).

Ekstrak metanol (*Carica papain* L) memiliki aktivitas penghambatan terhadap enzim DNA Topoisomerase II, enzim yang berperan penting dalam proses replikasi, transkripsi, rekombinasi DNA, dan proliferasi sel kanker. Ekstrak daun pepaya dapat menghambat proliferasi sel dan meningkatkan apoptosis sel kanker (Puspitasari and Peristiowati, 2016).

Liposom merupakan sediaan farmasi yang dikembangkan dalam dunia farmasi karena liposom memiliki kelebihan, diantaranya meningkatkan efikasi dan indeks terapi serta meningkatkan stabilitas obat dengan sistem enkapsulasi (Akbarzadeh et al., 2013). Lesitin kedelai mengandung asam lemak tidak jenuh yang memiliki kompatibilitas tinggi di dalam tubuh dan penetrasi yang baik. Lesitin kedelai banyak digunakan dalam pembuatan liposom (Mansoori et al., 2012)

Pembuatan liposom dapat dilakukan dengan cara konvensional maupun metode novel yang hingga saat ini masih dikembangkan. Metode-metode tersebut membutuhkan waktu yang lama dalam pembuatan. Selain itu, metode tersebut membutuhkan pelarut organik yang bila meninggalkan residu dapat bersifat toksik (Mozafari et al. 2005). Metode pemanasan (metode Mozafari) merupakan salah satu metode novel yang dikembangkan dalam pembuatan liposom tanpa pelarut organik.

Metode pemanasan dapat digunakan untuk membuat liposom yang mengandung enzim, vaksin, atau senyawa lain yang peka terhadap pelarut organik (Rini Dwiastuti 1, Sri Noegrohati, Enade Perdana Istyastono, 2016)

Ukuran partikel merupakan parameter sifat fisik yang perlu diperhatikan dalam pembuatan liposom. Salah satu upaya yang dapat dilakukan untuk memperkecil ukuran partikel adalah dengan sonikasi (Akbarzadeh et al., 2013). Ukuran diameter liposom yang dihasilkan dengan cara sonikasi dipengaruhi oleh suhu dan durasi proses sonikasi (Parashar et al., 2013). Lama sonikasi juga dapat berpengaruh pada ukuran partikel yang dihasilkan (Akbarzadeh et al., 2013; Jone, 2013). Beberapa faktor yang

mempengaruhi sifat fisik suatu liposom menunjukkan bahwa komposisi lesitin kedelai, kecepatan pencampuran, durasi pencampuran dan suhu pencampuran berpengaruh terhadap berbagai sifat fisik liposom (Resources *et al.*, 2012). Pembuatan liposom menggunakan metode konvensional mempunyai banyak kendala, antara lain cukup rumit, membutuhkan waktu lama, dan menggunakan pelarut organik yang bersifat toksik.

8.3 Tujuan dan Manfaat Penelitian

8.3.1 Penelitian Bertujuan

Melakukan formulasi sediaan nanoliposom dari fosfolipid lesitin kedelai yang ditambahkan pada ekstrak daun pepaya dengan menggunakan kombinasi metode pemanasan dan sonikasi untuk menghasilkan liposom dengan ukuran nano.

8.3.2 Manfaat Penelitian

Membuat formulasi sediaan nanoliposom dari ekstrak daun pepaya sebagai terapi kanker servik untuk meningkatkan efikasi dan indeks terapi serta meningkatkan stabilitas obat dengan sistem enkapsulasi.

8.4 Metode Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah fosfolipid lesitin kedelai (labware), aquades (hydrobatt), Ekstrak daun pepaya. Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah pH meter, timbangan elektrik, gelas ukur, vial, kaca arloji, magnetic stirrer, ultraturax, bath sonikator (SOLTEC), *particle size analyzer* (1090/Cilas).

Liposom dibuat dengan mendispersikan 1,0024 gram fosfolipid lesitin kedelai dalam 11,5 mL aquades. Campuran lesitin dan aquades di tambah dengan ekstrak daun pepaya 0,5012 gram. Perbandingan Lesitin dan ekstrak daun pepaya 100:50. Selanjutnya dilakukan pengadukan dengan menggunakan magnetic stirrer dengan kecepatan 700 rpm, suhu 40°C selama 40 menit. Formulasi Liposom di homogenkan menggunakan ultraturax pada kecepatan 15.000 rpm selama 30 menit dan disonikasi menggunakan bath sonicator selama 30 menit pada suhu 60°C. Formulasi liposom dibuat dalam 4 formula yaitu liposom sampel 1 dengan dosis 200mg, sampel 2 dosis 400 mg, sampel 3 dosis 800 mg, sampel 4 dosis 1600 mg tanpa penambahan zat aktif Liposom yang dihasilkan selanjutnya dilakukan pengukuran ukuran partikel dengan menggunakan alat *particle size analyzer* (PSA) dengan menggunakan metode Cilas 1090 liquid. Dan diukur pH nya menggunakan pH meter.

8.5 Hasil dan Pembahasan

8.5.1 Hasil

Produk liposom dilakukan di UPT Intrumentasi Jurusan Kimia FMIP Universitas Brawijaya Malang, dengan menggunakan metode PSA (*Particle Size Analyzer*) Type 1090/Cilas

- Hasil dari produk liposom berbentuk cair, berwarna Hijau muda dan susu putih dan tidak berbau.
- Distribusi Partikel size dengan metode Cilas 1090 liquid didapatkan range: 0,04 μm - 500.00 μm /100 Classes.

TABEL 8.1
Hasil Uji pH dan PSA dari Liposom

No	Bahan	pH	PSA (μm)
1.	Liposom Ekstrak daun Pepaya sampel 1	4.8	14.62
2.	Liposom Ekstrak daun Pepaya sampel 2	4.72	12.36
3.	Liposom Ekstrak daun Pepaya sampel 3	5.95	16.32
4.	Liposom Ekstrak daun Pepaya sampel 4	6.35	18.56
	Rerata	5.45	15.46

8.5.2 Pembahasan

Salah satu parameter yang perlu diperhatikan dalam formulasi liposom adalah ukuran partikel yang dihasilkan. Salah satu parameter yang perlu diperhatikan dalam formulasi liposom adalah ukuran partikel yang dihasilkan. Beberapa penelitian menggunakan vesikel kecil dengan rentang diameter 50-150 nm dengan pertimbangan efisiensi kapsulasi, stabilitas dan distribusi dalam sistem penghantaran obat (Liang, Mao and Ng, 2004). Formulasi nanoliposom masih terus dikembangkan hingga saat ini. Banyak upaya telah dilakukan untuk memperkecil ukuran liposom. Energi sonikasi sering digunakan untuk memproduksi liposom dengan diameter yang kecil hingga 15-50 nm. Metode pembuatan liposom yang digunakan dalam penelitian ini adalah kombinasi metode pemanasan 60°C dan energi sonikasi untuk menghasilkan sediaan liposom dengan kisaran ukuran 50-150 nm (Liang et al., 2004). Lama sonikasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah 30 menit. Metode pemanasan merupakan salah satu metode novel untuk membuat liposom tanpa menggunakan pelarut organik, sehingga tidak bersifat toksik (Mozafariet al.2005). Pengembangan metode pembuatan liposom yang digunakan dalam penelitian ini adalah penggunaan kombinasi metode pemanasan sebesar 60°C dan sonikasi selama

30 menit. Kelebihan dari kombinasi kedua metode ini adalah durasi pembuatan yang lebih cepat dan tidak menggunakan pelarut organik selama pembuatan. Pelarut yang digunakan selama formulasi liposom adalah air bidestilata sehingga tidak meninggalkan residu pelarut organik yang kemungkinan dapat bersifat toksik.

Formulasi nanoliposom dalam penelitian ini dibuat dalam 4 formula, yaitu liposom sampel 1 dengan dosis 200mg, sampel 2 dosis 400 mg, sampel 3 dosis 800 mg, sampel 4 dosis 1600 mg tanpa penambahan zat aktif.

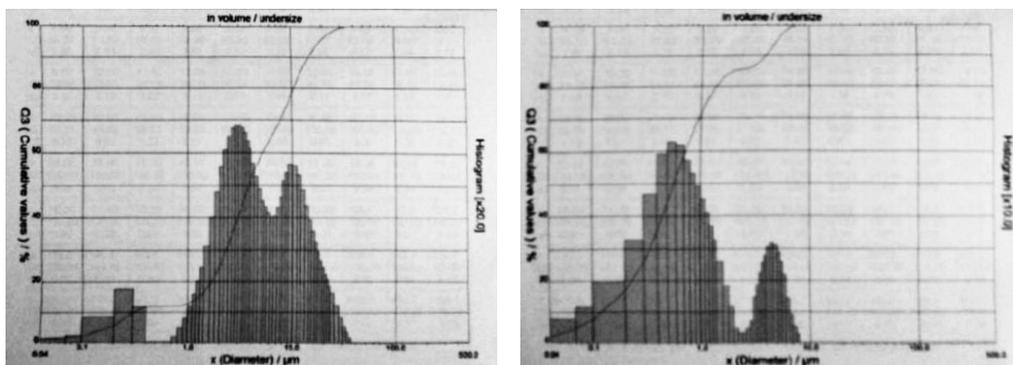
Zat aktif yang biasa digunakan adalah senyawa 4-n-butylresorcinol. Senyawa 4-n-butylresorcinol mempunyai efek hipopigmentasi dengan cara menghambat aktivitas enzim tirosinase dan menekan sintesis tirosinase yang memicu sintesis melanin kulit (Kim et al., 2005; Kolbe et al., 2013). Senyawa ini dikembangkan dalam pengobatan melasma kulit. Aktivitas senyawa ini adalah menghambat enzim tirosinase yang terdapat pada lapisan stratum basal sehingga diperlukan formulasi dalam bentuk nanoliposom untuk dapat menghantarkan zat aktif sampai pada stratum basal lapisan kulit.

Ukuran liposom yang dihasilkan dalam penelitian ini disampaikan pada tabel 8.1 dengan hasil rata-rata ukuran liposom ke empat formula antara 12,36 s/d 18,32 μm dengan pH rata-rata 4,72 s/d 6,35 gr%.

Hasil pengukuran liposom (Tabel 8.1) menunjukkan bahwa formula liposom tanpa penambahan zat aktif menghasilkan liposom dengan kisaran ukuran 12,36 s/d 18,32 μm . Liposom yang terbentuk biasanya memiliki distribusi ukuran partikel yang heterogen.

Ukuran liposom juga berubah seiring dengan waktu penyimpanan (Mansoori *et al.*, 2012).

Ukuran partikel liposom yang dihasilkan dalam penelitian ini juga bersifat heterogen dengan distribusi ukuran 12,36 s/d 18,32 μm . Kurva distribusi ukuran partikel liposom ditunjukkan pada Gambar 1 dan Gambar 2.



GAMBAR 1 DAN 2

Kurva distribusi ukuran partikel liposom dari ekstrak daun pepaya formula 1 dan 2 dengan menggunakan PSA (Particle Size Analyzer) Type 1090/Cilas

Gambaran kurva distribusi ukuran liposom tanpa penambahan zat aktif formula 1 (Gambar 1), dan formula 2 (Gambar 2) menunjukkan hasil sebaran distribusi ukuran partikel normal. Polydispersity Index (PI) yang digunakan dalam pengamatan ukuran partikel dengan menggunakan *Dynamic Light Scattering* (DLS) memenuhi persyaratan (Bansal *et al.*, 2012) untuk larutan polydisperse yaitu untuk ukuran partikel 100-300 nm persyaratan PI adalah $< 0,3$. Pada pengamatan liposom tanpa penambahan zat aktif nilai PI adalah sebesar 0,204. Ukuran liposom yang dihasilkan dalam penelitian ini serupa dengan penelitian (Ko and Lee, 2010). yang menghasilkan liposom dengan rata-rata ukuran 98 ± 48 nm. Perbedaan dengan penelitian (Ko and Lee, 2010). adalah pada metode formulasi yang digunakan. Metode formulasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah kombinasi metode pemanasan dan sonikasi sedangkan penelitian (Ko and Lee, 2010). menggunakan metode dehydration-rehydration sehingga memerlukan waktu yang lebih lama dan menggunakan pelarut organik dalam proses formulasinya. Nanoliposom dengan ukuran 100 nm yang berisi bahan aktif memiliki stabilitas sebagai sediaan kosmetik bahan dan sistem penghantaran obat secara topikal (Ko and Lee, 2010).

8.6 Kesimpulan dan Saran

Formulasi sediaan nanoliposom dari fosfolipid dari ekstrak daun pepaya dengan penambahan lesitin kedelai (soy lecithin) dapat dilakukan dengan menggunakan kombinasi metode pemanasan 60°C dan lama sonikasi 30 menit. Saran dari penelitian ini adalah perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terkait optimasi suhu dan lama sonikasi dalam pembuatan nanoliposom dan pengamatan morfologi bentuk liposom yang dihasilkan dengan menggunakan Transmission Electron Microscopy (TEM). Produk akhir Liposom dari ekstrak daun pepaya menunjukkan Distribusi Partikel size dengan metode Cilas 1090 liquid didapatkan range: $0,04 \mu\text{m} - 500,00 \mu\text{m}/100$ Classes. Rerata pH 5.45 dan rerata PSA $15,46 \mu\text{m}$.

8.7 Daftar Pustaka

- Akbarzadeh, A. *et al.* (2013) 'Liposome : classification, preparation, and applications', *Nanoscale Research Letters*. Nanoscale Research Letters, 8(1), pp. 2–9. Available at: Nanoscale Research Letters.
- American Cancer Society (2011) *Cancer Facts & Figures*.
- Bansal, S. *et al.* (2012) 'A COMPARATIVE REVIEW ON VESICULAR DRUG DELIVERY SYSTEM AND STABILITY ISSUES', *IJRPC*, 2(3), pp. 704–713.
- Jone, A. (2013) 'Liposomes : A short Review', *Anna Jone/J. Pharm. Sci. & Res.*, 5(9), pp. 181–183. doi: 10.4172/2155-.
- Ko, S. and Lee, S. (2010) 'Effect of nanoliposomes on the stabilization of incorporated retinol', *African Journal of Biotechnology*, 9(37), pp. 6158–6161.

- Liang, X., Mao, G. and Ng, K. Y. S. (2004) 'Mechanical properties and stability measurement of cholesterol-containing liposome on mica by atomic force microscopy', *Journal of Colloid and Interface Science* 278, 278, pp. 53–62.
- Mansoori, M. A. *et al.* (2012) 'A review on liposome', *IJARPB*, 2(4), pp. 453–464.
- Mugi Wahidin (2015) 'Deteksi Dini Kanker Leher Rahim dan Kanker Payudara di Indonesia 2007-2014', *Buletin Jendela*, 1, pp. 12–15.
- Parashar, T. *et al.* (2013) 'Review Article ETHOSOMES : A RECENT VESICLE OF TRANSDERMAL DRUG DELIVERY SYSTEM', *International Journal of Research and Development in Pharmacy and Life Sciences*, 2(2), pp. 285–292.
- Parle Milind and Gurditta (2011) 'BASKETFUL BENEFITS OF PAPAYA', *INTERNATIONAL RESEARCH JOURNAL OF PHARMACY*, 2(7), pp. 6–12.
- Pasaribu, G. and Sagita, E. (2016) 'Uji Aktivitas Antiproliferasi Formula Liposom Ekstrak Etanol Kunyit (*Curcuma domestica*) Terhadap Sel Kanker Payudara Abstrak', *Pharm Sci Res ISSN*, 3(1), pp. 45–59.
- Pusat Data dan informasi Kementrian kesehatan RI (2015) *Situasi penyakit kanker*.
- Puspitasari, Y. and Peristiwati, Y. (2016) 'Effect of Papaya Leaf Extract on Cell Proliferation and Apoptosis Activities in Cervical Cancer Mice Model', *J. Appl. Environ. Biol. Sci*, 6(9), pp. 78–83.
- Resources, N. *et al.* (2012) 'Evaluating the Effects of Process Variables on Protease-loaded Nano-liposome Production by Plackett-Burman Design for Utilizing in Cheese Ripening Acceleration', *Asian Journal of Chemistry*, 24(9), pp. 3891–3894.
- Rini Dwiastuti1, Sri Noegrohati, Enade Perdana Istyastono, M. (2016) 'METODE PEMANASAN DAN SONIKASI MENGHASILKAN NANOLIPOSOM DARI FOSFOLIPID LESITIN KEDELAI (SOY LECITHIN)', *Farmasi, Jurnal Dan Sains*, 13(1), pp. 23–27.
- Sukardiman, Ekasari, W. and Hapsari, P. P. (2006) 'Aktivitas Antikanker dan Induksi Apoptosis Fraksi Kloroform Daun Pepaya (*Carica papaya* L) terhadap Kultur Sel Kanker Mieloma', *Media Kedokteran Hewan*, 22(2), pp. 104–111.
- Yogiraj, V., Goyal, P. K. and Chauhan, C. S. (2015) 'Carica papaya Linn : An Overview', *International Journal of Herbal Medicine* 2014;, 2(5), pp. 1–8.

INDEKS

C

- Caricaceae 3, 4, 5, 57
- Carica papaya L. 3, 11, 21, 38, 60, 66, 73, 89
- carica papaya linn 2, 23

D

- Daun pepaya 5, 8, 9, 23, 56, 63, 77, 87
- DPPH 15

E

- Ekstrak methanol 17, 18, 20, 35, 37, 47, 49, 64

H

- HeLa vi, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 36, 38, 40, 42, 48, 58, 88

- Herbal berbasis Empiris 2
- Herbal medicine* 1
- Human papilloma virus 28

J

- jamu 2
- jurnal Ethnopharmacology 77

K

- Kanker servik 27, 28, 36, 48, 76
- karpain 2, 7, 8, 11, 13, 16, 19, 21, 22, 23, 66

L

- Letal Dose 65
- LIPI UPT 20, 23, 24, 37
- Liposom 75, 77, 78, 79, 80, 82

M

massive tumor 31, 33

N

NFkB 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55,
58

O

Otsuki 14, 73

P

papain 3, 4, 6, 7, 8, 18, 20, 35, 37, 47, 49,
63, 64, 77

Particle Size Analyzer 76, 79, 80

phytopharmarca 1

post test controlled group 37, 49

S

SRM 19, 22

T

terpenoid 6, 8

tumor 6, 13, 14, 23, 28, 30, 31, 32, 33,
35, 36, 37, 38, 39, 42, 43, 44, 45, 48,
49, 56, 57, 59, 73

W

WHO 1, 76

BIODATA PENULIS



Data Pribadi

Nama Lengkap : **Dr. Yuly Peristiwati., S.Kep Ns.,M.Kes**
NIDN : 0706077601
ID SINTA (URL) : <http://sinta2.ristekdikti.go.id/authors/detail?id=259173&view=overview>

Data Buku dimasukkan ke situs SINTA : Sudah Belum
Alamat Rumah : Jl. KH Wakhid Hasyim Gg III No. 6 Kediri
Nomer Ponsel : 085707546908
Surel Pribadi : yulystikes@gmail.com
Alamat Kantor : Jl. Manila Sumberece 37 Kediri
Telepon Kantor : 0354 685130

Riwayat Pendidikan

Tahun Lulus	Perguruan Tinggi	Bidang Spesialisasi
S1 2001	Universitas Airlangga Surabaya	Keperawatan
S2 2009	Universitas Brawijaya Malang	Biomedik
S3 2016	Program Doktor Ilmu Kedokteran	Biomedik

Nama Mata Kuliah yang Diampu

No	Nama Mata Kuliah	STRATA
1	Biomedik	S1 Kesmas
2	Ilmu Dasar Keperawatan	S1 Keperawatan
3	Keperawatan Medikal Bedah	S1 Keperawatan
4	Pabobiologi	S2 Kesmas

Jumlah Mahasiswa yang Pernah Diluluskan

No	Jumlah	STRATA
1	2800	S1 Kesehatan Masyarakat
2	3750	S1 Keperawatan
3	25	S2 Kesehatan Masyarakat

Pengalaman Penelitian 5 Tahun Terakhir

No	Periode Tahun	Judul Penelitian	Pendanaan	
			Sumber Dana	Jumlah (Rp)
1	2013	Regulasi Catechins green tea GMB-4 dalam menghambat NADPH dan Peningkatan kadar Nitric Oxide (NO) pada kultur Human Umbilical Vein Endothelial Cells (HUVEC) yang mengalami stes oksidasi	Hibah Bersaing DIKTI	47.500.000
2	2013	Evaluasi pemberantasan Demam berdarah dengue dan identifikasi Type Virus Dengue dengan metode Spasial Geographic Information System (GIS) di Kota Kediri	Hibah Dosen Pemula DIKTI	14.000.000
3	2014	Identifikasi Faktor yang mempengaruhi EPCHoming secara invitro pada kultur HUVEC yang di papir supernatan EPC dengan perlakuan High Glikosa	Hibah Disertasi Doktor DIKTI	48.000.000

No	Periode Tahun	Judul Penelitian	Pendanaan	
			Sumber Dana	Jumlah (Rp)
4	2014	Identifikasi Perkembangbiakan Bakteri pada pasien yang terpasang ETT sebagai penyebab terjadinya VAP di ruang ICU	Hibah Dosen Pemula DIKTI	16.000.000
5	2015	Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun pepaya (<i>Carica papaya linn</i>) terhadap aktivitas proliferasi sel dan apoptosis pada kanker servik mencit C3H	Hibah Bersaing DIKTI tahun Pertama	50.000.000
6	2015	Pengaruh pemberin <i>cognitive support</i> dan ESQ terhadap perubahan perilaku seksual dan status Imunologis penderita HIV/ AIDS	Hibah AINEC	5.000.000
7	2016	Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun pepaya (<i>Carica papaya linn</i>) terhadap aktivitas proliferasi sel dan apoptosis pada kanker servik mencit C3H	Penelitian produk Terapan RISTEK DIKTI tahun II	50.000.000
8	2017	Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun pepaya (<i>Carica papaya linn</i>) terhadap aktivitas proliferasi sel dan apoptosis pada kanker servik mencit C3H	Penelitian produk Terapan RISTEK DIKTI tahun III	70.000.000
10	2017	Pembuatan Kompos Berbasis Bioaktivator Mikroorganisme Lokal (Mol) Dalam Upaya Peningkatan Gizi Masyarakat	Penelitian produk Terapan RISTEK DIKTI tahun I	55.000.000

Pengalaman Publikasi di Berkala Ilmiah Lima Tahun Terakhir (Tidak termasuk prosiding seminar)

No	Nama Penulis	Tahun Terbit	Judul	Nama Jurnal	Volume/ Nomer	Status Akreditasi
1	Yuly Peristiowati, Lingga Kusumawardani, Hariyono	2014	Evaluasi Pemberantasan Demam Berdarah Dengue dengan Metode Spasial <i>Geographic Information System</i> (GIS) dan Identifikasi Tipe Virus Dengue di Kota Kediri	Jurnal Kedokteran Brawijaya	Volume 28 No. 2	Akreditasi B
2	Yuly Peristiowati, Retty Ratnawati, Indasah	2015	The effects of catechin isolated from green tea GMB-4 on NADPH and nitric oxide levels in endothelial cells exposed to high glucose	Journal of Intercultural Ethno-pharmacology	Volume 4 Nomor 2	Thomson Rutter

No	Nama Penulis	Tahun Terbit	Judul	Nama Jurnal	Volume/ Nomer	Status Akreditasi
3	Yuly Peristiwati, Sandu Siyoto, Ratna Wardani	2015	Pengaruh Pemberian Cognitive Support Terhadap Peningkatan Kadar CD4 Pada Pasien HIV Di Kota Kediri	Jurnal Ners	Volume 10, nomor 1	Akreditasi B
4	Yuly Peristiwati, et al	2015	Antidiabetic Activity of GMB-4 Green Tea Catechins in Rats Developing Type 2 Diabetes Mellitus Mice with Insulin Resistance	International Journal of Academic Research	Volume 7 Nomor 3	Thomson Rutter
5	Yuly Peristiwati.,Yenny Puspitasari	2015	A HeLa Cell-Implanted Mouse Model of Cervical Cancer	Journal of Applied Environmental and Biological Sciences	Volume 5 Nomor 12	Thomson Rutter
6	Yuly Peristiwati., Retty Ratnawati, Ahmad Rudidjanto, Djanggan sargowo	2016	Identification of factors that may Affect Endothelial Progenitor Cells (EPC) Homing with Treatment of High Glucose	Journal of Applied Environmental and Biological Sciences	Volume 6, Nomor 4	Thomson Rutter
7	Yenny Puspitasari.,Yuly Peristiwati	2016	Effect of Papaya Leaf Extract on Cell Proliferation and Apoptosis Activities in Cervical Cancer Mice Model	Journal of Applied Environmental and Biological Sciences	Volume 6 Nomor 9	Thomson Rutter
8	Sandu Siyoto, Yuly Peristiwati	2016	Self Efficacy of Diabetes Mellitus Patients with Gangrene In Process Adaptation Theory of Calista Roy	Journal of Applied Environmental and Biological Sciences	Volume 6, Nomor 4	Thomson Rutter
9	Sandu Siyoto, Yuly Peristiwati, Eva Agustin	2016	Mekanisme Koping pada Odha dengan Pendekatan Teori Adaptasi Callista Roy	Jurnal Ners	Volume 11, nomor 2 Hal: 256-260	Akreditasi B
10	Yuly Peristiwati, Nurwijayanti	2017	The Effects of Concentration and Fermentation Time on Quality of Local Microorganism Solutions (LMS) of Stale Rice, Cassava "Tape", Banana Bumps and Cow's R...	Health Notions	Volume 1 Nomor 3 Halaman 151-154	Copernicus

No	Nama Penulis	Tahun Terbit	Judul	Nama Jurnal	Volume/ Nomer	Status Akreditasi
11	Yenny Puspitasari, Yuly Peristiwati	2017	Acute and Subchronic Toxicity Tests of Papaya Leaf,(<i>Carica papaya</i> linn) Methanol Extract on Wistar Strainwhite Mice	Journal of Applied Environmental and Biological Sciences	Volume 7 Nomer 11 Halaman 9-14	Thomson Rutter
12	Yuly Peristiwati	2017	Protective Effects of Catechins Isolate From GMB4 Clone Green Tea Against EPC In Type 2 Diabetes Mellitus	Jurnal Ners	Volume 12 Nomer 2 Halaman 247-252	Akreditasi B
13	Yenny Puspitasari, Yuly Peristiwati	2017	Identification of Alkaloid Compounds in Papaya Leaves Extract (<i>Carica papaya</i> L.) with LC-MS/MS	Indian Journal of Agricultural Biochemistry	Volume 30 Nomer 2 Halaman 200-201	SCOPUS

Pengalaman Mendapatkan HKI (Selama 5 Tahun Terakhir)

No	Tahun	Judul/Tema HKI	Jenis HKI	Status (Terdaftar/Nomor P/ID Granted)**
1	2015	Catechins Green Tea GMB-4 Sebagai Anti Diabetes Mellitus	Paten	Terdaftar masa Publikasi nomer: 2007/00018 Nomer Permohonan: P00201508098
2	2015	Metode Peningkatan Endothelial Progenitor Cells (EPC) Homing pada Penderita Diabetes Mellitus	Paten	Terdaftar masa Publikasi nomer: 2006/06357 Nomer Permohonan: P00201507714

Pengalaman Penerbitan Buku 10 Tahun terakhir

No	Nama penulis	Judul Buku	Tahun	Penerbit	ISBN
1	Yuly Peristiwati	Imunologi Diagnosis dan Tehnik Biologi Molekuler	2014	Nuha Medika	ISBN: 978-602-1547-32-8
2	Yuly Peristiwati	Catechins Green Tea sebagai antidiabetik	2016	Indomedia Pustaka	ISBN: 978-602-6417-07-7



Data Pribadi

1. Nama Lengkap (dengan gelar) : **Ns. Yenny Puspitasari, S.Kep., M.Kes**
2. NIK : 13.07.05.022
3. NIDN/NIDK/NUP : 0723038001
4. Pangkat dan Golongan Ruang : III A, Asisten Ahli
5. Tempat, Tanggal Lahir : Kediri, 23 Maret 1980
6. Jenis Kelamin : Perempuan
7. Alamat Rumah : Bandar Lor Gang IX B No. 16 Kediri
8. No. HP : 08121774130
9. E-mail : yenny_puspita80@yahoo.co.id
10. Nama Institusi : STIKes Surya Mitra Husada Kediri
11. Alamat institusi : Jl. Manila No. 37 Sumberece Kediri

Pendidikan di dalam dan di luar Negeri (dimulai dari pendidikan terakhir/yang sedang diikuti saat ini)

No	Nama pendidikan	Jurusan	Tahun	Tempat
1	Universitas Airlangga	S2-Ilmu Kesehatan Reproduksi	2009-2011	Surabaya
2	Universitas Airlangga	S1-Program Studi Ilmu Keperawatan	2002-2005	Surabaya
3	AKPER RS. BAPTIS	D-III Keperawatan	1998-2001	Kediri

Pendidikan Tambahan / Pelatihan / Kursus Terkait Bidang Profesi

Riwayat Pelatihan Profesional			
Tahun	Nama Pelatihan	Penyelenggara	Jangka waktu
2015	Pelatihan Asesor Kompetensi	Badan Nasional Sertifikasi Profesi	6-11 Oktober 2015
2014	Pelatihan Perceptorship	STIKes Surya Mitra Husada bekerjasama dengan AIPNI	7-8 Maret 2014

Riwayat Kursus/Pelatihan terkait Pendidikan/Assesment

Riwayat Pelatihan Pendidikan/Assesment			
Tahun	Nama Pelatihan	Penyelenggara	Jangka Waktu
2016	Pelatihan Item Review dan Aplikasi SIPENA Soal UKNI	AIPNI Regional Jatim	1-2 Maret 2017
2015	Item Review Soal bagi Dosen Institusi Keperawatan	AIPNI Regional Jatim	12 Agustus 2015
2014	Workshop Item Development	AIPNI Regional Jateng	20-21 Agustus 2014
2012	Penyusunan Standart Kompetensi Mata Ajar Keperawatan Maternitas Pada Kurikulum D III dan S1 Keperawatan di Indonesia	Ikatan Perawat Maternitas & PPNI Jatim	13-14 Maret 2013

Riwayat Pekerjaan (dimulai dari pekerjaan saat ini)

No	Jabatan di Institusi	Tahun	Keterangan
1	Wakil Ketua I (Bidang Akademik & Kemahasiswaan)	2014-2017	STIKes Surya Mitra Husada
2	Sekretaris Program Studi Ilmu Keperawatan	2012-2013	STIKes Surya Mitra Husada
3	Koordinator Praktik Profesi Program Studi Ilmu Keperawatan	2011-2012	STIKes Surya Mitra Husada

Publikasi

No	Judul	Nama Jurnal	Tahun
1	Effect of Papaya Leaf Extract on Cell Proliferation and Apoptosis Activities in Cervical Cancer Mice Model	Journal Of Applied Environmental and Biological Sciences : Volume 6, September 2016	2016
2	The Identification of Families Stress Level with Adversity Quotient in caring Schizophrenia Family Members in Kediri City	Journal of Applied Environmental and Biological Sciences ; Volume 5, Desember 2015	2015
3	A Hella Cell – Implanted Mouse Model Of Cervical Cancer	The Proceeding Of International Joint Conference : Challenges Implementation Of The Asean Economic Community (AEC) In The Health Sctor In Indonesia	2015

Seminar

No	Topik Seminar	Penyelenggara	Waktu
1	Workshop Penyusunan Buku Pedoman Akademik	Kopertis Wilayah VII	3-5 Maret 2017
2	Seminar dan Workshop Revitalisasi Kursus Calon Pengantin (SUSCATIN) Dalam Upaya Akselerasi Penurunan Kematian Maternal	Ikatan Alumni Ilmu Kesehatan Reproduksi Jenjang Magister	17 Desember 2016
3	Konferensi Keperawatan Nasional	Ikatan Alumni Jurusan Keperawatan FKUB	Agustus 2016



REPUBLIK INDONESIA
KEMENTERIAN HUKUM DAN HAK ASASI MANUSIA

SURAT PENCATATAN CIPTAAN

Dalam rangka perlindungan ciptaan di bidang ilmu pengetahuan, seni dan sastra berdasarkan Undang-Undang Nomor 28 Tahun 2014 tentang Hak Cipta, dengan ini menerangkan:

Nomor dan tanggal permohonan : EC00201808817, 11 April 2018

Pencipta

Nama : **Dr. Yuly Peristiwati, S.Kep.Ns., M.Kes, Ns. Yenny Puspitasari, S.Kep., M.Kes, dkk**
Alamat : Jl. KH. Wakhid Hasyim Bandar Lor Gang III No. 6, Kediri, Jawa Timur, 64114
Kewarganegaraan : Indonesia

Pemegang Hak Cipta

Nama : **Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Surya Mitra Husada**
Alamat : Jalan Manila No, 37 Sumberece, Kediri, Jawa Timur, 64133
Kewarganegaraan : Indonesia
Jenis Ciptaan : **Buku**
Judul Ciptaan : **Potensi Daun Pepaya Dalam Menjaga Kesehatan Reproduksi Wanita**
Tanggal dan tempat diumumkan untuk pertama kali di wilayah Indonesia atau di luar wilayah Indonesia : 14 Maret 2018, di Kediri
Jangka waktu perlindungan : Berlaku selama 50 (lima puluh) tahun sejak Ciptaan tersebut pertama kali dilakukan Pengumuman.
Nomor pencatatan : 000105353

adalah benar berdasarkan keterangan yang diberikan oleh Pemohon.
Surat Pencatatan Hak Cipta atau produk Hak terkait ini sesuai dengan Pasal 72 Undang-Undang Nomor 28 Tahun 2014 tentang Hak Cipta.



a.n. MENTERI HUKUM DAN HAK ASASI MANUSIA
DIREKTUR JENDERAL KEKAYAAN INTELEKTUAL

Dr. Freddy Harris, S.H., LL.M., ACCS.
NIP. 196611181994031001

Lampiran Keputusan Direktur Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat**Nomor: 0094/E5.1/PE/2015, Tanggal 16 Januari 2015****Tentang Penetapan Penerima Hibah Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Tahun 2015 Batch 1****I. Daftar Penerima Hibah Penelitian Tahun 2015 Batch 1**

NO	NAMA KETUA PELAKSANA	PERGURUAN TINGGI	JUDUL	SKEMA
1	WIDOWATI SISWOMIHARDJO	Kode: 001001 Universitas Gadjah Mada	Pengembangan Perangkat Pengobatan dan Pencegahan Penyakit Kardiovaskuler (Pengembangan Perangkat Terapi Intravaskuler dengan Stent)	Biomedik
	0003055802 Status usulan: Lanjutan			
2	Dr. es.sc.tech. AHMAD RIFA I	Kode: 001001 Universitas Gadjah Mada	Characteristic of Hydraulic Properties and Drainage System of Prambanan Temple Yard by Volcanic Ash Application	Kerjasama Luar Negeri dan Publikasi Internasional
	0012076901 Status usulan: Lanjutan			
10871	Ns JOKO SUTRISNO S.Kep.,M.Kes	Kode: 073122 STIKES Surya Mitra Husada	PENGARUH PEMBERIAN COGNITIVE SUPPORT dan EMOTIONAL SPIRITUAL QUOTIENT (ESQ) TERHADAP PERUBAHAN PERILAKU SEKSUAL DAN STATUS IMUNOLOGIS PENDERITA HIV/AIDS	Penelitian Dosen Pemula
	0716107903 Status usulan: Baru			
10872	Ns YENNY PUSPITASARI S.Kep., M.Kes	Kode: 073122 STIKES Surya Mitra Husada	Pengaruh Pemberian Isoflavon Genistein Selama Periode Pra Puber Terhadap Histologi Vagina, Konsentrasi Estradiol dan Ovulasi pada Mencit Betina (Mus Musculus L)	Penelitian Dosen Pemula
	0723038001 Status usulan: Baru			
10873	EMA MAYASARI SKM	Kode: 073122 STIKES Surya Mitra Husada	Kualitas hidup penderita kusta di RS Kusta Kota Kediri	Penelitian Dosen Pemula
	0707058701 Status usulan: Baru			
10874	YULY PERISTIOWATI S.Kep., Ns., M.Kes	Kode: 073122 STIKES Surya Mitra Husada	PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN PEPAYA (Carica papaya linn) TERHADAP AKTIVITAS PROLIFERASI SEL DAN APOPTOSIS PADA KANKER SERVIKS MENCIT C3H	Penelitian Hibah Bersaing
	0706077601 Status usulan: Baru			
10875	ANNDY PRASTYA S.Kep., Ns.	Kode: 073123 Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Majapahit	PENGARUH ART THERAPY TERHADAP TINGKAT SPIRITUALITAS PADA PASIEN KANKER PAYUDARA STADIUM I DAN II DI POLI BEDAH ONKOLOGI RUMAH SAKIT UMUM DR. SAIFUL ANWAR MALANG	Penelitian Dosen Pemula
	0726018701 Status usulan: Baru			

DAFTAR NAMA PEMENANG PENELITIAN TAHUN 2016

Kode PT	Nama PT	NIDN	Nama	Judul	Skim	Status
101001	Universitas Bung Hatta	1002037702	RINI MULYANI	Penilaian Kerentanan (Vulnerability Assessment) Struktur Beton Bertulang Di Sumatera Barat	Penelitian Fundamental	Baru
101001	Universitas Bung Hatta	1004076202	YEMPITA EFENDI	Optimasi Bakteri Terpilih <i>Bacillus subtilis</i> dari Saluran Pencernaan Ikan Nila (<i>Oreochromis niloticus</i>) sebagai Sumber Enzim Protease	Penelitian Fundamental	Baru
101001	Universitas Bung Hatta	1010117202	TIENN IMMERRY	UNGKAPAN MINANGKABAU: KOMIK STRIP DAN ILLUSTRASINYA	Penelitian Dosen Pemula	Baru
101001	Universitas Bung Hatta	0020027405	MIRZA ZONI	Analisa Error State pada Sistem Pengendali Anti Windup dan Sliding Mode Control dengan Sistem Observer Melalui Sejumlah Linear Matrix Inequality	Penelitian Dosen Pemula	Baru
101001	Universitas Bung Hatta	1024127303	DESY ARYANTI	Konsep Pengembangan Kawasan Wisata Gunung Bungsu Resort Sebagai Kawasan Ekowisata Dan Wisata Olah Raga Berbasis Pemberdayaan Masyarakat	Penelitian Dosen Pemula	Baru
101001	Universitas Bung Hatta	1001047101	HENDRA SUHERMAN	Pengaruh Bentuk, Ukuran dan Kandungan Grafit Terhadap Nilai Konduktif Listrik dan Kekuatan Tarik Komposit Polimer Konduktif	Penelitian Fundamental	Lanjutan
101001	Universitas Bung Hatta	1031077503	AZRITA	Pemetaan Keragaman Genetik Ikan Gurami (<i>Ospherenemus gouramy Lac</i>) di Kabupaten Lima Puluh Kota Menuju Perbaikan Broodstock	Penelitian Fundamental	Lanjutan

073122	STIKES Surya Mitra Husada	0707037901	BYBA MELDA SUHITA	Care Giver Coping Effort Merawat Penderita Retardasi Mental ditinjau dari Adversity Quotient Di Kota Kediri	Penelitian Dosen Pemula	Baru
073122	STIKES Surya Mitra Husada	0717057304	PRIMA DEWI KUSUMAWATI	Hubungan tipe kepribadian menurut Hipokrates dengan pelaksanaan komunikasi terapeutik perawat pada pasien di RS Kusta Kota Kediri	Penelitian Dosen Pemula	Baru
073122	STIKES Surya Mitra Husada	0727118601	NOVITA ANA ANGGRAINI	Peran Perawat Sebagai Edukator Terhadap Kesiapsiagaan Masyarakat di Daerah Kawasan Rawan Bencana Gunung Kelud Blitar	Penelitian Dosen Pemula	Baru
073122	STIKES Surya Mitra Husada	0706077601	YULY PERISTIOWATI	PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN PEPAYA (<i>Carica papaya linn</i>) TERHADAP AKTIVITAS PROLIFERASI SEL DAN APOPTOSIS PADA KANKER SERVIKS MENCIT C3H	Penelitian Hibah Bersaing	Lanjutan
073126	STIKES Bina Sehat PPNI Mojokerto	0724048603	CATUR PRASASTIA LUKITA DEWI	Hubungan lama penggunaan kontrasepsi IUD dengan kejadian anemia pada peserta kontrasepsi IUD di Desa Gayaman Kecamatan Mojoanyar Kabupaten Mojokerto	Penelitian Dosen Pemula	Baru
073126	STIKES Bina Sehat PPNI Mojokerto	0703048502	HENI FRILASARI	EFFEKTIFITAS DEEP BREATHING TECHNIQUE TERHADAP DERAJAT NYERI PADA IBU INPARTU KALA I FASE AKTIF DI BPM NY.LIDA K,S.SIT.,MKes	Penelitian Dosen Pemula	Baru
073126	STIKES Bina Sehat PPNI Mojokerto	0721098002	LIDA KHALIMATUS SA DIYA	EFEKTIFITAS KONSUMSI EKSTRAK CURCUMA AERUGINOSA TERHADAP PERUBAHAN LOCHEA PADA IBU POSTPARTUM	Penelitian Dosen Pemula	Baru
073128	STIKES Karya Husada Kediri	0725078801	DINTYA IVANTARINA	Hubungan Preeklamsi dengan Kejadian Asfiksia Neonatorum di RSUD Kabupaten Kediri tahun 2015	Penelitian Dosen Pemula	Baru



KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
KOORDINASI PERGURUAN TINGGI SWASTA
WILAYAH VII

Jl. Dr. Ir. H. Soekarno No. 177 Surabaya 60117
telp. (031) 5925418, 5925419, 5947473; fax. (031) 5947479
laman : www.kopertis7.go.id surel : info@kopertis7.go.id

ASLI

**SURAT PERJANJIAN PELAKSANAAN HIBAH
PENELITIAN BAGI DOSEN PERGURUAN TINGGI SWASTA KOPERTIS WILAYAH VII
TAHUN ANGGARAN 2015
Nomor : 088/SP2H/P/K7/KM/2015**

Pada hari ini Kamis tanggal Dua bulan April tahun Dua Ribu Lima Belas, kami yang bertandatangan dibawah ini :

1. Prof. Dr. Ir. Suprpto, DEA. : Koordinator Kopertis Wilayah VII Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan yang berkedudukan di Surabaya berdasarkan Surat Keputusan Menteri Pendidikan dan Kebudayaan Republik Indonesia Nomor A4/KP/2014 tanggal 18 September 2014 untuk selanjutnya disebut **PIHAK PERTAMA**;
2. Dr. Sandu Siyoto., S.Sos., SKM., M.Kes : Ketua STIKES Surya Mitra Husada yang berkedudukan di Kediri dalam hal ini bertindak untuk dan atas nama Perguruan Tinggi tersebut untuk selanjutnya disebut **PIHAK KEDUA**.

Perjanjian penugasan ini berdasarkan kepada :

1. Undang-Undang Republik Indonesia Nomor 17 Tahun 2003, tentang Keuangan Negara.
2. Undang-Undang Republik Indonesia Nomor 20 Tahun 2003, tentang Sistem Pendidikan Nasional.
3. Undang-Undang Republik Indonesia Nomor 01 Tahun 2004, tentang Perbendaharaan Negara.
4. Undang-Undang Republik Indonesia Nomor 15 Tahun 2004, tentang Pemeriksaan dan Tanggung Jawab Keuangan Negara.
5. Peraturan Presiden Nomor 47 Tahun 2009, tentang Pembentukan dan Organisasi Kementerian Negara.
6. Undang-Undang Republik Indonesia Nomor 12 Tahun 2012 tentang Pendidikan Tinggi.
7. Peraturan Menteri Pendidikan dan Kebudayaan Republik Indonesia Nomor 1 Tahun 2012, tentang Organisasi dan Tata Kerja Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan.
8. Keputusan Menteri Pendidikan dan Kebudayaan Nomor 204427/A.A3/KU/2013 tentang Pejabat Perbendaharaan pada Direktorat Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan Tahun Anggaran 2014.
9. Surat Direktur Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Ditjen Dikti Kemdikbud Nomor 0101/E.5.3/PE/2015 tanggal 19 Januari 2015 Perihal Pengumuman Penerima Hibah Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Tahun 2015 Batch 1;
10. Surat Direktur Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Ditjen Dikti Kemdikbud Nomor 0167/E.5.1/PE/2015 tanggal 27 Januari 2015 Perihal Pengumuman Penerima Hibah Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Tahun 2015 Batch 2;
11. DIPA Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Tahun Anggaran 2015 Nomor SP DIPA-023.04.1.673453/2015 Revisi 01 tanggal 03 Maret 2015.



KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
 KOORDINASI PERGURUAN TINGGI SWASTA
 WILAYAH VII

Jl. Dr. Ir. H. Soekarno No. 177 Surabaya 60117
 Telp. (031) 5925418, 5925419, 5947473; Fax. (031) 5947479
 Laman : www.kopertis7.go.id Email : info@kopertis7.go.id

BERITA ACARA PEMBAYARAN
 Nomor : BA088/BAP1/P/K7/KM/2015

ASLI

Pada hari ini Kamis tanggal Enam Belas bulan April tahun Dua Ribu Lima Belas yang bertanda tangan dibawah ini :

1. Nama : Prof. Dr. Ali Maksum
 NIP. : 19690514 199403 1 002
 Jabatan : Pejabat Pembuat Komitmen Kantor Kopertis Wilayah VII
 Alamat : Jalan Dr. Ir. H. Soekarno No. 177 Surabaya

Dalam hal ini bertindak dan atas nama Koordinasi Perguruan Tinggi Swasta Wilayah VII, Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan, dalam Berita Acara pembayaran ini selanjutnya disebut sebagai **PIHAK PERTAMA**.

2. Nama : Dr. Sandu Siyoto., S.Sos., SKM., M.Kes
 Jabatan : STIKES Surya Mitra Husada
 NPWP : 02.297.815.9-622.000
 Alamat : Jl. Manila No. 37

Dalam hal ini bertindak untuk dan atas nama **STIKES Surya Mitra Husada** yang selanjutnya dalam Berita Acara Pembayaran ini disebut sebagai **PIHAK KEDUA**.

- A. Berdasarkan :
- | | |
|----------------------|--|
| No. dan tanggal DIPA | : SP DIPA-023.04.1.673453/2015 Revisi 01 tanggal 03 Maret 2015 |
| No. dan tanggal SP2H | : 088/SP2H/P/K7/KM/2015, tanggal 2 April 2015 |
| Nilai SP2H | : Rp110.950.000,- |
| | (Seratus sepuluh juta sembilan ratus lima puluh ribu rupiah) |
| Uraian Pekerjaan | : Biaya Pelaksanaan Penugasan Hibah Penelitian Bagi Dosen Tahun 2015 |

- B. Berdasarkan Surat Perjanjian Penugasan Pelaksanaan Hibah Penelitian tersebut, maka **PIHAK KEDUA** berhak menerima pembayaran dari **PIHAK PERTAMA** dengan rincian sebagai berikut :
- | | |
|--|---------------------|
| 1. Pembayaran | : Pertama 70% |
| 2. Perhitungan Pembayaran | |
| a. Jumlah pembayaran fisik pada BAP ini 70 % | Rp. Rp110.950.000,- |
| b. Jumlah pembayaran fisik pada BAP lalu | Rp. - (+) |
| c. Jumlah pembayaran fisik s.d. BAP ini | Rp. Rp110.950.000,- |

PIHAK KEDUA setuju atas jumlah pembayaran tersebut diatas dan dibayarkan melalui **BNT46**, nomor rekening **0335052039** Atas nama **LPPM STIKES SURYA MITRA HUSADA KEDIRI**.

Berita Acara ini dibuat rangkap 2 (dua) untuk dipergunakan sesuai dengan keperluan.



PIHAK PERTAMA

Prof. Dr. Ali Maksum
 NIP. 196905141994031002



Dr. Sandu Siyoto., S.Sos., SKM., M.Kes



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
KOORDINASI PERGURUAN TINGGI SWASTA
WILAYAH VII

Jl. Dr. Ir. H. Soekarno No. 177 Surabaya 60117
Telp. (031) 5925418, 5925419, 5947473 Fax. (031) 5947479
Laman www.kopertis7.go.id Email : info@kopertis7.go.id

ASLI

SURAT PERJANJIAN PELAKSANAAN PENUGASAN
PENELITIAN BAGI DOSEN PERGURUAN TINGGI SWASTA KOPERTIS WILAYAH VII
TAHUN ANGGARAN 2016
Nomor : 098/SP2H/P/K7/KM/2016

Pada hari ini **Senin** tanggal **Dua Puluh Lima** bulan **April** tahun **Dua Ribu Enam Belas**, kami yang bertandatangan dibawah ini :

1. **Prof. Dr. Ir. Suprpto, DEA.** : Koordinator Kopertis Wilayah VII Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi yang berkedudukan di Surabaya berdasarkan Surat Keputusan Menteri Pendidikan dan Kebudayaan Republik Indonesia Nomor A4/KP/2014 tanggal 18 September 2014 untuk selanjutnya disebut **PIHAK PERTAMA**;
2. **Dr. Sandu Siyoto., S.Sos., SKM., M.Kes** : **Ketua STIKES Surya Mitra Husada** yang berkedudukan di Kediri dalam hal ini bertindak untuk dan atas nama Perguruan Tinggi tersebut untuk selanjutnya disebut **PIHAK KEDUA**.

Perjanjian penugasan ini berdasarkan kepada :

1. Undang-Undang Republik Indonesia Nomor 17 Tahun 2003, tentang Keuangan Negara.
2. Undang-Undang Republik Indonesia Nomor 20 Tahun 2003, tentang Sistem Pendidikan Nasional.
3. Undang-Undang Republik Indonesia Nomor 01 Tahun 2004, tentang Perbendaharaan Negara.
4. Undang-Undang Republik Indonesia Nomor 15 Tahun 2004, tentang Pemeriksaan dan Tanggung Jawab Keuangan Negara.
5. Peraturan Presiden Nomor 47 Tahun 2009, tentang Pembentukan dan Organisasi Kementerian Negara.
6. Undang-Undang Republik Indonesia Nomor 12 Tahun 2012 tentang Pendidikan Tinggi.
7. Peraturan Menteri Pendidikan dan Kebudayaan Republik Indonesia Nomor 1 Tahun 2012, tentang Organisasi dan Tata Kerja Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan.
8. Keputusan Menteri Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi Republik Indonesia Nomor 698/M/Kp/XIII/2015, tentang Pejabat Perbendaharaan Pada Direktorat Jenderal Penguatan Riset dan Pengembangan Tahun Anggaran 2016.
9. Keputusan Direktur Jenderal Penguatan Riset dan Pengembangan Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi Republik Indonesia Nomor 15/E/KPT/2016 tentang Penerima Penugasan Riset dan Pengabdian Masyarakat.
10. Keputusan Direktur Jenderal Penguatan Riset dan Pengembangan Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi Republik Indonesia Nomor 16/E/KPT/2016 tentang Penerima Penugasan Riset Tahun 2016.
11. DIPA Direktorat Jenderal Penguatan Riset dan Pengembangan Tahun Anggaran 2016 Nomor SP DIPA 023.04.1.673453/2016 Revisi 01 tanggal 03 Maret 2016.
12. Seluruh peraturan keuangan mengacu pada ketentuan berlaku.
13. Surat Direktur Riset dan Pengabdian Kepada Masyarakat Nomor 0229/E3/2016 tanggal 27 Januari 2016 Perihal Pengumuman Penerima Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Tahun 2016 Gelombang 1;
14. Surat Direktur Riset dan Pengabdian Kepada Masyarakat Nomor 0581/E3/2016 tanggal 24 Februari 2016 Perihal Penerima Penugasan Penelitian Perguruan Tinggi Tahun 2016 Gelombang 2;
15. Surat Perjanjian Penugasan Dalam Rangka Pelaksanaan Program Penelitian Tahun Anggaran 2016 Nomor 007/SP2H/LT/DRPM/II/2016, tanggal 17 Februari 2016.
16. Surat Perjanjian Penugasan Dalam Rangka Pelaksanaan Program Penelitian Tahun Anggaran 2016 Nomor 218/SP2H/LT/DRPM/III/2016, tanggal 10 Maret 2016.



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
KOORDINASI PERGURUAN TINGGI SWASTA
WILAYAH VII

Jl. Dr. Ir. H. Soekarno No. 177 Surabaya 60117
Telp. (031) 5925418, 5925419, 5947473 Fax. (031) 5947479
Laman www.kopertis7.go.id Email : info@kopertis7.go.id

BERITA ACARA PEMBAYARAN

Nomor : **BA70.098/BAP/P/K7/KM/2016**

Pada hari ini Senin tanggal Dua Puluh Lima bulan April tahun Dua Ribu Enam Belas, kami yang bertandatangan dibawah ini:

1. Nama : Prof. Dr. Ali Maksam
NIP. : 19690514 199403 1 002
Jabatan : Pejabat Pembuat Komitmen Kantor Kopertis Wilayah VII
Alamat : Jalan Dr. Ir. H. Soekarno No. 177 Surabaya

Dalam hal ini bertindak dan atas nama Koordinasi Perguruan Tinggi Swasta Wilayah VII, Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi, dalam Berita Acara pembayaran ini selanjutnya disebut sebagai **PIHAK PERTAMA**.

2. Nama : **Dr. Sandu Siyoto., S.Sos., SKM., M.Kes**
Jabatan : **STIKES Surya Mitra Husada**
NPWP : **02.297.815.9-622.000**
Alamat : **Jl. Manila No. 37**

Dalam hal ini bertindak untuk dan atas nama **Ketua STIKES Surya Mitra Husada** yang selanjutnya dalam Berita Acara Pembayaran ini disebut sebagai **PIHAK KEDUA**.

A. Berdasarkan :

- No. dan tanggal DIPA : SP DIPA 023.04.1.673453/2016 Revisi 01 tanggal 03 Maret 2016
No. dan tanggal SP2H : 098/SP2H/P/K7/KM/2016, tanggal 25 April 2016
Nilai SP2H : **Rp. 59,360,000**
(lima puluh sembilan juta tiga ratus enam puluh ribu rupiah)
Uraian Pekerjaan : Biaya Pelaksanaan Penugasan Hibah Penelitian Bagi Dosen Tahun 2016

B. Berdasarkan Surat Penjanjian Penugasan Pelaksanaan Hibah Penelitian tersebut, maka **PIHAK KEDUA** berhak menerima pembayaran dari **PIHAK PERTAMA** dengan rincian sebagai berikut :

1. Pembayaran : Pertama 70%
2. Perhitungan Pembayaran
a. Jumlah pembayaran fisik pada BAP ini 70 % Rp. 59,360,000,-
b. Jumlah pembayaran fisik pada BAP lalu Rp. - (+)
c. Jumlah pembayaran fisik s.d. BAP ini Rp. 59,360,000,-

PIHAK KEDUA setuju atas jumlah pembayaran tersebut diatas dan dibayarkan melalui BNI 46, nomor rekening 0335052039 Atas nama **LPPM STIKES SURYA MITRA HUSADA KEDIRI**.

Berita Acara ini dibuat rangkap 2 (dua) untuk dipergunakan sesuai dengan keperluan.





REPUBLIK INDONESIA
KEMENTERIAN HUKUM DAN HAK ASASI MANUSIA

SURAT PENCATATAN CIPTAAN

Dalam rangka perlindungan ciptaan di bidang ilmu pengetahuan, seni dan sastra berdasarkan Undang-Undang Nomor 28 Tahun 2014 tentang Hak Cipta, dengan ini menerangkan:

Nomor dan tanggal permohonan : EC00201808817, 11 April 2018

Pencipta

Nama : **Dr. Yuly Peristiwati, S.Kep.Ns., M.Kes, Ns. Yenny Puspitasari, S.Kep., M.Kes, dkk**
Alamat : Jl. KH. Wakhid Hasyim Bandar Lor Gang III No. 6, Kediri, Jawa Timur, 64114
Kewarganegaraan : Indonesia

Pemegang Hak Cipta

Nama : **Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Surya Mitra Husada**
Alamat : Jalan Manila No. 37 Sumberece, Kediri, Jawa Timur, 64133
Kewarganegaraan : Indonesia
Jenis Ciptaan : **Buku**
Judul Ciptaan : **Potensi Daun Pepaya Dalam Menjaga Kesehatan Reproduksi Wanita**
Tanggal dan tempat diumumkan untuk pertama kali di wilayah Indonesia atau di luar wilayah Indonesia : 14 Maret 2018, di Kediri
Jangka waktu perlindungan : Berlaku selama 50 (lima puluh) tahun sejak Ciptaan tersebut pertama kali dilakukan Pengumuman.
Nomor pencatatan : 000105353

adalah benar berdasarkan keterangan yang diberikan oleh Pemohon.
Surat Pencatatan Hak Cipta atau produk Hak terkait ini sesuai dengan Pasal 72 Undang-Undang Nomor 28 Tahun 2014 tentang Hak Cipta.



a.n. MENTERI HUKUM DAN HAK ASASI MANUSIA
DIREKTUR JENDERAL KEKAYAAN INTELEKTUAL

Dr. Freddy Harris, S.H., LL.M., ACCS.
NIP. 196611181994031001

