

**UJI AKTIVITAS ANTIANGIOGENESIS EKSTRAK BIJI  
JINTAN HITAM (*Nigella sativa*) TERHADAP SEL PMN  
JARINGAN MEMBRAN KORIOALANTOIS TELUR AYAM  
BEREMBRIO DIINDUKSI bFGF**



**STELLA CALISTA PARAMITHA**

**2443013041**

**PROGRAM STUDI S1  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS KATOLIK WIDYA MANDALA SURABAYA  
2017**

**UJI AKTIVITAS ANTIANGIOGENESIS EKSTRAK BIJI JINTAN  
HITAM (*Nigella sativa*) TERHADAP SEL PMN JARINGAN  
MEMBRAN KORIOALANTOIS TELUR AYAM BEREMBRIO  
DIINDUKSI bFGF**

**SKRIPSI**

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

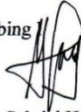
**OLEH :**

**STELLA CALISTA PARAMITHA**

**2443013041**

Telah disetujui pada tanggal 30 Mei 2017 dan dinyatakan **LULUS**

Pembimbing I



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

Pembimbing II



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

Mengetahui,  
Ketua Penguji



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

**LEMBAR PERSETUJUAN  
PUBLIKASI KARYA ILMIAH**

Demi perkembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui skripsi/karya ilmiah saya, dengan judul : **Uji Aktivitas Antiangiogenesis Ekstrak Biji Jintan Hitam (*Nigella sativa*) Terhadap Sel PMN Jaringan Membran Korioalantois Telur Ayam Berembrio Diinduksi bFGF** untuk dipublikasikan atau ditampilkan di internet atau media lain yaitu *Digital Library* Perpustakaan Unika Widya Mandala Surabaya untuk kepentingan akademik sebatas sesuai dengan Undang – Undang Hak Cipta. Demikian pernyataan persetujuan publikasi karya ilmiah ini saya buat dengan sebenarnya.

Surabaya, 25 Juli 2017



Stella Calista Paramitha

2443013041

Saya menyatakan dengan sesungguhnya bahwa hasil tugas akhir ini adalah benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri. Apabila di kemudian hari diketahui bahwa skripsi ini merupakan hasil plagiarisme, maka saya bersedia menerima sanksi berupa pembatalan kelulusan dan atau pencabutan gelar yang saya peroleh.

Surabaya, 25 Juli 2017



Stella Calista Paramitha

2443013041

## ABSTRAK

### UJI AKTIVITAS ANTIANGIOGENESIS EKSTRAK BIJI JINTAN HITAM (*Nigella sativa*) TERHADAP SEL PMN JARINGAN MEMBRAN KORIOALANTOIS TELUR AYAM BEREMBRIO DIINDUKSI bFGF

STELLA CALISTA PARAMITHA  
2443013041

Kanker merupakan pertumbuhan sel yang tidak terkendali, sehingga memicu terbentuknya pembuluh darah baru atau angiogenesis. Angiogenesis berperan memasok nutrisi dan oksigen untuk mempercepat penyebaran sel kanker ke jaringan sekitarnya. Ekstrak biji jintan hitam mengandung senyawa aktif *thymoquinone* yang memiliki aktivitas antikanker melalui mekanisme penghambatan COX-2 yaitu menekan proliferasi, meningkatkan apoptosis serta mengurangi angiogenesis. Tujuan penelitian adalah untuk membuktikan aktivitas antiangiogenesis dan mengetahui dosis optimal ekstrak biji jintan hitam yang efektif menurunkan jumlah sel PMN pada membran korioalantois telur ayam berembrio yang diinduksi bFGF. Subjek penelitian menggunakan 24 butir Telur Ayam Berembrio (TAB) berumur 9 hari dengan 6 kelompok perlakuan, masing-masing kelompok perlakuan menggunakan 4 butir telur. Kelompok uji I menggunakan ekstrak biji jintan hitam dosis 75 $\mu$ g, kelompok uji II menggunakan ekstrak biji jintan hitam dosis 90 $\mu$ g, kelompok uji III menggunakan ekstrak biji jintan hitam dosis 110 $\mu$ g, kelompok uji IV menggunakan Celecoxib dengan dosis 60mg, kelompok K (+) menggunakan bFGF, kelompok K (-) menggunakan Tris-HCl. Telur diberi larutan uji dengan cara implantasi ke dalam membran korioalantois melalui lubang di atas posisi embrio. Hasil rata-rata jumlah sel PMN tertinggi terdapat pada kelompok K (+) (17,25 $\pm$ 1,61) kemudian dilanjutkan kelompok uji I (11,50 $\pm$ 0,66) dan kelompok uji II (9,85 $\pm$ 0,19), kelompok uji III (3,65 $\pm$ 0,50), kelompok uji IV (8,10 $\pm$ 0,73). Hasil yang paling mendekati kelompok K (-) (20,00  $\pm$  4,69) adalah kelompok uji III (3,65 $\pm$ 0,50). Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak biji jintan hitam dosis 110  $\mu$ g mampu menurunkan jumlah sel PMN lebih tinggi dibandingkan pemberian ekstrak biji jintan hitam dosis 75 $\mu$ g, 90 $\mu$ g dan Celecoxib.

**Kata kunci:** Angiogenesis, Ekstrak biji jintan hitam, Membran korioalantois, sel PMN, bFGF.

## ABSTRACT

### **ANTIANGIOGENESIS ACTIVITY TEST OF BLACK CUMIN (*Nigella sativa*) EXTRACT AGAINST PMN TISSUE CELL OF CHORIOALLANTOIC MEMBRANE OF bFGF-INDUCED EMBRYONATED CHICKEN EGG**

**STELLA CALISTA PARAMITHA  
2443013041**

Cancer is an uncontrolled cell growth that triggers the formation of new blood vessels (angiogenesis) acting to supply nutrition and oxygen there by precipitating the spread of cancer cells into the surrounding tissue. Black Cumin extract has an active compounds like thymoquinone which has an anticancer activity by mechanism to inhibit COX-2 that suppresses poliferation, increases apoptosis as well as reducing angiogenesis. The purpose of this study was to determine the effect and optimal dose of Black Cumin extract on the number of PMN cell CAM induced by bFGF. Subjects of this research were 24 embryonated chicken eggs which were 9 days old and divided into 6 groups, each group using 4 eggs. Group I was administrated with Black Cumin extract dose of 75µg, Group II with Black Cumin extract dose of 90µg, Group III was a Black Cumin extract dose of 110µg, Group IV was a Celecoxib dose 60mg, Group K(+) was bFGF and Group K(-) was Tris-HCl. Eggs was given the test solution by implantation into the chorioallantoic membrane through the hole above the embryo. The result of this research, showed that the highest number of PMN cells was found in the positive control group (17.25±1.61). The proceeding groups: I (11.50±0.66), group II (9.85±0.19), group III (3.65±0.50), group IV (8.10±0.73). The result of group III (3.65±0.50) had the closest result with the negative control group (20.00±4.69). Based on this study it could be concluded that Black Cumin extract dose 110µg was able to decrease the number of PMN cells compared with Black Cumin extract dose 75µg, 90µg, and Celecoxib.

**Keywords:** Angiogenesis, Black cumin extract, Chorioallantoic membrane (CAM), PMN cell, bFGF.

## KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa atas rahmat dan karunia-Nya sehingga skripsi yang berjudul **“Uji Aktivitas Antiangiogenesis Ekstrak Biji Jintan Hitam (*Nigella Sativa*) terhadap Sel Jaringan PMN membran Korioalantois Telur Ayam Berembrio Diinduksi bFGF”** dapat terselesaikan dengan baik. Skripsi ini disusun dan diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi di Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.

Skripsi ini dapat terselesaikan karena bantuan, bimbingan, serta dukungan dari berbagai pihak baik moril, materil maupun spiritual. Dalam kesempatan ini, dengan segala syukur saya sampaikan rasa terimakasih yang sebesar – besarnya kepada:

1. Allah Tritunggal Mahakudus dan Bunda Maria yang telah menyertai dan memberkati saya dari awal hingga akhir penyusunan skripsi ini,
2. Papa Tono Djanio Kusno, Mama Anatri Puji Wahyuni, dan adik pennulis Antonius Fajar Adinegoro serta seluruh keluarga besar yang telah memberi dukungan baik materil maupun moril serta semangat yang luar biasa kepada penulis sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik dan tepat pada waktunya,
3. Kuncoro Foe, Ph.D., G. Dip. Sc., Drs., Apt selaku Rektor Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya dan selaku penasehat akademik ,yang dengan kasih dan penuh kesabaran memberikan dukungan hingga terselesaikannya seluruh proses perkuliahan dan terselesaikannya skripsi ini ,
4. Sumi Wijaya, S.Si., Ph.D., Apt., selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya atas kesempatan

yang diberikan untuk menempuh pendidikan di Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.

5. Dr. Iwan Sahrial Hamid, M.Si., drh., selaku pembimbing I dan Angelica Kresnamurti, M.Farm., Apt. selaku pembimbing II atas waktu, bimbingan, pengertian, kesabaran, dukungan dan ilmu yang telah diberikan selama ini hingga terselesaikannya skripsi ini,
6. Suryo Kuncorojakti, M.Vet., drh., selaku ketua penguji dan Elisabeth Kasih, S.Farm., M.Farm.Klin., Apt., selaku penguji yang telah memberikan masukan dan saran untuk penyelesaian skripsi ini,
7. Seluruh dosen pengajar di Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala atas ilmu dan pengetahuan yang telah diberikan kepada penulis selama ini,
8. Staf Tata Usaha Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala yang telah memberikan bantuan untuk keberlangsungan kegiatan pembelajaran ,
9. Kepada semua laboran di Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala terutama kepada Bapak Dwi, bapak Anang, Bapak Ari, Bapak Tri yang telah membantu dalam peminjaman alat pada saat pengerjaan skripsi ini
10. "*Geng Telur*" yang merupakan teman seperjuangan dalam proses pengerjaan skripsi yang terdiri dari Antonius Erdi Malutama, Elisabeth Kristin Yuliana, Bernardus D.L.T.K, Abert Sebastian Gani yang telah berjuang bersama-sama untuk menyelesaikan skripsi ini,
11. Kakak-Kakak Tim Angiogenesis yang terdiri dari Celerina Ese, Devian Rismadayanti, Frisna Sihombing, dan Indra Utama yang



selalu mendukung, membantu dan memberikan semangat kepada penulis,

12. Sahabat saya Felicia Wicaksana yang selalu memberikan dukungan, doa dan semangat yang luar biasa kepada penulis,
13. Sahabat seperjuangan dalam proses perkuliahan Maria Yosevine K.P.S, Elisabeth Kristin, Debora Agustina, Maria Anabella Jessica, Yunesri Tungga, Ivana Gracita, Novilia Christine Lae, Nofalia, dan Adytya Dewanti yang selalu mendukung, membantu, dan memberikan semangat kepada penulis,
14. Semua pihak yang telah membantu dalam pengerjaan skripsi ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu – persatu.

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

Mengingat bahwa skripsi ini jauh dari kata sempurna sehingga sangat diharapkan kritik dan saran dari semua pihak agar dapat memberikan manfaat bagi kepentingan masyarakat luar khususnya bagi penderita kanker.

Surabaya, 30 Mei 2017

Penulis

## DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK .....	i
<i>ABSTRACT</i> .....	ii
KATA PENGANTAR.....	iii
DAFTAR ISI .....	vi
DAFTAR GAMBAR.....	viii
DAFTAR TABEL .....	ix
DAFTAR LAMPIRAN .....	x
DAFTAR SINGKATAN.....	xi
BAB 1. PENDAHULUAN	
1.1 . Latar Belakang .....	1
1.2. Rumusan Masalah .....	7
1.3. Tujuan Penelitian.....	7
1.4. Hipotesis Penelitian.....	7
1.5. Manfaat Penelitian.....	8
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1. Tinjauan Tentang Jintan Hitam.....	9
2.2. Parameter – Parameter Standart Ekstrak.....	12
2.3. Skrining Fitokimia.....	15
2.4. Metode Ekstraksi.....	18
2.5. Tinjauan Tentang Kanker.....	20
2.6. Angiogenesis pada Kanker.....	22
2.7. Obat Anti Kanker.....	28
2.8. Faktor Angiogenik.....	33

	Halaman
2.9. Tinjauan Tentang Membran Korioalantois Telur Ayam	
Berembrio sebagai Model Angiogenesis.....	34
2.10. Tinjauan Tentang Sel PMN .....	38
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN</b>	
3.1. Jenis Penelitian.....	45
3.2. Bahan dan Materi Penelitian .....	45
3.3. Metode Penelitian .....	47
3.4. Pembuatan Larutan Uji .....	53
3.5. Uji Antiangiogenesis .....	53
3.6. Rancangan Penelitian .....	58
3.7. Variabel Penelitian .....	59
3.8. Analisis Data .....	59
3.9. Skema Kerja.....	61
<b>BAB 4. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN</b>	
4.1. Hasil Penelitian .....	62
4.2. Pembahasan.....	74
<b>BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN</b>	
5.1. Kesimpulan .....	81
5.2. Saran .....	81
<b>BAB 6. DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>82</b>
<b>BAB 7. LAMPIRAN .....</b>	<b>94</b>

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1. Biji Jintan Hitam .....	10
2.2. Mekanisme Angiogenesis .....	25
2.3. Angiogenesis pada Kanker.....	28
2.4. Struktur senyawa celecoxib.....	31
2.5. Pengamatan makroskopis aktivitas ekstrak daun <i>Gynura Procumbens</i> pada CAM TAB.....	36
2.6. Hasil Pengamatan Sel PMN .....	39
2.7. Neutrofil polimorfonuklear .....	41
2.8. Eosinofil polimorfonuklear .....	43
2.9. Basofil polimorfonuklear.....	44
3.1. Alur penelitian yang sistematis dari preparasi ekstrak bahan uji hingga pengamatan hasil perlakuan pada setiap kelompok.....	61
4.1. Makroskopis biji jintan hitam.....	62
4.2. Serbuk simplisia biji jintan hitam .....	63
4.3. Ekstrak kental biji jintan hitam .....	65
4.4. Diagram batang efek pemberiann ekstrak biji jintan hitam dan celecoxib.....	71
4.5. Hasil Pengamatan Rata – rata Efek Pemberian Biji Jintan Hitam Celecoxib terhadap Jumlah Sel PMN pada Setiap Kelompok Perlakuan.....	73

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
4.1. Hasil Pengamatan Makroskopis Biji Jintan Hitam.....	62
4.2. Hasil Standarisasi Serbuk Biji Jintan Hitam.....	64
4.3. Hasil Standarisasi Ekstrak Etanol Biji Jintan Hitam.....	66
4.4. Hasil Skrining Ekstrak Etanol Biji Jintan Hitam .....	66
4.5. Hasil Pengamatan Rata – rata Efek Pemberian Biji Jintan Hitam dan Celecoxib terhadap Jumlah Sel PMN pada Setiap Kelompok Perlakuan .....	68
4.6. Hasil Persentase penurunan Efek pemberian Biji Jintan Hitam dan Celecoxib terhadap Jumlah sel PMN pada Setiap Kelompok Perlakuan.....	69

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
A. Tabel hasil Pengamatan Jumlah Sel PMN Secara Mikroskopis.....	94
B. Output Statistik Perhitungan Jumlah Sel PMN.....	95
C. Dokumentasi Alat dan Bahan.....	98
D. Perhitungan Bahan untuk Implantasi TAB .....	104
E. Perhitungan Rendemen Ekstraksi.....	106
F. Perhitungan Pemeriksaan Karakterisasi Biji Jintan Hitam ( <i>Nigella Sativa</i> ).....	107
G. Lokasi Penelitian.....	115
H. Proses Pembuatan Preparat Histopatologi.....	116
I. Surat Keterangan Identifikasi.....	121

## DAFTAR SINGKATAN

AINS	= Anti inflamasi non steroid
ANOVA	= Analisis of Varians
bFGF	= basic Fibroblast Growth Factor
CAM	= Chorioallantoic Membrane
COX-1	= Cyclooxygenase-1/Siklooksigenase-1
COX-2	= Cyclooxygenase-2/Siklooksigenase-2
CYP	= Sitokrom P450
DirJen POM	= Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan
DepKes	= Departemen Kesehatan
DMSO	= Dimethyl Sulfoxide
DNA	= Deoxyribonucleic Acid
EC	= Endothelial Cell
ECM	= Extra Cellular Matrix
EGF	= Epidermal Growth Factor
FGF	= Fibroblast Growth Factor
FGF-2	= Fibroblast Growth Factor-2
5-FU	= 5-Fluorouracil/5-Fluorourasil
HE	= Hematoksilin dan Eosin
IgE	= Immunoglobulin E
IL-1	= Interleukin 1
IL-6	= Interleukin 6
IL-1 $\beta$	= Interleukin-1 $\beta$
KCKT	= Kromatografi Cair Kinerja Tinggi
KLT	= Kromatografi Lapis Tipis
<i>mRNA</i>	= Messenger Ribonucleic Acid
MMPs	= Matrix Metalo Proteinases

NSAID	= Non-Steroid Anti-Inflamasi Drug
PDGF	= Platelet Derived Growth Factor
PD-ECGF	= Platelet –derived Endhotelial Cell Growth Factor
PG	= Prostaglandin
PGE	= Prostaglandin E2
PLGF	= Placental Growth Factor
PMN	= Polimorfonuklear
Pusvetma	= Pusat Veterania Farma
SPF	= Specific Pathogen Free
TAB	= Telur Ayam Berembrio
TGF	= Transforming Growth Factor
TNF- $\alpha$	= Tumor Necrosis Factor
TGF- $\beta$	= Transforming Growth Factor Beta
uPA	= urokinase Plasminogen Activator
VEGF	= Vascular Endothelial Growth Factor
VPF	= Vascular Permeability Factor
WHO	= World Health Organization
$\mu\text{g}$	= Mikro Gram
$\mu\text{l}$	= Mikro Liter
ng	= Nano Gram