



LAPORAN AKHIR HIBAH PENELITIAN DRPTM

TERAPI SITOKININ TERHADAP KANKER SERVIKS MENGGUNAKAN  
BUAH ANDALIMAN (ZANTOXYLYM ACANTHAPODIUM) SEBAGAI  
BAHAN BAKU OBAT

DISUSUN OLEH

Dr. Rostime Hermayerni SImanullang, S.Kep Ns., M.Kes .NIDN: 0113097301 (Ketua)

Dr. Putri cahaya Situmorang, M.Si. NIDN: 0011129304 (Anggota )

Dr. dr. Jekson Martiar Siahaan, M.Biomed,. AIFO NIDN: 0112038501 (Anggota)



PROGRAM STUDI ILMU KEPERAWATAN  
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN MURNI TEGUH  
MEDAN  
2022

Pengisian poin C sampai dengan poin H mengikuti template berikut dan tidak dibatasi jumlah kata atau halaman namun disarankan ringkas mungkin. Dilarang menghapus/memodifikasi template ataupun menghapus penjelasan di setiap poin.

**C. HASIL PELAKSANAAN PENELITIAN:** Tuliskan secara ringkas hasil pelaksanaan penelitian yang telah dicapai sesuai tahun pelaksanaan penelitian. Penyajian meliputi data, hasil analisis, dan capaian luaran (wajib dan atau tambahan). Seluruh hasil atau capaian yang dilaporkan harus berkaitan dengan tahapan pelaksanaan penelitian sebagaimana direncanakan pada proposal. Penyajian data dapat berupa gambar, tabel, grafik, dan sejenisnya, serta analisis didukung dengan sumber pustaka primer yang relevan dan terkini.

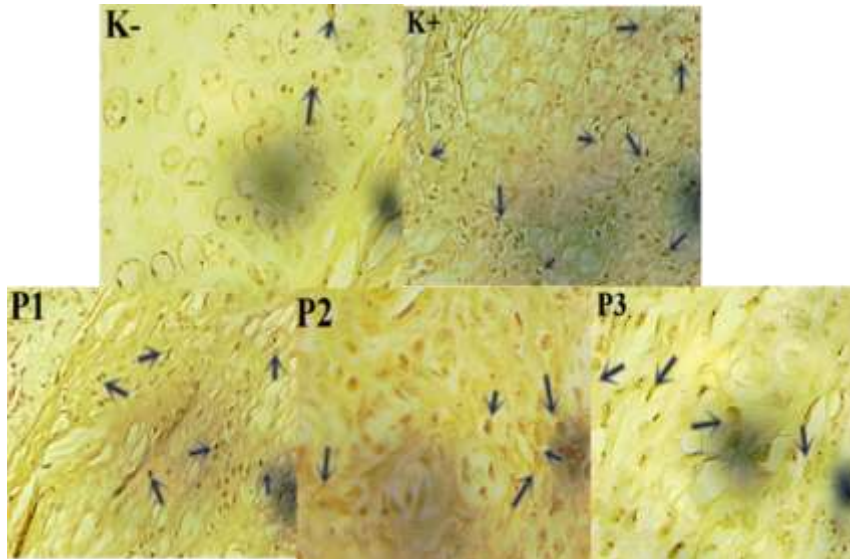
### 1. Pengaruh Andaliman pada Kanker Serviks Tikus (*Rattus novergicus*) dengan AgNOR

**Tabel 1.** Analisis Kruskal Wallis dan Mann-whitney dengan pewarnaan AgNOR pada jaringan kanker serviks tikus setelah pemberian ekstrak metanol buah andaliman

Kelompok	Mean Rank	Kruskal-Wallis	Mann-Whitney				
			K-	K+	P1	P2	P3
K-	4,10	0,000		0.009 <sup>b</sup>	0.009 <sup>c</sup>	0.009 <sup>d</sup>	0,142
K+	22,60				0.028 <sup>c</sup>	0.009 <sup>d</sup>	0.009 <sup>e</sup>
P1	18,40					0.009 <sup>d</sup>	0.009 <sup>e</sup>
P2	13,00						0.009 <sup>e</sup>
P3	6,90						

Keterangan: superskrip yang berbeda menunjukkan perberbedaan signifikan  $p= 0,000$  ( $p<0,05$ ). K(-): Kontrol negatif (tikus normal). K(+): Kontrol positif (Model tikus kanker serviks dengan BaP 50 mg/KgBB/0,5 ml minyak jagung). P1: Model tikus kanker + ekstrak metanol buah andaliman 100 mg/KgBB. P2: Model tikus kanker serviks + ekstrak metanol buah andalman 200 mg/KgBB. P3: Model tikus kanker serviks + ekstrak metanol buah andalman 400 mg/KgBB.

Berdasarkan analisis statistik dengan menggunakan uji Kruskal-Wallis pada sel kanker serviks dengan pewarnaan AgNOR yang diinduksi benzoapyren terdapat perbedaan yang signifikan  $p<0,000$ . Selanjutnya dilakukan uji *Mann-Whitney* untuk melihat perbedaan antar dua kelompok. Tidak ada perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol negatif dengan dosis andaliman 400 mg/kgBB (P3). Hal itu menunjukkan bahwa dosis tertinggi pada ekstrak metanol buah andaliman berpotensi untuk memperbaiki jaringan kanker serviks yang diwarnai dengan AgNOR atau hampir sama dengan kelompok kontrol negatif (K-) ((Tabel 1) dan Gambar 1). Sejalan dengan penelitian terdahulu menyatakan bahwa pewaranaan AgNOR merupakan alat diagnostik yang sangat direkomendasikan untuk melihat perubahan karakteristik morfologi jaringan yang dapat membedakan tumor jinak atau tumor ganas pada kanker payudara. AgNOR merupakan pewarnaan NOR yang berhubungan dengan protein, sesuai dengan multifikasi sel. Berdasarkan jumlah AgNOR per kista dapat menjadi marker yang baik terhadap terjadinya proliferasi sel dalam lesi kista agresif yang memiliki potensial keganasan (1,2) dan secara langsung peningkatan AgNOR secara progresif sebanding dengan meningkatnya proliferasi aktivitas sel-sel: cervik normal dan peradangan serviks tanpa dysplasia (3). Penghitungan AgNOR sangat membantu sebagai penanda terjadinya proliferasi sel, dimana dapat membantu diagnosis melalui papsmear untuk menentukan tahapan lesi serviks (4)(5) dan kanker payudara (6,7) serta adanya korelasi antara tingginya jumlah rata-rata AgNOR dengan HPV positif (8). AgNOR ini juga digunakan untuk melihat perubahan dari tumor jinak ke pre kanker dan ke tumor ganas (9).



**Gambar 1.** Histologi sel kanker serviks tikus pada pewarnaan AgNOR yang diinduksi dengan benzoapiren. K(-): Kontrol negatif (tikus normal). K(+): Kontrol positif (Model tikus kanker serviks dengan BaP 50 mg/KgBB/0,5 ml minyak jagung). P1: Model tikus kanker + ekstrak metanol buah andaliman 100 mg/KgBB. P2: Model tikus kanker serviks + ekstrak metanol buah andaliman 200 mg/KgBB. P3: Model tikus kanker serviks + ekstrak metanol buah andaliman 400 mg/KgBB. Panah kuning: ekspresi negatif, panah merah ekspresi positif.

Nayaka, 2020 menyatakan ekstrak famili *Zanthoxylum* dapat mengurangi dan berpotensi menghambat mikroorganisme dan sel kanker. Famili *Zanthoylum* dalam pewarnaan perak dapat menjadi agen anti kanker yang bernilai ekonomi di masa depan (3) dan Cao, 2019 menyatakan bahwa famili *Zanthoxylum* dapat mengurangi inflamasi pada sel endotel dan memperbaiki lesi sel yang akan menjadi kanker. Berdasarkan hal ini diduga bahwa kandungan andaliman yang merupakan famili zantoxylum dapat memperbaiki lesi sel dan mencegah pertumbuhan sel kanker (10,11).

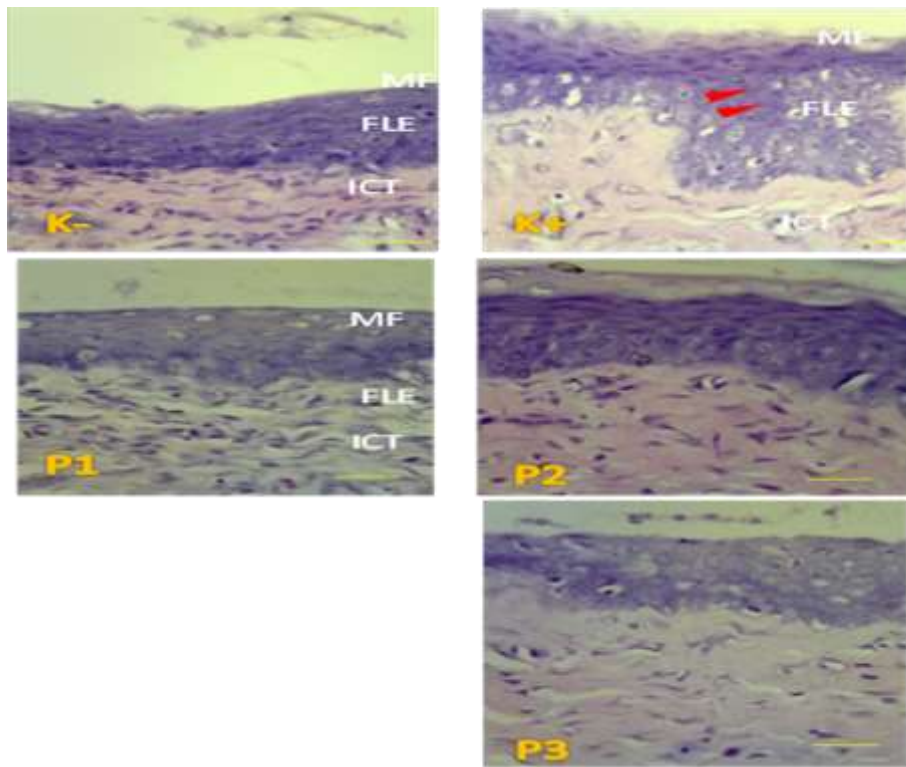
## 2. Pengaruh Andaliman pada kanker serviks dengan terhadap pewarnaan Haemotxylene-Eousin (HE)

Berdasarkan Gambar 2 pada jaringan kanker serviks terlihat bahwa jaringan serviks normal pada kelompok kontrol negatif (K-) memiliki lapisan mukosa normal, epitelium dan lapisan interstisial yang teratur. Jaringan servik pada umumnya dibungkus oleh epitelium skuamosa atau lapisan epitelium. Lapisan mukosa serviks terdiri dari kelenjar yang memproduksi mucus. Lapisan epitelium mengalami perubahan secara histologi. Namun induksi benzoapyren menyebabkan terjadinya insersi sel, rusaknya lapisan mukosa, hubungan antar sel yang menjauh dan terganggunya proses proliferasi pada lapisan epitelium pada kelompok kontrol positif (K+). Zat karsinogenik mengandung zat-zat yang memicu perkembangan sel-sel normal menjadi sel kanker seperti benzopyrene. Hal ini menyebabkan tumor di setiap hewan model percobaan melalui makanan, respirasi, atau kontak dengan permukaan kulit (12). Proses inisiasi karsinogenik benzopyrene dapat terjadi di bagian-bagian jaringan sekitar dan bahkan jaringan yang jauh dari titik paparan (13) (14).

Pada pemberian ekstrak metanol buah andaliman yang dimulai dari dosis terendah (100 mg/kgBB) menunjukkan lapisan mukosa mulai teratur dan lapisan epitelium sudah terstruktur walaupun jaringan interstisial belum sempurna. Ketika dosis ekstrak buah andaliman ditingkatkan (300 – 400 mg/kgBB), lapisan epitelium mengalami perubahan secara histologi, pematangan sel dan hubungan antar sel semakin rapat, jarang ditemui nukleus yang membesar dan jaringan sudah semakin membaik seperti kelompok kontrol negatif.

Sejalan dengan penelitian Natasutedja menyatakan bahwa kandungan molekul bioaktif ekstrak daun *Zanthoxylum acanthopodium* DC. merupakan terapi komplementer kemoterapi sebagai obat anti kanker (15). Begitu pula pada penelitian Epifano menyatakan bahwa senyawa kimia kandungan Zantoxylum merupakan anti-kanker karena mampu mencegah perkembangan sel-sel pada kanker (16). Ekstrak etanol buah andaliman memiliki aktivitas sebagai anti kanker (17) dan sangat poten untuk menghambat proliferasi sel MCF7 pada kanker payudara (18). Ekstrak minyak buah, kulit dan daun *Zanthoxylum* memiliki potensi sitotoksik pada kanker payudara dan kolorektal manusia melalui mekanisme apoptosis sehingga tanaman ini dapat dikembangkan sebagai obat anti kanker (19). Ekstrak hidroetanolik dari batang *Zanthoxylum* menunjukkan adanya hambatan terhadap lipid peroksidasi dan proliferasi sel sehingga tanaman ini dapat memiliki

kemampuan sebagai aktivitas anti tumor pada kanker payudara tikus (20,21). Kandungan senyawa bioaktif alkaloid Zanthoxylum dapat menghambat aktivitas proliferasi sel sehingga memiliki potensi kuat sebagai anti kanker yang perlu dikembangkan (20,22,23).



**Gambar 2.** Histologi jaringan serviks dengan pewarnaan Haematoxylin Eosin (HE) staining (400x magnification), K(-): Kontrol negatif (tikus normal). K(+): Kontrol positif (Model tikus kanker serviks dengan BaP 50 mg/KgBB/0,5 ml minyak jagung). P1: Model tikus kanker + ekstrak metanol buah andaliman 100 mg/KgBB. P2: Model tikus kanker serviks + ekstrak metanol buah andaliman 200 mg/KgBB. P3: Model tikus kanker serviks + ekstrak metanol buah andaliman 400 mg/KgBB. MF: Lipatan mukus, FLE: Lapisan gepeng epitalium, ICT: Jaringan interstisial. Panah merah: Jaringan kanker, Garis kuning: 200  $\mu$ m.

### 3. Pengaruh Andaliman terhadap Ekspresi CDK4 pada kanker serviks tikus

**Tabel 2** Analisis Kruskal Wallis dan Mann-whitney ekspresi CDK4 pada jaringan kanker servik tikus setelah pemberian ekstrak metanol buah andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium*)

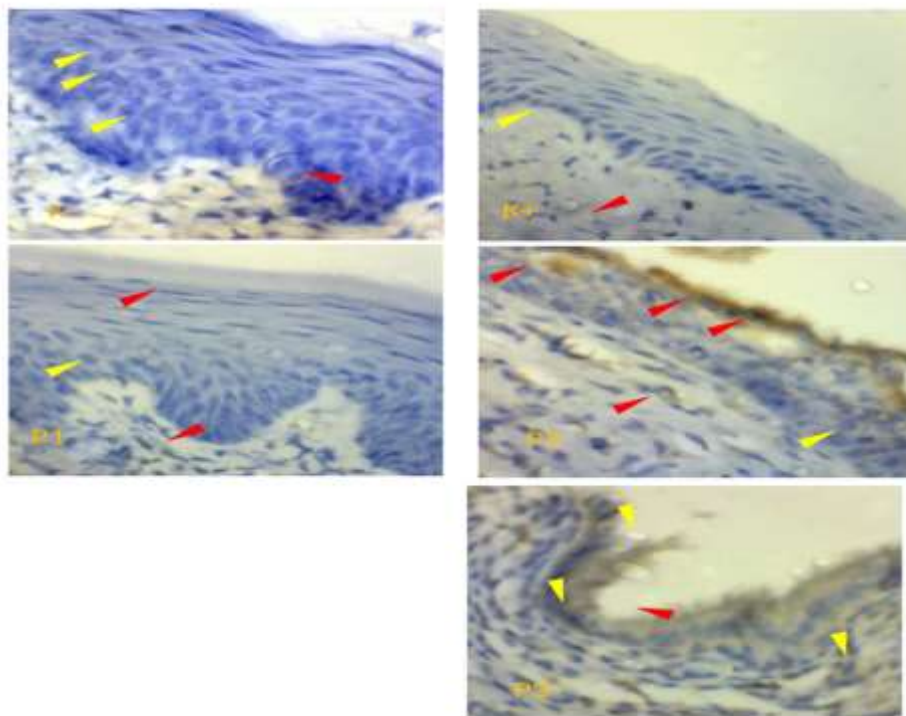
Parameter	Kelompok	Mean Rank	Kruskal-Wallis	Mann-Whitney				
				K-	K+	P1	P2	P3
CDK4	K-	4,70	0,001		0,007 <sup>b</sup>	0,008 <sup>c</sup>	0,032 <sup>d</sup>	0,118
	K+	22,30				0,041 <sup>c</sup>	0,008 <sup>d</sup>	0,008 <sup>e</sup>
	P1	17,90					0,031 <sup>d</sup>	0,016 <sup>e</sup>
	P2	11,00						0,690
	P3	9,10						

Keterangan: superskrip berbeda signifikan p=0,0001 (p<0,05). K(-): Kontrol negatif (tikus normal). K(+): Kontrol positif (Model tikus kanker serviks dengan BaP 50 mg/KgBB/0,5 ml minyak jagung). P1: Model tikus kanker + ekstrak metanol buah andaliman 100 mg/KgBB. P2: Model tikus kanker serviks +

ekstrak metanol buah andalman 200 mg/KgBB. P3: Model tikus kanker serviks + ekstrak metanol buah andalman 400 mg/KgBB.

Eksresi CDK4 ditandai dengan warna coklat pada Gambar 3. menunjukkan bahwa ekspresi CDK4 pada kelompok kontrol terlihat bahwa histologi jaringan serviks secara kompleks, dimana pitelium skuamosa mengandung inti sel, sitoplasma dan strom pada kondisi normal. Epitelium skuamosa memberikan informasi diagnostic yang berhubungan dengan keadaan sel normal dan abnormal. Kelompok tikus model kanker (K+) menunjukkan kelainan sel yang ditandai dengan pembesaran inti sel, perkembangan struktur yang tidak terkontrol, dan banyak variasi pada sel inti. Analisis ekspresi CDK4 dilakukan karena protein ini akan berikatan, menghambat protein, perkembangan sel, modulasi divisi sel dan terjadinya transduksi signal apoptosis melalui jalur instrinsik.

Andaliman dapat menghambat ekspresi CDK4 pada jaringan serviks karena mempunyai antioksidan tinggi yang dapat menurunkan MDA, anti inflamasi dan meningkatkan HSP-70 (24–27). Fraksi n-hexane andaliman memiliki kandungan bioaktif dan efektif sebagai anti kanker, menghambat apoptosis dan menurunkan ekspresi siklin D1 (28). Ekstrak etanol buah tanaman ini mempunyai aktivitas anti radikal tinggi dibandingkan dengan ekstrak aseton dan heksan (29). Berdasarkan uji toksisitas, andaliman mempunyai efek toksitas rendah dan antioksidan tinggi (30,31). CDK4 sangat penting dalam sel karena CDK4 menjaga sel dari istirahat atau memicu sel untuk apoptosis serta mencegah sel menjadi kanker ganas (32). Inhibitor CDK4 memiliki aktivitas in vitro terhadap berbagai kanker dan pada pasien telah menunjukkan perannya sebagai aktivitas antitumor pada kanker payudara, limfoma, sarkoma, dan tumor lainnya (33). Jadi dapat diinformasikan bahwa manfaat buah andaliman dapat dijadikan sebagai kandidat anti kanker untuk strategi molekuler.



**Gambar 3.** Histologi sel kanker serviks tikus pada ekspresi CDK4 yang diinduksi dengan benzoapiren. K(-): Kontrol negatif (tikus normal). K(+): Kontrol positif (Model tikus kanker serviks dengan BaP 50 mg/KgBB/0,5 ml minyak jagung). P1: Model tikus kanker + ekstrak metanol buah andaliman 100 mg/KgBB. P2: Model tikus kanker serviks + ekstrak metanol buah andalman 200 mg/KgBB. P3: Model tikus kanker serviks + ekstrak metanol buah andalman 400 mg/KgBB.. Panah kuning: ekspresi CDK4 negatif, panah merah ekspresi CDK4 positif.

Eksresi CDK4 ditandai dengan warna coklat pada Gambar 3. menunjukkan bahwa ekspresi CDK4 pada kelompok kontrol terlihat bahwa histologi jaringan serviks secara kompleks, dimana pitelium skuamosa mengandung inti sel, sitoplasma dan strom pada kondisi normal. Epitelium skuamosa memberikan informasi

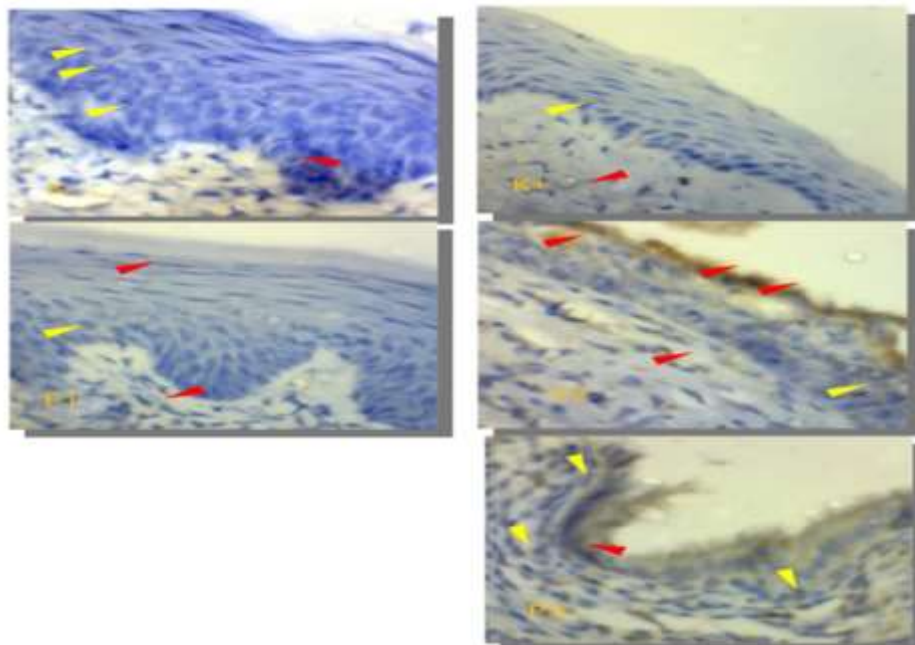
diagnostic yang berhubungan dengan keadaan sel normal dan abnormal. Kelompok tikus model kanker (K+) menunjukkan kelainan sel yang ditandai dengan pembesaran inti sel, perkembangan struktur yang tidak terkontrol, dan banyak variasi pada sel inti. Analisis ekspresi CDK4 dilakukan karena protein ini akan berikatan, menghambat protein, perkembangan sel, modulasi divisi sel dan terjadinya transduksi signal apoptosis melalui jalur instrinsik.

Andaliman dapat menghambat ekspresi CDK4 pada jaringan serviks karena mempunyai antioksidan tinggi yang dapat menurunkan MDA, anti inflamasi dan meningkatkan HSP-70 (24,26,34). Fraksi n-hexane andaliman memiliki kandungan bioaktif dan efektif sebagai anti kanker, menghambat apoptosis dan menurunkan ekspresi siklin D1 (35). Ekstrak etanol buah tanaman ini mempunyai aktivitas anti radikal tinggi dibandingkan dengan ekstrak aseton dan heksan (31,36). Berdasarkan uji toksisitas, andaliman mempunyai efek toksitas rendah dan antioksidan tinggi (30). CDK4 sangat penting dalam sel karena CDK4 menjaga sel dari istirahat atau memicu sel untuk apoptosis serta mencegah sel menjadi kanker ganas (37,38). Inhibitor CDK4 memiliki aktivitas in vitro terhadap berbagai kanker dan pada pasien telah menunjukkan perannya sebagai aktivitas antitumor pada kanker payudara, limfoma, sarkoma, dan tumor lainnya (33,39). Jadi dapat diinformasikan bahwa manfaat buah andaliman dapat dijadikan sebagai kandidat anti kanker untuk strategi molekuler

#### 4. Pengaruh Andaliman terhadap ekspresi Cytochrome c (Cyt c) pada kanker serviks tikus

**Tabel. 3** Kruskal Wallis and Mann-Whitney analysis sitokrom c pada jaringan kanker serviks tikus setelah pemberian ekstrak metanol buah andaliman (*Zantoxylum acanthopodium*)

Groups	n	Mean Rank	Kruskal-Wallis	Mann-Whitney				
				K-	K+	P1	P2	P3
K-	6	7.30	0.000		0.050 <sup>b</sup>	0.017 <sup>c</sup>	0.006 <sup>d</sup>	0.006 <sup>e</sup>
K+	6	4.00				0.005 <sup>c</sup>	0.004 <sup>d</sup>	0.004 <sup>e</sup>
P1	6	12.80					0.007 <sup>d</sup>	0.009 <sup>e</sup>
P2	6	22.60						0.015 <sup>e</sup>
P3	6	18.30						



**Gambar 4** Ekspresi sitokrom C pada histologi kanker serviks tikus. K(-): Kontrol negatif (tikus normal). K(+): Kontrol positif (Model tikus kanker serviks dengan BaP 50 mg/KgBB/0,5 ml minyak jagung). P1: Model tikus kanker + ekstrak metanol buah andaliman 100 mg/KgBB. P2: Model tikus kanker serviks + ekstrak metanol buah andaliman 200 mg/KgBB. P3: Model tikus kanker serviks + ekstrak metanol buah andaliman 400 mg/KgBB.

mg/KgBB. Panah kuning: ekspresi sitokrom c negatif. Panah merah: ekspresi sitokrom c positif

Peningkatan ekspresi sitokrom c dapat dilihat pada Gambar 4. yang ditandai pada panah merah dan bercak coklat. Peningkatan sitokrom C pada suatu sel menandakan bahwa sel tersebut mengalami hipoksia dan sebagai penanda apoptosis melalui jalur instrinsik atau lepasnya protein dari mitokondria sehingga menyebabkan aktivasi protein Haspace sampai menuju kematian sel (40–42). Andaliman (*Zantoxylum acanthopodium*) dapat menghambat ekspresi sitokrom c dalam sel serviks karena memiliki kandungan antioksidan tinggi, menurunkan MDA, anti inflamasi dan meningkatkan HSP-70 (34,35,43). n-Hexanane andaliman kandungan bioaktif dan efektif sebagai antikanker, menghambat apoptosis dan pengaturan ekspresi Siklin D1(44). Ekstrak etanol buah andaliman memiliki aktivitas sebagai anti radikal lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak aseton dan hexan (45). Ekstrak etanol andaliman juga menurunkan ekspresi COX-2, MMP-9, TNF- $\alpha$ , dan menghambat IL-6, COX-2, TNF- $\alpha$ , MMP-9, Inos, and mRNA (46). Berdasarkan uji toksitas, disamping memiliki kandungan antioksidan tinggi, tumbuhan memiliki toksisitas yang rendah (47). Dengan demikian, pemberian andaliman menunjukkan perbedaan yang signifikan setelah induksi benzoapiren pada serviks tikus.

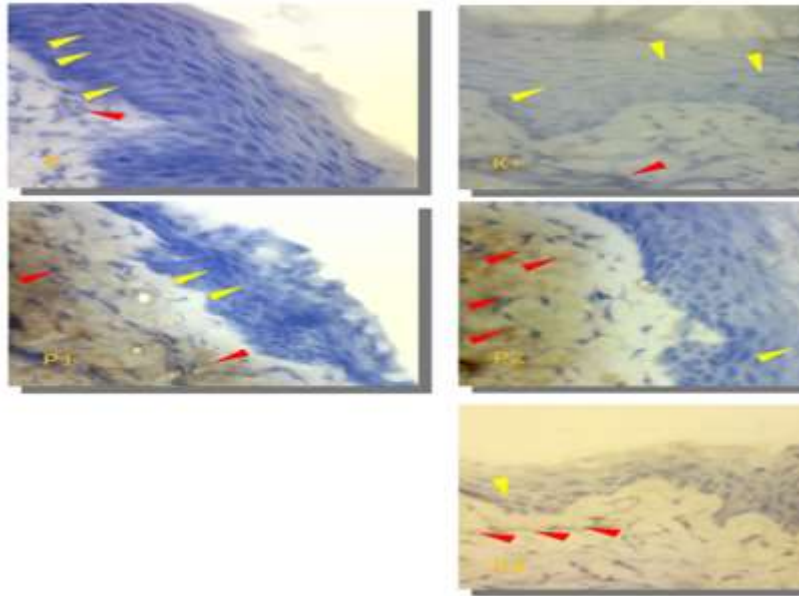
Peran sitokrom c pada jaringan dapat menjadi respon kematian sel yang distimulasi oleh banyak hal seperti hipoksia, oksidatif stres dan kerusakan DNA yang dapat mengaktifkan jalur instrinsik. Jalur instrinsik melibatkan mitokondria karena mengandung faktor pro-apoptotic seperti sitokrom C dan AIF (apoptosis-induction factor). Keduanya merupakan zat berbahaya yang disimpan di mitokondria (5,47). Walaupun andaliman mengandung anti-peradangan atau anti-kanker, pemberian dosis yang berlebihan dapat meningkatkan terjadinya apoptosis sel

##### 5. Pengaruh andaliman terhadap apoptosis pada kanker serviks tikus

**Table 4** Kruskal Wallis and Mann-whitney analysis of *TUNEL* expression pada jaringan kanker serviks setelah pemberian ekstrak buah andaliman (*Zantoxylum acanthopodium*)

Groups	n	Mean Rank	Kruskal-Wallis	Mann-Whitney				
				K-	K+	P1	P2	P3
K-	6	6.30	0.001		0.513	0.156	0.005 <sup>b</sup>	0.005 <sup>c</sup>
K+	6	7.60				0.309	0.006 <sup>b</sup>	0.006 <sup>c</sup>
P1	6	10.60					0.009 <sup>b</sup>	0.019 <sup>c</sup>
P2	6	21.90						0.072
P3	6	18.60						

Analisis ekspresi TUNEL pada jaringan kanker serviks tikus; superskrip berbeda signifikan  $p=0,001$  ( $p<0,05$ ), K(-): Kontrol negatif (tikus normal). K(+): Kontrol positif (Model tikus kanker serviks dengan BaP 50 mg/KgBB/0,5 ml minyak jagung). P1: Model tikus kanker + ekstrak metanol buah andaliman 100 mg/KgBB. P2: Model tikus kanker serviks + ekstrak metanol buah andalman 200 mg/KgBB. P3: Model tikus kanker serviks + ekstrak metanol buah andalman 400 mg/KgBB.



**Gambar 5** Ekspresi TUNNEL pada histologi jaringan kanker serviks tikus K(-): Kontrol negatif (tikus normal). K(+): Kontrol positif (Model tikus kanker serviks dengan BaP 50 mg/KgBB/0,5 ml minyak jagung). P1: Model tikus kanker + ekstrak metanol buah andaliman 100 mg/KgBB. P2: Model tikus kanker serviks + ekstrak metanol buah andaliman 200 mg/KgBB. P3: Model tikus kanker serviks + ekstrak metanol buah andaliman 400 mg/KgBB. Panah kuning: ekspresi negatif. Panah merah: ekspresi positif.

Berdasarkan Gambar 5 ekspresi positif apoptosis ditandai dengan panah merah dan bercak coklat pada sel serviks. Pada kelompok kontrol negatif (K-) masih terdapat apoptosis pada jaringan ikat interstisial. Hal ini juga terdapat pada seluruh perlakuan pemberian ekstrak buah andaliman. TUNNEL dapat digunakan untuk mendeteksi fragmen-fragmen sebagai tanda apoptosis. Gambar 8.2 menunjukkan histologi servik dengan bentuk ireguler ke dalam gelembung yang disebut dengan tubuh apoptosis. Lingkungan di dalam sel nukleus tampak terputus dan karyohexis. Sel-sel menjadi sirkuler (panah merah) karena struktur protein yang membentuk sitoskeleton yang dicerna oleh enzim peptidase tertentu (caspase), yang telah diaktifkan dalam sel.

Apoptosis disebabkan oleh gangguan oksidasi postporilasi dan transport elektron yang berhubungan dengan radiasi dan adanya gangguan lain seperti keramides, potensial perubahan sel redox dan turunan Reactive Oxygen Species (ROS) (48,49), kerusakan DNA yang mendukung ekspresi protein yang dikenal sebagai p53 (50) dan meningkatkan tekanan intraselular ion  $Ca^{2+}$  melalui sinyal transduksi (47). Banyak tanaman yang mengandung antioksidan yang dapat memperbaiki kerusakan jaringan, terutama kerusakan jaringan oleh kanker serviks. Salah satunya adalah andaliman, tanaman ini memiliki senyawa bioaktif yang memainkan peranan penting dalam pengobatan kimia kanker melalui jalur apoptosis (42,51). Berdasarkan pada histologi dan indeks positif (Gambar 5. dan Tabel 4.), herbal ini dapat dikembangkan menjadi kandidat obat kanker serviks. Sejalan dengan penelitian lain, aktivitas anti-proliferasi distimulasi dengan induksi apoptosis berdasarkan peningkatan populasi sel sub-G1, fragmentasi DNA, dan perubahan morfologi apoptosis yang akan mempengaruhi pengaturan mRNA dan ekspresi protein dari p53 dan caspase-3. Sanshool dari *Zanthoxylum* menginduksi apoptosis melalui jalur mitokondria secara bebas, sehingga sanshool adalah obat anti kanker (52,53). Minyak esensial *Zanthoxylum* menghambat proliferasi sel HaCaT, menghasilkan induksi apoptosis selular melalui kedua jalur intrinsik dan ekstrinsik (54).

## 6. Pengaruh andaliman terhadap ekspresi IL-1 $\beta$ pada kanker serviks tikus

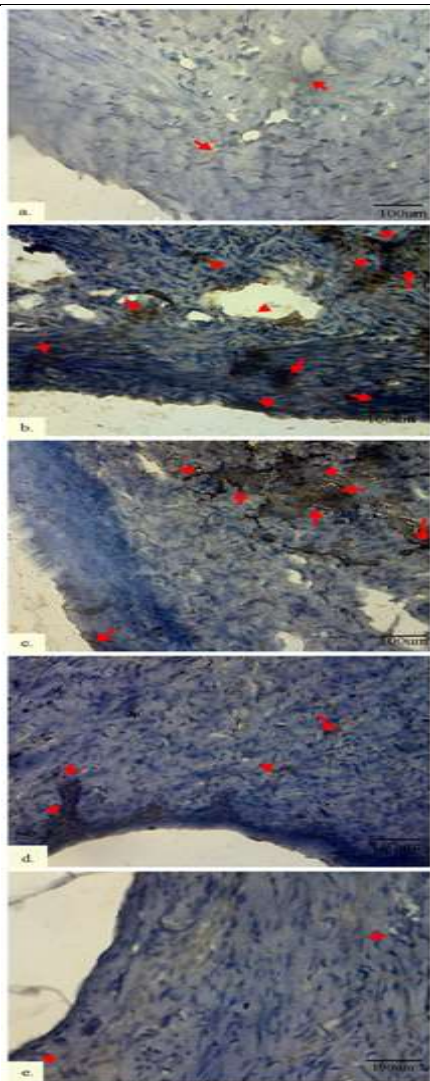
Uji Kruskal Wallis menunjukkan perbedaan yang signifikan pada semua kelompok (Tabel 5). Berdasarkan uji tindak lanjut Mann-Whitney, ditemukan perbedaan yang bermakna ( $p < 0,01$ ,  $p = 0,0060$ ) ekspresi IL1 $\beta$  bila dibandingkan dengan kelompok C+. Pada dosis *Zanthoxylum acanthopodium* Metanol extract (ZAM) terendah (100mg/kgBB), tidak signifikan; namun pada dosis 200 dan 400 mg/kgBB terdapat perbedaan bermakna ( $p < 0,05$ ;  $p < 0,01$ ) dibandingkan dengan kelompok C+. Kelompok C+ memiliki ekspresi IL1 $\beta$  tertinggi, sedangkan kelompok terendah adalah kelompok C- dan dosis ZAM 400mg/Kg BB.



**Tabel. 5.** Analisis statistik ekspresi IL-1 $\beta$  pada perubahan histologis serviks setelah pemberian *Z. acanthopodium methanolic extract* (ZAM)

Groups	Mean $\pm$ SD	Kruskal-Wallis	p value (Mann-Whitney)				
			C-	C+	ZAM100	ZAM200	ZAM400
C-	12.32 $\pm$ 1.28			0.0023	0.0040	0.0032	0.0450
C+	42.22 $\pm$ 3.23 <sup>##</sup>				0.0600	0.0400	0.0025
ZAM100	37.14 $\pm$ 2.23	0.00				0.0450	0.0450
ZAM200	29.21 $\pm$ 2.41*						0.0440
ZAM400	16.22 $\pm$ 1.98**						

C-: Kontrol, C+: Tikus kanker tanpa pengobatan, ZAM100: Tikus kanker + 100mg/Kg BB ZAM, ZAM200: Tikus kanker + 200mg/Kg BB ZAM, ZAM400: Tikus kanker + 400mg/Kg BB ZAM. (##p<0,01 dibandingkan C-, \*p<0,05 dibandingkan C+, \*\*p<0,01 dibandingkan C+).

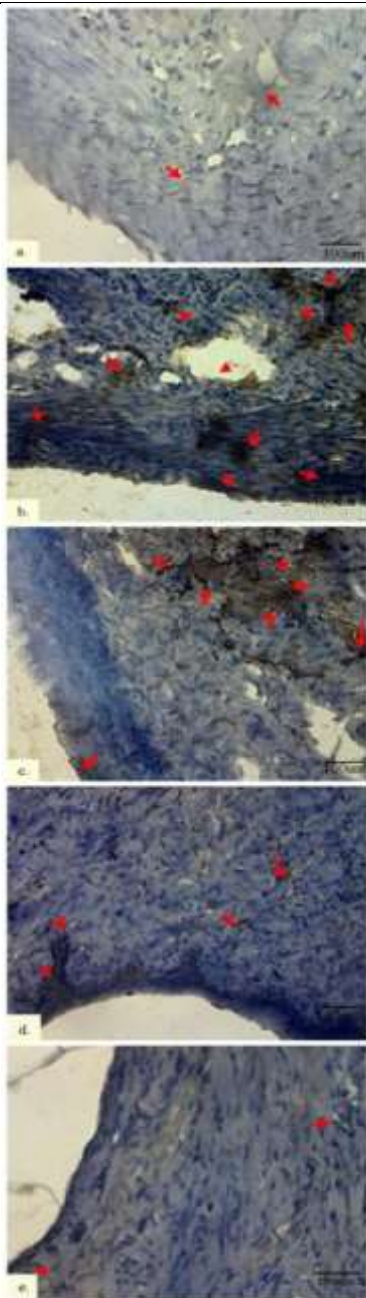


Kehadiran ekspresi IL1 $\beta$  positif diidentifikasi dalam nukleus dan sitoplasma dengan pewarnaan hitam kecoklatan, seperti yang ditunjukkan oleh panah merah (Gambar 6). Informasi yang paling penting untuk diagnosis ini adalah inti dan sitoplasma sel, sedangkan latar belakang dan stroma dihilangkan. Sel kanker kecil yang hanya dapat dideteksi menggunakan mikroskop telah menyebar ke kelenjar getah bening yang berdekatan. Pembesaran inti sel perkembangan sel yang tidak terkendali, bentuk sel yang tidak merata, rasio inti sel terhadap sitoplasma yang signifikan, dan berbagai variasi bentuk inti merupakan tanda-tanda kelainan sel. Namun, ketika diberikan ZAM ekspresi IL- $\beta$ 1 mulai turun, dengan nukleus berwarna hitam, bentuk sel mulai tidak beraturan, rasio nukleus terhadap sitoplasma mulai seimbang, dan histologi serviks jaringan mulai membaik, mirip dengan kelompok C.

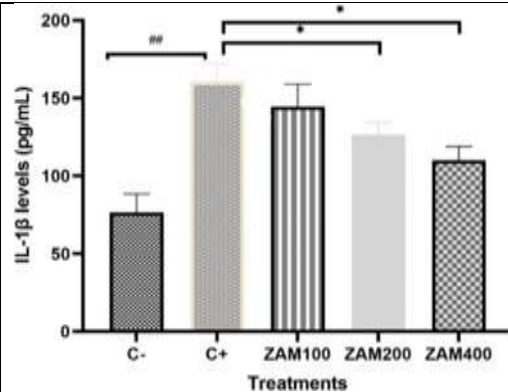
**Gambar 6.** Ekspresi IL1 $\beta$  pada kanker serviks setelah pemberian *Zanthoxylum acanthopodium* (Sebelah kanan). a: Kontrol, b: Tikus kanker tanpa pengobatan, c: Tikus kanker + 100mg/Kg BB ZAM, d: Tikus kanker + 200mg/Kg BB ZAM, e: Tikus kanker + 400mg/Kg BB.

Hal ini konsisten dengan nilai serum IL1 $\beta$  yang diperoleh dengan menggunakan pembaca ELISA (Gambar 6). Ada perbedaan yang signifikan antara kelompok C- dan C+ ( $p < 0,01$ ). Pada dosis 100mg/kg BB, ekspresi IL1 $\beta$  serum mengalami penurunan namun tidak signifikan ( $p > 0,05$ ) dibandingkan dengan kelompok C+. Pada serum dengan dosis ZAM 200 dan 400 mg/kg BB terjadi penekanan ekspresi IL1 $\beta$  ( $p < 0,05$ ).

Pemberian ZAM dapat mengurangi ekspresi IL1 $\beta$ , yang mendorong proliferasi sel kanker pada tikus. Dalam sel jaringan serviks, sel sistem imun bawaan mengenali struktur asing yang tidak ditemukan pada inang melalui reseptor yang menandakan ekspresi sitokin inflamasi (55). Karena sel-sel kekebalan ini tidak selalu berkinerja terbaik, mereka membutuhkan bantuan dari dunia luar, seperti lebih banyak antioksidan. ZAM, antioksidan yang ditemukan dalam plasma dan membran eritrosit, dapat memodifikasi respons yang memengaruhi messenger second dan produk kaskade asam arakidonat, yang keduanya memiliki dampak signifikan pada proliferasi sel (56). Reaksi biologis seperti stres oksidatif yang disebabkan oleh kurangnya antioksidan dalam sel dapat membahayakan komponen seluler, sehingga menimbulkan berbagai penyakit (57). Pembentukan dan perkembangan kanker disebabkan oleh kerusakan DNA.



**Gambar 7** Ekspresi IL1 $\beta$  pada serum tikus induksi kanker serviks setelah pemberian andaliman.



**Gambar 8** Ekspresi IL1 $\beta$  pada serum tikus induksi kanker serviks setelah pemberian andaliman. C-: Kontrol, C+: Tikus kanker tanpa pengobatan, ZAM100: Tikus kanker + 100mg/Kg BB ZAM, ZAM200: Tikus kanker + 200mg/Kg BB ZAM, ZAM400: Tikus kanker + 400mg/Kg BB ZAM

C-: Kontrol, C+: Tikus kanker tanpa pengobatan, ZAM100: Tikus kanker + 100mg/Kg BB ZAM, ZAM200: Tikus kanker + 200mg/Kg BB ZAM, ZAM400: Tikus kanker + 400mg/Kg BB ZAM
--

Antioksidan dan kanker memiliki hubungan yang sangat erat karena antioksidan telah menjadi pendekatan terapeutik yang diterima secara luas (58). Mekanisme yang mendasari sebagian besar agen kemoterapi dan radiasi yang membunuh sel tumor bukanlah peningkatan antioksidan, melainkan peningkatan radikal bebas yang menyebabkan kerusakan jaringan ireversibel (53,59). Inhibitor antioksidan yang tepat dan/atau senyawa penghasil radikal bebas dapat menjadi strategi pengobatan kanker yang efektif (28). Selain antioksidan, herba genus *Zanthoxylum* memiliki sifat antiinflamasi, analgesik, antinosisseptif, antioksidan, antibiotik, hepatoprotektif, antiplasmodial, sitotoksik, antiproliferatif, anthelmintik, larvisida, antivirus, dan antikanker (35,43). Berdasarkan analisis tersebut pemberian ZAM dapat menekan produksi IL1 $\beta$ , yang mendorong pertumbuhan sel kanker pada tikus.

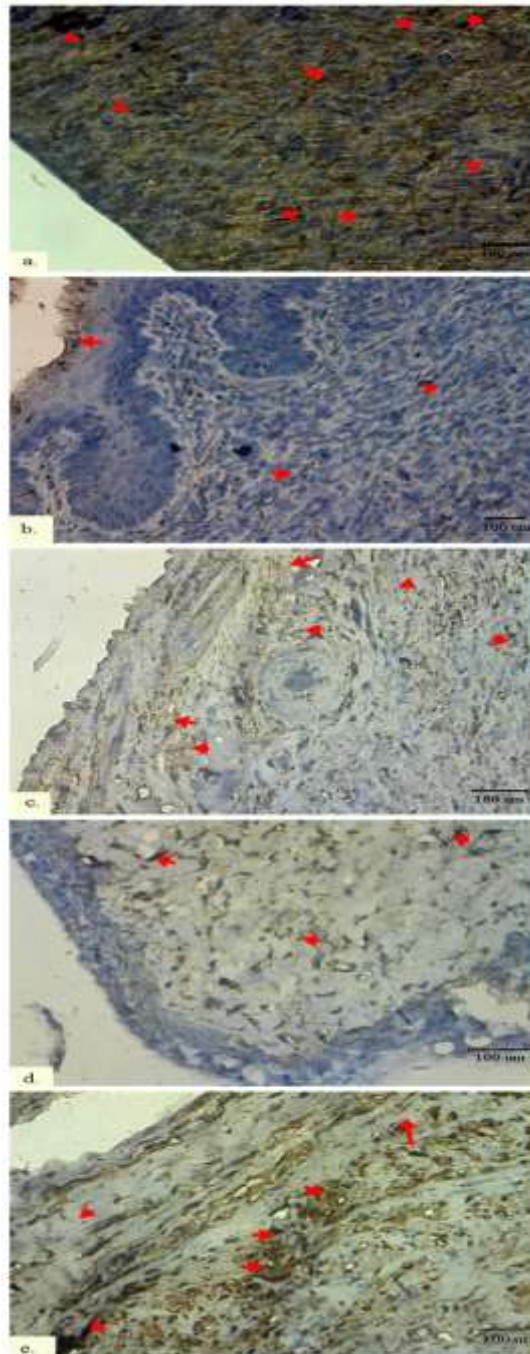
### 7. Pengaruh andaliman terhadap ekspresi IL-10 pada kanker serviks tikus

**Tabel. 6.** Analisis statistik ekspresi IL-1 $\beta$  pada perubahan histologis serviks setelah pemberian *Z. acanthopodium* methanolic extract (ZAM)

Groups	Mean $\pm$ SD	Kruskal-Wallis	p value (Mann-Whitney)				
			C-	C+	ZAM100	ZAM200	ZAM400
C-	72.18 $\pm$ 1.44	0.00		0.0025	0.045	0.042	0.050
C+	16.10 $\pm$ 2.10 <sup>##</sup>				0.062	0.060	0.045
ZAM100	20.66 $\pm$ 2.41					0.055	0.035
ZAM200	23.88 $\pm$ 3.21*						0.020
ZAM400	48.19 $\pm$ 2.88**						

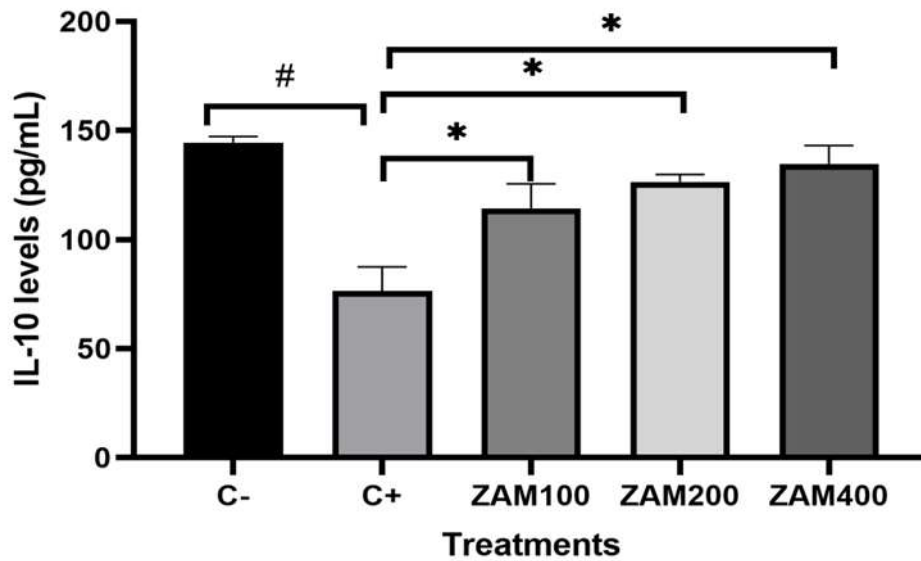
C-: Kontrol, C+: Tikus kanker tanpa pengobatan, ZAM100: Tikus kanker + 100mg/Kg BB ZAM, ZAM200: Tikus kanker + 200mg/Kg BB ZAM, ZAM400: Tikus kanker + 400mg/Kg BB ZAM. (##p<0,01 dibandingkan C-, \*p<0,05 dibandingkan C+, \*\*p<0,01 dibandingkan C+).

Uji Kruskal Wallis dengan p<0,00 menunjukkan perbedaan bermakna pada semua kelompok (Tabel 6). Berdasarkan uji tindak lanjut Mann-Whitney, ditemukan perbedaan yang signifikan (p<0,01, p=0,0030) ekspresi IL-10 jika dibandingkan dengan kelompok C+. Pada dosis *Zanthoxylum acanthopodium* Methanol extract (ZAM) terendah (100mg/kgBB), tidak signifikan; namun pada dosis 200 dan 400 mg/kgBB terdapat perbedaan bermakna (p<0,05; p<0,01) dibandingkan dengan kelompok C+. Kelompok ZAM400 memiliki ekspresi IL1 $\beta$  tertinggi, sedangkan kelompok terendah adalah kelompok C-+.



**Gambar 8.** Ekspresi IL-10 pada histologi tikus kanker serviks dengan pemberian andaliman. a: Kontrol, b: Tikus kanker tanpa pengobatan, c: Tikus kanker + 100mg/Kg BB ZAM, d: Tikus kanker + 200mg/Kg BB ZAM, e: Tikus kanker + 400mg/Kg BB (Sebelah kanan).

Ekspresi IL-10 yang ditandai dengan inti hitam atau coklat yang meningkat pada kelompok-C dalam pemeriksaan imunohistokimia (Gambar 8). Karena aktivitas IL-10 diturunkan dalam lingkungan sel hipoksia, inti yang diwarnai hitam oleh pewarna imunohistokimia berkurang pada hewan kanker. Dari dosis terendah hingga tertinggi, terjadi penurunan signifikan pada kanker sel skuamosa serviks. Pembesaran inti sel menunjukkan kelainan sel. Tidak ada perubahan signifikan dalam klasifikasi histologis tumor serviks setelah pengobatan ZAM. Dengan menggunakan ELISA, ekspresi IL-10 (Gambar 10.2). Ekspresi IL-10 pada kanker tikus (C+) lebih rendah ( $p < 0,05$ ,  $p = 0,040$ ) dibandingkan dengan kelompok kontrol (C-). Pemberian ZAM pada dosis terendah dan tertinggi secara signifikan dapat meningkatkan ekspresi IL-10 ( $P < 0,05$ ).



**Gambar 9.** Ekspresi serum IL-10 pada tikus kanker serviks dengan pemberian andaliman. C-: Kontrol, C+: Tikus kanker tanpa pengobatan, ZAM100: Tikus kanker + 100mg/Kg BB ZAM, ZAM200: Tikus kanker + 200mg/Kg BB ZAM, ZAM400: Tikus kanker + 400mg/Kg BB ZAM

Pemberian ZAM pada tikus kanker serviks meningkatkan ekspresi IL-10, yang menekan pertumbuhan kanker. Pada pasien kanker, pemberian ZAM telah terbukti melindungi terhadap stres oksidatif yang diinduksi benzoapyrene. Dalam hal ini, kanker dapat menyebabkan penurunan IL-10 dengan mengurangi stres oksidatif yang diinduksi benzoapyrene. Peningkatan produksi Reactive Oxygen Species (ROS) dan stres oksidatif telah dikaitkan dengan apoptosis. Akibatnya, apoptosis berperan dalam patogenesis dan etiologi kanker (25). Peran fitokimia sebagai antioksidan atau modulator proses karsinogenik dan pencegahan kanker lainnya(35). Antioksidan dalam ZAM merangsang IL-10, yang menghambat atau menghilangkan respon inflamasi dan mengatur perkembangan dan diferensiasi sel abnormal. IL-10 merupakan sitokin yang disekresikan secara luas oleh monosit yang memiliki efek pleiotrofik pada sistem imun dan inflamasi (56). Sel T, monosit, dan makrofag dapat dihambat aktivitas dan fungsi efektifnya oleh IL-10 (60). Di hadapan ZAM, IL-10 bertindak sebagai anti-inflamasi utama dalam respon imun alami dan adaptif, mencegah respon inflamasi yang berlebihan dengan menonaktifkan makrofag dan mediator inflamasi lokal dan sistemik (56,60). Sebenarnya, tubuh memproduksi sitokinitas ini dalam jumlah besar, membuatnya mudah dideteksi dalam serum. Namun, jika sel-sel abnormal berkembang biak dalam jumlah besar, kinerja IL-10 terganggu, sehingga memerlukan penggunaan antioksidan dari luar tubuh. Berdasarkan analisis tersebut diketahui bahwa pemberian ZAM dapat meningkatkan ekspresi IL-10 pada tikus kanker serviks sehingga menekan pertumbuhan kanker serviks.

#### 8. Pengaruh andaliman terhadap ekspresi TGF-β1 pada kanker serviks tikus

**Tabel. 7.** Analisis statistik ekspresi TGF-β1 pada perubahan histologis serviks setelah pemberian *Z. acanthopodium* methanolic extract (ZAM)

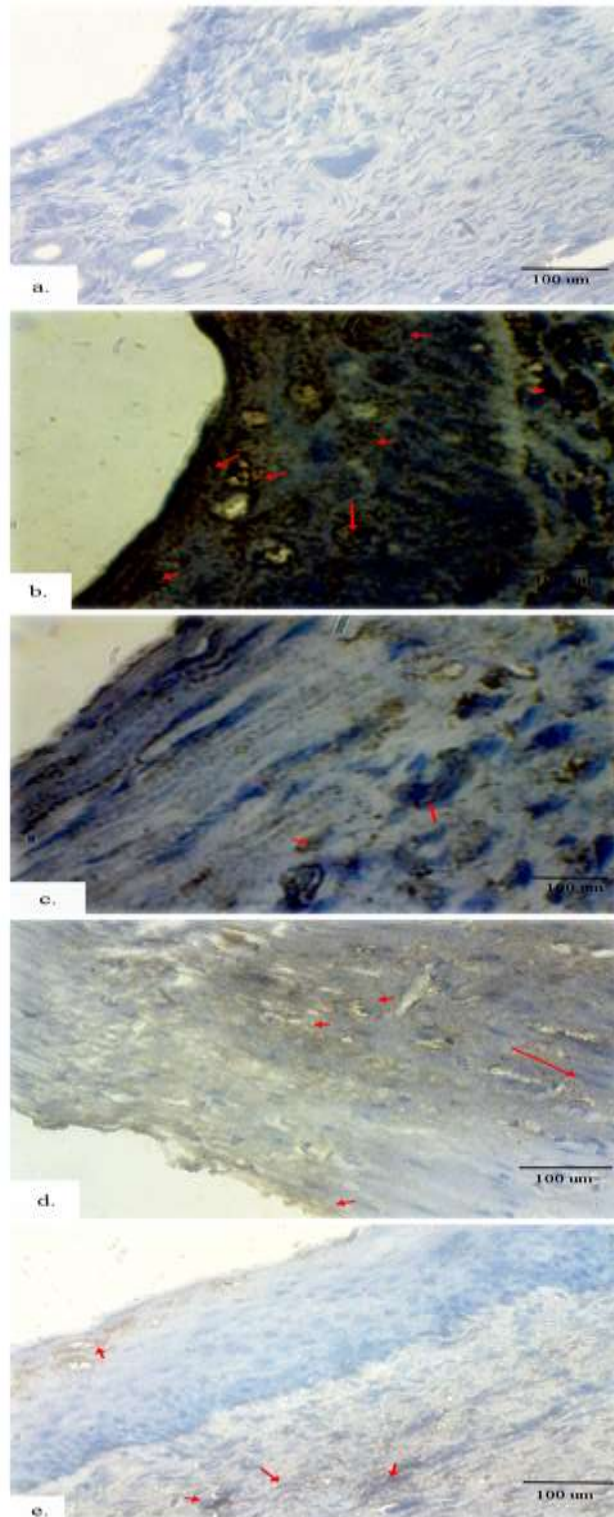
Groups	Mean ± SD	Kruskal-Wallis	p value (Mann-Whitney)				
			C-	C+	ZAM100	ZAM200	ZAM400
C-	10.30 ± 1.77	0.00		0.045	0.040	0.040	0.070
C+	73.89 ± 4.03 <sup>##</sup>			0.080	0.060	0.040	
ZAM100	30.61 ± 3.43 <sup>**</sup>				0.070	0.035	
ZAM200	25.22 ± 2.6 <sup>**</sup>					0.020	
ZAM400	19.28 ± 2.28 <sup>**</sup>						

C-: Kontrol, C+: Tikus kanker tanpa pengobatan, ZAM100: Tikus kanker + 100mg/Kg BB ZAM, ZAM200: Tikus kanker + 200mg/Kg BB ZAM, ZAM400: Tikus kanker + 400mg/Kg BB ZAM. (##p<0,01 dibandingkan C-, \*p<0,05 dibandingkan C+, \*\*p<0,01 dibandingkan C+).

Uji Kruskal Wallis, seperti ditunjukkan pada Tabel 7, menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan

$p < 0,00$ . Berdasarkan nilai rata-rata diketahui terdapat perbedaan ekspresi TGF $\beta$ 1 yang signifikan ( $p < 0,01$ ,  $p = 0,0030$ ) jika dibandingkan dengan kelompok C-. Pemberian ZAM dari dosis 100 sampai 400 mg/Kg BB menunjukkan perbedaan yang bermakna ( $P < 0,01$ ) bila dibandingkan dengan kelompok C+. Ekspresi TGF $\beta$ 1 tertinggi ditemukan pada kelompok kanker yang tidak diobati (C+) sedangkan yang terendah ditemukan pada kelompok kontrol (C-). Sel-sel yang tidak berdiferensiasi dalam kelompok C +, di sisi lain, terbatas pada lapisan bawah epitel dan mengembangkan fitur mitosis.

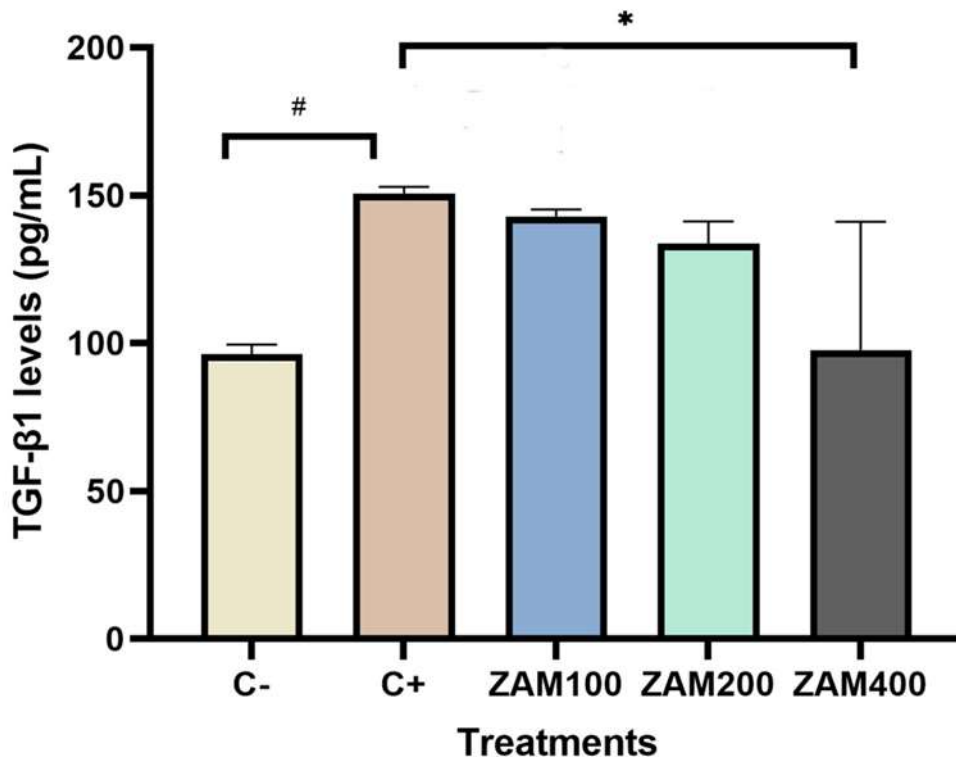
Perubahan seluler terbatas pada epitel bawah ditandai dengan penebalan epitel dan peningkatan ekspresi TGF $\beta$ 1. Ekspresi TGF $\beta$ 1 dalam jaringan kanker menurun seiring dengan meningkatnya dosis ZAM. Pemberian ZAM (Gambar 10) pada berbagai dosis mengurangi jumlah inti yang diwarnai coklat oleh imunohistokimia, menunjukkan indeks positif ekspresi TGF $\beta$ 1 dalam jaringan kanker. Karsinoma yang sebelumnya menyebar tak terkendali pada kelompok kanker yang tidak diobati kini telah melambat dan tidak lagi berkembang menjadi epitel. Temuan histologi ini konsisten dengan temuan analisis pembaca ELISA dari tikus kanker serum TGF $\beta$ 1 (Gambar 11.2). Ekspresi serum TGF $\beta$ 1 lebih tinggi pada tikus kanker ( $p < 0,05$ ,  $p = 0,040$ ) dibandingkan kelompok kontrol, tetapi perbedaan ini tidak signifikan ketika diberikan dosis ZAM 100 dan 200mg/Kg BB. Namun, dosis ZAM tertinggi (400mg/kg BB) secara signifikan menekan ekspresi TGF $\beta$ 1 ( $p < 0,05$ ).



**Gambar 10.** Ekspresi TGF $\beta$ 1 pada histologi tikus kanker serviks dengan pemberian andaliman. a: Kontrol, b: Tikus kanker tanpa pengobatan, c: Tikus kanker + 100mg/Kg BB ZAM, d: Tikus kanker + 200mg/Kg BB ZAM, e: Tikus kanker + 400mg/Kg BB (Sebelah kanan).

Pemberian ZAM, khususnya pada 400mg/kg BB, dapat menekan ekspresi serum dan histologi TGF $\beta$ 1 pada tikus kanker serviks. Disregulasi TGF $\beta$ 1 adalah pendorong utama perkembangan tumor, termasuk angiogenesis, invasi jaringan, metastasis, dan penekanan kekebalan (61). TGF sebenarnya dapat mempertahankan homeostasis jaringan dan mencegah tumor pra-kanker berkembang menjadi keganasan dengan

mengatur tidak hanya proliferasi seluler, diferensiasi, kelangsungan hidup, dan adhesi, tetapi juga pensinyalan TGF lingkungan mikro seluler, di sisi lain, mendorong pertumbuhan dan invasi tumor (62,63). Pada penelitian ini, ZAM diberikan untuk menekan invasi jaringan, metastasis, dan imunitas. TGF $\beta$ 1 memaksakan homeostasis dan menekan perkembangan tumor pada sel normal (kelompok-C) baik secara langsung melalui efek penekan tumor otonom sel atau secara tidak langsung melalui penekanan peradangan dan mitogen yang diturunkan dari stroma. Ketika sel abnormal menjadi kanker, sitokin ini kehilangan respon supresi tumornya (46). Sel kanker menggunakan TGF $\beta$ 1 untuk keuntungan mereka dengan memulai penghindaran kekebalan, memproduksi faktor pertumbuhan, berdiferensiasi menjadi fenotipe invasif, dan membangun dan memperluas koloni metastatik (60). Akibatnya, pemberian antioksidan sangat penting untuk memulihkan fungsi awal TGF $\beta$ 1 dalam sel.



**Gambar 11.** Ekspresi serum TGF $\beta$ 1 pada tikus kanker serviks dengan pemberian andaliman. C-: Kontrol, C+: Tikus kanker tanpa pengobatan, ZAM100: Tikus kanker + 100mg/Kg BB ZAM, ZAM200: Tikus kanker + 200mg/Kg BB ZAM, ZAM400: Tikus kanker + 400mg/Kg BB ZAM

#### 9. Pengaruh Andaliman Terhadap Ekspresi VEGFR1 Pada Kanker Serviks

Pemberian ZAM dapat menekan ekspresi serum VEGFR1 dan memperbaiki histologi. Pada kanker, ekspresi VEGFR1 yang tinggi dapat disebabkan oleh peroksidasi lipid karena kurangnya antioksidan. Peroksidasi lipid sangat penting dalam regulasi pembelahan sel. Radikal bebas oksigen dosis rendah yang disebabkan oleh kurangnya antioksidan dapat merangsang proliferasi sel sekaligus menginduksi sitotoksitas dan kematian sel. Pemberian ZAM dapat memperbaiki histologi pada tikus kanker serviks karena antioksidan yang terdapat pada Andaliman, seperti alkaloid, glikosida, tanin, fenol, dan flavoid, memiliki sifat antiinflamasi dan antikanker (34,43).

Penggunaan antioksidan selama pengobatan kanker telah terbukti mengurangi efek samping toksik. Intervensi antioksidan bermula dari fakta bahwa tanaman, seperti andaliman herbal, mengandung antioksidan dan dikaitkan dengan pengobatan kanker dengan sedikit efek samping (25,35). Kemampuan herbal untuk melindungi terhadap kerusakan DNA dapat ditunjukkan dengan mengukur kerusakan. Perkiraan tingkat latar belakang dalam sel untuk oksidasi DNA bervariasi lebih dari tiga kali lipat tergantung pada metode yang digunakan. Dimungkinkan untuk menunjukkan pengurangan kerusakan oksidatif setelah suplementasi dengan antioksidan dari herbal menggunakan uji biomarker untuk oksidasi DNA (58).



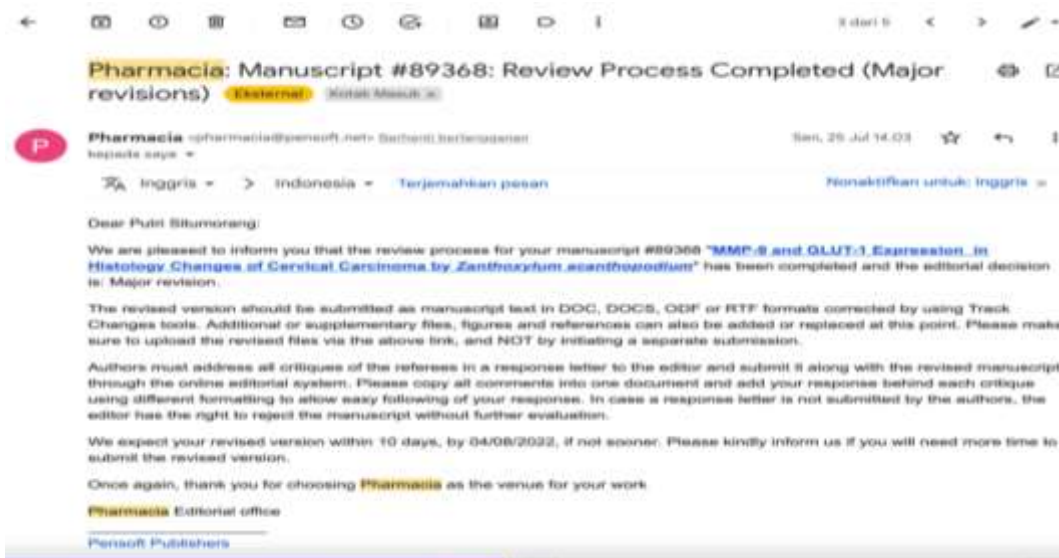
**D. STATUS LUARAN:** Tuliskan jenis, identitas dan status ketercapaian setiap luaran wajib dan luaran tambahan (jika ada) yang dijanjikan. Jenis luaran dapat berupa publikasi, perolehan kekayaan intelektual, hasil pengujian atau luaran lainnya yang telah dijanjikan pada proposal. Uraian status luaran harus didukung dengan bukti kemajuan ketercapaian luaran sesuai dengan luaran yang dijanjikan. Lengkapi isian jenis luaran yang dijanjikan serta mengunggah bukti dokumen ketercapaian luaran wajib dan luaran tambahan melalui BIMA.

Buku sedang dalam prose editing dan publikasi artikel sedang dalam proses review.

Luaran Wajib: Status Review



Luaran tambahan : Status Review



**E. PERAN MITRA:** Tuliskan realisasi kerjasama dan kontribusi Mitra baik *in-kind* maupun *in-cash* (untuk Penelitian Terapan, Penelitian Pengembangan, PTUPT, PPUPT serta KRUPPT). Bukti pendukung realisasi kerjasama dan realisasi kontribusi mitra dilaporkan sesuai dengan kondisi yang sebenarnya. Bukti dokumen realisasi kerjasama dengan Mitra diunggah melalui BIMA.

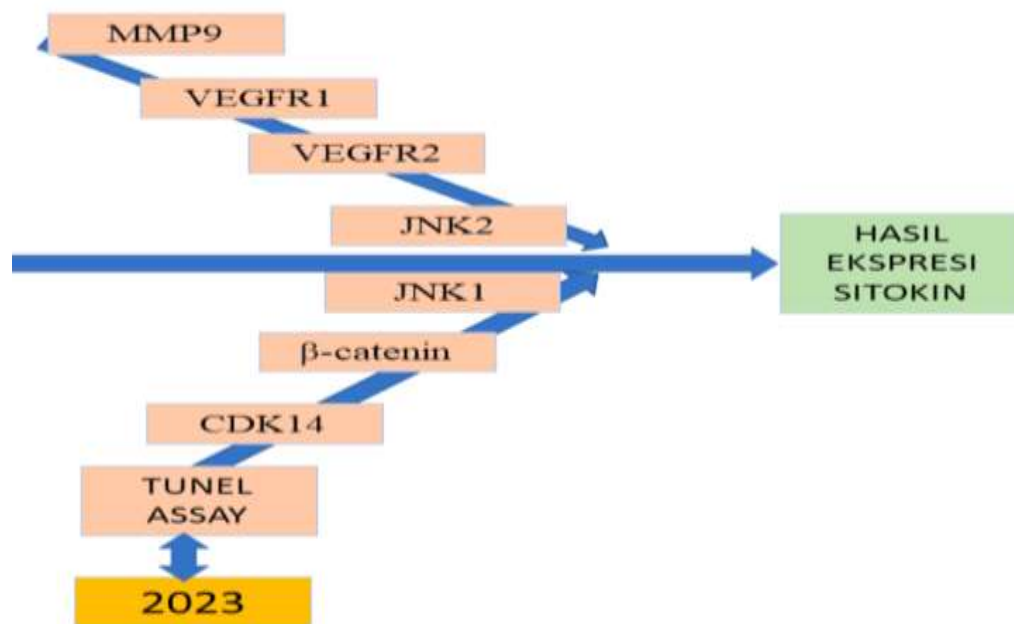
1. Pemeliharaan hewan coba, pembuatan hewan model kankers serviks, dan interevnsi pemberian ekstrak metanol buah andaliman dilakukan di Animal House FMIPA USU.
2. Pembuatan ekstrak metanol buah andaliman dilakukan di Lab. Penelitian Universitas Metodis Indonesia dan pemeriksaan HE dan AgNOR
3. Pembuatan IHC dilakukan di Lab PA RS. Murni Teguh Medan.

**F. KENDALA PELAKSANAAN PENELITIAN:** Tuliskan kesulitan atau hambatan yang dihadapi selama melakukan penelitian dan mencapai luaran yang dijanjikan, termasuk penjelasan jika pelaksanaan penelitian dan luaran penelitian tidak sesuai dengan yang direncanakan atau dijanjikan.

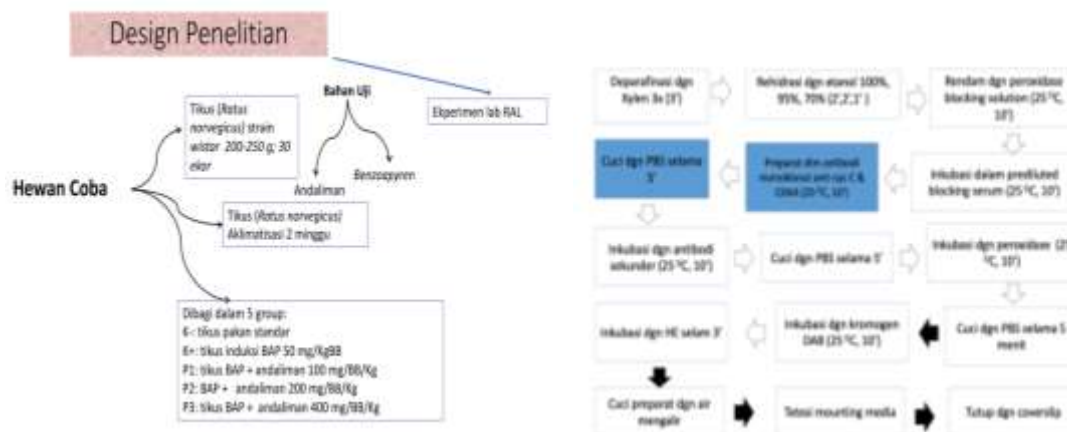
Sampai saat ini tidak ada kendala ditemukan

**G. RENCANA TAHAPAN SELANJUTNYA:** Tuliskan dan uraikan rencana penelitian di tahun berikutnya berdasarkan indikator luaran yang telah dicapai, rencana realisasi luaran wajib yang dijanjikan dan tambahan (jika ada) di tahun berikutnya serta *roadmap* penelitian keseluruhan. Pada bagian ini diperbolehkan untuk melengkapi penjelasan dari setiap tahapan dalam metoda yang akan direncanakan termasuk jadwal berkaitan dengan strategi untuk mencapai luaran seperti yang telah dijanjikan dalam proposal. Jika diperlukan, penjelasan dapat juga dilengkapi dengan gambar, tabel, diagram, serta pustaka yang relevan. Jika laporan kemajuan merupakan laporan pelaksanaan tahun terakhir, pada bagian ini dapat dituliskan rencana penyelesaian target yang belum tercapai.

Penelitian di tahun selanjutnya sejalan dengan penelitian pada tahun pertama, namun terdapat perbedaan pada beberapa antibodi sitokin yaitu: VEGFR1, VEGFR2, JNK2, JNK1,  $\beta$ -catenin, dan CDK14 (Gambar dibawah berikut).



Tikus dibagi menjadi lima kelompok. Kelompok K- sebagai kelompok kontrol, Kelompok K+ adalah tikus model kanker, kelompok P1 adalah tikus model kanker dengan dosis 100mg / BW ZAM, kelompok P2 adalah tikus model kanker dengan dosis ZAM 200 mg/BW, dan kelompok P3 adalah tikus model kanker dengan dosis 400 mg/BW ZAM selama 30 hari pemberian (3). Tikus dibedah pada hari ke 30 setelah pemberian ZAM, serviks diambil, disiapkan blok parafin untuk pewarnaan imunohistokimia (Gambar dibawah berikut) kemudian data akan dilakukan dengan uji statistik yang sesuai dengan menggunakan SPSS 24, yang dinyatakan sebagai mean  $\pm$  SD dan dianalisis dengan uji Anova dan data non parametrik akan diuji dengan uji Kruskal Wallis dan uji lanjutan Man Witney.



Pada Tahap ini peneliti sedang menunggu luaran tahun ini yang sudah disubmit dan sedang dalam proses review. Untuk luaran tahun selanjutnya, Luaran Wajib berupa jurnal terindex Scopus Q2, Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research (JPPRes) (ISSN 0719-4250) Tambahan tahun kedua jurnal terindex Scopus Q1 accepted pada Saudi Journal of Biological Science, Nilai SJR: 0,71 ISSN 1319562X dan Paten sederhana dengan status terdaftar. TKT penelitian ini masuk kategori TKT 2 dengan target TKT 3: pembuktian konsep sitokin dalam terapi kanker serviks terhadap buah andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium*).

**H. DAFTAR PUSTAKA:** Penyusunan Daftar Pustaka berdasarkan sistem nomor sesuai dengan urutan pengutipan. Hanya pustaka yang disitasi pada laporan kemajuan yang dicantumkan dalam Daftar Pustaka.

1. Nayaka S, Chakraborty B, Pallavi S, Bhat MP, Shashiraj K, Ghasti B. Synthesis of biogenic silver nanoparticles using zanthoxylum rhetsa (Roxb.) dc seed coat extract as reducing agent and in-vitro assessment of anticancer effect on a549 lung cancer cell line. Int J Pharm Res. 2020;12(3):302–14.
2. Tyagi K, Chandra L, Kumar M, Singh S, Passi D, Goyal J, et al. AgNOR as an effective diagnostic tool for determining the proliferative nature of different types of odontogenic cysts. J Fam Med Prim Care. 2020;9(1):125.
3. Mahobia R, Khandare M, Nayak R, Yadav BS. Value of Argyrophilic Nucleolar Organizer regions in Benign , Premalignant , and Malignant Lesions of Cervix Uteri. 2018;5(12):121–5.
4. Hoerunnisa A, Suryani N, Efendi A. the Effectiveness of the Use of E-Learning in Multimedia Classes To Improve Vocational Students’ Learning Achievement and Motivation. Kwangsan J Teknol Pendidik. 2019;7(2):123.
5. Oshima CTF, Forones NM. AgNOR in cancer of the stomach. Arq Gastroenterol. 2001;38(2):89–93.
6. Ahmed HG, Al-Adhraei MA, Ashankyty IM. Association between AgNORs and Immunohistochemical Expression of ER, PR, HER2/neu, and p53 in Breast Carcinoma. Patholog Res Int. 2011;2011:1–6.
7. Darkwah WK, Aidoo G, Ao Y, Owusu Danquah K, Adjei E, Adankwah E, et al. Assessment of proliferative index in different grades of breast cancers using AgNOR (Agyrophilic Nuclear Organizer Region) expression. Beni-Suef Univ J Basic Appl Sci. 2018;7(4):587–92.
8. Srivastava AN, Misra JS, Singh U, Khan M, Raza S. AgNOR Pleomorphic Count as a Tumor Marker in Cervical Carcinogenesis and Feasibility of Its Introduction in Cervical Cancer Screening Programs to Discriminate High-Risk Cases of Squamous Intraepithelial Lesions of the Cervix. Acta Cytol. 2019;
9. KC SR, Talwar O. Value of Nucleolar Organizer Regions count in cervical pathology. J Pathol Nepal. 1970;2(3):180–5.
10. Shen WJ, Fu S, Li N, Li LL, Cao ZG, Li C, et al. Decreased mean platelet volume is associated with cervical cancer development. Asian Pacific J Cancer Prev. 2017;

11. Chen Q, Cao H, Zheng P. LGR5 promotes the proliferation and tumor formation of cervical cancer cells through the Wnt /  $\beta$ -catenin signaling pathway. *oncotarget J.* 2014;5(19):90929105LGR.
12. Chagnaud JL, Moreau JM, Veyret B. No effect of short-term exposure to GSM-modulated low-power microwaves on benzo(a)pyrene-induced tumours in rat. *Int J Radiat Biol.* 1999;
13. Wightman A. Ethics. In: *The Szymanowski Companion.* 2016.
14. Moore M, Manan A, Chow K, Cornain S, Beena DC, Triningsih F. Cancer epidemiology and control in peninsular and island South-East Asia-past, present and future. *Asian Pac J Cancer Prev [Internet].* 2010;11:81–98. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tplants.2011.03.004><http://dx.doi.org/10.1016/j.pbi.2010.01.004><http://www.biomedcentral.com/1471-2156/12/42><http://dx.doi.org/10.1016/j.biotechadv.2009.11.005><http://www.sciencemag.org/content/323/5911/240.short>
15. Natasutedja AO, Lumbantobing E, Josephine E, Carol L, Junaedi DI, Normasiwi S, et al. Botanical Aspects, Phytochemicals and Health Benefits of Andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium*). *Indones J Life Sci ISSN 2656-0682.* 2020;2(1):8–15.
16. Kannathasan K, Senthilkumar A, Venkatesalu V. Crystal structure and antibacterial evaluation of epifriedelinol isolated from *Vitex peduncularis* Wall. ex Schauer. *Arab J Chem.* 2019;
17. Moektiwardoyo M, Muchtaridi M, Halimah E. Chemical composition and locomotor activity of Andaliman fruits (*Zanthoxylum acanthopodium* DC.) essential oil on mice. *Int J Pharm Pharm Sci.* 2014;6(2):547–50.
18. Kristanty RE, Suriawati J. The Indonesian *Zanthoxylum acanthopodium* DC.: Chemical and biological values. *Int J PharmTech Res.* 2015;8(6).
19. Luaran J@ E, Samsuri NN, Nadzri FA, Rom KBM. A Study on the Student's Perspective on the Effectiveness of Using e-learning. *Procedia - Soc Behav Sci [Internet].* 2014;123:139–44. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.sbspro.2014.01.1407>
20. Li K, Zhou R, Wang Jia W, Li Z, Li J, Zhang P, et al. *Zanthoxylum bungeanum* essential oil induces apoptosis of HaCaT human keratinocytes. *J Ethnopharmacol.* 2016;
21. Seifried RM, Harrison E, Seifried HE. Antioxidants in health and disease. In: *Nutrition in the Prevention and Treatment of Disease.* 2017.
22. Afyanti Y, Wardani I, Martha E. The Quality of Life of Women with Cervical Cancer in Indonesia: A Cross-Sectional Study. *Nurse Media JI Nurs [Internet].* 2019;9(2):128–40. Available from: <https://doi.org/10.14710/nmjn.v9i2.26014>
23. Chou ST, Chan HH, Peng HY, Liou MJ, Wu TS. Isolation of substances with antiproliferative and apoptosis-inducing activities against leukemia cells from the leaves of *Zanthoxylum ailanthoides* Sieb. & Zucc. *Phytomedicine.* 2011;
24. Nagata S, Tanaka M. Programmed cell death and the immune system. *Nature Reviews Immunology.* 2017.
25. Situmorang PC, Ilyas S, Hutahaean S. Effect of Combination of Nano Herbal Andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC.) and Extra Virgin Olive Oil (EVOO) to Kidney Histology of Preeclampsia Rats. In: *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science.* 2019.
26. Situmorang PC, Ilyas S, Hutahaean S, Rosidah R. Effect of nanoherbal andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium*) and extra virgin olive oil combination on preeclamptic rats liver histology. *Open Access Maced J Med Sci.* 2019;7(14):2226–31.
27. Simanullang RH, Situmorang PC, Herlina M, Noradina, Silalahi B, Manurung SS. Histological changes of cervical tumours following *Zanthoxylum acanthopodium* DC treatment, and its impact on cytokine expression. *Saudi J Biol Sci [Internet].* 2022;29(xxxx):1–13. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.12.065>
28. CH W, FI N, V K, Indariani S. A review of the bioactivity and flavor properties of the exotic spice “andaliman” (*Zanthoxylum acanthopodium* DC.). *Food Rev Int.* 2018;35:1–19.
29. Syari DM, Rosidah R, Anjelisa P, Hasibuan Z, Haro G, Satria D. Evaluation of Cytotoxic Activity Alkaloid Fractions of *Zanthoxylum acanthopodium* DC. *Fruits the Creative Commons Attribution-*

NonCommercial 4.0 International License (CC BY-NC 4.0). Herb Med Pharm Clin Sci. 2019;

30. Harahap U, Hasibuan PAZ, Sitorus P, Arfian N, Satria D. Antimigration activity of an ethylacetate fraction of *Zanthoxylum acanthopodium* DC. fruits in 4T1 breast cancer cells. *Asian Pacific J Cancer Prev.* 2018;
31. Rosidah, Hasibuan PAZ, Haro G, Satria D. Cytotoxicity Activity of Ethanol Extract of Andaliman Fruits ( *Zanthoxylum acanthopodium* DC .) towards 4T1 Breast Cancer Cells. *Indones J Pharm Clin Res.* 2019;02(2):31–5.
32. Mohammad T, Batra S, Dahiya R, Baig MH, Rather IA, Dong JJ, et al. Identification of high-affinity inhibitors of cyclin-dependent kinase 2 towards anticancer therapy. *Molecules.* 2019;
33. Dickson MA. Molecular pathways: CDK4 inhibitors for cancer therapy. *Clin Cancer Res.* 2014;
34. Situmorang PC, Ilyas S, Hutahaean S. Study of combination of nanoherbal andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium*) and extra virgin olive oil (evoo) effects in the expression of malondialdehyde (mda), heat shock protein-70 (hsp70) and placental histology of preeclamptic rats. *Pharm Sci.* 2019;
35. Wijaya CH, Napitupulu FI, Karnady V, Indariani S. A review of the bioactivity and flavor properties of the exotic spice “andaliman” (*Zanthoxylum acanthopodium* DC.). *Food Reviews International.* 2019.
36. Rosidah, Hasibuan PAZ, Haro G, Masri P, Satria D. Antioxidant activity of alkaloid fractions of *Zanthoxylum acanthopodium* dc. Fruits with 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl assay. *Asian J Pharm Clin Res.* 2018;
37. Xiong Y, Li T, Assani G, Ling H, Zhou Q, Zeng Y, et al. Ribociclib, a selective cyclin D kinase 4/6 inhibitor, inhibits proliferation and induces apoptosis of human cervical cancer in vitro and in vivo. *Biomed Pharmacother.* 2019;
38. Oh SJ, Cho H, Kim S, Noh KH, Song KH, Lee HJ, et al. Targeting cyclin D-CDK4/6 sensitizes immune-refractory cancer by blocking the SCP3–NANOG axis. *Cancer Res.* 2018;
39. Ekane G, Obinchemti TE, Nguetack CT, Nkambfu DM, Tchounzou1 R, Nsagha D, et al. Pap Smear Screening , the Way Forward for Prevention of Cervical Cancer ? A Community Based Study in the Buea Health District , Cameroon. *Open J Obstet Gynecol.* 2015;5(April):226–33.
40. Kim EJ, Kang CW, Kim NH, Seo YB, Nam SW, Kim G Do. Induction of Apoptotic Cell Death on Human Cervix Cancer HeLa cells by Extract from *Loranthus yadoriki*. *Biotechnol Bioprocess Eng.* 2018;
41. Singh TD, Meitei HT, Sharma AL, Robinson A, Singh LS, Singh TR. Anticancer properties and enhancement of therapeutic potential of cisplatin by leaf extract of *Zanthoxylum armatum* DC. *Biol Res.* 2015;
42. Pang W, Liu S, He F, Li X, Saira B, Zheng T, et al. Anticancer activities of *Zanthoxylum bungeanum* seed oil on malignant melanoma. *J Ethnopharmacol.* 2019;229(January):180–9.
43. Situmorang PC, Ilyas S, Hutahaean S, Rosidah, Manurung RD. Acute toxicity test and histological description of organs after giving nano herbal andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium*). *Rasayan J Chem.* 2020;13(2):780–8.
44. Satria D, Silalahi J, Haro G, Ilyas S, Hasibuan PAZ. Chemical analysis and cytotoxic activity of N-hexane fraction of *Zanthoxylum acanthopodium* DC. fruits. *Rasayan J Chem.* 2019;
45. Suryanto E, Sastrohamidjojo H, Raharjo S, Tranggono. Antiradical Activity of Andaliman (*Z. acanthopodium* DC.) Fruit Extract. *Food Nut.* 2004;11:15–9.
46. Yanti Y, Pramudito T, Nuriasari N, Juliana K. Inhibitory Effects of Indonesian Lemon Pepper Fruit Extract (*Zanthoxylum acanthopodium* DC.) on The Expression of Inflammatory Biomarkers in Lipopolysaccharide-induced Macrophages In Vitro. *Planta Med.* 2011;
47. Redza-Dutordoir M, Averill-Bates DA. Activation of apoptosis signalling pathways by reactive oxygen species. *Biochim Biophys Acta - Mol Cell Res [Internet].* 2016;1863(12):2977–92. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2016.09.012>
48. Thiriet M. Control of Cell Fate in the Circulatory and Ventilatory Systems. *Control of Cell Fate in the Circulatory and Ventilatory Systems.* 2012.
49. Tusskorn O, Khunluck T, Prawan A, Senggunprai L, Kukongviriyapan V. Mitochondrial division

- inhibitor-1 potentiates cisplatin-induced apoptosis via the mitochondrial death pathway in cholangiocarcinoma cells. *Biomed Pharmacother.* 2019;
50. Mrakovcic M, Fröhlich LF. P53-mediated molecular control of autophagy in tumor cells. *Biomolecules* [Internet]. 2018;8(2):14. Available from: <https://doi.org/10.3390/biom8020014>
  51. Pal S, Goel H, Jha AK. Apoptosis Caused by Natural Compounds in Cervical Cancer Cell Line. 2019;14(3). Available from: <https://juniperpublishers.com/ctoij/pdf/CTOIJ.MS.ID.555886.pdf>
  52. Sasaki Y, Iwanari O, Arakawa I, Moriya T, Mikami Y, Iihara K, et al. Cervical Cancer Screening With Human Papillomavirus DNA and Cytology in Japan. *Int J Gynecol Cancer.* 2017;27(3):523–9.
  53. Sawaya GF, Kulasingam S, Denberg TD, Qaseem A. Cervical Cancer screening in average-risk women: Best practice advice from the clinical guidelines committee of the American College of Physicians. *Ann Intern Med.* 2015;
  54. Li M, He Y, Peng C, Xie X, Hu G. Erianin inhibits human cervical cancer cell through regulation of tumor protein p53 via the extracellular signal - regulated kinase signaling pathway. 2018;5006–12.
  55. Zhang L, Kong H, Ting Chin C, Liu S, Fan X, Wang T, et al. Automation-assisted cervical cancer screening in manual liquid-based cytology with hematoxylin and eosin staining. *Cytom Part A.* 2014;
  56. Ruan Y, Jiang S, Musayeva A, Gericke A. Oxidative stress and vascular dysfunction in the retina: Therapeutic strategies. *Antioxidants.* 2020;9(8):1–30.
  57. Kristanty RE, Suriawati J. Cytotoxic and antioxidant activity of petroleum extract of Andaliman fruits (*Zanthoxylum acanthopodium* DC.). *Int J PharmTech Res.* 2014;6(3):1064–9.
  58. Ikumawoyi VO, Awodele O, Rotimi K, Fashina AY. Evaluation of the effects of the hydro-ethanolic root extract of *Zanthoxylum zanthoxyloides* on hematological parameters and oxidative stress in cyclophosphamide treated rats. *African J Tradit Complement Altern Med.* 2016;
  59. Gordon SR, Maute RL, Dulken BW, Hutter G, George BM, McCracken MN, et al. PD-1 expression by tumour-associated macrophages inhibits phagocytosis and tumour immunity. *Nature.* 2017.
  60. Liren. Lemon Pepper Fruit Extract (*Zanthoxylum acanthopodium* DC.) Suppresses the Expression of Inflammatory Mediators in Lipopolysaccharide-Induced Macrophages *In Vitro.* *Am J Biochem Biotechnol.* 2011;
  61. Liu H, Su D, Zhang J, Ge S, Li Y, Wang F, et al. Improvement of Pharmacokinetic Profile of TRAIL via Trimer-Tag Enhances its Antitumor Activity in vivo. *Sci Rep.* 2017;
  62. Van NTH, Tuyen TT, Quan PM, Long PQ, Nhiem NX, Tai BH, et al. Alkaloid glycosides and their cytotoxic constituents from *Zanthoxylum nitidum*. *Phytochem Lett.* 2019;32(August):47–51.
  63. Wang JM, Wang Y, Huang YQ, Wang H, Zhu J, Shi JP, et al. Prognostic Values of Platelet-Associated Indicators in Resectable Cervical Cancer. *Dose-Response.* 2019;17(3):1–7.

## SURAT PERNYATAAN TANGGUNG JAWAB BELANJA

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Ners Dr ROSTIME HERMAYERNI SIMANULLANG S.Kep, M.Kes

Alamat : Jl. Karya Murni Kav. 07 Kel. Gedung Johor Kec. Medan Johor Sumatera Utara 20144

berdasarkan Surat Keputusan Nomor 029/LL1/LT/K2022 dan Perjanjian / Kontrak Nomor 158/LT.01 /STIKes-MT/VI/2022 mendapatkan Anggaran Penelitian Terapi Sitokinin Terhadap Kanker Serviks Menggunakan Buah Andaliman (*Zanthoxylum acantopodium*) Sebagai Bahan Baku Obat Sebesar 187,800,000

Dengan ini menyatakan bahwa :

1. Biaya kegiatan Penelitian di bawah ini meliputi :

No	Uraian	Jumlah
01	<b>Bahan</b> Bahan habis pakai untuk penelitian	126,045,000
02	<b>Pengumpulan Data</b>	0
03	<b>Analisis Data(Termasuk Sewa Peralatan</b>	3,815,000
04	<b>Pelaporan, Luaran Wajib dan Luaran Tambahan</b>	0
05	<b>Lain-lain</b> ATK	1,600,000
	Jumlah	131,460,000

2. Jumlah uang tersebut pada angka 1, benar-benar dikeluarkan untuk pelaksanaan kegiatan Penelitian dimaksud.

Demikian surat pernyataan ini dibuat dengan sebenarnya.

, 22-09-2022

Ketua,



(Ners Dr ROSTIME HERMAYERNI  
SIMANULLANG S.Kep, M.Kes)  
NIP/NIK 127120530970001



No.	KELOMPOK	KOMPONEN	ITEM	SATUAI VOLU HARGA			TOTAL
1	Bahan	ATK	Kertas	Lembar	750	2,000	1,500,000
2	Bahan	ATK	Materai 10000	lbr	10	10,000	100,000
3	Bahan	Bahan Penelitian (Habis Pakai)	Tikus	Ekor	40	65,000	2,600,000
4	Bahan	Bahan Penelitian (Habis Pakai)	Pelet	Karung	10	500,000	5,000,000
5	Bahan	Bahan Penelitian (Habis Pakai)	Sekam	Karung	40	20,000	800,000
6	Bahan	Bahan Penelitian (Habis Pakai)	Sput 3 cc	buah	40	5,000	200,000
7	Bahan	Bahan Penelitian (Habis Pakai)	NaCl 0.9%	Botol	20	25,000	500,000
8	Bahan	Bahan Penelitian (Habis Pakai)	Formalin75	Liter	5	75,000	375,000
9	Bahan	Bahan Penelitian (Habis Pakai)	Botol film	buah	40	2,000	80,000
10	Bahan	Bahan Penelitian (Habis Pakai)	Tabung Vacutainer	Buah	40	35,000	1,400,000
11	Bahan	Bahan Penelitian (Habis Pakai)	Buah Andaliman	Kg	20	350,000	7,000,000
12	Bahan	Bahan Penelitian (Habis Pakai)	Minyak jagung	Kg	2	80,000	160,000
13	Bahan	Bahan Penelitian (Habis Pakai)	Metanol 96%	Liter	50	25,000	1,250,000
14	Bahan	Bahan Penelitian (Habis Pakai)	Biaya ekstrak buah andaliman	Paket	1	300,000	300,000
15	Bahan	Bahan Penelitian (Habis Pakai)	Aquades	Liter	30	25,000	750,000
16	Bahan	Bahan Penelitian (Habis Pakai)	Gelas objek	kotak	6	150,000	900,000
17	Bahan	Bahan Penelitian (Habis Pakai)	Gelas penutup	kotal	6	150,000	900,000
18	Bahan	Bahan Penelitian (Habis Pakai)	Ketamin injeksi	vial	6	400,000	2,400,000
19	Bahan	Bahan Penelitian (Habis Pakai)	Benzoapyren kit	pcs	1	7,900,000	7,900,000
20	Bahan	Bahan Penelitian (Habis Pakai)	Antibody IL10 Kit	Kit	1	8,500,000	8,500,000
21	Bahan	Bahan Penelitian (Habis Pakai)	Antibody IL18 kit	Kit	1	8,500,000	8,500,000
22	Bahan	Bahan Penelitian (Habis Pakai)	Antibody IL-1 $\beta$ kit	kit	1	8,500,000	8,500,000
23	Bahan	Bahan Penelitian (Habis Pakai)	Antibody TG $\beta$ 1 kit	kit	1	8,500,000	8,500,000
24	Bahan	Bahan Penelitian (Habis Pakai)	Antibody TG $\beta$ 2 kit	kit	1	8,500,000	8,500,000
25	Bahan	Bahan Penelitian (Habis Pakai)	Antibody GLUT-1 kit	kit	1	8,500,000	8,500,000
26	Bahan	Bahan Penelitian (Habis Pakai)	Antibody GLUT-2 kit	kit	1	8,500,000	8,500,000
27	Bahan	Bahan Penelitian (Habis Pakai)	IHC IL10	slide	40	250,000	10,000,000
28	Bahan	Bahan Penelitian (Habis Pakai)	IHC IL18	slide	40	250,000	10,000,000
29	Bahan	Bahan Penelitian (Habis Pakai)	IHC IL-1 $\beta$	slide	40	250,000	10,000,000
30	Bahan	Bahan Penelitian (Habis Pakai)	IHC TG $\beta$ 1	slide	40	250,000	10,000,000

31 Bahan	Bahan Penelitian (Habis Pakai)	IHC TGβ2	slide	40	250,000	10,000,000
32 Bahan	Bahan Penelitian (Habis Pakai)	IHC GLUT-1	slide	40	250,000	10,000,000
33 Bahan	Bahan Penelitian (Habis Pakai)	IHC GLUT-2	slide	40	250,000	10,000,000
34 Bahan	Bahan Penelitian (Habis Pakai)	Formalin	liter	5	75,000	375,000
35 Bahan	Barang Persediaan	Kandang tikus (Box)	Buah	20	80,000	1,600,000
36 Bahan	Barang Persediaan	Kawat	Meter	30	20,000	600,000
37 Bahan	Barang Persediaan	Botol minum untuk tikus	Botol	30	20,000	600,000
38 Bahan	Barang Persediaan	Bisturi	Pack	2	70,500	141,000
39 Bahan	Barang Persediaan	Surgical Blades scalpel	pcs	3	73,500	220,500
40 Bahan	Barang Persediaan	Timbangan organ	pcs	1	848,500	848,500
41 Sewa Peralatan	Peralatan penelitian	Sewa rumah hewan	Bulan	6	600,000	3,600,000
42 Sewa Peralatan	Peralatan penelitian	Sewa Ruang Analisis Darah	Bulan	2	600,000	1,200,000
43 Sewa Peralatan	Ruang penunjang penelitian	Sewa ELISA Reader	Bulan	1	500,000	500,000
44 Pelaporan, Luar Publikasi artikel di Jurnal Internasional:	Biaya Publikasi Jurnal +proofreadir	Buah	1	10,000,000	10,000,000	
45 Pelaporan, Luar Biaya penyusunan buku termasuk bo	Pencetakan buku ajar Ber ISBN	paket	1	4,500,000	4,500,000	
<b>TOTAL</b>						<b>187,800,000</b>