



Dr. Rostime Hermayerni Simanullang, S.Kep., Ns., M.Kes.
Dr. Putri Cahaya Situmorang, M.Si. | Dr.dr. Jekson Martiar Siahaan, M. Biomed., AIFO.

Editor: Dr. Putri Cahaya Situmorang, M.Si.

Terapi Sitokin Terhadap Andaliman Cegah Kanker Serviks

**TERAPI SITOKIN TERHADAP
ANDALIMAN CEGAH
KANKER SERVIKS**

UU No 28 tahun 2014 tentang Hak Cipta

Fungsi dan sifat hak cipta Pasal 4

Hak Cipta sebagaimana dimaksud dalam Pasal 3 huruf a merupakan hak eksklusif yang terdiri atas hak moral dan hak ekonomi.

Pembatasan Pelindungan Pasal 26

Ketentuan sebagaimana dimaksud dalam Pasal 23, Pasal 24, dan Pasal 25 tidak berlaku terhadap:

- i. Penggunaan kutipan singkat Ciptaan dan/atau produk Hak Terkait untuk pelaporan peristiwa aktual yang ditujukan hanya untuk keperluan penyediaan informasi aktual;
- ii. Penggandaan Ciptaan dan/atau produk Hak Terkait hanya untuk kepentingan penelitian ilmu pengetahuan;
- iii. Penggandaan Ciptaan dan/atau produk Hak Terkait hanya untuk keperluan pengajaran, kecuali pertunjukan dan Fonogram yang telah dilakukan Pengumuman sebagai bahan ajar; dan
- iv. Penggunaan untuk kepentingan pendidikan dan pengembangan ilmu pengetahuan yang memungkinkan suatu Ciptaan dan/atau produk Hak Terkait dapat digunakan tanpa izin Pelaku Pertunjukan, Produser Fonogram, atau Lembaga Penyiaran.

Sanksi Pelanggaran Pasal 113

1. Setiap Orang yang dengan tanpa hak melakukan pelanggaran hak ekonomi sebagaimana dimaksud dalam Pasal 9 ayat (1) huruf i untuk Penggunaan Secara Komersial dipidana dengan pidana penjara paling lama 1 (satu) tahun dan/atau pidana denda paling banyak Rp100.000.000 (seratus juta rupiah).
2. Setiap Orang yang dengan tanpa hak dan/atau tanpa izin Pencipta atau pemegang Hak Cipta melakukan pelanggaran hak ekonomi Pencipta sebagaimana dimaksud dalam Pasal 9 ayat (1) huruf c, huruf d, huruf f, dan/atau huruf h untuk Penggunaan Secara Komersial dipidana dengan pidana penjara paling lama 3 (tiga) tahun dan/atau pidana denda paling banyak Rp500.000.000,00 (lima ratus juta rupiah).

TERAPI SITOKIN TERHADAP ANDALIMAN CEGAH KANKER SERVIKS

Dr. Rostime Hermayerni Simanullang, S.Kep., Ns., M.Kes.

Dr. Putri Cahaya Situmorang, M.Si.

Dr.dr. Jekson Martiar Siahaan, M. Biomed., AIFO-K



Cerdas, Bahagia, Mulia, Lintas Generasi.

TERAPI SITOKIN TERHADAP ANDALIMAN CEGAH KANKER SERVIKS

**Rostime Hermayerni Simanullang
Putri Cahaya Situmorang
Jekson Martiar Siahaan**

Desain Cover :
Ali Hasan Zein

Sumber :
www.shutterstock.com

Tata Letak :
Werdiantoro

Proofreader :
Mira Muarifah

Ukuran :
viii, 88 hlm, Uk: 17.5x25 cm

ISBN :
978-623-02-5484-0

Cetakan Pertama :
November 2022

Hak Cipta 2022, Pada Penulis

Isi diluar tanggung jawab percetakan

Copyright © 2022 by Deepublish Publisher
All Right Reserved

Hak cipta dilindungi undang-undang.
Dilarang keras menerjemahkan, memfotokopi, atau
memperbanyak sebagian atau seluruh isi buku ini
tanpa izin tertulis dari Penerbit.

**PENERBIT DEEPUBLISH
(Grup Penerbitan CV BUDI UTAMA)**

Anggota IKAPI (076/DIY/2012)

Jl.Rajawali, G. Elang 6, No 3, Drono, Sardonoarjo, Ngaglik, Sleman

Jl.Kaliurang Km.9,3 – Yogyakarta 55581

Telp/Faks: (0274) 4533427

Website: www.deepublish.co.id

www.penerbitdeepublish.com

E-mail: cs@deepublish.co.id

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa atas berkat dan rahmatNya kepada penulis, sehingga buku ini dapat terselesaikan dengan judul “**Terapi Sitokin Terhadap Andaliman Cegah Kanker Serviks**”. Penyakit kanker serviks merupakan pembunuh Wanita tertinggi nomor dua di dunia dan nomor satu di negara-negara sedang berkembang termasuk Indonesia.

Buku ini ditulis berdasarkan hasil penelitian penulis dan teori-teori yang sudah dibaca oleh si penulis. Penulis tentu menyadari bahwa buku ini masih jauh dari kata sempurna dan masih banyak terdapat kesalahan serta kekurangan di dalamnya. Untuk itu, penulis mengharapkan kritik serta saran dari pembaca untuk kesempurnaan buku ini di kemudian hari, supaya buku ini nantinya dapat menjadi buku yang lebih dan mudah dipahami oleh para pembaca dan bermanfaat pula bagi orang banyak terutama para wanita agar terhindar dari penyakit kanker serviks dan diharapkan dapat mengkonsumsi buah andaliman dalam setiap masakan sehari-hari.

Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah terlibat dalam penulisan buku ini yang tidak dapat kami sebutkan satu persatu. Ucapan terimakasih sebesar-besarnya kepada Direktur Riset dan Pengabdian (DRPM) Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi, yang mendanai penelitian sampai kami mempublikasi buku ini dengan Nomor Kontrak: 158/LT.01/STIKes-MT/VI/2022, tertanggal 15 Juni 2022. Semoga buku ini bermanfaat bagi para peneliti selanjutnya, akademisi dan para praktisi kesehatan sehingga secara implisit dapat membantu pemerintah menurunkan angka kematian pada wanita akibat kanker serviks.

Penulis

Rostime, Putri dan Jekson

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR.....	v
BAB 1 PENDAHULUAN	1
BAB 2 ANDALIMAN (<i>Zanthoxylum acanthopodium DC.</i>)	7
2.1 Deskripsi dan Sistematika Andaliman	7
2.2 Klasifikasi Andaliman (<i>Zanthoxylum acanthopodium DC.</i>).....	8
Senyawa Bioaktif Andaliman (<i>Zanthoxylum acanthopodium DC.</i>)	9
2.3 Khasiat Andaliman	11
BAB 3 KANKER SERVIKS	13
3.1 Definisi Kanker Serviks	13
3.2 Etiologi Kanker Serviks	13
3.3 Manifestasi Klinis Kanker Serviks	15
3.4 Faktor Risiko Kanker Serviks.....	15
3.5 Stadium Kanker Serviks.....	16
3.6 Patofisiologi Kanker Serviks	16
3.7 Pencegahan Kanker Serviks	19
3.8 Signaling Pathway in Cervical Cancer	20
3.9 Pengobatan Kanker Serviks.....	24
3.10 Antioksidan	26
3.10.1 Pengertian Antioksidan	26
BAB 4 PENGARUH ANDALIMAN PADA KANKER SERVIKS TIKUS DENGAN PEWARNAAN AgNOR	28
4.1 AgNOR	28
4.2 Pengaruh Andaliman pada Kanker Serviks Tikus (<i>Rattus novergicus</i>) dengan AgNOR	29
BAB 5 PENGARUH ANDALIMAN TERHADAP KANKER SERVIKS TIKUS DENGAN PEWARNAAN HAEMATOXYLINE-EOSIN (HE)	32
5.1 Pewarnaan Haematokxylin-Eosin (HE).....	32
5.2 Pengaruh Andaliman pada Kanker Serviks terhadap Pewarnaan Haemotxyline-Eosin (HE)	33

BAB 6	PENGARUH ANDALIMAN TERHADAP EKSPRESI CDK4 PADA KANKER SERVIKS TIKUS	35
	6.1 Ciclyn Dependent Kinase 4 (CDK4)	35
	6.2 Pengaruh Andaliman terhadap Ekspresi CDK4 pada Kanker Serviks Tikus	36
BAB 7	PENGARUH ANDALIMAN TERHADAP EKSPRESI <i>CYTOCHROME C</i> PADA KANKER SERVIKS TIKUS.....	40
	7.1 Cytochrome c (Cytc).....	40
	7.2 Pengaruh Andaliman terhadap Ekspresi <i>Cytochrome c</i> (Cytc) pada Kanker Serviks Tikus.....	40
BAB 8	PENGARUH ANDALIMAN TERHADAP APOPTOSIS PADA KANKER SERVIKS TIKUS	43
	8.1 Apoptosis pada Kanker Serviks	43
	8.2 Pengaruh Andaliman terhadap Apoptosis pada Kanker Serviks Tikus	44
BAB 9	PENGARUH ANDALIMAN TERHADAP EKSPRESI IL-1 β PADA KANKER SERVIKS TIKUS	48
	9.1 Interleukin 1beta (IL-1 β)	48
	9.2 Pengaruh Andaliman terhadap Ekspresi IL-1 β pada Kanker Serviks Tikus.....	49
BAB 10	PENGARUH ANDALIMAN TERHADAP EKSPRESI IL-10 PADA KANKER SERVIKS TIKUS	53
	10.1 Interleukin 10 (IL-10)	53
	10.2 Pengaruh Andaliman terhadap Ekspresi IL-10 pada Kanker Serviks Tikus.....	54
BAB 11	PENGARUH ANDALIMAN TERHADAP EKSPRESI TGF- β 1 PADA KANKER SERVIKS TIKUS	57
	11.1 Transforming Growth Factor-Beta 1 TGF- β 1	57
	11.2 Pengaruh Andaliman terhadap Ekspresi TGF- β 1 pada Kanker Serviks Tikus.....	58
BAB 12	PENGARUH ANDALIMAN TERHADAP EKSPRESI VEGFR1 PADA KANKER SERVIKS	61
	12.1 Vascular Endothelial Growth Factor Receptor-1 (VEGFR-1).....	61
BAB 13	KESIMPULAN	65
	DAFTAR PUSTAKA	66
	BIOGRAFI PENULIS.....	87

BAB 1

PENDAHULUAN

Tumbuhan yang berpotensi untuk dijadikan obat di Indonesia sangat berlimpah namun belum banyak dimanfaatkan, hal ini merupakan aset Indonesia yang perlu dikembangkan. Potensi yang dimiliki Indonesia ini belum semua tereksplorasi maupun terdokumentasi dengan baik untuk digunakan dalam pengembangan obat bagi manusia. Oleh sebab itu obat tradisional tumbuhan Indonesia masih perlu digali, diteliti, dikembangkan dan diinventarisasi. Perlu dilakukan penelitian tentang tumbuhan yang berpotensi sebagai obat dan pengetahuan tentang bahan aktif yang terdapat pada tumbuhan serta fungsi dan prosesnya di dalam tubuh. Selain mudah diperoleh, obat tradisional yang berasal dari tumbuhan umumnya tidak memiliki efek samping, harganya relatif murah dan lebih mudah didapatkan bila dibandingkan dengan obat-obatan sintesis. Potensi tumbuhan lokal yang bermanfaat untuk kesehatan masih banyak yang belum dikaji dan beberapa tumbuhan sudah diteliti yang memiliki manfaat bagi kesehatan dan salah satu adalah tumbuhan andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC.) baik buah dan daunnya. Andaliman merupakan tanaman yang termasuk genus *Zanthoxylum*, famili *Rutaceae*. Buah andaliman telah lama digunakan masyarakat Suku Batak Toba sebagai bumbu masakan atau sebagai campuran masakan berbagai jenis makanan, seperti ikan mas *naniarsik*, *natinombur*, dan *saksang*. Masakan yang menggunakan buah andaliman umumnya lebih tahan lama (Parhusip, 2006). Istilah atau sebutan buah andaliman di Sumatera Utara juga berbeda pada setiap suku seperti pada Suku Batak Toba menyebutnya *ittir-ittir*, Suku Batak Karo menyebutnya "*tuba*" dan orang Jepang menyebutnya "*sansho*" (Kristanty and Suriawati 2015). Buah andaliman mengandung senyawa-senyawa yang bersifat antioksidan seperti flavonoid yang bermanfaat sebagai pelindung bagi sel-sel miokardium dengan menghambat aksi dari DOX sebagai *iron chelation*, aktivitas antioksidan, dan menghambat karbonil reduktase. Andaliman memiliki kandungan antioksidan seperti tiol atau asam askorbat (vitamin c) (Sayuti and Yenrina, 2015). Buah *Zanthoxylum* telah digunakan untuk mengobati

nyeri, muntah, diare, askariasis, dan pengobatan eksim topikal, anestesi, obat perut, dan gatal-gatal di Cina (Xiang *et al.*, 2016). Buah andaliman memiliki senyawa kimia golongan alkaloid, flavonoid, tanin, glikosida, steroid, terpenoid (Fauzi *et al.*, 2015; Nababan, 2012) dan *benzophenthridine*, *pyranoquinoline alkaloid*, *kwarter isoquinoline alkaloid*, *alkaloid aporphyrine* dan beberapa jenis lignan. Rasa khas andaliman didominasi oleh aroma jeruk yaitu *limonene* dan *citronellol* karena kandungan minyak asiri yang terkandung di dalamnya, di mana sebagian besar merupakan golongan terpenoid, yaitu geranyl asetat. Komponen lainnya adalah *β -myrcene*, *β -ocimene*, *linalool* dan *E-1-decenal* (Katzner, 2012).

Ekstrak andaliman bersifat infertilitas (Batubara *et al.*, 2017) dan potensi untuk dikembangkan sebagai ko-kemoterapi untuk kanker payudara (Anggraini *et al.*, 2014) serta memiliki efek kardioprotektif (Sihotang *et al.*, 2016a). Penelitian Moektiwardoyo *et al.*, (2014) mengungkapkan bahwa menghirup minyak esensial buah andaliman memberikan pengaruh yang berbeda dan berfungsi sebagai aktivitas lokomotor. Studi Hasibuan *et al.*, (2016) menemukan bahwa ekstrak buah andaliman memiliki potensi kuat untuk dikembangkan sebagai ko-kemoterapi pada kanker payudara.

Manfaat kandungan tumbuhan andaliman baik dari daun, buah dan batang mengandung beberapa zat yang berguna untuk kesehatan seperti hasil studi bahwa kandungan zat kimia buah andaliman dapat berfungsi sebagai: antibakteri, antifungal, analgesik, antioksidan, antibiotik, antiinflamasi, dan anti proliferasi (Negi *et al.*, 2011). Seperti yang sudah diungkapkan oleh peneliti lain bahwa fraksi alkaloid buah andaliman memiliki potensi sangat kuat sebagai antioksidan (Rosidah *et al.*, 2018; Syari *et al.*, 2019; Yam and Asmawi, 2008). Kristanty and Suriawati, (2014) mengungkapkan bahwa minyak ekstrak buah andaliman aktif sebagai *xanthine oxidase inhibitor* dengan IC₅₀ 9,9 $\mu\text{g}/\text{mL}$ dan memiliki aktivitas sitotoksik pada sel T47D dengan IC₅₀ 149,4 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Kandungan senyawa bioaktif ekstrak andaliman memiliki efek sitotoksitas yang poten terhadap sel kanker serviks (Fauzi *et al.*, 2015).

Antioksidan merupakan molekul yang mampu memperlambat atau mencegah proses oksidasi molekul. Oksidasi adalah reaksi kimia yang dapat menghasilkan radikal bebas, sehingga memicu reaksi berantai yang dapat merusak sel. Antioksidan seperti tiol atau asam askorbat (vitamin C) yang memiliki reaksi berantai. Hasil studi lain menyatakan bahwa dengan pemberian ekstrak andaliman memberi pengaruh yang signifikan terhadap peningkatan jumlah sel leukosit tikus yang berdampak terhadap sistem immunostimulan

(Purba and Sinaga, 2017). Sistem imun yang baik sangat diperlukan tubuh agar dapat melawan berbagai penyakit yang berkembang pada masyarakat sekarang ini. Jika sistem imun bekerja dengan baik, sistem ini akan melindungi tubuh terhadap infeksi bakteri dan virus serta menghancurkan sel kanker. Salah satu upaya pencegahan penyakit adalah peningkatan daya tahan tubuh yaitu dengan meningkatkan efektivitas sistem imunitas tubuh supaya sel-sel imun dapat terus melawan penyebab penyakit dan tubuh dapat terhindar dari berbagai penyakit. Respons imun diperlukan untuk tiga hal yaitu 1) pertahanan tubuh terhadap mikroorganisme; 2) homeostasis terhadap eliminasi komponen-komponen tubuh yang sudah tua dan; 3) pengawasan terhadap penghancuran sel-sel yang bermutasi terutama yang menjadi ganas (Purba and Sinaga 2017). Beberapa strategi terapi untuk penanganan inflamasi sudah luas dan dilaporkan, dengan menghambat pertumbuhan bakteri patogen atau menekan ekspresi sel-sel imun yang berlebihan (Yanti *et al.*, 2011).

Kanker adalah sekelompok besar penyakit yang dapat terjadi di hampir setiap organ atau jaringan tubuh ketika sel-sel abnormal tumbuh tidak terkontrol. Istilah lain yang digunakan untuk kanker adalah tumor ganas dan neoplasma. Terjadinya pertumbuhan sel-sel abnormal dapat menyerang bagian-bagian tubuh dan menyebar ke organ lain, proses ini disebut dengan metastasis. Metastasis merupakan penyebab kedua kematian secara global dan diperkirakan sebesar 9.6 juta kematian, atau satu dari enam kematian pada tahun 2018. Kanker yang paling umum terjadi pada pria adalah kanker paru-paru, prostat, kolorektal, perut dan hati. Sementara kanker yang umum menyerang pada wanita adalah kanker payudara, serviks, kolorektal, paru-paru, otak dan tiroid (WHO, 2018). Sekitar 70% kematian oleh karena kanker terjadi di negara berpenghasilan rendah dan menengah. Sekitar sepertiga kematian disebabkan oleh lima (5) risiko yang berhubungan dengan faktor perilaku dan diet ketat seperti: indeks massa tubuh tinggi, rendahnya asupan buah-buahan dan sayuran, kurangnya aktivitas fisik, penggunaan tembakau, dan alkohol (WHO, 2020).

Kanker serviks adalah tumor ganas yang tumbuh di dalam serviks bagian terendah rahim yang menempel pada cabang atas dari vagina dan 90% berasal dari sel skuamosa yang melapisi serviks dan 10% sisanya dari sel serviks bagian dalam saluran serviks daerah rahim (Halimatusyaadiah, 2014; Handayani and Suharmiati 2012; Sakthi, 2013). Kanker serviks merupakan kanker yang banyak menyerang wanita berusia 35-55 tahun (Halimatusyaadiah, 2014) dan saat ini menduduki urutan kedua dari penyakit kanker yang menyerang wanita di dunia

dan urutan pertama untuk wanita di negara-negara yang sedang berkembang (Emilia *et al.*, 2013). Kanker serviks, paling sering diinduksi oleh infeksi *Human Papiloma Virus* (HPV) pada lebih dari 99% kasus (Li *et al.*, 2018) dan terutama berawal dari perilaku hidup yang salah, melakukan hubungan seks secara dini. Iltis *et al.*, (2010) mengemukakan lebih dari 100 jenis HPV, 40 % berhubungan dengan penyakit anogenital dan sekitar 60% dianggap sebagai risiko tinggi terjadinya kanker serviks. Faktor risiko utama terjadinya kanker serviks di dunia terjadi karena akibat penggunaan tembakau, peminum alkohol, diet tidak sehat dan aktivitas fisik yang tidak seimbang serta faktor lain yang belum ditemukan. Beberapa infeksi kronik juga merupakan faktor risiko terjadinya kanker serviks dan infeksi dengan HIV secara substansial meningkatkan risiko terjadinya kanker serviks (WHO, 2018). Infeksi dengan beberapa HPV menyebabkan terjadinya kanker termasuk kanker serviks, kanker kepala dan leher, kanker vulvar, kanker vagina, kanker penis dan kanker anus. Sejauh ini, lebih dari 150 jenis HPV telah diidentifikasi di mana sekitar 50% dan 20% HPV16 dan HPV18 masing-masing bertanggung jawab sebagai penyebab terjadinya kanker serviks. Infeksi HPV terjadi lebih jelas karena respons imun yang rendah. Infeksi yang menetap sangat meningkatkan risiko terjadinya karsinogenesis. Pemahaman mekanisme HPV menyebabkan kanker dapat membantu pencegahan dan pengobatan penyakit. Kanker serviks diperkirakan berkembang melalui langkah proses yang kompleks dan melibatkan virus, gen supresor tumor, protoonkogenesis dan faktor imunologi (Chen, 2015). Penyebab terjadinya kanker dipengaruhi oleh banyak faktor yang masih harus diselidiki dan perlu penelitian-penelitian yang lebih lanjut (Xiao *et al.*, 2015).

Berdasarkan data Badan Kesehatan Dunia (WHO), 630 juta perempuan terjangkit penyakit kanker serviks dan setiap hari 600 nyawa perempuan di dunia terenggut olehnya (WHO, 2018). Setiap tahun ada 500.000 kasus baru kanker serviks di dunia (Soebachman and Agustina, 2015). Setiap tahun ada 500.000 kasus baru kanker serviks di dunia. Pada tahun 2012, ada perkiraan 527.624 kasus baru dan 265.672 kematian karena kanker serviks dan 85% dari kematian ini terjadi di Afrika sub-Sahara (Nakisige *et al.*, 2017).

Di negara maju, angka kejadian kanker serviks sekitar 4 % dari seluruh kejadian kanker pada wanita, sedangkan di negara berkembang, seperti Asia Selatan dan Asia Tenggara angka tersebut mencapai di atas 15%. Angka di Amerika Latin dan Afrika Sub-Sahara sama dengan angka di Asia. Diperkirakan angka kejadian kanker serviks di Filipina (*age-standardized rate* (ASR):20,9 per 100.000), Thailand (ASR: 19,8), dan Vietnam (ASR: 20,2) (Emelia, 2013).

Sementara menurut data Yayasan Kanker Indonesia, angka prevalensi wanita pengidap kanker serviks di Indonesia tergolong tinggi. Kasus baru ditemukan dengan jumlah kematian mencapai 40-45 orang setiap hari. Adapun jumlah wanita yang berisiko terserang kanker serviks mencapai 48 juta orang. Oleh sebab itu, Indonesia termasuk negara dengan insiden kanker serviks tertinggi di dunia, dengan kemungkinan 66% meninggal dari setiap kasus tersebut (Soebachman and Agustina, 2015; Halimatusyaadiah, 2014). Adi, 2014 dan Imam, 2009 menyatakan bahwa kasus baru kanker di Indonesia berjumlah 2.429 dari total kasus kanker di Indonesia sehingga Indonesia merupakan peringkat satu, yaitu 25,91 % dari keseluruhan kanker. Terjadinya kanker serviks pada wanita dipengaruhi oleh salah satu faktor rendahnya tingkat pengetahuan wanita tentang kanker serviks (Simanullang, 2018) dan *pap smear* sebagai deteksi dini pencegahan kanker serviks (Simanullang, 2018b). Sitologi serviks dan diagnosis kanker serviks pada wanita yang lebih tua dapat dilakukan untuk mencegah kanker serviks dan menurunkan angka kematian pada wanita (Landy *et al.*, 2015).

Berbagai strategi terapi pengobatan kanker serviks telah dilakukan di antaranya dengan menggunakan terapi bedah, radioterapi, dan kemoterapi maupun kombinasi ketiganya, namun hasilnya relatif belum optimal. Terapi pembedahan bersifat terbatas karena hanya dapat diterapkan pada penderita kanker serviks stadium awal dan penderita usia muda yang telah kehilangan fertilitasnya, sedangkan radioterapi dan kemoterapi sering menimbulkan efek samping yang berat (Fujimoto, 2019). Sejumlah penelitian telah menunjukkan bahwa peningkatan konsumsi diet nabati yang teratur dapat mengurangi risiko terjadinya kanker. Oleh karena itu, banyak studi yang saat ini difokuskan pada temuan senyawa bioaktif baru dari sumber alami dan sejumlah besar produk alami yang telah dievaluasi mempunyai potensi kemopreventif (Lin *et al.*, 2018). Oleh karena itu para ilmuwan mencari potensi produk alami sebagai obat untuk menyembuhkan penyakit kanker dan merupakan tujuan penting dalam mengatasi masalah kesehatan pada manusia (Chou *et al.*, 2011; Khatimah and Muhammad, 2019).

Pada pertumbuhan kanker ada beberapa protein yang berperan dalam proses onkogenesis seperti CDK4, sitokrom c dan apoptosis. CDK4/6 merupakan inhibitor yang memiliki potensi sebagai target terapeutik pada sel squamos kanker (Kalu and Johnson, 2017) di mana dapat menghambat proliferasi dan induksi apoptosis pada kanker serviks manusia melalui *invitro* dan *invivo*. Mekanisme CDK4/6-cyclin D-retinoblastoma protein-E2F adalah

mekanisme penting untuk mengontrol siklus sel dan disregulasi salah satu faktor kunci untuk pengembangan kanker termasuk kanker serviks. *Ribociclib* adalah salah satu inhibitor selektif CDK4/6 dan merupakan pendekatan baru yang menunjukkan potensi yang menjanjikan sebagai strategi yang baik untuk terapi kanker pada manusia (Xiong *et al.*, 2019). CDK4 berhubungan erat dengan patogenesis kanker serviks sehingga protein ini disarankan untuk dijadikan sebagai kandidat penanda tumor patologis baru untuk kanker serviks (Song *et al.*, 2012).

Sitokrom C adalah komponen penting dari rantai transportasi elektron untuk sintesis Adenosin Tripospat (ATP). Sitokrom C merupakan transportasi larutan elektrik yang sangat berhubungan dengan membran di dalam mitokondria. Mitokondrial *signaling pathway* merupakan sebuah jalur apoptosis utama melalui keterlibatan dalam pelepasan sitokrom c yang menginduksi faktor apoptosis mitokondria melalui Bcl-2/Bax axis (Kao *et al.*, 2018) sehingga dengan demikian akan mengaktifkan apoptosis eksekutor. Oleh karena itu, sitokrom c mungkin terlibat dalam inisiasi dan perkembangan kanker. Penelitian Kadam and Abhang, (2015) menyatakan serum sitokrom c merupakan sebuah indikator yang tepat terjadinya kematian sel melalui ukuran tumor yang berkurang jika dibandingkan dengan siklus pertama pada saat melakukan kemoterapi.

Apoptosis adalah mekanisme biologi yang merupakan salah satu jenis kematian sel terprogram. Apoptosis digunakan oleh organisme multisel untuk membuang sel yang sudah rusak dan tidak diperlukan oleh tubuh. Perkembangan tumor dipengaruhi oleh keseimbangan antara proliferasi, apoptosis dan diferensiasi. Hal ini dapat dinilai dengan parameter biologis untuk perkembangan tumor, antara lain melalui penilaian pada perubahan proliferasi, apoptosis, dan diferensiasi. Peningkatan proliferasi menunjukkan terjadinya peningkatan keganasan tumor. Penurunan apoptosis menunjukkan adanya kegagalan lokal dalam mekanisme melawan perkembangan kanker dan menunjukkan terjadinya peningkatan metastasis. *Apoptosis-inducing factor* (AIF) and *endonuclease G* (EndoG), bersamaan dengan mitokondrial protein preapoptosis, dilaporkan adanya translokasi nukleus yang menyebabkan oligonukleosomal fragmentasi DNA selama mediasi kaspase independen kematian sel (Jaudan *et al.*, 2020). Penelitian Wang *et al.*, (2020) menyatakan, PIF1 helicase bisa mengaktifkan proliferasi, meningkatkan laju fase G2/M dan menekan apoptosis kanker serviks dengan ekspresi telomerase sehingga temuan baru ini menyediakan dasar secara teoretis penemuan obat baru melawan kanker serviks.

BAB 2

ANDALIMAN

(Zanthoxylum acanthopodium DC.)

2.1 Deskripsi dan Sistematika Andaliman

Indonesia adalah negara yang memiliki keanekaragaman tumbuhan berlimpah. Sumatera Utara adalah salah satu daerah di Indonesia yang mempunyai keanekaragaman rempah dari berbagai jenis tumbuhan. Salah satu jenis rempah yang menjadi khas bumbu masakan makanan Sumatera Utara dan pemanfaatannya masih digunakan sampai sekarang sebagai komoditas primer adalah andaliman. Di Indonesia, andaliman ditemukan di daerah Sumatera Utara akan tetapi belum dimanfaatkan sebagai tanaman obat-obatan seperti halnya di negara-negara lain. Andaliman ditemukan di daerah Sumatera utara terutama di Parbuluan, Kabupaten Dairi, Siborong-borong, dan Kabupaten Tapanuli Utara. Tanaman ini mempunyai biji yang sering dimanfaatkan sebagai bumbu masak terutama untuk masakan tradisional suku Batak. Selain di Negara Indonesia khususnya di Sumatera Utara, andaliman yang termasuk dalam famili *Rutaceae* (keluarga jeruk-jerukan) juga terdapat di negara lain seperti di India, Cina, dan Tibet (Asbur and Khariunnisyah, 2018).

Secara umum, buah andaliman digunakan sebagai bumbu masakan khas tradisional Suku Batak Toba seperti *naniarsik*, *naniura* dan *saksang* (Purba, 2006). Andaliman, masuk dalam famili *Rutaceae* dan saat ini diperhitungkan menjadi sumber senyawa aromatik dan minyak esensial. Tanaman andaliman merupakan salah satu tumbuhan rempah yang banyak terdapat di daerah Kabupaten Toba Samosir dan Tapanuli Utara, Sumatera Utara ditemukan tumbuh liar di daerah Tapanuli dan digunakan sebagai rempah pada masakan adat Batak Angkola dan Batak Mandailing (Wongso, 2012).

Buah andaliman mengandung senyawa aromatik dengan rasa pedas dan getir yang khas. Jika dimakan meninggalkan efek menggetarkan alat pengecap dan menyebabkan lidah terasa kebas. Jepang juga memiliki rempah-rempah yang hampir sama dengan andaliman yang disebut dengan sansho

(*Zanthoxylum piperitum* DC) dan memiliki bentuk yang mirip dengan aroma buah andaliman. Selain itu, di beberapa negara, ada rempah-rempah yang dikenal sebagai *Z. simulans*, dan *Z. bungeanum Maxim* yang memiliki aroma dan senyawa volatil yang juga mirip dengan andaliman. Andaliman adalah tanaman liar dan sulit tumbuh di pertanian atau lahan baru bukaan di hutan belantara. Andaliman tidak ditanam, seperti cabai, merica, dan sayuran lainnya. Biasanya tanaman ini tumbuh secara alami yang berasal dari biji yang disebarkan oleh burung-burung (setelah makan buah-buahan andaliman) (Asbur and Khariunnisyah, 2018).

Andaliman merupakan tanaman liar yang tumbuh pada ladang atau lahan bukaan baru di hutan, memiliki daya kecambah yang rendah, tumbuh alami dari biji yang disebarkan oleh burung. Petani juga memperoleh bibit secara tidak sengaja dari lokasi bekas pembakaran di daerah tanaman yang sudah tua. Andaliman tumbuh di habitat pada daerah berketinggian 1500 m di atas permukaan laut, curah hujan 2500 mm per tahun dan temperatur 15–18 °C. Pohon andaliman memiliki tinggi mencapai 5 m, di mana batang dan cabangnya memiliki duri. Memiliki bunga lengkap dengan panjang \pm 3 mm, dan memiliki bunga majemuk berbatas 5–7 daun kelopak, 5–6 benang sari, dan 3–4 putik masing-masing dengan 1 bakal biji, tanpa daun mahkota. Bunga yang menjadi buah muncul di ranting, cabang atau batang utama. Buahnya berbentuk bulat kecil berwarna hijau seperti lada (merica) dan jika sudah tua akan berwarna merah. Tiap buah memiliki satu biji yang berwarna hitam. Permukaan atas daun hijau berkilat dan permukaan bawah hijau muda atau pucat, daun muda permukaan atas hijau dan bawah hijau kemerahan (Kristanty and Suriawati, 2015).

2.2 Klasifikasi Andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium DC.*)

Ada tiga jenis andaliman yang dapat ditemukan di Provinsi Sumatra Utara, yang terkenal di Sihorbo, Simanuk, dan Sitanga. Ketiga jenis ini umumnya ditemukan di daerah Tapanuli, Tobasa, dan Dairi. Secara spesifik, andaliman dari Sihorbo memiliki buah yang lebih besar, kurang beraroma, dan jumlahnya sedikit. Andaliman dari Simanuk memiliki buah yang lebih kecil, lebih tajam aroma dan rasa, dan jumlah produksi yang lebih besar. Sementara andaliman dari Sitanga memiliki rasa buah yang sangat khas tetapi aromanya kurang (Natasutedja *et al.*, 2020).

Sistematika tumbuhan andaliman secara lengkap sebagai berikut:

Kingdom : *Plantae*

Divisi : *Spermatophyta*
Subdivisi : *Angiospermae*
Kelas : *Dicotyledoneae*
Subkelas : *Rosidae*
Ordo : *Sapindales*
Famili : *Rutaceae*
Genus : *Zanthoxylum*
Spesies : *Zanthoxylum acanthopodium* DC.



Gambar 2.1 Tanaman, daun dan buah andaliman (dokumentasi pribadi)

Senyawa Bioaktif Andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC.)

Andaliman adalah etnis tanaman yang termasuk genus *Zanthoxylum*, famili *Rutaceae*. Andaliman diidentifikasi mengandung *flavonoid*, alkaloid *terpene*, alkaloid *benzophenthridine*, *pyranoquinoline* alkaloid, kwarter *isoquinoline* alkaloid, alkaloid *aporphyrine* dan beberapa jenis lignan (Kristanty and Suriawati 2014, 2015). Rasa khas andaliman adalah karena minyak asiri yang terkandung di dalamnya, di mana sebagian besar merupakan golongan terpenoid, yaitu geranyl asetat (35%), dan didominasi oleh aroma jeruk yaitu *limonene* dan *citronellol*. Komponen lainnya adalah β -*myrcene*, β -*ocimene*, *linalool* dan *E-1-decenal* (Katzer, 2012). Buah Andaliman mengandung banyak senyawa-senyawa yang bersifat antioksidan. Flavonoid adalah senyawa aktif sebagai pelindung sel-sel miokardium dengan menghambat aksi *Doxcorubicin* (DOX) sebagai kelasi zat besi, aktivitas antioksidan, dan menghambat karbonil reduktase. Alkaloid memiliki potensi sebagai aktivasi antioksidan. *Doxcorubicin* (DOX) adalah kelas *anthracycline* yang paling efektif dan *antineoplastic broad-spectrum* luas yang digunakan sebagai anti kanker pada berbagai jenis kanker termasuk kanker payudara tetapi penggunaan secara klinis ireversibel kardiotoxik. Dox mempunyai efek samping dan menyebabkan kematian nomor tiga pada pasien kanker (Sihotang *et al.*, 2016b). Buah-buahan dan biji-bijian

dari spesies *Zanthoxylum*, terutama ekstrak, telah dipelajari sebagai aktivitas antioksidan. spesies *Zanthoxylum* memiliki potensi sebagai agen antitumor, karena beragam zat-zat yang diperoleh dari beberapa spesies ini menunjukkan memiliki kandungan senyawa aktivitas kuat sebagai sitotoksik terhadap berbagai sel tumor. Buah andaliman dikenal sebagai rempah-rempah dalam masyarakat Batak yang dapat digunakan untuk menghilangkan bau ikan dan daging mentah, telah dilaporkan memiliki aktivitas antiinflamasi dan aktivitas antioksidan. Inti dari buah-buahan yang berasal dari minyak asiri sebagian besar terdiri dari terpenoid dan komposisinya bervariasi antar spesies. Minyak esensial dari *Zanthoxylum* menunjukkan adanya penghambatan yang kuat terhadap pertumbuhan jamur miselium dan secara *in vitro* dan *in vivo* memiliki aktivitas sebagai antitumor. Mekanisme ini dianggap berhubungan dengan aktivitasnya sebagai antioksidan yang dapat menghambat pembentukan oksigen radikal bebas atau *Reaction Oxygen Species* (ROS) yang akan merusak sel-sel dan memulai terjadinya kanker (Kristanty and Suriawati 2014, 2015; Negi *et al.*, 2011). Andaliman telah dilaporkan mempunyai efek yang bermanfaat bagi kesehatan beberapa dari kandungan bioaktif senyawa andaliman berfungsi sebagai aktivitas antioksidan, antimikrobal, antipenuaan, dan antijerawat (Natasutedja *et al.*, 2020).

Tabel 2.1 Kandungan metabolit sekunder andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium*) dan bioaktivitasnya

No	Metabolit Sekunder	Aktivitasnya	Literatur
1	Flavonoid, alkaloid terpena, alkaloid benzophenthridine, pyranoquinoline alkaloid, kwarter isoquinoline alkaloid, alkaloid aporphyrine dan beberapa jenis lignan	Flavonoid adalah senyawa aktif sebagai pelindung bagi sel-sel miokardium dengan menghambat aksi dari Doxorubicin (DOX) sebagai kelasi zat besi, aktivitas antioksidan, dan menghambat karbonil reduktase. Alkaloid memiliki potensi sebagai aktivasi antioksidan.	(Sihotang <i>et al.</i> , 2016b); (Kristanty and Suriawati, 2014)
2	Andaliman mengandung asiri golongan terpenoid, dan limonene serta citronellol. Komponen lainnya adalah β -myrcene, β -ocimene, linalool dan E-1-decenal	untuk menghambat bakteri merupakan salah satu kriteria pemilihan suatu senyawa untuk diaplikasikan sebagai pengawet bahan pangan. Memiliki aktivitas antiinflamasi dan aktivitas antioksidan	(Katzer, 2012; Kristanty and Suriawati 2014)

No	Metabolit Sekunder	Aktivitasnya	Literatur
3	Andaliman mengandung asiri golongan terpenoid, dan limonene	Minyak esensial dari <i>Zanthoxylum</i> menunjukkan penghambatan yang kuat dari pertumbuhan jamur miselium dan secara in vitro dan in vivo aktivitas antitumor.	(Kristanty and Suriawati 2014)
4	Alkaloid dan minyak esensial (<i>Cumarin</i>)	Larvisida, antiinflamasi, sitotoksik, analgesik, antinoseptif, antioksidan, antibiotik, hepatoprotektif, antiplasmodial, antelmintik, anti-virus dan anti jamur	(Negi <i>et al.</i> , 2011)

2.3 Khasiat Andaliman

Selain manfaat dan khasiat andaliman sebagai bumbu pada masakan khas Batak Toba Sumatra Utara (Batubara *et al.*, 2017) maka andaliman juga digunakan sebagai tuba dalam penangkapan ikan (Sabri, 2007). Secara ilmiah telah dilakukan penelitian manfaat dan khasiatnya bagi dunia kesehatan atau kedokteran. Beberapa peneliti seperti Xiang *et al.*, (2016) menemukan manfaat dan khasiat andaliman seperti di Cina, di mana andaliman dapat digunakan sebagai pengobatan untuk mengatasi: nyeri, muntah, diare, askariasis, dan pengobatan eksim secara topikal, obat sakit perut, serta penghambat zat alergen. *Zanthoxylum* spesies juga memiliki potensi sebagai agen antitumor, karena beragam zat-zat yang diperoleh dari beberapa spesies ini menunjukkan aktivitas kuat sebagai sitotoksik terhadap berbagai sel tumor (Kristanty and Suriawati 2014;2015). Berdasarkan hasil pemeriksaan histopatologi pada hati tikus dengan pewarnaan Haemoxilyn dan Eosin (H&E), kelompok kontrol yang diobati dengan CMC Na 0,5% tidak tampak menyebabkan kerusakan sel-sel otot jantung (bentuk normal) dan batas antara sel-sel otot serabut jantung jelas dan teratur. Dalam kelompok DOX tampak perdarahan, serat otot jantung tidak teratur, serat otot fragmentasi, dan pyknosis. Jaringan sel-sel otot jantung sangat rentan terhadap radikal bebas. Radikal bebas yang dihasilkan dari DOX bereaksi dengan asam lemak tak jenuh membentuk lipid peroksidase. Akibatnya, struktur membran *lipid bilayer* berubah dan menyebabkan kerusakan sel disertai dengan kematian sel. Menurut hasil yang diperoleh, EEZ potensi sebagai kardioprotektif terhadap penurunan cTnT dan tingkat CK-MB serta melindungi *cardiomyocyte* (Sihotang *et al.*, 2016a). Hasil studi menunjukkan bahwa kombinasi *Ethylacetate Zanthoxylum acanthopodium DC.* EEZ dengan *doxorubicin* memberikan efek penghambatan pada pertumbuhan sel

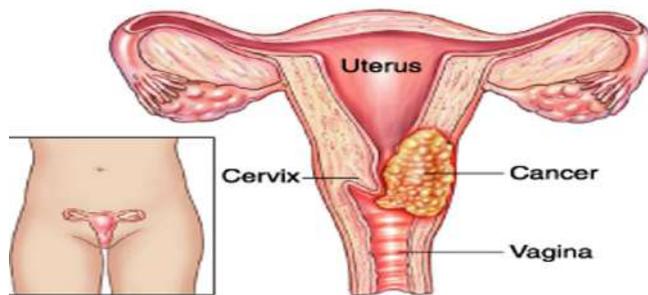
lebih tinggi daripada pengobatan tunggal *doxorubicin* pada sel T47D, sehingga potensi untuk dikembangkan sebagai ko-kemoterapi untuk penghentian siklus sel kanker payudara (Anggraini *et al.*, 2014; Masyithah *et al.*, 2015).

BAB 3

KANKER SERVIKS

3.1 Definisi Kanker Serviks

Kanker Serviks adalah tumor ganas yang tumbuh di dalam leher serviks bagian terendah dari rahim yang menempel pada puncak vagina (Halimatusyaadiah, 2014). Blackadar, (2016) dan Rozi, (2016) mengemukakan bahwa kanker serviks merupakan kanker yang menyerang area serviks yaitu di bagian bawah rahim yang menghubungkan rahim dengan vagina. Kanker rahim merupakan salah satu sindrom imunodefisiensi yaitu, orang dengan HIV yang akan berkembang dengan kanker rahim dianggap memiliki AIDS. Disarankan bahwa untuk mencegah HPV ketika kontak dengan kulit genital maka dengan penggunaan kondom dapat mengurangi risiko kanker serviks (Mcgraw and Ferrante, 2014).



Gambar 2.2 Kanker serviks; posisi kanker di bagian serviks
(<http://charitashospital.com/>)

3.2 Etiologi Kanker Serviks

Penyebab kanker serviks tidak diketahui secara pasti, tetapi terdapat beberapa faktor risiko yang mempengaruhi terjadinya kanker serviks yaitu: HPV, merokok, hubungan seksual pertama dilakukan pada usia dini, berganti-ganti pasangan seksual, pemakaian DES (*Dietilstilbestrol*) pada wanita hamil untuk mencegah keguguran, gangguan sistem kekebalan, pemakaian pil KB,

infeksi herpes genitalis atau infeksi clamida menahun, golongan ekonomi lemah (karena tidak mampu melakukan pemeriksaan *pap smear* secara rutin (Alexandrov *et al.*, 2013; Okunade, 2020; Soebachman and Agustina, 2015).

Faktor risiko lain yang menyebabkan terjadinya kanker serviks seperti:

- 1) (HPV) adalah virus penyebab kutil genitalia (*Kondiloma akuminata*) yang ditularkan melalui hubungan seksual. Varian virus HVP yang sangat berbahaya adalah HPV tipe 16, 18, 45 dan 56. Sekitar 90-99% jenis kanker serviks disebabkan oleh HPV.
- 2) Tembakau dalam rokok bisa menurunkan sistem kekebalan tubuh dan mempengaruhi kemampuan tubuh untuk melawan infeksi HPV pada serviks.
- 3) Seorang perempuan semakin muda melakukan hubungan seks, maka semakin besar risiko untuk terkena kanker serviks, di mana sperma yang mengandung komplemen histon dapat bereaksi dengan sel DNA dalam serviks. Sperma yang bersifat alkalis dapat menimbulkan hiperplasia dan neoplasia sel pada serviks.
- 4) Perilaku seksual yang berganti-ganti pasangan seks (6 orang atau lebih) akan meningkatkan penularan penyakit kelamin dan memiliki risiko tinggi terkena kanker serviks menjadi 10 kali lipat jika dibandingkan dengan wanita yang mempunyai pasangan seksual hanya satu orang.
- 5) Pemakaian pil KB. Penggunaan kontrasepsi oral dilaporkan meningkatkan insiden NIS (Neoplasia Intraepitelial Serviks), meskipun tidak langsung diduga mempercepat perkembangan progresivitas lesi kanker. Pemakaian pil KB lebih dari 6 tahun meningkatkan risiko terjadinya kanker serviks. Penjelasan yang rasional atas fenomena ini, karena kontrasepsi oral menginduksi epitel kolumnar pada wanita, yang dapat menurunkan kadar asam folat darah sehingga terjadi perubahan megaloblastik sel epitel leher rahim dan dapat meningkatkan efek ekspresi onkoprotein virus.
- 6) Suami yang tidak disirkumsisi. Telah diketahui bahwa frekuensi kanker serviks pada wanita Yahudi jauh lebih rendah dibandingkan dengan wanita kulit putih lainnya karena laki-laki Yahudi wajib dilakukan sirkumsisi. Mereka menduga bahwa persetubuhan dengan laki-laki yang tidak disirkumsisi lebih banyak menyebabkan kanker serviks karena kebersihan penis tidak terawat, di mana terdapat kumpulan-kumpulan mikroorganisme pada penis. Tanda dan gejala *fluor albus* (keputihan) merupakan gejala yang sering ditemukan di mana cairan yang keluar dari vagina ini makin lama akan berbau busuk akibat infeksi dan nekrosis jaringan yang akan memicu terjadinya pertumbuhan tumor yang akan mengarah terjadinya ulserasi. Perdarahan yang dialami segera setelah bersenggama (disebut sebagai perdarahan kontak) merupakan gejala karsinoma kanker serviks dan kasusnya mencapai sekitar 75-80% kasus (Mcgraw and Ferrante, 2014).

3.3 Manifestasi Klinis Kanker Serviks

Pada tahap awal, terjadinya kanker serviks tidak ada gejala-gejala khusus. Biasanya timbul gejala berupa ketidakteraturan siklus haid, amenorhea, hipermenorhea, dan seringnya keluar sekret vagina atau bahkan terjadinya perdarahan intermenstrual, post koitus serta saat latihan berat. Perdarahan yang khas terjadi pada penyakit ini yaitu darah yang keluar berbentuk mukoid dan rasa nyeri dapat dirasakan menjalar ke ekstermitas bagian bawah dari daerah lumbal (Imam, 2009).

Pada tahap lanjut, gejala yang mungkin dan biasa timbul lebih bervariasi, sekret vagina berwarna kuning, berbau dan terjadinya iritasi vagina serta mukosa vulva. Perdarahan pervagina akan makin sering terjadi dan nyeri makin progresif. Gejala lebih lanjut meliputi nyeri yang menjalar sampai kaki, hematuria dan gagal ginjal akibat terjadinya obstruksi ureter. Perdarahan rektum dapat terjadi karena penyebaran sel kanker sebagai tanda dan gejala penyakit lanjutan (Al-darwish *et al.*, 2014; Okunade, 2020). Adapun tanda-tanda klinis terjadinya kanker serviks yang lebih serius secara umum adalah: adanya keputihan disertai darah secara terus menerus dan berbau, adanya pendarahan setelah melakukan hubungan seksual, nafsu makan yang menurun, berat badan yang terus menurun, anemia karena pendarahan yang sering timbul dan rasa nyeri pada panggul (Mwaka *et al.*, 2016; Emilia, 2013).

3.4 Faktor Risiko Kanker Serviks

Wanita yang melakukan hubungan seksual dan pertama hamil di bawah umur 17 tahun memiliki risiko menderita kanker serviks 2 kali lipat dibandingkan dengan wanita yang hamil pertama kali pada usia 25 tahun ke atas (Alexandrov *et al.*, 2013; Deverakonda and Gupta 2016). Tanda dan gejala ini sering tidak diketahui oleh wanita, disebabkan oleh karena kurangnya pengetahuan wanita tentang kanker serviks dan pencegahannya (Simanullang and Sitopu 2020).

Infeksi menular seksual HPV adalah merupakan faktor risiko yang terkuat untuk terjadinya kanker serviks. Ada beberapa faktor risiko yang berhubungan dengan infeksi HPV dan kanker serviks. 1) Melahirkan lebih dari empat kali, dan riwayat infeksi menular seksual lainnya misalnya, klamidia, *human immunodeficiency virus* (HIV), herpes simplex. 2) Wanita dengan pola hidup tidak sehat, berat badan berlebihan, jarang mengonsumsi buah-buahan dan sayur-sayuran memiliki risiko tinggi terkena kanker serviks. 3) Sistem kekebalan tubuh rendah dan wanita dengan daya tahan tubuh lemah misalnya karena

menjalani terapi yang dapat menurunkan daya tahan tubuh seperti pengobatan kanker, penyakit autoimun lebih berisiko terjadinya mengidap kanker serviks. 4) Wanita yang memiliki keluarga mengidap kanker serviks, maka memiliki risiko tinggi untuk terkena kanker serviks (WHO, 2018).

3.5 Stadium Kanker Serviks

Stadium kanker serviks (kanker serviks) menurut The International Federation of Gynecology and Obstetrics (FIGO) sebagai berikut: Stadium I disebut juga Karsinoma yang masih terbatas di serviks, belum mencapai uterus, Stadium 1A disebut juga karsinoma mikroinvasif, yaitu sel yang bersifat kanker yang telah menembus membran basalis serviks, tetapi belum menyebar. Stadium 1B meliputi sel-sel yang bersifat kanker telah menembus melebihi 5 mm dan membran basalis dan saluran getah bening dapat terkena. Stadium 2a, meliputi kanker telah menyebar ke sebagian vagina. Stadium 2 B, meliputi kanker telah menyebar ke jaringan sekitar serviks. Stadium 3, di mana kanker tersebut telah mengenai ke vagina bagian bawah dan dinding panggul. Sedangkan stadium 4, kanker yang telah menyebar keluar area genital dan telah mengenai ke organ-organ terdekat (Adi, 2014; Cohen *et al.*, 2019).

3.6 Patofisiologi Kanker Serviks

Siklus hidup HPV tidak jauh berbeda dengan virus DNA lainnya. Tahap awal siklus hidup HPV dimulai dengan terpaparnya virus pada sel pejamu. Paparan ini terjadi karena adanya luka atau lesi pada lapisan epitel sel pejamu. Setelah terpapar dengan sel, virus kemudian akan melekat pada sel pejamu melalui reseptor yang terdapat di permukaan sel pada lapisan basal epitel (Simmonds *et al.*, 2017). HPV merupakan penyebab utama terjadinya kanker serviks yang dapat menyebabkan infeksi pada sel-sel epitel serviks, adanya abrasi atau luka pada jaringan epitel. Abrasi ini menjadi titik masuk HPV ke dalam sel epitel bagian basal (Evriarti and Yasmon, 2019). Sel-sel epitel pada bagian basal merupakan sel-sel epitel yang belum matang dan masih terus berproliferasi. Ekspresi gen HPV semakin lengkap seiring dengan peningkatan maturasi dari sel pejamu Saat menginfeksi sel basal, HPV kurang reproduktif (replikasi virus terjadi sangat lambat namun konstan) (Kane and Golovkina, 2010). Pada fase ini, belum muncul perubahan yang abnormal pada sel. Saat sel-sel epitel pejamu matang dan tidak lagi berdiferensiasi, replikasi genom HPV meningkat dan gen E6 dan E7 yang mengkode onkoprotein dan gen L1 dan L2 yang mengkode protein struktural mulai diekspresi. Tahapan ini dimulai

dengan terjadi perubahan yang abnormal pada sel (*immortal cells*) dan terbentuk virion baru dalam jumlah besar yang akan menginfeksi sel epitel lainnya yang masih normal. Akan tetapi, perubahan yang terjadi masih dalam skala yang sangat kecil (CIN tahap I) dan respons imun sebenarnya masih dapat mengeliminasi infeksi pada tahap ini. Namun bila terjadi toleransi, infeksi HPV akan menjadi persisten (Alba and Rodríguez-Cerdeira, 2014; Wardak, 2016). Infeksi HPV yang persisten akan menyebabkan lesi makin meluas dan makin invasif (CIN tahap II dan CIN tahap III). Pada CIN tahap I, genom HPV belum terintegrasi secara sempurna pada sel pejamu bahkan sebagian ada yang tidak terintegrasi dalam genom sel pejamu. Namun, pada CIN tingkat tinggi, DNA HPV sudah terintegrasi sempurna ke dalam genom sel pejamu (Kane and Golovkina, 2010). Integrasi ini menyebabkan terganggunya atau terhapusnya gen pengkode protein E2. Sehingga akibatnya, fungsi protein E2 sebagai regulator transkripsi protein E6 dan E7 terganggu. Hal tersebut menyebabkan peningkatan ekspresi protein E6 dan E7 (Wardak, 2016). Kedua protein ini menghalangi regulasi siklus sel dengan cara mengikat dan menginaktivasi dua protein supresor tumor yaitu protein p53 dan retinoblastoma (pRb) di mana kedua protein ini akan menginfeksi sel-sel epitel lainnya yang masih normal dan menyebabkan terjadinya perubahan pada struktur sel (Evriarti and Yasmon, 2019). Akan tetapi, perubahan yang terjadi masih dalam skala yang sangat kecil (CIN tahap I) dan respons imun sebenarnya masih dapat mengeliminasi infeksi pada tahap ini. Namun bila terjadi toleransi, infeksi HPV akan menjadi persisten (Alba and Rodríguez-Cerdeira, 2014; Wardak, 2016).

Protein E6 yang terdiri atas 150 asam amino berikatan dengan protein seluler E6 berasosiasi dengan protein (E6-AP) membentuk kompleks enzim *Ubiquitin Ligase*. Kompleks enzim ini menyebabkan degradasi dari p53 (Ibeanu, 2011). Degradasi dari p53 menyebabkan aktivitas normal dari p53 dengan memberhentikan siklus sel setelah fase G1, apoptosis, dan perbaikan DNA tidak terjadi (Simmonds *et al.*, 2017). Selain itu, protein E6 juga berperan menginduksi protein c-myc untuk memicu aktivitas enzim telomerase. Akibatnya sel akan menjadi *immortal* karena telomernya tidak mengalami pemendekan (Simmonds *et al.*, 2017; Wardak, 2016).

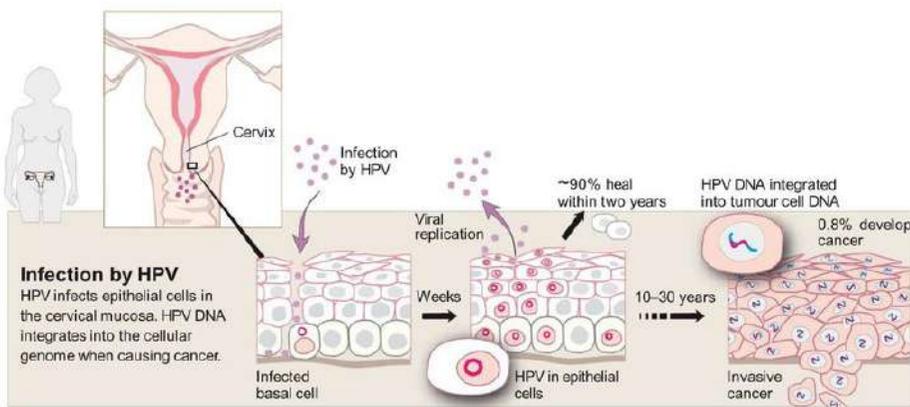
Protein E7 terdiri atas 100 asam amino membentuk kompleks dengan protein RB yang hipofosforilasi menyebabkan gangguan pada kompleks pRB dan faktor transkripsi seluler E2F1 (Evriarti and Yasmon, 2019; Simmonds *et al.*, 2017). Akibatnya, faktor transkripsi E2F-1 bebas dan terlepas dari untai DNA, sehingga terjadi transkripsi gen yang dibutuhkan untuk masuk ke

dalam fase S dalam siklus sel dan menghalangi apoptosis dari sel pejamu. Sel pejamu menjadi *immortal* dan terus membelah tanpa terkontrol (You *et al.*, 2015). Pada keadaan normal, perubahan pada sel akan memicu respons imun sehingga kelainan pada tahap ini dapat diatasi dan sel-sel abnormal diapoptosis (Nagata and Tanaka, 2017). Secara alamiah sel yang terinfeksi virus akan melepaskan interferon (IFN) tipe 1 seperti IFN- α dan IFN- β . Interferon menghambat replikasi virus pada sel pejamu dan mengaktifkan *Natural Killer* (NK) (Sasagawa *et al.*, 2012; Savira, 2018). Akan tetapi HPV menghasilkan protein E6 dan E7 yang dapat menghambat regulasi transkripsi dari faktor regulator interferon 3 untuk mengaktifkan interferon beta sehingga membatalkan respons awal dari sistem imun bawaan terhadap infeksi virus. E7 juga mengikat faktor regulator interferon 1 untuk mencegah aktivasi dari interferon alfa dan beta (Ibeanu, 2011; Wardak, 2016). Selain itu, protein E6 dan E7 juga menghambat translokasi makrofag ke titik yang terinfeksi virus dengan cara menghambat regulasi *Monocyte chemotactic protein1* (MCP-1), suatu senyawa kemotaksis (Sasagawa *et al.*, 2012; Stanley, 2012). Normalnya senyawa ini akan dilepaskan oleh sel keratin yang terinfeksi virus sehingga makrofag akan bermigrasi ke sel yang terinfeksi (Stanley, 2012). Makrofag akan teraktivasi bila berikatan dengan komponen virus, seperti materi genetik dari virus (Alba and Rodríguez-Cerdeira, 2014). Makrofag yang teraktivasi akan melepaskan sitokin inflamatori, leukin atau interferon. Senyawa yang dilepaskan makrofag akan memicu TNF- α maupun antibodi untuk membunuh HPV. Protein E5 dari HPV juga berperan dalam mendukung infeksi persisten HPV (Moody and Laimins, 2010; Savira, 2018). Protein E5 menyebabkan penurunan regulasi reseptor sel NK (Savira, 2018). Penurunan regulasi reseptor mengakibatkan sel NK tidak dapat menempel pada reseptornya sehingga aktivitasnya dalam mengeliminasi sel kanker akan menurun (Ibeanu, 2011). Penurunan aktivitas sel NK menyebabkan beberapa sitokin yang dapat memicu respons imun adaptif tidak disekresi (Savira, 2018).

Pada tahap lebih lanjut, respons imun yang terbentuk pada penderita kanker serviks justru makin menguntungkan bagi virus untuk tetap ada dan berkembang. Hal ini dikarenakan, protein-protein yang disintesis oleh virus HPV menghambat regulasi terbentuknya sistem imun adaptif melalui penurunan aktivitas APC (*antigen presenting cell*) (Stanley, 2012; Wardak, 2016). Salah satu APC yang sangat penting dalam respons imun adaptif adalah sel dendritik. Sel dendritik berperan mengubah sel T pasif menjadi sel T aktif. Kegagalan sel dendritik mempresentasikan antigen HPV pada sel T menyebabkan toleransi

imun terhadap HPV (Savira, 2018). Sel dendrit yang dapat mempresentasikan antigen pada sel T adalah sel dendrit yang matur (dewasa). Sel dendrit yang imatur (tidak memiliki reseptor B7) tidak dapat menstimulasi pengaktifan sel T. Meskipun mampu mengaktifkan sel T melalui sekresi Il-10 dan TGF- β , yang terbentuk adalah sel T regulator yang justru merepresi sistem imun (Stark and Zivković, 2018).

Proses replikasi dan pelepasan HPV dari sel induk juga tidak terjadi, sehingga tidak menyebabkan terjadinya pelepasan molekul antiinflamasi. Infeksi HPV yang tidak bergejala merupakan hal yang normal pada wanita yang memiliki imun tubuh yang kuat. Meskipun demikian, rata-rata infeksi dapat muncul dalam kurun waktu satu tahun (Ibeanu, 2011). Oleh sebab itu, persisten dan progresi lesi dari sebagian kecil pasien yang terinfeksi HPV tidak diketahui penyebabnya dengan pasti (Evriarti and Yasmon, 2019; Ibeanu, 2011).



Gambar 2.3 Patogenesis kanker serviks; HVP menginfeksi sel mukosa serviks dan DNA virus yang mengandung genom kanker masuk ke sel basal dan beberapa minggu kemudian terjadi replikasi virus di sel epitel. Kemudian 10 tahun–30 tahun kemudian DNA HVP berintegrasi menjadi sel tumor pada DNA induk. Namun hanya 0,8 % yang berkembang menjadi kanker dan selebihnya menjadi invasif (Evriarti and Yasmon, 2019; Ibeanu, 2011).

3.7 Pencegahan Kanker Serviks

Pencegahan kanker serviks adalah dengan menghindari segala risiko untuk terjadinya kanker serviks seperti: tidak berganti-ganti pasangan seksual, tidak melakukan hubungan seksual pada usia yang sangat muda, menghindari merokok, melakukan vaksinasi, rutin melakukan deteksi dini dengan melakukan *Pap Smear* rutin terutama pada wanita yang telah menikah atau wanita yang

berusia lebih dari 30 tahun. Wanita harus mulai melakukan tes *Pap Smear* minimal satu kali dalam tiga tahun setelah mereka mulai melakukan hubungan seksual. Untuk wanita dengan usia di atas 30 tahun di samping telah melakukan tes *Pap Smear* setiap 3 tahun sekali harus ditambah tes HPV DNA. Deteksi dini dengan IVA (Inspeksi Visual Asam Asetat), banyak mengonsumsi buah-buahan dan sayuran (Cohen *et al.*, 2019; Handayani and Suharmiati, 2012).

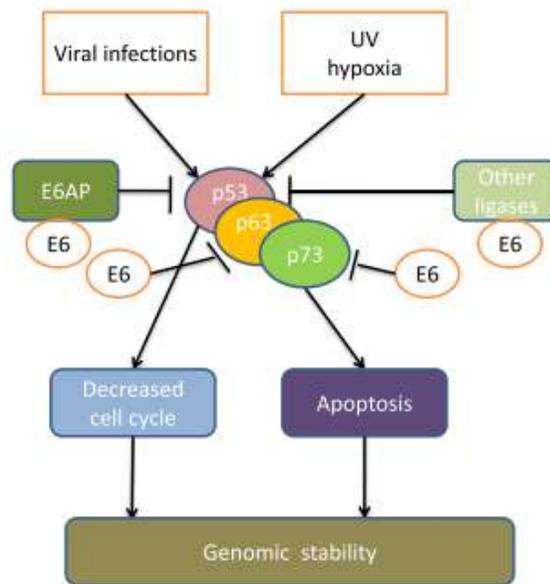
3.8 Signaling Pathway in Cervical Cancer

Pasien kanker lebih dari setengah menerima radioterapi selama dalam pengobatan, dan terapi ini merupakan terapi yang paling efektif untuk kanker serviks di tingkat lanjut. Radiasi *ioning* mengarah ke banyak perubahan sel seperti pada tingkat membran plasma melalui aktivasi beberapa reseptor, sementara radiasi ionisasi mengaktifkan *signal pathway* pada inti sel sebagai tanda adanya kerusakan DNA, yang menghasilkan koordinat jaringan transduksi sinyal jalur apoptosis, respons stres, penghentian siklus sel dan pengaktifan proses perbaikan DNA. Radiasi ionisasi juga dapat menginduksi terjadinya apoptosis melalui spesies oksigen radikal bebas. Apoptosis adalah tanda utama kematian sel yang diprogram, dan ditandai oleh serangkaian perubahan morfologi, termasuk kondensasi inti sel DNA, penyusutan sel dan fragmentasi DNA (Khalilia *et al.*, 2018).

Ekspresi HPV yang berlebihan dari *oncoproteins* E6 dan E7 akan merangsang onkogen utama untuk transformasi sel pada kanker serviks. Risiko tinggi degradasi induksi protein E6 merupakan pengaturan siklus sel penting seperti protein utama p53 dan PDZ, sedangkan protein E7 tampak tidak akan mengaktifasi *protein retinoblastoma* (pRB) (Merion *et al.*, 2014).

Beberapa HPV, seperti HPV16 dan HPV18, merupakan HPV18 yang paling umum berhubungan dengan kanker. HPV mengkode dua gen akhir yaitu protein L1 dan L2 dan enam gen awal E1, E2, E4, E5, E6 dan E7. Meskipun E1, E2 dan protein L1 dan L2 penting untuk semua HPV, ekspresi protein HPV lainnya bervariasi dalam setiap HPV yang berbeda. Misalnya, HPV 101, 103 dan 108 tidak mengkode protein E6, sementara HPV31 mengekspresi E8. Protein HPV ini mempertahankan replikasi, amplikasi dan pelepasan virus. Di antaranya E5, E6 dan E7 adalah onkogen utama yang mengaktifkan proliferasi sel induk untuk memfasilitasi proses amplifikasi virus. Penelitian menunjukkan bahwa E7 menyiapkan terjadinya pengabdian sel, sementara E6 dapat meningkatkan pengaruh E7, yaitu E6 dan E7 dapat bekerja sama untuk mengabdikan sel epitelial utama manusia. Pengaruh efektif E6 dan E7 dapat dijelaskan

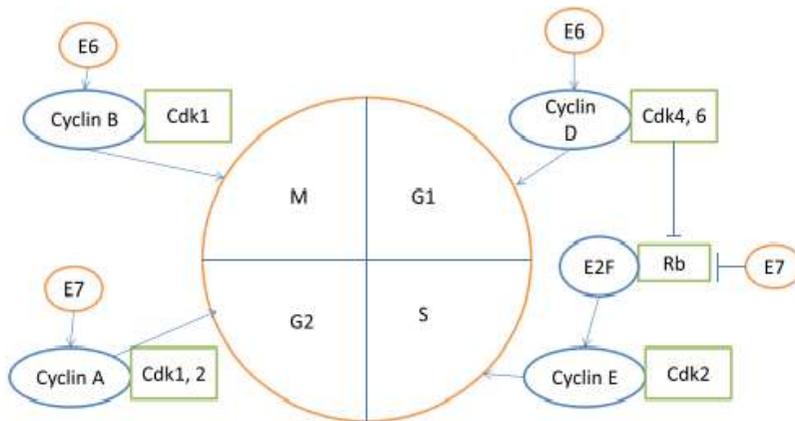
oleh target capaian dengan metode yang berbeda. Penghambatan E6 akan meningkatkan tumor protein 53 (p53) tapi tidak *protein retinoblastoma* (pRb), sementara hasil penghambatan E7 akan meningkatkan *protein retinoblastoma* (pRb) tetapi bukan p53. E5 juga merupakan onkoprotein di mana memberikan *signal pathway* untuk meningkatkan efek E6 dan E7. Meskipun E6 dan E7 bersama-sama tidak mencukupi, tetapi membutuhkan pengenalan dari faktor risiko kanker lainnya untuk pembentukan tumor (Chen, 2015).



Gambar 2.4 Jalur mekanisme pengaturan E6/P53; penghambatan E6 akan meningkatkan tumor protein 53 (p53) dan penghambatan E7 akan meningkatkan *protein retinoblastoma* (pRb) (Chen, 2015).

Peningkatan proliferasi sel-sel abnormal adalah salah satu karakteristik utama terjadinya kanker. Meskipun tidak semua bahwa hiperproliferasi itu disebabkan oleh kanker, tetapi peningkatan proliferasi sel dapat memfasilitasi terjadinya mutasi gen untuk proses karsinogen. Proliferasi sel adalah disebabkan pertumbuhan sel dan diatur oleh bagian siklus sel. Siklus sel ini terdiri dari empat fase yaitu G1, S, G2 dan M. Setiap dari siklus sel diatur oleh famili serin/*threonin* protein kinase bersifat heterodimer yang terdiri dari sebuah CDK (*catalytic*) dan sebuah cyclin (*regulatory*). E6 dan E7 dapat mempengaruhi *cyclin* ini melalui jalur yang bervariasi untuk mengaktifkan proliferasi sel. E6 dapat mengaktifkan Akt/myc *pathway* dan menurunkan

p16 untuk meningkatkan *cyclin* D. Peningkatan *cyclin* B1 oleh E6 juga telah dilaporkan mengaktifkan fase G2. HPV 16 E7 dapat meningkatkan *cyclin* A dengan berinteraksi secara langsung (Chen, 2015).



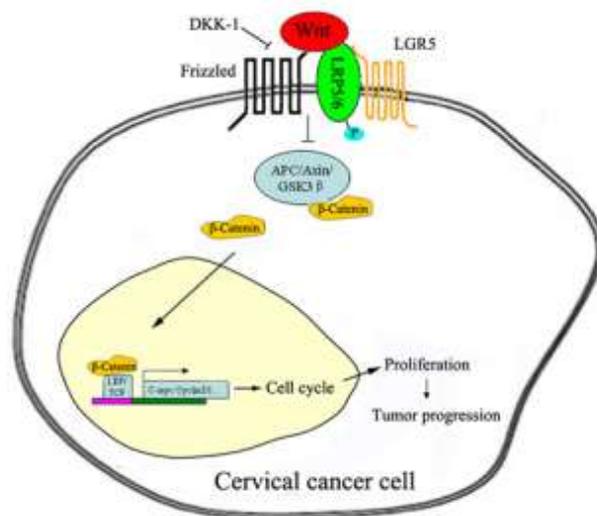
Gambar 2.5 HPV, Siklus sel dan proliferasi sel; Siklus sel terdiri dari 4 fase yang diatur oleh protein kinase CDK dan *cycline* yang akan mempengaruhi E6 dan E7 untuk mengaktifkan proliferasi sel (Chen, 2015).

Penelitian lain juga mengatakan bahwa jalur Wnt memegang peranan terjadinya kanker. Jalur transduksi sinyal Wnt untuk mengontrol homeostasis jaringan sel, pembentukan jaringan, proliferasi dan fenomena biologis lain melalui pengembangan embrio dan kehidupan membuat dewasa menjadi salah satu jalur cepat berkembang yang paling penting. *Proto-oncogene* Int-1 adalah yang pertama diidentifikasi gen Wnt-terisolasi dari tikus pada tahun 1982 dan bernama Wnt1. Persyaratan Wnt dimulai dari pembelahan pertama *zygote* dan terus sampai dewasa yang dapat menyebabkan penyakit seperti kanker, diabetes tipe-2, penuaan yang tidak teratur. Protein Wnt 40 kDa dalam ukuran sangat teramat terdiri dari glikoprotein *cysteine* dan memiliki peran dalam membentuk gradiasi konsentrasi yang berhubungan dengan perkembangan jaringan (Klaus and Birchmeier 2008; Zhan *et al.* 2017).

LGR5 dapat meningkatkan aktivitas jalur Wnt/ β -catenin dalam sel kanker serviks. Ekspresi LGR5 berkorelasi positif dengan ekspresi gen target jalur Wnt/ β -catenin pada kanker serviks manusia. LGR5 mempromosikan tumorigenesis, mempercepat proliferasi sel, dan mengaktifkan jalur Wnt/ β -catenin. LGR5 mempromosikan proliferasi sel dan tumorigenesis dengan mengaktifkan jalur Wnt/ β -catenin dengan penyumbatan dengan DKK-1, penghambat pensinyalan Wnt/ β -catenine, menghasilkan penghambatan yang

signifikan dari proliferasi sel kanker serviks yang diinduksi oleh LGR5. Setelah diaktifkan, protein LGR5 merekrut reseptor *LRP-Frizzled* kompleks, yang berikatan dengan ligan Wnt dan memperkuat pensinyalan Wnt setelah fosforilasi LRP. Serangkaian langkah terjadi, termasuk akumulasi β -catenine, yang ditranslokasi ke nukleus dan bersama dengan gen TCF/LEF sebagai faktor transkripsi, meningkatkan ekspresi gen terkait sekitarnya, yang akhirnya mengarah kepada kerusakan DNA yang menyebabkan aktifnya jalur pensinyalan p53 pada perkembangan kanker serviks (Chen, 2015; Chen *et al.* 2014).

Protein E6 dari HPV-16 and 18 akan mengakibatkan inaktivasi gen p53 melalui mekanisme pengikatan yang disebut *ubiquitin-dependent proteolytic pathway* (E6AP), sehingga akan terjadi penurunan kadar protein p53 (*wild type*) Gen p53 adalah gen yang mengkode *phosphoprotein* inti sel seberat 53 kDa, dan bertindak sebagai negatif regulator dalam siklus sel, sehingga dikelompokkan dalam gen-gen penekan tumor. Perbedaan potensi berbagai tipe HPV terhadap karsinogenesis tergantung afinitas protein-E6 dalam mengikat gen p53 dan protein-E7 yang mempunyai arti penting dalam karsinogenesis kanker serviks uteri (Prayitno *et al.*, 2015).



Gambar 2.6 Mediasi kanker serviks melalui jalur mekanisme pengaturan Wnt; penghambat Wnt/ β -catenin, menghasilkan penghambatan yang signifikan proliferasi sel kanker serviks yang diinduksi oleh LGR5. Setelah diaktifkan, protein LGR5 merekrut reseptor *LRP-Frizzled*, yang berikatan dengan ligan Wnt dan memperkuat pensinyalan Wnt setelah fosforilasi LRP (Chen *et al.*, 2014).

3.9 Pengobatan Kanker Serviks

Penanganan kanker ada dua macam yaitu: pencegahan kanker dan penghambatan kanker. Upaya pencegahan kanker disebut kemopreventif. Senyawa kemopreventif dibagi menjadi dua kategori yaitu *blocking agent* dan *suppressing agent*. *Blocking agent* adalah mencegah karsinogen mencapai target aksinya, baik melalui penghambatan aktivasi mekanisme atau menghambat interaksi dengan target makromolekul seperti DNA, RNA atau protein. *Suppressing agent* adalah menghambat pembentukan malignan dari sel yang telah terinisiasi pada tahap promosi atau progresi (Darma *et al.*, 2009; Meiyanto *et al.*, 2007).

Pengobatan penyakit serviks berbeda-beda di seluruh dunia, ada yang mudah dijangkau dan ada yang tidak mudah karena sesuai dengan kondisi dan kemajuan pada beberapa negara tentang pengobatan kanker serviks. Bagi sebagian besar negara muncul "*fertility-sparing therapy*" di masyarakat luas, karena kemajuan teknologi tersebut sehingga membantu para dokter untuk melakukan pengobatan dan mengembangkan penemuan-penemuan parah ilmuwan di negara-negara tersebut. Sejak didiagnosis kanker serviks ganas maka radiasi radiosensitif, dapat dimanfaatkan sebagai bagian dari pengobatan pada setiap fase di mana ketika bedah alternatif tidak ada. Pada stadium IA dapat ditangani dengan histerektomi (pengangkatan seluruh rahim termasuk bagian vagina). Untuk tahap IA2, pilihan yang tepat adalah metode bedah, misalnya, biopsi kerucut. Untuk infeksi 1A1, biopsi kerucut (konisasi serviks) dipandang sebagai terapi yang dapat digunakan (Dasari *et al.*, 2015). Satu lagi pilihan pengobatan untuk wanita perlu untuk melindungi kematangan sel telur dengan memilih metode *trachelectomy*. Ini dilakukan untuk melindungi, menjaga ovarium dan Rahim. Tindakan ini adalah alternatif yang praktis untuk pasien kanker di tahap I di mana kanker serviks belum menyebar. Pada beberapa kasus kanker serviks, agar tidak terjadi penyebaran ke kelenjar getah bening pada penyakit tahap 1b dan beberapa tahap tumor 1a, dokter akan menyarankan untuk mengangkat beberapa kelenjar getah.

Pengobatan kemopreventif dibagi menjadi tiga golongan yaitu: primer, sekunder dan tersier. Kemopreventif primer adalah mencegah terjadinya sel kanker sejak tahap premalignan. Usaha pencegahan saat karsinogenesis pada tahap awal malignan adalah kemopreventif sekunder, sedangkan kemopreventif tersier adalah usaha untuk meminimalkan risiko yang mungkin terjadi setelah terapi untuk malignan primer. Upaya penyembuhan (kuratif) kanker antara lain:

1. Kemoterapi

Terapi ini menggunakan obat-obatan seperti golongan siklofosfamid, doksorubisin, methoreksat dan 5-flurourasil. Pada dasarnya kinerja obat-obatan tersebut sama yaitu menghambat proliferasi sel, sehingga sel tidak jadi memperbanyak diri. Kemoterapi bisa diberikan secara tunggal atau, dengan harapan bahwa sel-sel yang resisten terhadap obat tertentu juga bisa merespons obat yang lain sehingga bisa diperoleh hasil yang lebih baik. Dampaknya pada klien biasanya rambut rontok, selera makan menurun, rasa lemah dan letih (Singh *et al.*, 2015).

2. Terapi hormon

Terapi ini digunakan untuk jenis kanker yang berkaitan dengan hormon misalnya kanker serviks (berkaitan dengan hormon estrogen) pada wanita dan kanker prostat (berkaitan dengan hormon progesteron) pada pria. Terapi hormon pada dasarnya berusaha menghambat sintesis steroid sehingga sel tidak dapat membelah. Terapi ini membawa dampak negatif bila dilakukan pada wanita yang masih dalam usia subur karena dapat menghambat siklus menstruasi (Sharma, 2000).

3. Radioterapi

Radioterapi adalah prosedur atau Tindakan medis yang dilakukan dengan tujuan membunuh sel-sel kanker, menghentikan proliferasi sel dan penyebaran sel-sel kanker di dalam tubuh. Terapi ini menggunakan sinar X dengan dosis tertentu sehingga dapat merusak DNA dan memaksa sel untuk berapoptosis. Efek negatif yang ditimbulkan hampir sama dengan kemoterapi (Muliyadi, 1997). Mengingat efek samping dari radioterapi ini adalah dapat mematikan sel-sel sehat, sehingga sebelum dilakukan radioterapi, dokter akan melakukan beberapa pemeriksaan untuk memastikan apakah prosedur ini aman dan tepat dilakukan pada pasien tersebut, sesuai dengan kondisinya. Kemudian jika aman untuk dilakukan, maka dokter akan menentukan dosis serta frekuensi radioterapi, sesuai dengan jenis dan stadium kanker yang dialami pasien (Deverakonda and Gupta, 2016).

3.10 Antioksidan

3.10.1 Pengertian Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa yang memiliki kemampuan untuk menetralkan radikal bebas dengan cara menyumbangkan elektronnya pada molekul radikal bebas. Senyawa antioksidan dapat mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas terhadap sel normal, protein, lemak dan DNA. Berdasarkan sumbernya, antioksidan dikelompokkan ke dalam antioksidan endogen dan eksogen (Banjarnahor and Artanti 2014; Ruan *et al.*, 2020). Antioksidan sebagai senyawa yang dapat menunda, memperlambat, dan mencegah proses oksidasi lipid. Dalam arti khusus, antioksidan adalah zat yang dapat mencegah terbentuknya reaksi radikal bebas (peroksida) dalam oksidasi lipid (Lung and Destiani, 2014). Antioksidan endogen merupakan antioksidan enzimatik yang dihasilkan oleh tubuh, melalui proses metabolisme sel. Contoh antioksidan endogen, antara lain *superoxide dismutase* (SOD), *catalase* (CAT), peroksidase dan *glutathion peroksidase* (GPX). Superoksida dismutase merupakan antioksidan endogen yang dapat mengatalisis superoksida (O_2) menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2), sehingga SOD disebut sebagai *scavenger* atau pembersih superoksida (O_2). Katalase sebagai salah satu antioksidan endogen, merupakan senyawa hemotetramer dengan besi (Fe) sebagai kofaktornya. Katalase adalah suatu hemoprotein yang mengandung empat gugus heme, dan banyak ditemukan pada hewan maupun tumbuhan. Katalase berfungsi untuk mengatalisis berbagai radikal peroksida menjadi H_2O_2 dan O_2 . Peroksida merupakan enzim turunan hemoprotein yang terdapat pada organisme prokariot dan eukariot. Sedangkan GPX adalah salah satu jenis enzim peroksidase yang memiliki gugus prostetik berupa logam selenium (Se). Enzim GPX bekerja dengan cara memecah H_2O_2 dan berbagai lipid peroksida, dengan mereduksinya menjadi H_2O . Proses tersebut melibatkan reaksi redoks dari glutathione tereduksi (GSH) (Kumalaningsih, 2016). Antioksidan eksogen antioksidan yang diperoleh dari luar tubuh. Antioksidan eksogen kerap kali diperoleh dari makanan sehari-hari, terutama sayuran dan buah-buahan yang banyak mengandung vitamin (A, C dan E) serta mineral (seperti Zn dan Se) (Ruan *et al.*, 2020; Seifried *et al.*, 2017).

Senyawa fitokimia merupakan zat alami yang terdapat dalam tanaman yang memberikan cita rasa, aroma dan warna yang khas pada tanaman tersebut. Beberapa khasiat senyawa fitokimia tersebut berfungsi sebagai antioksidan, meningkatkan sistem kekebalan tubuh, mengatur tekanan darah, menurunkan kolesterol, serta mengatur kadar gula darah. Secara kimia

senyawa antioksidan adalah senyawa pemberi elektron (elektron donor). Secara biologis, antioksidan merupakan senyawa yang dapat menangkal atau meredam dampak negatif oksidan. Antioksidan bekerja dengan cara mendo-norkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitas senyawa oksidan tersebut dapat dihambat (Sri, 2010).

Antioksidan dibutuhkan tubuh untuk melindungi tubuh dari serangan radikal bebas. Tubuh manusia tidak mempunyai cadangan antioksidan dalam jumlah berlebih, sehingga apabila terbentuk banyak radikal bebas maka tubuh membutuhkan antioksidan eksogen. Adanya kekhawatiran kemungkinan efek samping yang belum diketahui dari antioksidan sintetik menyebabkan antioksidan alami menjadi alternatif yang sangat dibutuhkan. Senyawa fitokimia ditemukan pada berbagai sayuran dan buah-buahan. Senyawa ini mempunyai manfaat bagi kesehatan, yang membuat tubuh lebih sehat dan lebih kuat. Fungsi atau manfaat senyawa fitokimia dapat dilihat pada Tabel 2.4.

Tabel 2.4 Fungsi senyawa fitokimia buah andaliman (Sayuti and Yenrina 2015)

Senyawa Fitokimia	Fungsi Bagi Kesehatan								
	A	B	C	D	E	F	G	H	I
Karotenoid	√		√		√				
Fitosterol	√						√		
Saponin	√	√			√		√		
Glukosinolat	√	√					√		
Polifenol	√	√	√	√	√	√		√	
Mono terpen	√		√						
Fiteostrogen	√		√						
Sulfida	√	√	√	√	√	√	√	√	
Asam fitat	√		√		√			√	√
Keterangan									
A: Antikanker	F: Antiinflamasi								
B. Antimikroba	G: Mengatur tekanan darah								
C: Antioksidan	H: Menurunkan kolesterol								
D: Merangsang sistem Immun	I: Mengatur kadar gula darah								

BAB 4

PENGARUH ANDALIMAN PADA KANKER SERVIKS TIKUS DENGAN PEWARNAAN AgNOR

4.1 AgNOR

AgNOR adalah salah satu cara penilaian proliferasi sel dengan cara menghitung “*Nucleolar Organizer Region* (NOR) yang merupakan lengkung DNA ribosom yang ditranskripsikan menjadi RNA ribosomal dengan bantuan RNA polymerase. NOR terletak pada lengan pendek kromosom akrosentrik (nomor 13, 14, 15, 21 dan 22) pada manusia dan terlihat berasosiasi dengan komponen fibril pada fase interfase. NOR mengandung gen yang membentuk ribosomal 18s dan 28s RNA, yang sangat vital untuk sintesis protein (Kurnia *et al.*, 2012, 2013).

Mekanisme molekular yang mengontrol proliferasi sel meliputi regulator positif dan negatif. Beberapa protein regulator positif yang berperan dalam stimulasi proliferasi, misalnya faktor pertumbuhan dan reseptor faktor pertumbuhan yang berperan dalam transduksi *signal*. Selain itu AgNOR berfungsi dan sangat berperan untuk mengidentifikasi gen regulator negatif yang terlibat dalam pertumbuhan sel. Berbagai parameter dapat digunakan untuk menilai aktivitas proliferasi. Pewarnaan AgNOR (*Ag-Nucleolar Organizer Region*) sebagai petanda proliferasi sel terhadap apoptosis pada kanker serviks. Pada sediaan mikroskopik dilakukan deparafinasi dengan xilol, rehidrasi dengan etanol konsentrasi menurun dan terakhir dengan air ionisasi masing-masing selama lima menit, kemudian diwarnai dengan AgNOR (Kurnia *et al.*, 2012, 2013; Kurnia *et al.*, 2006).

Transformasi sel dari normal ke ganas adalah karakteristik peningkatan sintesis protein. Oleh karena itu, AgNORs dapat digunakan sebagai tanda untuk membedakan terjadinya proliferasi sel, diferensiasi dan transformasi malignan (Dávila-rodríguez *et al.*, 2015). AgNOR pleomorfisme telah banyak digunakan untuk kepentingan diagnostik dalam membedakan lesi premalignant dan

ganas pada berbagai macam teknologi manusia dan menunjukkan korelasi yang tinggi dengan penggunaan AgNOR untuk menghitung HPV positif pada kanker serviks (Srivastava *et al.*, 2019). Sehingga, pewarnaan AgNOR sangat penting dilakukan pada pemeriksaan histologi kanker serviks (Mohanty and Padhy, 2020; Srivastava *et al.*, 2013). Shukla *et al.*, (2013) mengungkapkan pewarnaan AgNOR menunjukkan potensi diagnostik dalam proses karsinogenesis yang dapat membantu untuk membedakan lesi kanker serviks dan merupakan *marker* proliferasi pada serviks.

4.2 Pengaruh Andaliman pada Kanker Serviks Tikus (*Rattus novergicus*) dengan AgNOR

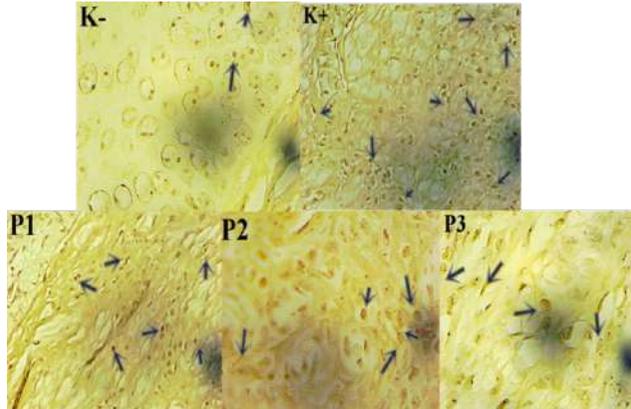
Tabel 4 Analisis Kruskal Wallis dan Mann-Whitney dengan pewarnaan AgNOR pada jaringan kanker serviks tikus setelah pemberian ekstrak metanol buah andaliman

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

Keterangan: superskrip yang berbeda menunjukkan perbedaan 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 andaliman 200 mg/KgBB. P3: Model tikus kanker serviks + ekstrak metanol buah andaliman 400 mg/KgBB.

Berdasarkan analisis statistik dengan menggunakan uji *Kruskal-Wallis* pada sel kanker serviks dengan pewarnaan AgNOR yang diinduksi benzo-apyren 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 4) dan Gambar 4.2).

Sejalan dengan penelitian Bhat *et al.*, (2013) menyatakan bahwa pewarnaan 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 (Tyagi *et al.*, 2020) dan secara langsung peningkatan jumlah butir AgNOR (Simanullang *et al.*, 2021) secara progresif sebanding dengan meningkatnya proliferasi aktivitas sel-sel: cervik normal dan peradangan serviks tanpa displasia (Mahobia *et al.*, 2018). Penghitungan AgNOR sangat membantu sebagai penanda terjadinya proliferasi sel, di mana dapat membantu diagnosis melalui *pap smear* untuk menentukan tahapan lesi serviks (Sukhla *et al.*, 2013; Fujiyama and Manoukian, 2011) dan kanker payudara (Ahmed *et al.*, 2011; Darkwah *et al.*, 2018) serta adanya korelasi antara tingginya jumlah rata-rata AgNOR dengan HPV positif (Srivastava *et al.*, 2019). AgNOR ini juga digunakan untuk melihat perubahan dari tumor jinak ke pre kanker dan ke tumor ganas (Raj and Talwar, 2012).



Gambar 4.1: 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 *et al.*, (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. Cao *et al.*, (2009) 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.

BAB 5

PENGARUH ANDALIMAN TERHADAP KANKER SERVIKS TIKUS DENGAN PEWARNAAN HAEMATOXYLINE-EOSIN (HE)

5.1 Pewarnaan Haematokxylin-Eosin (HE)

Hematoxylin dan Eosin (H&E) merupakan salah satu pewarnaan jaringan utama yang digunakan dalam histologi dan biasanya dijadikan sebagai kontrol terhadap jaringan patologis. Hematoxylin mewarnai nukleus sel menjadi warna biru, dan eosin mewarnai matriks ekstraseluler dan sitoplasma dengan warna merah muda, dengan struktur lain dengan menggunakan berbagai corak, rona, dan kombinasi warna-warna ini. Noda menunjukkan tata letak umum dan distribusi sel dan memberikan gambaran umum struktur sampel jaringan. Pewarnaan H&E telah digunakan sejak satu abad yang lalu dan masih penting untuk mengenali berbagai jenis jaringan dan perubahan morfologi untuk mendiagnosis terjadinya kanker (Fischer *et al.*, 2017). Keterbatasan pewarnaan hematoxylin adalah adanya ketidaksesuaian dengan imunofluoresensi. Akan tetapi H&E, berguna untuk mewarnai satu bagian serial parafin dari sebuah jaringan yang akan dilakukan imunofluoresensi. Hematoxylin dan eosin umumnya, berguna sebagai penghitung noda untuk prosedur imunohistokimia atau hibridisasi dengan menggunakan substrat warna (seperti alkaline fosfatase atau peroxidase) (Fischer *et al.*, 2008; Muskett, 2018).

Dengan penggunaan H&E dapat membantu klasifikasi patologis dari intraepitlial neoplasia (CIN) yaitu sebuah metode pewarnaan dengan menggunakan spektroskopi untuk menilai intensitas fluoresensi biopsi serviks yang berasal langsung dari pewarnaan jaringan oleh hematoxylin dan eosin (H&E) (Castellanos *et al.*, 2015). Zhang *et al.*, (2014) mengungkapkan bahwa pewarnaan H&E memiliki akurasi 93% dengan metode segmentasi untuk mengukur sitoplasma dan akurasi 87,3% dalam penghitungan nukleus pada histologi sel kanker serviks. Metode pewarnaan H&E dapat melengkapi

gambaran patologis dan memberikan kriteria objektif untuk mendukung diagnosis CIN (Castellanos *et al.*, 2015). Alur kerja H&E merujuk pada Lampiran 8.

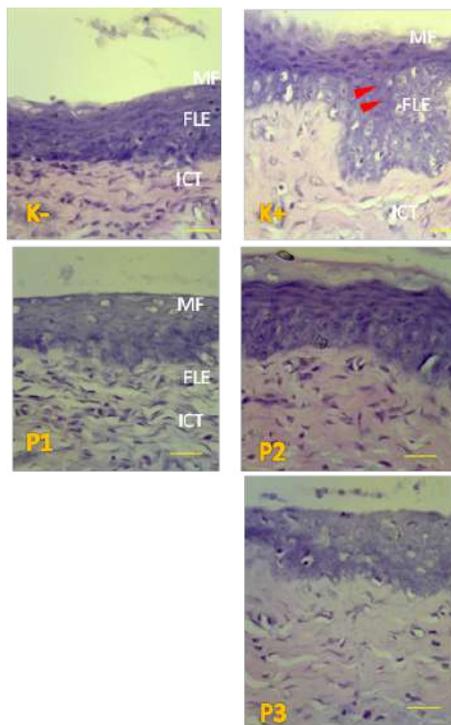
5.2 Pengaruh Andaliman pada Kanker Serviks terhadap Pewarnaan Haemotxyline-Eosin (HE)

Berdasarkan Gambar 5.1 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 serviks 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 (Szmigielski *et al.*, 2018). Proses inisiasi karsinogenik benzopyrene dapat terjadi di bagian-bagian jaringan sekitar dan bahkan jaringan yang jauh dari titik paparan (Szmigielski *et al.*, 2018; Chagnaud *et al.*, 2019).

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 (Gambar 4.1).

Sejalan dengan penelitian Sing *et al.*, (2015) menyatakan bahwa kandungan molekul bioaktif ekstrak daun *Zanthoxylum acanthopodium* DC. merupakan terapi komplementer kemoterapi sebagai obat anti kanker. Begitu pula pada penelitian Epifano *et al.*, (2010) menyatakan bahwa senyawa kimia kandungan *Zantoxylum* merupakan anti-kanker karena mampu mencegah perkembangan sel-sel pada kanker. Ekstrak etanol buah andaliman memiliki aktivitas sebagai anti kanker (Nozaki *et al.*, 2017) dan sangat poten untuk menghambat proliferasi sel MCF7 pada kanker payudara (Arsita *et al.*, 2019). Ekstrak minyak buah, kulit dan daun *Zanthoxylum* memiliki potensi sitotoksis

pada kanker payudara dan kolorektal manusia melalui mekanisme apoptosis sehingga tanaman ini dapat dikembangkan sebagai obat anti kanker (Alam *et al.*, 2017). 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 (Narayanasamy and Ragawan, 2014). Kandungan senyawa bioaktif alkaloid *Zanthoxylum* dapat menghambat aktivitas proliferasi sel sehingga memiliki potensi kuat sebagai anti kanker yang perlu dikembangkan (Tian *et al.*, 2017).



Gambar 5.1. 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 μ m.

BAB 6

PENGARUH ANDALIMAN TERHADAP EKSPRESI CDK4 PADA KANKER SERVIKS TIKUS

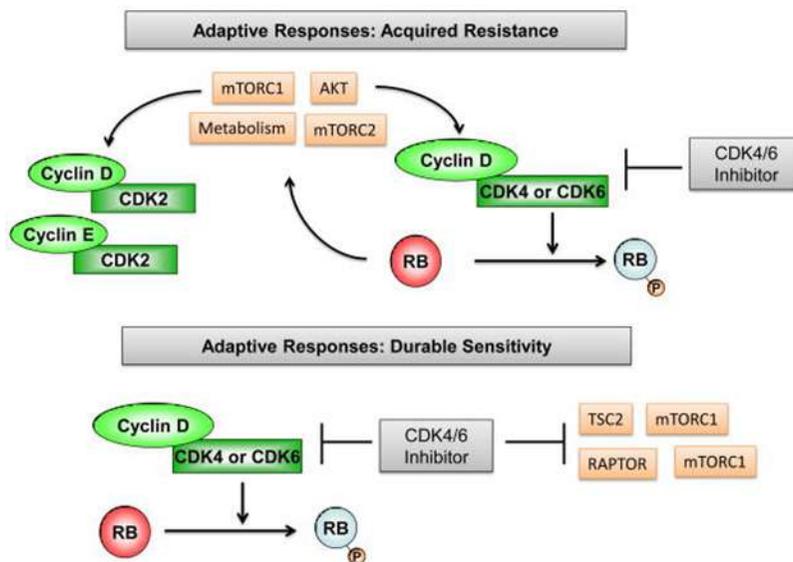
6.1 Ciclyn Dependent Kinase 4 (CDK4)

CDK4 merupakan sebuah protein inhibitor terapi endokrin pada kanker dan sebagai inhibitor MAPK (*Mitogen Activated Protein Kinase*) (O’Leary *et al.*, 2016). CDK4 memegang peranan pada proliferasi sel yang tidak terkontrol dan mengaktivasi *Ciclyn Dependent Kinase* (CDKs) untuk membantu perkembangan siklus sel (Goel *et al.*, 2017; O’Leary *et al.* 2016). Protein ini menjaga sel-sel dari istirahat atau yang memicu terjadinya apoptosis, CDK4 dapat mencegah pertumbuhan sel menjadi kanker ganas yang disebabkan oleh adanya gangguan pada siklus sel (G1, S, G2, dan M) yang menghasilkan proliferasi yang tak terbatas dan ketidakmampuan sel apoptosis (Leal-Esteban and Fajas 2020; Mohammad *et al.*, 2019).

CDK4 merupakan inhibitor dan toksitas terhadap kanker payudara (Ribnikar *et al.* 2019) dan fungsinya sebagai inhibitor telah divalidasi sebagai obat anti kanker melalui siklus sel kinase (O’Leary *et al.*, 2016; Sherr *et al.*, 2016). Sinyal mitogenik dan anti-proliferatif terpadu menghasilkan ekspresi *D-type cyclins* dan keadaan aktivasi dari CDK4/6. Kompleks kinase aktif dapat memulai fosforilasi RB dan pelepasan faktor transkripsi E2F Gambar 6.1 (Knudsen and Witkiewicz, 2017).

Ekspresi HPV yang berlebihan atau ekspresi abnormal dari beberapa regulator positif siklus sel telah dikaitkan dengan terjadinya apoptosis. Ekspresi siklin dan CDKs terlibat dalam transformator onkogen termasuk karsinoma, ovarium dan saluran gastrointestinal di mana menunjukkan korelasi antara kerusakan siklus sel (Peurala *et al.*, 2013; Volkart *et al.*, 2018). Ekspresi CDK4/Cyclin D1 yang berlebihan, kemungkinan dimediasi oleh apoptosis dan merupakan indikator prognosis pada kanker paru-paru terutama karsinoma paru pada manusia (Goel *et al.* 2017; Oh *et al.*, 2018). Hubungan dari regulasi

CDK4 dengan apoptosis terlibat dalam siklus regulasi molekul dalam apoptosis (Dobash *et al.*, 2004; Xiong *et al.*, 2019; Oh *et al.* 2018).



Gambar 6.1 Jalur mekanisme pengaturan CDK4/6; Sinyal mitogenik dan anti-proliferasi terpadu menghasilkan ekspresi *D-type cyclins* dan keadaan aktivasi dari CDK4/6. Kompleks kinase aktif dapat memulai fosforilasi RB dan pelepasan faktor transkripsi E2F (Knudsen and Witkiewicz, 2017).

6.2 Pengaruh Andaliman terhadap Ekspresi CDK4 pada Kanker Serviks Tikus

Berdasarkan hasil statistik menggunakan Kruskal Wallis, terdapat perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$, $p = 0,000$) terhadap ekspresi CDK4 pada jaringan tikus kanker serviks setelah pemberian ekstrak metanol buah andaliman (Tabel 6). Selanjutnya dilakukan uji lanjutan dengan Mann-Whitney untuk melihat perbedaan antar kelompok. Ekspresi nilai *mean rank* tertinggi terdapat pada kelompok kontrol positif (K+) tikus model kanker sedangkan yang terendah terdapat pada kelompok kontrol negatif tikus normal (K-) dan tikus yang diberikan ekstrak buah andaliman dengan dosis paling tinggi 400 mg/kgBB (P3). Hal itu sejalan dengan hasil uji statistik Mann-Whitney di mana tidak ada perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol negatif (K-) dibandingkan dengan pemberian ekstrak metanol buah andaliman dengan pemberian 300 mg/kgBB (P3).

Tabel 6 Analisis Kruskal Wallis dan Mann-Whitney ekspresi CDK4 pada jaringan kanker serviks tikus setelah pemberian ekstrak metanol buah andaliman (*Zantoxylum acanthopodium*)

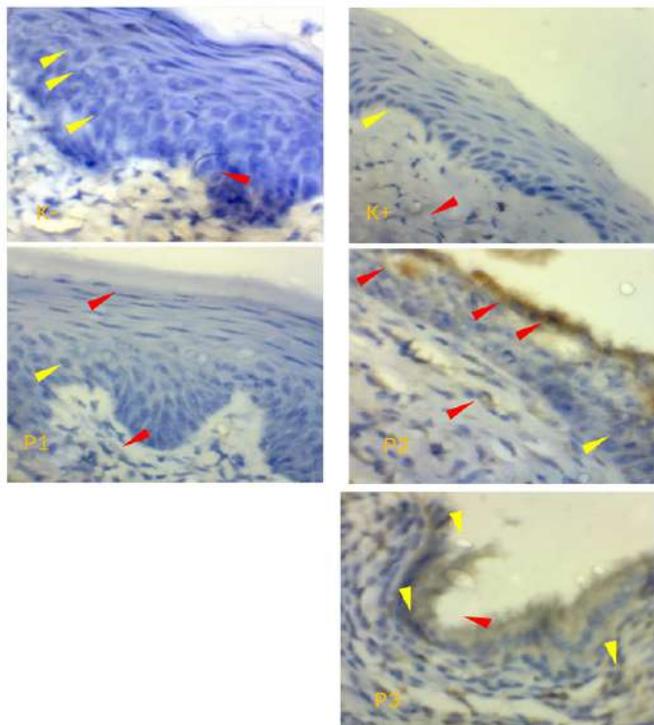
Parameter	Kelompok	Mean Rank	Kruskal-Wallis	Mann-Whitney				
				K-	K+	P1	P2	P3
CDK4	K-	4,70	0,001		0,007 ^b	0,008 ^c	0,032 ^d	0,118
	K+	22,30				0,041 ^c	0,008 ^d	0,008 ^e
	P1	17,90					0,031 ^d	0,016 ^e
	P2	11,00						0,690
	P3	9,10						

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

Ekspresi CDK4 ditandai dengan warna coklat pada gambar 6.2 menunjukkan bahwa ekspresi CDK4 pada kelompok kontrol terlihat bahwa histologi jaringan serviks secara kompleks, di mana pitelium skuamosa mengandung inti sel, sitoplasma dan strom pada kondisi normal. Epitelium skuamosa memberikan informasi diagnostik 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 intrinsik.

Andaliman dapat menghambat ekspresi CDK4 pada jaringan serviks karena mempunyai antioksidan tinggi yang dapat menurunkan MDA, antiinflamasi dan meningkatkan HSP-70 (Nagata and Tanaka, 2017; Situmorang *et al.*, 2019). Fraksi *n-hexane* andaliman memiliki kandungan bioaktif dan efektif sebagai anti kanker, menghambat apoptosis dan menurunkan ekspresi siklin D1 (Wijaya *et al.*, 2019). Ekstrak etanol buah tanaman ini mempunyai aktivitas anti radikal tinggi dibandingkan dengan ekstrak aseton dan heksan (Rosidah *et al.*, 2019). Berdasarkan uji toksisitas, andaliman mempunyai efek toksitas

rendah dan antioksidan tinggi (Harahap *et al.*, 2018; Rosidah *et al.*, 2019). CDK4 sangat penting dalam sel karena CDK4 menjaga sel dari istirahat atau memicu sel untuk apoptosis serta mencegah sel menjadi kanker ganas (Mohammad *et al.*, 2019). 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 (Dickson, 2014). Jadi dapat diinformasikan bahwa manfaat buah andaliman dapat dijadikan sebagai kandidat anti kanker untuk strategi molekuler.



Gambar 6.2 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 andaliman 200 mg/KgBB. P3: Model tikus kanker serviks + ekstrak metanol buah andaliman 400 mg/KgBB. Panah kuning: ekspresi CDK4 negatif, panah merah ekspresi CDK4 positif.

Ekspresi CDK4 ditandai dengan warna cokelat pada Gambar 6.2 menunjukkan bahwa ekspresi CDK4 pada kelompok kontrol terlihat bahwa histologi jaringan serviks secara kompleks, di mana pitelium skuamosa mengandung inti sel, sitoplasma dan strom pada kondisi normal. Epitelium skuamosa memberikan informasi diagnostik 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 intrinsik.

Andaliman dapat menghambat ekspresi CDK4 pada jaringan serviks karena mempunyai antioksidan tinggi yang dapat menurunkan MDA, antiinflamasi dan meningkatkan HSP-70 (Nagata and Tanaka, 2017; Situmorang *et al.*, 2019). Fraksi *n-hexane* andaliman memiliki kandungan bioaktif dan efektif sebagai anti kanker, menghambat apoptosis dan menurunkan ekspresi siklin D1 (Wijaya *et al.*, 2019). Ekstrak etanol buah tanaman ini mempunyai aktivitas anti radikal tinggi dibandingkan dengan ekstrak aseton dan heksan (Rosidah *et al.*, 2019). Berdasarkan uji toksisitas, andaliman mempunyai efek toksitas rendah dan antioksidan tinggi (Harahap *et al.*, 2018; Rosidah *et al.*, 2019). CDK4 sangat penting dalam sel karena CDK4 menjaga sel dari istirahat atau memicu sel untuk apoptosis serta mencegah sel menjadi kanker ganas (Mohammad *et al.*, 2019). 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 (Dickson, 2014). Jadi dapat diinformasikan bahwa manfaat buah andaliman dapat dijadikan sebagai kandidat anti kanker untuk strategi molekuler.

BAB 7

PENGARUH ANDALIMAN TERHADAP EKSPRESI *CYTOCHROME C* PADA KANKER SERVIKS TIKUS

7.1 Cytochrome c (Cyt c)

Cytochrome c (Cyt c) sangat penting dalam transportasi elektron mitokondria dan apoptosis intrinsik tipe II. Mamalia dalam kondisi sehat, memproduksi ROS dengan *co-factor* p6shc, dan oksid kardiolipin saat terjadinya apoptosis. Peristiwa apoptosis melibatkan perubahan dalam *Cyt c fosforilation*, peningkatan ROS melalui peningkatan potensial membran mitokondrial melalui jalur p6shc, dan oksidasi kardiolipin oleh Cyt c, dan pelepasannya dari mitokondria (Hüttemann *et al.*, 2011). Kehilangan komponen rantai transpor elektron mitokondria memacu terjadinya superoksida (Mahapatra *et al.*, 2017; Ow *et al.*, 2008). Cyt c mempunyai dua fungsi dalam mengontrol metabolisme dan apoptosis. Melalui interaksi dengan protease apoptosis mengaktifasi faktor-faktor (Apaf-1), sehingga Cyt c dapat menginisiasi pengaktifan caspase sekaligus melepaskannya ke dalam sitosol.

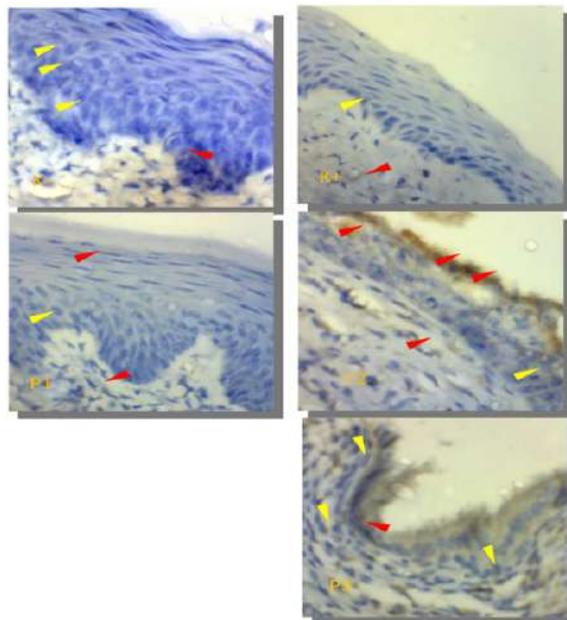
7.2 Pengaruh Andaliman terhadap Ekspresi *Cytochrome c* (Cyt c) pada Kanker Serviks Tikus

Berdasarkan hasil statistik menggunakan Kruskal Wallis, terdapat perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$, $p = 0,000$) terhadap ekspresi sitokrom c pada jaringan kanker serviks setelah pemberian ekstrak metanol buah andaliman (Tabel 7). Selanjutnya dilakukan uji lanjutan dengan Mann-Whitney untuk melihat perbedaan antar kelompok. Nilai *mean rank* ekspresi sitokrom c tertinggi terdapat pada kelompok tikus model kanker serviks dengan pemberian andaliman 300 mg/kgBB, sedangkan ekspresi sitokrom c terendah terdapat pada kelompok kontrol positif yaitu tikus model kanker serviks (K+). Ekspresi sitokrom c rendah pada kelompok tikus model kanker serviks menyebabkan terhambatnya proses apoptosis dari jalur intrinsik sehingga

terjadi pertumbuhan terus menerus pada sel kanker. Sedangkan pemberian andaliman dapat memicu peningkatan sitokrom c sehingga mengaktifkan protein Caspase sebagai inisiator terjadinya apoptosis. Hal itu diduga karena andaliman memiliki kandungan minyak asiri, menurut Paik *et al.*, (2005) famili dari *Zantoxylum* memiliki minyak esensial yang dapat memicu terjadinya kematian sel secara terprogram (apoptosis).

Tabel. 7 *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 ^b	0.017 ^c	0.006 ^d	0.006 ^e
K+	6	4.00				0.005 ^d	0.004 ^d	0.004 ^e
P1	6	12.80					0.007 ^d	0.009 ^e
P2	6	22.60						0.015 ^e
P3	6	18.30						



Gambar 7.1 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. Panah kuning: ekspresi sitokrom c negatif. Panah merah: ekspresi sitokrom c positif

Peningkatan ekspresi sitokrom c dapat dilihat pada Gambar 7.1 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 intrinsik atau lepasnya protein dari mitokondria sehingga menyebabkan aktivasi protein Caspase sampai menuju kematian sel (Jaudan *et al.*, 2018). Andaliman (*Zantoxylum acanthopodium*) dapat menghambat ekspresi sitokrom c dalam sel serviks karena memiliki kandungan antioksidan tinggi, menurunkan MDA, antiinflamasi dan meningkatkan HSP-70 (Situmorang *et al.*, 2019; Wijaya *et al.*, 2019). Fraksi n-Hexanane andaliman kandungan bioaktif dan efektif sebagai antikanker, menghambat apoptosis dan pengaturan ekspresi Siklin D1 (Satria *et al.* 2019). Ekstrak etanol buah andaliman memiliki aktivitas sebagai anti radikal lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak aseton dan hexan (Suryanto *et al.* 2014). Ekstrak etanol andaliman juga menurunkan ekspresi COX-2, MMP-9, TNF- α , dan menghambat IL-6, COX-2, TNF- α , MMP-9, Inos, and mRNA (Yanti *et al.*, 2011). Berdasarkan uji toksitas, di samping memiliki kandungan antioksidan tinggi, tumbuhan memiliki toksisitas yang rendah (Redza *et al.*, 2016). Dengan demikian, pemberian andaliman menunjukkan perbedaan yang signifikan setelah induksi benzoapiren pada serviks tikus.

Peran sitokrom c pada jaringan dapat menjadi respons kematian sel yang distimulasi oleh banyak hal seperti hipoksia, oksidatif stres dan kerusakan DNA yang dapat mengaktifkan jalur intrinsik. Jalur intrinsik melibatkan mitokondria karena mengandung faktor *pro-apoptotic* seperti sitokrom C dan AIF (*apoptosis-induction factor*). Keduanya merupakan zat berbahaya yang disimpan di mitokondria (Redza *et al.*, 2016 dan Lanneau *et al.*, 2018). Walaupun andaliman mengandung anti-peradangan atau anti-kanker, pemberian dosis yang berlebihan dapat meningkatkan terjadinya apoptosis sel.

BAB 8

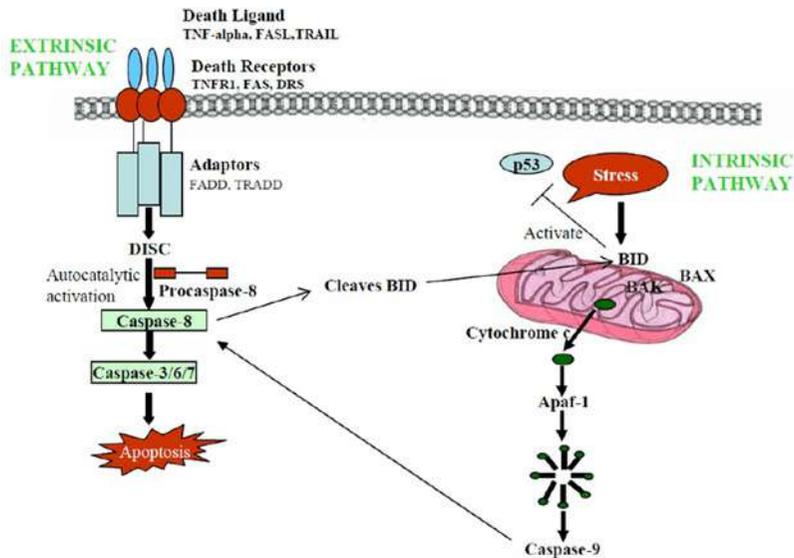
PENGARUH ANDALIMAN TERHADAP APOPTOSIS PADA KANKER SERVIKS TIKUS

8.1 Apoptosis pada Kanker Serviks

Apoptosis adalah proses yang terjadi dalam multiseluler ketika sel sengaja memutuskan untuk mati. Hal ini sering terjadi untuk kebaikan seluruh organisme, seperti ketika sel DNA telah rusak dan kemungkinan menjadi kanker. Apoptosis disebut sebagai program kematian sel karena terjadi instruksi biokimia dalam DNA sel dan hal ini berbeda dengan proses nekrosis, ketika sel mati karena trauma (Hassan *et al.*, 2014; Lopez and Tait, 2015). Apoptosis merupakan adaptasi evolusi penting karena memungkinkan organisme untuk menghancurkan selnya sendiri karena telah menjadi berbahaya bagi lingkungannya. Mekanisme apoptosis terjadi melalui dua jalur yaitu jalur intrinsik dan ekstrinsik. Mekanisme apoptosis jalur intrinsik menggunakan mitokondria (Gambar 8.1) (Hongmei, 2012; Pfeffer and Singh, 2018). Secara keseluruhan, mekanisme ini diatur oleh keluarga protein BCL-2. Berbagai hasil stimulus apoptosis diatur oleh protein BH3 yang kemudian mengaktifasi kedua protein BAX dan BAK (Lopez and Tait 2015). Apoptosis jalur ekstrinsik menggunakan sinyal ekstraseluler untuk menginduksi apoptosis (Hongmei, 2012; Pfeffer and Singh, 2018). Sinyal kematian sel juga dikenal sebagai kematian ligand, berikatan dengan *tumor necrosis factor* (TNF). Beberapa kematian termasuk *Fas ligands* (Fas-L), TNF dihubungkan dengan apoptosis yang menginduksi ligand (TRAIL) dan *tumor necrosis factor* (TNF) (Liu *et al.*, 2017; Zaman *et al.*, 2014).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak *Loranthus yadoriki* memiliki efek anti kanker pada sel kanker serviks manusia melalui *caspace casparade apoptosis signaling pathways* (Kim *et al.*, 2018). Hasil penelitian membuktikan bahwa aktivitas anti kanker pada kanker serviks dengan menginduksi apoptosis

sebagai pengobatan dengan meningkatkan produksi *oligonucleosom*, translokasi sitokrom C dan aktivitas enzim caspase (Kannathasan *et al.*, 2019).



Gambar 8.1. Jalur mekanisme pengaturan apoptosis; mekanisme apoptosis melalui dua jalur yaitu jalur intrinsik dan ekstrinsik. Mekanisme intrinsik apoptosis menggunakan mitokondria dan protein mitokondria diatur oleh keluarga protein BCL-2 yang kemudian mengaktifasi kedua protein BAX dan BAK. Jalur ekstrinsik menggunakan sinyal ekstraseluler untuk menginduksi apoptosis dikenal sebagai kematian ligand, berikatan dengan *tumor necrosis factor* (TNF) (Pfeffer and Singh 2018).

8.2 Pengaruh Andaliman terhadap Apoptosis pada Kanker Serviks Tikus

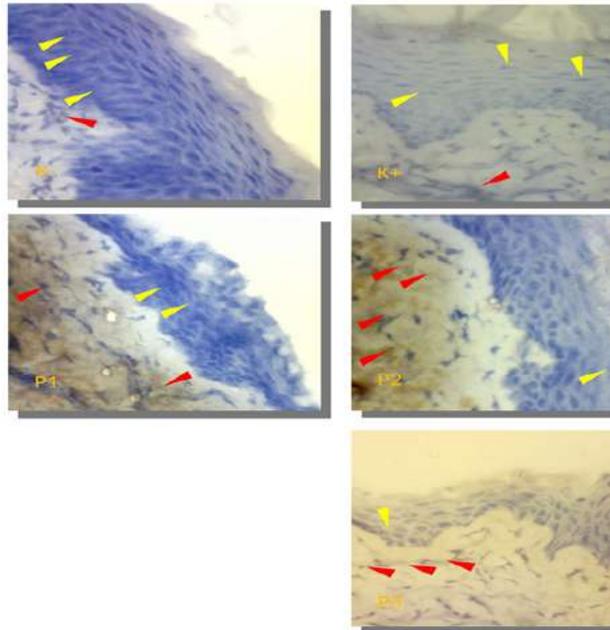
Berdasarkan hasil statistik menggunakan Kruskal Wallis, terdapat perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$, $p = 0,000$) terhadap ekspresi apoptosis pada jaringan kanker serviks setelah pemberian ekstrak metanol buah andaliman (Table 8). Selanjutnya dilakukan uji lanjutan dengan Mann-Whitney untuk melihat perbedaan antar kelompok. Nilai *mean rank* ekspresi apoptosis tertinggi terdapat pada kelompok tikus model kanker dengan dosis pemberian andaliman 200 mg/kgBB, sedangkan ekspresi apoptosis yang terendah terdapat pada kelompok negatif tikus kanker serviks (K-). Penurunan apoptosis terjadi pada dosis tertinggi pemberian ekstrak metanol buah andaliman 400 mg/kgBB. Alber, (2008) menyatakan setiap jaringan normal memiliki ambang batas dalam pemberian dosis (dosis optimal) yang dapat mengekspresikan

efek dosis tersebut pada suatu jaringan. Maka dosis tertinggi pada andaliman (400 mg/kgBB) diduga bukan merupakan dosis optimal pada penelitian ini.

Table 8.1 *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 ^b	0.005 ^c
K+	6	7.60				0.309	0.006 ^b	0.006 ^c
P1	6	10.60					0.009 ^b	0.019 ^c
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 andaliman 200 mg/KgBB. P3: Model tikus kanker serviks + ekstrak metanol buah andaliman 400 mg/KgBB.



Gambar 8.2 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 8.2 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. TUNEL dapat digunakan untuk mendeteksi fragmen-fragmen sebagai tanda apoptosis. Gambar 8.2 menunjukkan histologi serviks dengan bentuk ireguler ke dalam gelembung yang disebut dengan tubuh apoptosis. Lingkungan di dalam sel nukleus tampak terputus dan karyorhexis. 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 fosforilasi dan transpor elektron yang berhubungan dengan radiasi dan adanya gangguan lain seperti keramides, potensial perubahan sel redox dan turunan *Reactive Oxygen Species*

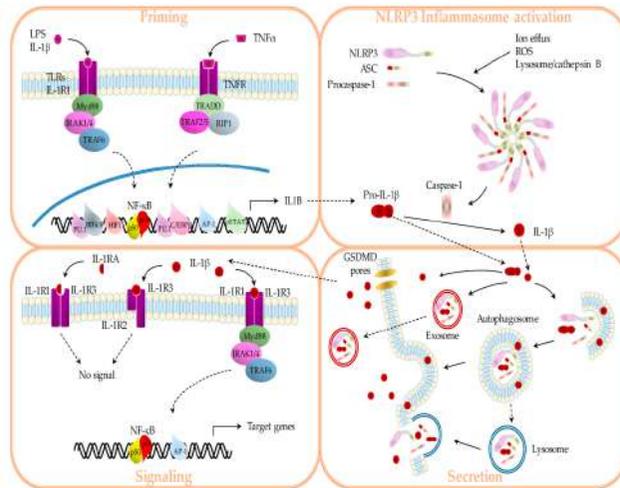
(ROS) (Thiriet, 2012; Tuszkorn *et al.*, 2019). Cholangiocarcinoma (CCA, kerusakan DNA yang mendukung ekspresi protein yang dikenal sebagai p53 (Mrakovcic and Fröhlich, 2018) dan meningkatkan tekanan intraselular ion Ca^{2+} melalui sinyal transduksi (Redza and Averill, 2016). Banyak tanaman yang mengandung 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 (Pal *et al.*, 2019). Berdasarkan pada histologi dan indeks positif (Gambar 4.5 dan Tabel 4.8), 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 *Zantoxylum* menginduksi apoptosis melalui jalur mitokondria secara bebas, sehingga sanshool adalah obat anti kanker (You *et al.*, 2015). Minyak esensial *Zantoxylum* menghambat proliferasi sel HaCaT, menghasilkan induksi apoptosis selular melalui kedua jalur intrinsik dan ekstrinsik (Li *et al.*, 2016).

BAB 9

PENGARUH ANDALIMAN TERHADAP EKSPRESI IL-1 β PADA KANKER SERVIKS TIKUS

9.1 Interleukin 1beta (IL-1 β)

Sitokin adalah produk respons inflamasi yang memainkan peran penting dalam melawan sistem kekebalan tubuh. Keluarga protein Interleukin 1 (IL1) termasuk IL-1 β , merupakan komponen penting dari sistem kekebalan tubuh bawaan (Garlanda *et al.*, 2013). Genotipe IL-1 β dapat diubah secara fungsional untuk berkontribusi pada etiologi kanker serviks pada wanita. IL-1 β telah ditunjukkan untuk mengatur ekspresi gen, produksi sitokin, adhesi dan migrasi seluler, angiogenesis, respons imunologis, dan lain-lain (Zhang *et al.*, 2020). Pada kanker, IL-1 β memiliki efek pleiotropik pada sel imun, angiogenesis, proliferasi sel kanker, migrasi, dan metastasis. Selain itu, perawatan anti-kanker mampu meningkatkan produksi IL-1 β oleh kanker atau sel-sel kekebalan, dengan efek yang berlawanan pada perkembangan kanker. Di dalam tumor, IL-1 β diproduksi dan disekresikan oleh berbagai jenis sel, seperti sel imun, fibroblas, atau sel kanker (R  b   and François, 2020). Namun, mekanisme produksi IL-1 β paling banyak dipelajari pada sel imun, terutama pada sel myeloid, seperti makrofag. Seperti disebutkan di atas, produksi IL-1 β membutuhkan dua sinyal, yaitu “*priming*” dan *cleavage* (Gambar 9.1).



Gambar 9.1 Peran IL-1β pada *pathway* kanker

Langkah yang berbeda dari interleukin (IL)-1β produksi dan sinyal: *priming*, NOD-LRR dan pyrin yang mengandung protein 3 (NLRP3) aktivasi inflamasi, sekresi, dan sinyal. LPS, lipopolisakarida; TLR, reseptor seperti tol; TNF, faktor nekrosis tumor; TNFR, reseptor TNF; TRADD, domain kematian terkait TNFR1; RIP, protein yang berinteraksi dengan reseptor; IRAK, kinase terkait reseptor interleukin-1; Myd, respons primer diferensiasi myeloid; TRAF, faktor terkait TNFR; ASC, protein mirip bintang terkait apoptosis yang mengandung domain CARD; GSDMD, gasdermin D; ROS, spesies oksigen reaktif; NF-κB, faktor inti kappa-rantai-ringan-peningkat sel B yang diaktifkan. yang dijelaskan di atas atau dengan membiarkan fiksasi faktor represor (Rébé and François, 2020).

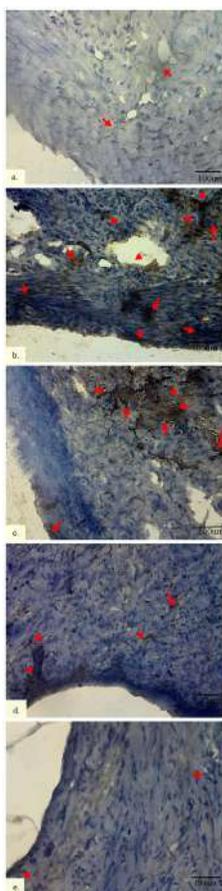
9.2 Pengaruh Andaliman terhadap Ekspresi IL-1β pada Kanker Serviks Tikus

Uji Kruskal Wallis menunjukkan perbedaan yang signifikan pada semua kelompok (Tabel 9). Berdasarkan uji tindak lanjut Mann-Whitney, ditemukan perbedaan yang bermakna ($p < 0,01$, $p = 0,0060$) ekspresi IL1β bila dibandingkan dengan kelompok C+. Pada dosis *Zanthoxylum acanthopodium Methanolic 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 IL1β tertinggi, sedangkan kelompok terendah adalah kelompok C-dan dosis ZAM 400mg/Kg BB.

Tabel. 9. Analisis statistik ekspresi IL-1 β 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	0.00		0.0023	0.0040	0.0032	0.0450
C+	42.22 \pm 3.23 ^{##}			0.0600	0.0400	0.0025	
ZAM100	37.14 \pm 2.23				0.0450	0.0450	
ZAM200	29.21 \pm 2.41*					0.0440	
ZAM400	16.22 \pm 1.98**						

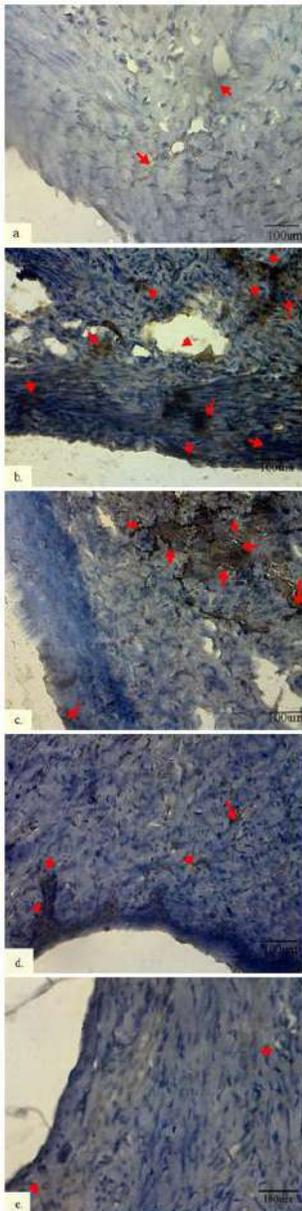
C-: Kontrol, C+: Tikus kanker tanpa pengobatan, ZAM100: Tikus kanker + 100mg/Kg BB ZAM, ZAM200: Tikus kanker + 200mg/Kg BB ZAM, ZAM400: Tikus kanker + 400mg/Kg BB ZAM. (##p<0,01 dibandingkan C-, *p<0,05 dibandingkan C+, **p<0,01 dibandingkan C+).



Kehadiran ekspresi IL1 β positif diidentifikasi dalam nukleus dan sitoplasma dengan pewarnaan hitam kecokelatan, seperti yang ditunjukkan oleh panah merah (Gambar 9.2). 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- β 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.

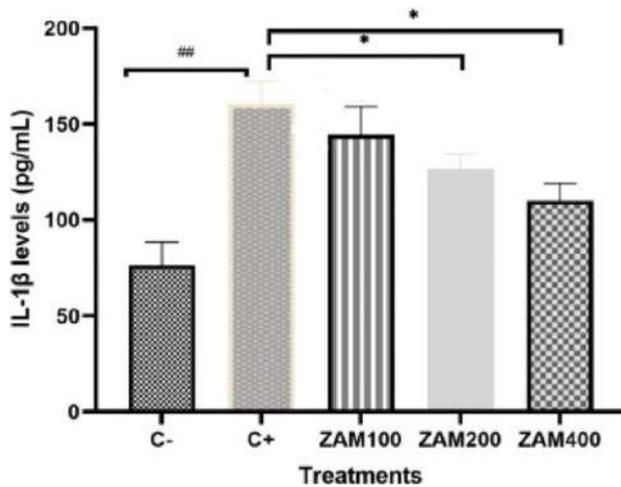
Gambar 9.2. Ekspresi IL1 β pada kanker serviks setelah pemberian *Zanthoxylum acanthopodium* (Sebelah kanan). a: Kontrol, b: Tikus kanker tanpa pengobatan, c: Tikus kanker + 100mg/Kg BB ZAM, d: Tikus kanker + 200mg/Kg BB ZAM, e: Tikus kanker + 400mg/Kg BB.

Hal ini konsisten dengan nilai serum IL1 β yang diperoleh dengan menggunakan pembaca ELISA (Gambar 9.2). Ada perbedaan yang signifikan antara kelompok C-dan C+ ($p<0,01$). Pada dosis 100mg/kg BB, ekspresi IL1 β 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 β ($p<0,05$).



Pemberian ZAM dapat mengurangi ekspresi IL1 β , 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 (Conesa-Zamora, 2013; Zhang *et al.*, 2020). 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 (George dan Abrahamse, 2020). Reaksi biologis seperti stres oksidatif yang disebabkan oleh kurangnya antioksidan dalam sel dapat membahayakan komponen seluler, sehingga menimbulkan berbagai penyakit (Gulcin, 2020). Pembentukan dan perkembangan kanker disebabkan oleh kerusakan DNA.

Gambar 9.3 Ekspresi IL1 β 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



Gambar 9.4 Ekspresi IL1 β 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

Antioksidan dan kanker memiliki hubungan yang sangat erat karena antioksidan telah menjadi pendekatan terapeutik yang diterima secara luas (George dan Abrahamse, 2020). 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 (George dan Abrahamse, 2020). Inhibitor antioksidan yang tepat dan/atau senyawa penghasil radikal bebas dapat menjadi strategi pengobatan kanker yang efektif (Gulcin, 2020). Selain antioksidan, herba genus *Zanthoxylum* memiliki sifat antiinflamasi, analgesik, antinoseptif, antioksidan, antibiotik, hepatoprotektif, antiplasmodial, sitotoksik, antiproliferatif, anthelmintik, larvisida, antivirus, dan antikanker (Wijaya *et al.*, 2019; Situmorang *et al.*, 2020). Berdasarkan analisis tersebut pemberian ZAM dapat menekan produksi IL1 β , yang mendorong pertumbuhan sel kanker pada tikus.

BAB 10

PENGARUH ANDALIMAN TERHADAP EKSPRESI IL-10 PADA KANKER SERVIKS TIKUS

10.1 Interleukin 10 (IL-10)

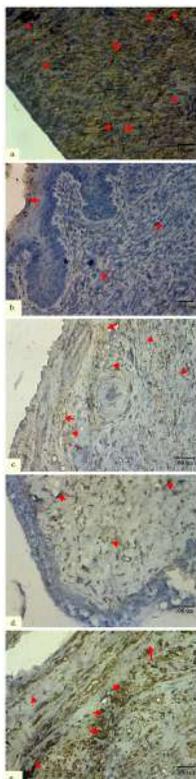
Interleukin-10 (IL-10) adalah sitokin antiinflamasi kuat yang ditemukan dalam sel kanker (Oft, 2019). Peningkatan ekspresi IL-10 pada serviks normal dan abnormal diamati sesuai dengan keparahan lesi intraepitel skuamosa (Batchu *et al.*, 2021). Beberapa penelitian telah melaporkan bahwa IL-10 memiliki efek pro dan antitumor. Peningkatan kadar IL-10 berhubungan dengan peningkatan pertumbuhan tumor dengan prognosis yang buruk dan resistensi obat. Namun, sitokin ini memiliki sifat pemicu tumor dan penghambat tumor. Studi *in vitro* dan *in vivo* melaporkan mekanisme di mana ekspresi IL-10 menurunkan regulasi kelas I, yang menghasilkan pengendalian penyakit metastasis. IL-10 juga menghambat tumorigenesis melalui downregulation sitokin lain IL-10, juga dikenal sebagai sitokin imunoregulator, memiliki peran biologis utama dalam membatasi dan menghentikan respons inflamasi serta menekan perkembangan tumor (Oft, 2019; Batchu *et al.*, 2021). Peningkatan sitokin antiinflamasi, seperti interleukin 10 (IL-10), telah dikaitkan dengan prognosis yang buruk dan dianggap sebagai *biomarker* untuk penyakit kanker. Ekspresi berlebihan IL-10 dalam lingkungan mikro tumor dapat mengakibatkan penolakan imunologis kanker (Batchu *et al.*, 2021).

10.2 Pengaruh Andaliman terhadap Ekspresi IL-10 pada Kanker Serviks Tikus

Tabel. 10. Analisis statistik ekspresi IL-1 β 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 ^{##}			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**						

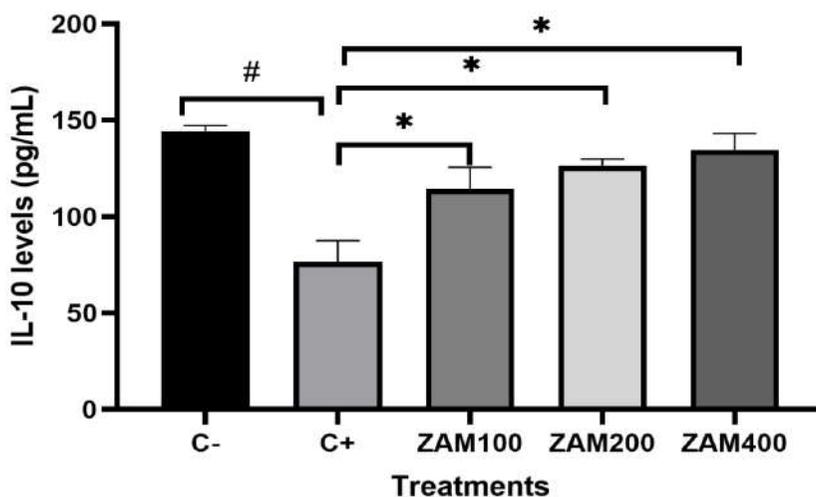
C-: Kontrol, C+: Tikus kanker tanpa pengobatan, ZAM100: Tikus kanker + 100mg/Kg BB ZAM, ZAM200: Tikus kanker + 200mg/Kg BB ZAM, ZAM400: Tikus kanker + 400mg/Kg BB ZAM. (## $p < 0,01$ dibandingkan C-, * $p < 0,05$ dibandingkan C+, ** $p < 0,01$ dibandingkan C+).



Uji Kruskal Wallis dengan $p < 0,00$ menunjukkan perbedaan bermakna pada semua kelompok (Tabel 10). 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 β tertinggi, sedangkan kelompok terendah adalah kelompok C+.

Gambar 10.1. 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 10.1). 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 10.2. 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 (Situmorang dan Ilyas, 2018). Peran fitokimia sebagai antioksidan atau modulator proses karsinogenik dan pencegahan kanker lainnya (Wijaya *et al.*, 2019; George dan Abrahamse, 2020). Antioksidan dalam ZAM merangsang IL-10, yang menghambat atau menghilangkan respons 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 (Batchu *et al.*, 2021). Sel T, monosit, dan makrofag dapat dihambat aktivitas dan fungsi efektifnya oleh IL-10 (Couper *et al.*, 2008). Di hadapan ZAM, IL-10 bertindak sebagai antiinflamasi utama dalam respons imun alami dan adaptif, mencegah respons inflamasi yang berlebihan dengan menonaktifkan makrofag dan mediator inflamasi lokal dan sistemik (Couper *et al.*, 2008). 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.

BAB 11

PENGARUH ANDALIMAN TERHADAP EKSPRESI TGF- β 1 PADA KANKER SERVIKS TIKUS

11.1 Transforming Growth Factor-Beta 1TGF- β 1

Transforming Growth Factor-Beta (TGF β) adalah sitokin multifungsi yang memiliki peran dalam proliferasi dan diferensiasi sel, angiogenesis, imunosupresi, motilitas sel, apoptosis, penyembuhan luka, perkembangan embrio, dan patogenesis kanker, antara lain (Park *et al.*, 2021). Strategi utama penghambatan jalur pensinyalan TGF- β adalah memasukkan senyawa yang mengganggu pengikatan TGF- β pada reseptornya, obat-obatan yang menghalangi pensinyalan intraseluler, dan oligonukleotida antisense. Karena kemampuannya untuk mengganggu siklus sel dan menginduksi apoptosis, ia beroperasi sebagai gen penekan tumor selama tahap awal karsinogenesis (Dash *et al.*, 2021). TGF-beta ditemukan di semua jaringan, tetapi terutama berlimpah di tulang, paru-paru, ginjal, dan jaringan plasenta. TGF-beta diproduksi oleh banyak tetapi tidak semua jenis sel parenkim, dan juga diproduksi atau dilepaskan oleh sel infiltrasi seperti limfosit, monosit/makrofag, dan trombosit. Sel-sel sistem kekebalan menghasilkan isoform TGF- β 1, yang memberikan fungsi antiinflamasi yang kuat, dan merupakan pengatur utama respons imun. Kanker serviks telah terhubung ke TGF β 1, salah satu dari beberapa sitokin yang mengatur perkembangan sel, pematangan, dan diferensiasi. Selain itu, TGF- β 1 memiliki aksi ganda pada kanker sebagai penekan tumor dan promotor tumor. Sebagai penekan tumor, ia menghambat tumorigenesis dengan menginduksi penghentian pertumbuhan dan apoptosis. Sebagai promotor tumor, ia menginduksi migrasi sel tumor dan merangsang transisi epitel ke mesenkim. TGF- β 1 juga sebagai inhibitor proliferasi ampuh sel epitel usus normal dan bertindak sebagai penekan tumor. Namun, TGF- β juga mendorong invasi dan metastasis selama CRC stadium akhir, sehingga bertindak sebagai onkogen (Park *et al.*, 2021).

11.2 Pengaruh Andaliman terhadap Ekspresi TGF-β1 pada Kanker Serviks Tikus

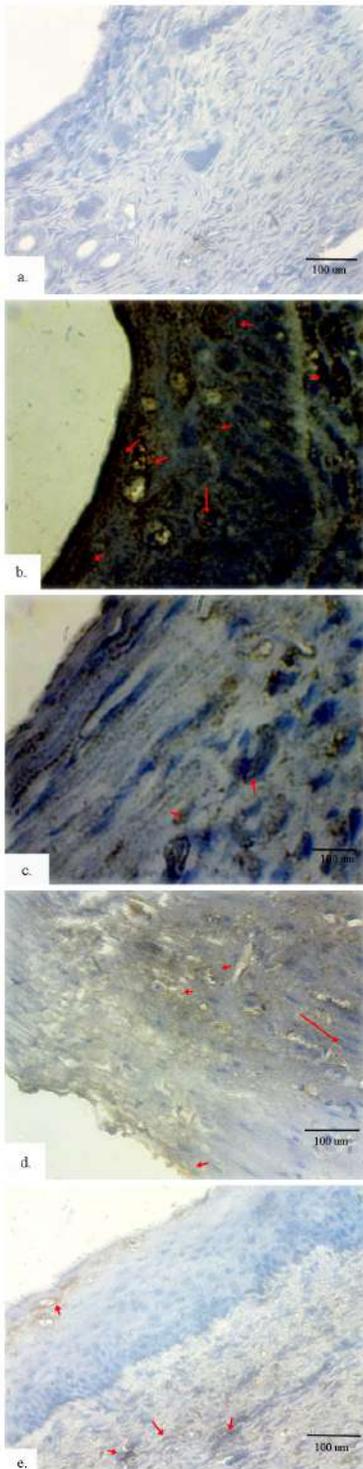
Tabel. 11. Analisis statistik ekspresi TGF-β1 pada perubahan histologis serviks setelah pemberian *Z. acanthopodium methanolic extract* (ZAM)

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 ^{##}			0.080	0.060	0.040	
ZAM100	30.61 ± 3.43 ^{**}			0.070	0.035		
ZAM200	25.22 ± 2.6 ^{**}			0.020			
ZAM400	19.28 ± 2.28 ^{**}						

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 11, menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan p<0,00. Berdasarkan nilai rata-rata diketahui terdapat perbedaan ekspresi TGFβ1 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 TGFβ1 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 TGFβ1. Ekspresi TGFβ1 dalam jaringan kanker menurun seiring dengan meningkatnya dosis ZAM. Pemberian ZAM (Gambar 11.1) pada berbagai dosis mengurangi jumlah inti yang diwarnai coklat oleh imunohistokimia, menunjukkan indeks positif ekspresi TGFβ1 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 TGFβ1 (Gambar 11.2). Ekspresi serum TGFβ1 lebih tinggi pada tikus kanker (p<0,05, p=0,040) dibandingkan

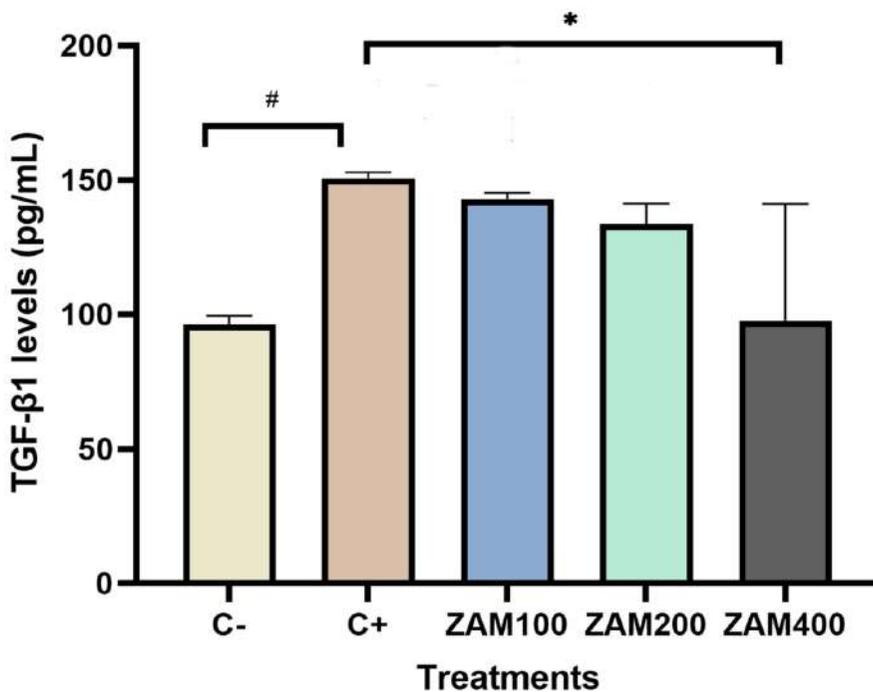


kelompok kontrol, tetapi perbedaan ini tidak signifikan ketika diberikan dosis ZAM 100 dan 200mg/Kg BB. Namun, dosis ZAM tertinggi (400mg/kg BB) secara signifikan menekan ekspresi TGFβ1 ($p < 0,05$).

Gambar 11.1. Ekspresi TGFβ1 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 TGF1 pada tikus kanker serviks. Disregulasi TGFβ1 adalah pendorong utama perkembangan tumor, termasuk angiogenesis, invasi jaringan, metastasis, dan penekanan kekebalan (Liu *et al.*, 2021). 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 (Park dkk., 2021; Hua dkk, 2020). Pada penelitian ini, ZAM diberikan untuk menekan invasi jaringan, metastasis, dan imunitas. TGFβ1 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 respons supresi tumornya (Hua *et al.*, 2020). Sel kanker menggunakan TGF β 1 untuk keuntungan mereka dengan memulai penghindaran kekebalan, memproduksi faktor pertumbuhan, berdiferensiasi menjadi fenotipe invasif, dan membangun dan memperluas koloni metastatik (Hua *et al.*, 2020). Akibatnya, pemberian antioksidan sangat penting untuk memulihkan fungsi awal TGF β 1 dalam sel.



Gambar 11.2. Ekspresi serum TGF β 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

BAB 12

PENGARUH ANDALIMAN TERHADAP EKSPRESI VEGFR1 PADA KANKER SERVIKS

12.1 Vascular Endothelial Growth Factor Receptor-1 (VEGFR-1)

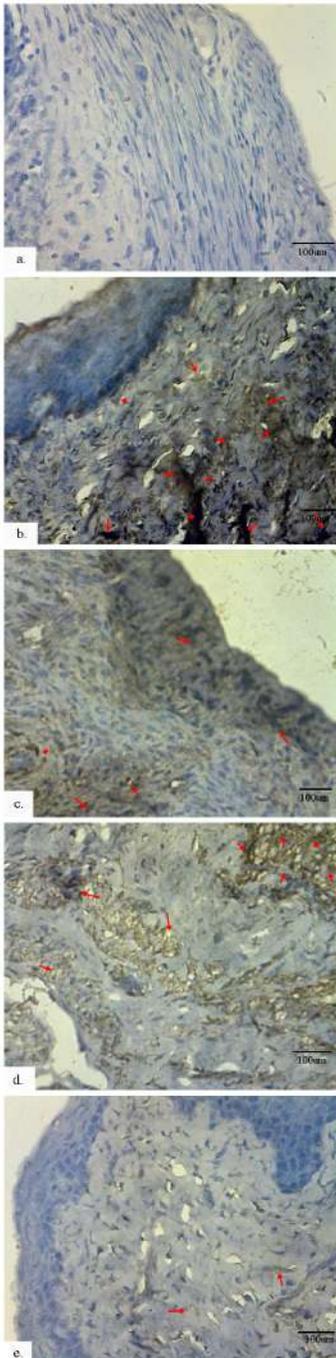
Vascular Endothelial Growth (VEGF) adalah protein yang dilepaskan oleh sel kanker atau sel tumor yang merangsang pembentukan pembuluh darah pada beberapa jenis kanker (Nascimento *et al.*, 2021). Salah satu dari tiga tirosin kinase, yang merupakan pengatur utama angiogenesis kanker, adalah *vascular endothelial growth factor receptor-1* (VEGFR-1) (Nascimento *et al.*, 2021). Meskipun VEGFR sebelumnya dianggap hanya diekspresikan pada sel endotel (EC), penelitian baru menunjukkan bahwa VEGFR-1 hadir dalam sel kanker tipe non-EC ganas (Ceci *et al.*, 2021; Nascimento *et al.*, 2021). Ini ditemukan dalam sel kanker dan memiliki kemampuan untuk meningkatkan pensinyalan, migrasi, dan invasi protein teraktivasi Mitogen (MAPK). Lebih lanjut, karena sel karsinoma menghasilkan ligan VEGFR-1, efek ini mungkin diatur secara autokrin (Ceci *et al.*, 2021).

Tabel. 12. Analisis statistik ekspresi VEGFR1 pada perubahan histologis serviks setelah pemberian *Z. acanthopodium methanolic extract* (ZAM)

Groups	Mean ± SD	Krus- kal-Wallis	p value (Mann-Whitney)				
			C-	C+	ZAM100	ZAM200	ZAM400
C-	21.03 ± 2.23	0.00		0.040	0.045	0.072	0.080
C+	51.01 ± 4.26 [#]			0.060	0.055	0.045	
ZAM100	35.16 ± 3.28			0.055	0.045		
ZAM200	26.51 ± 3.47*			0.050			
ZAM400	20.11 ± 2.46*						

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+).

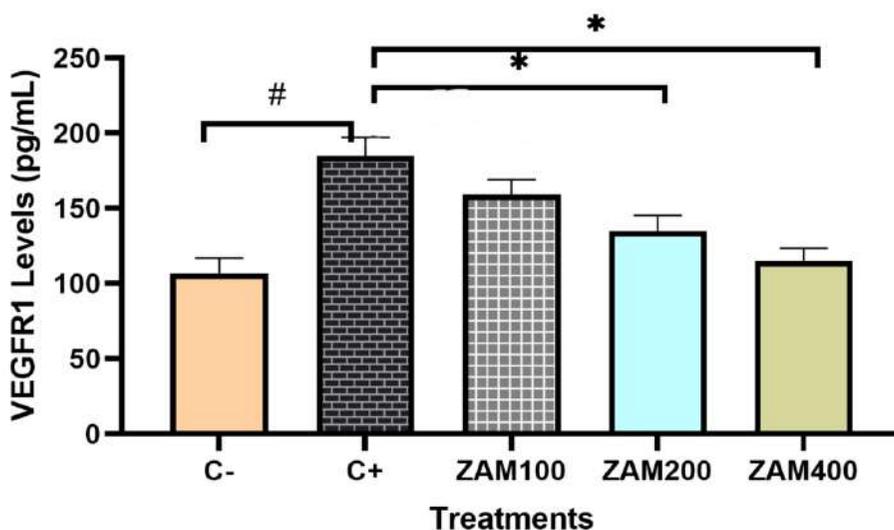


Uji Kruskal Wallis dan uji lanjutan Mann-Whitney keduanya menunjukkan perbedaan yang signifikan pada Tabel 12. Berdasarkan nilai rata-rata, jelas bahwa ada perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$, $p = 0,040$) dalam ekspresi VEGFR1 antara kelompok C+ dan C. Namun, tidak signifikan pada dosis ZAM terendah (100mg/kgBB) dan signifikan pada 200 dan 400 mg/kgBB dibandingkan dengan kelompok C+ ($P < 0,05$). Kelompok C+ memiliki ekspresi VEGFR1 tertinggi, sedangkan kelompok C- dan dosis ZAM 400mg/Kg BB memiliki ekspresi VEGFR1 terendah secara histologi serviks.

Gambar 12.1. Ekspresi VEGFR1 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).

Pemeriksaan histologis mengungkapkan bahwa karsinoma telah menyebar ke dinding panggul, tidak ada ruang yang jelas antara tumor dan dinding panggul, dan intinya tidak teratur (Gambar 12). Ini sangat kontras dengan histologi pada kelompok C, di mana jaringan serviks masih mengandung sel-sel normal (Gambar 12a). Ini sangat kontras dengan histologi pada kelompok-C, di mana jaringan serviks masih mengandung sel-sel normal (Gambar 12b). Pada dosis ZAM terendah (Gambar 12c), lesi lebih besar daripada kelompok kontrol, tetapi ekspresi

VEGFR1 mulai menurun. Penurunan ekspresi VEGFR1 pada dosis 200 dan 400 mg/kg BB menunjukkan bahwa herba ini dapat menurunkan ekspresi VEGFR1 karena ruang kosong antar tumor berkurang, karsinoma berhenti berkembang, dan nukleus mulai berbentuk normal (Gambar 12d-e). Hal ini dikonfirmasi dengan membandingkan serum VEGFR1 tikus kanker (C+) dengan kelompok kontrol menggunakan pembaca ELISA ($P < 0,05$) (Gbr. 10). Pada dosis 100mg/kg BB, tidak ada perbedaan yang signifikan. Pada dosis 200 dan 400 mg/kg BB ZAM memperbaiki histologi serviks dan menekan ekspresi serum VEGFR1 ($p < 0,05$).



Gambar 12.2. Ekspresi serum VEGFR1 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 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 (Situmorang *et al.*, 2020; Wijaya *et al.*, 2019).

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 (Situmorang dan Ilyas, 2018; Wijaya *et al.*, 2019). 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 (Gulcin, 2020).

BAB 13

KESIMPULAN

Pemberian *Zanthoxylum acanthopodium* (andaliman) pada histologi kanker serviks tikus mengurangi ekspresi Sitokrom c, IL1 β , TGF β 1, CDK4, VEGFR1 dan apoptosis. Andaliman juga dapat membantu IL-10 dalam menghambat proliferasi sel abnormal yang berdiferensiasi. Andaliman mungkin efektif dalam terapi sitokin molekuler untuk kanker serviks, tetapi keberhasilan terapi kanker bergantung pada berbagai faktor, termasuk stadium klinis, tipe dan diferensiasi histologi tumor, respons imun seluler, dan apoptosis. Selanjutnya, faktor-faktor di luar tumor, seperti kemoradiasi, imunoterapi, mikronutrien dan antioksidan yang dikonsumsi, dan kerentanan genetik, semuanya berdampak pada keberhasilan pengobatan. Kesimpulannya, Setelah pemberian andaliman, terjadi penurunan ekspresi Sitokrom c, IL1 β , TGF β 1, CDK4, VEGFR1 dan apoptosis yang signifikan pada histologi kanker serviks ($p < 0,01$) sehingga andaliman bisa dikembangkan menjadi terapi sitokin molekuler untuk kanker serviks.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas A, Lichtman A, and Pillai S. 2017. *Cellular and Molecular Immunology Cellular and Molecular Immunology 9th Ed.* Publisher Elsevier-Health Sciences Division. Philadelphia, United States: 430-449.
- Abide CG, Ergen EB, Cogendez E, Kilicci C, Uzun F, Ozkaya E, et al. 2018. "Evaluation of Complete Blood Count Parameters to Predict Endometrial Cancer." *Journal of Clinical Laboratory Analysis* 32(6): 22438–45.
- Adi T. 2014. *Bebas dari Ancaman Kanker Serviks.* Yogyakarta: Media Pressindo.
- Ahmed HG, Al-Adhraei MA, and Ashankyty IM. 2011. "Association between AgNORs and Immunohistochemical Expression of ER, PR, HER2/neu, and p53 in Breast Carcinoma." *Path Res Int*, 2011:1-6.
- Al-darwish AA, Al-Naim AF, Al-Muhlin KS, Al-Otaibu NK, Morsi MS, Aleem AM, et al. 2014. "Knowledge about Cervical Cancer Early Warning Signs and Symptoms, Risk Factors and Vaccination among Students at a Medical School in Al-Ahsa, Kingdom of Saudi Arabia." 15: 2529–32.
- Alam F, Saqib QN and Waheed A. 2017. Cytotoxic activity of extracts and crude saponins from *Zanthoxylum armatum* DC. against human breast (MCF-7, MDA-MB-468) and colorectal (Caco-2) cancer cell lines. *BMC Complimentary and Alternative Medicine*, 17:368
- Alba A, Cararach M, and C. Rodríguez-Cerdeira. 2014. "The Human Papillomavirus (HPV) in Human Pathology: Description, Pathogenesis, Oncogenic Role, Epidemiology and Detection Techniques". *The Open Dermatology Journal*, 3(1):211-217.
- Alber M. 2008. Normal tissue dose-effect models in biological dose optimisation. *Z. Med Phys*, 18(2):102-110.
- Alexandrov LB, Nik-Zainal S, Wedge DC, Aparico S, Behjati S, Biankin AV, et al. 2013. "Signatures of Mutational Processes in Human Cancer." *Nature*, 500:415-121.

- Anggraini R, Hadisahputra S, Silalahi J, and Satria D. 2014. "Combinational Effects of Ethylacetate Extract of *Zanthoxylum Achantapodium* DC. With Dexorubicin on T47D Breast Cancec Cells." *Internatioanl Journal of Pharmtech* 6(7): 2032–35.
- Anindyajati G, Budiono R, and Joyosumarto R. 2009. "Pengaruh Pemberian Bisa Naja Sputatrix terhadap Kadar Interleukin-2 Serum Darah Tikus yang Diinduksi Benzo(a)Pyrene." *Jurnal Matematika, Sains, dan Teknologi* 10(2): 75–80.
- Anindyajati G, Bambang B, and Rismanto J. 2009. "Pengaruh Pemberian Bisa Naja Sputatrix terhadap Interleukin-2 Serum Darah Mencit yang Diinduksi Benzo(a)Pyrene." *Jurnal Matematika, Sains, dan Teknologi* 10(2): 75–80.
- Anna IL, Fauziah, and Firdaus. 2017. "Efek Pemberian Ekstrak Etanol Kayu Manis (*Cinnamomum*) terhadap Kadar Ureum dan Kreatinin Tikus Putih (*Rattus Novergicus*)." *Bioleuser* 1(2): 70–75.
- Aisyah DM. 2016. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Buah Andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC.) terhadap Kadar Superoksida Dismutase (SOD) pada Tikus. Repositoria USU. <http://repository.usu.ac.id/handle/123456789/66324>
- Alam F, Saqib QN and Waheed A. 2017. Cytotoxic activity of extracts and crude saponins from *Zanthoxylum armatum* DC. against human breast (MCF-7, MDA-MB-468) and colorectal (Caco-2) cancer cell lines. *BMC Complimentary and Alternative Medicine*, 17:368
- Alber, M. 2008. Normal tissue dose-effect models in biological dose optimisation. *Z. Med Phys*, 18(2):102-110
- Arsita EV, Saragih DE and Aldrin K. 2019. Anticancer potential from ethanol extract of *Zanthoxylum acanthopodium* DC. seed to against MCF-7 cell line. *IOP Conf. Ser Eearth Environ. Sci.* 293
- Asbur Y, and Khariunnisyah. 2018. "Pemanfaatan Andaliman (*Zanthoxylum Acanthopodium* DC) sebagai Tanaman Penghasil Minyak Asiri Utilization Andaliman (*Zanthoxylum Acanthopodium* DC) for Producing Plant Essential Oils." 17(1): 537–43.
- Batchu, RB, Oksana, V, GruzdynBala, K, KolliRajesh, Dachepalli., Prem, S, et al. 2021. IL-10 Signaling in the Tumor Microenvironment of Ovarian

- Cancer. In: Birbrair A. (eds) Tumor Microenvironment. *Advances in Experimental Medicine and Biology*,1290:51-65
- Banjarnahor SD, and Nina A. 2014. "Antioxidant Properties of Flavonoids." *Medical Journal of Indonesia*. 23(24):01-14.
- Baratawidjaya KG. 2014. *Immunologi Dasar*. Edisi 11. Jakarta: Badan Penerbit: FK. UI:115-130.
- Barkatullah, Ibrar M, and Naveed M. 2011. "Evaluation of Zanthoxylum Armatum DC for In-Vitro and in-Vivo Pharmacological Screening." *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 5(14):1718-1723.
- Batubara MS, Sabri E, and Tanjung M. 2017. "Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Andaliman (*Zanthoxylum Acanthopodium* DC.) terhadap Gambaran Morfologi Ovarium Mencit (*Mus Musculus* L.)." *Jurnal Ilmu Biologi dan Terapan*, 1(1): 5–10.
- Bhat J, Shrimali G, Patel T, Sarvaiya S, Modha D and Gajjar M. 2013. Silver Stained Nucleolar Organizer Region Count (AgNOR Count) â Very Useful Tool in Breast Lesions. *Natl. J. Med Res*, 3(3):280-282.
- Blackadar, Clarke B. 2016. "Historical Review of the Causes of Cancer." *World Journal of Clinical Oncology*, 7(1):54-86.
- Candra, Agung A. 2013. "Aktivitas Hepatoprotektor Temulawak pada Ayam yang Diinduksi Pemberian Parasetamol Hepatoprotector Activity of Curcuma in Chickens was Induced by Paracetamol." *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*, 13(2): 137-143.
- Ceci, C, Atzori, M G, Lacial, P M, Graziani, G. 2020. Role of VEGFs/VEGFR-1 Signaling and its Inhibition in Modulating Tumor Invasion: Experimental Evidence in Different Metastatic Cancer Models. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(4), 1388.
- Clarke, M A, Fetterman, B, Cheung, L C, Wentzensen, N, Gage, J C, Katki, et al., 2018. Epidemiologic Evidence That Excess Body Weight Increases Risk of Cervical Cancer by Decreased Detection of Precancer. *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, 36(12): 1184–1191.
- Conesa-Zamora, P. 2013. Immune responses against virus and tumor in cervical carcinogenesis: treatment strategies for avoiding the HPV-induced immune escape. *Gynecol Oncol*. 131(2):480-8.
- Couper, K N, Blount, D G, Riley, E M. 2008. IL-10: The Master Regulator of

- Immunity to Infection. *The Journal of Immunology*, 180(9), 5771–5777.
- Castellanos MR, Szerszen A, Gundry A, Pirog EC, Maiman M, Rajupet S, et al. 2015. "Diagnostic Imaging of Cervical Intraepithelial Neoplasia Based on Hematoxylin and Eosin Fluorescence." *Diagnostic Pathology*, 10(1):119-127.
- Chen B, Dai D, Tang H, Ai X, Chen X, Zhang X, et al. 2016. "Pretreatment Hematocrit is Superior to Hemoglobin as a Prognostic Factor for Triple Negative Breast Cancer." *PLoS ONE*, 11(11):1217-1228.
- Chen J. 2015. "Signaling Pathways in HPV-Associated Cancers and Therapeutic Implications.": 24–53.
- Chen, Qing, Hao-zhe C, and Peng-sheng Z. 2014. "LGR5 Promotes the Proliferation and Tumor Formation of Cervical Cancer Cells through the Wnt/ β -Catenin Signaling Pathway." *Oncotarget Journal* 5(19): 9092-105.
- Chou S, Chan H, Peng H, Liou M and Wu T. 2011. "Isolation of Substances with Antiproliferative and Apoptosis-Inducing Activities against Leukemia Cells from the Leaves of *Zanthoxylum Ailanthoides* Sieb. & Zucc." *Phitomedicine* 18(5): 344–48.
- Cohen, Paul A, Anjua J, Ana O, and Lynette D. 2019. "Cervical Cancer." *The Lancet*, 393(10167):169-182.
- Corwin EJ. 2009. *Buku Saku Patofisiologi*. 3rd ed. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC: 158-165.
- Cox D.I., Kerrigan S.W., and Watson S.P. 2011. "Platelet and Innate Immune System: Mechanisme of Bacterial-Induced Platelet Activation." *J. Thromb Haemost* 9(6): 1097–1107.
- Cui HX, Cheng FR, Zheng NN, Jia SS and Yuan K. 2019. Antitumor and immunoregulation effects and mechanism of n-butanol fraction from *Zanthoxylum avicennae* in H22 mice. *J. In The Field of Pharmacognosy and Natural Products*, 15(63):443-448.
- Dahab M, Fu B, Osman E, Xu YK and Zhang P. 2019. *Zanthoxylum myriacanthum* var. *pubescens* Essential Oil Protective Potential Against Diabetic Mice Nephropathy and its Relevant Oxidative Stress. *Journal of Essential Oil Bearing Plant*, 22(3):581-591.
- Darma AP, Ashari RA, Nugroho PA, Monikawati A, Fauzi IA, Hermawan A, et al. 2009. "Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Ethanol Herba Ciplukan (*Physalis*

- Angulata L.) Pada Sel Kanker Leher Rahim HeLa P53 Melalui Modulasi Ekspresi Protein P53." *Bionatura Jurnal Ilmu-ilmu Hayati dan Fisik*, 13(2) 541-549.
- Darkwah WK, Aidoo G, Ao Y, Danguah KO, Adjei E, Adankwah E, et al. 2018. "Assessment of proliferative index in different grades of breast cancers using AgNOR (Agyrophilic Nuclear Organizer Region) expression." *J. Basic and Apl Sci*, 7(4):587-592.
- Dasari, Subramanyam, Rajendra W, and Lokanatha V, 2015. "Cervical Cancer: Biomarkers for Diagnosis and Treatment." *Clinica Chimica Acta*, 445:7-11.
- Dash, S., Sahu, A. K., Srivastava, A., Chowdhury, R., Mukherjee, S. 2020. Exploring the extensive crosstalk between the antagonistic cytokines-TGF- β and TNF- α in regulating cancer pathogenesis. *Cytokine*, 138:155348.
- Depkes RI, 1995. Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan. Farmakope Indoneisa. Jakarta: 551-73.
- Deverakonda A, and Gupta N, 2016. "Diagnosis and Treatment of Cervical Cancer : A Review." *Research and Reviews Journal of Medical & Health Sciences*, 335(7623): 765-768.
- Dickson MA, 2014. "Molecular Pathways: CDK4 Inhibitors for Cancer Therapy." *Clinical Cancer Research*, 20(13):3379-83.
- Dirjen POM, 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. I. ed. Depkes RI. Jakarta: 453-460.
- Dobash Y, Goto A, Fukayama M, Abe A and Ooi A, 2004. "Overexpression of Cdk4/Cyclin D1, a Possible Mediator of Apoptosis and an Indicator of Prognosis in Human Primary Lung Carcinoma." *International Journal of Cancer*, 20(13)3379-83.
- Emilia O, Kusumanto D, Hananta IPY, dan Freitag H, 2013. *Bebas Ancaman Kanker Serviks*. Yogyakarta: Medpress:110-120.
- Emmanuel, Affy M, Blahi AN, and Coulibaly F, 2018. "Evaluation of Acute and Subacute Toxicity Induced by Methanol Extract of Amaranthus Viridis (Amaranthaceae) Leaves in Wistar Rats (Rattus Norvegicus)." *The Pharma Innovation Journal*, 7(7): 625–30.

- Epifano F, Curini M, Marcotullio MC and Genovese S. 2010. Searching for Novel Cancer Chemopreventive Plants and their Products: The Genus *Zanthoxylum*. *Current Drug Target*, 12(13):1895-1902.
- Evriarti, Paulina R, and Andi Y, 2019. "Patogenesis Human Papillomavirus (HPV) Pada Kanker Serviks." *Jurnal Biotek Medisiana Indonesia*, 8(1):23-32.
- Fauzi, Hasibuan PAZ, Rosidah, Sitorus P and Masaria, 2015. "Anticancer Activity of Ethanol Extract From Andaliman Fruit (*Zanthoxylum Acanthopodium* DC.) on Cervical Cancer Cells." Thesis. Fakultas Farmasi. North Sumatra of University.
- Fischer, Andrew H, Kenneth AJ, Rose J, and Rolf Z, 2017. "Hematoxylin and Eosin Staining of Tissue and Cell Sections." *Cold Spring Harbor Protocols*, 3(5): 4986–88.
- Fitria, Laksmindra, and Mulyati S, 2014. "Profil Hematologi Tikus (*Rattus Norvegicus* Berkenhout, 1769) Galur Wistar Jantan Dan Betina Umur 4, 6, Dan 8 Minggu." *Biogenesis* 2(2): 94–100.
- Fujimoto J. 2019. Novel strategy of anti-angiogenic therapy for uterine cervical carcinomas. *Anticancer Res.* 29: 2665-2669.
- Fujiyama CT and Mnoukian N, 2011. "AgNOR in cancer of the stomach." *Arq Gastro*, 38(2):89-93.
- Garlanda, C., Dinarello, C. A., Mantovani, A. 2013. The Interleukin-1 Family: Back to the Future. *Immunity*, 39(6): 1003–1018.
- George, S., Abrahamse, H. 2020. Redox Potential of Antioxidants in Cancer Progression and Prevention. *Antioxidants*, 9(11): 1156
- Garcia-Vielma C, Dávila-rodíguez MI, Hernandez-Garza F, Cerda-Flores RM and Cortes Gutierrez EI, 2015. "Digital Image Analysis of AgNORs in Cervical Smears of Women with Premalignant and Malignant Lesions of the Uterine Cervix Digital Image Analysis of AgNORs in Cervical Smears of Women with Premalignant and Malignant Lesions of the Uterine Cervix." *Biotech Histochem*, 91(12):102-7.
- Goel S, DeCristo MJ, Watt AC, Jones HB, Sceneay J, Li BB, et al. 2017. "CDK4/6 Inhibition Triggers Anti-Tumour Immunity." *Nature*, 548:471-475.
- Gown, S.Y, Ahn, J.Y, Kim, T.W and Ha, Y.T. 2012. *Zanthoxylum piperitum* DC ethanol extract suppresses fat accumulation in adipocytes and high fat diet-induced obese mice by regulating adipogenesis. *J. Nutr Sci Vitamino*, 58(6):393-401.

- Gulcin, İ. 2020. Antioxidants and antioxidant methods: an updated overview. *Arch Toxicol* 94, 651–715
- Gurav S, Deshkar N, Duragkar V, Patil A, and Gulkari V, 2007. "Free Radical Scavenging of Polygala Chinenses Linn." *Pharmacologyline* 2(3): 245–53.
- Halimatusyaadiah S, 2014. "Faktor-Faktor Risiko Kejadian Kanker Serviks Di RSUD Provinsi NTB." *Jurnal Kesehatan Masyarakat Nasional*, 5(6):283-288.
- Handayani, and Suharmiati, 2012. *Menaklukkan Kanker Serviks Dan Kanker Payudara Dengan 3 Terapi Alami. Jakarta Selatan: PT Agro Media Pustaka: 122-128.*
- Harahap U, Hasibuan PAZ, Sitorus P, Arfian N and Satri D. 2018. "Antimigration Activity of an Ethylacetate Fraction of *Zanthoxylum Acanthopodium* DC. Fruits in 4T1 Breast Cancer Cells." *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention* 19(2): 565–69.
- Harjana T, 2011. *Buku Ajar Histologi*. Yogyakarta: Universitas Negeri Yogyakarta: 200-205.
- Hasibuan PAZ, Harahap U, Sitorus P, and Satria D. 2016. "Ethylacetate Extract of *Zanthoxylum Acanthopodium* DC. Fruit against Doxorubicin-Resistanced T47D Cells." *Der Pharma Chemica* 8(20): 172–74.
- Hassan M, Watari H, AbuAlamaaty A, Ohba Y and Sakuragi N. 2014. "Apoptosis and Molecular Targeting Therapy in Cancer." *BioMed Research International*, 2014:1-23.
- Hongmei Z. 2012. "Extrinsic and Intrinsic Apoptosis Signal Pathway Review." In *Apoptosis and Medicine*, International Association of STM Publisher. London United Kingdom: 1-30.
- Hüttemann M, Pecina P, Rainbolt M, Sanderson TH, Kagan V, Samavati L, et al. 2011. "The Multiple Functions of Cytochrome c and Their Regulation in Life and Death Decisions of the Mammalian Cell: From Respiration to Apoptosis." *Mitochondrion*, 11(3): 369-81.
- Ibeanu OA. 2011. "Molecular Pathogenesis of Cervical Cancer." *Cancer Biology and Therapy*, 11(3):295-306.
- Ilter E, Celik A, Haliloglu B, Unlugedik E, Midi A, Gunduz T, et al. 2010. "Women's Knowledge of Pap Smear Test and Human Papillomavirus: Acceptance

- of HPV Vaccination to Themselves and Their Daughters in an Islamic Society.” *International Journal of Gynecological Cancer* 20(6): 1058–62.
- Imam R, 2009. “Epidemiologi Kanker Serviks.” *Indonesian Journal of Cancer* 3(3): 103–8.
- Jaudan A, Sharma S, Malek SA, and Dixit A. 2018. Induction of apoptosis by pinostrobin in human cervical cancer cells: Possible mechanism of action. *Plos One*, 13(2): 1-23.
- Kadam CY, and Abhang SA. 2015. Serum levels of soluble Fas ligand, granzyme B and cytochrome c during adjuvant chemotherapy of breast cancer. *Clin Chim Acta*. 438:98–102.
- Kalu N, and Johnson FM. 2017. Do CDK4/6 inhibitors have potential as targeted therapeutics for squamous cell cancers?. *Expert opinion on Investigational Drug*, 26(2):1-11.
- Kane M, and Tatyana G. 2010. “Common Threads in Persistent Viral Infections.” *Journal of Virology*, 2010:4116-4123.
- Kannathasan K, Senthilkumar A, and Venkatesalu V, 2019. “Crystal Structure and Antibacterial Evaluation of Epifriedelinol Isolated from *Vitex Peduncularis* Wall. Ex Schauer.” *Arabian Journal of Chemistry*, 12(8):2289-2292.
- Kao SJ, Lee WJ, Chang JH, Chow JM, Chung CL, Hung WY and Chien MH. 2017. Suppression of reactive oxygen species-mediated ERK and JNK activation sensitizes dihydromyricetin-induced mitochondrial apoptosis in human non-small cell lung cancer. *Environ Toxicol*. 32:1426–1438.
- Katzer G, 2012. “Sichuan Pepper and Others (Zantoxylum, Piperitum, Stimulan, Bungeanum, Rhetsa, Acanthopodium).” <http://gernot-katzers-spice-pages.com/>
- Khalilia, Walid K, Gül Ö, and Songül K, 2018. “Apoptosis Signalling Pathway in Cervical Cancer Cells Treated with Gama Radiation †.” *Proceeding MDPI*, 2:1531.
- Khatimah, Gistin H, and Syamel M, 2019. “Hubungan Tipe Histopatologi Dengan Respons Kemoterapi Neoadjuvant Pada Kanker Serviks Stadium IB2 Dan IIA2.” *Andalas Obstetric and Gynecology Journal*, 3(2):585-590.
- Kim E, Kang C, Kim N, Seo YB, Nam S and Kim G, 2018. “Induction of Apoptotic Cell Death on Human Cervix Cancer HeLa Cells by Extract from

- Loranthus Yadoriki." *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 23:201-207.
- Klaus, Alexandra, and Walter Birchmeier, 2008. "Wnt Signalling and Its Impact on Development and Cancer." *Nature Reviews Cancer*.
- Knudsen, Erik S, Agnieszka K, and Witkiewicz, 2017. "The Strange Case of CDK4/6 Inhibitors: Mechanisms, Resistance, and Combination Strategies." *Trends in Cancer*, 3(1)39-55.
- Kristanty RE and Junie S, 2014. "Cytotoxic and Antioxidant Activity of Petroleum Extract of Andaliman Fruits (*Zanthoxylum Acanthopodium* DC.)." *International Journal of PharmTech Research* 6(3): 1064–69.
- Kristanty RE and Junie S, 2015. "The Indonesian *Zanthoxylum Acanthopodium* DC.: Chemical and Biological Values." *International Journal of PharmTech Research* 8(6):313-321.
- Krysanti, Amanda, and Simon BW, 2014. "Subacute Toxicity Testing of Glucomannan (*A. Muelleri* Blume) Toward SGOT and Sodium of Wistar Rats by In Vivo." *Jurnal Pangan dan Agroindustri* 2(1): 1–7.
- Kumalaningsih S, 2016. *Antioksidan Alami*. Surabaya: Trubus Agrisarana: 90-110.
- Kurnia I, Siregar, HB and Soetopo S, 2014. "Correlation between Expression of MVP, Index of P53 and AgNOR Value with Chemoradiotherapy Clinical Response of Cervical Cancer." *Atom Indonesia*, 3(3): 135–40.
- Kurnia I, Soetrisno E, Yulian ED, Ramli I and Alatas Z, 2012. "Studi Nilai AgNOR Dan MIB-1 Pada Kanker Payudara Yang Ditangani Dengan Operasi Study of AgNOR Value and MIB-1 Index in Breast Cancer Treated With Surgery." *Jurnal farmasi Klinik Indonesia*, 1(3):49-55.
- Kurnia I, Soetrisno E, Yulian ED, Ramli I and Alatas Z, Kurjana. et al. 2013. "Korelasi Antara MIB-1, AgNOR Dan Apoptosis Caspase-3 Dengan Respons Kemoradioterapi Pada Kanker Serviks." *Jurnal Sain dan teknologi Nuklir Indonesia* 14(1): 51–64.
- Kurnia I, Siregar B, dan Lusiyan Y, 2006. "Penggunaan AgNOR Sebagai Biomarker Sensivitas Radiasi Pada Kanker Serviks." In *Seminar Nasional K3, PTKMR*, Jakarta: PTKMR, 1–9.
- Landy R, Castanon A, Dussing N, Lim AWW, Hollingworthh A, Hamilton W. et al. 2015. "Cervical Cytology and the Diagnosis of Cervical Cancer in Older Women." *Journal of Medical Screening* 22(4): 207–12.

- Landy R, Castanon A, Dussing N, Lim AWW, Hollingworthh A, Hamilton W, et al. 2016. "Evaluating Cytology for the Detection of Invasive Cervical Cancer." *Cytopathology*, 27(3):201-9.
- Larasati, 2017. *Prosedur Kerja Pewarnaan AgNOR*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi UGM: 180-90.
- Leal-Esteban LC, and Fajas L, 2020. "Cell Cycle Regulators in Cancer Cell Metabolism." *Biochimica et Biophysica Acta-Molecular Basis of Disease*, 1866(5): 165715.
- Li M, He Y, Peng C, Xie X and Hu G, 2018. "Erianin Inhibits Human Cervical Cancer Cell through Regulation of Tumor Protein P53 via the Extracellular Signal - Regulated Kinase Signaling Pathway." *Oncol Lett*, 16(4): 5006–12.
- Liang R, Kairupan C, and Durr M, 2015. "Pengaruh Pemberian Ekstrak Lengkuas (*Alpinia Galanga*) Terhadap Gambaran Histologi Payudara Tikus (*Mus Musculus*) Yang Diinduksi Benzo(a)Pyrene." *Jurnal e-Bio-medik* 3(1): 480–85.
- Lin CC, Yu CS, Yang JS, Lu CC, Chiang JH, Lin JP, Kuo CL, Chung JG. 2018. Chrysin, a natural and biologically active flavonoid, influences a murine leukemia model in vivo through enhancing populations of T-and B-cells, and promoting macrophage phagocytosis and NK cell cytotoxicity. *In Vivo*; 26(4): 665-670.
- Lin, Fan, Prichard and Jeffrey, 2011. *Handbook Of Practical Immunohistochemistry*. ed. Jeffrey Prichard. Danville, USA: Springer:1-16.
- Liu H, Su D, Zhang J, Ge S, Li Y, Wang F, et al. 2017. "Improvement of Pharmacokinetic Profile of TRAIL via Trimer-Tag Enhances Its Antitumor Activity in Vivo." *Scientific Reports*, 7(1):8953.
- Liu, S., Ren, J., ten Dijke, P. 2021. Targeting TGFβ signal transduction for cancer therapy. *Sig Transduct Target Ther* 77: 2103–2123
- Lopez J, and Tait SWG, 2015. "Mitochondrial Apoptosis: Killing Cancer Using the Enemy Within." *British Journal of Cancer*, 112:957-962.
- Lung, Jackie KS, and Dika PD, 2014. "Uji Aktivitas Antioksidan Vitamin A, C, E Dengan Metode DPPH." *Farmaka* 14: 1–10.
- Mahapatra G, Varughese A, Ji Q, Lee I, Liu J, Vaishnav A, et al. 2017. "Phosphorylation of Cytochrome c Threonine 28 Regulates Electron Transport Chain Activity in Kidney: Implications for Amp Kinase." *Journal of Biological Chemistry* 292(1):64-67.

- Mahobia R, Khandare M, Nayak R, and yadav BS, 2018. "Value of Argyrophilic Nucleolar Organizer regions in Benign, Premalignant, and Malignant Lesions of Cervix Uteri." *Int. J. Sci Study*, 5(12): 121-125.
- Manurung,R.D., Ilyas, S., Hutahaean, S., Rosidah, Simanullang, R.H., 2021, Effectivity of Nano herbal Andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium*) to the Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) expression in burn wound in diabetic rats. *IOP IEEE Explore*:1-5.
- McCracken, J.M., Calderon, G.A., Robinson, A.J., Sullivan, C.N., Cosgriff-Hernandez, E., Hakim J.C.E. 2021. Animal Models and Alternatives in Vaginal Research: a Comparative Review. *Reprod. Sci.* 28, 1759–1773.
- Ming, L., Cheng, K., Chen, Y., Yang, R., Chen, D. 2020. Enhancement of tumor lethality of ROS in photodynamic therapy. *Cancer Medicine*. 10(1):257-268.
- Masyittah C, Hadisahputra S, and Ilyas S, 2015. "Combinational Effects of Ethylacetate Extract of *Zanthoxylum Acanthopodium DC.* With Doxorubicinon MCF7 Breast Cancer Cells." *International Journal of PharmTech Research*, 7(4):974-4304.
- Mcgraw SL, and Ferrante MJ, 2014. "Update OnPrevention and Screening of Cervical Cancer." *World Journal of Clinical Oncology*, 5(4):744-752.
- Meiyanto E, Sugiyanto, and Rahmi F. 2007. "Efek Kemoterapi Ekstrak Etanolik Gynura Procumbens (Lour) Pada Karsi,ogen Kanker Payudara Tikus." *Majalah Farmasi Indonesia* 18(3): 154–61.
- Merino JM, Paredes AC, Ulloa EV, Zavalette LR, Gonzalez AM and Lizano M, 2014. "The Role of Signaling Pathways in Cervical Cancer and Molecular Therapeutic Targets." *Archives of Medical Research* 45: 525–39.
- Moektiwardoyo M, Muchtaridi M, and Halimah E, 2014. "Chemical Composition and Locomotor Activity of Andaliman Fruits (*Zanthoxylum Acanthopodium DC.*) Essential Oil on Mice." *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 6(2): 547–50.
- Mohammad T, Batra S, Dahiya R, Baig MH, Rather IA, Dong JJ, et al. 2019. "Identification of High-Affinity Inhibitors of Cyclin-Dependent Kinase 2 towards Anticancer Therapy." *Molecules*, 24(24):4589.
- Mohanty G, and Padhy AK, 2020. "Diagnostic and Prognostic Importance of AgNOR Pleomorphism in Cervical Carcinoma." *Indian Journal of Gynecologic Oncology*, 94:01-10.

- Moody CA, and Laimins LA, 2010. "Human Papillomavirus Oncoproteins: Pathways to Transformation." *Nature Reviews Cancer*, 10:550-560.
- Mrakovcic M, and Fröhlich LF. 2018. "P53-Mediated Molecular Control of Autophagy in Tumor Cells." *Biomolecules*, 8(2):14.
- Muskett D, Feldman T, and Wolfe D, 2018. "Tissue Processing and Haematoxylin and Eosin Staining." *Clifton J*, 1180:31-43.
- Mwaka AD, Orach CG, Were EM, Lyratzopoulos G, Wabinga H, and Roland M, 2016. "Awareness of Cervical Cancer Risk Factors and Symptoms: Cross-Sectional Community Survey in Post-Conflict Northern Uganda." *Health Expectations*, 19(4): 854–67.
- Nagata S, and Tanaka M, 2017. "Programmed Cell Death and the Immune System." *Nature Reviews Immunology*, 17(5):333-340.
- Nakisige C, Schwartz M, and Okoth A, 2017. "Gynecologic Oncology Reports Cervical Cancer Screening and Treatment in Uganda." *Gynecologic Oncology Reports* 20: 37–40.
- Narayanasamy K and Ragawan B. 2014. Antiproliferative activity of Zanthoxylum tetraspermum W.A. stem bark extract against Breast carcinoma in mice. *Journal of Pharmacy Research*, 8(7):998-1007
- Natasutedja, Alfredo, and Oktavianto, 2020. "Botanical Aspects, Phytochemicals and Health Benefits of Andaliman (*Zanthoxylum Acanthopodium*)."
Indonesian Journal of Life Sciences, 2(1): 8–15.
- Nascimento, C., Gameiro, A., Ferreira, J., Correia, J., Ferreira, F. 2021. Diagnostic Value of VEGF-A, VEGFR-1 and VEGFR-2 in Feline Mammary Carcinoma. *Cancers*, 13(1):117.
- Nayaka S, Chakraborty B, Pallavi S, Bhat M, Shashiraj K and Ghasti B. 2020. 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. *International Journal of Pharmaceutical Research*, 12(3): 302-314
- Negi JS, Bisht VK, Bhandari AK, Singh P and Sundriyal RC, 2011. "Chemical Constituents and Biological Activities of the Genus Zanthoxylum: A Review." *African Journal of Pure and Applied Chemistry* 5(12): 412–16.
- Noviyani R, Suwiyoga K, Dewi AA, Niruri R, Tunas IK and Budiana IN, 2014. "Evaluation of Blood Urea Nitrogen and Serum Creatinine in Squamous Cell Cervical Cancer Patients Stadium IIb-IIIb Who Receiving

- Paclitaxel-Carboplatin Chemotherapy." *Indonesian Journal of Clinical Pharmacy*, 3(2):55-60.
- Noviyani R, Indrayatui A, Niruri R, Tunas IK and Budiana IN, 2016. "The Difference of Kidney, Heart and Blood Function on Cervical Cancer Patients with Chemotherapy, Bleomycin, Oncovin®, Mitomycin and Carboplatin (Case Study in Sanglah General Hospital, Denpasar in 2015)." *Indonesian Journal of Clinical Pharmacy*, 5(4):269-277.
- Nozaki R, Kono T, Bochimoto H, Watanabe T, Oketani K, Sakamaki Y. et al. 2017. Zanthoxylum fruit extract from Japanese pepper promotes autophagic cell death in cancer cells. *Oncotarget*, 7:70437-70446.
- Nwozo SO, Tijani HA, and Oyinloye B. 2011. Toxicological Evaluation of Methanolic Extract of Zanthoxylum zanthoxyloide Stem Bark. *Journal of Herbal Practice and Technology*, 1: 13-21.
- Oft, M., 2019. Immune regulation and cytotoxic T cell activation of IL-10 agonists—Preclinical and clinical experience. *Seminars in Immunology*, 44:101325.
- Okagu, U., Ndefe, C., Aham, E.C., Udenigwe, C.C., 2021. Zanthoxylum Species: A Review of Traditional Uses, Phytochemistry and Pharmacology in Relation to Cancer, Infectious Diseases and Sickle Cell Anemia. *Front. Pharmacol.* <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.713090>
- O'Leary B, Finn R, and Turner NC, 2016. "Treating Cancer with Selective CDK4/6 Inhibitors." *Nature Reviews Clinical Oncology*, 13:417-430.
- Oh SJ, Cho H, Kim S, Noh KH, Song KH, Lee HJ, et al. 2018. "Targeting Cyclin D-CDK4/6 Sensitizes Immune-Refractory Cancer by Blocking the SCP3–NANOG Axis." *Cancer Research*.
- Oinam J, Raleng I, Meitakesihangbam R, Kumari BR & Laishram S. 2017. A Study on Hepatoprotective Activity of Ethanol Extract of Zanthoxylum Armatum DC (Mukthruhi) Leaves In Experimental Animal. *Int. J. Pharm. Sci. Res*, 8(7): 3025-3029.
- Okunade, Sharafadeen K, 2020. "Human Papillomavirus and Cervical Cancer." *Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 78(10):2638-2653.
- Ow YLP, Green DR, Hao Z, and Mak TW, 2008. "Cytochrome c: Functions beyond Respiration." *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 9(7):5325-42.
- Paik SY, Koh KH, Beak SM, Paek SH and Kim JE. 2005. The Essential Oil from *Zanthoxylum schinifolium* Pericarp Induce Apoptocice of HepG2

- Human Hepatoma Cells through Increased Reactive Oxygen Species. *Biological and Pharmaceutical*, 28
- Pal SHG, and Jha AK, 2019. "Apoptosis Caused by Natural Compounds in Cervical Cancer Cell Line." *Cancer Therapy and Oncologi International Journal*, 14(3):01-02.
- Peurala E, Koivunen P, Haapasaari KM, Bloigu R, and Vuorinen AJ, 2013. "The Prognostic Significance and Value of Cyclin D1, CDK4 and P16 in Human Breast Cancer." *Breast Cancer Research*, 15(1):2333.
- Pfeffer CM, and Singh ATK, 2018. "Apoptosis: A Target for Anticancer Therapy." *International Journal of Molecular Sciences*, 19(2):448.
- PokornyJNY, and Gordon M. 2001. *Antioxidant in Food Practical Application*. England: Woodhead Publishing Ltd and CRC Pres LLC: 350-360.
- Prayitno ADI, Darmawan R, Yuliadi I, and Mudigdo A, 2015. "The Expression of P53, Rb, and c-Myc Protein in Cervical Cancer by Immunohistochemistry Stain." *Biodiversitas Journal* 6(3): 157–59.
- Price SA, and Wilson LM, 2006. *Patofisiologi: Konsep Klinis, Proses-Proses Penyakit*. 6th ed. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC: 240-255.
- Purba ST, and Sinaga DP, 2017. "Evaluasi Potensi Ekstrak Tumbuhan Andaliman (*Zanthoxylum Acanthopodium*) Sebagai Potensi Immunostimulan Pada Tikus (*Rattus Norvegicus L.*)." *Prosiding Seminar Nasional III Biologi dan Pembelajarannya* (September): 221–27.
- Rahmadwati, 2014. "Sistem Diagnosis Kanker Serviks Berdasarkan Karakteristik Morfologi." *EECCIS* 7(2): 191–96.
- Raj KCS and Talwar. 2012. "Value of Nucleolar Organizer Regions count in cervical pathology." *J. Path of Nepal*, 2:180-185.
- Ranawat L, Bhatt J, and Patel J. 2010. "Hepatoprotective Activity of Ethanolic Extracts of Bark of *Zanthoxylum Armatum* DC in CCl₄ Induced Hepatic Damage in Rats." *Journal of Ethnopharmacology*, 127(3):777-780.
- Rebe, C., FranÃ§ois, G. 2020. *Interleukin-1^{Î²} and Cancer*. *Cancers*, 12(7), 1791–. doi:10.3390/cancers12071791
- Redza DM, and Bates DAA, 2016. "Activation of Apoptosis Signalling Pathways by Reactive Oxygen Species." *Biochimica et Biophysica Acta-Molecular Cell Research*, 1863(12):2977-2992.
- Ribnikar D, Volovat SR, and Cardoso F, 2019. "Targeting CDK4/6 Pathways and beyond in Breast Cancer." *Breast*, 43:8-17.

- Ropelle ER, Pauli JR, Prada PO, Souza CT, Picardi PK, faria MC, et al. 2006. "Reversal of Diet-Induced Insulin Resistance with a Single Bout of Exercise in the Rat: The Role of PTP1B and IRS-1 Serine Phosphorylation." *Journal of Physiology*, 577(3):997-1007.
- Rosidah, Hasibuan PAZ, Haro G, Masri P and Satria D, 2018. "Antioxidant Activity of Alkaloid Fractions of *Zanthoxylum Acanthopodium* Dc. Fruits with 1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl Assay." *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 11(1).
- Rosidah, Hasibuan PAZ, Haro G, Masri P and Satria D, 2019. "Cytotoxicity Activity of Ethanol Extract of Andaliman Fruits (*Zanthoxylum Acanthopodium* DC.) towards 4T1 Breast Cancer Cells." *Indonesian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research* 02(2): 31–35.
- Rozi M, 2016. *Kiat Mudah Mengatasi Kanker Serviks*. Yogyakarta: Aulia:110-120.
- Ruan Y, Jiang S, Musayeva A, and Gericke A, 2020. "Oxidative Stress and Vascular Dysfunction in the Retina: Therapeutic Strategies." *Antioxidants*, 9(8): 1–30.
- Sabri E, 2007. "Efek Perlakuan Ekstrak Andaliman (*Zanthoxylum Acanthopodium*) Pada Tahap Praimplantasi Terhadap Fertilisasi dan Perkembangan Embrio Mencit (*Mus Musculus*)." *Jurnal Biologi Sumatera* 2(2): 28–32.
- Sakthi P, 2013. "Cervical Cancer Screening and Clasification Using Acoustic Shadowing." *International Journal of Innovative Research in Computer and Communication Engineering* 1(2): 2032–38.
- Sasagawa T, Takagi H, and Makinoda S, 2012. "Immune Responses against Human Papillomavirus (HPV) Infection and Evasion of Host Defense in Cervical Cancer." *Journal of Infection and Chemotherapy*, 18(6):807-815.
- Savira M, 2018. "Biologi Molekuler Human Papilloma Virus." *Jurnal Ilmu Kedokteran*, 11(1):1-6.
- Sayuti K, and Yenrina R, 2015. *Antioksidan, Alami Dan Sintetik*. ed. Tuti Anggarini. Padang. Andalas University Press:60-80.
- Seifried R, Harrison E, and Seifried HE, 2017. "Antioxidants in Health and Disease." In book: *Nutrition in the Prevention and Treatment of Disease 4 ed*. Academic Press. United Stated: 321-346.

- Selena F, 2012. "Immun Respons on Rabbit Does of Different Genetic Types Subjective to Reproductive, Environment and Immunologic Challenges." Universitas Politenica De Valencia. Doctoral Thesis. Universitat Politecnica De Valencia.
- Sharma RA, 2000. "Chancer Chemoprevention: A Clinical Realty." *Journal The Royal Society of Medicine* 93: 518–20.
- Sherr CJ, Beach D, and Shapiro GI, 2016. "Targeting CDK4 and CDK6: From Discovery to Therapy." *Cancer Discovery*, 6(4):353-367.
- Shukla S, Rajput D, Achharya S, Acharya B, Grover S, Sama N, and Vagha S, 2013. "A Study on the Nucleolar Organizer Regions-as a Tumour Proliferative Marker in Cervical Smears." *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 7(2):278-283.
- Sihotang Y, Silalahi J, and Hasibuan PAZ, 2016. "Cardioprotective Effect of Ethylacetate Extract of *Zanthoxylum Acanthopodium* Dc. Against Doxorubicin-Induced Cardiotoxicity in Rats." *International Journal of PharmTech Research*, 9(4):249-253.
- Sikdar S, Ishayee K, Paul A, Saha SK, Ghosh S, and Bukhs RH. 2013. "Post-Cancer Treatment with Condurango 30C Shows Amelioration of Benzo[a],yrene-Induced Lung Cancer in Rats Through the Molecular Pathway of Caspase-3-Mediated Apoptosis Induction-Anti-Lung Cancer Potential of Condurango 30C in Rats-." *Journal of Pharmacopuncture* 16(3): 11–22.
- Simanjuntak UAP, 2017a. "The Using of AgNOR as Sensivity Radiation Marker in Cervical Cancer." *Acta Citologica*, 46(2):311-316.
- Simanjuntak UAP, 2017b. *Uji Diagnostik Pewarnaan Hematoksilin Eosin Untuk Mendiagnosa Fibrosis Ginjal Dengan Pewarnaan Masson's Trichrome Pasien Batu Ginjal Obstruksi*. Denpasar: Thesis. Fakultas Kedokteran Universitas Udayana.
- Simanullang RH, 2009. "Pengaruh Pemberian Vitamin C Terhadap Kualitas Eritrosit Mencit Sebelum Dan Sesudah Latihan Fisik Maksimal Pada Mencit Galur DD Wistar." Thesis. Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara.
- Simanullang RH, 2018. "Impact of Health Education Intervention on Knowledge of Cervical Cancer Prevention Among Women in Bahorok's Village, North Sumatra Indonesia." *Belitung Nursing Journ al* 4(6): 591–95.

- Simanullang RH, and Sitopu DS, 2020. "Effect of Health Education on Women's Knowledge Level about Pap Smear's Early Detection of Cervical Cancer Prevention." *Asian Journal of Oncology*, 6(2):65-71.
- Simanullang RH, Ilyas S, Hutahaeen S and Rosidah, 2021. Effect of Andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC.) Methanol Extract on Rat's Kidney and Liver Histology Induced by Benzopyrene. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 24: 274-281.
- Simanullang RH, Ilyas S, Hutahaeen S, Rosidah, Situmorang PC and Manurung RD, 2021. *Effect of Andaliman Fruit Extract on Cervical Cancer Rat's Histology*. IEEE Explore 2021 (-), (1-5)
- Simmonds P, Becher P, Bukh J, Gould EA, Meyers G, Monath T, et al. 2017. "ICTV Virus Taxonomy Profile: Flaviviridae." *Journal of General Virology*, 98(1):2-3.
- Sing P, Khan S, and Mittal KR. 2014. Renal Function Test on The Basis of Serum Creatinine and Urea in Type-2 Diabetics and Nondiabetics. *Bali Medical Journal*, 3(1): 11-14.
- Singh TD, Meitei HT, Sharma AL, Robinson A, Singh LS, and Sing TR, 2015. "Anticancer Properties and Enhancement of Therapeutic Potential of Cisplatin by Leaf Extract of *Zanthoxylum Armatum* DC." *Biological Research*, 48(1):46.
- Situmorang PC, Ilyas S, and Hutahaeen S, 2019. "Study of Combination of Nanoherbal Andaliman (*Zanthoxylum Acanthopodium*) and Extra Virgin Olive Oil (*Evo*) Effects in the Expression of Malondialdehyde (Mda), Heat Shock Protein-70 (Hsp70) and Placental Histology of Preeclamptic Rats." *Pharmaceutical Science*, 25(3):2383-2886.
- Situmorang PC, Ilyas S, Hutahaeen S and Rosidah, 2019. "Effect of Nanoherbal Andaliman (*Zanthoxylum Acanthopodium*) and Extra Virgin Olive Oil Combination on Preeclamptic Rats Liver Histology." *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences* 7(14): 2226–31.
- Situmorang, P.C., Ilyas, S., 2018. Review: germinal cell apoptosis by herbal medicine. *Asian J Pharm Clin Res*, 11(9):24-31.
- Situmorang, P.C., Ilyas, S., Hutahaeen, S., 2019b. Effect of Combination of Nano Herbal Andaliman (*Zanthoxylum Acanthopodium* DC.) and *Extra Virgin Olive Oil* (EVOO) to Kidney Histology of Preeclampsia Rats. *IOP Conf Ser: Earth Environ Sci*. 305 012081.

- Situmorang, P.C., Ilyas, S., Hutahaeen, S., Rosidah, R., Manurung, R.D., 2020. Acute toxicity Test and Histological Description of Organs after Giving Nano Herbal Andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium*). *Rasayan J Chem.*13(2):780-788.
- Situmorang, P.C., Ilyas, S., Hutahaeen, S., Rosidah, R., 2021a. Histological changes in placental rat apoptosis via FasL and cytochrome c by the nano-herbal *Zanthoxylum acanthopodium*. *Saudi J Bio Sci*,28(5):3060–3068.
- Situmorang, P.C., Ilyas, S., Hutahaeen, S., Rosidah, R., 2021b. Effect of Nano Herbal Andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium*) Fruits in NOTCH1 and Hes1 Expressions to Human Placental Trophoblasts. *Pakistan J Biol Sci.* 24: 165-171.
- Soebachman and Agustina, 2015. *Awas 7 Kanker Yang Paling Mematikan*. Yogyakarta: Syura Media Utama: 80-98.
- Srivastava AN, Misra JS, Singh U, Khan M and Raza S, 2019. “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 Cyt*, 63:371-378.
- Srivastava B, and Misra JS, 2013. “Diagnostic Importance of AgNOR Pleomorphism in Cervical Carcinogenesis.” *Ecancermedicalscience*, 7:287.
- Stanley MA, 2012. “Epithelial Cell Responses to Infection with Human Papillomavirus.” *Clinical Microbiology Reviews*, 25(2):215-222.
- Stark H, and Zivković A, 2018. “HPV Vaccination: Prevention of Cervical Cancer in Serbia and in Europe.” *Acta Facultatis Medicae Naissensis*, 35(1):5-16.
- Song JY, Bae HS, Koo DH, Lee JK, Jung HK, Lee KW, et al. 2017. Candidates for Tumor Markers of Cervical Cancer Discovered by Proteomic Analysis. *J. Korean Med Sci*, 27:1479-1485.
- Suntoro SH, 1983. *Metode Pewarnaan (Histologi Dan Histokimia)*. Jakarta: Bharata Karya Aksara:159-170.
- Sukhla S, Rajput D, Acharya S, Acharya N, Grover S, Samal N, et al. 2018. “A Study on the Nucleolar Organizer Regions-As a Tumour Proliferative Marker in Cervical Smears.” *J. Clin. and Diag Res*, 7(2): 278-283.

- Suryawan, 2016. "Gambaran Kadar Ureum Dan Kreatinin Serum Pada Pasien Gagal Ginjal Kronik Yang Menjalani Terapi Hemodialisa Di RSUD Sanjiwani Gianyar." *Meditory Journal*, 4(2):145-153.
- Susanty and Bachmid F, 2016. "Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Refluks terhadap Kadar Fenolik dari Ekstrak Tongkol Jagung (*Zea Mays L.*)" *Jurnal Konversi* 5(2): 87–92.
- Syari DM, Rosidah, Hasibuan PAZ, and Satria D, 2019. "Evaluation of Cytotoxic Activity Alkaloid Fractions of *Zanthoxylum Acanthopodium DC.* Fruits." *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*, 7(22):3745-3747.
- Tarigan M, 2009. "Pengaruh Pemberian Vitamin C Terhadap Kualitas Leukosit Mencit (DD Waster) Sebelum Dan Sesudah Latihan Fisik Maksimal." Thesis. Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara.
- Tas M, Yavuz A, Mehmet, and Ozcelik B, 2019. "Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio and Platelet-to-Lymphocyte Ratio in Discriminating Precancerous Pathologies from Cervical Cancer." *Journal of Oncology*, 2019:1-6.
- Thakur P, Seam RK, Gupta MK, Rastogi M, Gupta M, Bhattacharyya T, et al. 2015. "Comparison of Effects of Hemoglobin Levels upon Tumor Response among Cervical Carcinoma Patients Undergoing Accelerated Hyperfractionated Radiotherapy versus Cisplatin Chemoradiotherapy." *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention* 16(10)4285-4289.
- Thiriet M, 2012. Control of Cell Fate in the Circulatory and Ventilatory Systems Control of Cell Fate in the Circulatory and Ventilatory Systems. *Springer eBook*
- Thomy Z, 2010. *Buku Ajar Genetika Dasar*. Banda Aceh.: Universitas Syah Kuala Press: 55-68.
- Tian Y, Zhang C, and Guo M. 2017. Comparative Study On Alkaloids And Their Anti-Proliferative Activities From Three *Zanthoxylum* Species. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 17(460).
- Tusskorn O, Khunluck T, Prawan A, Senggunprai L, and Kukongviriyapan V. 2019. "Mitochondrial Division Inhibitor-1 Potentiates Cisplatin-Induced Apoptosis via the Mitochondrial Death Pathway in Cholangiocarcinoma Cells." *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 11:109-118.
- Tyagi KK, Chandra L, Kumar M, Singh S, Passi D, Goyal J, et al. 2020. "Agnor as an effective diagnostic tool for determining the proliferative nature of different types of odontogenic cysts." *J. Family Med Prim Care*,

9:125-130.

- Volkart PA, Bitencourt FC, Souto AA, and Azevedo WF, 2018. "Cyclin-Dependent Kinase 2 in Cellular Senescence and Cancer. A Structural and Functional Review." *Current Drug Targets*, 20(7):119-125.
- Wang JM, Wang Y, Huang Y, wang H, Zhu J, et al. 2019. "Prognostic Values of Platelet-Associated Indicators in Resectable Cervical Cancer." *Dose-Response* 17(3): 1–7.
- Wang J, Zhu X, Yin P and Zhu Y. 2020. PIF1 Affects the Proliferation and Apoptosis of Cervical Cancer Cells by Influencing TERT. *Can. Manag and Res*, 12:7827-7835.
- Wardak S, 2016. "Human Papillomavirus (HPV) and Cervical Cancer." *Medycyna doswiadczalna i mikrobiologia*, 68(1):73-84.
- Waterbury L, and Frenkel EP, 2012. "Deficiency Hereditary Nonpheroctyic Hemolysis With Erithrocyte Phosphofructokinase." *Blood Journal* 39(3).
- WHO, 2018. "Cancer." <https://www.who.int/>
- Widjajanto E, 2008. "Peranan Makrofag Pada Proliferasi Dan Apoptosis Pada Proses Hematopises." *Jurnal Kedokteran Brawijaya* 11(1): 29–36.
- Wijaya CH, Napitupulu FI, Karnady V, and Indariani S. 2019. "A Review of the Bioactivity and Flavor Properties of the Exotic Spice 'Andaliman' (*Zanthoxylum Acanthopodium* DC.)." *Food Reviews International*, 35(1):1-19.
- Winarti S, 2010. *Makanan Fungsional*. Rieka Cipta. Yogyakarta: 56-78.
- Witherow B, 2019. "What Are Antioxidants?" *Equine Health*, 2019(48).
- Wongso. 2012. "Buah Andaliman Khas Sumatera Utara." Rieka Cipta. Yogyakarta: 56-78: 79-82.
- Wongso H, and Iswahyudi, 2013. "Induksi Kanker Pada Tikus Putih Sprague Dawley Sebagai Hewan Model dalam Penelitian Radiofarmaka. Di Dalam: Pemanfaatan Sains dan Teknologi Nuklir Serta Peranan MIPA Di Bidang Kesehatan, Lingkungan dan Industri untuk Pembangunan Berkelanjutan." In *Seminar Nasional Sains dan Teknologi Nuklir PTNBR–BATAN*, Bandung: Bandung: Pusat Teknologi Nuklir Bahan dan Radiometri-BATAN, 319-326.
- Xiang Li, Liu Y, Xie C, Li X, Yu Y, Ye M, et al. 2016. "The Chemical and Genetic Characteristics of Szechuan Pepper (*Zanthoxylum Bungeanum* and

- Z. Armatum) Cultivars and Their Suitable Habitat." *Frontiers in Plant Science*, 2016(7):467.
- Xiao S, Zhou Y, Yi W, Luo G, Jiang B, Tian Q, et al. 2015. "Fra-1 Is Downregulated in Cervical Cancer Tissues and Promotes." *international journal of oncology* 46: 1677–1684.
- Xiong Y, Li T, Assani G, Ling H, Zhou Q, Zeng Y, et al. 2019. "Ribociclib, a Selective Cyclin D Kinase 4/6 Inhibitor, Inhibits Proliferation and Induces Apoptosis of Human Cervical Cancer in Vitro and in Vivo." *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 2019(112).
- Yadav AK, and Tangpu V, 2009. "Therapeutic Efficacy of Zanthoxylum Rhetsa DC Extract against Experimental Hymenolepis Diminuta (Cestoda) Infections in Rats." *Journal of Parasitic Diseases*, 2009(33):42-47.
- Yam RSA and Asmawi MZ, 2008. "Antioxidant Potential of Gynura Procumbens." *Pharmaceutical Biology* 46(9): 618.
- Yanti, Pramudito TE, Nuriasari N, and Juliana K, 2011. "Lemon Pepper Fruit Extract (*Zanthoxylum Acanthopodium* DC.) Suppresses the Expression of Inflammatory Mediators in Lipopolysaccharide-Induced Macrophages In Vitro." *American Journal of Biochemistry and Biotechnology* 7(4): 190–95.
- You Y, Zhou M, Lu H, Shirima GG, Cheng Y, and Liu X, 2015. "Sanshool from *Zanthoxylum L.* Induces Apoptosis in Human Hepatocarcinoma HepG2 Cells." *Food Science and Biotechnology*, 2015(42):2169-2175.
- Zaman S, Wang R, and Gandhi V, 2014. "Targeting the Apoptosis Pathway in Hematologic Malignancies." *Leukemia and Lymphoma*, 55(9):1980-1992.
- Zhan T, Rindtorff N, and Boutros M, 2017. "Wnt Signaling in Cancer." *Oncogene*, 36(11):1461-1473.
- Zhang L, Kong H, Chin CT, Liu S, Fan X, Wang T, et al. 2014. "Automation-Assisted Cervical Cancer Screening in Manual Liquid-Based Cytology with Hematoxylin and Eosin Staining." *Cytometry Part A*, 85(3):214-230.
- Zhang, W., Borcharding N., Kolb, R., 2020. IL-1 Signaling in Tumor Microenvironment. In: Birbrair A. (eds) Tumor Microenvironment. Advances in Experimental Medicine and Biology, 1240:1-23 Springer, Cham.

BIOGRAFI PENULIS



Dr. Rostime Hermayerni Simanullang, S.Kep., Ns., M.Kes. lahir di Huta Dalam Humbang Hasundutan, 13 September 1973, merupakan anak pertama dari Ibu Muli Br. Simbolon dan Bapak Martianus Simanullang. Beliau menempuh Pendidikan D-3 di Akademi Keperawatan Imelda Medan (Universitas Imelda Medan, 1992-1995), D-4 Perawat Pendidik di Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara (1998-1999), Pendidikan S-1 Ilmu Keperawatan dan Profesi Ners di Fakultas Ilmu Keperawatan di Universitas Darma Agung Medan (2017-2019), Pendidikan Magister Ilmu Biomedik di Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara (2007-2009) dan juga Doktor Biologi di Universitas Sumatera Utara (2017-2021). Penulis bekerja sebagai Dosen Tetap di Akademi Keperawatan Imelda Medan (1995-2002), Direktur di Akademi Keperawatan Teladan Bahagia Medan (2002-2003), Dosen Tetap di Akademi Keperawatan *Gleneagles* Medan/Columbia Asia (2003-2005; Direktur 2005-2017), Dosen Tetap di Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Murni Teguh Medan (2017-sekarang). Penulis juga aktif menjadi peneliti dengan beberapa penelitian dengan tema Kanker Serviks, Biologi Molekuler dan Kesehatan Mental. Penulis juga aktif dalam menulis hasil penelitiannya dalam buku maupun jurnal internasional bereputasi seperti (Scopus & Thomson Reuters) dan jurnal nasional terakreditasi SINTA.



Dr. Putri Cahaya Situmorang, M.Si. lahir di Medan 11 Desember 1993, merupakan anak pertama dari Ibu Nurhamidah Siregar dan Bapak. Ir. Roni Situmorang. Beliau menempuh S-1 Pendidikan Biologi di Universitas Negeri Medan (2012-2016), Magister Biologi di Universitas Sumatera Utara (2017-2018) dan juga Doktor Biologi di Universitas Sumatera Utara (2018-2021). Beliau pernah melakukan kolaborasi riset di

Universitas of Rome Torvergata Italy (2019-2020) dan Studi Pascasarjana S-2 dan S-3 dengan beasiswa Pendidikan Magister Menuju Doktor bagi Sarjana Unggul (PMDSU) dari Kemnedikbudristek. Penulis bekerja sebagai Dosen Tetap Biologi di Universitas Sumatera Utara Sejak 2021-sekarang. Beliau aktif menjadi peneliti dengan beberapa penelitian dengan tema Kanker, Hipertensi, Diabetes dan Biologi Molekuler. Penulis juga aktif dalam menulis hasil penelitiannya dalam buku maupun jurnal internasional bereputasi seperti Scopus dan Thomson Reuters.



Dr. dr. Jekson Martiar Siahaan, M.Biomed., AIFO-K. lahir di Marihat Ulu tahun 1985. Pada tahun 2010, menyelesaikan Pendidikan Dokter dari Universitas Methodist Indonesia, melanjutkan studi ke Program Magister Ilmu Biomedik di Universitas Sumatera Utara di tahun 2012 dan selesai tahun 2015, kemudian melanjutkan Studi Doktoral Program Studi Ilmu Kedokteran tahun 2016 di Universitas Sumatera Utara dengan predikat *cum laude*.

Pengalaman dalam menulis buku yakni menulis buku *Exit Exam, Monograf, Fisiologi Kardiovaskuler, dan Pengantar Teknis Analisis Laboratorium Biomolekuler Dasar*, juga publikasi artikel ilmiah di jurnal nasional maupun internasional bereputasi.

Saat ini, penulis sedang menjabat Ketua Prodi Magister Ilmu Biomedik, Sekretaris Unit Penelitian dan Publikasi Ilmiah (UPPI) Fakultas Kedokteran Universitas Methodist Indonesia, Medan. Aktif dalam organisasi profesi IDI, IAIFI, PAIFORI, PBBMI.

Terapi Sitokin Terhadap Andaliman Cegah Kanker Serviks

Andaliman memiliki *anti-inflammatory*, aktivitas *antioxidant* dan memiliki kemampuan kuat untuk menghambat aktivitas antitumor. Aktivitas antitumor melalui strategi molekuler pada andaliman dapat dijadikan sebagai penghambat pertumbuhan sel kanker serviks. Ekspresi protein CDK4 dapat mempengaruhi integrasi membran mitokondria yang menyebabkan sitokrom c keluar dan mengaktifkan protein apoptosis.

Pemberian *Zanthoxylum acanthopodium* (andaliman) pada histologi kanker serviks tikus mengurangi ekspresi sitokrom c, IL1 β , TGF β 1, CDK4, VEGFR1 dan apoptosis. Andaliman juga dapat membantu IL-10 dalam menghambat proliferasi sel abnormal yang berdiferensiasi. Andaliman mungkin efektif dalam terapi sitokin molekuler untuk kanker serviks, tetapi keberhasilan terapi kanker bergantung pada berbagai faktor, termasuk stadium klinis, tipe dan diferensiasi histologi tumor, respons imun seluler, dan apoptosis.

Selanjutnya, faktor-faktor di luar tumor seperti kemoradiasi, imunoterapi, mikronutrien dan antioksidan yang dikonsumsi, dan kerentanan genetik, semuanya berdampak pada keberhasilan pengobatan. Kesimpulannya, setelah pemberian andaliman terjadi penurunan ekspresi sitokrom c, IL1 β , TGF β 1, CDK4, VEGFR1 dan apoptosis yang signifikan pada histologi kanker serviks ($p < 0,01$) sehingga andaliman bisa dikembangkan menjadi terapi sitokin molekuler untuk kanker serviks.

