



UJI AKTIVITAS MIRISTISIN SEBAGAI ANTIKANKER MELALUI KAPASITAS UJI MIGRASI DAN INVASI PADA KULTUR SEL MELANOMA

NI PUTU EKA KRISNAYANTI



PROGRAM STUDI BIOTEKNOLOGI
SEKOLAH PASCASARJANA
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2024

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



@Hak cipta milik *IPB University*

IPB University



IPB University
— Bogor Indonesia —

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



PERNYATAAN MENGENAI TESIS DAN SUMBER INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis dengan judul “Uji Aktivitas Miristisin Sebagai Antikanker Melalui Kapasitas Uji Migrasi dan Invasi pada Kultur Sel Melanoma” adalah karya saya dengan arahan dari dosen pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka di bagian akhir tesis ini.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya kepada Institut Pertanian Bogor.

Bogor, Juli 2024

Ni Putu Eka Krisnayanti
P0501211007

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



@Hak cipta milik *IPB University*

IPB University



IPB University
— Bogor Indonesia —

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



RINGKASAN

NI PUTU EKA KRISNAYANTI. Uji Aktivitas Miristisin Sebagai Antikanker Melalui Kapasitas Uji Migrasi dan Invasi pada Kultur Sel Melanoma. Dibimbing oleh HUDA SHALAHUDIN DARUSMAN dan SILMI MARIYA.

Studi tentang migrasi dan invasi sel dalam penelitian kanker menjadi perhatian khusus terkait dengan perkembangan metastatis. Salah satu jenis kanker dengan potensi migrasi dan invasinya yang tinggi adalah melanoma. Kanker ini bersifat sangat agresif dengan kecenderungan untuk bermetastasis sehingga menyebabkan angka kematian yang tinggi. Contoh senyawa alam yang terindikasi memiliki potensi dalam menghambat migrasi serta invasi sel kanker adalah miristisin. Sejauh ini belum ada penelitian yang memuat informasi tentang aktivitas miristisin terhadap kapasitas migrasi dan invasi sel melanoma. Penelitian ini menguji potensi antikanker dari miristisin melalui kapasitas uji migrasi dan invasi, serta efeknya terhadap ekspresi gen MMP-2 dan MMP-9 pada sel melanoma.

Pengujian dengan uji MTT pada penelitian ini menunjukkan bahwa miristisin memiliki aktivitas sitotoksik aktif terhadap sel melanoma. Senyawa ini dapat menghambat invasi dan migrasi sel melanoma secara *dose-dependent manner*. Uji invasi dilakukan melalui metode *transwell assay*, sedangkan uji migrasi dengan metode *wound healing assay*. Hasil uji invasi menunjukkan pola yang sebanding dengan hasil analisis ekspresi gen MMP-2 dan MMP-9. Kedua gen tersebut dianalisis melalui metode RT-qPCR. Ekspresi gen yang rendah pada sel melanoma dapat menurunkan jumlah sel-sel melanoma yang bersifat invasif. Perolehan hasil ini ditemukan pada pengujian dengan konsentrasi miristisin 0,1 dan 0,2 mM. Sementara itu, pada pengujian dengan konsentrasi uji 0,4 mM, ekspresi gen MMP-2 dan MMP-9 lebih tinggi dibandingkan kontrol. Peningkatan ekspresi dari kedua gen tersebut juga diikuti dengan peningkatan jumlah sel yang invasif. Berbeda halnya dengan hasil uji migrasi, ekspresi gen yang berlebihan ini justru menghambat kemampuan sel melanoma dalam menutupi celah luka. Laju migrasi dan nilai persentase *wound closure* pada uji migrasi mengalami penurunan dengan pemberian miristisin konsentrasi 0,4 mM.

Kata kunci: invasi, melanoma, migrasi, MMP-2 dan MMP-9, miristisin.



SUMMARY

NI PUTU EKA KRISNAYANTI. Assaying Anticancer Activity of Myristicin through Migration and Invasion Capacity Test in Melanoma Cell Culture. Supervised by HUDA SHALAHUDIN DARUSMAN and SILMI MARIYA.

The study of cell migration and invasion in cancer research is particularly interesting in terms of metastatic development. Melanoma is a cancer with a high risk of migration and invasion. This cancer is highly aggressive and likely to metastasize, resulting in a high mortality rate. Myristicin is a natural compound that has been indicated to inhibit cancer cell migration and invasion. So far, no research has been conducted to determine the activity of myristicin on melanoma cell migration and invasion. This study's tests will assess myristicin's anticancer potential through its migration and invasion capacity, as well as its effect on MMP-2 and MMP-9 gene expression in melanoma cells.

The MTT assay in this study demonstrated that myristicin has active cytotoxic activity against melanoma cells. This compound inhibits melanoma cell invasion and migration in a dose-dependent manner. The invasion test was performed using the transwell assay technique, whereas the migration test was performed using the wound healing assay technique. The results of the invasion assay followed a pattern similar to those of the MMP-2 and MMP-9 gene expression analyses. These two genes were analyzed using the RT-qPCR technique. Low gene expression in melanoma cells can decrease the number of invasive melanoma cells. These results were obtained in tests using myristicin concentrations of 0.1 and 0.2 mM. Meanwhile, at a test concentration of 0.4 mM, MMP-2 and MMP-9 gene expression was higher than the control. Increased expression of these two genes was associated with an increase in the number of invasive cells. In contrast to the migration test results, excessive expression of this gene inhibits melanoma cells' ability to close wound gaps. The migration rate and percentage of wound closure in the migration test decreased when myristicin was administered at a concentration of 0.4 mM.

Keywords: invasion, melanoma, migration, MMP-2 and MMP-9, myristicin.



© Hak Cipta milik IPB, tahun 2024
Hak Cipta dilindungi Undang-Undang

Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan atau menyebutkan sumbernya. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik, atau tinjauan suatu masalah, dan pengutipan tersebut tidak merugikan kepentingan IPB.

Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apa pun tanpa izin IPB.

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



@Hak cipta milik *IPB University*

IPB University



IPB University
— Bogor Indonesia —

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



UJI AKTIVITAS MIRISTISIN SEBAGAI ANTIKANKER MELALUI KAPASITAS UJI MIGRASI DAN INVASI PADA KULTUR SEL MELANOMA

NI PUTU EKA KRISNAYANTI

Tesis
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Magister pada
Program Studi Bioteknologi

**PROGRAM STUDI BIOTEKNOLOGI
SEKOLAH PASCASARJANA
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2024**



@Hak cipta milik IPB University

IPB University

Tim Penguji pada Ujian Tesis:
1 Dr. Popi Asri Kurniatin, S.Si., Apt., M.Si.



IPB University

Bogor Indonesia

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

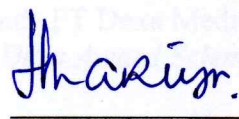
Judul Tesis : Uji Aktivitas Miristisin Sebagai Antikanker Melalui Kapasitas Uji Migrasi dan Invasi pada Kultur Sel Melanoma
Nama : Ni Putu Eka Krisnayanti
NIM : P0501211007

Disetujui oleh

Pembimbing 1:
Dr. drh. Huda Shalahudin Darusman, M.Si.



Pembimbing 2:
Dr. Silmi Mariya, S.Si., M.Si.



Diketahui oleh

Ketua Program Studi:
Prof. Dr. Ir. Miftahudin, M.Si.
NIP 1962041919890310



Dekan Sekolah Pascasarjana:
Prof. Dr. Ir. Dodik Ridho Nurrochmat, M.Sc.F.Trop.,IPU
NIP 197003291996081001



Tanggal Ujian:
(01 Juli 2024)

Tanggal Lulus:





@Hak cipta milik *IPB University*

IPB University



IPB University
— Bogor Indonesia —

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa atas segala karunia-Nya sehingga karya ilmiah ini berhasil diselesaikan. Penelitian ini telah dilaksanakan sejak bulan Januari 2023 sampai September 2023 dengan judul “Uji Aktivitas Miristisin Sebagai Antikanker Melalui Kapasitas Uji Migrasi dan Invasi pada Kultur Sel Melanoma”.

Terima kasih penulis ucapkan kepada para pembimbing, Dr. drh. Huda Shalahudin Darusman, M.Si dan Dr. Silmi Mariya, S.Si., M.Si yang telah membimbing dan banyak memberi saran. Penghargaan penulis sampaikan kepada Pusat Studi Satwa Primata (PSSP) IPB yang telah memberi izin dan memfasilitasi penelitian ini, beserta staf Laboratorium Mikrobiologi dan Imunologi dan Laboratorium Bioteknologi Pusat Studi Satwa Primata Institut Pertanian Bogor (PSSP IPB). Ucapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada PT Dexa Medica yang telah memberikan dukungan finansial melalui program *Dexa Award Science Scholarship 2021*.

Ungkapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada ayah, ibu, serta seluruh keluarga yang telah memberikan dukungan, doa, dan kasih sayangnya. Ucapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada teman-teman mahasiswa Program Studi Bioteknologi yang telah memberikan dukungan dan semangat selama menempuh pendidikan di Institut Pertanian Bogor.

Semoga karya ilmiah ini bermanfaat bagi pihak yang membutuhkan dan bagi kemajuan ilmu pengetahuan.

Bogor, Juli 2024

Ni Putu Eka Krisnayanti



@Hak cipta milik *IPB University*

IPB University



IPB University
— Bogor Indonesia —

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

DAFTAR ISI

DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan	2
1.4 Manfaat	2
II TINJAUAN PUSTAKA	3
2.1 Melanoma	3
2.2 <i>Matrix Metalloproteinases</i>	4
2.3 Miristisin	6
2.4 <i>Wound Healing Assay</i>	7
2.5 <i>Transwell Assay</i>	8
III METODE	11
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	11
3.2 Alat dan Bahan	11
3.3 Kelompok Uji	12
3.4 Prosedur Kerja	12
3.5 Analisis data	15
IV HASIL DAN PEMBAHASAN	17
4.1 Uji Sitotoksik	17
4.2 Uji Invasi	19
4.3 Uji Migrasi	21
4.4 Analisis Ekspresi Gen	24
V SIMPULAN DAN SARAN	27
5.1 Simpulan	27
5.2 Saran	27
DAFTAR PUSTAKA	29
LAMPIRAN	37
RIWAYAT HIDUP	49



DAFTAR TABEL

1	Sekuens primer	11
2	Nilai persentase viabilitas dan IC ₅₀ sel melanoma	17
3	Jumlah rata-rata sel melanoma yang bersifat invasif	20
4	Laju migrasi sel melanoma	22
5	Persentase <i>wound closure</i> sel melanoma	23

DAFTAR GAMBAR

1	Ilustrasi skematik dari MMPs yang mendegradasi membran basal dan ECM, serta aktivasi sitokin untuk memfasilitasi invasi lokal pada <i>hepatocellular carcinoma cells</i> (HCC) atau sel-sel kanker hati menuju sinusoid hepatic. <i>Tissue inhibitors</i> dapat memblokir aktivitas dari beberapa MMPs tersebut (Scheau <i>et al.</i> 2019).	4
2	Skema umum jalur pensinyalan yang mengatur ekspresi gen MMP-2 dan MMP-9, serta mekanisme molekuler dari senyawa polifenol alami dalam menghambat metastasis sel kanker payudara (Ci <i>et al.</i> 2016).	5
3	Proses migrasi sel yang terjadi pada <i>human umbilical vein endothelial cells</i> (HUVEC) setelah dibuat goresan dengan ujung pipet p20 dan didokumentasikan pada awal masa inkubasi (A), pertengahan masa inkubasi (B), dan akhir masa inkubasi (C). Skala pembesaran = 120 μ m (Jonkman <i>et al.</i> 2014).	8
4	Proses invasi yang terjadi pada sel-sel monolayer dalam <i>transwell insert</i> . Sel-sel invasif menembus lapisan ECM sebagai respon terhadap kemoatraktan, sementara sel-sel non-invasif tetap berada di dalam <i>transwell insert</i> (dimodifikasi dari Justus <i>et al.</i> (2023) <i>Methods Mol Biol.</i> vol 2644. New York (NY): Humana).	9
5	Diagram alur penelitian	12
6	Aktivitas sitotoksik miristisin terhadap sel melanoma (B16-F10) setelah 48 jam inkubasi pada uji MTT. Setiap poin mewakili rata-rata \pm SE dari tiga percobaan independen (*p < 0,05 vs. kelompok kontrol).	18
7	Morfologi sel B16-F10 setelah 48 jam inkubasi pada uji MTT. Sel diberi perlakuan dengan miristisin pada konsentrasi 0 mM (A), 0,01 mM (B), 0,05 mM (C), 0,1 mM (D), dan 0,5 mM (E). Skala = 0,1 μ m.	19
8	Sel invasif B16-F10 (berwarna biru) yang menembus lapisan <i>MaxGel</i> pada <i>transwell insert</i> . Sel setelah inkubasi 24 jam diberi perlakuan dengan miristisin pada konsentrasi 0 mM (A), 0,1 mM (B), 0,2 mM (C), dan 0,4 mM (D). Skala = 0,1 μ m.	20
9	Pengaruh miristisin pada invasi sel B16-F10. Jumlah sel invasif setelah inkubasi 24 jam. Setiap titik mewakili rata-rata \pm SD dari empat bidang pandang (*p < 0,05 vs. kelompok kontrol).	21
10	Pengamatan area celah luka terhadap sel B16-F10 yang diberi perlakuan dengan berbagai konsentrasi miristisin pada beberapa titik waktu dalam <i>wound healing assay</i> . Skala = 0,1 μ m.	22



11	Hasil uji T tidak berpasangan terhadap laju migrasi sel melanoma dalam <i>wound healing assay</i> . Setiap titik mewakili rata-rata \pm SD dari dua ulangan (* $p < 0,05$ vs. kelompok kontrol).	23
12	Hasil uji T tidak berpasangan terhadap persentase <i>wound closure</i> sel melanoma dalam <i>wound healing assay</i> . Setiap titik mewakili rata-rata \pm SD dari dua ulangan (* $p < 0,05$ vs. kelompok kontrol).	24
13	Tingkat ekspresi gen MMP-2 (A) dan MMP-9 (B) dari sel melanoma pada berbagai konsentrasi uji miristisin.	25

DAFTAR LAMPIRAN

1	Analisis nilai persentase viabilitas sel dan IC_{50} dari uji MTT	38
2	Hasil uji T tidak berpasangan pada persentase viabilitas sel	39
3	Data hasil pengamatan jumlah sel invasif	41
4	Hasil uji T tidak berpasangan pada jumlah rata-rata sel invasif	41
5	Data hasil pengukuran celah luka pada uji migrasi	42
6	Perhitungan laju migrasi sel dan persentase <i>wound closure</i>	43
7	Hasil uji T tidak berpasangan pada laju migrasi sel	44
8	Hasil uji T tidak berpasangan pada persentase <i>wound closure</i>	45
9	Hasil analisis ekspresi gen	47



@Hak cipta milik *IPB University*

IPB University



IPB University
— Bogor Indonesia —

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.