

DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN	i
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR.....	xv
KATA PENGANTAR.....	xviii
BAB I PENDAHULUAN	1
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Rumusan Masalah	8
I.3 Tujuan Penelitian	9
I.4 Kegunaan Penelitian	10
I.4.1 Kegunaan Teoritis	10
I.4.2 Kegunaan Praktis.....	11
BAB II TINJAUAN PUSTAKA, KERANGKA PEMIKIRAN DAN HIPOTESIS	10
II.1. Tinjauan Pustaka.....	12
II.1.1. Patogenesis dan Faktor Risiko Kanker Paru-paru	12
II.1.2. Migrasi Sel	15
II.1.3. Apoptosis	16
II.1.4. Peran Caspase pada Apoptosis dan Inhibitor Caspase.....	18
II.1.5 Autofagi	20
II.1.6. Morfologi dan Kandungan Kimia Biji <i>Ricinus communis</i> L.	23
II.1.7. Aktivitas Farmakologis Tanaman Jarak.....	26
II.1.8. Protein Ricin	27

II.1.9. Cisplatin	29
II.2 Kerangka Pemikiran	32
II.3 Hipotesis	37
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	31
III.1. Waktu dan Tempat Penelitian	38
III.2. Ekstraksi dan Identifikasi Protein Ricin	38
III.2.1. Ekstraksi Protein Ricin	38
III. 2.2. Identifikasi Protein Ricin dengan LCMS	39
III.2.3 Pemurnian Ekstrak Protein Ricin	40
III.2.4. Penetapan Berat Molekul Protein Ricin dengan SDS-PAGE.....	41
III.2.4. Pengukuran Kadar Protein Ricin	43
III.3. Studi <i>In Silico</i>	44
III.4. Studi <i>In Vitro</i>	46
III.4.1. Pengukuran Sitotoksisitas Sel Kanker Paru-paru A549 dengan <i>Presto Blue Assay</i>	46
III.4.2. Pengujian Induksi Kematian Sel Kanker Paru-paru A549 dengan Menggunakan <i>Flow Cytometry</i>	49
III.4.3. Pengujian Mekanisme Kematian Sel Kanker Paru-paru A549 Jalur Intrinsik dengan Metode <i>Western Blot</i>	50
III.4.4. Pengujian Migrasi Sel dengan Metode <i>Scratch Wound Healing</i>	55
III.4.5. Pengujian Proses Autofagi Sel Kanker Paru-paru A549 dengan Metode <i>Western Blot</i>	56
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	47
IV.1. Penyiapan Bahan Uji (<i>Ricinus communis</i> L.)	57
IV.2. Hasil Determinasi Biji Jarak	57
IV.3. Hasil Ekstraksi Protein Ricin	58
IV.4. Hasil Identifikasi <i>Crude Ricin</i> (CR) dengan menggunakan <i>Liquid Chromatography</i> (LC).....	59

IV.5. Hasil Pemurnian Protein dari CR.....	60
IV.6. Hasil Penetapan Berat Molekul Protein Ricin	63
IV.7 Hasil Pengukuran Kadar Protein Ricin	64
IV.8. Hasil Studi <i>In Silico</i>	67
IV. 9. Hasil Pengujian Sitotoksitas	76
IV.9.1. Hasil Pengujian Sitotoksitas terhadap Cisplatin	77
IV.9.2. Hasil Pengujian Sitotoksitas terhadap CR	78
IV. 10 Hasil Induksi Apoptosis dengan <i>Flow Cytometry</i>	81
IV.11. Hasil Pengujian Mekanisme Kematian Sel.....	87
IV. 12. Hasil Pengujian Migrasi Sel.....	90
IV. 13. Hasil Inhibisi Autofagi pada Sel Kanker Paru-paru A549.....	96
BAB V SIMPULAN DAN SARAN	90
V.1 Simpulan.....	106
V.2 Saran.....	107
DAFTAR PUSTAKA	108
LAMPIRAN	118

DAFTAR TABEL

Tabel II.1	Aktivitas <i>Ricinus communis</i> L. dilihat dari Kandungan Kimia	21
Tabel III.1	Fase Gerak pada LCMS	33
Tabel III.2	Komposisi <i>Separating</i> dan <i>Stacking</i> Gel	44
Tabel IV.1	Kadar Protein Ricin dari Hasil Purifikasi	54
Tabel IV.2	Mode Ikatan antara Ricin Rantai A dengan Caspase-3, -8, dan -9 ...	56
Tabel IV.3	Mode Ikatan antara Ricin Rantai A dengan Beclin-1, LC3, p62, dan ATG5.....	59
Tabel IV.4	Presentase Populasi Sel Kanker Paru-paru A549 terhadap CR dan Cisplatin (%)	69
Tabel IV.5	Perhitungan Area Penghambatan Migrasi Sel Kanker Paru-paru A549 oleh Cisplatin dan CR	78

DAFTAR GAMBAR

Gambar I.1	Struktur 3D ricin	4
Gambar I.2	Ilustrasi skematis mekanisme kerja ricin	5
Gambar I.3	Ligan PHQ (inhibitor aza-peptida) dalam kantung ikatan caspase-3 6	6
Gambar I.4	Ligan asam malat dalam kantung ikatan caspase-9	6
Gambar II.1	Jalan nafas premaligna dalam patogenesis molekular kanker paru- paru	11
Gambar II.2	Jalur intrinsik dan ekstrinsik apoptosis	14
Gambar II.3	Struktur dimer caspase	16
Gambar II.4	Jalur pengendalian autofagi	18
Gambar II.5	<i>Ricinus communis</i> L.	19
Gambar II.6	Struktur ricin A-B	22
Gambar II.7	Struktur ricin dan mekanisme katalitik pada ricin rantai A	24
Gambar II.8	Mekanisme kerja non-DNA cisplatin	25
Gambar II.9	Kerangka Pemikiran.....	29
Gambar IV.1	Biji jarak yang telah dikupas.....	47
Gambar IV.2	Biji jarak yang telah dihaluskan.....	48
Gambar IV.3	Kromatogram LC dari <i>crude ricin</i> (CR)	49
Gambar IV.4	Kromatogram FPLC dari CR menggunakan ÄKTA start column dengan fasa diam Sephadex G-100.....	50
Gambar IV.5	Kromatogram CLC dari CR dengan fasa diam Sephadex G-100 ..	50
Gambar IV.6	Elektroferogram dari fraksi ekstrak ricin.....	52
Gambar IV.7	Kurva standar dari BSA sebagai kontrol positif pada pengukuran kadar protein dengan metode Bradford.....	54
Gambar IV.8	Interaksi ricin rantai A dengan Beclin-1	60
Gambar IV.9	Interaksi ricin rantai A dengan LC3.....	60

Gambar IV.10 Interaksi ricin rantai A dengan p62.....	61
Gambar IV.11 Interaksi ricin rantai A dengan ATG5	61
Gambar IV.12 Mekanisme reduksi resazurin dalam sel.	64
Gambar IV.13 Hasil pengujian sitotoksisitas cisplatin terhadap sel kanker paru-paru A549.....	65
Gambar IV.14 Hasil pengujian sitotoksisitas <i>crude ricin</i> (CR) terhadap sel kanker paru-paru A549.	66
Gambar IV.15 Morfologi sel kanker paru-paru A549 setelah perlakuan dengan <i>crude ricin</i> (CR) dan Cisplatin.....	67
Gambar IV.16 Sitotoksisitas dari cisplatin dan <i>crude ricin</i> (CR) terhadap sel kanker paru-paru A549 pada berbagai konsentrasi dengan waktu inkubasi 48 jam	68
Gambar IV.17 Hasil uji induksi apoptosis dari sel kanker paru-paru A549 dengan <i>flow cytometry</i> setelah perlakuan cisplatin (A) dan <i>crude ricin</i> (CR) (B)	70
Gambar IV.18 Grafik batang yang menunjukkan rata-rata peningkatan sel apoptosis pada tahap awal dan akhir setelah pemberian cisplatin dan <i>crude ricin</i> (CR)	71
Gambar IV.19 Hasil representatif blot dari analisis <i>Western blot</i> dari protein caspase-9 dan -3 terhadap sel kanker paru-paru A549 setelah pemberian cisplatin dan <i>crude ricin</i> (CR) pada waktu inkubasi 36 jam.....	74
Gambar IV.20 Hasil densitometri dari level protein caspase-9, <i>cleaved</i> caspase-9, caspase-3, dan <i>cleaved</i> caspase-3 setelah perlakuan <i>crude ricin</i> (CR) dan cisplatin terhadap sel kanker paru-paru A549, yang dihitung menggunakan Image Studio Digits v.5.2 dan direpresentasikan dalam bentuk grafik batang.....	75
Gambar IV.21 Hasil dari pengaruh cisplatin dan <i>crude ricin</i> (CR) pada aktivitas migrasi dari sel kanker paru-paru A549.....	79
Gambar IV.22 Penutupan celah dari sel kanker paru-paru A549 pada waktu inkubasi 24 dan 48 jam setelah pemberian cisplatin dan <i>crude ricin</i> (CR) yang direpresentasikan dalam bentuk grafik batang.	80
Gambar IV.23 Hasil representatif blot dari analisis <i>Western blot</i> level protein Beclin-1, ATG5, LC3, dan p62 terhadap sel kanker paru-paru A549 setelah pemberian cisplatin dan <i>crude ricin</i> (CR) pada waktu inkubasi 36 jam.	82

Gambar IV.24 Hasil densitometri dari level protein Beclin-1, ATG5, LC3, dan p62 setelah perlakuan dengan <i>crude ricin</i> (CR) dan cisplatin terhadap sel kanker paru-paru A549, yang dihitung menggunakan Image Studio Digits v.5.2 dan direpresentasikan dalam bentuk grafik batang.	83
Gambar IV.25 <i>Crosstalk</i> antara autofagi dan apoptosis	89