

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN *Chrysanthemum cinerariifolium* (Trev.) Vis. TERHADAP JUMLAH MAKROFAG PADA TIKUS MODEL *Oral Squamous Cell Carcinoma* (OSCC)

SKRIPSI

Oleh :

NADYA DHARMAYANTI

NIM. 17910025



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2021**

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN *Chrysanthemum cinerariifolium* (Trev.) Vis. TERHADAP JUMLAH MAKROFAG PADA TIKUS MODEL *Oral Squamous Cell Carcinoma* (OSCC)

SKRIPSI

Oleh:

NADYA DHARMAYANTI

NIM. 17910025

Diajukan Kepada:

Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan

Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang

Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam Memperoleh

Gelar Sarjana Kedokteran (S.Ked)

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2021**

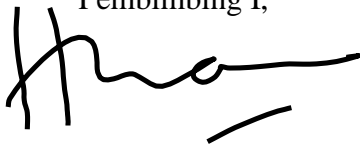
PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN *Chrysanthemum cinerariifolium* (Trev.) Vis. TERHADAP JUMLAH MAKROFAG PADA TIKUS MODEL *Oral Squamous cell Carcinoma* (OSCC)

SKRIPSI

Oleh :
NADYA DHARMAYANTI
NIM. 17910025

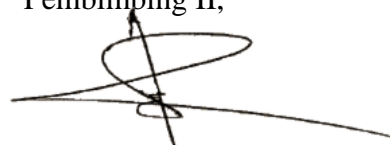
Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji :
Tanggal : 22 Juni 2021

Pembimbing I,



drg. Anik Listiyana, M. Biomed
NIP. 19800805 200912 2 001

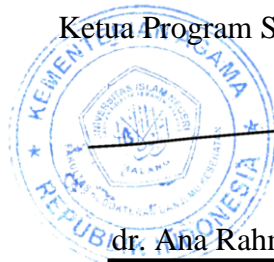
Pembimbing II,



Prof. Dr. dr. Bambang Pardjianto, Sp.B, Sp.BP-RE(K)
NIDT. 20161201 1 515

Mengetahui,

Ketua Program Studi Pendidikan Dokter



dr. Ana Rahmawati, M. Biomed
NIP. 19741203 200912 2 001

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN *Chrysanthemum cinerariifolium* (Trev.) Vis. TERHADAP JUMLAH MAKROFAG PADA TIKUS MODEL *Oral Squamous cell Carcinoma* (OSCC)

SKRIPSI



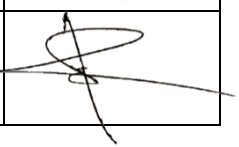
Oleh :

NADYA DHARMAYANTI

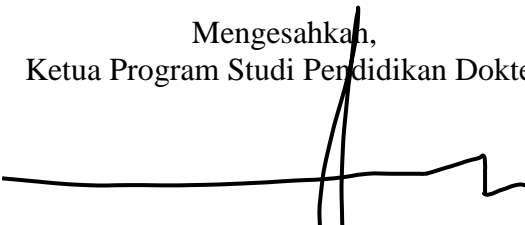
NIM. 17910025

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi dan Dinyatakan Diterima sebagai Salah Satu Persyaratan untuk Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran (S.Ked)

Tanggal: 25 Juni 2021

Penguji Utama	<u>dr. Alvi Milliana, M.Biomed</u> NIP. 19820404 201101 2 011	
Ketua Penguji	<u>drg. Anik Listiyana, M.Biomed</u> NIP. 19800805 200912 2 001	
Sekretaris Penguji	<u>Prof.Dr.dr.Bambang Pardjianto, Sp. B,Sp.BP-RE(K)</u> NIDT. 20161201 1 515	

Mengesahkan,
Ketua Program Studi Pendidikan Dokter


dr. Ana Rahmawati, M. Biomed
NIP. 19741203 200912 2 001

LEMBAR PERSEMBAHAN

Tulisan ini saya persembahkan untuk:

1. kedua orang tua tercinta Bapak Eko Adi Susanto dan Ibu Nurhayani. Terimakasih yang tiada tara atas kasih sayang yang tak terhingga, perjuangan yang tak kenal lelah, serta doa yang selalu dipanjatkan sehingga saya dapat menggapai cita-cita. Alhamdulillah atas berkah limpahan doanya, saya bisa menyelesaikan studi ini sesuai dengan harapan bapak dan ibu.
2. Kedua adik tercinta Amalia Kusuma Wardhani dan Mediana Sri Cendani Terima kasih atas doa dan semangat yang selalu dipanjatkan sehingga saya bisa menyelesaikan studi ini sesuai dengan harapan.
3. Sahabat-sahabat tercinta Hanun Shafira Qatrunnada, Rizka Mar'athus Sholihah dan Luthfia Asyda Almas terima kasih untuk doa dan support yang luar biasa, sampai saya bisa menyelesaikan skripsi ini dengan baik.

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Nadya Dharmayanti

NIM : 17910025

Program Studi : Pendidikan Dokter

Fakultas : Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan

menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-banar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 25 Juni 2021

Yang membuat pernyataan,



Nadya Dharmayanti

NIM. 17910025

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Syukur Alhamdulillah penulis haturkan kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan Rahmat dan Hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan studi di Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang sekaligus menyelesaikan proposal ini dengan baik.

Selanjutnya penulis haturkan ucapan terima kasih seiring do'a dan harapan *jazakumullah ahsanal jaza'* kepada semua pihak yang telah membantu terselesaikannya proposal ini. Ucapan terima kasih ini penulis sampaikan kepada:

1. Prof. Dr. H. Abd. Haris, M.Ag, selaku rektor UIN Maulana Malik Ibrahim Malang, yang telah banyak memberikan pengetahuan dan pengalaman yang berharga.
2. Prof. Dr. dr. Yuyun Yueniwati, M.Kes, Sp.Rad (K), selaku dekan Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. dr. Ana Rahmawati, M.Biomed, selaku ketua Program Studi Pendidikan Dokter FKIK UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. drg. Anik Listiyana, M.Biomed dan Prof. Dr. dr. Bambang Pardjianto, Sp.B, Sp.BP-RE (K) selaku dosen pembimbing skripsi, yang telah banyak memberikan pengarahan dan pengalaman yang berharga.
5. dr. Alvi Milliana, M.Biomed, selaku dosen penguji skripsi, yang telah banyak memberikan pengarahan dan masukan yang berharga.
6. Ayahanda dan Ibunda tercinta yang senantiasa memberikan do'a dan restunya kepada penulis dalam menuntut ilmu.
7. Semua pihak yang ikut membantu dalam menyelesaikan skripsi ini baik berupa materil maupun moril.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini masih terdapat kekurangan dan penulis berharap semoga proposal ini bisa memberikan manfaat kepada para pembaca khususnya bagi penulis secara pribadi. *Amin Ya Rabbal Alamin.*

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Malang, 21 Juni 2021

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
LEMBAR PERSEMBAHAN	iv
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	v
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
DAFTAR SINGKATAN.....	xiii
ABSTRAK	xvi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	6
1.3 Tujuan Penelitian	6
1.4 Manfaat Penelitian	6
1.4.1 Bagi Peneliti	6
1.4.2 Bagi Institusi	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	8
2.1 Karsinoma oral sel skuamosa.....	8
2.1.1 Definisi	8
2.1.2 Epidemiologi	8
2.1.3 Etiologi dan Faktor risiko	8
2.1.4 Patofisiologi	9
2.1.5 Manifestasi Klinis	10
2.2 <i>Chrysanthemum cinerariifolium</i>	10
2.2.1 Taksonomi.....	10
2.2.2 Morfologi	11
2.2.3 Manfaat dan Kandungan kimia	12

2.2.4	Flavonoid dan Derivatnya	12
2.2.5	Terpenoid	13
2.3	Makrofag	14
2.4	Hubungan <i>Chrysanthemum</i> terhadap makrofag pada OSCC	14
2.5	Kerangka teori	16
BAB III KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS.....		17
3.1	Kerangka Konsep Penelitian	17
3.2	Hipotesis Penelitian.....	18
BAB IV METODE PENELITIAN		19
4.1	Desain Penelitian	19
4.2	Tempat dan Waktu Penelitian.....	19
4.2.1	Tempat Penelitian.....	19
4.2.2	Waktu Penelitian	20
4.3	Populasi Penelitian	20
4.4	Sampel Penelitian	20
4.5	Kriteria Penelitian.....	21
4.5.1	Kriteria inklusi	21
4.5.2	Kriteria eksklusi	22
4.6	Variabel Penelitian	22
4.6.1	Variabel dependen.....	22
4.6.2	Variabel independen.....	22
4.7	Definisi Operasional.....	22
4.8	Alat dan Bahan.....	23
4.8.1	Alat – alat penelitian	23
4.8.2	Bahan penelitian.....	25
4.9	Prosedur Penelitian.....	26
4.9.1	Persiapan hewan coba	26
4.9.2	Pembuatan Na-CMC 0.5%	27
4.9.3	Pembuatan ekstrak daun <i>Chrysanthemum cinerariifolium</i>	27
4.9.4	Persiapan Dosis Ekstrak Daun <i>Chrysanthemum cinerariifolium</i> yang Dilarutkan Na-CMC.....	28

4.9.5	Perlakuan pada hewan coba	30
4.9.6	Pemeriksaan jumlah Ekspresi sel makrofag menggunakan Imunohistokimia	30
4.10	Alur Penelitian	33
4.11	Analisis Data	33
BAB V HASIL PENELITIAN		35
5.1	Gambaran Mikroskopis Makrofag CD68 Tikus Model <i>Oral Squamous cell Carcinoma (OSCC)</i>	35
5.2	Hasil Penghitungan Jumlah Makrofag CD68	35
BAB VI PEMBAHASAN.....		36
6.1	Gambaran Mikroskopis Makrofag CD68 Tikus Model <i>Oral Squamous cell Carcinoma (OSCC)</i>	36
6.2	Hasil Penghitungan Jumlah Makrofag CD68	36
6.3	Kajian Integrasi Islam	36
BAB VII KESIMPULAN DAN SARAN		40
7.1	Kesimpulan.....	40
7.2	Saran	40
DAFTAR PUSTAKA		41
DAFTAR LAMPIRAN		50

DAFTAR TABEL

- Tabel 2. 1. Faktor penyebab dari oral squamous cell carcinoma menurut *British Dental Association* (2000):..... 8
- Tabel 5. 1. Rerata jumlah sel makrofag tikus model OSCC (Mean±SD) **Error! Bookmark not defined.**
- Tabel 5. 2. Hasil uji lanjut *Post-Hoc Tukey* pada jumlah makrofag **Error! Bookmark not defined.**
- Tabel 6. 1. Lokasi dan fungsi populasi makrofag ..**Error! Bookmark not defined.**

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1. Perkembangan Histopatologi Mukosa.	10
Gambar 2. 2. Tanaman <i>Chrysanthemum cinerariifolium</i> (Trev.)Vis.	12
Gambar 2. 3. Struktur Dasar Flavonoid	13
Gambar 5. 1. Gambar lidah tikus yang dideterminasi. Error! Bookmark not defined.	
Gambar 5. 2. Gambar Makrofag CD68 pada kontrol positif dan negatif Error! Bookmark not defined.	
Gambar 5. 3. Gambar Makrofag CD68 pada perlakuan dosis 1 dan dosis 2. Error! Bookmark not defined.	
Gambar 5. 4. Gambar Makrofag CD68 pada kelompok perlakuan dosis 3 ... Error! Bookmark not defined.	
Gambar 5. 5. Rata-rata Jumlah Makrofag tiap Kelompok Perlakuan Error! Bookmark not defined.	

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Penghitungan Dosis dicampur dengan Na CMC.....	50
Lampiran 2. Hail Uji Statistik Jumlah Makrofag.....	53
Lampiran 3. Surat Keterangan Kelaikan Etik	55
Lampiran 4. Surat Determinasi Krisan.....	56
Lampiran 5. Dokumentasi Pelaksanaan Penelitian	57

DAFTAR SINGKATAN

APC	: <i>Antigen Presenting Cells</i>
Bcl-2	: <i>B-cell Lymphoma 2</i>
Bcl-xl	: <i>B-cell lymphoma-extra large</i>
Bax	: <i>Bcl-2 terkait dengan protein-X</i>
Bak	: <i>Bcl-2 homologous antagonist killer</i>
CCL-18	: <i>C-C Motif Chemokine Ligand 18</i>
CD68	: <i>Cluster of Differentiation 68</i>
CLP	: <i>Common Lymphoid Progenitor</i>
cm	: <i>Centimeter</i>
CMP	: <i>Collaborative Maintenance Pathway</i>
COX-2	: <i>Cyclooxygenase-2</i>
CTL	: <i>Cytotoxic T Lymphocyte</i>
DC	: <i>Dendritic Cell</i>
DMBA	: <i>7,12-dimethylbenz (α) anthracene</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic acid</i>
EGFR	: <i>Estimated Glomerular Filtration Rate</i>
g	: <i>gram</i>
GMP	: <i>Granulocyte Monocyte Precursor</i>
HIV	: <i>Human Immunodeficiency Virus</i>
HLA-G	: <i>Human Leukocyte Antigen G</i>
HPV	: <i>Human papillomavirus</i>
HSC	: <i>Hemopoietic Stem Cells</i>

H ₂ O ₂	: Hidrogen peroksida
IFN- γ	: <i>Interferon gamma</i>
IgG	: <i>Immunoglobulin G</i>
IKK	: <i>Inhibitor of nuclear factor Kappa-B Kinase</i>
JNK	: <i>c-Jun N-terminal Kinase</i>
IL	: <i>Interleukin</i>
m	: meter
MAF	: <i>Macrophage Activating Factor</i>
MAP Kinase	: <i>Mitogen Activated Protein Kinase</i>
MCP	: <i>Monocyte Chemoattractant Protein</i>
MEP	: <i>Megakaryocyte Erythrocyte Precursor</i>
ml	: mililiter
MMPs	: <i>Matrix metalloproteinases</i>
MPP	: <i>Multi-Progression Pathway</i>
NF- κ B	: <i>Nuclear Factor Kappa-B</i>
NK cell	: <i>Natural Killer Cell</i>
NO ₂	: Nitrogen dioksida
OSCC	: <i>Oral Squamous Cell Carcinoma</i>
PA	: Patologi anatomi
PI3K	: <i>Phosphoinositide 3-kinase</i>
p53	: <i>protein 53</i>
RNA	: <i>Ribonucleic acid</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
TAMs	: <i>Tumor-Associated Macrophage</i>

TGF- β : *Transforming Growth Factor Beta*
Th : *T helper*
TNF- α : *Tumor Necrosis Factor-Alfa*
VEGFA : *Vascular Endothelial Growth Factor A*
WHO : *World Health Organization*
 μm : *micrometer*

ABSTRAK

Dharmayanti, Nadya. 2021. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun *Chrysanthemum Cinerariifolium* (Trev.) Vis. Terhadap Jumlah Makrofag Pada Tikus Model *Oral Squamous Cell Carcinoma* (OSCC). Skripsi. Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

Pembimbing: (I) drg. Anik Listiyana, M. Biomed

(II) Prof.Dr.dr.Bambang Pardjianto, Sp.B, Sp.BP-RE(K)

Penyakit kanker bertanggung jawab atas kematian terbesar kedua secara global. Salah satu jenis kanker yang insidennya masih tinggi yaitu *Oral Squamous Cell Carcinoma* (OSCC) yang muncul sebagai akibat dari berbagai tahapan peristiwa yang menghasilkan populasi sel dengan sifat pertumbuhan yang tidak terkendali, yang menjadi asing atau imunogenik. Makrofag merupakan sel imun yang berperan dalam mengenali dan menghancurkan sel abnormal ini. Obat kemoterapi juga bersifat toksik pada sel lain yang mengalami pembelahan. Sehingga, dibutuhkan senyawa yang tidak menimbulkan potensi toksisitas terhadap sel tubuh yang normal. *Chrysanthemum cinerariifolium* (Trev.)Vis mengandung senyawa flavonoid yang memiliki aktivitas antikanker. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun *Chrysanthemum cinerariifolium* (Trev.)Vis. terhadap jumlah makrofag pada tikus model OSCC. Penelitian ini menggunakan 30 ekor tikus yang dibagi menjadi kelompok kontrol negatif, positif, perlakuan 1 (50 mg/kgBB), perlakuan 2 (100 mg/kgBB), perlakuan 3 (200 mg/kgBB). Lidah tikus yang telah dideterminasi dibuat preparat dengan pewarnaan immunohistokimia menggunakan *antibody primer CD68* dan dilihat jumlah makrofag menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400x dalam 10 lapang pandang. Hasil uji statistik didapatkan bahwa nilai signifikansi $p=0,001$ dan nilai uji lanjutan antara kelompok positif dengan ketiga perlakuan dosis $p=0,020$; $p=0,026$; $p=0,004$. Berdasarkan hasil tersebut, dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak daun *Chrysanthemum cinerariifolium* (Trev.)Vis. mampu menurunkan jumlah makrofag pada model tikus OSCC.

Kata Kunci: *Oral Squamous Cell Carcinoma* (OSCC), makrofag, *Chrysanthemum Cinerariifolium* (Trev.) Vis., tikus *Sprague Dawley*

ABSTRACT

Dharmayanti, Nadya. 2021. The Effect of Extract *Chrysanthemum Cinerariifolium (Trev.)Vis.* Leaves on the amount of Macrophages in *Oral Squamous Cell Carcinoma (OSCC)* Model of Rats . Thesis. Medical Education Study Program, Faculty of Medicine and Health Sciences, State Islamic University of Maulana Malik Ibrahim Malang.

Pembimbing: (I) drg. Anik Listiyana, M. Biomed

(II) Prof.Dr.dr.Bambang Pardjianto, Sp.B, Sp.BP-RE(K)

Cancer is responsible for the second largest number of deaths globally. One type of cancer which incidence is still high is *Oral Squamous Cell Carcinoma (OSCC)* which appears as a result of various stages of events that produce a population of cells with uncontrolled growth properties, which become foreign or immunogenic. Macrophages are immune cells that play a role in recognizing and destroying these abnormal cells. Chemotherapy drugs are also toxic to other cells undergoing division. Thus, compounds that do not cause potential toxicity to normal body cells are needed. *Chrysanthemum cinerariifolium (Trev.)Vis* contains flavonoid compounds which have anticancer activity. The purpose of this study was to determine the effect of leaf extract of *Chrysanthemum cinerariifolium (Trev.)Vis.* on the number of macrophages in the OSCC model mouse. This study used 30 rats which were divided into negative, positive control groups, treatment 1 (50 mg/kgBB), treatment 2 (100 mg/kgBB), treatment 3 (200 mg/kgBB). The tongues of the determined mice were made preparations by immunohistochemical staining using CD68 primary antibody and seen the number of macrophages using a microscope with a magnification of 400x in 10 fields of view. The results of the statistical test showed that the significance value was $p=0,001$ and the follow-up test value between the positive group and the three treatments was $p=0,020$; $p=0,026$; $p=0,004$. Based on these results, it can be concluded that the administration of leaf extract was *Chrysanthemum cinerariifolium (Trev.)Vis.* able to reduce the number of macrophages in the OSCC mouse model.

Keywords: *Oral Squamous Cell Carcinoma (OSCC)*, macrophages, *Chrysanthemum Cinerariifolium (Trev.) Vis.*, *Sprague Dawley*

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit kanker masih menjadi salah satu penyakit tidak menular yang bertanggung jawab atas penyebab kematian terbesar kedua secara global yaitu 9,6 juta kematian pada tahun 2018. Sekitar 70% kematian yang disebabkan oleh penyakit kanker terjadi di negara berpenghasilan rendah dan menengah (WHO, 2018). Di Indonesia penyakit kanker masih menjadi permasalahan kesehatan yang cukup serius dimana menurut data Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) tahun 2018 menunjukkan bahwa angka kejadian kanker meningkat dalam lima tahun terakhir dengan prevalensi 1,4 per 1000 penduduk pada tahun 2013 menjadi 1,79 per 1000 penduduk pada tahun 2018. Hal ini menempatkan Indonesia berada di posisi ke-23 di Asia dan posisi ke-8 di Asia Tenggara untuk kasus kejadian penyakit kanker (Kemenkes RI, 2019).

Salah satu jenis kanker yang insiden kejadiannya masih cukup tinggi yaitu kanker mulut, dimana kanker ini merupakan salah satu dari 10 jenis kanker yang paling sering terjadi di dunia (Rivera, 2015). Pada tahun 2018 prevalensinya diperkirakan mencapai 354.865 kasus baru dengan kematian mencapai 177.384 di seluruh dunia (Bray *et al.*, 2018). Di Indonesia, kanker pada bibir dan rongga mulut telah menimbulkan 2.326 kematian dan berada pada posisi ke 16 jenis kanker yang paling banyak menimbulkan kasus kematian (*The Global Cancer Observatory*, 2019). Lebih dari 90-95% kasusnya yaitu jenis *squamous cell carcinoma* yang berasal dari epitel mukosa pada rongga mulut atau yang biasa dikenal dengan *Oral Squamous Cell Carcinoma* (OSCC) (King and Robins, 2006).

Seperti halnya jenis kanker lain OSCC muncul sebagai akibat dari berbagai tahapan peristiwa yang melibatkan akumulasi perubahan genetik dan epigenetik pada onkogen dan gen supresor tumor (Chia *et al.*, 2018) sehingga mengakibatkan hilangnya kontrol pertumbuhan sel yang menghasilkan populasi sel dengan sifat pertumbuhan yang tidak terkendali, yang menjadi asing atau imunogenik. Pada fase ini sistem imun berperan mengenali dan menghancurkan sel-sel abnormal ini. Sel-sel imunokompeten yang sangat berperan pada imunitas terhadap keganasan ini diantaranya yaitu limfosit T sitotoksik (CTL), NK sel, Makrofag dan limfosit B. Makrofag berperan sebagai APC sekaligus memakan sel tumor dan produk-produk yang dihasilkan sel tumor (Sawitri *et al.*, 2009). Kemampuan untuk berikatan dengan sel tumor terjadi karena sel makrofag memiliki reseptor Fc dari IgG, sehingga dapat bekerja sama dengan IgG dalam melisiskan sel tumor (Kresno, 2008). Interaksi antara makrofag dengan sel tumor menyebabkan pelepasan sitokin antitumor yaitu IL-12, TNF- α dan molekul litik yaitu nitrogen dioksida (NO₂) yang mengawali apoptosis (Sawitri *et al.*, 2009). Jadi makrofag dapat berfungsi sebagai inisiator dan efektor imun terhadap tumor (Abbas *et al.*, 2016). Namun ada kalanya tumor mampu menghindari melalui berbagai mekanisme, sehingga berakibat tumor dapat berkembang karena berhasil menghindari dari penghancuran oleh sel imun (Kresno, 2008).

OSCC memiliki risiko yang tinggi terhadap kekambuhan (Wu *et al.*, 2020) dan sering kali terlambat terdeteksi ketika sudah memasuki stadium lanjut sehingga memiliki prognosis yang buruk (Rivera, 2015). Saat ini, strategi terapi yang tersedia untuk mengatasi OSCC meliputi eksisi neoplasma dan kombinasi radioterapi-kemoterapi. Meskipun saat ini telah terdapat beberapa strategi terapi

OSCC, akan tetapi tingkat kelangsungan hidup lima tahun (*five-year survival rate*) pasien OSCC hanya 53% (Parkin, 2005). Selain itu, persentase pasien yang memiliki respon buruk terhadap terapi cukup tinggi (Bettendorf, 2004). Hal ini menandakan bahwa proses pencegahan terjadinya OSCC memiliki peranan yang sangat penting dan signifikan untuk menurunkan mortalitas dan morbiditas yang disebabkan oleh OSCC. Obat-obatan kemoterapi memiliki tingkat toksisitas yang tinggi, sebab obat-obatan kemoterapi tidak hanya membunuh sel kanker saja, akan tetapi membunuh sel-sel lain dalam tubuh yang mengalami pembelahan (Harvey & Champe, 2004). Oleh karena itu, dibutuhkan suatu senyawa spesifik yang tidak menimbulkan potensi toksisitas terhadap sel tubuh yang normal.

Saat ini pengobatan tradisional menggunakan bahan-bahan alami dapat menjadi pilihan alternatif. Banyak studi yang telah dilakukan guna melihat proses pencegahan melalui kemopreventif dalam mengurangi morbiditas dan kematian (Tanaka and Ishigamori, 2011). Sehingga saat ini banyak penelitian yang mengembangkan kemopreventif yang berbasis pada tren gaya hidup yang bersumber dari bahan–bahan alami.

Salah satu tumbuhan yang sudah sering secara luas digunakan sebagai obat tradisional dan mempunyai banyak manfaat adalah tanaman krisan putih (*Chrysanthemum cinerariifolium* (Trev.)Vis.) yaitu tanaman herbal yang termasuk dalam genus *Chrysanthemum* dan famili *Asteraceae* (Boutaghane *et al.*, 2013). *Chrysanthemum* merupakan salah satu bunga potong yang paling populer didunia dan merupakan salah satu dari 10 bunga yang paling populer digunakan sebagai obat tradisional di Cina (Irawati, 2018).

Tren gaya hidup “*back to nature*” di kalangan masyarakat telah kembali membawa masyarakat untuk memanfaatkan bahan alami atau tanaman herbal sebagai alternatif pengobatan (Wijayakusuma, 2008). Sebagian besar masyarakat lebih memilih menggunakan suatu produk yang berasal dari bahan alami karena lebih mudah didapatkan. Hingga saat ini pun tanaman herbal juga telah banyak digunakan dalam bidang medis maupun kesehatan. Tanaman herbal sendiri dapat diartikan sebagai tanaman yang mengandung senyawa kimia alami yang memiliki efek farmakologis dan bioaktivitas penting terhadap penyakit (Suryanto and Setiawan, 2013).

Badan kesehatan dunia yaitu WHO (*World Health Organization*) bahkan telah menunjukkan kepeduliannya tentang perkembangan dan pengembangan pengobatan tradisional dengan merekomendasikan penggunaan obat tradisional termasuk obat herbal dalam pemeliharaan kesehatan masyarakat, pencegahan dan pengobatan penyakit terutama untuk penyakit kronis, penyakit degeneratif dan kanker (Agustina, 2016). Selain itu WHO juga menunjukkan dukungannya dengan mengeluarkan sebuah buku panduan umum penelitian bagi pengobatan tradisional yaitu *General Guidelines for Methodologies of Research and Evaluation of Traditional Medicine*. Dalam buku panduan ini, dikemukakan metodologi penelitian dan evaluasi penelitian terhadap jenis pengobatan tradisional. Sementara jenis pengobatan alternatif yang dikembangkan dan dijadikan kajiannya, dikelompokkan menjadi dua jenis, yaitu pengobatan berdasarkan herbal dan terapi yang berdasarkan prosedur tradisional, yang termasuk ke dalam pengobatan alternatif herbal, yaitu penggunaan bahan asli tanaman seperti bunga, buah-buahan, akar, atau bagian lain dari tumbuhan yang

digunakan untuk pengobatan. Pengolahan herbal (*herbal preparation*) yaitu pengolahan tumbuhan dilandaskan pada produk tumbuhan yang sudah diselesaikan, atau beberapa produk pengolahan tanaman hasil dari ekstraksi, pelarutan fraksianisasi, purifikasi, konsentrasi atau proses pengolahan fisikawi (Effendi, 2013).

Dengan demikian pemanfaatan tanaman herbal sebagai obat tentu perlu terus digali, diteliti, dikembangkan dan dioptimalkan pemanfaatannya.

Sebagaimana firman Allah *Subhanahu Wa Ta'ala* yang dijelaskan dalam surat Thaha ayat 53:

الَّذِي جَعَلَ لَكُمُ الْأَرْضَ مَهْدًا وَسَوَّلَ لَكُمْ فِيهَا سُبُلًا وَأَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَخَرَجْنَا بِهِ أَزْوَاجًا مِّنْ ثَبَاتٍ شَتَّى (طه: ٥٣)

Artinya : (Tuhan) yang telah menjadikan bumi sebagai hamparan bagimu, dan menjadikan jalan-jalan di atasnya bagimu, dan yang menurunkan air (hujan) dari langit. “Kemudian Kami tumbuhkan dengannya (air hujan ini) berjenis-jenis aneka macam tumbuh-tumbuhan.” (Thaha Ayat 53. Al Quran Al-Jumanatul ‘Ali, 2005).

Ayat ini menjelaskan bahwa Allah SWT telah menjadikan bumi hamparan seperti permadani yang menjadikan kehidupan manusia mudah, tenang, dan nyaman. Kemudian Allah menurunkan hujan dari langit, serta mengeluarkan keanekaragaman tumbuhan dan buah yang memiliki rasa, warna, dan aroma yang beragam bagi manusia dan hewan sehingga ini dapat menjadi tanda-tanda kebesaran Allah SWT bagi manusia yang berakal (Az-Zuhaili, 2013).

Sudah banyak penelitian yang membuktikan bahwa *Chrysanthemum* mengandung senyawa flavonoid yang memiliki hubungan dengan aktivitas antikanker (Choi *et al.*, 2007; Tanaka *et al.*, 2011). Flavonoid sendiri merupakan senyawa yang telah terbukti dapat menghambat proliferasi beberapa sel kanker

termasuk pada OSCC (Pan *et al.*, 2011). Dalam suatu penelitian yang dilakukan baru-baru ini juga dilaporkan bahwa ekstrak daun *Chrysanthemum cinerariifolium* yang terkandung senyawa flavonoid dapat menginduksi apoptosis sel kanker payudara T47D (Mutiah *et al.*, 2020).

Berdasarkan ayat diatas dapat dipahami bahwa Allah SWT telah memberikan karunia kekayaan hayati kepada manusia dalam hal ini khususnya Indonesia. Dimana Indonesia menduduki urutan kedua atas kekayaan ragam hayati di dunia setelah Brazil. Diperkirakan ada sekitar 30.000 spesies yang hidup di kepulauan Indonesia dan 300 spesies diantaranya telah digunakan oleh industri obat tradisional sebagai bahan dasar untuk obat tradisional (Depkes RI, 2007). Keanekaragaman ini tentu diharapkan dapat digali, dimanfaatkan dan dikembangkan oleh manusia secara optimal.

Berdasarkan uraian diatas maka penulis tertarik melakukan penelitian tentang pengaruh pemberian ekstrak daun *Chrysanthemum cinerariifolium* (Trev.) Vis. terhadap jumlah makrofag pada tikus model Oral Squamous Cell Carcinoma (OSCC).

1.2 Rumusan Masalah

Apakah pemberian ekstrak daun *Chrysanthemum cinerariifolium* (Trev.) Vis. berpengaruh terhadap jumlah makrofag pada tikus model OSCC ?

1.3 Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun *Chrysanthemum cinerariifolium* (Trev.) Vis. terhadap jumlah makrofag pada tikus model OSCC.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Bagi Peneliti

1. Peneliti mampu menerapkan ilmu pengetahuan yang telah diperoleh selama masa perkuliahan. Serta peneliti mampu berlatih untuk berpikir kritis dan memperoleh pengalaman dalam melakukan sebuah penelitian dengan metodologi yang tepat dan melakukan analisis hasil penelitian.
2. Peneliti mendapatkan ilmu pengetahuan tambahan tentang pengaruh pemberian ekstrak daun *Chrysanthemum cinerariifolium* (Trev.) Vis. terhadap jumlah makrofag pada tikus model OSCC.

1.4.2 Bagi Institusi

Penelitian ini diharapkan dapat digunakan untuk menambah referensi sebagai bahan penelitian lanjutan tentang pengaruh pemberian ekstrak daun *Chrysanthemum cinerariifolium* (Trev.) Vis. terhadap jumlah makrofag pada tikus model OSCC yang lebih mendalam pada masa yang akan datang.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Karsinoma oral sel skuamosa

2.1.1 Definisi

Neoplasma ini merupakan jenis neoplasma non melanoma kedua terbanyak setelah karsinoma sel basal (Kallini *et al.*, 2015). Konsumsi alkohol dan merokok jangka panjang merupakan faktor risiko yang menyebabkan 90% kejadian OSCC (Givony, 2020).

2.1.2 Epidemiologi

OSCC merupakan jenis kanker mulut yang terjadi sebesar 95% kasus (Indah *et al.*, 2015) yang termasuk dalam urutan ke-6 keganasan mulut paling sering terjadi (Givony, 2020). Dibandingkan wanita, pria lebih sering mengalami OSCC dengan perbandingan 1,5:1 yang disebabkan oleh risiko kebiasaan yaitu konsumsi alkohol dan merokok jangka panjang (Israyani *et al.*, 2019).

2.1.3 Etiologi dan Faktor risiko

Konsumsi alkohol dan rokok jangka panjang merupakan faktor risiko terbesar penyebab 90% kasus oral karsinoma sel skuamosa (Rivera, 2015).

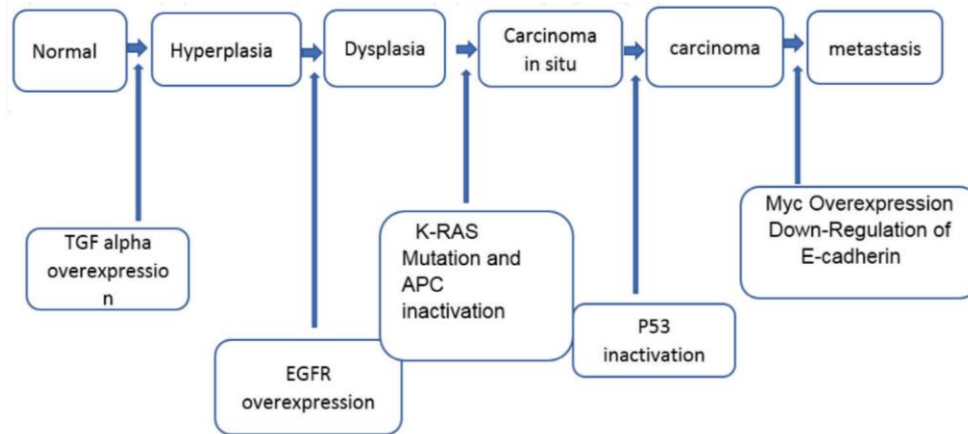
Tabel 2. 1. Faktor penyebab dari oral squamous cell carcinoma menurut *British Dental Association* (2000):

Faktor risiko yang telah ditetapkan	Merokok/ tembakau – rokok, cerutu, pipes, bidis
	<i>Smokeless tobacco</i> – mengunyah tembakau atau produk yang tidak terbakar lainnya.
	Mengunyah <i>betel quid/paan/gutkha</i>
	Konsumsi alkohol yang tinggi (sinergis dengan tembakau)
	Adanya keadaan yang berpotensi <i>malignant</i>

	Adanya riwayat kanker rongga mulut
	Paparan sinar matahari berlebih atau radiasi (untuk kanker pada bibir)
	Usia dikaitkan dengan faktor risiko lainnya
Faktor risiko lainnya	Kurangnya konsumsi buah segar dan sayur
	Infeksi virus misalnya <i>human papillomaviruses</i> (HPVs)
	Penyakit yang dapat menekan sistem imun
	Minum <i>mate</i>
	Sepsis kronik dalam mulut

2.1.4 Patofisiologi

Patofisiologi terjadinya OSCC dimulai akibat dari berbagai tahapan peristiwa kombinasi paparan karsinogen lingkungan dan predisposisi genetik individu. Paparan karsinogen seperti tembakau (rokok), alkohol dan virus onkogen dalam jangka waktu yang lama dapat menyebabkan kerusakan gen yang meliputi akumulasi perubahan genetik dan epigenetik pada onkogen dan gen supresor tumor yang akan mendorong berkembang lesi premaligna dan karsinoma invasif. Kerusakan inilah yang nantinya akan menyebabkan perubahan genetik berupa aktivitas mutasi titik atau amplifikasi, *rearrangements*, dan delesi (Choi and Myers, 2008; Li *et al.*, 2018). Akibatnya akan terjadi pertumbuhan tumor yang mandiri dan otonom sehingga tidak terkendali akibat menghindari sinyal penghambat pertumbuhan. pertumbuhan sel yang selanjutnya akan menghasilkan onkoprotein yang nantinya akan diklasifikasikan berdasarkan perannya (Williams, 2000; Maggioni *et al.*, 2011; Jain, 2020).



Gambar 2. 1. Perkembangan Histopatologi Mukosa yang didorong oleh Aktivitas Onkogen dan Onkoprotein (sumber: Jain, 2009).

2.1.5 Manifestasi Klinis

Menurut Neville *et al.* (2002) *squamous cell carcinoma* memiliki beragam gambaran klinis yaitu:

- a. *Exophytic* (pembentuk massa)
- b. *Endophytic* (berlubang dan ulserasi)
- c. *Leukoplakia* (bercak putih)
- d. *Erythroplakia* (bercak merah)
- e. *Erythroleukoplakia* (kombinasi bercak merah dan putih)

2.2 *Chrysanthemum cinerariifolium*

2.2.1 Taksonomi

Chrysanthemum merupakan tanaman famili *Asteraceae* yang dikenal dengan nama tanaman krisan. Bunganya dikenal indah serta memiliki berbagai bentuk, ukuran dan warna. Tanaman ini disamping dimanfaatkan sebagai tanaman hias juga dimanfaatkan sebagai insektisida dan obat-obatan. Salah satu jenis yang

sering dimanfaatkan sebagai obat tradisional oleh masyarakat adalah tanaman krisan putih (*Chrysanthemum cinerariifolium*) (Kalia *et al.*, 2016).

Kingdom : *Plantae*

Sub-kingdom : *Tracheobionta*

Super divisi : *Spermatophyta*

Divisi : *Magnoliophyta*

Kelas : *Magnoliopsida*

Subkelas : *Asteridae*

Ordo : *Asterales*

Famili : *Asteraceae*

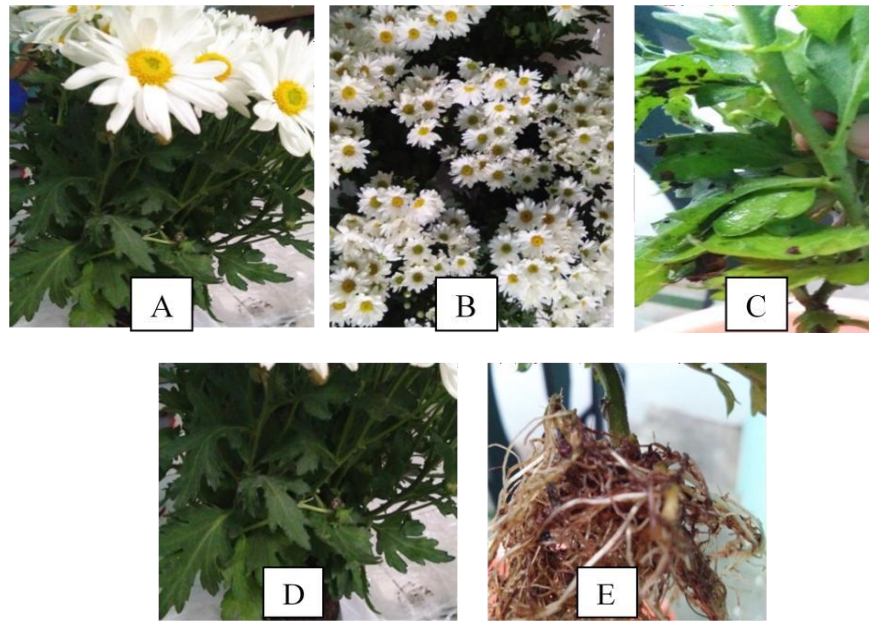
Genus : *Chrysanthemum*

Spesies : *Chrysanthemum cinerariifolium* (Trevor) Vis.

(ITIS, 2020)

2.2.2 Morfologi

Chrysanthemum cinerariifolium atau tanaman krisan putih merupakan tumbuhan yang memiliki bunga berwarna putih dengan bagian tengah berwarna kuning dan termasuk dalam genus yang tumbuh di Kenya. Batangnya kaku serta memiliki daun berwarna hijau kebiruan yang dapat tumbuh sampai setinggi sekitar 46-100 cm (Otieno *et al.*, 2020).



Gambar 2. 2. Tanaman *Chrysanthemum cinerariifolium* (Trev.); A. Tanaman *C. cinerariifolium*; B. Bunga *C. cinerariifolium*; C. Batang *C. cinerariifolium*; D. Daun *C. cinerariifolium*; E. Akar *C. cinerariifolium*

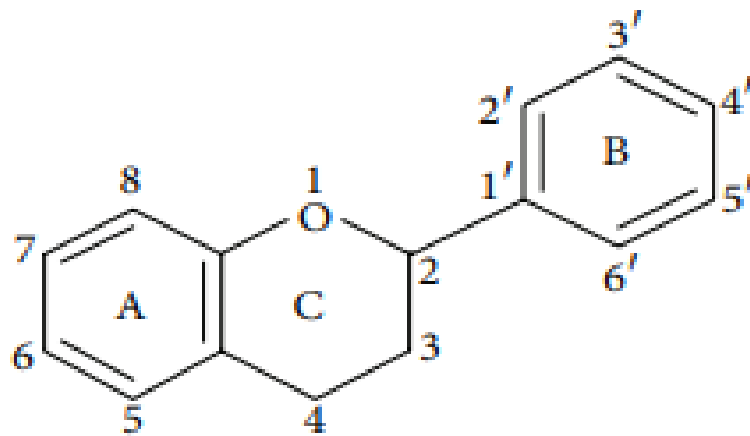
2.2.3 Manfaat dan Kandungan kimia

Chrysanthemum cinerariifolium dikenal sebagai tanaman hias dimasyarakat (Prihatman, 2000) yang juga dimanfaatkan sebagai obat-obatan alternatif yang dapat mengobati flu dan batuk, detoksifikasi, meredakan sakit kepala yang disebabkan oleh sinusitis, mengatur tekanan darah, meningkatkan penglihatan (Lin and Harnly, 2010), mengurangi kelemahan otot jantung, menurunkan efek aritmia akibat iskemia, menghambat aktivitas enzim HIV-1 integrase dan aldose reduktase (Xie *et al.*, 2009). Selain itu memiliki efek seperti antibakteri, antiradang dan anti kanker (Grdiša *et al.*, 2009).

2.2.4 Flavonoid dan Derivatnya

Flavonoid merupakan senyawa polifenol yang umum ditemukan pada buah-buahan, sayuran, biji-bijian, kulit sayur, bunga, batang akar yang memiliki struktur *benzo- γ -piron* dengan struktur fenolik (Kumar and Pandey, 2013; Panche

et al., 2016) dengan struktur dasar berupa cincin C6-C3-C6 dengan variasi pola substitusi. Flavonoid disintesis dari turunan asam asetat atau fenilalanin melalui jalur asam shikimat (Tian *et al.*, 2017) yang memiliki variasi pola substitusi. Flavonoid dapat diklasifikasikan ke dalam subkelas yang berbeda sehingga flavonoid memiliki kisaran turunan yang sangat beragam seperti flavon (flavon, apigenin, dan luteolin), flavonol (quercetin, kaempferol, myricetin, dan fisetin), flavanon (flavanon, hesperetin, dan naringenin) dan lainnya (Kumar and Pandey, 2013).



Gambar 2. 3. Struktur Dasar Flavonoid (sumber: Kumar & Pande, 2013)

2.2.5 Terpenoid

Terpenoid merupakan senyawa kelas terpen yang dimodifikasi dengan gugus fungsi berbeda dan gugus metil teroksidasi yang dipindahkan atau dihilangkan pada berbagai posisi (Perveen, 2018) yang merupakan jenis senyawa alami terbesar dan beragam juga dikenal sebagai isoprenoid (Cox-Georgian *et al.*, 2019) yang sebagian besar terpenoid berasal dari tumbuhan namun juga disintesis oleh organisme lain seperti bakteri dan ragi sebagai bagian dari metabolisme primer atau sekunder.

2.3 Makrofag

Makrofag merupakan sel yang berukuran 15-80 μm , mononukleus memanjang atau oval, berumur panjang sekitar 2-4 bulan. Makrofag terbentuk dari *hematopoietic stem cell* (HSC) melalui proses hematopoiesis, kemudian HSC akan menghasilkan progenitor awal yang disebut *multipotent progenitor* (MPP) yang kemudian akan menghasilkan tiga sel prekursor yaitu *common myeloid progenitor* (CMP), *common lymphoid progenitor* (CLP), dan *mast cell progenitor* (MCP). CMP kemudian akan menghasilkan dua jenis sel progenitor yaitu *granulocyte/monocyte precursor* (GMP) dan MEP. GMP inilah yang akan menghasilkan sel neutrofil, basofil, eosinofil, DC, dan monosit. Monosit kemudian akan menghasilkan makrofag (Mak, Saunders and Jett, 2014). Marker dari ekspresi makrofag yang diidentifikasi pada jaringan manusia yaitu CD68 (Nucera, Biziato and de Palma, 2011).

2.4 Hubungan *Chrysanthemum* terhadap makrofag pada OSCC

Makrofag berperan sebagai APC sekaligus memakan sel tumor dan produk-produk yang dihasilkan sel tumor. Selain berperan untuk mempresentasikan antigen tumor kepada CTL, makrofag juga penting dalam menginduksi respon sel Th (CD4) dan sel NK. Interaksi antara makrofag dengan sel tumor menyebabkan pelepasan sitokin antitumor yaitu IL-12, TNF- α dan molekul litik yaitu nitrogen dioksida (NO_2).

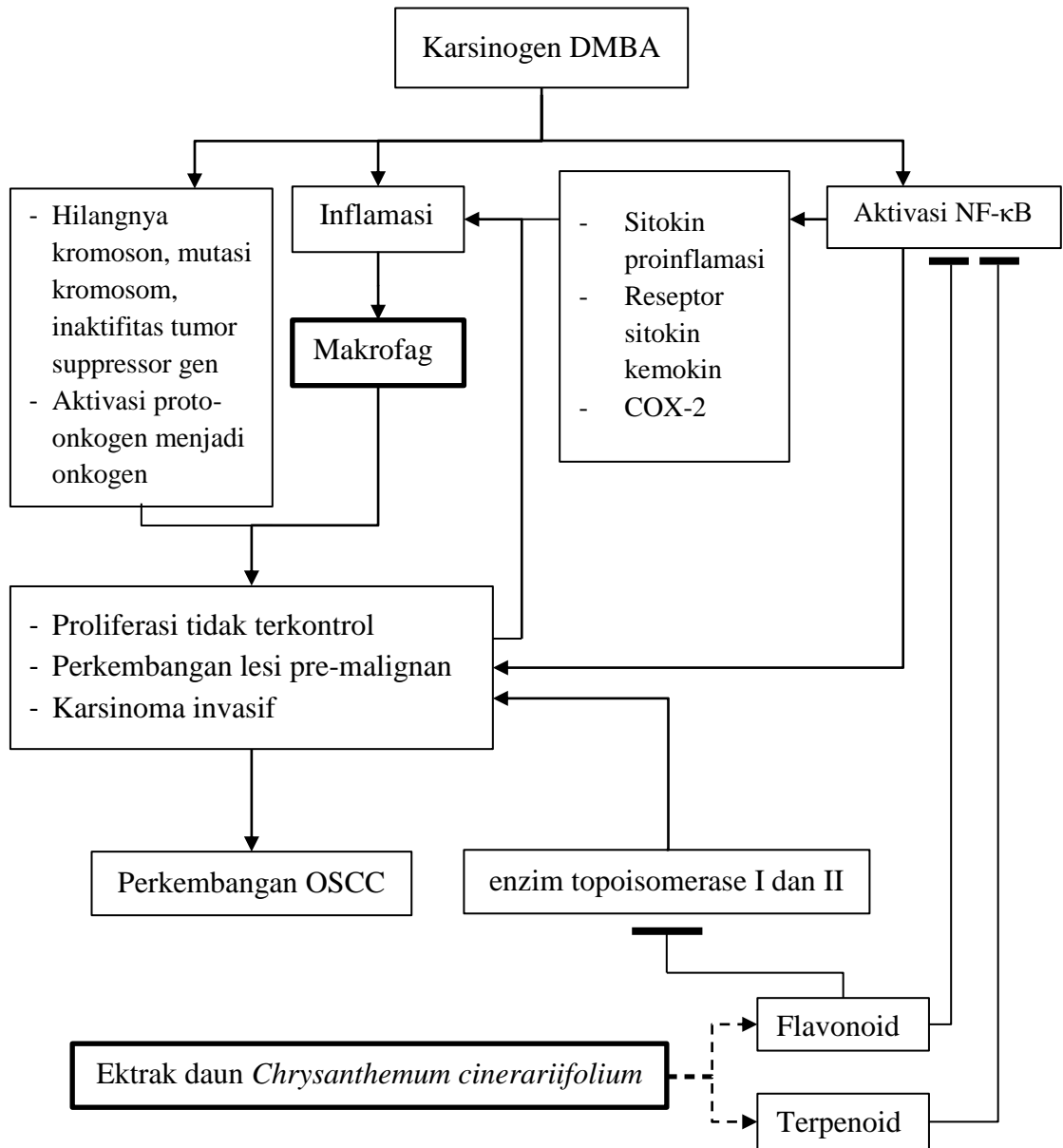
Makrofag dapat memakan dan mencerna sel tumor dan mempresentasikannya ke sel CD4^+ . Jadi makrofag dapat berfungsi sebagai inisiator dan efektor imun terhadap tumor (Abbas *et al.*, 2016). Seiring fase

perjalanan suatu penyakit jumlah monosit-makrofag juga semakin bertambah banyak (Sarihati, 2017).

Selain itu, ada kalanya tumor mampu menghindari serangan dari sel NK dan CIL, sel-sel tumor upregulasi molekul permukaan tertentu seperti B7-H dan HLAG, mengatur molekul-molekul permukaan lainnya seperti MHC kelas I dan Fas, dan menyingkirkan molekul-molekul lainnya seperti *Macrophage Inhibitor Cytokines* (MCI). Sehingga berakibat tumor dapat berkembang karena berhasil menghindar dari penghancuran oleh sel imun (Kresno, 2008).

Flavonoid termasuk ke dalam senyawa polifenol, metabolit sekunder dari tanaman dan memiliki aktivitas sebagai antikanker. Flavonoid mengandung kuersetin yang berasal dari subkelas flavonol. Kuersetin, genistein atau flavopiridol dapat dijadikan sebagai bahan untuk obat kanker (Ravishankar *et al.*, 2013).

2.5 Kerangka teori



Keterangan :

Variabel yang diteliti :

Variabel yang tidak diteliti :

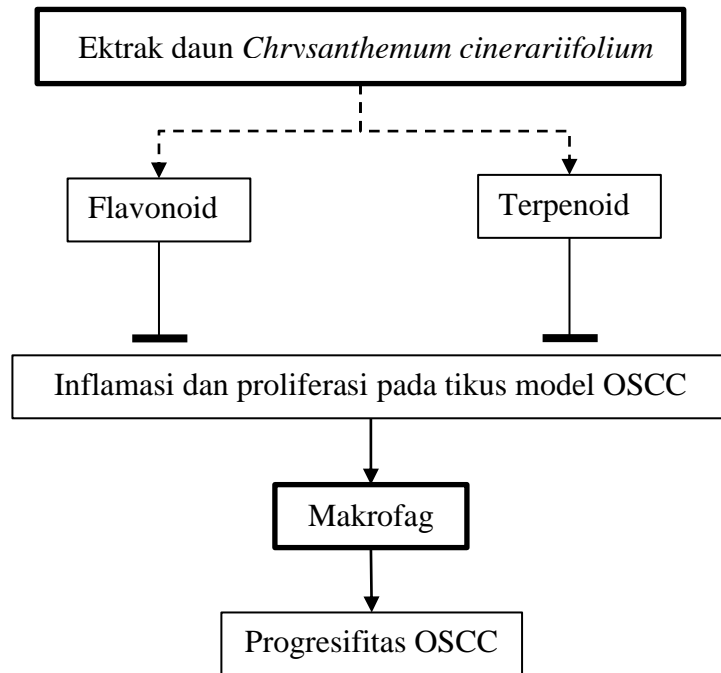
Mengandung : - - - - ->

Memicu : ———>

Menghambat : ———|

BAB III KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

3.1 Kerangka Konsep Penelitian



Keterangan:

1. Variabel independen : Ekstrak daun *Chrysanthemum cinerariifolium*
2. Variabel dependen : Jumlah makrofag
3. Variabel perancu : Infeksi atau inflamasi civitas oral pada hewan coba

Pada ekstrak daun *Chrysanthemum cinerariifolium* yang mengandung senyawa flavonoid dan terpenoid diharapkan dapat menekan jumlah makrofag sebagai faktor proinflamasi yang mudah dicetuskan dengan adanya infeksi lokal maupun sistemik yang dapat mempercepat progresivitas *oral squamous cell carcinoma*. Oleh karena itu, adanya infeksi lokal pada lidah hewan coba dapat mempengaruhi jumlah makrofag sehingga dapat membiaskan hasil.

3.2 Hipotesis Penelitian

H₀ : Pemberian ekstrak daun *Chrysanthemum cinerariifolium* tidak dapat menurunkan jumlah makrofag pada *Oral squamous cell carcinoma*.

H₁ : Pemberian ekstrak daun *Chrysanthemum cinerariifolium* dapat menurunkan jumlah makrofag pada *Oral squamous cell carcinoma*.

BAB IV METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini yaitu *true experimental post test only control group design* yang bertujuan untuk membandingkan dan menganalisa beberapa kelompok perlakuan. Penelitian ini adalah penelitian kuantitatif eksperimental yang dilakukan di laboratorium untuk mengetahui aktivitas daun *Chrysanthemum cinerariifolium* terhadap penurunan jumlah makrofag pada tikus jenis *Sprague Dawley* jantan yang akan dibuat model OSCC dengan induksi DMBA.

Terdapat dua kelompok perlakuan pada penelitian ini yaitu kelompok yang diberi ekstrak daun *Chrysanthemum cinerariifolium* dengan dosis 50 mg/kgBB, 100 mg/kgBB, dan 200 mg/kgBB dan kelompok kontrol yang terdiri dari kontrol positif yaitu kelompok hewan coba yang diinduksi DMBA tetapi tidak diberikan ekstrak daun *Chrysanthemum cinerariifolium* dan kontrol negatif yaitu kelompok hewan coba yang tidak diinduksi DMBA dan tidak diberi terapi ekstrak.

4.2 Tempat dan Waktu Penelitian

4.2.1 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di laboratorium Fisio-Farmako Program Studi Pendidikan Dokter UIN Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembuatan preparat patologi anatomi dilakukan di laboratorium PA RSUD dr Soetomo Surabaya, Pemeriksaan imunohistokimia dilakukan di laboratorium Patologi Anatomi Universitas Brawijaya dan penghitungan jumlah makrofag dilakukan di

Laboratorium Histologi Patologi Anatomi Program Studi Pendidikan Dokter UIN
Malana Malik Ibrahim Malang.

4.2.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Januari 2021 – Februari 2021.

4.3 Populasi Penelitian

Populasi yang digunakan pada penelitian ini yaitu tikus jenis *Sprague Dawley* jantan dengan berat 80-160 gram yang berumur 2-3 bulan.

4.4 Sampel Penelitian

Menggunakan rumus *Fereder*, estimasi besar sampel pada penelitian ini yaitu:

$$(t-1) (n-1) \geq 15$$

Keterangan :

$$(5-1) (n-1) \geq 15$$

t = jumlah kelompok control dan perlakuan

$$(n-1) \geq 15/4$$

n = jumlah sampel

$$n \geq 3.75 + 1$$

$$n \geq 4.75 \sim 5$$

Dari hasil perhitungan didapatkan besar sampel yang digunakan pada setiap kelompok perlakuan yaitu 5. Untuk menghindari adanya hewan coba yang mati, menghilang dan lain sebagainya (*drop out*) maka dihitung faktor koreksi menggunakan rumus (Sastroasmoro and Ismael, 2011):

$$n' = (n/1-f)$$

Keterangan :

$$n' = (5/1-0.1)$$

n' = besar sampel terkoreksi

$$n' = 5/0.9$$

n = besar sampel minimum

$$n' = 5.5 \sim 6$$

f = perkiraan proporsi *drop out* 10% (f = 0.1)

Sehingga didapatkan hasil bahwa setiap kelompok perlakuan berjumlah 6 yang berarti total sampel dalam penelitian ini yaitu 30 hewan coba.

Pada penelitian ini hewan coba pada tiap kelompok terdiri dari hewan coba yang dirandomisasi yang berjumlah 6 ekor dan dibagi menjadi 5 kelompok yang terdiri atas 3 kelompok perlakuan, kelompok kontrol(+), dan kelompok kontrol(-). 5 kelompok tersebut terdiri atas:

1. Kelompok kontrol negatif (-)

Kelompok hewan coba yang tidak diinduksi DMBA dan tidak diberi ekstrak daun *Chrysanthemum cinerariifolium*

2. Kelompok kontrol positif (+)

Kelompok hewan coba yang diinduksi DMBA tetapi tidak diberi ekstrak daun *Chrysanthemum cinerariifolium*

3. Kelompok perlakuan

Kelompok hewan coba yang diinduksi DMBA dan diberi ekstrak daun *Chrysanthemum cinerariifolium* dengan dosis 50 mg/kgBB pada kelompok perlakuan 1, dosis 100 mg/kgBB pada kelompok perlakuan 2, dan dosis 200 mg/kgBB pada kelompok perlakuan 3 (Kim *et al.*, 2011).

4.5 Kriteria Penelitian

4.5.1 Kriteria inklusi

1. Tikus jantan *Sprague Dawley*
2. Berat badan 80 – 160 gram
3. Umur 2 – 3 bulan
4. Sehat
5. Tidak memiliki kelainan atau penyakit pada rongga mulut

6. Injeksi DMBA 2% dengan dosis 0,1 ml/kgBB pada lateral lidah tikus mengakibatkan timbulnya ulkus yang berwarna putih disertai indurasi pada pemeriksaan klinis

4.5.2 Kriteria eksklusi

1. Sakit
2. Stres

Saat diberi rangsangan atau stressor tikus cenderung imobilisasi, penurunan konsumsi makanan, mengalami penurunan higienitas kandang tikus dan *grooming* atau apatis pada tikus.

3. Mati saat penelitian

4.6 Variabel Penelitian

4.6.1 Variabel dependen

Variabel dependen pada penelitian ini adalah jumlah makrofag dalam pemeriksaan imunohistokimia.

4.6.2 Variabel independen

Variabel independen adalah dosis ekstrak daun *Chrysanthemum cinerariifolium* yang berikan pada sampel.

4.7 Definisi Operasional

1. Model hewan kanker lidah

Pada penelitian ini menggunakan model hewan coba galur *Sprague Dawley* yang dikenal tenang dan jinak sehingga mudah ditangani. Tikus jenis ini sering digunakan dalam banyak penelitian seperti uji toksikologi, uji nutrisi, uji keamanan dan uji farmakologi lainnya. Pada tikus diinduksikan DMBA 2% 0.1 ml/kgBB yang diinjeksikan secara submukosa pada bagian lateral

lidah tikus jantan dan ditunggu selama 5 minggu (Meiyanto *et al.*, 2007; Safitri and Christopher, 2016).

2. Ekstrak daun *Chrysanthemum cinerariifolium*

Daun *Chrysanthemum cinerariifolium* yang dikeringkan lalu diekstrak dengan metode UAE menggunakan pelarut etanol 96%, yang kemudian diberi ke hewan coba yang telah dibiarkan selama 5 minggu setelah diinduksi DMBA dengan cara disonde dengan dosis 50 mg/KgBB, 100 mg/KgBB, 200 mg/KgBB (Kim *et al.*, 2011) dan diberikan selama 14 hari.

3. Makrofag dan imunohistokimia

Jumlah sel makrofag dilihat pada preparat dengan pewarnaan imunohistokimia menggunakan antibodi primer CD68. Perhitungan dilakukan dengan pengamatan menggunakan mikroskop *Nikon eclipse E200* pada perbesaran 400x di sepuluh lapang pandang pada sel yang tampak berwarna coklat.

4.8 Alat dan Bahan

4.8.1 Alat – alat penelitian

Berikut ini adalah bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini:

1. Alat ekstraksi
 - a. *Handscoon*
 - b. Masker
 - c. Gelas beker
 - d. Pengaduk
 - e. Erlenmeyer
 - f. Corong kaca

- g. *Ultrasonic cleaning bath*
 - h. *Rotary evaporator*
 - i. Oven
 - j. *Magnetic stirrer*
 - k. Mikropipet
 - l. Neraca analitik
2. Alat perawatan dan perlakuan hewan coba
- a. Kandang hewan coba
 - b. Wadah makanan
 - c. Wadah minuman
 - d. Sonde
 - e. Spuit 3 cc
3. Alat terminasi dan diseksi
- a. Papan bedah
 - b. Pisau *scalpel*
 - c. Pinset
 - d. Jarum pentul
 - e. Gunting bedah
 - f. Cawan petri
 - g. Gelas beker
4. Alat pembuatan preparat imunohistokimia
- a. Blok paraffin
 - b. Mikrotom
 - c. *Decloaking chamber* dengan suhu 95°C

- d. *Mixture chamber*
 - e. inkubator
5. Alat pengamatan preparat
- a. Mikroskop cahaya binokuler

4.8.2 Bahan penelitian

1. Bahan ekstraksi
 - a. Simplisia daun *Chrysanthemum cinerariifolium*
 - b. Akuades
 - c. Kertas saring
 - d. *Aluminium foil*
2. Bahan perawatan dan perlakuan hewan coba
 - a. Makanan berupa bayam
 - b. DMBA 2%
3. Bahan terminasi dan diseksi
 - a. Formalin 10%
 - b. *Eppendorf*
 - c. Kertas label
 - d. Kloroform
4. Bahan pembuatan preparat imunohistokimia
 - a. Buffer formalin 10%
 - b. Blok paraffin
 - c. Alkohol
 - d. Xylol
 - e. Etanol

- f. H₂O₂ 0.5% dalam *methanol*
- g. Larutan diva
- h. PBS
- i. PAP
- j. *Background sniper*
- k. *Anti antibody primer CD68*
- l. antibodi sekunder kit
- m. TREK AVIDIN-HRP
- n. *Kromogen DAB Monoclonal Anti Antibody Macrophage Rat*
- o. *mayer haematoxylin*
- p. *lithium carbonate* jenuh
- q. *Entellan*
- r. Pewarnaan *hematoksilin eosin* (HE)

4.9 Prosedur Penelitian

4.9.1 Persiapan hewan coba

1. Kandang yang ditempati hewan coba diberi alas berupa sekam yang terbuat dari serutan kayu, guntingan kertas, ataupun serbuk gergaji yang dilengkapi dengan wadah untuk tempat makan dan minum yang telah terisi.
2. Hewan coba dibagi menjadi 5 kelompok dan dalam 1 kelompok terdiri dari 6 tikus dengan perlakuan yang berbeda di setiap kelompok yaitu kontrol positif, kontrol negatif, kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak *Chrysanthemum* 50 mg/kgBB pada kelompok perlakuan 1, dosis 100

mg/kgBB pada kelompok perlakuan 2, dan dosis 200 mg/kgBB pada kelompok perlakuan 3

3. Setelah dibiarkan beradaptasi selama 7 hari, kemudian kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan diinduksikan DMBA 2% 0.1 ml/kgBB yang diinjeksikan secara submukosa pada bagian lateral lidah tikus jantan dan ditunggu selama 5 minggu

4.9.2 Pembuatan Na-CMC 0.5%

1. Timbang serbuk Na CMC sebanyak 50 mg
2. Tuangkan ke dalam akuades panas
3. Lalu biarkan hingga 15 menit sampai menyerupai gel dan berwarna bening
4. Gel yang terbentuk diaduk sampai menjadi masa yang homogen
5. Lalu gel yang homogen diencerkan dengan akuades hingga volume mencapai 100 ml
6. Sediaan yang telah siap disimpan pada kulkas

4.9.3 Pembuatan ekstrak daun *Chrysanthemum cinerariifolium*

1. Ekstrak daun *Chrysanthemum cinerariifolium* dibuat dengan metode UAE
2. Daun *Chrysanthemum cinerariifolium* dibersihkan dan dicuci dengan air mengalir sebanyak 3-5 kali hingga air cucian daun tampak bersih
3. Daun *Chrysanthemum cinerariifolium* dikeringkan dibawah sinar matahari untuk menjaga kadar air tidak lebih dari 10% lalu simplisia diuji kadar airnya menggunakan *moisture content analyzer*
4. Lalu dilakukan prosedur ekstraksi yaitu simplisia dimasukkan dalam gelas erlenmeyer ditambahkan pelarut etanol 96% dengan perbandingan 1:20 lalu di ekstraksi selama 2 menit dengan 3 kali pengulangan

5. Etanol yang cair disaring menggunakan kertas saring
6. Hasil penyaringan kemudian diuap menggunakan *evaporator rotary* agar memperoleh ekstrak etanol yang kental
7. Dari ekstrak etanol yang kental kemudian dimasukkan kedalam oven untuk didapatkan ekstrak yang pekat.

Dan dihitung rendemen dengan rumus:

$$\text{rendemen} = \frac{\text{bobot ekstrak}}{\text{bobot simplisia}} \times 100\%$$

Dengan hasil apabila semakin tinggi persentase rendemen maka semakin banyak ekstrak yang dihasilkan.

4.9.4 Persiapan Dosis Ekstrak Daun *Chrysanthemum cinerariifolium* yang Dilarutkan Na-CMC

Dosis daun *Chrysanthemum cinerariifolium* yang diberikan pada penelitian ini ada 3 dosis yaitu 50 mg/kgBB, 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB.

- a. Dosis stok volume sonde (semua kelompok) selama 14 hari memiliki rumus:

$$\text{Stok volume sonde} = \text{volume 1 sonde} \times \text{jumlah hewan 1 kelompok} \times \text{jumlah hari}$$

$$\begin{aligned} \text{Stok volume sonde} &= 1 \text{ ml} \times 18 \times 14 \text{ hari} \\ &= 252 \text{ ml} \end{aligned}$$

- b. Dosis stok volume sonde (setiap kelompok) selama 14 hari memiliki rumus:

$$\text{Stok volume sonde} = \text{volume 1 sonde} \times \text{jumlah hewan perlakuan} \times \text{jumlah hari}$$

$$\begin{aligned} \text{Stok volume sonde} &= 1 \text{ ml} \times 6 \times 14 \text{ hari} \\ &= 84 \text{ ml} \end{aligned}$$

- c. Dosis perlakuan ekstrak daun *Chrysanthemum cinerariifolium* (g/gBB)

$$\begin{aligned} \text{Dosis 1} &= 50 \text{ mg/kgBB} \\ &= 0,00005 \text{ g/gBB} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Dosis 2} &= 100 \text{ mg/kgBB} \\ &= 0,0001 \text{ g/gBB} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Dosis 3} &= 200 \text{ mg/kgBB} \\ &= 0,0002 \text{ g/gBB} \end{aligned}$$

- d. Perhitungan ekstrak total daun *Chrysanthemum cinerariifolium* tiap dosis perlakuan selama 14 hari

Ekstrak daun krisan = dosis perlakuan/1 ml x dosis volume sonde tiap perlakuan 14 hari

$$\begin{aligned} \text{Dosis 1} &= 0,00005 \text{ g/1 ml} \times 84 \text{ ml} \\ &= 0,0042 \text{ g} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Dosis 2} &= 0,0001 \text{ g/1 ml} \times 84 \text{ ml} \\ &= 0,0084 \text{ g} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Dosis 3} &= 0,0002 \text{ g/1 ml} \times 84 \text{ mL} \\ &= 0,0168 \text{ g} \end{aligned}$$

$$\text{Total kebutuhan ekstrak} = 0,0294 \text{ g}$$

- e. Perhitungan stok ekstrak total daun *Chrysanthemum cinerariifolium* selama 14 hari

$$\begin{aligned} \text{Dosis 3 (K)} &= \frac{0,0294 \times 1 \text{ mL}}{0,0002} \\ &= 147 \text{ mL} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Dosis 2} &= \frac{0,0002 \times (147-84)}{0,0001} \\ &= 126 \text{ mL} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Dosis 1} &= \frac{0,0001 \times (126-84)}{0,00005} \\ &= 84 \text{ mL} \end{aligned}$$

Perhitungan ini menggunakan persen pemberian sebesar 1% (1 mL/100 kgBB) dikarenakan pemberian ekstrak diberikan melalui oral.

4.9.5 Perlakuan pada hewan coba

1. Menempatkan hewan coba untuk beradaptasi selama 7 hari di dalam kandang dengan suhu 28-32°C
2. Menginduksi bagian lateral lidah hewan coba dengan DMBA 2% yang dilarutkan dengan seton
3. Observasi selama 5 minggu
4. Pada minggu ke 5 dilihat adanya peradangan
5. Dilanjutkan dengan pemberian ekstrak daun *Chrysanthemum cinerariifolium* secara sondasi selama 14 hari sesuai dosis
6. Setelah hari ke 14 pemberian ekstrak daun *Chrysanthemum cinerariifolium* hewan coba di korbakan dan diambil jaringan lidahnya

4.9.6 Pemeriksaan jumlah Ekspresi sel makrofag menggunakan

Imunohistokimia

Imunohistokimia merupakan metode dengan konsep dasar untuk menunjukkan adanya antigen di dalam jaringan oleh antibodi yang spesifik yang diperlihatkan dengan sebuah reaksi warna histokimia (Nasution *et al.*, 2015).

1. Hewan coba yang telah dikorbakan bagian lidahnya diambil sesegera mungkin kemudian difiksasi dengan buffer formalin 10% dan dikirim ke laboratorium patologi anatomi RSUD Soetomo
2. Jaringan tersebut kemudian dibungkus dengan blok parafin dan dipotong dengan ketebalan yang disesuaikan yaitu 4-10µm dengan mikrotom

Proses deparafinisasi

1. Sediaan dicelupkan ke dalam larutan alkohol untuk melepaskan paraffin kemudian di celupkan ke dalam xylol sebagai dealkoholisasi selama 3 menit
2. Lalu dilanjutkan rehidrasi dalam etanol selama 2-3 menit
3. Selanjutnya slide dicuci dengan air mengalir selama 2-3 menit
4. Lalu dimasukkan ke dalam larutan H₂O₂ dalam metanol 0.5% (100 ml Methanol + 1,6 ml H₂O₂) selama 20 menit
5. Dicuci dengan air mengalir selama 2-3 menit

Pembuatan antigen retrieval

1. Slide direndam dalam larutan diva
2. Kemudian dipanaskan selama 90 menit di dalam *decloaking chamber* dengan suhu 95°C
3. Didinginkan dalam suhu ruang selama 20-30 menit
4. Direndam di dalam PBS selama 2-5 menit

Setelah diangkat dari *decloaking chamber*

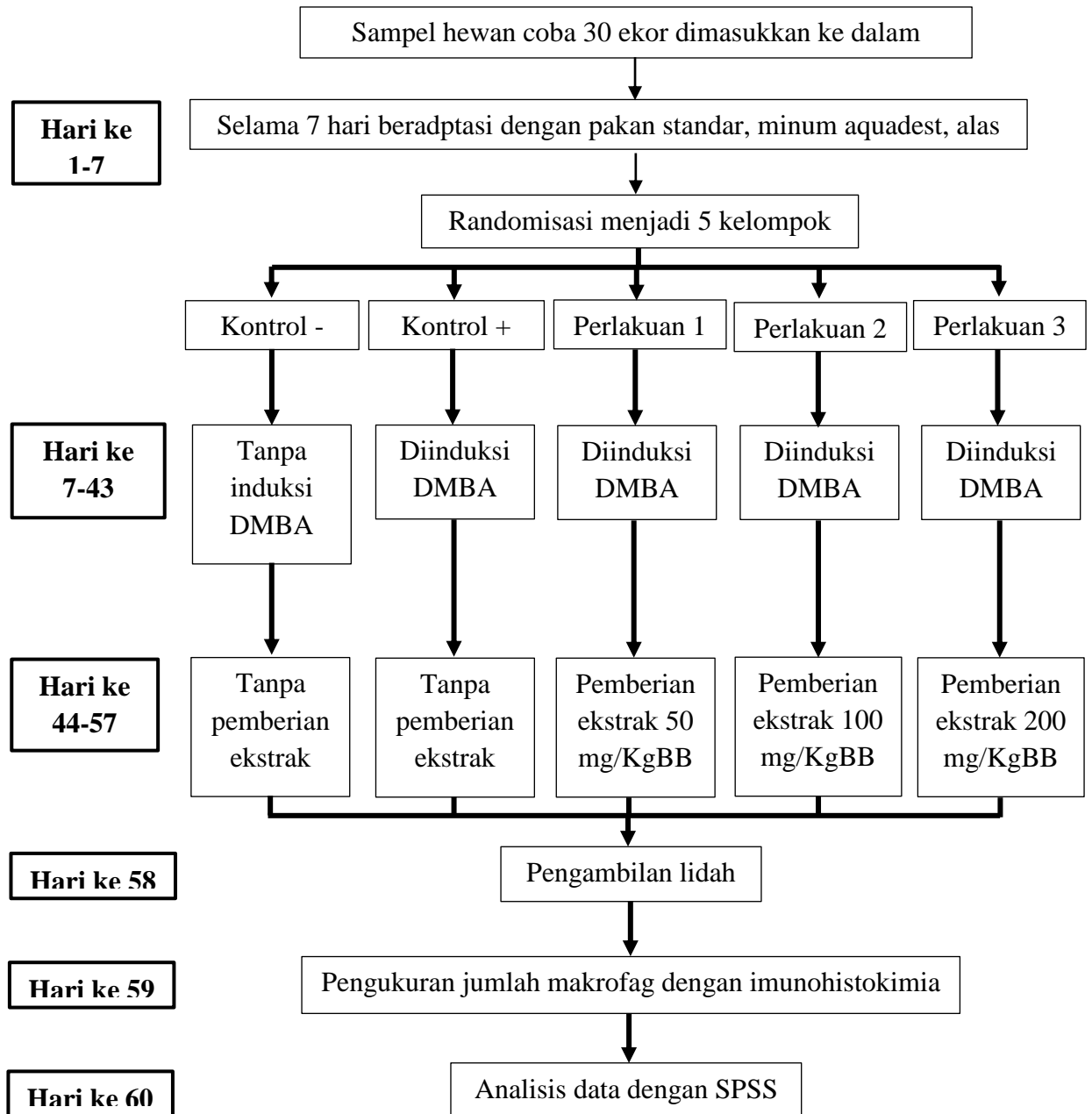
1. Sediaan diberi pembatas pada sekelilingnya dengan PAP kemudian diletakkan pada *mixture chamber*
2. Lalu tetesi dengan *background sniper* dan ditunggu selama 10 – 15 menit
3. Dilanjutkan dengan ditetaskan *anti antibody primer CD68* kemudian diinkubasi selama 90 menit
4. Dicuci dengan PBS steril selama 3-5 menit
5. Selanjutnya ditetesi antibodi sekunder kit (Universal link, Biocare, Medical)
6. Lalu inkubasi 10 menit pada suhu kamar dan dicuci dengan PBS steril selama 3-5 menit

7. Slide kemudian ditetesi dengan TREKAVIDIN-HRP, dan diinkubasi selama 10 menit pada suhu kamar
8. Lalu dicuci PBS steril lagi selama 3-5 menit
9. Kemudian ditetaskan kromogen DAB dan diinkubasi pada suhu kamar selama 4 menit (1 ml *betazoid dab substrate buffer* ditambah 1-2 tetes DAB *chromogen*)
10. Dilanjutkan dengan pencucian menggunakan air mengalir selama 5-7 menit
11. Lalu dilakukan *counterstrain* dengan *mayer haematoxylin* kemudian inkubasi selama 2-3 menit
12. Lalu direndam dalam *lithium carbonate* jenuh selama 2-3 menit
13. Cuci kembali dengan air mengalir selama 5-7 menit
14. Lalu dehidrasi dengan alkohol 80%, 96%, alkohol absolut dan xilol masing-masing selama 3 menit
15. Lalu di *mounting* dengan entellan kemudian dikeringkan

Teknik Menghitung Jumlah Ekspresi makrofag

Penghitungan jumlah ekspresi makrofag dilakukan dengan menghitung jumlah sel yang terwarnai coklat akibat reaksi positif terhadap *antibody primer CD68* dengan pewarnaan imunohistokimia. Selanjutnya diamati dengan mikroskop cahaya binokuler pada perbesaran 100x untuk melihat semua lapang pandang dan ditingkatkan menjadi 400x untuk melihat pada sepuluh lapang pandang. Kemudian jumlah makrofag dapat dihitung pada tiap lapang pandang

4.10 Alur Penelitian



Keterangan:

- DMBA diinduksikan pada hari ke 8 setelah penyesuaian pada kandang selama 7 hari lalu ditunggu hingga 5 minggu sampai terlihat munculnya peradangan pada hari ke 43
- Pada hari ke 44-57 diberi terapi ekstrak daun *Chrysanthemum cinerariifolium* 1 kali sehari selama 2 minggu

Data hasil perhitungan jumlah sel makrofag pada penelitian ini berupa data rasio dan numerik yaitu nilai rata-rata (mean) dari jumlah makrofag pada setiap lapang pandang. Menggunakan aplikasi *Statistical Program Service Solution* (SPSS) versi 25 data hasil perhitungan jumlah sel makrofag diolah dengan uji statistik dengan memasukkan data numerik hasil perhitungan yaitu dengan besar sampel 30 yang berarti <50 sehingga dilakukan uji normalitas data dengan metode uji *Saphiro Wilk* yang hasilnya dikatakan normal jika pada uji normalitas data menunjukkan hasil $p > 0,05$ kemudian dilanjutkan uji homogenitas yang jika hasilnya $p > 0,05$ maka data tersebut homogen dan dapat dilakukan uji statistik parametrik dengan uji *One Way ANOVA (Analysis of Variance)* yang jika didapatkan hasil yang signifikan $p < 0,05$ maka dapat dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Tukey* untuk mengetahui apakah ada perbedaan pengaruh pada masing-masing sampel. Apabila $p > 0,05$ artinya H_0 diterima namun apabila $p < 0,05$ artinya H_1 diterima.

Apabila saat dilakukan uji normalitas dan homogenitas didapatkan hasil data tidak berdistribusi normal atau tidak terdistribusi homogen yaitu $p < 0,05$ maka dilakukan uji alternatif non-parametrik dengan uji *Kruskall-Wallis* kemudian apabila hasilnya $p < 0,05$ maka dilanjutkan dengan *Pos Hoc Test* dengan uji *Mann Whitney* untuk mengetahui perbedaan pengaruh pada masing-masing kelompok sampel. Apabila hasilnya $p > 0,05$ maka H_0 diterima namun apabila $p < 0,05$ artinya H_1 diterima.

BAB V

HASIL PENELITIAN

5.1 Gambaran Mikroskopis Makrofag CD68 Tikus Model *Oral Squamous Cell Carcinoma* (OSCC)

5.2 Hasil Penghitungan Jumlah Makrofag CD68

BAB VI PEMBAHASAN

6.1 Gambaran Mikroskopis Makrofag CD68 Tikus Model *Oral Squamous cell Carcinoma* (OSCC)

Ditemukan gambaran makrofag yang melimpah pada kontrol positif akibat terbentuknya lesi premalignan akibat proliferasi yang tidak terkendali dan menyebabkan inisiasi sistem imun oleh makrofag terhadap tumor.

6.2 Hasil Penghitungan Jumlah Makrofag CD68

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun krisan mempengaruhi jumlah sel makrofag pada tikus model *Oral Squamous Cell Carcinoma* (OSCC) secara signifikan.

6.3 Kajian Integrasi Islam

Islam sangat menjunjung kebersihan yang nantinya akan berpengaruh pada kesehatan, salah satunya kesehatan gigi dan mulut (Melati, 2019). Sesuai dengan hadist yang menyatakan “bahwa kebersihan merupakan sebagian dari iman” (H.R. Bukhari Muslim). Sebagaimana sabda Nabi saw (Saleh *et al.*, 2017) Artinya: “Diriwayatkan dari Abu Hurairah, katanya Nabi saw telah bersabda “Sekiranya arahanku tidak akan memberatkan orang mukmin, niscaya aku akan memerintahkan mereka bersiwak (menggosok gigi) setiap kali hendak melakukan shalat” (Shahih Bukhari Muslim). Islam menyadari bahwa mulut merupakan pintu masuk berbagai penyakit yang bersumber dari makanan yang kita makan setiap hari. Gigi dan mulut adalah awal mula masuknya makanan dan minuman, atau awal dari proses pencernaan, karena itulah gigi sangat berhubungan dengan organ tubuh lainnya (Melati, 2019).

لَوْلَا أَنْ أَشُقَّ عَلَى أُمَّتِي لِأَمْرِهِمْ بِالسَّوَاكِ عِنْدَ كُلِّ وُضُوءٍ (ال بخاري صحيح)

Artinya: “*Seandainya tidak memberatkan umatku, sungguh aku akan memerintahkan mereka untuk bersiwak setiap kali berwudhu*” (HR. Ahmad, shahih).

Islam menyadari bahwa mulut merupakan pintu masuk berbagai penyakit yang bersumber dari makanan yang kita makan setiap hari. Gigi dan mulut adalah awal mula masuknya makanan dan minuman, atau awal dari proses pencernaan, karena itulah gigi sangat berhubungan dengan organ tubuh lainnya (Nismal, 2018). Timbulnya penyakit lain yang berbahaya dari gigi maupun mulut sangat berpengaruh pada Ibadah kita pada Allah Yang Maha Esa. Karena hakikatnya manusia tidak dapat beribadah secara maksimal apabila terkendala oleh masalah kesehatan, oleh karena itu kesehatan merupakan suatu hal yang sangatlah penting untuk mendapat perhatian (Rahaju, 2013).

Namun Rasulullah shallallahu ‘alaihi wa sallam dalam sejumlah hadits memastikan bahwa setiap penyakit pasti ada obatnya. Jika pun ada penyakit yang tak terobati sampai sekarang, bisa jadi lantaran belum ada ahli yang bisa menemukan obatnya.

Diriwayatkan dalam Hadits Muslim, Rasulullah saw bersabda:

لِكُلِّ دَاءٍ دَوَاءٌ، فَإِذَا أُصِيبَ دَوَاءُ الدَّاءِ بَرَأَ بِإِذْنِ اللَّهِ (يراهن صحيح)

Artinya: “*Semua penyakit itu ada obatnya. Apabila obat tersebut sesuai dengan penyakitnya, penyakit tersebut akan sembuh dengan seizing Allah SWT*” (H.R. Muslim).

Dari Usamah bin Syarik radhiallahu ‘anhu, bahwa beliau berkata:

كُنْتُ عِنْدَ النَّبِيِّ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ، وَجَاءَتِ الْأَعْرَابُ، فَقَالَ: يَا رَسُولَ اللَّهِ، أَتَدَاوَى؟ فَقَالَ: نَعَمْ يَا عِبَادَ اللَّهِ، تَدَاوَوْا، فَإِنَّ اللَّهَ عَزَّ وَجَلَّ لَمْ يَضَعْ دَاءً إِلَّا وَضَعَ لَهُ

شِفَاءٌ غَيْرَ دَاءٍ وَاحِدٍ. قَالُوا: مَا هُوَ؟ قَالَ: الْهَرَمُ (يرايخ بل احي ح ص)

Artinya: “Aku pernah berada di samping Rasulullah Shallallahu ‘alaihi wa sallam. Lalu datanglah serombongan Arab dusun. Mereka bertanya, “Wahai Rasulullah, bolehkah kami berobat?” Beliau menjawab: “Iya, wahai para hamba Allah, berobatlah. Sebab Allah Subhanahu wa Ta’ala tidaklah meletakkan sebuah penyakit melainkan meletakkan pula obatnya, kecuali satu penyakit.” Mereka bertanya: “Penyakit apa itu?” Beliau menjawab: “Penyakit tua.” (HR. Ahmad, Al-Bukhari dalam Al-Adabul Mufrad, Abu Dawud, Ibnu Majah, dan At-Tirmidzi, beliau berkata bahwa hadits ini hasan shahih).

Hadits di atas menunjukkan bahwa setiap penyakit ada obatnya terkecuali penyakit tua. Rasulullah saw menganggap tua sebagai penyakit. Sebab penyakit tersebut merusak kondisi, sebagaimana penyakit-penyakit lain yang biasanya mengakibatkan seseorang meninggal atau berat dalam menjalani hidup. Melalui Hadist tersebut, Rasulullah saw ingin menyampaikan bahwa setiap penyakit pasti memiliki obatnya. Namun tidak semua orang tepat dalam proses penyembuhannya sehingga tidak sembuh.

Hingga saat ini pun tanaman herbal juga telah banyak digunakan dalam bidang medis maupun kesehatan. Tanaman herbal sendiri dapat diartikan sebagai tanaman yang mengandung senyawa kimia alami yang memiliki efek farmakologis dan bioaktivitas penting terhadap penyakit (Suryanto and Setiawan, 2013). Dengan demikian pemanfaatan tanaman herbal sebagai obat tentu perlu terus digali, diteliti, dikembangkan dan dioptimalkan pemanfaatannya.

أَوَلَمْ يَرَوْا ۖ إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ (الشُّورَىٰ : ٧)

Artinya: “Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu pelbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?” (Q.S. Asy-Syu’ara: 7).

Ayat ini menjelaskan bahwa Allah SWT telah menjadikan bumi penuh dengan keanekaragaman tumbuhan dan buah yang memiliki rasa, warna, dan

aroma yang beragam bagi manusia sehingga ini dapat menjadi tanda-tanda kebesaran Allah SWT bagi manusia yang berakal (Az-Zuhaili, 2013).

BAB VII

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

Dari penelitian ini dapat disimpulkan:

Pemberian ekstrak daun *Chrysanthemum cinerariifolium* (Trev.) Vis. terbukti berpengaruh menurunkan jumlah makrofag pada tikus model OSCC

7.2 Saran

Adapun saran dari penulis agar penelitian ini dapat dikembangkan menjadi lebih baik yaitu:

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai cara pemberian makan yang cocok pada tikus model OSCC untuk mencegah stres dan penurunan nafsu makan tikus model OSCC
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terkait dosis yang lebih luas untuk mengetahui dosis maksimal ekstrak daun *Chrysanthemum cinerariifolium* (Trev.)Vis. yang efektif menurunkan jumlah makrofag pada tikus model OSCC
3. Perlu dilakukan penelitian lanjutan terkait efek ekstrak daun *Chrysanthemum cinerariifolium* (Trev.)Vis. sebagai terapi preventif tikus model OSCC.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas A. K, Lichtman A. H, Pillai S. 2016. *Imunologi Dasar Abbas: Fungsi dan Kelainan Sistem Imun. Edisi 5*. Editor: Handono Kalim. Singapore: Elsevier
- Agustina S. 2016. *Skrining Fitokimia Tanaman Obat Di Kabupaten Bima*. Directory of Open Access Journals, CAKRA KIMIA (Indonesian E-Journal of Applied Chemistry).
- Albini A, Sporn M. B. 2007. *The tumour microenvironment as a target for chemoprevention*. Nat Rev Cancer 7:139–147
- Ali A. 2005. *Al- Quran dan Terjemahannya*. J-ART: Bandung.
- Ansari I. A, Akhtar M. S. 2019. *Current insights on the role of terpenoids as anticancer agents: A perspective on cancer prevention and treatment, in Natural Bio-active Compounds: Chemistry, Pharmacology and Health Care Practices*. Springer, Singapore. doi: 10.1007/978-981-13-7205-6_3.
- Az-Zuhaili W. 2013. *Tafsir Al-Wasith Jilid 2*. Jakarta: Gema Insani.
- Bornado B, Christina H, Fransisca C, Kristin K, Caroline, Sudiono J. 2015. *Peran Monosit (Makrofag) Pada Proses Angiogenesis Dan Fibrosis*. Seminar Nasional Cendekiawan.
- Boutaghane N, Voutquenne L, Simon A, Harakat D. 2013. *A new triterpene ester from the aerial parts of Chrysanthemum macrocarpum*. Phytochemistry Letters. doi: 10.1016/j.phytol.2013.06.009.
- Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel L. R, Torre A. L, Jemal A. 2018. *Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries*. CA: A Cancer Journal for Clinicians. doi: 10.3322/caac.21492.
- British Dental Association. 2000. *Opportunistic Oral Cancer Screening*. BDA News.
- Budhy I. T, Soemaryono B, Aprillia U. 2015. *Penentuan Grading Tumor Ganas Oral Squamous Cell Carcinoma Berdasarkan Gambaran Histopatologi (Determination of Grading Malignant Tumor Oral Squamous Cell Carcinoma Based on Histopathological View)*. Jurnal Biosains Pascasarjana, 17(1), pp. 46–51.
- Chae S. H, Xu R, Won Y. J, Chin W. Y, Yim H. 2019. *Molecular targets of genistein and its related flavonoids to exert anticancer effects*. International Journal of Molecular Sciences. doi: 10.3390/ijms20102420.

- Chia CL, Zhen S, Roxanne B, Yang F, Aditi. 2018. *Oral Cancer Genetics And The Role Of Precision Medicine*. Dent Clin N Am, Pp. 29–46.
- Choi M. J, Lee O. E, Lee J. H, Kim H. K, Ahm S. K, Shim S. B, *et al.* 2007. *Identification of campesterol from Chrysanthemum coronarium L. and its antiangiogenic activities*. Phytotherapy Research. doi: 10.1002/ptr.2189.
- Choi S, Myers N. J. 2008. *Molecular pathogenesis of oral squamous cell carcinoma: Implications for therapy*. Journal of Dental Research. doi: 10.1177/154405910808700104.
- Cox-Georgian D, Ramadoss N, Dona C, Basu C. 2019. *Therapeutic and medicinal uses of terpenes*. in Medicinal Plants: From Farm to Pharmacy. doi: 10.1007/978-3-030-31269-5_15.
- Efendi Z. 2003. *Daya Fagositosis Makrofag pada Jaringan Longgar Tubuh*. Bagian Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara.
- Effendi, masitah. 2013. *Pemanfaatan Sistem Pengobatan Tradisional (Batra) di Puskesmas*. Surabaya: FISP-UNAIR
- El-Rouby D. H. 2010. *Association of macrophages with angiogenesis in oral verrucous and squamous cell carcinomas*. Journal of Oral Pathology and Medicine. doi: 10.1111/j.1600-0714.2010.00879.x.
- Georgian DC, Ramadoss N, Dona C, Basu C. 2019. *Therapeutic And Medicinal Uses Of Terpenes*, Medicinal Plants Springer Nature
- Givony S. 2020. *Oral squamous cell carcinoma (OSCC) an overview*, 8(13), pp. 67–74.
- Görlach A, Bertram K, Hudecova S, Krizanova O. 2015. *Calcium and ROS: A mutual interplay*. Redox Biology. doi: 10.1016/j.redox.2015.08.010.
- Gosselin B. 2015. *Malignant Tumors of Mobile Tongue*, pp. 1–7.
- Grdiša M, Carović-stanko K, Kolak I, Šatović Z. 2009. *Morphological and biochemical diversity of Dalmatian pyrethrum (Tanacetum cinerariifolium (Trevor.) Sch. Bip.)*. Agriculturae Conspectus Scientificus.
- Gunawan G, Firman N. R, Pramanik F, Nurrachman S. A. 2020. *Gambaran squamous cell carcinoma posterior mandibula pada radiografi panoramic*. Jurnal Radiologi Dentomaksilofasial Indonesia. doi: 10.32793/jrdi.v4i1.479.
- Hadist Riwayat Bukhari Dan Muslim. 2007. *Shahih Bukhari Muslim*. Bandung: Penerbit Jabal, 2007.

- Harvey R.A., Champe P.C. 2009. *Pharmacology. 4 nd ed.* China: Lippincott William & Wilkins.p.249-60.
- Herdwiani W, Soemardji A. A, Elfahmi, Tan M. I, Nabila K, Anita K. 2018. *Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etanol Kulit Buah Pinang (Areca Catechu) Dan Daun Kayu Manis (Cinnamomum Burmanni) Cytotoxic Activity Of Pinang Fruit Leather (Areca Catechu) And Cinnamon Leaf Ethanol Extract.* Jurnal Farmasi Indonesia, Maret 2018, Hal 71 - 78 Vol. 15 No. 1 ISSN: 1693-8615 EISSN : 2302-4291
- Hoesel B, Schmid A. J. 2013. *The Complexity Of NF-Kb Signaling In Inflammation And Cancer.* Mol Cancer.2013 Aug 2:12:86, Doi; 10.1186/1476-4598-12-86
- Irawati S. 2018. *Pemprofilan Aktivitas Antikanker terhadap Sel Kanker Payudara (T47D) dan Toksisitas terhadap Sel Normal (Vero) pada Tanaman Krisan Putih (Chrysanthemum cinerariifolium (Trev.)).* Skripsi. Tidak diterbitkan, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang.
- Israyani I, Argadianti F. A, Hendarti T. H, Parmadiati E. A. 2019. *Management Of squamous cell carcinoma of tongue in young men: case report.* Journal of Case Reports in Dental Medicine. doi: 10.20956/jcrdm.v1i1.95.
- ITIS. 2020. *Integrated Taxonomic Information System (ITIS).* Enciclopedia de la Vida (EOL).
- Jain A. 2020. *Molecular Pathogenesis of Oral Squamous Cell Carcinoma, in Squamous Cell Carcinoma - Hallmark and Treatment Modalities.* doi: 10.5772/intechopen.85650.
- Kalia R, Katnoria J. K, Nagpal A. K. 2016. *Antitumor activity of aqueous leaf extracts of different cultivars of Chrysanthemum morifolium R. using potato disc tumor assay.* Journal of Pharmaceutical Sciences and Research.
- Kallini J. R, Hamed N, Khachemoune A. 2015. *Squamous cell carcinoma of the skin: Epidemiology, classification, management, and novel trends.* International Journal of Dermatology. doi: 10.1111/ijd.12553.
- Kelly D. 2010. *Malignant tumors of the base tongue.* Available at: <http://emedicine.medscape.com/article/847955-overview#a0101>.
- Kemenkes RI. 2019. *Hari Kanker Sedunia 2019.* 31 Januari. <https://www.kemkes.go.id/article/view/19020100003/hari-kanker-sedunia-2019.html>. Biro Komunikasi dan Pelayanan Masyarakat, Kementerian Kesehatan RI. Jakarta. Diakses 4 Agustus 2020.
- Kim H, Lee Y. S. 2005. *Identification of new dicaffeoylquinic acids from*

Chrysanthemum morifolium and their antioxidant activities. *Planta Medica*. doi: 10.1055/s-2005-873115.

Kim Jae-Wook, Han Jin-Yi, Hong T. J, Li H, Li R, Eun S. J, *et al.* 2011. *Ethanol Extract of the Flower Chrysanthemum morifolium Augments Pentobarbital-Induced Sleep Behaviors: Involvement of Cl⁻ Channel Activation*. Hindawi Publishing Corporation. doi:10.1155/2011/109164.

King R. J. B, Robins M. W. 2006. *Cancer Biology Third Edition*. Pearson Education Limited

KOTRANAS. 2007. *Kemenkes RI No 381/Menkes/SK/III/2007 Tentang "Kebijakan Obat Tradisional Nasional"*. Jakarta : Depkes RI.

Kresno B. S. 2008. *Cancer Immunology: From Immunosurveillance to Immunoescape*. *Indonesia Journal of Cancer* 1, 18-23

Kumar V, Abbas A. K, Fausto N, Aster J. C. 2004. *Acute And Chronic Inflammation. Dalam: Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Aster JC, Ed. Robbins And Cotran. Pathologic Basic Of Disease. Edisi Ke-8*. Philadelphia: Saunders Elsevier Inc; 2004.H.45-77.

Kumar S, Pandey A. K. 2013. *Chemistry and biological activities of flavonoids: An overview*. *The Scientific World Journal*. doi: 10.1155/2013/162750.

Laoui D, Movahedi K, Overmeire V. E, Van den Bossche J, Schouppe E, Mommer C, *et al.* 2011. *Tumor-associated macrophages in breast cancer: Distinct subsets, distinct functions*. *International Journal of Developmental Biology*. doi: 10.1387/ijdb.113371dl.

Li L, Gu L, Chen Z, Wang R, Ye J, Jiang H. 2010. *Toxicity Study Of Ethanolic Extract Of Chrysanthemum Morifolium In Rats*, *Journal Of Food Science*, Vol. 75 No. 6.

Li C. C, Shen Z, Bavarian R, Yang F, Bhattacharya A. 2018. *Oral Cancer: Genetics and the Role of Precision Medicine*. *Dental Clinics of North America*. doi: 10.1016/j.cden.2017.08.002.

Lin L. Z, Harnly J. M. 2010. *Identification of the phenolic components of chrysanthemum flower (Chrysanthemum morifolium Ramat)*. *Food Chemistry*. doi: 10.1016/j.foodchem.2009.09.083.

Lindsten T, Hedbrant A, Ramberg A, Wijkander J, Solterback A, Eriksson M, *et al.* 2017. *Effect of macrophages on breast cancer cell proliferation, and on expression of hormone receptors, uPAR and HER-2*. *International Journal of Oncology*. doi: 10.3892/ijo.2017.3996.

Lisiane B. M, Bugni M. J, Green L.S, Lee Chung-Wei, Pang B, Borenshtein D, *et*

- al. 2008. *DNA damage induced by chronic inflammation contributes to colon carcinogenesis in mice*. J Clin Invest, 2008 Jul;118(7):2516-25. doi: 10.1172/JCI35073
- Maggioni D, Gaini R, Nicolini G, Tredici G, Garavello W. 2011. *MAPKs activation in head and neck squamous cell carcinomas*. Oncology Reviews. doi: 10.1007/s12156-011-0086-z.
- Mak T. W, Saunders M. E, Jett B. D. 2014. *Primer to The Immune Response: Second Edition*. doi: 10.1016/C2009-0-62217-0.
- Makiyah S. N. N, Wrdhani U. H. 2017. *Potensi Ekstrak Etanol Buah Citrullus Lanatus Sebagai Agen Imunosupresi Melalui Pengamatan Histologi Limpa Mencit BALB/C*. Majalah Kedokteran Bandung, Vol.49, No 4 (2019)
- Martinez F. O, Gordon S. 2014. *The M1 and M2 paradigm of macrophage activation: Time for reassessment*. F1000Prime Reports. doi: 10.12703/P6-13.
- Meiyanto E, Susilowati S, Tasminatun S, Murwanti R, Sugiyanto. 2007. *Efek kemopreventif ekstrak etanolik Gynura procumbens (Lour), Merr pada karsinogenesis kanker payudara tikus*. Majalah Farmasi Indonesia, 18(3), 154-161, 2007.
- Melati M. C, Kusmana A, Miko H, Triyanto R, Rahayu C. 2019. *Kesehatan Gigi Dan Mulut Dalam Perspektif Islam*. ARSA (Actual Research Science Academic, Vol. 4 No. 3-September 2019. ISSN 2548-3986
- Mukhtar D. 2013. *Makrofag Pada Jaringan Adiposa Obes Sebagai Penanda Terjadinya Resistensi Insulin*. Majalah Ilmiah Widya.
- Mutiah R, Inayatin L. A, Annisa R, Indrawijaya A. Y. Y, Listiyana A. 2020. *Inhibition of cell cycle and induction of apoptosis by ethanol leaves extract of chrysanthemum cinerariifolium (Trev.) in T47D breast cancer cells*. Indonesian Journal of Pharmacy. doi: 10.14499/indonesianjpharm31iss1pp1.
- Muzakki NA. 2017. *Book Of Life: Chrysanthemum X Morifolium*, Universitas Pendidikan Indonesia.
- Naufal A. M. 2017. *Book of Life: Chrysanthemum X Morifolium*. Universitas Pendidikan Indonesia.
- Neville B. W, Damm D. D, Allen C. M, Bouquot J. E. 2002. *Oral & Maxillofacial Pathology 4th Ed*. Philadelphia: W. B. Saunders Company.
- Nucera S, Bizziato D, de Palma M. 2011. *The interplay between macrophages and*

angiogenesis in development, tissue injury and regeneration. International Journal of Developmental Biology. doi: 10.1387/ijdb.103227sn.

- Otieno H. O, Kariuki D. K, Wanjohi J. M. 2020. *Pyrethrum (Chrysanthemum cinerariifolium) Flowers' Drying Conditions for Optimum Extractable Pyrethrins Content*. Journal of Plant Studies. doi: 10.5539/jps.v9n2p11.
- Pan X, Xu G, Zhou X, Shen R. 2011. *Inhibition effects of human gastric carcinoma SGC-7901 cells on Chrysanthemum flavonoids in vivo*. in Procedia Engineering. doi: 10.1016/j.proeng.2011.11.022.
- Panche A. N, Diwan A. D, Chandra S. R. 2016. *Flavonoids: An overview*. Journal of Nutritional Science. doi: 10.1017/jns.2016.41.
- Parkin D. M., et al. 2005. *Global cancer statistics, 2002*. CA: A Cancer Journal for Clinicians, 55, 74-108. doi:10.3322/canjclin.55.2.74
- Perveen S. 2018. *Introductory Chapter: Terpenes and Terpenoids*. in Terpenes and Terpenoids. doi: 10.5772/intechopen.79683.
- Prihatman K. 2000. *Jagung (Zea mays L.) TTG BUDIDAYA PERTANIAN*. in Sistem Informasi Manajemen Pembangunan di Perdesaan, Proyek PEMD, BAPPENAS.
- Qiu, S. Q, Waaijer H. J. S, Zwager C. M, de Vries E. G. E, van der Vegt B, Schröder P. C. 2018. *Tumor-associated macrophages in breast cancer: Innocent bystander or important player?*. Cancer Treatment Reviews. doi: 10.1016/j.ctrv.2018.08.010.
- Rahaju B. 2013. *Kesehatan Gigi Pada Masyarakat Muslim (Bandung: Pustaka Aura Semesta, 2013)*
- Rahayu WP, Achmad A, Ekowato H. 2012. *Aktivitas Antiproliferatif Jintan Hitam (Nigella Sativa) Pada Sel Paru Tikus Yang Diinduksi 7,12-Dimetilbenz-[A]Antrasena (DMBA)*, Makara Kesehatan, Vol. 16 No. 2.
- Ren W, Qiao Z, Wang H, Zhu L, Zhang L. 2003. *Flavonoids: Promising anticancer agents*. Medicinal Research Reviews, 23(4), 519-534. doi:10.1002/med.10033
- Rivera C. 2015. *Essentials of oral cancer*. International Journal of Clinical and Experimental Pathology.
- Rodríguez-García C, Sánchez-Quesada C, Gaforio J. J. 2019. *Dietary flavonoids as cancer chemopreventive agents: An updated review of human studies*. Antioxidants. doi: 10.3390/antiox8050137.
- Rosanti D. 2013. *Morfologi Tumbuhan*. Jakarta: Erlangga.

- Royani S. D. 2007. *Komposisi Kimia dan Aktivitas Inhibitor Topoisomerase I dari Kablang (Nerita albicilla)*. Tesis. Tidak diterbitkan. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Sadikim R. Y, Sandhika W, Saputro I. D. 2018. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Jahe Merah (Zingiber officinale var . rubrum) terhadap Jumlah Sel Makrofag dan Pembuluh Darah pada Luka Bersih Mencit (Mus musculus) Jantan (Penelitian Eksperimental pada Hewan Coba) (Effect of Red Ginger Zingiber office)*. Periodical of Dermatology and Venereology, 30(2), pp. 121–127.
- Safitri D, Christopher W. 2016. *Preventive effect of jasmine flower ethanol extract on MSG-high fat diet induced in male wistar rats*. International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research.
- Safitri UH, Nawangsih EF, Noviyanti ND, Nuraini F, Apliani D, Haniastuti T. 2016. *Studi In Vivo Ekstrak Etanolik Ciplukan (Physalis Angulata) Dalam Meningkatkan Apoptosis Sel Kanker Lidah*, Majalah Kedokteran Gigi Indonesia Vol. 2 No. 3.
- Saldana J. I. 2016. *Macrophages*. British society for immunology bite-sized immunology (<https://www.immunology.org/public-information/bitesized-immunology/cells/macrophages> Juni 2021)
- Saleh M, Nurhaeni O. S, Syamsuddin A. J. A, Sophianah Y, Miko H. 2017. *Effect Stick Of Miswak On Periodontal Recession To Jama'ah Tabligh Kerung Kerung Kota Makassar, Indonesia*. International Journal Of Dental Medicine, 3(1), 1- 3
- Sarihati I. D. 2017. *Makrofag dan Aterosklerosis*. Meditory, 5(7), pp. 61–67.
- Sawitri E, Dharmana E, Riwanto I, Tjahyono. 2009. *Peran Respon Imun Antitumor Dalam Menghambat Pertumbuhan Kanker Kolorektal*. Molluca Medica. ISSN: 1979 – 6358
- Sayuti N. S, Setiyono A, Handharyani E. 2015. *DETEKSI IMUNOHISTOKIMIA ANTIGEN Coxiella burnetii SEBAGAI PENYEBAB Q FEVER PADA SAPI*. Jurnal Kedokteran Hewan - Indonesian Journal of Veterinary Sciences. doi: 10.21157/j.ked.hewan.v9i2.2835.
- Shah S, Pathak P, Gulati N. 2015. *Cell Signaling Pathways in Oral Cancer : A Review*. Journal of Applied Dental and medical Science, 1(1), pp. 69–74.
- Singh R, Agarwal R. 2006. *Natural Flavonoids Targeting Deregulated Cell Cycle Progression in Cancer Cells*. Current Drug Targets. doi: 10.2174/138945006776055004.
- Soebagjo H. D. 2019. *Onkologi Mata*. Airlangga University Press: Surabaya.

- Suryanto R, Setiawan D. K. 2013. *STRUKTUR DATA DATA WAREHOUSE TANAMAN OBAT INDONESIA DAN HASIL PENELITIAN OBAT TRADISIONAL*. Seminar Nasional Sistem Informasi Indonesia.
- Tanaka S, Koizumi S, Masuko K, Makiuchi N, Aoyagi Y, Quivy E, *et al.* 2011. *Toll-like receptor-dependent IL-12 production by dendritic cells is required for activation of natural killer cell-mediated Type-1 immunity induced by Chrysanthemum Coronarium L.* International Immunopharmacology. doi: 10.1016/j.intimp.2010.11.026.
- Tanaka T, Ishigamori R. 2011. *Understanding carcinogenesis for fighting oral cancer*. Journal of Oncology. doi: 10.1155/2011/603740.
- Taurina H. 2016. *Peran tumor associated macrophage (tam) pada kanker payudara*. Jurnal Kedokteran Raflesia.
- Thoppil R. J, Bishayee A. 2011. *Terpenoids as potential chemopreventive and therapeutic agents in liver cancer*. World Journal of Hepatology. doi: 10.4254/wjh.v3.i9.228.
- Tian Y, Xu Y, Feng S, He S, Zhao S, Zhu L, *et al.* 2017. *The first wave of T lymphopoiesis in zebrafish arises from aorta endothelium independent of hematopoietic stem cells*. Journal of Experimental Medicine. doi: 10.1084/jem.20170488.
- Wang RWY. 2011. *Pharmacokinetics Of Luteolin And Apigenin In Rats After Single Oral Administration Of Chrysanthemum Morifolium Extract At The Dose Of Effectiveness And Approximating To The Maximal Tolerance*, Journal Of Chinese Pharmaceutical Sciences, Pp. 214-218.
- WHO. 2018. *Cancer. Mal* (<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer>).
- Wijatmoko A. 2008. *Isolasi dan Uji Genotoksisitas Inhibitor Topoisomerase I dari Daun Ipomea pes-caprae*. Tesis. Tidak diterbitkan, Departemen Teknologi Hsil Pertanian Institut Pertanian Bogor, Bogor
- Wijayakusuma P. H. M. H. 2008. *Ramuan Lengkap Herbal Sembuhkan Penyakit*. Jakarta: Pustaka Bunda.
- Williams H. K. 2000. *Molecular pathogenesis of oral squamous carcinoma*. Journal of Clinical Pathology - Molecular Pathology. doi: 10.1136/mp.53.4.165.
- Wongso H, Zainuddin N, Iswahyudi. 2013. *Biodistribution And Imaging Of The 99mTc-Glutation Radiopharmaceutical In White Rats Induced With Cancer*. Atom Indonesia, Vol. 39, No.3:106-111
- World Cancer Research Fund. 2018. *Mouth, Mouth, Pharynx & Larynx Cancers*:

How Diet, Nutrition And Physical Activity Affect Mouth And Throat Cancer Risk, World Cancer Research Fund International, London, N.P.

World Health Organization. 2019. *Indonesia Source GLOBOCAN 2018*. International Agency for Research on Cancer, 256, pp. 1–2. Available at: <http://gco.iarc.fr/>. <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/360-indonesia-fact-sheets.pdf> -Diakses Oktober 2020.

Wu J, Guo Q, Zhang G, Zhao L, Lv Y, Wang J, *et al.* 2020. *Study on the targeted therapy of oral squamous cell carcinoma with a plasmid expressing PE38KDEL toxin under control of the SERPINB3 promoter*. *Cancer Medicine*. doi: 10.1002/cam4.2880.

Xie Y. Y, Yuan D, Yang Y. J, Wang H. L, Wu F. C. 2009. *Cytotoxic activity of flavonoids from the flowers of chrysanthemum morifolium on human colon cancer Colon205 cells*. *Journal of Asian Natural Products Research*. doi: 10.1080/10286020903128470.

Yahfoufi N, Alsadi N, Jambi M, Matar C. 2018. *The immunomodulatory and anti-inflammatory role of polyphenols*. *Nutrients*. doi: 10.3390/nu10111618.

Zyl A. V, Bunn B. K. 2012. *Clinical features of oral cancer*. *SADJ : journal of the South African Dental Association tydskrif van die Suid-Afrikaanse Tandheelkundige Vereniging*.

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Penghitungan Dosis dicampur dengan Na CMC

a. Dosis stok volume sonde (seluruh kelompok)

= dosis sonde (ml) x jumlah tikus semua kelompok perlakuan (ekor) x
lama pemberian (hari)

$$= 1 \text{ ml} \times 18 \text{ ekor} \times 14 \text{ hari}$$

$$= 252 \text{ ml}$$

Total stok untuk menyonde seluruh kelompok perlakuan selama 14 hari
adalah 252 ml

b. Dosis stok volume sonde (setiap kelompok)

= dosis sonde (ml) x jumlah per kelompok perlakuan (ekor) x lama
pemberian (hari)

$$= 1 \text{ ml} \times 6 \text{ ekor} \times 14 \text{ hari}$$

$$= 84 \text{ ml}$$

Total stok untuk menyonde satu kelompok perlakuan selama 14 hari
adalah 84 ml

c. Dosis perlakuan ekstrak daun krisan

1. Dosis 1 = 50 mg/kgBB \square 0.00005 gr/grBB

2. Dosis 2 = 100 mg/kgBB \square 0.0001 gr/grBB

3. Dosis 3 = 200 mg/kgBB \square 0.0002 gr/grBB

d. Perhitungan ekstrak daun krisan setiap dosis perlakuan (selama 14 hari)

1. Dosis 1: $0.00005 \text{ gr} / 1 \text{ ml} = x \text{ gr} / 84 \text{ ml}$

$$X = 0.0042 \text{ gr}$$

2. Dosis 2: $0.0001 \text{ gr/ 1 ml} = x \text{ gr/ 84 ml}$

$$X = 0.0084 \text{ gr}$$

3. Dosis 3: $0.0002 \text{ gr/ 1 ml} = x \text{ gr/ 84 ml}$

$$X = 0.0168 \text{ gr}$$

$$\text{Total kebutuhan ekstrak} = 0.0042 + 0.0084 + 0.0168 = 0.0294$$

Jadi stok dosis yang diperlukan selama 14 hari yaitu 0.0294

e. Perhitungan stok larutan ekstrak daun krisan

1. Dosis 3

$$0.0294 \text{ gr} \times 1 \text{ ml} = 0.0002 \text{ gr} \times K \text{ ml}$$

$$K = 147 \text{ ml}$$

0.0294 gr ekstrak daun krisan yang dilarutkan dalam Na CMC sampai volumenya 147 ml. Lalu diambil sebanyak 84 ml untuk dosis 3, untuk di sonde selama 14 hari. Sisa stok yaitu 63 ml akan diencerkan dan dipakai untuk dosis berikutnya

2. Dosis 2

$$0.0002 \times (147 - 84) \text{ ml} = 0.0001 \text{ gr} \times K \text{ ml}$$

$$0.0002 \times 63 \text{ ml} = 0.0001 \text{ gr} \times K \text{ ml}$$

$$K = 126 \text{ ml}$$

Sisa larutan dosis 3 yaitu 63 ml, diencerkan menggunakan Na CMC sampai volume nya 126 ml. Kemudian akan diambil sebanyak 84 ml untuk stok dosis 2. Dan sisanya adalah 42 ml yang akan dipakai untuk dosis berikutnya.

3. Dosis 1

$$0.0001 \text{ gr} \times (126 - 84) = 0.00005 \text{ gr} \times K \text{ ml}$$

$$0.0001 \text{ gr} \times 42 \text{ ml} = 0.00005 \text{ gr} \times K \text{ ml}$$

$$K = 84 \text{ ml}$$

Sisa larutan pada dosis 2 adalah 42 ml, yang diencerkan menggunakan Na CMC sampai volumenya 84 ml. Dan akan diambil sebagai dosis 1 sehingga, tidak ada larutan yang tersisa. Sisa larutan 0 ml.

Lampiran 2. Hasil Uji Statistik Jumlah Makrofag

Tests of Normality

	Kontrol	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Jumlah makrofag	Kontrol -	.196	4	.	.969	4	.836
	Kontrol +	.220	7	.200*	.893	7	.289
	Dosis 1	.148	6	.200*	.968	6	.881
	Dosis 2	.270	4	.	.905	4	.456
	Dosis 3	.180	4	.	.993	4	.970

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

		Levene			
		Statistic	df1	df2	Sig.
Jumlah makrofag	Based on Mean	2.169	4	20	.110
	Based on Median	1.045	4	20	.409
	Based on Median and with adjusted df	1.045	4	9.838	.432
	Based on trimmed mean	2.030	4	20	.129

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Kontrol -	4	23.9000	6.57774	3.28887	13.4333	34.3667	17.20	32.60
Kontrol +	7	48.5000	14.93709	5.64569	34.6855	62.3145	33.80	74.80
Dosis 1	6	29.6667	4.97902	2.03268	24.4415	34.8918	23.70	37.90
Dosis 2	4	27.9750	9.59006	4.79503	12.7151	43.2349	19.50	41.50
Dosis 3	4	22.7750	5.51747	2.75874	13.9955	31.5545	15.80	29.00
Total	25	32.6440	13.77707	2.75541	26.9571	38.3309	15.80	74.80

ANOVA

Jumlah makrofag

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2595.693	4	648.923	6.623	.001
Within Groups	1959.688	20	97.984		
Total	4555.382	24			

Multiple Comparisons


Dependent Variable: Jumlah makrofag

Tukey HSD

(I) Kontrol	(J) Kontrol	Mean	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
		Difference (I-J)			Lower Bound	Upper Bound
Kontrol -	Kontrol +	-24.60000*	6.20434	.006	-43.1657	-6.0343
	Dosis 1	-5.76667	6.38959	.893	-24.8867	13.3534
	Dosis 2	-4.07500	6.99944	.976	-25.0200	16.8700
	Dosis 3	1.12500	6.99944	1.000	-19.8200	22.0700
Kontrol +	Kontrol -	24.60000*	6.20434	.006	6.0343	43.1657
	Dosis 1	18.83333*	5.50713	.020	2.3539	35.3127
	Dosis 2	20.52500*	6.20434	.026	1.9593	39.0907
	Dosis 3	25.72500*	6.20434	.004	7.1593	44.2907
Dosis 1	Kontrol -	5.76667	6.38959	.893	-13.3534	24.8867
	Kontrol +	-18.83333*	5.50713	.020	-35.3127	-2.3539
	Dosis 2	1.69167	6.38959	.999	-17.4284	20.8117
	Dosis 3	6.89167	6.38959	.815	-12.2284	26.0117
Dosis 2	Kontrol -	4.07500	6.99944	.976	-16.8700	25.0200
	Kontrol +	-20.52500*	6.20434	.026	-39.0907	-1.9593
	Dosis 1	-1.69167	6.38959	.999	-20.8117	17.4284
	Dosis 3	5.20000	6.99944	.944	-15.7450	26.1450
Dosis 3	Kontrol -	-1.12500	6.99944	1.000	-22.0700	19.8200
	Kontrol +	-25.72500*	6.20434	.004	-44.2907	-7.1593
	Dosis 1	-6.89167	6.38959	.815	-26.0117	12.2284
	Dosis 2	-5.20000	6.99944	.944	-26.1450	15.7450

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Lampiran 3. Surat Keterangan Kelaikan Etik


	<p>FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN Kampus 3 FKIK Gedung Ibnu Thufail Lantai 2 Jalan Locari, Tielang Kota Batu E-mail: kepk.fkik@uin-malang.ac.id - Website : http://www.kepk.fkik.uin-malang.ac.id</p>
	<p>KETERANGAN KELAIKAN ETIK (ETHICAL CLEARANCE) No. 001/EC/KEPK-FKIK/2021</p>

KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN(KEPK) FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN UIN MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG TELAH MEMPELAJARI DENGAN SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG DIUSULKAN :

Judul	Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Krisan (<i>Chrysanthemum Cinerariiflorum</i>) Sebagai Antikanker Oral Squamous Cell Carcinoma (OSCC) Secara In Vivo
Sub Judul	Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Krisan (<i>Chrysanthemum Cinerariiflorum</i>) Sebagai Antikanker Oral Squamous Cell Carcinoma (OSCC) Secara In Vivo
Peneliti	- drg. Anik Listiyana, M.Biomed - drg. Risma Aprinda K., M.Si - Nadya Dharmayanti - Al Mazida Fauzil Aishaqecna - Anggun Putri Maulana Ahmad - Rizkia Milladina Hidayatullah
Unit / Lembaga	Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
Tempat Penelitian	UIN Maulana Malik Ibrahim Malang

DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA PENELITIAN TERSEBUT TELAH MEMENUHI SYARAT ATAU LAIK ETIK.

Malang, 11 Januari 2021
Ketua



Awin Ainur F, M.Biomed
NIP. 19800203200912 2 002

Keterangan :

- Keterangan Laik Etik Ini berlaku 1 (satu) tahun sejak tanggal dikeluarkan.
- Pada akhir penelitian, laporan Pelaksanaan Penelitian harus diserahkan kepada KEPK-FKIK dalam bentuk *soft copy*.
- Apabila ada perubahan protokol dan/atau Perpanjangan penelitian, harus mengajukan kembali permohonan Kajian Etik Penelitian (Amandemen Protokol).

Lampiran 4. Surat Determinasi Krisan



PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR
DINAS KESEHATAN
UPT LABORATORIUM HERBAL MATERIA MEDICA BATU
Jalan Lahor No.87 Telp. (0341) 593396
KOTA BATU 65313

Nomor : 074/093A/102.7/2020
Sifat : Biasa
Perihal : **Determinasi Tanaman Krisan**

Memenuhi permohonan saudara :

Nama : FARIDA RAHMA SALSABILA
NIM : 16670011
Fakultas : FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UIN MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG

1. Perihal determinasi tanaman bunga krisan/ piretrum

Kingdom : Plantae
Sub Kingdom : Tracheobionta (berpembuluh)
Divisi : Spermatophyta
Sub divisi : Angiospermae
Kelas : Dicotyledonae
Bangsa : Asterales
Suku : Asteraceae
Marga : Tanacetum
Jenis : *Chrysanthemum cinerariifolium* (Trevir.) Vis.
Sinonim : *Chrysanthemum cinerariaefolium* Vis.; *Tanacetum cinerariifolium* (Trevir.) Sch.
Bip.; *Pyrethrum cinerariifolium* Trevir

Nama Umum : Bunga piretrum, krisan, seruni.
Kunci Determinasi : 1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23a-1b-6b-7b-9b-10b.

2. Morfologi : Habitus: Terna, tinggi 0,5-1 m. Batang: Tegak, bulat, sedikit bercabang, permukaan kasar, hijau. Daun: Tunggal, berseling, lonjong, ujung runcing, pangkal membulat, tepi bertoreh, panjang 7-13 cm, lebar 3-6 cm pertulangan menyirip, tebal, permukaan kasar, hijau. Bunga: Majemuk, bentuk cawan, di ketiak daun atau di ujung batang, garis tengah 3-5 cm, kelopak bentuk cawan, ujung runcing, hijau, benang sari dan putik halus, berkumpul di tengah bunga, mahkota lonjong, lepas, panjang 3-8 mm, putih. Buah: Lonjong, kecil, ditutupi selaput buah, masih muda putih setelah tua hitam. Biji: Lonjong, kecil, hitam. Akar: Tunggang, putih.

3. Bagian yang digunakan : Daun.

4. Penggunaan : Penelitian.

5. Daftar Pustaka

- Backer, C.A. & Bakhuizen Van Den Brink, R.C. 1963. *Flora of Java (Spermatophytes Only)*, Vol I. N.V.P. Noordhoff, Groningen.
- Backer, C.A. & Bakhuizen Van Den Brink, R.C. 1965. *Flora of Java (Spermatophytes Only)*, Vol. II. N.V.P. Noordhoff, Groningen.

Demikian surat keterangan determinasi ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Batu, 22 Januari 2020

An. Kepala UPT Lab. Herbal Materia Medica Batu

Kepala Seksi Pelayanan Laboratorium Herbal,



Fitria Rahmawati, S.Farm., Apt.
NIP. 19900430 201403 2 002

Lampiran 5. Dokumentasi Pelaksanaan Penelitian



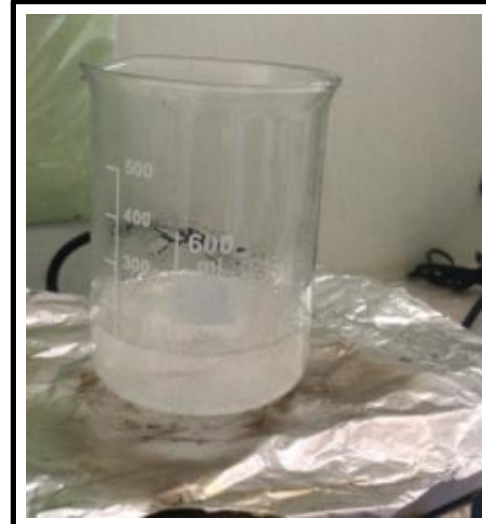
Penimbangan dan Pembuatan Laruran Na-CMC 0,5%



Hasil Ekstrak Kental Daun Krisan



Proses Aklimatisasi



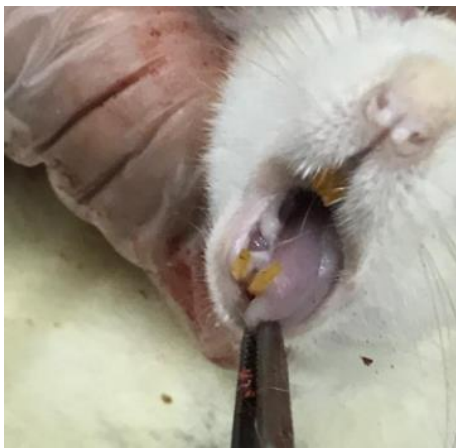
Laruran Na-CMC 0,5%



Ekstrak Daun Krisan yang Dilarutkan Na-CMC 0,5%



Proses Penyondean Ekstrak Daun Krisan yang Dilarutkan Na-CMC



Pembedahan Organ Lidah



Organ Lidah Tikus