

**LAPORAN KEMAJUAN
PENELITIAN DASAR UNGGULAN PERGURUAN TINGGI**



**POTENSI ANTIKANKER SENYAWA FLAVONOID DARI MINYAK DAUN
CENGKIH MELALUI EKSPRESI MIRNA-16, MIRNA-196B DALAM MEKANISME
MOLEKULER PROLIFERASI, APOPTOSIS DAN METASTASIS PADA
PENGOBATAN KANKER HATI**

TAHUN KE 2 DARI RENCANA 3 TAHUN

TIM PENELITIAN

**Ketua
Anggota**

Dr. Maya Tejasari, dr., M.Kes

NIDN 0417077001

1. Dr. Titik Respati, drg., M.Sc.PH

NIDN 0405096505

2. Siti Annisa Devi Trusda, dr., M.Kes

NIDN 0430127005

3. Eka Hendryanny, dr., M.Kes

NIDN 0412037103

**UNIVERSITAS ISLAM BANDUNG
NOVEMBER 2019**

HALAMAN PENGESAHAN

Judul : POTENSI ANTIKANKER SENYAWA FLAVONOID
DARI MINYAK DAUN CENKIKH MELALUI
EKSPRESI MIRNA-16, MIRNA-196B DALAM
MEKANISME MOLEKULER PROLIFERASI,
APOPTOSIS DAN METASTASIS PADA
PENGOBATAN KANKER HATI

Peneliti/Pelaksana

Nama Lengkap : Dr. dr. MAYA TEJASARI, S.Kes, M.Kes
Perguruan Tinggi : Universitas Islam Bandung
NIDN : 0417077001
Jabatan Fungsional : Lektor
Program Studi : Kedokteran
Nomor HP : 087823299766
Alamat surel (e-mail) : mayatejasari4981@gmail.com

Anggota (1)

Nama Lengkap : Dr drg TITIK RESPATI M.Sc.
NIDN : 0405096505
Perguruan Tinggi : Universitas Islam Bandung

Anggota (2)

Nama Lengkap : dr. SITI ANISA DEVI TRUSDA M.Kes.
NIDN : 0430127005
Perguruan Tinggi : Universitas Islam Bandung

Anggota (3)

Nama Lengkap : Dr EKA HENDRAYANI M.Kes
NIDN : 0412037103
Perguruan Tinggi : Universitas Islam Bandung

Institusi Mitra (jika ada)

Nama Institusi Mitra : -
Alamat : -
Penanggung Jawab : -

Tahun Pelaksanaan : Tahun ke 2 dari rencana 3 tahun
Biaya Tahun Berjalan : Rp 492,050,000
Biaya Keseluruhan : Rp 233,400,000

Mengetahui,
Ketua LPPM



(Prof. Dr. Hj. Atie Rachmatie, Dra., M.Si)
NIP/NIK 195903301986012002

Bandung, 3 - 9 - 2019
Ketua,

(Dr. dr. MAYA TEJASARI, S.Kes, M.Kes)
NIP/NIK D.03.0.377

PROTEKSI ISI LAPORAN KEMAJUAN PENELITIAN

Dilarang menyalin, menyimpan, memperbanyak sebagian atau seluruh isi laporan ini dalam bentuk apapun kecuali oleh peneliti dan pengelola administrasi penelitian

LAPORAN KEMAJUAN PENELITIAN MULTI TAHUN

ID Proposal: fa5407d9-5381-42c1-b8a4-46a9649cbc65
Laporan Kemajuan Penelitian: tahun ke-2 dari 3 tahun

1. IDENTITAS PENELITIAN

A. JUDUL PENELITIAN

POTENSI ANTIKANKER SENYAWA FLAVONOID DARI MINYAK DAUN CENGIH MELALUI EKSPRESI MIRNA-16, MIRNA-196B DALAM MEKANISME MOLEKULER PROLIFERASI, APOPTOSIS DAN METASTASIS PADA PENGOBATAN KANKER HATI

B. BIDANG, TEMA, TOPIK, DAN RUMPUN BIDANG ILMU

Bidang Fokus RIRN / Bidang Unggulan Perguruan Tinggi	Tema	Topik (jika ada)	Rumpun Bidang Ilmu
c. Pengembangan bahan alami untuk kebutuhan alat diagnosis, obat, dan vaksin untuk meningkatkan derajat kesehatan masyarakat Indonesia.	-	Uji farmakologi aktivitas tanaman Indonesia	Ilmu Kedokteran Dasar & Biomedis

C. KATEGORI, SKEMA, SBK, TARGET TKT DAN LAMA PENELITIAN

Kategori (Kompetitif Nasional/ Desentralisasi/ Penugasan)	Skema Penelitian	Strata (Dasar/ Terapan/ Pengembangan)	SBK (Dasar, Terapan, Pengembangan)	Target Akhir TKT	Lama Penelitian (Tahun)
Penelitian Desentralisasi	Penelitian Dasar Unggulan Perguruan Tinggi	SBK Riset Dasar	SBK Riset Dasar	2	3

2. IDENTITAS PENGUSUL

Nama, Peran	Perguruan Tinggi/ Institusi	Program Studi/ Bagian	Bidang Tugas	ID Sinta	H-Index
MAYA TEJASARI Ketua Pengusul	Universitas Islam Bandung	Kedokteran		5977291	0
Dr drg TITIK RESPATI M.Sc. Anggota Pengusul 1	Universitas Islam Bandung	Kedokteran		129051	0
dr. SITI ANISA DEVI TRUSDA	Universitas Islam	Kedokteran		0	0

M.Kes. Anggota Pengusul 2	Bandung				
Dr EKA HENDRAYANI M.Kes Anggota Pengusul 3	Universitas Islam Bandung	Kedokteran		0	0

3. MITRA KERJASAMA PENELITIAN (JIKA ADA)

Pelaksanaan penelitian dapat melibatkan mitra kerjasama, yaitu mitra kerjasama dalam melaksanakan penelitian, mitra sebagai calon pengguna hasil penelitian, atau mitra investor

Mitra	Nama Mitra
-------	------------

4. LUARAN DAN TARGET CAPAIAN

Luaran Wajib

Tahun Luaran	Jenis Luaran	Status target capaian (<i>accepted, published, terdaftar atau granted, atau status lainnya</i>)	Keterangan (<i>url dan nama jurnal, penerbit, url paten, keterangan sejenis lainnya</i>)
3	Publikasi Ilmiah Jurnal Internasional	accepted/published	Onco Target and therapy

Luaran Tambahan

Tahun Luaran	Jenis Luaran	Status target capaian (<i>accepted, published, terdaftar atau granted, atau status lainnya</i>)	Keterangan (<i>url dan nama jurnal, penerbit, url paten, keterangan sejenis lainnya</i>)
--------------	--------------	---	--

5. ANGGARAN

Rencana anggaran biaya penelitian mengacu pada PMK yang berlaku dengan besaran minimum dan maksimum sebagaimana diatur pada buku Panduan Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Edisi 12.

Total RAB 3 Tahun Rp. 469,025,000

Tahun 1 Total Rp. 0

Tahun 2 Total Rp. 210,375,000

Jenis Pembelanjaan	Item	Satuan	Vol.	Biaya Satuan	Total
Analisis Data	HR Sekretariat/Administrasi Peneliti	OB	2	587,500	1,175,000
Analisis Data	HR Pengolah Data	P (penelitian)	4	750,000	3,000,000
Analisis Data	Biaya konsumsi rapat	OH	4	50,000	200,000
Analisis Data	Biaya analisis sampel	Unit	50	100,000	5,000,000
Bahan	ATK	Paket	1	3,000,000	3,000,000
Bahan	Bahan Penelitian (Habis Pakai)	Unit	1	163,600,000	163,600,000
Sewa Peralatan	Peralatan penelitian	Unit	7	1,000,000	7,000,000
Sewa Peralatan	Kebun Percobaan	Unit	7	1,000,000	7,000,000

Jenis Pembelanjaan	Item	Satuan	Vol.	Biaya Satuan	Total
Sewa Peralatan	Ruang penunjang penelitian	Unit	7	1,200,000	8,400,000
Sewa Peralatan	Transport penelitian	OK (kali)	12	1,000,000	12,000,000

Tahun 3 Total Rp. 258,650,000

Jenis Pembelanjaan	Item	Satuan	Vol.	Biaya Satuan	Total
Analisis Data	HR Pengolah Data	P (penelitian)	4	750,000	3,000,000
Analisis Data	Biaya konsumsi rapat	OH	8	50,000	400,000
Analisis Data	Penginapan	OH	12	400,000	4,800,000
Analisis Data	Biaya analisis sampel	Unit	100	100,000	10,000,000
Bahan	Barang Persediaan	Unit	2	3,425,000	6,850,000
Bahan	Bahan Penelitian (Habis Pakai)	Unit	14	14,000,000	196,000,000
Pengumpulan Data	Transport	OK (kali)	20	340,000	6,800,000
Pengumpulan Data	HR Pembantu Peneliti	OJ	40	100,000	4,000,000
Pengumpulan Data	HR Pembantu Lapangan	OH	60	50,000	3,000,000
Sewa Peralatan	Peralatan penelitian	Unit	7	1,000,000	7,000,000
Sewa Peralatan	Kebun Percobaan	Unit	7	1,200,000	8,400,000
Sewa Peralatan	Ruang penunjang penelitian	Unit	7	1,200,000	8,400,000

6. KEMAJUAN PENELITIAN

A. RINGKASAN: Tuliskan secara ringkas latar belakang penelitian, tujuan dan tahapan metode penelitian, luaran yang ditargetkan, serta uraian TKT penelitian.

Kanker hati merupakan jenis kanker keenam yang paling umum di dunia dan merupakan penyebab kematian tertinggi ketiga akibat kanker. Kebanyakan penderita kanker hati datang dalam stadium lanjut yang harus mendapatkan terapi sistemik karena sudah tidak memungkinkan dilakukan pembedahan, namun selama beberapa dekade terakhir belum ada terapi sistemik yang efektif untuk penderita kanker hati dengan unresectable stage, sehingga prognosis penderita kanker hati stadium lanjut masih buruk. Dalam hepatokarsinogenesis, disregulasi proliferasi, apoptosis, invasi dan metastasis melibatkan ekspresi gen target MiRNA-16 dan MiRNA-196b seperti IGF, TGF, Bcl2 dan Fas yang berhubungan dengan perkembangan tumor, progresivitas, serta resistensi tumor terhadap terapi. Wawasan ini memacu dikembangkannya strategi terapi yang ditargetkan untuk mengaktifkan apoptosis dan menghambat proliferasi, invasi dan metastasis sehingga dapat membunuh sel kanker dan mencegah progresivitasnya. Senyawa turunan flavonoid diketahui memiliki aktivitas antikanker pada berbagai jenis kanker. Untuk mendapatkan obat antikanker yang efektif dan spesifik diperlukan identifikasi protein target pada jaringan tumor yang terekspresi dalam darah. Senyawa flavonoid yang diisolasi dari minyak daun cengkih diharapkan akan mampu mengintervensi jalur tersebut. Tujuan dari penelitian tahun ke-2 ini adalah untuk menganalisis potensi antikanker senyawa turunan flavonoid dari minyak daun cengkih melalui ekspresi gen-gen IGF, TGF, Bcl2 dan Fas

sebagai target MiRNA-16 dan MiRNA-196b untuk merumuskan teori yang tepat sebagai dasar mekanisme molekuler pada proses proliferasi, apoptosis, invasi dan metastasis dalam upaya penemuan target molekuler baru dan agen terapi baru yang lebih efektif untuk pengobatan kanker hati. Penelitian ini terdiri atas beberapa tahap dengan menggunakan material yang akan diuji adalah senyawa turunan flavonoid yang berasal dari minyak daun cengkih sebagai kandidat agen terapi untuk kanker hati. Penelitian tahap awal adalah eksperimental in vitro menggunakan kultur sel kanker hati. Metode uji yang digunakan adalah uji pemberian senyawa untuk menilai kemampuannya dalam menginduksi apoptosis, menghambat proliferasi, invasi dan metastasis serta diteliti mekanisme kerjanya melalui analisis ekspresi MiRNA-16 dan MiRNA-196b dan ekspresi gen-gen targetnya yaitu IGF, TGF, Bcl2 dan Fas untuk menganalisis jalur potensial sebagai target molekuler terapi kanker hati yang baru. Penelitian tahun berikutnya merupakan eksplorasi uji kombinasi senyawa flavonoid minyak cengkih dengan senyawa aktif dari tanaman lain serta analisis ekspresi MiRNA-16, MiRNA-196b dan gen-gen targetnya, pada kultur sel kanker hati. Luaran yang telah dihasilkan hingga saat ini adalah luaran wajib berupa artikel di jurnal internasional yang sampai saat ini statusnya masih under preliminary review ke *Rasayan Journal of Chemistry* yang merupakan jurnal Q2 menurut *Scimago Journal Rank*. Luaran lainnya berupa 3 artikel di prosiding internasional terindeks yang telah dipresentasikan dalam Seminar Internasional Science Technology and Research Symposium dengan status saat ini dalam proses publish dan Medical and Global Health Symposium yang akan dipublikasikan dalam prosiding internasional terindex dan saat ini dalam status under review. Penelitian ini memberikan kontribusi pencapaian yang sesuai dengan point 1 dan point 3 bidang unggulan Renstra LPPM Unisba yakni Optimasi pemanfaatan sumber daya untuk mewujudkan pembangunan berkelanjutan berwawasan lingkungan dan Pengembangan bahan alami untuk kebutuhan alat diagnosis, obat, vaksin untuk meningkatkan derajat kesehatan masyarakat Indonesia Pada penelitian ini dilakukan eksplorasi terhadap bahan alam yang memiliki potensi dalam pengobatan sehingga selain sesuai dengan bidang unggulan Renstra LPPM Unisba juga berperan dalam peningkatan pembangunan di Indonesia khususnya bidang kesehatan dan berkontribusi dalam khasanah drugs discovery secara umum.

B. KATA KUNCI: Tuliskan maksimal 5 kata kunci.

IGF, TGF, Fas, Bcl-2, flavonoid, kanker hati

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

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

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

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

Aktivitas yang telah dilakukan sampai saat ini adalah persiapan-persiapan berupa pengadaan material untuk penelitian diantaranya pengadaan *hepatocellular carcinoma cell line* (Huh-7D12) untuk subjek sel pengujian yang akan dibandingkan dengan hasil uji terhadap *cell line* yang telah ada yaitu HepG2 *cell line*. *Cell line* Huh-7D12 dipesan dari *European Collection of Authenticated Cell Cultures* (ECACC) dengan nomor katalog 01042712-1VL. Selain itu dilakukan pengadaan bahan-bahan berupa reagen-reagen dan bahan uji termasuk primer-primer pada penelitian tahap 2 ini yang menjadi gen target dari miRNA-16 dan miRNA-196 yakni IGF, TGF, Bcl2 dan Fas, serta pembuatan formulasi nano dari sediaan minyak daun cengkih yakni eugenol dan petrogenol sebagai bahan uji. Sedangkan untuk obat standar dipersiapkan Sorafenib sebagai obat standar utama untuk terapi kanker hati juga obat-obat standar lain untuk perbandingan yakni cisplatin, doxorubicin dan tamoxifen. Reagen-reagen yang dipersiapkan terutama adalah reagen untuk realtime PCR, Kultur sel dan uji sitotoksitas. Disamping persiapan berupa pengadaan bahan juga telah dilakukan penumbuhan kultur sel kanker hati Huh-7D12, pembuatan dan pengukuran formulasi nano partikel eugenol (minyak daun cengkih) serta uji sitotoksitas obat standar dan nano partikel eugenol terhadap kultur sel Huh-7D12.

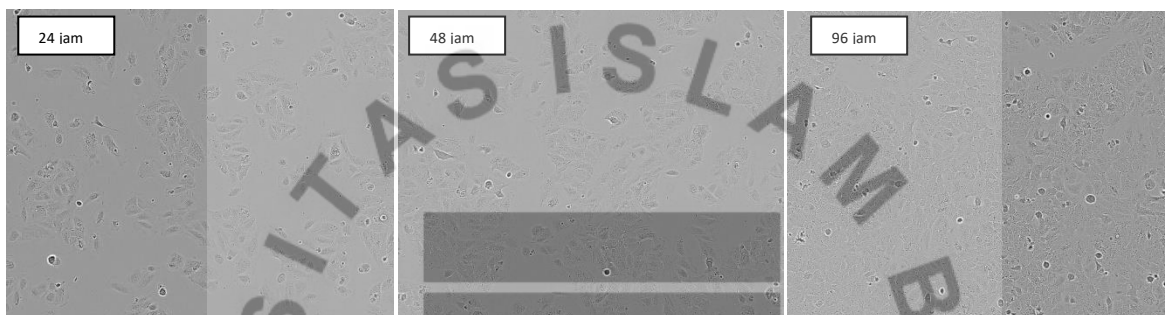
Penumbuhan kultur sel kanker hepatocellular carcinoma Huh-7D12

Sel kanker yang digunakan adalah Huh-7D12 (ECACC 01042712) diperoleh dari *European Collection of Authenticated Cell Cultures* (ECACC) dengan profil sebagai berikut :

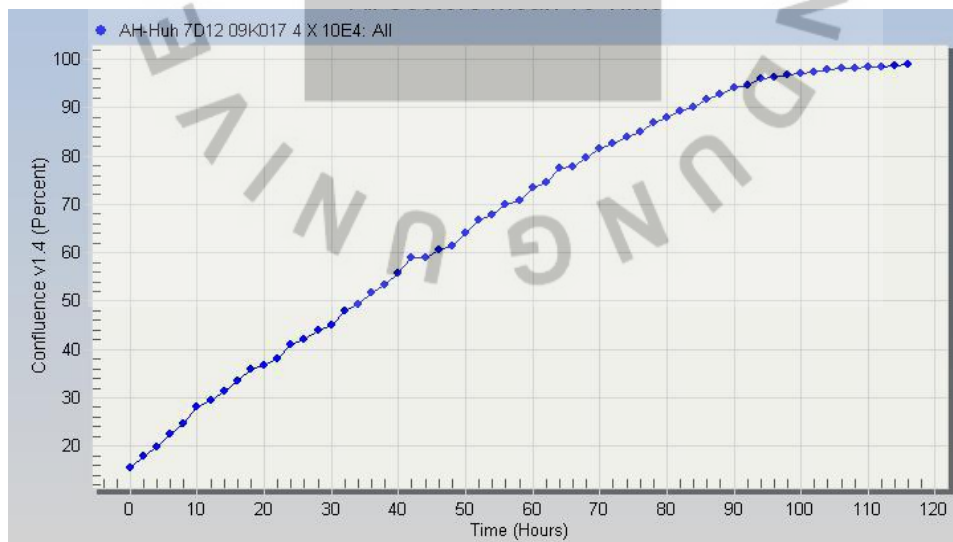
Supplied by:	European Collection of Authenticated Cell Cultures (ECACC)
Culture Type:	Cell line
Collection:	ECACC General Collection
Catalogue No.:	01042712
Cell Line Name:	Huh-7D12
Citation Guidance:	If use of this culture results in a scientific publication, it should be cited in the publication as: Huh-7D12 (ECACC 01042712)
Keywords:	Human hepatocellular carcinoma
Cell Line Description:	Huh-7D12 is one of a series of stable HDAG (Hepatitis Delta Antigen)-expressing human hepatoma cell lines that have been isolated and characterised.
Species:	Human
Tissue of Origin:	Liver
CellType:	Epithelial
Growth Mode:	Adherent
DNA Profile:	STR-PCR Data: Amelogenin: X CSF1PO: 11

	D13S317: 10 D16S539: 10 D5S818: 12 D7S820: 11 TH01: 7 TPOX: 8,11 vWA: 16,18
Karyotype:	That of original Huh-7

Sel kanker Huh-7D12 ditumbuhkan dalam medium Dulbecco's modification of Eagle's medium (DMEM) beserta 10% Foetal Bovine Serum (FBS), 2mM Glutamine, 100 units/ml penicillin, 100 g/ml streptomycin in 5% CO₂ pada suhu 37°C sesuai protokol dari ECACC. Medium diganti setiap 3 hari sekali. Hasil penumbuhan sel Huh-7D12 selama 24 jam, 48 jam dan 96 jam yang diobservasi menggunakan mikroskop inverted dapat dilihat pada gambar 1 sedangkan kurva pertumbuhannya dapat dilihat pada gambar 2.



Gambar 1. Gambaran sel kanker hati Huh-7D12



Gambar 2. Kurva pertumbuhan Huh-7D12

Pembuatan dan pengukuran formulasi nano partikel eugenol dan methyl eugenol

Bahan uji adalah sediaan minyak daun cengkih yakni eugenol dan petrogenol (methyl eugenol). Pembuatan nano partikel diawali dengan pembentukan fasa minyak yang merupakan campuran gliseril monooleat sebagai minyak, Cremophor RH-40 sebagai surfaktan, dan PEG 400

sebagai kosurfaktan pada perbandingan 1:8:1. Sejumlah eugenol atau petrogenol ditambahkan ke dalam fasa minyak, diaduk menggunakan pengaduk magnetik selama 2 jam dan disonikasi selama 1 jam. Nanoemulsi yang mengandung eugenol kemudian dicampurkan dengan air deion sebagai fasa luar dan diaduk ringan dengan pengaduk magnetik.

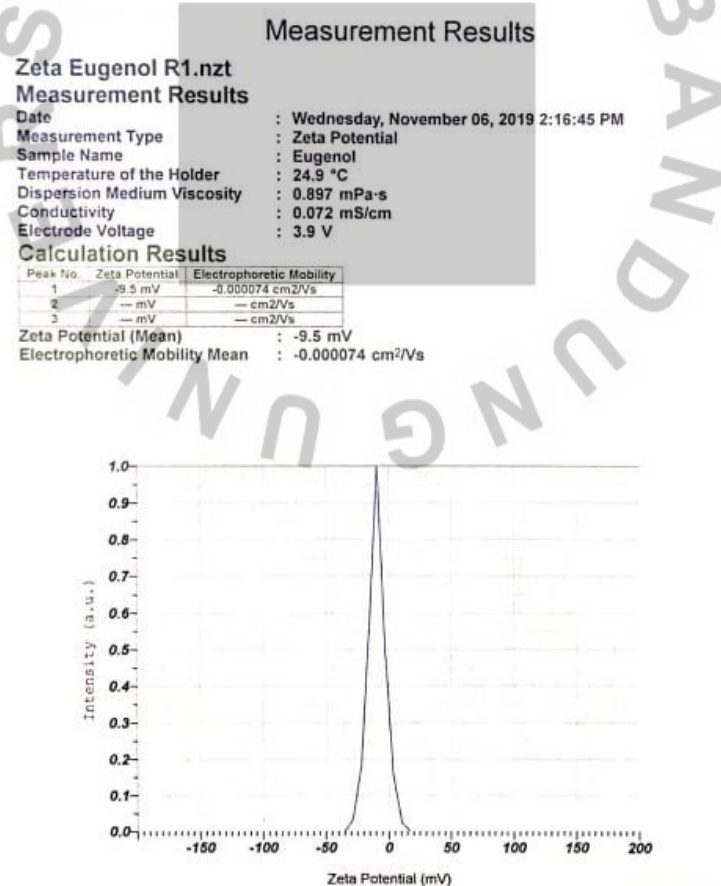
Evaluasi Ukuran Globul, Distribusi Ukuran, dan Potensial Zeta

Sejumlah 2 gram nanoemulsi eugenol dicampurkan dengan 5 mL air deion dan diaduk ringan dengan pengaduk magnetik hingga terbentuk nanoemulsi yang ditandai dengan terbentuknya campuran yang transparan. Kemudian dilakukan penentuan ukuran globul dan distribusi ukuran sediaan menggunakan *photon correlation spectroscopy*, serta pengukuran potensial zeta menggunakan *electrophoretic light scattering*. Selanjutnya dilakukan analisis pengaruh jumlah eugenol yang diinkorporasikan ke dalam nanoemulsi terhadap ukuran globul, distribusi ukuran, dan potensial zeta.

Morfologi Sediaan

Penentuan morfologi nanoemulsi dilakukan menggunakan mikroskop elektron transmisi (*transmission electron microscopy/TEM*). Nanoemulsi eugenol dicampurkan dengan air deion kemudian ditetaskan sebanyak 10 μL di atas spesimen. Alat *grid* mesh 400 diletakkan di atas spesimen yang sudah terdapat tetesan sediaan nanoemulsi dan dibiarkan selama 1 menit. Sisa tetesan sediaan pada *grid* dibersihkan menggunakan kertas saring. Kemudian ditetaskan sebanyak 10 μL uranil asetat di atas *grid* dan sisa tetesan dibersihkan kembali menggunakan kertas saring. *Grid* dibiarkan selama 30 menit hingga kering dan dimasukkan ke alat TEM untuk dianalisa.

Hasil evaluasi potensial zeta dari sediaan nanopartikel eugenol dan methyl eugenol (petrogenol) dapat dilihat pada gambar 3-6.



Gambar 3

Measurement Results

Zeta Petrogenol R1.nzt

Measurement Results

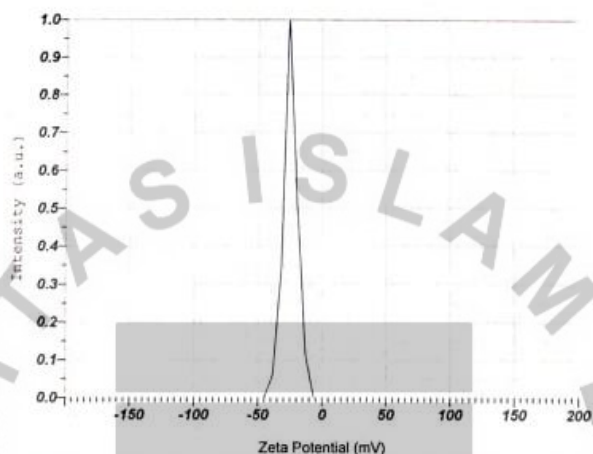
Date : Wednesday, November 06, 2019 2:32:48 PM
 Measurement Type : Zeta Potential
 Sample Name : Petrogenol
 Temperature of the Holder : 25.0 °C
 Dispersion Medium Viscosity : 0.896 mPa·s
 Conductivity : 0.068 mS/cm
 Electrode Voltage : 3.9 V

Calculation Results

Peak No.	Zeta Potential	Electrophoretic Mobility
1	-24.7 mV	-0.000191 cm ² /Vs
2	— mV	— cm ² /Vs
3	— mV	— cm ² /Vs

Zeta Potential (Mean) : -24.7 mV

Electrophoretic Mobility Mean : -0.000191 cm²/Vs



Gambar 4

Petrogenol R1.nsz

Measurement Results

Date : Wednesday, November 06, 2019 12:46:44 PM
 Measurement Type : Particle Size
 Sample Name : Petrogenol
 Scattering Angle : 90
 Temperature of the Holder : 24.8 °C
 Dispersion Medium Viscosity : 0.899 mPa·s
 Transmission Intensity before Meas. : 30864
 Distribution Form : Standard
 Distribution Form (Dispersy) : Monodisperse
 Representation of Result : Scattering Light Intensity
 Count Rate : 2179 kCPS

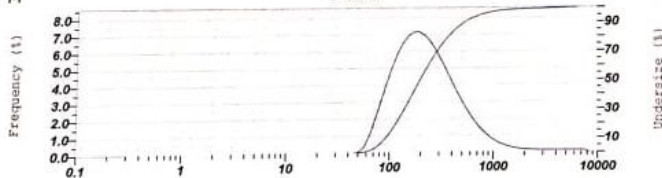
Calculation Results

Peak No.	S.P.Area Ratio	Mean	S. D.	Mode
1	0.99	278.3 nm	290.6 nm	181.7 nm
2	0.01	5323.1 nm	1103.0 nm	4912.9 nm
3	—	— nm	— nm	— nm
Total	1.00	311.6 nm	508.9 nm	181.7 nm

Cumulant Operations

Z-Average : 228.8 nm

PI : 0.363



No.	Diameter	Frequency	Cumulation	No.	Diameter	Frequency	Cumulation	No.	Diameter	Frequency	Cumulation
1	0.34	0.000	0.000	22	4.42	0.000	0.000	43	57.78	0.366	0.366
2	0.38	0.000	0.000	23	4.91	0.000	0.000	44	62.50	0.631	0.997
3	0.43	0.000	0.000	24	5.61	0.000	0.000	45	72.51	1.066	1.663
4	0.49	0.000	0.000	25	6.34	0.000	0.000	46	82.21	1.566	2.489
5	0.55	0.000	0.000	26	7.17	0.000	0.000	47	93.07	2.066	3.315
6	0.62	0.000	0.000	27	8.05	0.000	0.000	48	103.81	2.566	4.141
7	0.70	0.000	0.000	28	8.97	0.000	0.000	49	114.18	3.066	4.967
8	0.80	0.000	0.000	29	10.00	0.000	0.000	50	124.18	3.566	5.793
9	0.96	0.000	0.000	30	11.16	0.000	0.000	51	133.78	4.066	6.619
10	1.07	0.000	0.000	31	12.47	0.000	0.000	52	142.98	4.566	7.445
11	1.15	0.000	0.000	32	13.91	0.000	0.000	53	151.78	5.066	8.271
12	1.30	0.000	0.000	33	15.48	0.000	0.000	54	159.98	5.566	9.097
13	1.47	0.000	0.000	34	17.20	0.000	0.000	55	167.58	6.066	9.923
14	1.66	0.000	0.000	35	19.07	0.000	0.000	56	174.58	6.566	10.749
15	1.87	0.000	0.000	36	21.10	0.000	0.000	57	180.98	7.066	11.575
16	2.11	0.000	0.000	37	23.29	0.000	0.000	58	186.78	7.566	12.401
17	2.39	0.000	0.000	38	25.63	0.000	0.000	59	191.98	8.066	13.227
18	2.70	0.000	0.000	39	28.13	0.000	0.000	60	196.58	8.566	14.053
19	3.05	0.000	0.000	40	30.88	0.000	0.000	61	200.58	9.066	14.879
20	3.45	0.000	0.000	41	33.87	0.000	0.000	62	204.08	9.566	15.705
21	3.89	0.000	0.000	42	37.11	0.000	0.000	63	207.18	10.066	16.531
22	4.38	0.000	0.000	43	40.59	0.000	0.000	64	210.08	10.566	17.357
23	4.91	0.000	0.000	44	44.31	0.000	0.000	65	212.78	11.066	18.183
24	5.48	0.000	0.000	45	48.27	0.000	0.000	66	215.28	11.566	19.009
25	6.09	0.000	0.000	46	52.47	0.000	0.000	67	217.58	12.066	19.835
26	6.74	0.000	0.000	47	56.91	0.000	0.000	68	219.68	12.566	20.661
27	7.43	0.000	0.000	48	61.59	0.000	0.000	69	221.58	13.066	21.487
28	8.16	0.000	0.000	49	66.51	0.000	0.000	70	223.28	13.566	22.313
29	8.93	0.000	0.000	50	71.67	0.000	0.000	71	224.78	14.066	23.139
30	9.74	0.000	0.000	51	77.07	0.000	0.000	72	226.08	14.566	23.965
31	10.59	0.000	0.000	52	82.71	0.000	0.000	73	227.18	15.066	24.791
32	11.48	0.000	0.000	53	88.59	0.000	0.000	74	228.08	15.566	25.617
33	12.41	0.000	0.000	54	94.71	0.000	0.000	75	228.78	16.066	26.443
34	13.38	0.000	0.000	55	101.07	0.000	0.000	76	229.28	16.566	27.269
35	14.39	0.000	0.000	56	107.67	0.000	0.000	77	229.58	17.066	28.095
36	15.44	0.000	0.000	57	114.51	0.000	0.000	78	229.68	17.566	28.921
37	16.53	0.000	0.000	58	121.59	0.000	0.000	79	229.58	18.066	29.747
38	17.66	0.000	0.000	59	128.91	0.000	0.000	80	229.18	18.566	30.573
39	18.83	0.000	0.000	60	136.47	0.000	0.000	81	228.48	19.066	31.400
40	20.04	0.000	0.000	61	144.27	0.000	0.000	82	227.48	19.566	32.226
41	21.29	0.000	0.000	62	152.31	0.000	0.000	83	226.18	20.066	33.052
42	22.58	0.000	0.000	63	160.99	0.000	0.000	84	224.58	20.566	33.878
43	23.91	0.000	0.000	64	170.31	0.000	0.000	85	222.68	21.066	34.704
44	25.28	0.000	0.000	65	180.27	0.000	0.000	86	220.48	21.566	35.530
45	26.69	0.000	0.000	66	190.87	0.000	0.000	87	217.98	22.066	36.356
46	28.14	0.000	0.000	67	203.11	0.000	0.000	88	215.18	22.566	37.182
47	29.63	0.000	0.000	68	216.99	0.000	0.000	89	212.08	23.066	38.008
48	31.16	0.000	0.000	69	232.51	0.000	0.000	90	208.68	23.566	38.834
49	32.73	0.000	0.000	70	249.67	0.000	0.000	91	205.08	24.066	39.660
50	34.34	0.000	0.000	71	268.47	0.000	0.000	92	201.28	24.566	40.486
51	36.00	0.000	0.000	72	288.91	0.000	0.000	93	197.28	25.066	41.312
52	37.70	0.000	0.000	73	311.01	0.000	0.000	94	193.08	25.566	42.138
53	39.45	0.000	0.000	74	334.77	0.000	0.000	95	188.68	26.066	42.964
54	41.24	0.000	0.000	75	360.19	0.000	0.000	96	184.08	26.566	43.790
55	43.07	0.000	0.000	76	387.27	0.000	0.000	97	179.28	27.066	44.616
56	44.94	0.000	0.000	77	416.01	0.000	0.000	98	174.28	27.566	45.442
57	46.85	0.000	0.000	78	446.41	0.000	0.000	99	169.08	28.066	46.268
58	48.80	0.000	0.000	79	478.47	0.000	0.000	100	163.68	28.566	47.094
59	50.79	0.000	0.000	80	512.19	0.000	0.000				

Gambar 5

Eugenol R1.nsz
Measurement Results

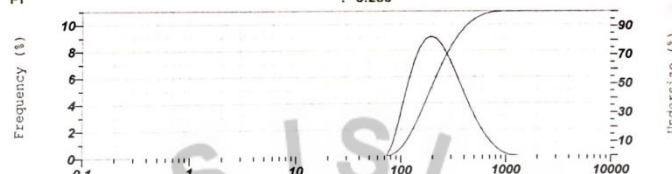
Date : Wednesday, November 06, 2019 12:27:21 PM
 Measurement Type : Particle Size
 Sample Name : Eugenol
 Scattering Angle : 90
 Temperature of the Holder : 24.8 °C
 Dispersion Medium Viscosity : 0.898 mPa-s
 Transmission Intensity before Meas. : 34913
 Distribution Form : Standard
 Distribution Form(Dispersity) : Monodisperse
 Representation of Result : Scattering Light Intensity
 Count Rate : 598 KCPS

Calculation Results

Peak No.	S.P.Area Ratio	Mean	S. D.	Mode
1	1.00	241.8 nm	135.9 nm	182.1 nm
2	---	--- nm	--- nm	--- nm
3	---	--- nm	--- nm	--- nm
Total	1.00	241.8 nm	135.9 nm	182.1 nm

Cumulant Operations

Z-Average : 204.4 nm
 P1 : 0.259



No	Diameter	Frequency	Cumulation	No	Diameter	Frequency	Cumulation	No	Diameter	Frequency	Cumulation	No	Diameter	Frequency	Cumulation
1	0.34	0.000	0.000	22	4.40	0.000	0.000	43	57.09	0.000	0.000	64	740.89	0.001	99.219
2	0.38	0.000	0.000	24	4.97	0.000	0.000	44	64.76	0.000	0.000	65	817.67	0.002	99.721
3	0.43	0.000	0.000	25	5.61	0.000	0.000	45	72.87	0.000	0.000	66	845.74	0.004	99.942
4	0.49	0.000	0.000	26	6.34	0.000	0.000	46	82.33	0.017	0.017	67	1208.92	0.004	99.996
5	0.55	0.000	0.000	27	7.17	0.000	0.000	47	93.02	2.314	2.314	68	1207.74	0.004	100.000
6	0.62	0.000	0.000	28	8.10	0.000	0.000	48	105.18	4.658	7.000	69	1269.87	0.000	100.000
7	0.70	0.000	0.000	29	9.15	0.000	0.000	49	119.72	5.732	12.732	70	1241.54	0.000	100.000
8	0.80	0.000	0.000	30	10.34	0.000	0.000	50	134.10	7.154	20.154	71	1241.54	0.000	100.000
9	0.90	0.000	0.000	31	11.68	0.000	0.000	51	151.97	8.911	29.284	72	1087.14	0.000	100.000
10	1.02	0.000	0.000	32	13.20	0.000	0.000	52	171.25	8.851	37.135	73	2122.51	0.000	100.000
11	1.15	0.000	0.000	33	14.91	0.000	0.000	53	184.48	9.667	46.702	74	2411.05	0.000	100.000
12	1.30	0.000	0.000	34	16.84	0.000	0.000	54	218.80	8.894	55.596	75	2437.04	0.000	100.000
13	1.47	0.000	0.000	35	19.01	0.000	0.000	55	248.88	9.361	64.957	76	2205.26	0.000	100.000
14	1.66	0.000	0.000	36	21.50	0.000	0.000	56	279.04	7.638	71.125	77	3621.48	0.000	100.000
15	1.87	0.000	0.000	37	24.29	0.000	0.000	57	315.27	6.819	77.944	78	4081.53	0.000	100.000
16	2.11	0.000	0.000	38	27.45	0.000	0.000	58	356.20	5.715	83.559	79	4632.81	0.000	100.000
17	2.39	0.000	0.000	39	31.01	0.000	0.000	59	402.44	4.659	88.257	80	5222.48	0.000	100.000
18	2.70	0.000	0.000	40	35.03	0.000	0.000	60	454.69	3.727	91.885	81	5901.62	0.000	100.000
19	3.05	0.000	0.000	41	39.58	0.000	0.000	61	513.71	2.842	94.727	82	6667.57	0.000	100.000
20	3.45	0.000	0.000	42	44.72	0.000	0.000	62	580.41	2.069	96.796	83	7532.85	0.000	100.000
								63	656.74	1.427	98.318	84	8510.96	0.000	100.000

Gambar 6

Minyak cengkeh adalah minyak esensial yang diekstrak dari bunga, kuncup, daun, dan batang pohon cengkeh (*Syzygium aromaticum*) mengandung senyawa aktif termasuk eugenol, eugenol asetat, dan β caryophyllene yang bertanggung jawab atas sifat fungsional minyak (mis. anti-oksidan aktivitas, penetal radikal bebas, anti-stres, dan agen anti-mikroba). Minyak cengkeh bisa diterapkan pada produk apa pun, seperti makanan, kesehatan, dan produk perawatan pribadi, tetapi penerapannya harus dilakukan dengan sangat hati-hati meskipun minyak cengkeh dikategorikan secara umum diakui aman (GRAS) oleh Administrasi Makanan dan Obat.

Sistem pemberian obat yang ideal seharusnya adalah memenuhi tujuan memaksimalkan efek terapi dan meminimalkan toksisitas. Dengan kemajuan dalam waktu dan kemajuan dalam sains dan teknologi, bentuk sediaan telah berevolusi dari campuran dan pil sederhana, ke sistem yang sangat canggih yang dikenal sebagai sistem pengiriman obat baru. Nanoemulsi adalah sistem pemberian obat baru yang terdiri dari sistem minyak dan air emulsi dengan diameter tetesan rata-rata mulai dari 50 hingga 1000 nm. Biasanya ukuran tetesan rata-rata adalah antara 100 dan 500 nm dan dapat eksis sebagai minyak dalam air (o / w) atau air dalam minyak (w / o) terbentuk, di mana inti partikel masing-masing adalah minyak atau air. Nanoemulsi dibuat dari farmasi surfaktan ceutical yang umumnya dianggap aman (GRAS). Jenis surfaktan dan konsentrasi dalam fase air dipilih untuk memberikan stabilitas yang baik terhadap koales-Cence. Beberapa jenis minyak-semi-sintetis dan sintetis alami digunakan dalam formula-tion dari nanoemulsi. Kapasitas nanoemulsi untuk melarutkan dalam jumlah besar rendah obat terlarut bersama dengan kompatibilitas bersama dan kemampuan mereka untuk melindungi obat dari hidrolisis dan degradasi enzimatik menjadikannya vektor pengiriman obat yang ideal. Keuntungan nanoemulsi sebagai pembawa dalam pemberian obat termasuk peningkatan pemuatan obat, meningkatkan kelarutan dan bioavailabilitas obat, mengurangi variabilitas pasien, mengendalikan obat rilis, dan perlindungan dari degradasi enzimatik.

Nanoteknologi saat ini merupakan bidang yang mampu merevolusi beragam properti terapi. Hasil penelitian mnunjukkan bahwa pemberian substansi yang dimediasi nanopartikel dapat digunakan sebagai agen efisien yang cepat, sederhana, hemat biaya, ramah lingkungan untuk

mengobati penyakit fatal seperti kanker. Namun, penelitian lebih lanjut masih diperlukan untuk mengeksplorasi mekanisme yang mendasarinya.

Sediaan nanopartikel dari suatu kandidat agen terapi dari bahan alam menawarkan solusi yang menarik untuk mengatasi kesulitan dalam upaya menghasilkan formulasi sediaan yang dapat memberikan hasil optimal, serta memungkinkan untuk terapi kombinasi. Formulasi lebih lanjut dibutuhkan untuk optimasi agar dapat sepenuhnya memanfaatkan kemampuan sinergis dari berbagai kandidat agen terapi. Secara keseluruhan temuan dari beberapa penelitian menunjukkan bahwa perubahan menjadi sediaan berukuran nano memang meningkatkan efektifitas obat. Hasil ini mungkin karena lebih banyak obat memasuki sel, seperti yang diamati dalam studi serapan seluler. Ini sesuai dengan hasil studi lain dalam literatur, dimana, setelah enkapsulasi menjadi partikel nano polimer, lebih besar penyerapan senyawa obat intraseluler yang dapat diamati. Selain itu formulasi yang praktis tidak larut menjadikannya lebih berguna secara klinis, seperti sediaan injeksi yang berair lebih disukai daripada minyak atau organik karena berkurangnya nyeri pada pemberian, serta efek samping toksik dari pengencer. Ini adalah dorongan signifikan dalam arena farmasi untuk melakukan reformulasi dan menggunakan kembali entitas obat yang ada, yang dapat dihambat oleh sifat fisikokimia atau memang mungkin telah gagal pada uji klinis karena iniAAAA.

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

Luaran wajib berupa artikel di jurnal internasional dengan judul " *MiRNA-196b and MiRNA-16 as new molecular targets of 1,2-epoxy-3-(3-(3,4-dimethoxyphenyl)-4H-1-benzopirran-4on) propane compound isolated from clover leaf oil in the treatment of liver cancer*" yang sampai saat ini statusnya masih *under preliminary review* ke *Rasayan Journal of Chemistry* yang merupakan jurnal Q2 menurut *Scimago Journal Rank*. (Artikel dan bukti korespondensi dengan jurnal terlampir)

Luaran lainnya berupa satu artikel di prosiding internasional terindeks berjudul " *Comparison of Flavonoid from Clove Leaf Oil Cytotoxic Activities with Doxorubicin and Cisplatin on Liver Cancer Cell Culture*" yang sebelumnya dipresentasikan dalam Seminar Internasional *Science Technology and Research Symposium* dengan status saat ini dalam proses publish. (Letter of Acceptance, artikel dan sertifikat terlampir)

Luaran lain adalah 2 artikel yang dipresentasikan dalam seminar internasional *Medical and Global Health Symposium* masing-masing berjudul " *Clove leaf Oil Compound in Combination with Standard Drug for Effective Liver Cancer Therapy*" dan " *MicroRNA-16 in Novel Liver Cancer Targetted Therapy by Clove Leaf Oil*" yang akan dipublikasikan dalam prosiding internasional terindex dan saat ini dalam status *under review*. (Letter of Acceptance, artikel dan sertifikat terlampir)

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

Penelitian ini merupakan Penelitian Dasar Unggulan Perguruan Tinggi (PDUPT) sehingga tidak terdapat mitra.

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

Kesulitan yang dihadapi dalam melaksanakan penelitian ini adalah dalam mempersiapkan bahan dan alat yang memerlukan proses yang cukup lama karena hampir seluruhnya dipesan dari luar Indonesia. Selain itu untuk berbagai proses pembuatan sediaan seperti nanopartikel maupun pengukuran-pengukuran ekspresi gen

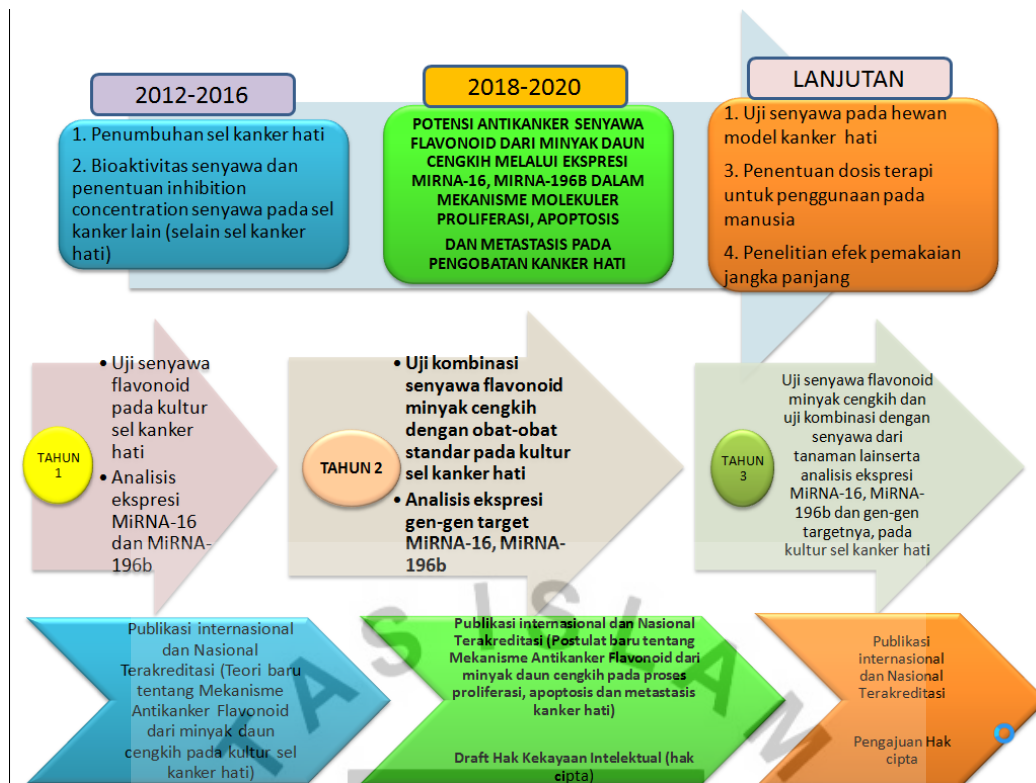
diperlukan alat-alat spesifik yang hanya ada di laboratorium-laboratorium tertentu yang cukup jauh. Dalam mempersiapkan luara kesulitan yang dihadapi adalah proses publish yang juga cukup lama untuk jurnal atau prosiding terindeks bereputasi.

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

Rencana tahapan berikutnya untuk penyelesaian penelitian tahun ke-2 dari rencana penelitian 3 tahun dan mempersiapkan luaran-luarannya adalah :

1. Melanjutkan analisis sediaan nanopartikel eugenol dan methyl eugenol dari hasil evaluasi ukuran globul, distribusi ukuran, dan potensial zeta
2. Melanjutkan eksplorasi aktivitas sitotoksik sediaan nano partikel eugenol dan methyl eugenol serta perbandingan antar keduanya dan kemungkinan kombinasinya terhadap kultur sel kanker hati HepG2 dan Huh-7D12 cell line
3. Eksplorasi uji sitotoksitas kombinasi sediaan nanopartikel eugenol maupun methyl eugenol dengan obat standar sorafenib, doxorubicin dan cisplatin terhadap kultur sel kanker hati HepG2 dan Huh-7D12 cell line
4. Melakukan Isolasi RNA total dari kultur sel kanker hati HepG2 dan Huh-7D12 cell line yang telah diberi sediaan nanopartikel eugenol atau methyl eugenol, Sorafenib, Doksorubisin, serta Cisplatin dilanjutkan reverse RNA menjadi cDNA dari kultur sel kanker hati HepG2 dan Huh-7D12 cell line.
5. Melakukan amplikasi gen target miRNA-16 dan miRNA-196 yakni IGF, TGF, Bcl2 dan Fas dari kultur sel kanker hati HepG2 dan Huh-7D12 cell line menggunakan real-time PCR, dengan menggunakan inter kontrol house keeping gene U6, lalu melakukan pengukuran ekspresi untuk masing-masing sampel
6. Penyajian dan pengolahan data serta uji statistik untuk analisis data
7. Penyusunan artikel untuk publikasi ke jurnal internasional terindex dan proses submit artikel serta persiapan presentasi dalam seminar internasional
8. Follow up status luaran yang telah dilakukan sebelumnya

Penelitian tahun berikutnya (tahun ke-3) direncanakan merupakan eksplorasi uji kombinasi sediaan ataupun senyawa dari minyak cengkih dengan senyawa aktif dari tanaman lain. Uji kombinasi ditujukan untuk memperoleh kombinasi dan konsentrasi paling efektif dalam menghambat pertumbuhan sel kanker hati. Analisis akan dilakukan terhadap profil ekspresi MiRNA-16, MiRNA-196b dan gen-gen targetnya untuk mengeksplorasi dan menghasilkan mekanisme dasar terapi bertarget oleh sediaan atau senyawa yang digunakan sehingga menghasilkan kandidat agen terapi yang efektif dan selektif untuk terapi kanker hati. Rencana penelitian tahun ke-3 ini sesuai dengan roadmap yang telah ditetapkan sebagaimana yang tergambar dalam gambar 7.



Gambar 7. Roadmap Penelitian

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

1. Shakarchi W, Alsuraifi A, Curtis A, Hoskins C. 2018. Dual Acting Polymeric Nano-Aggregates for Liver Cancer Therapy. *Pharmaceutics*, 10, 63; doi:10.3390/pharmaceutics10020063
2. Meex SJR, Andreo U, Sparks JD, Fisher EA. 2011. Huh-7 or HepG2 cells: which is the better model for studying human apolipoprotein-B100 assembly and secretion?. *Journal of Lipid Research* Volume 52
3. Abbasi BH, Nazir M, Muhammad W, Hashmi SS, Abbasi R, Rahman L, Hano. 2019. CA Comparative Evaluation of the Antiproliferative Activity against HepG2 Liver Carcinoma Cells of Plant-Derived Silver Nanoparticles from Basil Extracts with Contrasting Anthocyanin Contents. *Biomolecules* 2019, 9, 320; doi:10.3390/biom9080320
4. Chime F.C, Kenechukwu, Attam a. Nanoemulsions — Advances in Formulation, Characterization and Applications in Drug Delivery S.A. in *Application of Nanotechnology in Drug Delivery*. <http://dx.doi.org/10.5772/15371>
5. Majeed H, Antoniou J, Fang Z. 2014. Apoptotic Effects of Eugenol-loaded Nanoemulsions in Human Colon and Liver Cancer Cell Lines. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, Vol 15, 2014 9159- 9164
6. Echeverria J, Albuquerque RDDG. 2019. Nanoemulsions of Essential Oils: New Tool for Control of Vector-Borne Diseases and In Vitro Effects on Some Parasitic Agents Medicines 2019, 6, 42
7. Ahmad N, Ahmad FJ, Bedi S, Sharma S, Umar S, Ansari MAA. 2019. A novel Nanoformulation Development of Eugenol and their treatment in inflammation and periodontitis. *Saudi Pharmaceutical Journal* 27 (2019) 778–790
8. Purwanti N, Zehn AS, Pusfitasari ED, Khalid N, Febrianto EY, Mardjan SS, Kobayashi AI. 2018. Emulsion stability of clove oil in chitosan and sodium alginate matrix . *International*

- journal of food properties 2018, vol. 21, no. 1, 566–581
9. Bilia AR, Guccione C, Isacchi B, Righeschi C, Firenzuoli F, Bergonzi MC. 2014. Essential Oils Loaded in Nanosystems: A Developing Strategy for a Successful Therapeutic Approach. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine Volume 2014, Article ID 651593, 14 pages
 10. Sahar Y. Al-Okbi, Doha A. Mohamed, Thanaa E. Hamed, Amr E. Edris. 2014. Protective Effect of Clove Oil and Eugenol Microemulsions on Fatty Liver and Dyslipidemia as Components of Metabolic Syndrome. J Med Food 17 (7) 2014, 764–771
 11. Shakir Ali1. Eugenol-rich Fraction of Syzygium aromaticum (Clove) Reverses Biochemical and Histopathological Changes in Liver Cirrhosis and Inhibits Hepatic Cell Proliferation. Journal of cancer prevention vol. 19, no. 4, december, 2014)
 12. Sahar Y. Al-Okbi, Doha A. Mohamed, Thanaa E. Hamed, Amr E. Edris, Protective Effect of Clove Oil and Eugenol Microemulsions on Fatty Liver and Dyslipidemia as Components of Metabolic Syndrome. J Med Food 17 (7) 2014, 764–771

