

**EFEK PEMBERIAN EKSTRAK SARANG SEMUT
TERHADAP EKSPRESI CASPASE 3
DAN INDEKS APOPTOSIS
SEL ADENOCARCINOMA MAMMA MENCIT C3H**

***THE EFFECTS OF SARANG SEMUT EXTRACT
ON CASPASE 3 EXPRESSION
AND APOPTOSIS INDEX
OF C3H MICE ADENOCARCINOMA CELL***



Tesis

Untuk memenuhi persyaratan mencapai derajat Sarjana S2

Aris Setiyawan

**PROGRAM PASCA SARJANA
MAGISTER ILMU BIOMEDIK
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2013**

Lembar Pengesahan Tesis

**EFEK PEMBERIAN EKSTRAK SARANG SEMUT
TERHADAP EKSPRESI CASPASE 3
DAN INDEKS APOPTOSIS
SEL ADENOCARCINOMA MAMMA MENCIT C3H**

Oleh :

Aris Setiyawan

NIM. G4A.008.003

Disetujui,

Komisi Pembimbing

Pembimbing I

Pembimbing II

Dr..dr. Selamat Budijitno, MsiMed, SpB, SpB(K) Onk

NIP. 197108072008121001

dr. Djoko Handojo, SpB, SpB(K) Onk

NIP. 194811191978021001

Mengetahui :

Ketua Program Studi

Magister Ilmu Biomedik

Program Pasca Sarjana Universitas Diponegoro

Prof.Dr.dr. Tri Nur Kristina, DMM, M.Kes

NIP.195905271986032001

LEMBAR MONITORING

PERBAIKAN TESIS

Yang bertanda tangan di bawah ini menerangkan dengan sebenarnya bahwa saya telah menyetujui **Perbaikan Tesis** yang diajukan pada tanggal 27 Februari 2013 atas :

Nama mahasiswa : Aris Setiyawan

Bagian : Magister Ilmu Biomedik

Judul : Efek Pemberian Ekstrak Sarang Semut terhadap Ekspresi Caspase 3 dan Indeks Apoptosis Sel Adenocarcinoma Mamma Mencit C3H

	NAMA	NARA SUMBER	TANDA TANGAN	TANGGAL
1	Dr.dr.Selamat Budijitno,MsiMed,SpB, SpB(K) Onk	Pembimbing I		
2	dr. Djoko Handojo, SpB, SpB(K) Onk	Pembimbing II		
3	Dr.dr.Winarto,SpMK,SpM(K),DMM	Ketua Penguji		
4	Prof.dr.Edi Dharmana, M.Sc.,Ph.D.,Sp.Park.	Penguji		
5	Dr.dr.Indra Wijaya,Sp.PA(K)	Penguji		

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini menyatakan bahwa tesis ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan di dalamnya tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi atau lembaga pendidikan lainnya, serta tidak terdapat unsur-unsur yang tergolong *plagiarism* sebagaimana yang dimaksud dalam Permendiknas No.17 tahun 2010. Pengetahuan yang diperoleh dari hasil penerbitan maupun yang belum atau tidak diterbitkan, sumbernya dijelaskan di dalam tulisan dan daftar pustaka.

Semarang, Maret 2013

Peneliti,

Aris Setiyawan

RIWAYAT HIDUP SINGKAT

A. IDENTITAS

Nama : dr. Aris Setiyawan,M.Kes.
NIM Magister Biomedik : G4A008003
Tempat/Tgl. Lahir : Semarang, 11 Maret 1975
Agama : Islam
Jenis kelamin : Laki-laki
Status : Menikah
Alamat : Jl.Patemon Raya RT 1 RW V Gunung Pati,
Semarang

B. RIWAYAT PENDIDIKAN

1. SD Cakra Madya Dwipa II, Semarang : lulus tahun 1987
2. SMPN 21, Semarang : lulus tahun 1990
3. SMA Karangturi, Semarang : lulus tahun 1994
4. FK UNISSULA Semarang, Jawa Tengah : lulus tahun 2002
5. Magister Manajemen Rumahsakit Pasca Sarjana UGM Yogyakarta :
lulus tahun 2005
6. PPDS I Bedah FK UNDIP, Semarang, Jawa Tengah
7. Magister Ilmu Biomedik Pasca Sarjana UNDIP, Semarang, Jawa
Tengah

C. RIWAYAT PEKERJAAN

Anggota POLRI di Akademi Kepolisian Semarang (tahun 2004-sekarang)

KATA PENGANTAR

Alhamdulillahirabbil'alamin. Puji syukur saya panjatkan kehadiran Allah SWT atas limpahan rahmat dan anugerah-Nya, sehingga dapat menyelesaikan penelitian dengan judul "EFEK PEMBERIAN EKSTRAK SARANG SEMUT TERHADAP EKSPRESI CASPASE 3 DAN INDEKS APOPTOSIS SEL ADENOCARCINOMA MAMMA MENCIT C3H".

Penelitian ini diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar derajat sarjana S2 Ilmu Biomedik Program Pasca Sarjana Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang.

Dalam kesempatan ini, saya menyampaikan ucapan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada :

1. Dr. dr. Selamat Budijitno, MsiMed, SpB, SpB(K)Onk, selaku pembimbing penelitian I, yang telah memberikan inspirasi, bimbingan, waktu, tenaga, pikiran, serta ilmu, sehingga penelitian ini dapat diselesaikan.
2. dr. Djoko Handojo, SpB, SpB(K) Onk sebagai pembimbing II yang dengan sabar mengarahkan, memberikan inspirasi, bimbingan, waktu, tenaga, pikiran, serta ilmu, sehingga penelitian ini dapat diselesaikan.
3. Dr. Sahal Fatah, SpB, SpBTKV, Ketua Bagian Bedah dan Ketua Program Studi PPDS I Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro/RSUP dr. Kariadi Semarang.
4. Prof. Dr. dr. Tri Nur Kristina, DMM, MKes, Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik Program Pasca Sarjana Universitas Diponegoro Semarang.

5. Prof. Sudharto P. Hadi, MES, PhD, Rektor Universitas Diponegoro Semarang.
6. dr. Endang Ambarwati, SpRM(K), Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang.
7. Prof. Dr. Siti Fatimah Muis, M.Sc, SpGK, Ketua Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran UNDIP/RS Dr. Kariadi Semarang.
8. Seluruh Staf pengajar Bagian Ilmu Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
9. Guru-guru Program Studi Magister Ilmu Biomedik Program Pascasarjana Universitas Diponegoro yang telah memberikan pengetahuan, bimbingan dan motivasi selama mengikuti program pendidikan magister.
10. Tim penguji dan nara sumber yang telah dengan sabar berkenan memberi masukan, arahan dalam penelitian dan penulisan tesis ini.
11. Semua rekan residen dan seluruh karyawan Bagian Bedah FK UNDIP, karyawan Program Studi Magister Ilmu Biomedik UNDIP yang telah membantu selama penelitian dan penyusunan tesis ini berlangsung.
12. Ucapan terima kasih khusus kepada orang tua, istri, anak-anak, adik-adik tercinta yang telah memberikan dukungan untuk keberhasilan studi saya.

Saya menyadari bahwa penelitian ini masih jauh dari sempurna, karena itu diharapkan kritik dan saran demi kesempurnaan penelitian ini. Saya berharap penelitian ini dapat berguna bagi masyarakat serta memberi sumbangan bagi perkembangan ilmu kedokteran khususnya bidang Onkologi. Akhir kata saya

mohon maaf yang sebesar-besarnya atas segala kesalahan dan kekhilafan, sengaja maupun tidak selama menyelesaikan penelitian ini.

Semarang, Maret 2013

Aris Setiyawan

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
LEMBAR MONITORING	iii
PERNYATAAN.....	iv
RIWAYAT HIDUP SINGKAT	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR GRAFIK.....	xv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvi
DAFTAR SINGKATAN	xvii
ABSTRAK	xix
ABSTRACT.....	xx
BAB I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Perumusan Masalah	5
1.2.1. Masalah Umum.....	5
1.2.2. Masalah Khusus	5
1.3. Tujuan Penelitian	5
1.3.1. Tujuan Umum.....	5
1.3.2. Tujuan Khusus	5

1.4 .Manfaat Penelitian	6
1.5. Keaslian Penelitian.....	6
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	8
2.1. Kanker Payudara.....	8
2.1.1. Anatomi dan Histologi Payudara	8
2.1.2. Etiologi dan Patogenesis.....	8
2.1.3. Klasifikasi	10
2.2. Sistem Imun dan Respon Immunologik terhadap Sel Kanker	11
2.3. Caspase	15
2.4. Apoptosis	18
2.5. Sarang Semut	26
BAB III.KERANGKA TEORI DAN HIPOTESIS.....	31
3.1. Kerangka Teori	30
3.2.Kerangka Konsep.....	32
3.3.Hipotesis Penelitian	32
BAB IV.METODE PENELITIAN	33
4.1.Rancangan Penelitian.....	33
4.2.Populasi dan Sampel.....	34
4.2.1.Populasi.....	34
4.2.2.Sampel	35
4.3.Waktu dan Lokasi Penelitian	36
4.4.Variabel Penelitian.....	36
4.4.1.Variabel Bebas.....	36

4.4.2. Variabel Tergantung	37
4.5. Definisi Operasional	37
4.6. Bahan dan Alat Penelitian.....	38
4.6.1. Bahan	38
4.6.1.1. Bahan transplantasi jaringan tumor pada mencit..	39
4.6.1.2. Bahan pemeriksaan histopatologi rutin.....	39
4.6.1.3. Bahan pemeriksaan imunohistokimia	40
4.6.2. Alat.....	40
4.6.2.1. Alat transplantasi jaringan tumor pada mencit	40
4.6.2.2. Alat pembuatan sediaan penelitian dengan pewarnaan HE	41
4.6.2.3. Alat pembuatan sediaan penelitian dengan pewarnaan Imunohistokimia	41
4.6.2.4. Alat pengamatan dan dokumentasi sediaan	41
4.7. Pelaksanaan Penelitian	42
4.8. Alur Kerja	43
4.9. Prosedur Pemeriksaan.....	44
4.9.1. Prosedur transplantasi tumor	44
4.9.2. Prosedur pembuatan preparat histopatologi	45
4.10. Cara Pengumpulan data	47
4.11. Analisis Data.....	48
BAB V. HASIL PENELITIAN	50
1.1. Deskripsi data ekspresi caspase 3.....	54

1.2. Deskripsi data indeks apoptosis.....	55
1.3. Uji statistik.....	56
BAB VI. PEMBAHASAN.....	62
BAB VII. SIMPULAN DAN SARAN.....	66
7.1. Simpulan.....	66
7.2. Saran.....	66
DAFTAR PUSTAKA	68

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Mekanisme Molekular Apoptosis	22
Gambar 2. Induksi Apoptosis oleh Granzim B	24
Gambar 3. Tumbuhan Sarang Semut	27
Gambar 4. Kerangka Teori.....	31
Gambar 5. Kerangka Konsep	32
Gambar 6. Skema Rancangan Penelitian	34
Gambar 7. Alur Kerja Penelitian.....	43
Gambar 8. Diagram skematik hasil penelitian	51
Gambar 9. Gambaran histologis ekspresi caspase 3	52
Gambar 10. Gambaran histologis apoptosis.....	53

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Penelitian tentang Tumbuhan Sarang Semut	6
Tabel 2. Kelompok Caspase.....	15
Tabel 3. Pembagian kelompok penelitian	33
Tabel 4. Hasil penghitungan ekspresi caspase 3	54
Tabel 5. Hasil penghitungan indeks apoptosis.....	55
Tabel 6. Hasil eksplorasi data dan uji normalitas uji beda.....	57

DAFTAR GRAFIK

	Halaman
Grafik 1. Box plot ekspresi caspase 3	55
Grafik 2. Box plot indeks apoptosis	56
Grafik 3. <i>Post hoc test</i> ekspresi caspase 3.....	57
Grafik 4. <i>Post hoc test</i> indeks apoptosis	58
Grafik 5. <i>Scatter plot</i> uji korelasi <i>Spearman</i>	60

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Ethical Clearance.....	75
Lampiran 2. Hasil analisis data caspase 3 dengan SPSS	77
Lampiran 3. Hasil analisis data indeks apoptosis dengan SPSS	80
Lampiran 4. Hasil analisis korelasi caspase 3 dan indeks apoptosis dengan SPSS.....	85
Lampiran 5. Spesifikasi caspase 3 (CPP32) Ab-4	87
Lampiran 6. Cara pemeliharaan dan dekapitasi hewan coba	88

DAFTAR SINGKATAN

ADP	<i>Adenosine di phosphate</i>
AIF	<i>Apoptosis inducing factor</i>
Apaf-1	<i>Apoptotic protease activation factor-1</i>
Bak	<i>B cell lymphoma 2 antagonist/killer</i>
Bax	<i>Bcl-2 associated X protein</i>
Bcl-2	<i>Basal cell lymphoma 2</i>
Bcl-XL	<i>Basal cell lymphoma extra large</i>
Bid	<i>BH3 interacting domain death agonist</i>
CARD	<i>Caspase recruitment domain</i>
CTL	<i>Cytotoxic T Lymphocyte</i>
DEDs	<i>Death effector domains</i>
DISC	<i>Death induced signaling complex</i>
DNA	<i>Deoxyribonuceic acid</i>
DR	<i>Death receptor</i>
FADD	<i>Fas-associated death domains</i>
FasL	<i>Fas ligand</i>
FLICE	<i>FADD-like IL-1 converting enzyme</i>
HE	<i>Hematosiklin-eosin</i>
IFN- γ	<i>Interferon- γ</i>
IL	<i>interleukin</i>
MAPK	<i>Mitogen activated protein kinase</i>
NF-KB	<i>Nuclear factor kappa B</i>
NK	<i>Natural killer</i>

PARP	<i>Poly adenosine-5 diphosphate-ribose polymerase</i>
PTP	<i>Permeability transition pore</i>
ROS	<i>Reactive oxygen species</i>
RTKs	<i>Receptor tirosin kinase</i>
SIRS	<i>Sistem informasi rumah sakit</i>
SKRT	<i>Survei kesehatan rumah tangga</i>
SPSS	<i>Statistical product and service solution</i>
Th	<i>T helper</i>
TNF	<i>Tumor necrosis factor</i>
TNFR	<i>Tumor necrosis factor receptor</i>
UICC	<i>Union Internationale Contra Le Cancer</i>
XIAP	<i>X inhibitor of apoptosis proteins</i>
WHO	<i>World Health Organization</i>

ABSTRAK

Latar belakang : Pengobatan alternatif kanker payudara dengan efek samping minimal dan murah selain modalitas yang sudah ada sekarang ini terus dilakukan terhadap tanaman obat. Senyawa flavonoid dalam Sarang Semut (*Myrmecodia pendans* Merr & Perry) pada penelitian sebelumnya terbukti mempunyai aktivitas anti kanker. Penelitian ini bertujuan membuktikan efek dosis bertingkat ekstrak Sarang Semut terhadap ekspresi caspase 3 dan indeks apoptosis sel adenocarcinoma mamma.

Metode : Penelitian eksperimental pada hewan coba dengan rancangan *randomized post test only control group*. Sampel 24 ekor mencit C3H yang diinokulasi tumor *adenocarcinoma mamma*, dibagi dalam 4 kelompok : kelompok kontrol dan tiga kelompok perlakuan yang diberi ekstrak Sarang Semut selama 3 minggu dengan dosis bertingkat (4 mg/hari, 8 mg/hari, 16 mg/hari). Ekspresi caspase 3 diperiksa dengan pengecatan imunohistokimia menggunakan *Caspase 3 Ab-4 rabbit polyclonal antibody* dan pemeriksaan indeks apoptosis dilakukan dengan pengecatan HE, kemudian dihitung menggunakan metode Aihara M *et al*. Data yang terkumpul kemudian dianalisis.

Hasil : Ekspresi caspase 3 berbeda secara bermakna ($p < 0,05$) pada kelompok yang diberi ekstrak Sarang Semut dengan dosis 4 mg/hari ($p = 0,003$) dan 8 mg/hari ($p = 0,042$) dibanding kontrol. Indeks apoptosis berbeda bermakna ($p < 0,05$) pada ke tiga kelompok yang diberi ekstrak Sarang Semut dibandingkan kontrol. Tidak terdapat hubungan bermakna antara ekspresi caspase 3 dengan indeks apoptosis ($p = 0,216$, $> 0,05$, $r = +0,06$).

Kesimpulan : Ekstrak Sarang Semut meningkatkan ekspresi caspase 3 dan indeks apoptosis sel adenocarcinoma mamma, tetapi tidak terdapat hubungan yang bermakna diantara ke duanya.

Kata kunci : *myrmecodia pendans*, caspase 3, indeks apoptosis, adenocarcinoma mamma.

ABSTRACT

Background : In order to search for alternative cancer medication with minimum side effect and lower cost other than recent modality of therapy, a study was performed on medicine plant. Flavanoid ingredient contained on Sarang Semut (*Myrmecodia pendans* Merr & Perry) on recent studies was proven to have anti cancer activity. This study investigate gradual dosage of Sarang Semut's extract on expression of caspase 3 and apoptotic index of adenocarcinoma cells of the breast.

Method : Animal experimental study using randomized post test only control group design was performed. Samples of twenty-four C3H mice were inoculated with tumour, divided into four groups : one control group and three groups administrated by Sarang Semut extract for 3 weeks with gradual dosage (4 mg/day, 8 mg/day, 16 mg/day), by then all samples were examined. Expression of caspase 3 was examined with immunohistochemistry (*Caspase 3 Ab-4 rabbit polyclonal antibody*) and apoptotic index was examined by HE staining , and assessed with Aihara M et al method. All data were collected for analization.

Result : There was a significant difference of caspase 3 expression ($p < 0,05$) on groups treated with 4 mg/day ($p = 0,003$) and 8 mg/day ($p = 0,042$) Sarang Semut's extract compared to control group. There was a significant differences of apoptotic index ($p < 0,05$) of three groups treated with Sarang Semut's extract compared to control group. There was no correlation between caspase 3 expression and apoptotic index ($p = 0,216$, $> 0,05$, $r = +0,06$).

Conclusion : Sarang Semut's extract increase the expression of caspase 3 and apoptotic index of adenocarcinoma cells of the breast. But there was no significant correlation between them.

Key words : *myrmecodia pendans*, caspase 3, apoptotic index, adenocarcinoma cells of the breast.