

**PENGARUH EKSTRAK DAUN *Annona muricata* L.  
TERHADAP EKSPRESI CASPASE 3  
DAN AKTIVITAS MITOSIS  
(Studi Invivo Pada Adenokarsinoma Mamma Mencit C3H)**

***THE EFFECT OF *Annona muricata* L. LEAVES EXTRACT ON  
THE CASPASE 3 EXPRESSION AND MITOTIC ACTIVITY  
(AN INVIVO STUDY OF ADENOCARCINOMA MAMMAE  
IN C3H MICE)***



**TESIS**

**untuk memenuhi sebagian persyaratan  
mencapai derajat Sarjana S-2**

**Magister Ilmu Biomedik**

**Hikmah Fitriani**

**22010111400047**

**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS DIPONEGORO  
SEMARANG  
2014**

**TESIS**

**PENGARUH EKSTRAK DAUN *Annona muricata* L. TERHADAP  
EKSPRESI *CASPASE 3* DAN AKTIVITAS MITOSIS  
(Studi *Invivo* Pada Adenokarsinoma Mamma Mencit C3H)**

Disusun oleh:

Hikmah Fitriani  
22010111400047

Menyetujui,  
Pembimbing

Pembimbing I,

Pembimbing II,

Dr.dr. Andrew Johan, M.Si  
NIP. 19580409 198703 1 002

dr.Indra Wijaya, SpPA(K)  
NIP. 130 516 878

Mengetahui,  
Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik  
Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

Prof. Dr. dr. Tri Nur Kristina, DMM, M. Kes  
NIP. 19590527 198603 2 001

## LEMBAR MONITORING PERBAIKAN TESIS

Yang bertanda tangan dibawah ini menerangkan dengan sebenarnya, bahwa saya telah menyetujui **Perbaikan Tesis** yang telah diajukan pada tanggal 30 Juni 2014 atas :

Nama Mahasiswa : Hikmah Fitriani  
NIM : 22010111400047  
Judul : Pengaruh Ekstrak Daun *Annona muricata* L. Terhadap Ekspresi *Caspase 3* dan Aktivitas Mitosis (Studi Invivo Pada Adenokarsinoma Mamma Mencit C3H)

NO	NAMA	PENGUJI	TANDA TANGAN	TANGGAL
1	Dr. dr. RA. Kisdjamiatun RMD, M.Sc	Penguji Ketua		
2	Dr. Dr. Andrew Johan, M.Si	Penguji Anggota/ Pembimbing I		
3	Dr. dr. Indra Widjaja, Sp.PA (K)	Penguji Anggota/ Pembimbing II		
4	dr. Siti Amarwati, Sp.PA (K)	Penguji Anggota		

## **PERNYATAAN**

Dengan ini saya 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. Pengetahuan yang diperoleh dari hasil penerbitan maupun yang belum/tidak diterbitkan, sumbernya dijelaskan di dalam tulisan dan daftar pustaka.

Semarang, Juni 2014

Penulis,

(Hikmah Fitriani)

## **RIWAYAT HIDUP**

### **A. Identitas**

Nama : Hikmah Fitriani  
Tempat/tanggal lahir : Cirebon, 19 Januari 1984  
Agama : Islam  
Jenis Kelamin : Perempuan

### **B. Riwayat Pendidikan**

1. SDN Palimanan 4 Kabupaten Cirebon : Lulus Tahun 1996
2. SMPN 1 Palimanan Kabupaten Cirebon : Lulus Tahun 1999
3. SMAN 2 Cirebon : Lulus Tahun 2002
4. BIOLOGI FMIPA UNPAD Bandung : Lulus Tahun 2006
5. Magister Ilmu Biomedik UNDIP Semarang : (2011 – sekarang)

### **C. Riwayat Pekerjaan**

1. Tahun 2006-2007 : Asisten Dosen di Biologi FMIPA UNPAD
2. Tahun 2007-2009 : Supervisor PKH di DEPSOS RI
3. Tahun 2009 - sekarang : Staf Pengajar Bagian Biologi di  
FK UNSWAGATI Cirebon

### **D. Riwayat Keluarga**

1. Nama Orangtua  
Ayah : Drs. H. Darsa Suwardi  
Ibu : Hj. Juhaeni
2. Suami : Andi Rachman, S.Pd

## KATA PENGANTAR

Puji Syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT atas limpahan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis dengan judul : “Pengaruh Ekstrak Daun *Annona muricata* L. Terhadap Ekspresi *Caspase 3* dan Aktivitas Mitosis (Studi Invivo Pada Adenokarsinoma Mamma Mencit C3H).

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

Penulis menyadari penyusunan tesis ini tidak dapat diselesaikan dengan baik tanpa dukungan dari berbagai pihak. Kepada almarhum **Prof. Dr. dr. Sarjadi, Sp.PA (K)**, dan **Dr. dr. Andrew Johan, M.Si**, selaku dosen pembimbing pertama, dan **Dr. dr. Indra Wijaya, Sp.PA (K)** selaku pembimbing kedua, penulis menghaturkan terima kasih yang sedalam-dalamnya atas bimbingan, sumbangan pikiran, waktu, motivasi, serta kesabarannya dalam proses penyelesaian tesis ini.

Pada kesempatan ini penulis juga menyampaikan ucapan terima kasih dan penghargaan sebesar-besarnya kepada:

1. Dr. dr. H. Affandi, Sp.A, Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Swadaya Gunung Jati (UNSWAGATI) Cirebon yang telah memberi izin dan kesempatan kepada penulis untuk melanjutkan studi pada program studi Magister Ilmu Biomedik UNDIP Semarang.

2. dr. H. Atik Sutisna , Sp.An. Wakil Dekan I dan Direktur Eksekutif PIU PHK-PKPD FK UNSWAGATI, terima kasih atas kesempatan dan kepercayaan yang diberikan kepada penulis dalam melanjutkan studi pada program studi Magister Ilmu Biomedik UNDIP Semarang.
3. HPEQ Project dan CPCU PHK-PKPD yang telah memberikan kesempatan dan mendanai penelitian ini.
4. Prof. Sudharto Prawata Hadi, MES, PhD, Rektor Universitas Diponegoro Semarang.
5. Prof. Dr. dr. Tri Nur Kristina, DMM, MKes, Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik Program Pasca Sarjana Universitas Diponegoro Semarang.
6. dr. Endang Ambarwati, Sp.RM (K), Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang
7. Prof. Dr. dr. Suprihati, M.Sc, Sp.THT-KL(K), Ketua Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang
8. Seluruh Staf Pengajar Konsentrasi Patobiologi Program Studi Magister Biomedik Universitas Diponegoro Semarang.
9. Seluruh Staf Pengajar Program Studi Magister Ilmu Biomedik Program Pasca Sarjana Universitas Diponegoro yang telah memberikan pengetahuan, bimbingan, dan motivasi selama mengikuti program pendidikan magister.
10. Dra. Dr. Kisdjamiatun RMD, M.Sc dan dr. Siti Amarwati, Sp. PA (K) selaku tim penguji dan narasumber yang telah dengan sabar berkenan memberi masukan, arahan, serta koreksi dalam penelitian dan penulisan tesis ini.

11. dr. Meini, atas waktu dan bantuan yang diberikan untuk pembuatan ekstrak daun sirsak di laboratorium Kimia Organik FMIPA UNDIP Semarang.
12. Pak Samidi dan Pak Sutari, atas waktu dan tenaga yang diberikan untuk pemeliharaan dan perlakuan hewan coba di LPPT IV Universitas Gadjah Mada (UGM) Yogyakarta.
13. Pak Yunadir, atas waktu dan bantuan yang diberikan dalam pembuatan preparat HE di Laboratorium PA UGM Yogyakarta.
14. Ibu Agustina Supriyanti, AMd, atas waktu dan bantuan yang diberikan dalam pembuatan preparat Imunohistokimia di RS. Dr. Sardjito Yogyakarta.
15. dr. H. Sumarno, M.Si. Med., Sp.PA dan dr. Susilorini, M.Si.Med.,Sp.PA, atas waktu dan bantuan yang diberikan dalam pembacaan preparat di RSI. Sultan Agung Semarang.
16. Semua rekan dan sahabat seperjuangan di Program Magister Ilmu Biomedik UNDIP Angkatan 2011, atas semua waktu, kebersamaan, dan persaudaraan yang terjalin selama masa pendidikan.
17. Teman dan saudara satu tim penelitian, Ibu Rusmiyati dan Pak Raden, atas semua waktu, tenaga, semangat, motivasi, dan kesabaran yang diberikan selama penelitian hingga saat ini.
18. Mba Nata, Mba Fika, dan Mas Dul atas bantuan yang diberikan selama pendidikan sampai dengan penyelesaian tesis.
19. dr. Ika Komala, Herlina Patty, Amanah, Maria Dyah Kurniasari, Molina Indah Pradiva, M. Duddy Satrianugraha,W., Risnandya Primanagara, Kosim Nurseha, dr. Indriani Silvia, Sp.PK, Ibu Sri Herawati Gerson, Sahabat-



sahabatku atas semua dukungan, motivasi, waktu, dan kebersamaan yang tercipta selama ini hingga selamanya.

20. Teristimewa, Suami tercinta : Andi Rachman, S.Pd yang senantiasa memberikan restu, dukungan, doa, motivasi, bantuan dan selalu menjadi penyemangat terbesar bagi penulis untuk menyelesaikan tesis ini.
21. Mamah, Papah, Bapak Mertua, kakak, dan adik-adik tercinta, yang selalu memberikan semangat, doa, waktu, kesabaran, yang tidak pernah ada hentinya bagi penulis dalam penyelesaian tesis ini.
22. Semua pihak yang telah membantu yang tidak dapat disebut satu persatu.

Semoga kebaikan dan bantuan dari pihak tersebut di atas mendapatkan imbalan yang berlipat dari Allah SWT. Penulis menyadari akan adanya kekurangan dan keterbatasan dalam penulisan tesis ini, oleh karena itu kritik dan saran yang membangun penulis harapkan demi tercapainya tulisan ilmiah yang bermanfaat.

Akhir kata, penulis memohon maaf atas segala kesalahan dan kekhilafan, sengaja maupun tidak disengaja baik itu perkataan dan perbuatan yang penulis lakukan selama menyelesaikan tesis ini.

Semarang, Juni 2014

Hikmah Fitriani

## DAFTAR ISI

Halaman Judul .....	i
Lembar Pengesahan .....	ii
Lembar Monitoring Perbaikan Ujian Proposal Tesis.....	iii
Pernyataan.....	iv
Riwayat Hidup.....	v
Kata Pengantar.....	vi
Daftar Isi.....	x
Daftar Gambar .....	xv
Daftar Lampiran .....	xvi
Daftar Tabel.....	xvii
Daftar Singkatan.....	xviii
Abstrak.....	xix
<b>BAB I PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	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 Orisinalitas Penelitian .....	7

## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Sirsak .....	10
2.1.1. Sistematika Tanaman .....	10
2.1.2. Nama-nama Umum Sirsak .....	11
2.1.3. Deskripsi Tanaman .....	11
2.1.4. Daerah Penyebaran Tanaman Sirsak .....	12
2.1.5. Kandungan Kimia.....	14
2.2 Definisi Kanker .....	18
2.3 Kanker Payudara .....	20
2.3.1 Klasifikasi Kanker Payudara .....	21
2.3.2 Penatalaksanaan Kanker Payudara.....	26
2.4 Apoptosis.....	27
2.4.1 Regulasi Apoptosis.....	27
2.4.2 Jalur Intrinsik.....	28
2.4.3 Jalur Ekstrinsik.....	29
2.4.4 Regulasi Apoptosis dan <i>caspase</i> 3.....	30
2.5 Siklus Sel dan aktivitas Mitosis.....	33
2.5.1 Pembelahan Mitosis.....	33
2.5.2 Aktivitas Mitosis dan Proliferasi Sel.....	35
2.6 Mencit C3H Sebagai Hewan Coba.....	36

## BAB III KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

3.1 Kerangka Teori .....	39
--------------------------	----

3.2 Kerangka Konsep .....	41
3.3 Hipotesis.....	41
3.3.1 Hipotesis Mayor.....	41
3.3.2 Hipotesis Minor.....	41

#### BAB IV METODE PENELITIAN

4.1 Ruang Lingkup Penelitian.....	43
4.2 Jenis dan Rancangan Penelitian.....	43
4.3 Lokasi dan Tempat Penelitian .....	44
4.4 Populasi dan Sampel Penelitian.....	45
4.4.1 Populasi Penelitian.....	45
4.4.2 Sampel Penelitian.....	45
4.4.2.1 Besar Sampel.....	45
4.4.2.2 Cara Pengambilan Sampel.....	45
4.5 Variabel Penelitian .....	46
4.5.1 Variabel Bebas.....	46
4.5.2 Variabel Tergantung.....	46
4.6 Definisi Operasional .....	47
4.7 Bahan dan Alat.....	48
4.7.1 Bahan.....	48
4.7.2 Alat.....	49
4.8 Prosedur Kerja .....	49
4.8.1 Pembuatan Ekstrak Daun Sirsak.....	49
4.8.2 Prosedur Pembuatan Preparat Histologi Pewarnaan HE.....	49

4.8.3 Prosedur Pembuatan Preparat Imunohistokimia.....	49
4.9 Pengumpulan Data .....	50
4.10 Analisis Data .....	50
4.11 Etika penelitian.....	51
4.12 Alur Kerja.....	52

## BAB V HASIL PENELITIAN

5.1 Analisis Sampel.....	53
5.2 Hasil Penelitian.....	54
5.2.1. Hasil Pengamatan Mikroskopis Pewarnaan Imunohistokimia..	55
5.2.2. Hasil Perhitungan Ekspresi Caspase 3.....	55
5.2.3.. Hasil Perhitungan Aktivitas Mitosis.....	57
5.3. Analisis Data.....	60
5.3.1. Analisis Ekspresi Caspase 3.....	60
5.3.1.1. Uji Normalitas.....	60
5.3.2. Analisis Aktivitas Mitosis.....	61
5.3.2.1. Uji Normalitas.....	61
5.3.3. Analisis Korelasi Spearman.....	62

## BAB VI PEMBAHASAN

6.1. Pengaruh Daun Sirsak Terhadap Caspase 3.....	65
6.2. Pengaruh Daun Sirsak Terhadap Aktivitas Mitosis.....	67
6.3. Hubungan Ekspresi Caspase 3 dengan Aktivitas Mitosis.....	69
6.4. Keterbatasan Penelitian.....	69

## BAB VII KESIMPULAN DAN SARAN

7.1. Kesimpulan.....	71
7.2. Saran.....	71
DAFTAR PUSTAKA.....	73
LAMPIRAN-LAMPIRAN.....	78

## DAFTAR GAMBAR

Gambar		Halaman
2.1	Buah Sirsak, Bunga Sirsak, dan Daun Sirsak .....	10
2.2	Struktur Umum <i>Annonaceus acetogenins</i> .....	14
2.3	Proses Apoptosis.....	28
2.4	Tahap Dalam Pembelahan Mitosis.....	35
2.5	Mencit Galur C3H .....	38
5.1.	Preparat <i>Caspase 3</i> Pewarnaan IHC Kelompok Kontrol.....	54
5.2.	Preparat <i>Caspase 3</i> Pewarnaan IHC Kelompok Perlakuan .....	55
5.3.	Box Plot Median Ekspresi <i>Caspase 3</i> .....	57
5.4	Box Plot Median Aktivitas Mitosis.....	58
5.4.	Preparat Aktivitas Mitosis Pewarnaan HE Kelompok Kontrol.....	59
5.6.	Preparat Aktivitas Mitosis Pewarnaan HE Kelompok Perlakuan.....	60

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran		Halaman
1	Perhitungan Dosis.....	78
2	Tabel Konversi.....	79
3	Pembuatan Ekstrak Daun Sirsak.....	80
4	Prosedur Pembuatan Preparat Histologi dengan Pewarnaan HE.....	82
5	Prosedur Pembuatan Preparat Imunohistokimia.....	84
6	Data Primer Hasil Pembacaan <i>Caspase 3</i> .....	87
7	Data Primer Hasil Pembacaan <i>Caspase 3</i> .....	88
8	Data Primer Hasil Pembacaan Aktivitas Mitosis.....	89
9	Data Primer Hasil Pembacaan Aktivitas Mitosis.....	90
10	Hasil Distribusi Frekuensi <i>Caspase 3</i> .....	91
11	Hasil Distribusi Frekuensi Aktivitas Mitosis.....	93
12	Hasil Uji Normalitas Data Ekspresi <i>Caspase 3</i> .....	95
13	Hasil Uji Normalitas Data Aktivitas Mitosis.....	97
14	Uji <i>Mann Whitney</i> <i>Caspase 3</i> .....	99
15	Uji <i>Mann Whitney</i> Aktivitas Mitosis.....	100
16	Uji Korelasi <i>Spearman</i> .....	101
17	Dokumentasi Penelitian.....	102
18	Etika Penelitian.....	103
19	Surat Keterangan Pembacaan Preparat (1).....	104
20	Surat Keterangan Pembacaan Preparat (2).....	105
21	Surat Izin Penelitian Dari LPPT UGM.....	106



## DAFTAR TABEL

Tabel 1.1	Penelitian Tentang Daun Sirsak dan <i>Caspase 3</i> .....	7
Tabel.5.1	Jumlah Ekspresi <i>Caspase 3</i> .....	56
Tabel.5.2.	Jumlah Aktivitas mitosis.....	57

## DAFTAR SINGKATAN

Apaf	: Apoptotic Protease Activating Factor
ATP	: Adenosine Triphosphate
Bcl-2	: B-cell lymphoma 2
CAD	: Caspase Activated Dnase
CDCK	: Cell Division Control Kinase
Caspase	: Cysteine Aspartate Spesific Protease
CDK	: Cyclin Dependent Kinase
Cyt c	: Cytochrome complex
DIABLO	: Direct IAP –Binding Protein With Low pI
DNA	: Deoxyribo Nucleic Acid
DFF	: DNA Fragmentation Factor
FADD	: Fas-Associated protein with Death Domain
FASL	: Fas Ligan
ICAD	: Inhibitor of Caspase Activated Dnase
MPF	: Mitosis Promotion Factor
NFkB	: Nuclear Factor Kappa Beta
PARP	: The Poly(ADP-Ribose) Polymerase
PCNA	: Proliferatif Cell Nuclear Antigen
RNA	: Ribonucleic Acid
SADS	: Small Accelerator For Death Signaling
Sel Tc	: Cytotoxic T cell
Smac	: Second Mitochondria-Derived Activator of Caspase

## ABSTRAK

**Latar Belakang :** Pengobatan kanker payudara berupa pembedahan, radioterapi, dan kemoterapi masih banyak menimbulkan efek samping. Efek samping ini dapat diminimalisir dengan penggunaan tanaman obat salah satunya yaitu tanaman sirsak (*Annona muricata* L.) yang bekerja secara selektif dalam menyerang sel kanker. Penelitian ini ingin membuktikan pengaruh ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap ekspresi *caspase 3* dan aktivitas mitosis kanker payudara mencit C3H.

**Metoda :** Penelitian eksperimental pada hewan coba dengan desain *Randomized Post Test Only Control Group*. Sebanyak dua belas ekor mencit C3H yang diinokulasi tumor, dibagi dalam 2 kelompok : yaitu kelompok kontrol (K) tidak diberi perlakuan dan Kelompok Perlakuan (P) diberi ekstrak daun sirsak dengan dosis 1mg/hari, selama tiga minggu, diukur ekspresi *caspase 3* dan aktivitas mitosis. Dilakukan uji *Mann Whitney* untuk masing-masing kelompok dan Uji Korelasi *Spearman*.

**Hasil :** Terdapat perbedaan yang bermakna pada ekspresi *caspase 3* antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan ( $p = 0,004$ ) dan aktivitas mitosis antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan ( $p = 0,004$ ). Didapatkan peningkatan median ekspresi *caspase 3* (K = 0,4 dan P = 1,36) dan penurunan aktivitas mitosis (K = 0,04 dan P = 0,02). Berdasarkan uji korelasi *Spearman* keduanya didapatkan korelasi yang bermakna ( $p = 0,007$ ) dengan nilai korelasi  $r = -0,734$  yang berarti korelasi negatif dengan kekuatan korelasi kuat.

**Kesimpulan :** Pemberian ekstrak daun sirsak dapat meningkatkan ekspresi *caspase 3* dan menurunkan aktivitas mitosis.

**Kata kunci :** Ekstrak daun sirsak, *caspase 3*, aktivitas mitosis, adenokarsinoma mamma.

## ABSTRACT

**Background :** Treatment of breast cancer such as surgery, radiotherapy and chemotherapy still has a lot of side effects. This can be minimized by using herbal medicine such as *Annona muricata* L. which works selectively attacking cancer cells. The aim for this research was to determine effect of *Annona muricata* L. leaves extract on the caspase 3 expression and mitotic activity on adenocarcinoma mammae in C3H mice.

**Methods :** Animal experiment using Post Test Only Control Group design was done. Twelve C3H mice were inoculated with tumour and were divided into two groups : Control (C) group and the other group was Treatment (T) group with *Annona muricata* L. leaves extract of dose 1 mg/day. All of the groups were treated for three weeks and then measuring caspase 3 expression and mitotic activity. Mann Whitney test was conducted and then Spearman correlation test were used to analyze the data.

**Result :** There were significant differences on the caspase 3 expression between control group compared with one group administrated with *Annona muricata* L. leaves extract of dose 1 mg/day respectively (  $p = 0,004$ ), and mitotic activity between control group compared with one group administrated with *Annona muricata* L. leaves extract of dose 1 mg/day (  $p = 0,004$ ). From the result, median of caspase 3 expression were increased with Control = 0,4 and Treatment = 1,36, and median of mitotic activity were decreased with Control = 0,04 and Treatment = 0,02. Based on the Spearman Correlation Test, there was significant negative correlation (  $p = 0,007$ ) with coefficient correlation  $r = - 0,734$ , that means strong correlation.

**Conclusion :** *Annona muricata* L. leaves extract can increase caspase 3 expression and decrease mitotic activity.

**Keywords:** *Annona muricata* L. leaves extract, caspase 3, mitotic activity, adenocarcinoma mammae.