

**PENGARUH EKSTRAK SARANG SEMUT (*Myrmecodia
pendens Merr. & Perry*) TERHADAP AKTIFITAS
PROLIFERASI SEL DAN INDEKS APOPTOSIS KANKER
PAYUDARA MENCIT C3H**

***THE EFFECTS OF SARANG SEMUT (*Myrmecodia pendens
Merr. & Perry*) ON THE CELL PROLIFERATION ACTIVITIES
AND APOPTOTIC INDEX OF BREAST ADENOCARCINOMA
C3H MICE***



Tesis

Untuk memenuhi sebagian persyaratan mencapai derajat Sarjana S-2
dan memperoleh keahlian dalam bidang Ilmu Patologi Anatomi

Sumarno

PROGRAM PASCASARJANA
MAGISTER ILMU BIOMEDIK
DAN
PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS I
PATOLOGI ANATOMI
UNIVERSITAS DIPONEGORO
2010

TESIS

**PENGARUH EKSTRAK SARANG SEMUT (*Myrmecodia
pendens Merr. & Perry*) TERHADAP AKTIFITAS
PROLIFERASI SEL DAN INDEKS APOPTOSIS KANKER
PAYUDARA MENCIT C3H**

Disusun oleh :

Sumarno
G3K006092

telah dipertahankan di depan Tim Penguji
pada tanggal 4 maret 2010
dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

Menyetujui,
Komisi Pembimbing

Pembimbing I

Pembimbing II

dr. Kasno, SpPA(K)
NIP. 130 529 455

dr. Noor Wijayahadi, MKes, PhD
NIP. 132 149 104

Mengetahui,

Ketua Program Studi
Magister Ilmu Biomedik
Program Pasca Sarjana UNDIP

Ketua Program Studi
Patologi Anatomi
Fakultas Kedokteran UNDIP

Dr. dr. Winarto, Sp.MK, Sp.M(K)
NIP. 130 675 157

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

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 dan lembaga pendidikan lainnya. Pengetahuan yang diperoleh dari hasil penerbitan maupun yang belum atau tidak diterbitkan, sumbernya dijelaskan di dalam tulisan dan daftar pustaka.

Semarang, Maret 2010

Sumarno

RIWAYAT HIDUP

A. Identitas

Nama : dr. Sumarno
NIM : G3K006092
Tempat / Tanggal Lahir : Semarang / 12 Juni 1973
Agama : Islam
Jenis Kelamin : Laki-laki
Alamat : Jl. Mulawarman Selatan no. 20 Semarang

B. Riwayat Pendidikan

1. SD Negeri Kramas 2 Semarang : Lulus tahun 1986
2. SMP Negeri 12 Semarang : Lulus tahun 1989
3. SMA Negeri 4 Semarang : Lulus tahun 1992
4. FK Unissula Semarang : Lulus tahun 2002
5. PPDS I Patologi Anatomi FK UNDIP Semarang
6. Magister Ilmu Biomedik Program Pasca Sarjana UNDIP Semarang

C. Riwayat Pekerjaan

Dosen Tetap FK Unissula Semarang (2004 –Sekarang)
Tugas belajar di PA FK Undip Semarang

D. Riwayat Keluarga

Nama Orang Tua :

- a. Nama Ayah : Soewidi (Alm)
 - b. Nama Ibu : Yuni (Alm)
- Nama Istri : Setiarini Budi Lestari, SH
- Nama Anak : 1. Ibrahim Widian Sumarno
2. Corizza Maryam Yunidian Sumarno
3. Keyzza Inoscentia Maryam Yunita Sumarno

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT atas limpahan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dengan judul **“Pengaruh Ekstrak Sarang Semut (*Myrmecodia pendens* Merr. & Perry) Terhadap Aktifitas Proliferasi Sel, Indeks Apoptosis Tumor Payudara Mencit C3H”**

Penelitian ini merupakan salah satu syarat dalam menyelesaikan Program Pendidikan Dokter Spesialis Patologi Anatomi serta Program Pendidikan Pasca Sarjana Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro/RSUP Dr. Kariadi Semarang.

Penulis berharap penelitian yang telah dilakukan ini dapat dijadikan dasar untuk penulisan selanjutnya dan memberikan manfaat dalam pengembangan terapi kanker payudara. Pada kesempatan yang baik ini, penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih dan penghargaan sebesar-besarnya kepada :

1. Prof. Dr. dr. Susilo Wibowo, SpAnd(K) selaku Rektor Universitas Diponegoro Semarang.
2. dr. Soejoto, SpKK(K) selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
3. Prof. Drs. Y. Warella MPA, PhD, Ketua Program Pasca Sarjana Universitas Diponegoro.
4. Dr. dr. Winarto, SpMK, SpM selaku Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik Program Pasca Sarjana Universitas Diponegoro Semarang.
5. dr. Indra Wijaya, SpPA(K), selaku Ketua Program Studi PPDS I Patologi Anatomi Universitas Diponegoro Semarang.
6. dr. Kasno, SpPA(K) selaku pembimbing yang telah memberi perhatian, masukan dan saran selama proses persiapan proposal, seminar, pelaksanaan penelitian hingga akhir penelitian tesis ini.
7. dr. Noor Wijayahadi, MKes, PhD selaku pembimbing yang telah memberi perhatian, masukan, saran serta menyediakan waktu selama proses persiapan proposal, seminar, pelaksanaan penelitian hingga akhir penelitian tesis ini.

8. Para penguji dan narasumber Prof.dr. Edi Dharmana, PhD,Sp.ParK, Dr. Niken Puruhita,Msc,Sp.GK, dr. Andrew Johan, M.Si atas masukan dan saran perbaikan untuk kesempurnaan tesis ini.
9. Pimpinan Fakultas Kedokteran Unissula Semarang yang telah memberi kesempatan saya untuk melanjutkan pendidikan S2 dan pendidikan dokter spesialis, serta segala bantuan, dorongan, fasilitas yang tak dapat dihitung baik moril maupun material selama saya studi dan menyusun tesis ini.
10. dr. Bambang Endro Putranto, SpPA(K) selaku Ketua Bagian Patologi Anatomi FK UNDIP yang memberi kesempatan dan bimbingan selama studi di Patologi Anatomi.
11. dr. Ika Pawitra Miranti, MKes, SpPA yang telah banyak membantu dan memberi masukan selama penelitian dan selesainya tesis.
12. dr. Udadi Sadhana, MKes, SpPA yang telah memberi bantuan, masukan dan saran selama penyusunan tesis ini.
13. Prof. Dr. dr. Tjahjono, SpPA(K), FIAC yang telah membimbing, memberi masukan, saran dan dorongan moril agar cepat menyelesaikan tesis kami.
14. Prof. dr. Soebowo, SpPA(K) atas bimbingan, masukan dan saran selama penyusunan proposal hingga terselesainya tesis ini.
15. Prof. Dr. dr. Sarjadi, SpPA(K) atas masukan dan saran untuk kesempurnaan tesis ini.
16. dr. Siti Amarwati Yulianto, SpPA yang selalu memberi semangat, masukan dan saran selama penyusunan hingga terselesainya tesis ini.
17. dr. Noor Yazid AD, SpPA(K) selaku narasumber yang telah memberi masukan hingga terselesainya tesis ini.
18. Semua rekan sejawat dr Dody Novrial Sp.PA, dr Hidayat Sp.PA, dr Mujahid, dr Vega, dr Nani, dr Andika, dr Devia, dr Meira, dr Susilorini, serta seluruh karyawan di bagian Patologi Anatomi FK Undip yang telah banyak membantu selama pembuatan tesis ini.
19. Teristimewa istri dan putra putri saya tercinta yang selalu memberi dorongan dan semangat serta doa yang tiada henti yang menjadi kekuatan utama penulis dalam menyelesaikan tesis ini.

Mengingat keterbatasan penulis sebagai manusia biasa yang tidak mempunyai kuasa atas segala hal, tetapi masih banyak kebaikan dan ketulusan dari semua pihak di dalam membantu setiap langkah penulis dan belum terbalaskan, semoga Allah SWT membalas semua kebaikan dan pengorbanan yang telah diberikan oleh semua pihak tersebut lebih dari apa yang telah mereka berikan Amin....

Penulis menyadari banyak kekurangan yang terdapat dalam penulisan tesis ini. Oleh karena itu, penulis mengharapkan masukan dari berbagai pihak agar tercapainya sebuah tulisan ilmiah yang bermanfaat.

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

Semarang, Januari 2010

Sumarno

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
PERNYATAAN	iii
RIWAYAT HIDUP	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
SINGKATAN	xiv
ABSTRAK	xv
ABSTRACK	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar belakang	1
1.2. Perumusan masalah.....	5
1.3. Tujuan penelitian	5
1.4. Manfaat penelitian.....	5
1.5. Originalitas penelitian.....	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1. Sarang Semut	7
2.2. Aktifitas Proliferasi sel	9
2.3. Respon imunologik terhadap sel tumor.....	11
2.4. Mekanisme efektor dalam melawan tumor	15
2.4. 1. Limfosit T sebagai efektor anti tumor.....	15
2.4.2. Antibodi yang diproduksi limfosit B.....	17
2.4.3. Sel Natural Killer (NK) sebagai efektor anti tumor.....	18
2.4.4. Peran makrofag dalam respon antitumor.	23

2.5. Apoptosis.....	24
2.6. Kanker payudara.....	27
2.6.1. Embriologi dan anatomi.....	27
2.6.2. Etiologi dan patogenesis.....	28
2.6.3. Klasifikasi.....	30
BAB III KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN	
HIPOTESIS	31
3.1. Kerangka Teori.....	31
3.2. Kerangka Konsep.....	32
3.3. Hipotesis Penelitian.....	32
BAB IV METODE PENELITIAN	33
4.1. Rancangan penelitian.....	33
4.2. Sampel penelitian.....	34
4.3. Waktu dan lokasi penelitian.....	35
4.4. Variabel penelitian.....	36
4.4.1. Variabel bebas.....	36
4.4.2. Variabel tergantung.....	36
4.4.3. Definisi operasional.....	36
4.5. Bahan dan alat penelitian.....	37
4.5.1 Bahan untuk perlakuan.....	37
4.5.2. Bahan transplantasi jaringan tumor pada mencit... ..	38
4.5.3. Bahan untuk pemeriksaan histopatologi rutin.....	39
4.5.4. Alat transplantasi jaringan tumor pada mencit.....	39
4.5.5. Alat untuk pembuatan sediaan penelitian dengan pewarnaan H&E.....	39
4.5.6. Alat untuk pengamatan dan dokumentasi sediaan	40
4.6. Pelaksanaan penelitian.....	40
4.7. Alur kerja.....	41
4.8. Prosedur pemeriksaan.....	42
4.8.1. Prosedur transplantasi tumor.....	42

4.8.2. Prosedur pembuatan preparat histopatologi.....	43
4.9. Cara mengumpulkan data.....	45
4.10. Analisis data.....	46
BAB V HASIL PENELITIAN	47
5.1 Volume tumor pada minggu ke 1, 2, dan 3	48
5.2 Berat badan mencit pada minggu 1, 2, dan 3	52
5.3 Nilai AgNOR	56
5.4 Indeks Apoptosis	59
5.5 Perbandingan indeks apoptosis dengan nilai AgNOR	63
5.6 Uji delta perubahan berat badan mencit.....	65
BAB VI PEMBAHASAN	68
BAB VII KESIMPULAN DAN SARAN	73
7.1 Kesimpulan	73
7.2 Saran	74
DAFTAR PUSTAKA.....	75
LAMPIRAN	82

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1 Tumor Antigen yang menstimulasi respon sel T	12
5.1 Volume tumor	49
5.2 Uji normalitas volume tumor tiap kelompok	50
5.3 Uji homogenitas varian volume tumor tiap kelompok	51
5.4 Hasil uji beda rerata volume tumor pada minggu ketiga antar kelompok	51
5.5 Berat mencit pada minggu 1,2, dan 3	53
5.6 Uji normalitas berat mencit pada minggu 1,2, dan 3	54
5.7 Uji homogenitas varian berat mencit tiap kelompok	55
5.8 Hasil uji beda rerata berat mencit antar kelompok minggu I	55
5.9 Nilai AgNOR pada tiap kelompok percobaan	56
5.10 Uji normalitas nilai AgNOR	57
5.11 Uji homogenitas varian nilai AgNOR	57
5.12 Hasil uji beda nilai AgNOR antar kelompok	58
5.13 Rerata indeks Apoptosis	59
5.14 Uji Normalitas indeks apoptosis	61
5.15 Uji homogenitas varian indeks apoptosis	62
5.16 Hasil uji beda indeks apoptosis	62
5.17 Perbandingan indeks apoptosis dengan nilai AgNOR	63
5.18 Uji normalitas perbandingan indeks apoptosis dengan nilai AgNOR	64
5.19 Uji homogenitas varian perbandingan indeks apoptosis dengan Nilai AgNOR	64
5.20 Hasil uji beda perbandingan indeks apoptosis dengan nilai AgNOR	65
5.21 Uji normalitas berat badan mencit	66
5.22 Uji homogenitas varian berat badan mencit	66
5.23 Hasil uji delta pada variable perubahan berat badan mencit	66

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Jalur Transduksi Sinyal EGF	9
2.2 Jalur Ekstrinsik Apoptosis	26
5.1 Gambaran mikroskopis sampel adenocarcinoma mamma yang determinasi sebelum pemberian ekstrak sarang semut	48
5.2 Rerata volume tumor	50
5.3 Volume tumor mencit antar kelompok	52
5.4 Rerata berat badan mencit	54
5.5 Rerata nilai AgNOR	57
5.6 Gambar pewarnaan AgNOR	58
5.7 Rerata indeks apoptosis	60
5.8 Gambar pewarnaan TUNEL	61

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1	Distribusi Range, Mean, Standard Deviasi 82
Lampiran 2	Tabel Induk 84
Lampiran 3	Rerata, Standar Deviasi, Kisaran 85
Lampiran 4	Rerata dan Standar Deviasi 86
Lampiran 5	Uji normalitas data dan homogenitas varians volume tumor pada minggu 1, 2, dan 3 87
Lampiran 6	Uji Anova volume tumor pada minggu 1, 2, dan 3 88
Lampiran 7	Uji normalitas data dan homogenitas varians berat badan mencit pada minggu 1, 2, dan 3 90
Lampiran 8	Uji Anova Berat Badan Mencit 91
Lampiran 9	Uji normalitas data dan homogenitas varians AgNOR ... 93
Lampiran 10	Uji Kruskal Wallis AgNOR 94
Lampiran 11	Uji Normalitas dan Homogenitas Rerata Apoptosis 98
Lampiran 12	Uji Anova Rerata Apoptosis 98
Lampiran 13	Perbandingan indeks apoptosis / nilai AgNOR 99
Lampiran 14	Uji Kruskal Wallis Perbandingan Indeks apoptosis / nilai AgNOR 100
Lampiran 15	Ethical Clearance 105
Lampiran 16	Surat Ijin Pelaksanaan Penelitian (SIP) di FK UI 106
Lampiran 17	Prosedur Inokulasi tumor 107
Lampiran 18	Penatalaksanaan jaringan 108
Lampiran 19	Pewarnaan jaringan dengan HE 109
Lampiran 20	Pewarnaan sel proliferasi dengan AgNOR..... 111
Lampiran 21	Pewarnaan sel apoptosis dengan TUNEL 112
Lampiran 22	Hasil Penghitungan AgNOR dan TUNEL 113

SINGKATAN

ADCC	= Antibody-Dependent Cellular Cytotoxicity
APC	= Antigen Presenting Cell
CTL	= Citotoxic T Lymphocyte
DNA	= Deoxyribo Nucleotida Acid
FADD	= Fas-Associated Death Domain
FasL	= Fas Ligand
FLICE	= FADD-Like IL-1 Converting Enzyme
ICAM	= Interseluler Adhesion Molecule
IFN- γ	= Interferon- γ
IUCC	= International Union Against Cancer
LAK	= Lymphokine Activated Killer
MAF	= Macrophag Activating Factors
MAPK	= Mitogen-Activated Protein Kinase
MHC	= Major Histocompatibility Complex
MIB-1	= Monoclonal Antibody
MIF	= Migration Inhibition Factor
NF- κ B	= Nuclear Factor Kappa B
NK	= Natural Killer
NOR	= Nucleolar Organizer Regions
PCNA	= Proliferation Cell Nuclear Antigen
RTK	= Receptor Tيروسin Kinase
TCR	= T-cell Receptor
TIL	= Tumor Infiltrating Lymphocyte
TNF- α	= Tumor Necrotic Factor- α
TUNEL	= Terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP-biotin nick end labelling
WHO	= World Health Organization

ABSTRAK

Latar belakang : Alternatif pengobatan kanker payudara dengan tanaman obat saat ini sedang dieksplorasi. Sarang semut (*myrmecodia pendens* Merr & Perry) merupakan tumbuhan asli Indonesia yang berasal dari Papua. Secara empiris banyak digunakan untuk mengobati berbagai penyakit. Uji in vitro menunjukkan bahwa *myrmecodia pendens* dapat menghambat pertumbuhan kanker usus, serviks dan paru.

Tujuan : Membuktikan pengaruh dosis bertingkat ekstrak *myrmecodia pendens* terhadap aktifitas proliferasi dan indeks apoptosis adenokarsinoma mamma.

Metode : Penelitian eksperimental pada hewan coba dengan desain penelitian *randomized post test only control group*. Sampel 28 ekor mencit C3H yang diinokulasi tumor, dibagi dalam 4 kelompok : kelompok kontrol dan tiga kelompok perlakuan yang diberi ekstrak *myrmecodia pendens* dosis bertingkat (4 mg/hari, 8 mg/hari, 16 mg/hari) selama 3 minggu. Kemudian dilakukan pemeriksaan aktifitas proliferasi dan indeks apoptosis. Proliferasi sel tumor diketahui dengan menghitung AgNOR setelah dipulas dengan perak nitrat koloidal. Sel yang mengalami apoptosis diketahui dengan menghitung indeks apoptosis setelah dipulas dengan TUNEL.

Hasil : Terdapat perbedaan bermakna aktifitas proliferasi ($p < 0,05$) ketiga kelompok yang diberikan ekstrak *myrmecodia pendens* dibandingkan kontrol ($P_1 = 3,2 \pm 1,40$, $P_2 = 3,2 \pm 0,52$, $P_3 = 4,6 \pm 1,06$, $K = 5,8 \pm 0,51$) peningkatan dosis tidak diikuti penurunan aktifitas proliferasi. Terdapat perbedaan bermakna indeks apoptosis ($p < 0,05$) pada ketiga kelompok yang diberikan ekstrak *myrmecodia pendens* dibandingkan kontrol ($P_1 = 2,9 \pm 0,46$, $P_2 = 3,2 \pm 0,0,196$, $P_3 = 2,9 \pm 0,35$, $K = 1,6 \pm 0,55$) peningkatan dosis tidak diikuti peningkatan indeks apoptosis.

Kesimpulan : Pemberian ekstrak *myrmecodia pendens* dapat menginduksi apoptosis dan menurunkan aktifitas proliferasi sel kanker.

Kata kunci : *Myrmecodia pendens*, proliferasi, indeks apoptosis, adenocarcinoma mammae.

ABSTRACT

Background : The treatment of breast cancer with herb medicine is now being explored. Sarang semut (*myrmecodia pendens* Merr & Perry) is an Indonesian indigenous plant from papua, empirically used to treat many diseases. Invitro study indicated that *myrmecodia pendens* could inhibit the growth of cancer in intestinal tract, cervic and lung.

Objective : To investigate the effects of *myrmecodia pendens* given in gradual dosage on the proliferation activity and apoptotic index of the breast cancer cells

Methods : Animal experiment using post test only control group design was done. Twenty-eight C3H mice were inoculated with tumour and were divided into four group : one control group and three groups were given by the extract of *myrmecodia pendens* in gradual dosage (4 mg/day, 8 mg/day, 16 mg/day). All of the groups were treated for three weeks. The proliferation activity of tumour was examined by counting the AgNOR deposits detected after colloidal AgNOR staining. Index apoptotic was assessed by mean of TUNEL method

Results : There was significant differences on the proliferation activity ($p < 0,05$) between three group administered with *myrmecodia pendens* extract compared with control group ($P_1 = 3,2 \pm 1,40$, $P_2 = 3,2 \pm 0,52$, $P_3 = 4,6 \pm 1,06$, $K = 5,8 \pm 0,51$) respectively. The increasing dosage was not followed by the reduction of proliferation activities. There were significant differences of the apoptotic index ($p < 0,05$) Of the three group given *myrmecodia pendens* extract compared with control group ($P_1 = 2,9 \pm 0,46$, $P_2 = 3,2 \pm 0,0,196$, $P_3 = 2,9 \pm 0,35$, $K = 1,6 \pm 0,55$) respectively. Increasing of the dosage was not followed by increasing of the increasing apoptotic index.

Conclusion : *Myrmecodia pendens* extract can induce apoptotic index and reduce proliferation activities of cancer cell.

Key words : *Myrmecodia pendens*, proliferation activity, apoptotic index, adenocarcinoma of the breast.