

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK BATANG SARANG
SEMUT (*Myrmecodia Pendens Merr & Perry*)
TERHADAP EKSPRESI p21 DAN EKSPRESI ki67
PADA GALUR SEL KARSINOMA MAMMAE T47D**



Tesis

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

Mudjahid

**PROGRAM PASCASARJANA
MAGISTER ILMU BIOMEDIK
DAN
PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS I
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2011**

Lembar Pengesahan

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK BATANG SARANG SEMUT
(*Myrmecodia Pendens Merr & Perry*)
TERHADAP EKSPRESI p21 DAN EKSPRESI ki67
PADA GALUR SEL KARSINOMA MAMMAE T47D**

Disusun oleh :

Mudjahid

Disetujui oleh:

Komisi Pembimbing

Pembimbing Utama

Pembimbing Kedua

Prof. Dr.dr.Sarjadi, SpPA(K)
NIP. 19441211 197105 1 001

Dra. Dyah Ratna Budiani, M.Si
NIP. 196702151994030 01

Mengetahui :

Ketua Program Studi
Magister Ilmu Biomedik
Program Pasca Sarjana Undip

Ketua Program Studi
Patologi Anatomi
Fakultas Kedokteran Undip

DR. dr. Winarto, SpMK, Sp.M (K), DMM
NIP. 194906171978021001

dr. Siti Amarwati, Sp.PA(K)
NIP. 19510806197903 2 001

**LEMBAR MONITORING PERBAIKAN
TESIS**

Yang bertanda tangan dibawah ini menerangkan dengan sebenarnya bahwa saya telah menyetujui **Perbaikan Ujian Tesis** yang diajukan pada **Ujian Tesis** tanggal 24 Juni 2011

Nama Mahasiswa : dr Mudjahid
Bagian : Patologi Anatomi
Judul : Pengaruh Pemberian Ekstrak Batang Sarang Semut (*myrmecodia pendens merr & perry*) Terhadap Ekspresi p21 dan Ekspresi ki67 pada Galur Sel Karsinoma Mammae T47D

No	Nama	Narasumber	Tanda Tangan	Tanggal
1	Prof.Dr.dr.Sarjadi, Sp.PA(K)	Pembimbing I		
2	Dra. Dyah Ratna Budiani, M.Si	Pembimbing II		
3	Dr. H.Udadi Sadhana, M.Kes, Sp.PA	Narasumber		
4	Prof.Dr.dr. H. Tjahjono, Sp.PA(K)FIAC	Biostatistik		
5	Dr. Niken Puruhita, Mmed.Sc,Sp.GK	Narasumber		
6	Dr.dr Andrew Johan, M Si	Narasumber		
7	Dr.dr.Winarto,Sp.MK,Sp.M(K)	Narasumber		
8	dr. Neni Susilaningih,M Si	Narasumber		

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, Januari 2011

Mudjahid

DAFTAR RIWAYAT HIDUP

A. Identitas

Nama : dr Mudjahid
Tempat / Tanggal lahir : Klaten, 17 Juli 1946
Jenis Kelamin : Laki – laki

B. Riwayat Pendidikan

SD Meger I : Lulus tahun 1959
SMP II Klaten : Lulus tahun 1962
SMA
FK UNS Surakarta : Lulus tahun 1978
PPDS I Patologi Anatomi FK UNDIP : 2006 – Sekarang
Magister Ilmu Biomedik Pasca Sarjana Undip : 2006 – Sekarang

C. Riwayat Pekerjaan

Dosen bagian Patologi Anatomi FK UNS : 1976 – Sekarang

D. Riwayat Keluarga

Nama Istri : Dra. Siti Alfiyah

Nama Anak :

1. Taufiqurrohman, ST
2. Rif'atul Khoiriyah, S.PSi
3. Laili Hikmawati Azizah, S.Sos
4. Frida Alfani Maslahah, S.Pd
5. Luluk Fajria Maulida

KATA PENGANTAR

Puji Syukur dipanjatkan kehadirat Allah SWT atas berkah rahmat dan bimbinganNya, tesis yang berjudul **“Pengaruh Pemberian Ekstrak Batang Sarang Semut (*Myrmecodia pendens* Merr & Perry) terhadap Ekspresi p21 dan Ekspresi ki67 pada Galur Sel Karsinoma Mammae T47D”**

Sarang Semut merupakan salah satu tumbuhan epifit dari *Rubiaceae* yang dapat berasosiasi dengan semut pada batang yang menggembung. Berbagai penelitian terdahulu menunjukkan bahwa senyawa ini mengandung senyawa aktif dari golongan flavonoid dan tanin. Senyawa flavonoid mempunyai efek memblokir reseptor pertumbuhan dan menghambat Mitogen Activated Protein Kinase (MAPK). Oleh karena itu diharapkan hasil penelitian ini dapat membantu pengembangan penelitian penggunaan ekstrak batang sarang semut (*Myrmecodia pendens* Merr & Perry) sebagai alternatif terapi ajuvan dalam memperbaiki efek modalitas terapi kanker terutama kanker payudara.

Penulis menyadari adanya kekurangan dan keterbatasan dalam penelitian dan penyusunan tesis ini, oleh karena itu penulis sangat berterimakasih atas semua saran yang diberikan oleh berbagai pihak demi kesempurnaan tesis ini. Dalam kesempatan ini, penulis juga menyampaikan permintaan maaf kepada semua pihak yang mungkin mengalami hal yang kurang berkenan terhadap penulis selama penyusunan dan kegiatan penelitian ini.

Semarang, Januari 2011

Mudjahid

UCAPAN TERIMA KASIH

Dengan selesainya penelitian dan penyusunan tesis ini, penulis ingin mengucapkan banyak terima kasih kepada:

1. Rektor Universitas Diponegoro Semarang
Prof. Dr.dr. Susilo Wibowo, M.S.Med, Sp.And beserta jajarannya yang telah mengizinkan saya menempuh PPDS I Patologi Anatomi FK UNDIP Semarang.
2. Rektor Universitas Sebelas Maret Surakarta Prof. Dr. dr. Syamsulhadi, Sp.J yang telah mengizinkan saya menempuh PPDS I Patologi Anatomi FK UNDIP Semarang.
3. Direktur Program Pasca Sarjana Universitas Diponegoro Semarang, Prof.Drs. Y. Warella, MPA, PhD yang telah mengizinkan saya menempuh Program Pasca Sarjana UNDIP Semarang.
4. Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik Program Pasca Sarjana Universitas Diponegoro Semarang DR.dr. Winarto, SpMK, SpMK, yang telah meluangkan waktu, tenaga dan pikiran untuk memberikan masukan dan arahan dalam pendidikan.
5. Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang, dr. Soejoto, Sp.KK(K) beserta jajarannya, yang telah memberikan kesempatan kepada saya untuk menempuh PPDS I Patologi Anatomi FK UNDIP Semarang

6. Dekan Fakultas Kedokteran Sebelas Maret Surakarta, DR. H.A.A. Subijanto, dr, MS yang telah memberikan kesempatan kepada saya untuk menempuh PPDS I Patologi Anatomi FK UNDIP Semarang.
7. Direktur Utama RSUP Dr. Kariadi Semarang.
dr. Hendriani Selina, Sp.PA(K), MARS, beserta jajaran Direksi yang telah memberikan ijin kepada saya untuk menempuh PPDS I Patologi Anatomi di Bagian/SMF Patologi Anatomi di RSUP Dr. Kariadi Semarang.
8. Ketua Bagian Patologi Anatomi FK UNDIP,
dr. Bambang Endro Putranto, SpPA(K) yang telah memberikan kesempatan kepada saya untuk menempuh PPDS I dan atas perhatian, motivasi dan fasilitas yang diberikan selama proses pendidikan dan penyelesaian tesis.
9. Ketua Bagian Patologi Anatomi FK UNS
Prof. Dr.dr. Ambar Mudigdo, SpPA(K) yang telah memberikan kesempatan kepada saya untuk menempuh PPDS I dan atas perhatian, motivasi dan fasilitas yang diberikan selama proses pendidikan dan penyelesaian tesis
10. Prof.Dr.dr. Sarjadi, SpPA(K), sebagai pembimbing utama, atas segala bimbingan motivasi, waktu dan kesabaran yang telah diberikan kepada saya sejak persiapan proposal penelitian sampai dengan penulisan tesis.
11. Dra. Dyah Ratna Budiani, M.Si sebagai pembimbing kedua, atas segala bimbingan motivasi, waktu dan kesabaran yang telah diberikan kepada saya sejak persiapan proposal penelitian sampai dengan penulisan tesis.

12. Ketua Program Studi PPDS I Patologi Anatomi FK UNDIP, dr. Siti Amarwati, Sp.PA(K), atas perhatian motivasi dan fasilitas yang diberikan selama proses pendidikan dan penyelesaian tesis.
13. Para narasumber dan penguji, Prof. Dr. dr. Sarjadi, SpPA(K), Dra. Dyah Ratna Budiani, M.Si, dr. Udadi Sadhana, M.Kes, Sp.PA, Prof.Dr.dr.H. Tjahjono, SpPA(K), dr. Niken Puruhita, M.Med.Sc, Sp.GK, Dr.dr. Andrew Johan, M.Si, DR.dr. Winarto, SpMK, SpMK atas kesediaan untuk meluangkan waktu memberikan masukan dan bimbingan untuk penyempurnaan tesis ini.
14. Para guru besar dan guru-guru saya di Patologi Anatomi Semarang, Prof.dr. Tirtosugondo, SpPA(K), Prof.dr. Soebowo, SpPA(K), Dr.dr. Rofiq Anwar, Sp.PA(K), dr. Noor Yazid, SpPA(K), dr. Siti Amarwati, SpPA(K), dr. Kasno, SpPA(K), dr. Awal Prasetyo, M.Kes, SpTHT-KL atas bimbingan yang diberikan selama pendidikan
15. Mas Dul, Bu Hartini, Mbak Nata dan Pak Dukut atas kebaikan dan bantuan yang diberikan selama pendidikan sampai diselesaikannya tesis
16. Mbak Rini, atas waktu dan bantuan yang diberikan dalam penulisan tesis.
17. Siti Alfiyah, Istri saya, dan anak-anak saya, Taufiq, Ririf, Laili, Frida dan Luluk yang selalu memberikan dorongan, doa dan bantuan selama pendidikan dan bantuan tesis.

Semarang, Januari 2011

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
PERNYATAAN	iii
RIWAYAT HIDUP	iv
KATA PENGANTAR	v
UCAPAN TERIMA KASIH	vi
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR GRAFIK	xiii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR SINGKATAN	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
ABSTRAK	xviii

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1. Latar belakang	1
1.2. Rumusan masalah	3
1.3. Tujuan penelitian	3
1.4. Manfaat penelitian	4
1.5. Orisinalitas Penelitian	5

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Terapi Keganasan.....	6
2.2. Sarang Semut	8
2.3. Aktifitas Proliferasi Sel	10
2.4. Apoptosis	10
2.5. Siklus Sel	15
2.6. Peran p21 kaitannya dengan p53	17

BAB III. KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

3.1. Kerangka Teori	19
3.2. Kerangka Konsep.....	20
3.3. Hipotesis	20

BAB IV. METODE PENELITIAN

4.1. Jenis Penelitian	21
4.2. Lokasi dan Waktu Penelitian.....	21
4.3. Subjek Penelitian	21
4.4. Besar Sampel	21
4.5. Alat dan Bahan.....	22
4.6. Cara Kerja.....	22
4.7. Variabel Penelitian.....	25
4.8. Definisi Operasional.....	25
4.9. Rancangan Penelitian	26
4.10. Analisis Data.....	26

BAB V. HASIL DAN ANALISA DATA

5.1. Hasil Penelitian	27
5.2. Pengaruh pemberian fraksi etanolik sarang semut terhadap ekspresi p21	28
5.3. Pengaruh pemberian fraksi etanolik sarang semut terhadap ekspresi ki67	32

BAB VI. PEMBAHASAN

6.1. Pengaruh pemberian fraksi etanolik sarang semut terhadap ekspresi p21 sel T47D.....	36
6.2. Pengaruh pemberian fraksi etanolik sarang semut terhadap ekspresi ki67 sel T47D	37

BAB VII. KESIMPULAN DAN SARAN

7.1. Kesimpulan.....	38
7.2. Saran.....	38

DAFTAR PUSTAKA	xx
LAMPIRAN	39

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Mekanisme molekuler terjadinya apoptosis.....	13
Gambar 2. Mekanisme molekuler terjadinya apoptosis.....	14
Gambar 3. Skema Pengisian Sumuran.....	25
Gambar 4. Ekspresi p21 0 gr/ml.....	30
Gambar 5. Ekspresi p21 31.25 gr/ml.....	30
Gambar 6. Ekspresi p21 62.5 gr/ml.....	31
Gambar 7. Ekspresi p21 125 gr/ml.....	34
Gambar 8. Ekspresi ki67 0 gr/ml.....	34
Gambar 9. Ekspresi ki67 31.25 gr/ml.....	34
Gambar 10. Ekspresi ki67 62.5 gr/ml.....	35
Gambar 11. Ekspresi ki67 125 gr/ml.....	35

DAFTAR GRAFIK

Grafik 1. Pengaruh pemberian fraksi etanolik ekstrak sarang semut terhadap ekspresi ki67 dan p21 sel T47D	27
Grafik 2. Ekspresi p21 pada pemberian ekstrak sarang semut.....	28
Grafik 3. Ekspresi ki67 pada setiap konsentrasi ekstrak sarang semut	32

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Prosentase Jumlah Sel	24
Tabel 2. Penilaian Intensitas Warna	24
Tabel 3. Hasil Uji Regresi Korelasi Linier hubungan antara konsentrasi pemberian ekstrak sarang semut dan skor histologis p21	29
Tabel 4. Hasil Uji Regresi Korelasi Linier hubungan antara konsentrasi pemberian ekstrak sarang semut dan skor histologis ki67	33

DAFTAR SINGKATAN

Apaf	: Apoptotic protease activating factor
APC	: Adenomatous Polyposis Colli
ATM	: Ataxiz Telangoectasia Mutated
BRCA-1	: Breast Cancer Antigen-1
BRCA-2	: Breast Cancer Antigen-2
CDK	: Cyclin Dependent Kinase
CDKI	: Cyclin Dependent Kinase Inhibitor
DAB	: Diamino Benzidine
DCC	: Deleted in Cell Colorectal Carcinoma
DNA	: Deoksiribonuclease
DR	: Death Receptor
ER	: Estrogen Receptor
FADD	: Fas Associated Death Domain
Fas L	: Fas Ligan
FBL	: Fetal Bovine Serum
G1	: First Gap Phase
G2	: Second Gap Phase
Kda	: Kilo Dalton
KBM	: Ko-efisien Bunuh Mikroba
Ki67	: Gen ki67
ki67	: Protein ki67
LC50	: Lethal Concentration 50 %
M	: Mitosis Phase
MAP	: Mitogen Activating Protein
MoAb	: Monoclonal Antibody
NF-1	: Neurofibromatosis type 1
NF-2	: Neurofibromatosis type 2
pRb	: Phosfat Buffer Saline
P21	: Gen p21

p21	: Protein p21
P53	: Gen p53
p53	: Protein p53
S-Phase	: Sybthesis Phase
SA-HRP	: Streptavidin Horsedishperoksidase
SREBP	: Sterol Regulatory Element Binding Protein
TNFR	: Tumor Necrosis Factor Receptor
TCF	: Tissue Culture Flask
WHO	: World Health Organization

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	: Regresi linier hubungan antara pengaruh konsentrasi ekstrak sarang semut terhadap tingkat ekspresi p21 sel T47D39
Lampiran 2	: Regresi linier hubungan antara pengaruh konsentrasi ekstrak sarang semut terhadap tingkat ekspresi ki67 sel T47D41

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK BATANG SARANG
SEMUT (*Myrmecodia Pendens Merr & Perry*)
TERHADAP EKSPRESI p21 DAN EKSPRESI ki67
PADA GALUR SEL KARSINOMA MAMMAE T47D**

ABSTRAK

Latar Belakang : Pendekatan empiris banyak dilakukan masyarakat Indonesia dalam penggunaan herbal batang sarang semut sebagai komponen anti kanker, tanpa adanya penelitian yang mendasarinya. Ekstrak batang sarang semut beberapa tahun belakangan ini banyak digunakan dalam penanganan kanker payudara tanpa pengawasan secara medik. Penelitian tentang potensi antikanker ekstrak batang sarang semut dilaksanakan antara lain dengan melihat pengaruhnya terhadap ekspresi p21 dan ki67 pada sel T47D secara *in vitro*. p21 suatu tumor supressor protein yang berfungsi dalam induksi *cell cycle arrest* dan *repair* DNA. Sedangkan ki67 merupakan *marker proliferasi* sel yang selalu hadir pada setiap aktivitas proliferasi sel

Metode : Jenis penelitian eksperimental dengan *design post test only control group* menggunakan 24 *well kultur* sel kanker *mammae* T47D pada medium RPMI 1640, masing-masing *well* berisi 2×10^5 / 200 l. Empat *well* pada perlakuan dengan fraksi etanolik ekstrak batang sarang semut pada konsentrasi 0 gr/ ml; 31,25 gr/ ml; 62,5 gr/ ml dan 125 gr/ ml.

Penilaian : Makna tampilan p21, ki67 dinyatakan sebagai Skor Sitologi

Hasil : Uji Regresi korelasi menunjukkan adanya hubungan yang positif antara kenaikan konsentrasi sarang semut dengan tingkat ekspresi p21 $R_2 = 0,889$ Ekstrak sarang semut menunjukkan hubungan negatif antara kenaikan konsentrasi sarang semut dengan penurunan terhadap ekspresi ki67 $R_2 = 0,827$

Kesimpulan : Ekstrak sarang semut fraksi etanolik menurunkan ki67 dan meningkatkan tingkat ekspresi p21

Kata kunci: Sarang semut (*Myrmecodia pendens, Merr & Perry*), p21 dan ki67.

EFFECT OF BATANG SARANG SEMUT EXTRACT
(*Myrmecodia Pendens Merr & Perry*)
ON THE EXPRESSION OF p21 AND ki67
IN T47D MAMMARY CARCINOMA CELL LINE

ABSTRACT

Background : Empirical Approaches done a lot of Indonesian society as a component in the use of herbal anti-cancer, in the absence of the underlying research. Extract of batang sarang semut in recent years is widely used in the treatment of breast cancer without clinical and laboratoric supervision.

Study in vitro on the anticancer potential of stem extracts of sarang semut conducted among others by looking at its effect on the expression of p21 and ki67 on T47D cell line.

p21 is a tumor supressor protein that functions in the induction of cell cycle arrest and DNA repair. While ki67 is cell proliferation marker that is always present in every proliferation cell activity that is nutritious.

Methods : This type of experimental research with the design of post test only control group using 24 well culture T47D mammary cancer cells in RPMI 1640 medium, each well containing 2×10^5 / 200 l. Four well to treatment with the fraction of ethanolic extract of stem anthill at a concentration 0 gr / ml; 31.25 gr / ml; 62.5 gr / ml and 125 gr / ml.

Assessment : The meaning of display p21, ki67 declared Score Cytology Results: Regression test of correlation showed a positive relationship between the increase in the concentration of sarang semut with the expression levels of p21 $R_2 = 0.889$ Extract sarang semut showed a negative relationship between the increase in the concentration of sarang semut with a decrease on the expression of ki67 $R_2 = 0.827$

Conclusion : The fraction of ethanolic extract sarang semut decrease the level of ki67 expressions and increase the level of p21 expressions

Keyword : sarang semut (*Myrmecodia pendens, Merr & Perry*), p21 and ki67