

**EFEKTIVITAS EKSTRAK *Cuscuta australis* DAN *Litsea glutinosa*
SEBAGAI PENGHAMBAT *DIPEPTIDYL PEPTIDASE-4* DALAM
MEMODULASI PERTUMBUHAN SEL KANKER PAYUDARA
(STUDI *IN VITRO* PADA *MCF-7 CELL LINE*)**

SKRIPSI

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran**



Aninditya Verinda Putrinadia

G0013030

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS SEBELAS MARET**

Surakarta

2016

PENGESAHAN SKRIPSI

Skripsi dengan judul: Efektivitas Ekstrak *Cuscuta australis* dan *Litsea glutinosa* sebagai Penghambat *Dipeptidyl Peptidase-4* dalam Memodulasi Pertumbuhan Sel Kanker Payudara (Studi *In Vitro* pada MCF-7 Cell Line)

Aninditya Verinda Putrinadia, NIM: G0013030, Tahun: 2016

Telah diuji dan sudah disahkan di hadapan Dewan Penguji Skripsi

Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta

Pada Hari Rabu, Tanggal 21 Desember 2016

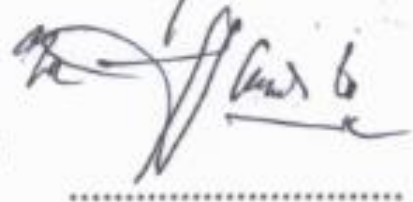
Pembimbing Utama

Nama : **Dono Indarto, dr., M.Biotech.St., Ph.D, St.AIFM**
NIP : 196701041996011001



Pembimbing Pendamping

Nama : **Amelya Augusthina Ayusari, dr., M.Gizi**
NIK : 1984081820130201

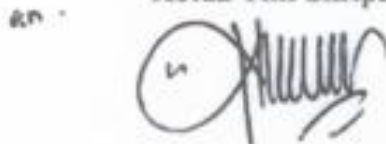


Penguji

Nama : **Yuliana Heri Suselo, dr., M.Sc**
NIP : 198007182006042001



Ketua Tim Skripsi



Kusmadewi Eka Damavanti, dr., M.Gizi

NIP. 198305092008012005

Surakarta
Kepala Program Studi



18 JAN 2017

Sima Andhi Junip, dr., M.Kes
NIP. 197006072001121002

PERNYATAAN

Dengan ini menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Surakarta, 12 Desember 2016



Aninditya Verinda Putrinadia

NIM. G0013030

ABSTRAK

Aninditya Verinda Putrinadia, G0013030, 2016. Efektivitas Ekstrak *Cuscuta australis* dan *Litsea glutinosa* sebagai Penghambat *Dipeptidyl Peptidase-4* dalam Memodulasi Pertumbuhan Sel Kanker Payudara (Studi *In Vitro* pada MCF-7 Cell Line). Skripsi. Fakultas Kedokteran, Universitas Sebelas Maret, Surakarta.

Latar Belakang: Diabetes melitus tipe 2 (DMT2) merupakan salah satu faktor risiko terjadinya kanker payudara terkait aktivitas enzim *dipeptidyl peptidase-4* (DPP-4). *Cuscuta australis* (tali putri) dan *Litsea glutinosa* (adem ati) merupakan tanaman herbal yang memiliki potensi untuk menghambat aktivitas enzim DPP-4, seperti obat antidiabetik oral sitagliptin secara *in silico*. Penghambatan aktivitas enzim tersebut diharapkan dapat menurunkan pertumbuhan sel. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas ekstrak *Cuscuta australis* dan *Litsea glutinosa* sebagai penghambat DPP-4 dalam memodulasi pertumbuhan sel kanker payudara dibandingkan dengan sitagliptin.

Metode: Penelitian ini adalah penelitian eksperimen laboratorium dengan pendekatan *post-test only control group design*. Sebanyak 1×10^6 sel MCF-7 per sumuran digunakan untuk uji apoptosis dengan *flowcytometer* dan sebanyak 5×10^3 sel per sumuran digunakan untuk uji proliferasi dengan metode *Microculture Tetrazolium Salt* (MTT). Uji tersebut dilakukan dalam enam kelompok penelitian, yaitu kontrol negatif (KN), kontrol pelarut dengan DMSO (KD), kontrol positif dengan sitagliptin (KP), *soxhletasi* tali putri (ST), maserasi adem ati (MA), dan *soxhletasi* adem ati (SA). Data yang terkumpul dianalisis menggunakan *One-Way ANOVA* dan *Kruskal-Wallis* ($p < 0,05$).

Hasil: Pertumbuhan sel MCF-7 pada kelompok perlakuan (ST, MA, dan SA) menurun dibandingkan dengan kelompok KP secara signifikan ($p < 0,001$) setelah 24 dan 48 jam inkubasi. Pada inkubasi 72 jam, hanya kelompok sel MCF-7 pada kelompok ST dan SA menurun secara signifikan dibandingkan dengan kelompok KP ($p < 0,05$). Persentase viabilitas sel terendah tampak pada seluruh kelompok sel MCF-7 setelah inkubasi 48 jam. Kelompok KP (22,71%) dan ST (42,73%) memiliki persentase apoptosis sel lebih tinggi daripada kelompok KN (4,97%) dan KD (6,76%).

Simpulan: Ekstrak *soxhletasi Cuscuta australis* dapat menghambat dan menginduksi apoptosis sel MCF-7 kemungkinan melalui jalur penghambatan DPP-4, sementara ekstrak maserasi dan *soxhletasi Litsea glutinosa* hanya dapat menghambat pertumbuhan sel MCF-7.

Kata kunci: *actinodaphnine*, *Cuscuta australis*, kanker payudara, *Litsea glutinosa*, sitagliptin

ABSTRACT

Aninditya Verinda Putrinadia, G0013030, 2016. The Effectiveness of Extract *Cuscuta australis* and *Litsea glutinosa* as a *Dipeptidyl Peptidase-4* Inhibitor in Modulation of Breast Cancer Cell Growth (In Vitro Study on MCF-7 Cell Line). Mini Thesis. Faculty of Medicine, Sebelas Maret University, Surakarta.

Background: Type 2 diabetes mellitus (T2DM) is one of risk factors in breast cancer pathogenesis related to *dipeptidyl peptidase-4* (DPP-4) enzyme activity. *Cuscuta australis* and *Litsea glutinosa* which are herbal plants have an ability to inhibit DPP-4 enzyme activity in silico, like an antidiabetic drug sitagliptin. Inhibition of the enzyme activity is expected to reduce cell growth. Therefore, this study aimed to determine the effectiveness of extract *Cuscuta australis* and *Litsea glutinosa* as a DPP-4 inhibitor in modulation of breast cancer cell growth compared to sitagliptin.

Methods: This study was an experimental laboratory with post-test only control group design. 1×10^6 MCF-7 cells per well were used to examine apoptosis which used flowcytometer and 5×10^3 cells for *Microculture Tetrazolium Salt* (MTT) proliferation assay. These assays were conducted in six different groups, negative control (KN), negative control with DMSO (KD), positive control with sitagliptin (KP), soxhletation of *Cuscuta australis* (ST), maceration of *Litsea glutinosa* (MA), and soxhletation of *Litsea glutinosa* (SA). Collected data was analyzed using *One-Way ANOVA* and *Kruskal-Wallis* test ($p < 0.05$).

Results: Proliferation rate of MCF-7 cells in treatment groups (ST, MA, and SA) was lower than that of KP group after 24 and 48 hours incubation and it reached significant difference ($p < 0.001$). In 72 hour incubation, only MCF-7 cells in ST and SA groups decreased significantly compared with KP group ($p < 0.05$). A lower percentage of cell viability in all treated groups was observed in KP and ST groups after 48 hour incubation. MCF-7 cells in KP and ST groups had higher percentage of apoptotic cells (22.71% and 42.73% respectively) than KN (4.97%) and KD (6.76%) groups.

Conclusion: *Soxhletation* extract of *Cuscuta australis* can inhibit and induce apoptosis of MCF-7 cells through DPP-4 inhibition, while maceration and *soxhletation* extracts of *Litsea glutinosa* only inhibit MCF-7 cell proliferation.

Keywords: *actinodaphnine*, *breast cancer*, *Cuscuta australis*, *Litsea glutinosa*, sitagliptin


PRAKATA

Puji syukur kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi dengan judul “**Efektivitas Ekstrak *Cuscuta australis* dan *Litsea glutinosa* sebagai Penghambat *Dipeptidyl Peptidase-4* dalam Memodulasi Pertumbuhan Sel Kanker Payudara (Studi *In Vitro* pada MCF-7 Cell Line)**”. Penulis menyadari bahwa penelitian dan penyusunan skripsi ini dapat berjalan dengan baik dan lancar karena adanya pengarahan, bimbingan, dan bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. **Prof. Dr. Hartono, dr., M.Si** selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta dan Dosen Pembimbing Akademik.
2. **Sinu Andhi Jusup, dr., M.Kes** selaku Kepala Program Studi Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta.
3. **Kusmadewi Eka Damayanti, dr.** selaku Ketua Tim Skripsi Program Studi Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta.
4. **Dono Indarto, dr., M.Biotech.St., Ph.D, St.AIFM** selaku Dosen Pembimbing Utama yang selalu memberikan dukungan, bimbingan, dan arahan dari awal penelitian sampai akhir penulisan skripsi ini.
5. **Amelya Augusthina Ayusari, dr., M.Gizi** selaku Dosen Pembimbing Pendamping yang selalu memberikan bimbingan dan arahan dari awal penelitian sampai akhir penulisan skripsi ini.
6. **Yuliana Heri Suselo, dr., M.Sc** selaku Dosen Penguji yang selalu memberikan bimbingan dan arahan dalam penulisan skripsi ini.
7. Kedua orangtua saya, Prof. Dr. Samanhudi, S.P, M.Si dan Iswatun S.Pd, serta adik saya Luthfiana Nadhiifa Khoirunnisa yang selalu memberikan dukungan moral, material, semangat, doa dan kasih sayang tiada henti.
8. Pak Radi, Pak Setiyana, Pak Sulistyono, Bu Rumbi, Bu Tri, Bu Wisni, Mas Farid, Mbak Alfin, dan Mbak Evi selaku laboran yang telah membantu dan membimbing selama penelitian.
9. Mila Ulfia, Taqwatin Ma’rifah, Suryaningtyas Margi Utami, teman-teman Alacritas Kedokteran FK UNS 2013, teman-teman Kastrat de Geneeskunde, dan teman-teman Studi Ilmiah Mahasiswa yang selalu memberikan semangat, dukungan, nasihat, dan bantuan saat penelitian maupun penyusunan skripsi.
10. Semua pihak yang telah membantu demi kelancaran penelitian dan penulisan skripsi ini yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini belum sempurna meskipun penulis telah berusaha dengan maksimal untuk mendapatkan hasil yang terbaik. Oleh karena itu, segala kritik dan saran yang membangun penulis harapkan. Semoga skripsi ini bermanfaat dan memberikan sumbangan pikiran untuk masa yang akan datang.

Surakarta, 12 Desember 2016


Aninditya Verinda Putrinadia

DAFTAR ISI

	Halaman
PRAKATA	vi
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR LAMPIRAN	x
DAFTAR SINGKATAN	xi
I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	4
C. Tujuan Penelitian	4
D. Manfaat Penelitian	5
II. LANDASAN TEORI	6
A. Tinjauan Pustaka	6
1. Kanker Payudara	6
2. <i>Dipeptidyl Peptidase-4 (DPP4)</i>	10
3. Tanaman Herbal Indonesia	16
4. Metode Ekstraksi Tanaman Tali Putri dan Adem Ati ...	23
B. Kerangka Pemikiran	26
C. Hipotesis	27

III. METODE PENELITIAN	28
A. Jenis Penelitian	28
B. Lokasi dan Waktu Penelitian	28
C. Sampel Penelitian	28
D. Rancangan Penelitian	29
E. Identifikasi Variabel Penelitian	29
F. Definisi Operasional Variabel	30
G. Alat dan Bahan	31
H. Cara Kerja	32
I. Teknik Analisis	40
IV. HASIL PENELITIAN	42
A. Laju Proliferasi MCF-7 <i>Cell Line</i> Dengan atau Tanpa Perlakuan	42
B. Laju Apoptosis MCF-7 <i>Cell Line</i> Dengan atau Tanpa Perlakuan	47
V. PEMBAHASAN	50
A. Analisis Hasil Uji Proliferasi dan Apoptosis	50
B. Keterbatasan Penelitian	60
VI. PENUTUP	62
A. Simpulan	62
B. Saran	62
DAFTAR PUSTAKA	64
LAMPIRAN	80

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1. Sepuluh sifat sel kanker	7
Gambar 2.2. Morfologi sel MCF-7 dengan menggunakan mikroskop cahaya perbesaran 400 kali	9
Gambar 2.3. Struktur domain DPP-4	12
Gambar 2.4. DPP-4i sebagai terapi DMT2	14
Gambar 2.5. DPP-4i sebagai agen antikanker	16
Gambar 2.6. Tanaman tali putri	18
Gambar 2.7. Tanaman adem ati	20
Gambar 2.8. Struktur kimia <i>actinodaphnine</i>	23
Gambar 3.1. Skema rancangan penelitian	29
Gambar 4.1. Efek ekstrak tanaman terhadap nilai absorbansi MCF-7 <i>cell line</i>	42
Gambar 4.2. Efek ekstrak tanaman terhadap persentase viabilitas MCF-7 <i>cell line</i> pada inkubasi 24 jam	44
Gambar 4.3. Efek ekstrak tanaman terhadap persentase viabilitas MCF-7 <i>cell line</i> pada inkubasi 48 jam	45
Gambar 4.4. Efek ekstrak tanaman terhadap persentase viabilitas MCF-7 <i>cell line</i> pada inkubasi 72 jam	46
Gambar 4.5. Hasil analisis <i>flowcytometry</i> dengan inkubasi 48 jam menggunakan metode <i>cell quest</i>	48
Gambar 4.6. Rerata persentase sel apoptosis dari dua data yang berbeda	49

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. <i>Ethical Clearance</i> Penelitian	80
Lampiran 2. Surat Izin Penelitian	81
Lampiran 3. Hasil Identifikasi Tanaman Adem Ati (<i>Litsea glutinosa</i>) ...	82
Lampiran 4. Hasil Uji Proliferasi dengan Inkubasi 24 Jam	83
Lampiran 5. Hasil Uji Proliferasi dengan Inkubasi 48 Jam	84
Lampiran 6. Hasil Uji Proliferasi dengan Inkubasi 72 Jam	85
Lampiran 7. Hasil Uji Statistik Persentase Viabilitas Sel dengan Inkubasi 24 Jam	86
Lampiran 8. Hasil Uji Statistik Persentase Viabilitas Sel dengan Inkubasi 48 Jam	88
Lampiran 9. Hasil Uji Statistik Persentase Viabilitas Sel dengan Inkubasi 72 Jam	90
Lampiran 10. Hasil Uji Apoptosis dengan Inkubasi 24 Jam	99
Lampiran 11. Hasil Uji Apoptosis dengan Inkubasi 48 Jam	100
Lampiran 12. Dokumentasi Kegiatan Penelitian	101

DAFTAR SINGKATAN

ADBP	: <i>Adenosine Deaminase Binding Protein</i>
ADCP2	: <i>Adenosine Deaminase Complexing Protein 2</i>
ASI	: <i>Air Susu Ibu</i>
AP-1	: <i>Activator Protein-1</i>
CXCL10	: <i>C-X-C Motif Chemokine Ligand 10</i>
CXCR3 ⁺	: <i>C-X-C Chemokine Receptor Type-3</i>
DCM	: <i>Dichloromethane</i>
DMEM	: <i>Dulbecco's Modified Eagle Medium</i>
DMSO	: <i>Dimethyl Sulfoxide</i>
DMT2	: <i>Diabetes Melitus Tipe 2</i>
DP	: <i>Dipeptidyl Peptidase</i>
DPP-4	: <i>Dipeptidyl Peptidase-4</i>
ER	: <i>Estrogen Receptor</i>
FBS	: <i>Fetal Bovine Serum</i>
FDA	: <i>Food and Drug Administration</i>
GIP	: <i>Glucose Dependent Insulinotropic Polypeptide</i>
GLP-1	: <i>Glucagon Like Peptide-1</i>
HbA1c	: <i>Hemoglobin A1c</i>
HER2	: <i>Human Epidermal Receptor 2</i>
KD	: <i>Kontrol Pelarut (DMSO)</i>
KN	: <i>Kontrol Negatif</i>

KP	: Kontrol Positif
MA	: Maserasi Adem Ati
MCF-7	: <i>Michigan Cancer Foundation-7</i>
MEK1	: <i>Meiotic Kinase 1</i>
MK	: Media Kultur
MTT	: <i>Microculture Tetrazolium Salt</i>
NFκβ	: <i>Nuclear Factor Kappa β</i>
p53	: Protein 53
PBS	: <i>Phosphate Buffered Saline</i>
PIN1	: <i>Peptidyl cis/trans isomerase, NIMA-interacting 1</i>
ppm	: μg per mL
rpm	: rotasi per menit
SA	: <i>Soxhletasi Adem Ati</i>
SDS	: <i>Sodium Dodecyl Sulfate</i>
SRB	: <i>Sulforhodamine B</i>
ST	: <i>Soxhletasi Tali Putri</i>
STAT3	: <i>Signal Transducer and Activator of Transcription 3</i>
TMD	: <i>Transmembrane Domain</i>
TME	: <i>Tumor Environment</i>