

DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN	i
PERNYATAAN	ii
PERSEMBAHAN	iii
KATA PENGANTAR	iv
INTISARI	vii
ABSTRACT	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
DAFTAR SINGKATAN	xviii
BAB I. PENGANTAR	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	8
C. Tujuan Penelitian	9
D. Manfaat Penelitian	11
A. Keaslian Penelitian	12
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA DAN LANDASAN TEORI	15
A. Tinjauan Pustaka	15
1. Kanker Serviks Uteri.....	15
2. Tipe Histopatologi Kanker Serviks Uteri	19
3. Sel HeLa.....	20
4. MikroRNA pada Kanker.....	21
5. Mutasi MiRNA	21
6. MikroRNA-21.....	22
7. MikroRNA-214.....	24
8. MikroRNA-34a.....	26
9. p53.....	27
10. TIMP-3.....	28
11. Apoptosis dan Bcl-2.....	29

12. Senyawa 1,2-epoksi-3(3-(3,4-dimetoksifenil)-4H-1-benzopiran -4on) propana (EPI)	32
13. Mekanisme Molekuler Antikanker Isoflavon	33
14. Analisis Docking.....	37
B. Landasan Teori.....	37
C. Kerangka Konsep.....	43
D. Hipotesis	44
BAB III. METODA PENELITIAN	46
A. Jenis dan Rancangan Penelitian	46
B. Populasi dan Sampel	46
C. Variabel Penelitian.....	47
D. Definisi Operasional	47
E. Alat dan Bahan Penelitian.....	59
1. Alat Penelitian	50
2. Bahan Penelitian.....	51
F. Jalan Penelitian	51
1. Kultur Sel	51
2. Uji Sitotoksik dengan MTT.....	52
3. Penetapan Aktivitas Sitotoksik.....	52
4. Uji Kombinasi	53
5. Deteksi Ekspresi Gen dengan Real Time Polymerase Chain Reaction (PCR)	55
6. Deteksi Protein p53, TIMP-3 dan Bcl-2 dengan ELISA	59
7. In silico Docking Molecular	61
8. Sekuensing MiR-21 sel HeLa	62
G. Tempat Penelitian	63
H. Analisis Hasil	63
I. Implikasi Etik Penelitian	63
J. Alur Penelitian	65
BAB IV. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	66
A. Hasil	66
1. Uji Aktivitas Sitotoksik Senyawa 1,2-epoksi-3(3-(3,4-dimetoksifenil) -4H-1- benzopiran-4on) propana (EPI), Doxorubicin (DOX), dan	

Cisplatin (CIS), dan Kombinasinya terhadap Sel HeLa	66
2. Uji Aktifitas Sitotoksik Kombinasi Senyawa EPI dan DOX Terhadap Sel HeLa.....	67
3. Uji Aktifitas Sitotoksik Kombinasi Senyawa EPI dan CIS Terhadap Sel HeLa.....	70
4. Pengukuran Ekspresi MiR-21, -214, -34, dan Sekuensing MiR-21 pada Kultur Sel HeLa dengan Perlakuan EPI, DOX, CIS, serta kombinasi EPI-DOX dan EPI-CIS	73
5. Pengukuran Ekspresi Protein p53, TIMP-3, dan Bcl-2 pada Kultur Sel HeLa dengan perlakuan EPI, DOX, CIS, EPI-DOX, dan EPI-CIS	84
6. Analisis Kajian Docking Senyawa EPI pada Protein p53 dan Bcl-2.....	88
7. Hubungan Ekspresi MikroRNA dengan ekspresi Protein pada Kultur Sel HeLa dengan perlakuan EPI, DOX, EPI+DOX, CIS, and EPI+ CIS	91
B. Pembahasan.....	93
1. Uji Aktivitas Sitotoksik Senyawa EPI dan Kombinasi EPI+DOX dan EPI+CIS Terhadap Kultur Sel Line HeLa Cell Line.	93
2. Peran Jalur MiR-21 dan TIMP-3	96
3. Peran Jalur 53 dan MiR-34	99
4. Jalur MiR-214 dan Bcl-2	101
 BAB V. SIMPULAN DAN SARAN	 107
A. Simpulan	107
B. Saran	108
 DAFTAR PUSTAKA	 109
RINGKASAN	122
LAMPIRAN.....	141

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.	Patogenesis molekuler kanker serviks uterus	17
Gambar 2.	Gen-gen target mi-21 dan 10 penanda kanker (Lynam-lennon et al., 2009)	24
Gambar 3.	Jalur apoptosis, proliferasi, migrasi dan invasi melalui miR-214 (González et al., 2015)	25
Gambar 4.	Jalur apoptosis, prolifesi, migrasi, dan invasi melalui miR-34 (González et al., 2015)	26
Gambar 5.	Overview skematik jalur p53 (Kumari et al., 2014)	27
Gambar 6.	Jalur regulasi miR-21, PTEN, p53, dan TIMP-3 (Shishodia et al., 2015)	29
Gambar 7.	Senyawa 1,2 epoksi-3 (3-(3,4-dimetoksifenil)-4H-1-benzopiran-4on) Propana	33
Gambar 8	Struktur Flavonoid (Kumar dan Pandey, 2013)	34
Gambar 9.	Perbandingan struktur β -Estradiol dengan Genistein dan Daidzein (Pudenz et al., 2014)	35
Gambar 10.	Bagan Kerangka Teori	42
Gambar 11.	Bagan Kerangka Konsep	43
Gambar 12.	Alokasi penempatan sampel	46
Gambar 13.	Peta plating uji kombinasi	55
Gambar 14.	Standard untuk pemeriksaan ELISA	60
Gambar 15.	Diagram Alur Penelitian	65
Gambar 16.	Grafik IC50 Senyawa EPI, Doksorubisin, dan Cisplatin	66
Gambar 17.	Kurva Sitotoksik Kombinasi Senyawa EPI dan DOX	68
Gambar 18.	Kurva Normalisasi Isobologram Kombinasi EPI dan DOX	69
Gambar 19.	Kurva Sitotoksik kombinasi senyawa EPI dan CIS	72
Gambar 20.	Normalisasi Isobologram Kombinasi Senyawa EPI dan CIS	73
Gambar 21.	Melting Curve untuk Internal Control dan RNU6 pada A (kelompok 1), B (kelompok2), C (kelompok 3), D (kelompok 4), E (kelompok 5), F (kelompok 6), G (kelompok 7), dan H (kelompok 8)	75
Gambar 22.	Melting Curve untuk MiR-21 pada A (kelompok 1), B (kelompok2), C (kelompok 3), D (kelompok 4), E (kelompok 5), F (kelompok 6), G (kelompok 7), dan	

H (kelompok 8)	76
Gambar 23. Grafik Plot Amplifikasi miR-21	76
Gambar 24. Grafik perbedaan Ekspresi MiR-21 pada Kultur Sel HeLa	77
Gambar 25. Gambar hasil sekunsing MiR-21	78
Gambar 26. Melting Curve untuk MiR-214 pada A (kelompok 1), B (kelompok 2), C (kelompok 3), D (kelompok 4), E (kelompok 5), F (kelompok 6), G (kelompok 7), dan H (kelompok 8).	79
Gambar 27. Grafik Plot Amplifikasi miR-214	80
Gambar 28. Analisis dan Uji Statistik Ekspresi MiRNA-214 pada Kultur Sel HeLa	81
Gambar 29. Melting curve untuk MiR-34a pada A (kelompok 1), B (kelompok 2), C (kelompok 3), D (kelompok 4), E (kelompok 5), F (kelompok 6), G (kelompok 7), dan H (kelompok 8).	82
Gambar 30. Grafik Plot Amplifikasi miR-34a	83
Gambar 31. Analisis dan Uji Statistik Ekspresi MiRNA-34a pada Kultur Sel HeLa	84
Gambar 32. Analisis dan uji statistik ekspresi p53 pada kultur sel HeLa ...	85
Gambar 33. Analisis dan uji statistik ekspresi TIMP-3 pada kultur Sel HeLa	86
Gambar 34. Analisis dan uji statistik ekspresi Bcl-2 pada kultur Sel HeLa	87
Gambar 35. Visualisasi hasil re-docking ligan nativ (warna biru) dengan ligan copy (warna kuning) pada reseptor p53 (PDB ID: 5G4O), dengan nilai RMSD 0,9190 Å	88
Gambar 36. Visualisasi hasil docking senyawa epoxy pada reseptor p53 (PDB ID: 5G4O).	89
Gambar 37. Visualisasi hasil re-docking ligan nativ (warna biru) dengan ligan copy (warna kuning) pada reseptor Bcl-2 (PDB ID: 4C5D), dengan nilai RMSD 1,5952 Å.	90
Gambar 38. Visualisasi hasil docking senyawa epoxy pada reseptor Bcl-2 (PDB ID: 4C5D).	90
Gambar 39. Kurva regresi linier hubungan ekspresi miR-214 dengan konsentrasi Bcl-2	92
Gambar 40. Mekanisme Aksi Molekuler EPI,, EPI+DOX, EPI+CIS terhadap MiRNA dan Protein pada KULTUR Kanker Serviks	

HeLa	106
------------	-----

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Keaslian Penelitian	12
Tabel 2. Penentuan Index kombinasi	47
Tabel 3. Definisi Operasional	48
Tabel 4. Efek Senyawa EPI terhadap Kultur Sel HeLa	67
Tabel 5. Efek DOX terhadap Kultur Sel HeLa	67
Tabel 6. Nilai Indeks Kombinasi (IK) Senyawa EPI dan DOX terhadap Sel HeLa	67
Tabel 7. Efek Senyawa EPI terhadap Kultur Sel HeLa	70
Tabel 8. Efek CIS terhadap Kultur Sel HeLa	70
Tabel 9. Nilai Indeks Kombinasi (IK) Senyawa EPI dan CIS terhadap Sel HeLa	70
Tabel 10. Docking Senyawa EPI pada Protein p53	88
Tabel 11. Hasil Docking Senyawa EPI pada Protein Bcl-2	89
Tabel 12. Hubungan ekspresi miR-21mutan dengan Konsentrasi TIMP-3 ..	91
Tabel 13. Hubungan ekspresi p53 dengan miR-34a	91
Tabel 14. Hubungan ekspresi miR-214 dengan ekspresi Bcl-2	92



UNIVERSITAS
GADJAH MADA

MEKANISME AKSI ANTIKANKER SENYAWA

1,2-EPOKSI-3(3-(3,4-DIMETOKSIFENIL)-4H-1-BENZOPIRAN-4ON)PROPANA

PADA KANKER SERVIKS UTERI (Kajian In Vitro dan In silico terhadap Ekspresi MikroRNA-21, -214, -34,

dan Protein Tissue Inhibitors of Metalloproteinase (TIMP-3), p53, serta Bcl-2)

LELLY YUNIARTI, Prof. dr. Sofia Mubarika, M.Med.Sc., Ph.D.; Prof. Dr. Mustofa, M.Kes., Apt.; Prof. Dr. dr. Teguh Ar

Universitas Gadjah Mada, 2018 | Diunduh dari <http://etd.repository.ugm.ac.id/>

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Ethical Clearence	
Lampiran 2. Statistik	
Lampiran 3. Statistik	
Lampiran 4. Artikel	
Lampiran 5. Curriculum Vitae	

DAFTAR SINGKATAN

2D	: 2 Dimensi
3' UTR	: 3- <i>Untranslated Region</i>
3D	: 3 Dimensi
AA	: Asam Amino
ADAMs	: <i>A Desintegrin and Metalloproteinase</i>
ADGRD1	: <i>Adhesion G Protein-Couple Receptor D1</i>
AIS	: Adenokarsinoma in situ/adenocarcinoma <i>in situ</i>
ANOVA	: <i>Analysis of Varians</i>
APAF-1	: <i>Apoptosis Activating Factor</i>
APE1/Ref-1	: <i>Apurinic/Apyrimidinic Endonuclease/Redox Factor-1</i>
APOL 6	: Apolipoprotein L6
Bcl-2	: B-Cell Lymphoma
BH3	: Bcl-2 Homology 3
BH4	: Bcl-2 Homology 4
BLAST	: <i>Basic Local Alignment Search Tool</i>
CAD	: <i>Caspase Activated DNase</i>
Caspase	: <i>Cysteine Aspartate Specific Proteases</i>
CDDP	: <i>Cis-Diamminedihalo platinum (II)</i>
CDK4	: <i>Cyclin-Dependent Kinase 4</i>
CI	: <i>Combination Index</i>
CIN	: <i>Cervical Intraepithelial Neoplasia</i>
CIS	: Cisplatin
COX-2	: <i>Cyclooxygenase-2</i>
CT	: <i>Threshold Cycle</i>
DD	: <i>Death Domain</i>
DED	: <i>Death Effector Domain</i>
DISC	: <i>Death Inducing Signalling Complex</i>

DMBA	: <i>7,12-Dimethylbenz(a)anthracene</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic acid</i>
DNM3	: <i>Dynammin-3-Gene</i>
DOX	: <i>Doxorubicin</i>
E3	: <i>Ubiquitin Protein Ligase 3</i>
E6	: <i>Ubiquitin Protein Ligase 6</i>
E6-AP	: <i>E6-Associated Protein</i>
E7	: <i>Ubiquitin Protein Ligase 7</i>
ECM	: <i>Extra Cellular Matriks</i>
ED	: <i>Energy Docking</i>
EGFR	: <i>Epidermal Growth Factor Receptor</i>
ELISA	: <i>Enzyme Linked Immunosorbent Assay</i>
EMT	: <i>EGF-induced Epitel Mesenchymal Transition</i>
EPI	: <i>1,2-Epoksi-3(3-(3,4-Dimetoksifenil)-4H-1-Benzopiran- 4on) Propana</i>
ER	: <i>Estrogen Reseptor</i>
ERK	: <i>Extracellular Receptor Kinase</i>
FADD	: <i>Fas Associated Death Domain</i>
FIGO	: <i>International Federation of Gynecology and Obstetrics</i>
FRA17B	: <i>Fragile site</i>
GALNT7	: <i>N-acetylgalactosaminyltransferase 7</i>
GNAQ	: <i>G protein Subunit Alpha q</i>
GPCR	: <i>G protein-Couple Receptor</i>
GRB2	: <i>Growth Factor Receptor-Binding Protein 2</i>
HCC	: <i>Human Hepatoceluler Cancer</i>
HepG2	: <i>Hepatoma G2</i>
HPV	: <i>Human Papilloma Virus</i>
HRP-ativin	: <i>Horseradish Peroxidase-Adivin</i>
HSIL	: <i>High Squamous Intraepitelial L[esion</i>
IARC	: <i>Internarional Agency for Research on Cancer</i>
ICA	: <i>inhibitor of CAD</i>

IK	: Indeks kombinasi
IL-6	: <i>Interleukin 6</i>
IVS	: <i>Inverse Virtual Screening</i>
JNK1	: <i>Jun N-terminal Kinase 1</i>
LSIL	: <i>Low Squamous Intraepitelial Lesion</i>
MDM2	: <i>Mouse Double Minute 2 Homolog</i>
MEK	: <i>MAPK ERK Kinase</i>
MMPs	: <i>Matriks Metalloproteinase-9</i>
MRI	: <i>Magnetic Resonance Imaging</i>
MTT	: <i>Metode Tetrazolium 3-(4,5-Dimetiltiazol-2-il)-2,5 DefinilTetrazolium bromid</i>
NCBI	: <i>National Center Biotechnology Information</i>
PARP	: <i>Poly (ADP-ribose) Polymerase</i>
PCR	: <i>Polymerase Chain Reaction</i>
PDB	: <i>Protein Data Bank</i>
PDCD4	: <i>Tumor Suppresor Gene Programmed Cell Death 4</i>
PDS-95	: <i>Postsynaptic Density Protein 95</i>
PDZ	: <i>Permanent Danger Zone</i>
PLANTS	: <i>Protein-Ligand Ant System</i>
PTEN	: <i>Phosphatase and Tensin Homolog</i>
RMSD	: <i>Root Median Square Deviation</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
RPMI	: <i>Roswell Park Memorial Institute</i>
SD	: <i>Sprague Dawley</i>
tBID	: <i>Truncated form</i>
TIMPs	: <i>Tissue Inhibitor of Metalloproteinase-1</i>
TNFR	: <i>Tumor Necrosis Factor Receptor</i>
TNF- α	: <i>Tumor Necrosis Factor Alpha</i>
VEGF	: <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>
VS	: <i>Virtual Screening</i>
WHO	: <i>World Health Organization</i>