



## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
<b>HALAMAN JUDUL</b>	<b>i</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b>	<b>ii</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b>	<b>iii</b>
<b>PRAKATA</b>	<b>iv</b>
<b>DAFTAR ISI</b>	<b>vi</b>
<b>DAFTAR TABEL</b>	<b>ix</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b>	<b>x</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b>	<b>xi</b>
<b>DAFTAR SINGKATAN</b>	<b>xii</b>
<b>INTISARI</b>	<b>xiii</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>xiv</b>
<b>BAB I. PENDAHULUAN</b>	
A. Latar Belakang Permasalahan	1
B. Perumusan Masalah	5
C. Keaslian Penelitian	5
D. Tujuan Penelitian	6
E. Manfaat Penelitian	7
<b>BAB II. TINJAUAN PUSTAKA</b>	
A. Biologi Kanker	8
B. Regulasi Siklus Sel	9
C. Karsinogenesis	14
D. Apoptosis	16
E. Tumor Supresor Gen p53 dan Protein p21	18
E. Sitotoksik	21
F. Sel HeLa	22
G. Karsinoma Serviks	23
H. Terapi Karsinoma Serviks	25
I. Pengembangan Obat Antikanker dari Tanaman	26
J. Kalanon dan 2,4-dinitrofenilhidrazon kalanon	28
K. Landasan Teori	32
L. Hipotesis	33
<b>BAB III. CARA PENELITIAN</b>	
A. Jenis Penelitian	34
B. Alat dan Bahan	34
1. Alat Penelitian	34
a. Uji aktivitas sitotoksik dan uji apoptosis	34
b. Uji ekspresi gen p53	35
c. Uji ekspresi protein p21	35
2. Bahan Penelitian	
a. Bahan uji	35
b. <i>Cell line</i> HeLa	35
c. Uji aktivitas sitotoksik dan uji apoptosis	35
d. Uji ekspresi gen p53	36

e. Uji ekspresi protein p21	36
C. Jalannya Penelitian	
1. Pembuatan larutan stok bahan uji	36
2. Uji aktivitas sitotoksik	37
a. Pembuatan media RPMI 1640	37
b. Pengaktifan sel HeLa	37
c. Pemiakan sel HeLa	38
d. Panen sel HeLa	38
e. Preparasi bahan uji	39
f. Uji sitotoksik dengan <i>MTT assay</i>	39
3. Uji apoptosis	41
4. Uji ekspresi gen p53	42
a. Isolasi DNA dari kultur sel	42
b. Amplifikasi DNA dengan PCR	43
c. Elektroforesis gel agarose	44
5. Uji ekspresi protein p21	44
D. Variabel Penelitian	46
1. Variabel bebas	46
2. Variabel terikat	46
E. Definisi operasional	47
F. Analisis Hasil	47
1. Uji aktivitas sitotoksik	47
2. Uji apoptosis	48
3. Uji ekspresi gen p53	48
3. Uji ekspresi protein p21	48
<b>BAB IV. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN</b>	
A. Hasil Penelitian	49
1. Senyawa kalanon bersifat sitotoksik pada sel kanker serviks HeLa	50
2. Senyawa kalanon dan 2,4-dinitrofenilhidrazon kalanon memacu apoptosis	55
3. Senyawa kalanon dan 2,4 dinitrofenilhidrazon kalanon meningkatkan ekspresi gen p53	58
4. Senyawa kalanon dan 2,4 dinitrofenilhidrazon kalanon tidak meningkatkan ekspresi protein p21	60
B. Pembahasan	
1. Senyawa kalanon bersifat sitotoksik pada sel kanker serviks HeLa	62
2. Senyawa kalanon dan 2,4-dinitrofenilhidrazon kalanon memacu apoptosis	65
3. Senyawa kalanon dan 2,4 dinitrofenilhidrazon kalanon meningkatkan ekspresi gen p53	65
4. Senyawa kalanon dan 2,4 dinitrofenilhidrazon kalanon tidak meningkatkan ekspresi protein p21	67



UNIVERSITAS  
GADJAH MADA

**Uji aktifitas sitotoksik senyawa kalanon dan 2,4-dinitrofenilhidrazon kalanon pada sel hela dan pengaruhnya terhadap ekspresi gen P53 dan protein P21**

EKOWATI, Heny, Dr. Med. dr. Indwiani Astuti

Universitas Gadjah Mada, 2008 | Diunduh dari <http://etd.repository.ugm.ac.id/>

<b>BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN</b>	
A. Kesimpulan	<b>70</b>
B. Saran	<b>70</b>
<b>BAB VI. RINGKASAN</b>	<b>72</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA</b>	<b>92</b>
<b>LAMPIRAN</b>	



## DAFTAR TABEL

	<b>Halaman</b>
<b>Tabel 1.</b> Penyiapan PCR mix	43
<b>Tabel 2.</b> Rerata persentase penghambatan pertumbuhan sel kanker serviks HeLa setelah perlakuan dengan senyawa uji selama 24 jam menggunakan metode <i>MTT assay</i> .	51
<b>Tabel 3.</b> Nilai rerata $IC_{50}$ senyawa uji setelah inkubasi 24 jam pada kultur sel kanker serviks HeLa dengan metode <i>MTT assay</i>	53
<b>Tabel 4.</b> Rerata persentase apoptosis sel kanker serviks HeLa setelah perlakuan dengan senyawa uji selama 24 jam	56
<b>Tabel 5.</b> Nilai rerata $EC_{50}$ apoptosis senyawa uji setelah inkubasi 24 jam pada kultur sel kanker serviks HeLa	57

## DAFTAR GAMBAR

	<b>Halaman</b>
<b>Gambar 1.</b> Peta kontrol interaksi molekular siklus sel fase transisi G2 –M	20
<b>Gambar 2.</b> Siklus sel dalam 4 fase (G1,S,G2,M.G0) diregulasi oleh <i>cyclin</i> , <i>cyclin-dependent kinases</i> (CDKs), dan <i>cyclin-dependent kinase inhibitors</i> (CDKIs)	21
<b>Gambar 3.</b> Struktur kalanon	29
<b>Gambar 4.</b> Stuktur 2,4-dinitrofenilhidrazon kalanon	31
<b>Gambar 5.</b> Skema pengisian mikrokultur untuk uji sitotoksik	40
<b>Gambar 6.</b> Skema pengisian mikrokultur untuk uji apoptosis	41
<b>Gambar 7.</b> Gambaran sel kanker serviks HeLa hidup (panah biru), sel kanker serviks HeLa mati (panah merah) (100x)	50
<b>Gambar 8.</b> Grafik rerata persentase penghambatan senyawa uji pada sel kanker serviks HeLa sesudah inkubasi 24 jam dengan metode <i>MTT assay</i>	52
<b>Gambar 9.</b> Grafik IC <sub>50</sub> senyawa uji terhadap sel kanker serviks HeLa sesudah inkubasi selama 24 jam	54
<b>Gambar 10.</b> Hasil uji apoptosis terhadap sel HeLa setelah perlakuan dengan (a) kontrol sel (b) 5-fluorourasil (c) kalanon dan (d) 2,4-dinitrofenilhidrazon kalanon pada konsentrasi IC <sub>50</sub> (perbesaran 100x)	55
<b>Gambar 11.</b> Grafik hubungan konsentrasi senyawa uji dan persentase apoptosis sel HeLa setelah inkubasi selama 24 jam	57
<b>Gambar 12.</b> Grafik EC <sub>50</sub> senyawa uji terhadap sel kanker serviks HeLa sesudah inkubasi selama 24 jam	58
<b>Gambar 13.</b> Hasil elektroforesis gel agarose (a) kalanon, (b) 2,4-dinitrofenilhidrazon kalanon, (c) marker DNA, (d) kontrol negatif, dan (e) 5-fluorourasil terhadap sel kanker serviks HeLa	59
<b>Gambar 14.</b> Hasil pengecatan imunohistokimia protein p21 terhadap sel HeLa setelah perlakuan dengan (a) kontrol sel, (b) 5-fluorourasil, (c) kalanon, dan (d) 2,4-dinitrofenilhidrazon kalanon ada konsentrasi IC <sub>50</sub> (perbesaran 100x)	60



## DAFTAR LAMPIRAN

- Lampiran 1.** Absorbansi sel kanker serviks HeLa setelah pemberian bahan uji dengan masa inkubasi 24 jam menggunakan metode *MTT assay* dengan alat ELISA
- Lampiran 2.** Pertumbuhan sel kanker serviks HeLa setelah pemberian bahan uji dengan masa inkubasi 24 jam menggunakan metode *MTT assay*
- Lampiran 3.** Persentase penghambatan pertumbuhan sel kanker serviks HeLa setelah pemberian bahan uji masa inkubasi 24 jam menggunakan metode *MTT assay*
- Lampiran 4.** Contoh analisis probit untuk menentukan nilai  $IC_{50}$  bahan uji
- Lampiran 5.** Analisis statistik  $IC_{50}$  antar bahan uji menggunakan uji anova
- Lampiran 6.** Data hasil uji apoptosis sel kanker serviks HeLa setelah inkubasi selama 24 jam dengan kalanon, 2,4-dinitrofenilhidrazon kalanon dan 5-fluorourasil
- Lampiran 7.** Persentase apoptosis sel kanker serviks HeLa setelah inkubasi selama 24 jam dengan kalanon, 2,4-dinitrofenilhidrazon kalanon dan 5-fluorourasil
- Lampiran 8.** Contoh analisis statistik *paired sample t-test* terhadap  $EC_{50}$  apoptosis sel kanker serviks HeLa sesudah inkubasi selama 24 jam dengan senyawa uji



## DAFTAR SINGKATAN

AIDS	: <i>Acquired Immunodeficiency Syndrome</i>
ALPS	: <i>Autoimmune Lymphoproliferative Syndrome</i>
Anova	: <i>Analysis of variance</i>
AP-1	: <i>Activator Protein-1</i>
Apaf-1	: <i>Apoptotic protease-activating factor-1</i>
Bp	: <i>basepair</i>
BSA	: <i>Bovine Serum Albumin</i>
Caspase	: <i>cysteinyI aspartate specific proteinase</i>
CDKs	: <i>cyclin dependent kinases</i>
CDKsI	: <i>cyclin dependent kinase inhibitors</i>
DAB	: <i>Diaminobenzidin Tetrahidroklorid</i>
DFO	: <i>Desfertoksamin</i>
DMSO	: <i>Dimethylsulfoxide</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic Acid</i>
EC <sub>50</sub>	: <i>Effective Concentration 50%</i>
EGF	: <i>Epidermal Growth Factor</i>
FADD	: <i>Fas-Associated Death Domain</i>
FBS	: <i>Fetal Bovine Serum</i>
HeLa	: <i>Henrietta Lacks</i>
HEPES	: <i>N-2hydroxyethylpiperazin-N'-2-ethanesulfonic acid</i>
HPV	: <i>Human papilloma virus</i>
IC <sub>50</sub>	: <i>Inhibitory Concentration 50%</i>
MTT	: <i>3-[4,5-dimetiltiazol2-il]-2,5-difenil tetrazolium bromida</i>
NF- αB	: <i>Nuclear Factor Kappa B</i>
Nm	: <i>nanometer</i>
p.a	: <i>pro analysis</i>
PARP	: <i>Poly(ADP-Ribose) Polymerase</i>
PBS	: <i>Phosphate Buffer Saline</i>
PCR	: <i>Polymerase Chain Reaction</i>
RIP	: <i>Receptor-Interacting Protein</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
RPMI	: <i>Roswell Park Memorial Institute</i>
RNA	: <i>Ribonucleic Acid</i>
SD	: <i>Standar Deviasi</i>
SDS	: <i>Sodium Dedoksil Sulfat</i>
TCF	: <i>Tissue Culture Flask</i>
TNF	: <i>Tumor Necrosis Factor</i>
TNFR	: <i>Tumor Necrosis Factor Receptor</i>
μg	: <i>mikrogram</i>
μl	: <i>mikroliter</i>