

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERNYATAAN.....	iii
PRAKATA	iv
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
DAFTAR SINGKATAN	xvii
INTISARI	xix
<i>ABSTRACT</i>	xxi
BAB I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Permasalahan	6
1.3. Tujuan	6
1.4. Manfaat	7
1.5. Keaslian Penelitian	7
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA DAN LANDASAN TEORI	9
2.1. Tinjauan Pustaka	9
2.1.1. Tumbuhan dari Famili Lauraceae Sebagai Sumber	

Senyawa Antikanker	9
2.1.2. Botani Tanaman Alpukat	18
2.1.3 Kandungan Kimia Tanaman Alpukat	22
2.1.4 Kanker	28
2.1.5 Kanker Payudara	29
2.1.6 Sel Lestari MCF-7	31
2.1.7 Siklus Sel dan Apoptosis	32
2.1.8 Ekstraksi dan Fraksinasi Terpandu Bioassay (<i>Bioassay guided fractination</i>)	39
2.1.8.1 Ekstraksi	41
2.1.8.2 Partisi dan Fraksinasi.....	42
2.1.8.3 Kromatografi	42
2.1.8.4 Isolasi Senyawa dan Identifikasi Struktur	43
2.1.9 Uji Sitotoksik, Analisis Siklus Sel dan Apoptosis	44
2.2. Landasan Teori	47
2.3 Hipotesis	50
BAB III. METODE PENELITIAN	52
3.1. Bahan Penelitian	52
3.2 Definisi Operasional Variabel	53
3.3 Alat Penelitian	54
3.4 Analisa Data	55
3.5 Cara Kerja	56
3.5.1 Pengumpulan sampel	56

3.5.2 Identifikasi tanaman sampel	56
3.5.3 Ekstraksi	56
3.5.4 Analisis golongan kimia secara spot tes	57
3.5.5 Pemisahan secara partisi EKBP	59
3.5.6 Fraksinasi FLM dengan <i>Vacuum Liquid Chromatography (VLC)</i>	60
3.5.7 Isolasi senyawa aktif menggunakan teknik <i>Bioassay guided fractionation</i>	61
3.5.8 Uji sitotoksitas dengan MTT assay	63
3.5.8.1 Perbanyakkan sel MCF-7	63
3.5.8.2 Panen dan perhitungan sel	63
3.5.8.3 Pembuatan larutan uji	63
3.5.8.3 Uji sitotoksik	64
3.5.9 Deteksi apoptosis dengan pengamatan fragmentasi DNA	65
3.5.10 Pengamatan ekspresi protein dengan Immunositokimia	66
3.5.11 Analisis siklus sel dan apoptosis dengan <i>flow Cytometry</i>	68
BAB IV. HASIL DAN BAHASAN	70
4.1 Hasil Identifikasi Tanaman Alpukat	70
4.2 Ekstraksi dan Profil Metabolit Ekstrak Biji Alpukat	72
4.3 Partisi Ekstrak Kloroform (EKBP)	77

4.4 Fraksinasi dan Uji Sitotoksik Fraksi Ekstrak Biji Alpukat	79
4.5 Isolasi Senyawa Sitotoksik	84
4.6 Aktivitas Sitotoksik Senyawa Aktif	90
4.7 Induksi Apoptosis Senyawa Aktif pada Sel MCF-7	91
4.7.1 Fragmentasi DNA	91
4.7.2 Efek Senyawa Aktif Pada Ekspresi Protein p53, pRb, Caspase 3, Caspase 9, Bcl-2 dan Bax	93
4.7.2.1 Pengamatan pada ekspresi p53	94
4.7.2.2 Pengamatan pada ekspresi pRb	95
4.7.2.3 Pengamatan pada ekspresi caspase 3 dan 9	97
4.7.2.4 Pengamatan pada ekspresi Bcl-2 dan Bax	100
4.7.3 Efek Senyawa Aktif Pada Siklus sel dan Apoptosis Sel MCF-7	105
4.7.3.1 Efek Senyawa Aktif Pada Siklus Sel MCF-7	105
4.7.3.2 Efek Senyawa Aktif pada Apoptosis Sel MCF-7	108
4.8 Pembahasan	110
BAB V. KESIMPULAN DAN REKOMENDASI	119
5.1 Kesimpulan	119
5.2 Rekomendasi	120
DAFTAR PUSTAKA	121
LAMPIRAN	138

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Fase Gerak yang digunakan dan fraksi yang dihasilkan pada VLC	61
Tabel 2. Hasil analisis kandungan metabolit sekunder pada biji alpukat dengan metode spot tes	73
Tabel 3. Presentasi viabilitas sel MCF-7 setelah perlakuan EKBP, EMBP dan EABP (mg/ml) selama 48 jam pengamatan	76
Tabel 4. Penggabungan fraksi hasil kromatografi kolom vakum	78
Tabel 5. Persentase jumlah sel MCF-7 pada setiap siklus sel dengan perlakuan senyawa 1, senyawa2 dibandingkan dengan kontrol	107
Tabel 6. Distribusi sel yang mengalami apoptosis dan nekrosis setelah pemberian senyawa aktif biji alpukat	110

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Struktur senyawa <i>dicentrine</i>	11
Gambar 2.2 Struktur senyawa <i>actinodaphnine</i> dan <i>casshytine</i>	12
Gambar 2.3 Struktur senyawa <i>isokotomolide</i>	15
Gambar 2.4 Struktur senyawa <i>machilin A</i> dan <i>meso-</i> <i>dihydroguaiaretic acid</i>	16
Gambar 2.5 Tiga ras Alpukat: Guatemala (A), Meksiko (B) dan India Barat (C)	21
Gambar 2.6 Struktur senyawa <i>persin</i> dari daun alpukat	23
Gambar 2.7 Berbagai senyawa aktif dari biji alpukat yang memiliki aktivitas biologi	27
Gambar 2.8 Tahapan siklus pembelahan sel	33
Gambar 2.9 Skema apoptosis yang terdiri dari jalur <i>ekstrinsic</i> , jalur <i>intrinsic</i> dan jalur <i>perforin/granzym</i>	37
Gambar 3.1 Model kuantifikasi ekspresi protein dengan metode Allred Scoring	67
Gambar 3.2 Kerangka konsep pendekatan penelitian	69
Gambar 4.1 Morfologi buah (A), daun (B), dan bunga (C) alpukat (<i>Persea americana</i> Mill. var. <i>Drymifolia</i>) yang digunakan dalam penelitian.....	71
Gambar 4.2 Irisan buah alpukat utuh dan biji alpukat yang digunakan	

dalam penelitian	72
Gambar 4.3 Profil KLT ekstrak kloroform, methanol dan air biji Alpukat	74
Gambar 4.4 Profil kematian sel akibat perlakuan EKBP, EMBP dan EABP	76
Gambar 4.5 Profil kromatogram FLM dan FTLM biji alpukat	78
Gambar 4.6 Pengaruh EKBP, FLM dan FTLM terhadap viabilitas sel MCF-7	79
Gambar 4.7 Profil kromatogram hasil fraksinasi vakum kolom Kromatografi	80
Gambar 4.8 Profil kromatogram gabungan fraksi	82
Gambar 4.9 Pengaruh fraksi F1, F2, F3, F4, F5, F6 dan F7 terhadap viabilitas sel MCF-7	82
Gambar 4.10 Profil kromatogram fraksi hasil KK	83
Gambar 4.11 Pengaruh fraksi F6.1, F6.2, F6.3 dan F6.4 terhadap viabilitas sel MCF-7	84
Gambar 4.12 Profil kromatogram KLTP fraksi F6.3	85
Gambar 4.13 Profil kromatogram uji kemurnian senyawa 1	86
Gambar 4.14 Profil kromatogram uji kemurnian senyawa 2	87
Gambar 4.15 Profil kromatogram senyawa 1 hasil LCMS	88
Gambar 4.16 Profil kromatogram senyawa 2 hasil LCMS	88
Gambar 4.17 Skema ringkas ekstraksi senyawa sitotoksik dari ekstrak kloroform biji <i>Persea americana</i> Mill. (EKBP)	89

Gambar 4.18	Pengaruh senyawa aktif terhadap viabilitas sel MCF-7...	90
Gambar 4.19	Pengaruh senyawa aktif terhadap profil elektrogram DNA sel MCF-7.....	92
Gambar 4.20	Ekspresi p53 sel MCF-7 akibat perlakuan senyawa biji Alpukat	94
Gambar 4.21	Profil ekspresi p53 akibat perlakuan senyawa biji alpukat	95
Gambar 4.22	Ekspresi pRb sel MCF-7 akibat perlakuan senyawa biji Alpukat	96
Gambar 4.23	Profil ekspresi pRb akibat perlakuan senyawa biji alpukat	96
Gambar 4.24	Ekspresi Caspase 3 sel MCF-7 akibat perlakuan senyawa biji Alpukat	97
Gambar 4.25	Profil ekspresi caspase 3 akibat perlakuan senyawa biji alpukat	98
Gambar 4.26	Ekspresi Caspase 9 sel MCF-7 akibat perlakuan senyawa biji Alpukat	99
Gambar 4.27	Profil ekspresi caspase 9 akibat perlakuan senyawa biji alpukat	100
Gambar 4.28	Ekspresi Bcl-2 sel MCF-7 akibat perlakuan senyawa biji Alpukat	101
Gambar 4.29	Profil ekspresi Bcl-2 akibat perlakuan senyawa biji alpukat	101

Gambar 4.30 Ekspresi Bax sel MCF-7 akibat perlakuan senyawa biji Alpukat	104
Gambar 4.31 Profil ekspresi Bax akibat perlakuan senyawa biji alpukat	104
Gambar 4.32 Distribusi sel MCF-7 akibat perlakuan senyawa 1 dan 2 selama 48 jam dengan <i>flow cytometry</i>	106
Gambar 4.33 Hasil uji apoptosis senyawa 1 dan 2 dibandingkan dengan kontrol terhadap sel MCF-7	109

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Hasil identifikasi tanaman alpukat	138
Lampiran 2. Analisis Probit Senyawa 1 terhadap viabilitas sel MCF-7	139
Lampiran 3. Analisis Probit Senyawa 2 terhadap viabilitas sel MCF-7	141
Lampiran 4. Analisis Probit Senyawa 3 terhadap viabilitas sel MCF-7	143
Lampiran 5. Analisis Probit Senyawa 4 terhadap viabilitas sel MCF-7	145
Lampiran 6. Hasil analisis ANOVA satu arah ekspresi Bcl-2 sel MCF-7	147
Lampiran 7. Hasil analisis ANOVA satu arah ekspresi Caspase 9 sel MCF-7.....	148
Lampiran 8. Hasil analisis ANOVA satu arah ekspresi p53 sel MCF-7	149
Lampiran 9. Hasil analisis ANOVA satu arah ekspresi caspase 3 sel MCF-7	150
Lampiran 10. Hasil analisis ANOVA satu arah ekspresi pRb sel MCF-7	151
Lampiran 11. Hasil analisis ANOVA satu arah ekspresi Bax sel MCF-7	152

DAFTAR SINGKATAN

CIP	: <i>Cdk inhibitory protein</i>
CAM	: <i>Cell Adhesion Molecules</i>
Cdk	: <i>Cyclin-dependent kinase</i>
Cak	: <i>Cdk-activating kinase</i>
CK1	: <i>Cdk inhibitor</i>
DMSO	: <i>Dimethyl sulfoxide</i>
DNA	: <i>Deoxyribosa Nucleic Acid</i>
Dpl	: Di atas permukaan laut
EtOAc	: <i>Ethyl Acetate</i>
FBS	: <i>Fetal Bovine Serum</i>
FGF	: <i>Fibroblast Growth Factor</i>
FTIR	: <i>Fourier Transform Infra Red</i>
FasL	: <i>Fas Ligand</i>
HPLC	: <i>High Performance Liquid Chromatography</i>
KCKT	: Kromatografi Cair Kinerja Tinggi
KLT	: Kromatografi Lapis Tipis
LC-ESI-ToFMS	: <i>Liquid Chromatography-Electrospray Ionization-Tome of Flight-Mass Spectrophotometri</i>
MS	: <i>Mass Spectroscopy</i>
MSC	: <i>Mesenchyme Stem Cell</i>
MTT	: <i>3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium</i>
NMR	: <i>Nuclear Magnetic Reronance</i>
MeOH	: <i>Methanol</i>

NfKB	: <i>Nuclear Factor Kappa Beta</i>
PBS	: <i>Phosphate Buffer Saline</i>
PI	: <i>Propidium Iodine</i>
PCR	: <i>Polymerase Chain Reaction</i>
PS	: <i>Phosphotidylserine</i>
RPMI	: <i>Media Roswell Park Memorial Institute</i>
Rf	: <i>Retention factor</i>
Rb	: <i>Retinoblastoma</i>
SiO ₂	: <i>Silica gel</i>
SDS	: <i>Sodium Dodesil Sulfate</i>
TGF- β	: <i>Tumor Growth Factor-β</i>
TNF	: <i>Tumor Necrosis Factor</i>
TLC	: <i>Thin Layer Chromatography</i>
UV	: <i>Ultra Violet</i>
VEGF	: <i>Vascular Endhotelial Growth Factor</i>