Bidang ilmu : Kesehatan

**USUL PENELITIAN**

**UNGGULAN**

**EFEK EKSTRAK ETANOL *Melia azedarach* TERHADAP AKTIVITAS PROLIFERASI LINI SEL KANKER PAYUDARA**

**TIM PENGUSUL**

**dr. Soemarno, M.Si.Med, Sp.PA/ 0612067301**

**dr. Anita Soraya, M.Sc/ 0610108502**

**Dina Fatmawati, M.Sc./ 0605058301**

**FAKULTAS KEDOKTERAN**

**UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG**

**SEMARANG**

**Agustus, 2015**

#

# HALAMAN PENGESAHAN

Judul Penelitian : Efek Ekstrak Etanol Terhadap Aktivitas Proliferasi lini sel kanker payudara

Bidang Penelitian : Kesehatan

Ketua Peneliti

* 1. Nama Lengkap dan Gelar : dr. Sumarno, M.Si.,Med., Sp.PA
	2. NIP/NIK :
	3. NIDN : 0624035801
	4. Jabatan Fungsional : Asisten ahli
	5. Jabatan Struktural : Kepala Laboratorium Patologi Anatomi
	6. Fakultas/Jurusan : PPSK/Kedokteran Umum
	7. Alamat Institusi : Jl. Raya Kaligawe KM.4 Semarang
	8. Telepon/Fax : 024-6583584/024-6582455

 Bri356@yahoo.com

Waktu Penelitian : Tahun ke-1

Mahasiswa yang terlibat : 2 orang

Pembiayaan :

1. Tahun pertama : Rp. 20.000.000,-

Semarang, 10 Agustus 2015

Mengetahui,

Dekan Fakultas Kedokteran Ketua peneliti

 (dr. Iwang Yusuf, M.Si) dr. Sumarno, M.Si., Med., Sp.PA

 NIDN. 0619106401 NIDN 0624035801

Menyetujui,

Ketua Lembaga Penelitian & Pengabdian Masyarakat

 (Ir. Suryani Alifah, MT., PhD)

 NIDN.0625036901

# DAFTAR ISI

[HALAMAN PENGESAHAN i](#_Toc361626872)

[DAFTAR ISI ii](#_Toc361626873)

[ABSTRAK iii](#_Toc361626874)

[BAB I. PENDAHULUAN 1](#_Toc361626875)

[1.1 Latar Belakang 1](#_Toc361626876)

[1.2 Tujuan Penelitian 2](#_Toc361626877)

[1.3 Urgensi 2](#_Toc361626878)

[BAB II. TINJAUAN PUSTAKA 3](#_Toc361626879)

[2.1 Kanker Payudara 3](#_Toc361626880)

[2.2 *Melia Azedarach* 3](#_Toc361626881)

[2.3 Disregulasi Apoptosis 5](#_Toc361626882)

[2.4 Roadmap Penelitian 7](#_Toc361626883)

[BAB III. METODE PENELITIAN 8](#_Toc361626884)

[5.1 Rancangan Penelitian 8](#_Toc361626885)

[5.2 Variabel penelitian 8](#_Toc361626886)

[5.3 Rencana Alur Penelitian 8](#_Toc361626887)

[5.4 Bagan Alir Penelitian 8](#_Toc361626888)

[5.5 Waktu dan tempat penelitian 12](#_Toc361626889)

[5.6 Analisis data 12](#_Toc361626890)

[BAB IV. JADWAL PELAKSANAAN 13](#_Toc361626891)

[DAFTAR PUSTAKA 14](#_Toc361626892)

[Lampiran 1. Justifikasi Anggaran Penelitian 16](#_Toc361626893)

[Lampiran 2. Susunan organisasi tim penelitii dam pembagian tu 17](#_Toc361626894)

# ABSTRAK

Penelusuran potensi *Melia azedarach* sebagai kandidat obat baru antikanker payudara dengan pentargetan yang spesifik saat ini sedang dilakukan. Beberapa penelitian terdahulu membuktikan *Melia azedarach* memiliki toksisitas yang kuat terhadap sel kanker payudara terutama MCF-7 namun, sangat tidak toksik terhadap sel normal. Pemberian *Melia azedarach* pada mencit C3H adenocarsinoma mamae dapat meningkatkan jumlah sel kanker yang mengalami apoptosis secara signifikan dibandingkan dengan kontrol. Pada penelusuran kandidat obat antikanker terdapat persyaratan dimana obat yang diberikan harus memiliki berat molekul yang rendah

Penelitian ini menggunakan metode *quasi experiment* dengan rancangan *post test control group design*. Subyek penelitian yang digunakan adalah sel line kanker payudara T47D dan MCF-7. Pada penelitian ini digunakan ekstrak etanol daun dan biji *Melia azedarah* dengan metode soxchletasi. Pemberian perlakuan dilakukan dengan menggunakan kelompok kontrol, dan 3 kelompok perlakuan berdasarkan nilai IC50. Aktivitas proliferasi ditentukan dengan dengan parameter nilai doubling time dan akumulasi sel pada tahapan siklus sel. Perbedaan antara kelompok perlakuan dengan diuji menggunakan Anova dengan taraf signifikasi 5%.

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan landasan ilmiah yang kuat terhadap penggunaan *M. azedarach* sebagai kandidat antikanker payudara dengan pentargetan yang lebih spesifik dan tidak menimbulkan efek toksik.

# BAB I. PENDAHULUAN

## Latar Belakang

Kanker payudara merupakan neoplasma ganas yang terjadi akibat aktivitas proliferasi sel yang tidak terkendali salah satunya akibat kegagalan induksi apoptosis. Saat ini, kanker payudara merupakan penyebab kematian kedua akibat kanker pada wanita. Sampai sekarang hampir tidak ada kanker yang dapat sembuh dengan spontan dan bila kanker terus dibiarkan tumbuh akan berujung pada kematian penderitanya Data yang diperoleh dari *American Cancer Society* menyebutkan bahwa kurang lebih 40.190 kasus kematian kanker payudara terdeteksi pada tahun 2007 dan meningkat sekitar 30% dalam kurun waktu 25 tahun (Rasjidi, 2009). Kemampuan sel tumor untuk menghindari mekanisme apoptosis memainkan peran penting dalam resistensi beberapa terapi konvensional untuk itu, pengembangan alternatif baru dengan pentargetan yang lebih selektif dengan fokus induksi apoptosis menjadi fokus penelitian antikanker payudara sekarang (Gerl and Vaux, 2005).

Kematian sel secara apoptosis merupakan salah satu bentuk kematian sel terprogram yang spesifik dan tidak menimbulkan respon inflamasi sehingga menjadikan peluang untk dijadikan target pada sel kanker payudara tanpa menimbulkan kerusakan pada sel normal. *Melia azedarach* yang telah diketahui memiliki beberapa potensi sebagai antikanker. Komponen aktif melianone dari ekstrak methanol *Melia azedarach* mempunyai efek sitotoksik yang sangat kuat dengan nilai IC50 sebesar 3,6 µg/ml dan berperan (Ntalli NG *et al.*, 2010). Wu *et al.* (2009) menyebutkan komponen steroid yang diisolasi dari daun *Melia azedarach* mempunyai aktivitas sitotoksik pada beberapa sel kanker (A549, H460, U251) secara invitro dengan IC50 12.0 - 30.1 µg/ml. Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya diketahui nilai IC50 ekstrak biji mindi sebesar 21 µg/mL dan menyebabkan kematian sel lini kanker payudara MCF-7 melalui jalur apoptosis. Hasil penelitian yang telah dilakukan pada mencit C3H menunjukkan ekstrak etanol *M.azedarach* memiliki kemampuan yang rendah untuk menginduksi apoptosis pada dosis 50 mg/KgBB. namun, penelusuran lebih lanjut mengenai efektivitas *M.azedarach* pada beberapa lini sel kanker payudara masih perlu diteliti lebih lanjut. Penelitian ini merupakan bagian dari penelitian unggulan tentang aktivitas ekstrak mindi sebagai kandidat antikanker payudara, dimana fokus utama pada penelitian ini adalah efektivitas ekstrak etanol *M. azedarach* (mindi) terhadap aktivitas proliferasi lini sel kanker payudara.

## 1.2 Tujuan Penelitian

* 1. **Tujuan umum**

Penelitian ini bertujuan mengetahui efek ekstrak Etanol *M.azedarach* terhadap aktivitas antiproliferasi lini sel kanker payudara.

* 1. **Tujuan khusus**
		1. Menentukan nilai IC50 ekstrak etanol *M.azedarach* pada lini sel kanker payudara dengan metode MTT
		2. Menentukan aktivitas proliferasi ekstrak etanol *M.azedarach* pada lini sel kanker payudara dengan metode doubling time
		3. Mengetahui efek ekstrak etanol *M.azedarach* terhadap persentase akumulasi lini sel kanker payudara pada siklus sel dengan metode flowsitometri

## 1.3 Urgensi

Penelitian ini perlu dilakukan terkait dengan pengembangan kandidat antikanker payudara yang lebih selektif hanya pada sel kanker payudara melalui induksi apoptosis dan dapat meminimalkan berefek terapi terhadap sel-sel yang normal sehingga diharapkan dapat meengurangi prevalensi dan insidensi penderita kanker payudara di Indonesia dan memperlama usia harapan hidup bagi penderita kanker payudara.

# BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

## 2.1 Kanker Payudara

Kanker payudara Kanker payudara (*Carcinoma mammae*) adalah suatu penyakit neoplasma yang ganas yang berasal dari *parenchyma*. Penyakit ini oleh *Word Health Organization* (WHO) dimasukkan ke dalam *International Classification of  Diseases* (ICD) dengan kode nomor 174.

Kanker payudara menempati urutan tertinggi di dunia setelah penyakit kardiovaskuler dan Sekitar 50% kasus kanker payudara merupakan kanker yang tergantung estrogen dan sekitar 30% kasus merupakan kanker yang positif mengekspresi HER-2 berlebihan (Gibbs, 2000). Pada umumnya tumor pada payudara bermula dari sel epitelial, sehingga kebanyakan kanker payudara dikelompokkan sebagai karsinoma (keganasan tumor epitelial).Sedangkan sarkoma, yaitu keganasan yang berangkat dari jaringan penghubung, jarang dijumpai pada payudara. Sampai saat ini, mekanisme molekuler penyebab kanker payudara belum diketahui secara pasti namun aktivasi onkogen yang disebabkan oleh modifikasi genetik (mutasi, amplifikasi atau penyusunan ulang kromosomal) atau oleh modifikasi epigenetik (ekspresi berlebihan) dilaporkan mampu mengarahkan pada terjadinya multiplikasi dan migrasi sel.

Perubahan ekspresi maupun fungsi dari gen supresor tumor seperti BRCA1, BRCA2 dan p53 tidak sepenuhnya bertanggungjawab dalam tingginya prevalensi kanker payudara spontan. Mutasi atau ketiadaan BRCA1 terdapat pada <10% kanker payudara, sementara itu mutasi p53 terjadi pada lebih dari 30% kanker payudara (Kumar at al., 2005). Diperkirakan perkembangan tumor dari perubahan seluler pertama kali sampai kemudian terlihat melalui mammografi memerlukan waktu 6 sampai 8 tahun.

## 2.2 *Melia Azedarach*

Mempunyai nama lokal mindi dan termasuk dalam family meliaceae. Merupakan tanaman obat tradisional yang banyak dijumpai pada beberapa daerah di Indonesia dan banyak digunakan untuk mengobati leprospira, inflamasi, dan kelainan jantung (Corpinella, 2007). Beberapa kandungan senyawa aktiv telah diisolasi dari buah Melia azedarach diantaranya berupa melianoninol (I), melianol (II), melianone (III), meliandiol (IV), vanillin (V), dan asam vanillic (Han, J. *et al.*, 1991).

Ahmed (2008) dan Samudram *et al.* (2009) menunjukkan kandungan alkaloid, tannin, glikosidan dan saponin pada ekstrak *Melia azedarach* dosis 50 mg/kgBB mempunyai aktivitas antioksidan, dengan cara menurunkan Lipid Peroksidase dan menurunkan aktivitas superoxide dismutase (SOD), dan katalase, serta mengurangi kandungan gluthation (GSH). Ekstrak etanol kulit akar *Melia azedarach* menunjukkan aktivitas sitotoksik secara signifikan sebesar 1,7µg/mL terhadap sel leukemia P388 secara in vitro (Itokawa *et al.*, 1999).

 Komponen aktiv melianone dari ekstrak methanol Melia azedarach mempunyai efek sitotoksik dengan nilai IC50 sebesar 3,6 µg/ml, sedangkan komponen 21-β-acetoxymelianone dan 3-β-tigloylmelianol memiliki aktivitas antiproliferativ yang cukup kuat pada kanker paru A549 sebesar 100 dan 91,8 µg/ml (Ntalli NG et al., 2010). Wu et al. (2009) menyebutkan komponen steroid yang diisolasi dari daun Melia azedarach mempunyai aktivitas sitotoksik pada beberapa sel kanker (A549, H460, U251) secara invitro dengan IC50 12.0 - 30.1 µg/ml. Beberapa penelitian menyebutkan selain berpotensi toksik pada sel kanker, kandungan aktiv yang berhasil diisolasi dari daun M.azeradarach juga dapat menghambat replikasi HSV-1 dan HSV-2 pada sel vero secara sinergis dengan pemberian acyclovir tanpa menggangu aktivitas biologis sel tersebut (Petrera and Coto, 2006). Hasil penelitian sebelumnya menyebutkan ekstrak biji mindi memiliki aktivitas sitotoksik kuat pada sel lini kanker payudara MCF7 dengan nilai IC50 sebesar 21 µg/mL dan memiliki kemampuan menginduksi apoptosis (Sumarno, 2012). Chodidjah dan Sumarno (2013) menyebutkan bahwa ekstrak M.azedarach dapat mengurangi volume tumor dan memiliki kemampuan menginduksi apoptosis pada mencit C3H adenocarsinoma mamae.

## 2.3 Disregulasi Apoptosis

Proses apoptosis merupakan proses penting dalam mengatur homeostasis sel maupun jaringan. Dalam apoptosis sel mengalami serangkaian perubahan morfologi meliputi pengerutan sel sehingga ukuran sel menjadi lebih kecil, terjadi kondensasi kromosom dan fragmentasi DNA, kemudian diikuti dengan pembentukan *apoptotic bodies* (Kumar et al., 2005).

Regulasi apoptosis melibatkan banyak molekul protein dan secara umum melibatkan 2 mekanisme yaitu jalur intrinsik (*mitochondrial pathway*) dan jalur ekstrinsik (*Death receptor pathway*).



Gambar 1 Mekanisme apoptosis melalui jalur intrinsik dan ekstrinsik (*KEGG diakses 5 September 2011*)

Apoptosis merupakan kematian sel yang terprogram sebagai respon terhadap rangsangan tertentu dan merupakan proses penting dalam perkembangan normal dan homeostasis jaringan, termasuk dalam mekanisme kunci dimana terapi antikanker menampakan efek sitotoksik. Obat antikanker dan radiasi ion yang merusak DNA akan menginduksi apoptosis melalui jalur p53-dependent. Pengikatan P53 dan protein nuklear lainnya akan menginduksi apoptosis. Mekanisme lainnya yang dapat menginduksi apoptosis melibatkan interaksi protein seperti Fas (CD95) atau tumor nekrosis faktor dan reseptor permukaan sel (Basco et al., 2000).

Gangguan atau hambatan pada proses apoptosis mengarah ke keganasan atau kanker. Kegagalan jalur apoptosis normal akan menyebabkan timbulnya lingkungan permisiv bagi sel yang tidak stabil secara genetik dan menyebabkan akumulasi mutasi gen, dapat berakibat sel resisten terhadap penghancuran oleh sistem imun, sel menjadi tidak patuh pada checkpoint siklus sel dimana seharusnya terjadi induksi apoptosis. Kelompok antiapoptotik Bcl-2 diketahui

mencegah apoptosis. Pada sel tumor, ekspresi Bcl-2 yang anti-apoptotik ditemukan overekspresi sebaliknya, mutasi dan berkurangnya ekspresi dari Bax dan BAK yang proapoptotik ditemukan pada beberapa tumor (Malik, 2010).

## 2.4 Roadmap Penelitian

Studi preeliminari, 2015

Uji preklinik pada mencit C3H adenocarsinoma mamae, 2019

**Herbal terstandar *M.azedarach*, 2021**

Studi Mekanisme, 2017

Studi efektivitas dan selektivitas, 2016

Studi Mekanisme dan standarisasi, 2018

# BAB III. METODE PENELITIAN

## 3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian *quasi experimental* dengan rancangan penelitian *post test with non equivalent control group design* yang dilakukan secara invitro dengan menggunakan subyek penelitian berupa *cell line* kanker payudara MCF-7 dan T47D.

## 3.2 Variabel penelitian

a. Variabel bebas

 Ekstrak etanol *Melia azedarach*. Skala : ordinal

b. Variabel terikat

 Aktivitas proliferasi, skala: rasio

## 3.3 Rencana Alur Penelitian

1. Ekstraksi *Melia azedarach*

*Melia* azedarach dibuat simplisia. Simplisia dibuat serbuk kemudian dilakukan ekstraksi bertingkat dengan menggunakan etanol. Ekstrak etanol yang diperoleh diuapkan menggunakan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak pekat. Ekstrak pekat ditimbang dan dianalisis kandungan alkaloid dan flavonoidnya dengan menggunakan metode *Thin Layer Chromatography* (TLC) untuk menghasilkan ekstrak terstandar.

1. Pembuatan seri konsentrasi larutan uji

Ekstrak dibuat larutan stok dengan konsentrasi 10 mg/mL DMSO. Konsentrasi tertinggi yang digunakan pada penelitian ini adalah 1000 µg/mL. Pembuatan seri konsentrasi diawali pembuatan konsentrasi tertinggi yaitu dengan mengambil 100 µL larutan stok kemudian ditambah dengan media kultur sebanyak 900 µL sehingga diperoleh ekstrak *Melia azedarach* konsentrasi 1000 µg/mL sebanyak 1000 µL. seri konsentrasi selanjutnya dibuat dengan menggunakan pengenceran 1:1 sampai dengan 10 seri konsentrasi berikutnya.

1. Uji sitotoksik terhadap lini sel kanker payudara

Suspensi sel kanker (5x104 sel/ml) dimasukkan ke dalam mikrowell dan diinkubasi dengan satu seri konsentrasi ekstrak etanol (triplo) pada medium kultur (370C, CO2 5%) selama 24 jam. Pada akhir inkubasi, media kultur pada sel dibuang dan dicuci dengan PBS 1x kemudian ditambahkan MTT 100 mikroliter, termasuk untuk kontrol media. Sel yang telah diberi MTT diinkubasi selama 2-4 jam dalam incubator (sampai terbentuk garam formazan). Setelah terbentuk garam formazan jelas terbentuk, pada kultur sel ditambahkan stopper SDS 10% dalam 0,1N HCl diinkubasi pada tempat gelap semalam Setelah kurang lebih 24 jam sel diperiksa di elisa reader dengan panjang gelombang 550 nm untuk menghitung persentase sel yang hidup.

1. Penentukan nilai IC50

Penentuan nilai IC50 berdasarkan persentase sel yang hidup menggunakan analisis probit.

1. Uji Doubling Time

Suspensi sel kanker (5x104 sel/ml) dimasukkan ke dalam mikrowell dan diinkubasi dengan 3 seri konsentrasi (IC50, ½ IC50, ¼ IC50) ekstrak etanol (triplo) pada medium kultur (370C, CO2 5%) selama 24-96 jam. Pada akhir inkubasi, media kultur pada sel dibuang dan dicuci dengan PBS 1x kemudian ditambahkan MTT 100 mikroliter, termasuk untuk kontrol media. Sel yang telah diberi MTT diinkubasi selama 2-4 jam dalam incubator (sampai terbentuk garam formazan). Setelah terbentuk garam formazan jelas terbentuk, pada kultur sel ditambahkan stopper SDS 10% dalam 0,1N HCl diinkubasi pada tempat gelap semalam Setelah kurang lebih 24 jam sel diperiksa di elisa reader dengan panjang gelombang 550 nm untuk menghitung persentase sel yang hidup. Nilai Doubling time ditentukan berdasarkan persamaan regresi antara hasil persentase sel hidup (sumbu y) dengan waktu (sumbu x).

1. Penentuan akumulasi sel pada tahapan siklus sel

Sel dilabel fluoresen, dilewatkan celah sempit, dan ditembak sinar. Pada suatu populasi sel kanker MCF-7 dan T47D yang diberikan ekstrak etanol *M. azedarach*, dapat dilakukan analisis terhadap fase-fase daur sel, sel apoptosis, serta sel yang mengalami poliploidi. Masing-masing jenis sel tersebut memiliki perbedaan pada jumlah set kromosom di mana pada fase G0/G1, fase S, fase G2/M berturut-turut memiliki 2, 3, dan 4 set kromosom. Semakin banyak jumlah set kromosom, maka intensitas sinyal optik yang diberikan semakin kuat karena kemampuan fluoresen untuk berinterkalasi pada DNA semakin besar. Pada sel yang mengalami apoptosis (sub G0), intensitas fluoresen sangat lemah karena kromosom telah mengalami fragmentasi. Sedangkan pada sel poliploidi, intensitas yang diberikan sangat kuat karena jumlah set kromosom yang lebih dari 4 set. Data *flowcytometry* dianalisis dengan program *cell quest* untuk melihat distribusi sel pada fase-fase daur sel sub G1 (apoptosis), S, G2/M, dan sel yang mengalami poliploidi. Penghambatan daur sel yang terjadi dapat diketahui dengan membandingkan antara efek perlakuan larutan uji dengan kontrol.

## 3.4 Bagan Alir Penelitian

uji aktivitas proliferasi pada MCF-7, T47D

Uji invitro mekanisme ekstrak pada MCF-7, T47D

IC 50

Standarisasi Ekstrak

Uji preklinik pada mencit C3H adenocarsinoma mammae

Ekstraksi N-Heksan, Etil asetat, etanol *M.azedarach*

ekstrak

Kadar

EC 50

ED50

Uji invitro apoptosis ekstrak pada MCF-7, T47D

ED50

Uji toksisitas akut dan sub akut (preklinik)

LD50

**Herbal terstandar *M.azedarach***

Keterangan :

 = Indikator capaian yang terukur

 = Tahapan penelitian pada tahun pertama

 = Tahapan penelitian pada tahun kedua dan ketiga

 = Luaran yang ingin dicapai

## 3.5 Waktu dan tempat penelitian

Penelitian ini dilakukan dalam jangka waktu 6 bulan. Uji in vitro dilaksanakan di laboratorium Biologi kedokteran FK UNISSULA, Semarang. Ekstraksi dilakukan di Laboratorium kimia. Standarisasi ekstrak dilakukan di LPPT, UGM Jogjakarta.

## 3.6 Analisis data

Data yang diperoleh disajikan dalam bentuk tabulasi dengan rerata dan simpangan baku tiap kelompok. Perbedaan antar kelompok perlakuan dianalisis dengan menggunakan uji Anova taraf signifikasi 95% setelah memenuhi kaidah normalitas dan homogenitas sebaliknya, data yang tidak normal maupun homogen dianalisis dengan menggunakan uji Kruskal Wallis.

# BAB IV. JADWAL PELAKSANAAN

|  |  |
| --- | --- |
| KEGIATAN | BULAN KE- |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| 1. Persiapan dan perijinan
 |  |  |  |  |  |  |
| 1. Pembuatan ekstrak dan Standarisasi
 |  |  |  |  |  |  |
| 1. Uji proliferasi
 |  |  |  |  |  |  |
| 1. Pembuatan laporan
 |  |  |  |  |  |  |

# DAFTAR PUSTAKA

Ahmed Mohd.Fazil, Mohd. Ashwaq Ahmed, Hameed Thayyil, Khaja Zameeruddin, and Mohd.Ibrahim. Antioxidant Activity of Melia Azedarach Linn Leaf Extract. Iran Journal of Pharmacology & Therapeutics (IJPT 7;31-34).2008.Razi Institute for Drug research.

Basco z., Richard B., Everson, Eliason J F., 2000. The DNA of Annexin V-Binding Apoptotic Cells is Highly Fragmented. *Cancer Research* 60, 4623-4628

Chodidjah, Dina F., Sumarno., Titiek S., Agus S., Israhnanto, Anita SS., 2013. Induksi apoptosis ekstrak M. azedarach pada mencit C3H adenocarsinoma mamae. [Laporan Penelitian]. Fakultas Kedoteran Unissula.

Gerl R., Vaux DL. Apoptosis Development and Treatment of Cancer. Carsinogenesis. Vol.26, No. 2., p.263-270

Gibbs, J B. 2000. Mechanism-Based Target Identification and Drug Discovery in Cancer Research. *Science* Vol 287. 1969-1973

Horwitz, KB, Costlow ME, McGuire, 2003. MCF-7 : A human Breast cancer line with estrogen, androgen, progesteron, and glukokorikoid receptors. *Steroid*. 1975, volume 26, issue 6 hal 785-795

Itokawa Hideji, Zhi-Sheng Qiao, Chieko Hirobe, and Koichi Takeya, Cytotoxic limonoids and tetranortriterpenoids from Melia azedarach. Chem.Pharm, Bull.43(7) 1171-1175 (1995)

Kumar V, Abbas A.K, Fausto N., 2005. *Robbins and Cotran Pathology Basic of Disease* 7th ed. Elsevier Saunders. Pennsylvania.

Malik S. G. 2010. Disregulasi Apoptosis Sel Kanker. *Basic Science of Oncology: Ilmu Dasar Onkologi*. Badan Penerbit FKUI, Jakarta.

Money LM, Al-Sakkaf KA, Brown BL, Dobson PRM. Apoptotic Mechanism in T47D and MCF-7 human breast cancer cells. *Bjcancer* (2002) 87,909-917

Ntalli N.G., Cottiglia F., Bueno C.A., *et al.,* 2010. Cytotoxic Tirucallane Triterpenoid From Melia Azedarach Fruits. *Molecules.* 2010, 15. p.5866-77

Petrera E., Coto CE., The Synergistic effect of IFN-alfa and IFN gamma againts HSV-2 replication in Vero Cells is Not Interfered by the Plant Antiviral 1-cinnamoyl-3,11-dihydroxymeliacarpin. *Virology journal* vol 43 (3)

Rasjidi Imam, 2009. *Deteksi Dini dan Pencegahan Kanker Pada Wanita*. Sagung Seto. Jakarta

Samudram P, R Basuki, H rajeswari, A Geetha, and P Sathiya Moorthi. Antioxidant and antihepatotoxic activities of ethanolic Crude Extract of Melia Azedarach and Piper Longum. *Journal of Medical Plants Research* vol 3(12),pp.1078-1083, Desember 2009.

Sumarno, Dina F., Chodidjah., Titiek S., Agus S., Israhnanto, Anita SS., 2014. Selektivitas ekstrak *M. azedarach* pada pada kultur sel kanker payudara MCF-7*. International* *Prosiding TCAM*. BPPTOOT. Tawang Mangu.

Tjindarbumi Didid, Mangunkusumo Rukmini. 2002. Cancer in Indonesia, present and Future. *Japan Journal Clinic Oncology*. 32 (Supplement 10 817-821).

Wu SB., Ji YP., Zhu JJ., Zhao Y., Xia G., Hu YH., Hu JF. Steroids from leaves of Chinese Melia azedarach and their cytotoxic effect on human cancer cell lines. *Steroids* 2009 vol.74(9),pp.761-5

|  |
| --- |
| Lampiran 1. Justifikasi Anggaran Penelitian |

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **1. Belanja honor sesuai output kegiatan** |  |  |  |  |  |  **Rp 4,500,000**  |
|  |  | orang |  **bulan**  | minggu | jam  | satuan/oj |  |
|  | a. Peneliti utama | 1 | **3** | 3 | 4 | 32000 |  Rp 1,152,000  |
|  | b. Peneliti | 2 | **3** | 3 | 6 | 31000 |  Rp 3,348,000  |
| **2. Belanja bahan** |  |  |  |  |  |  **Rp 13,998,000**  |
|  | a. Bahan dan alat habis pakai |  |  |  |  |  |  |
|  |  - Medium RPMI | 1000 |  **mL** |  |  |  Rp 1,188  |  Rp 1,188,000  |
|  |  - Ekstraksi  | 2 |  **kali**  |  |  |  Rp 600,000  |  Rp 1,200,000  |
|  |  - kultur sel T47D | 2 |  **vial** |  |  |  Rp 2,280,000  |  Rp 4,560,000  |
|  |  - analisis Flowsitometri | 12 |  **kali** |  |  |  Rp 190,000  |  Rp 2,280,000  |
|  |  - MTT | 50 |  **mL**  |  |  |  Rp 21,000  |  Rp 1,050,000  |
|  |  - standarisasi ekstrak | 2 |  **paket** |  |  |  Rp 3,000,000  |  Rp 6,000,000  |
| **3. Pubilkasi dan penggandaan laporan**  |  |  |  |  |  |  **Rp 752,000**  |
|  | Publikasi | 1 |  |  |  |  Rp 500,000  |  Rp 500,000  |
|  | Pengandaan | 1 |  |  |  |  Rp 252,000  |  Rp 252,000  |
| **4. Belanja Perjalanan** |  |  |  |  |  |  **Rp 750,000**  |
|  | a. Transport Penelitian |  |  |  |  |  |  |
|  |  - Transport Yogyakarta-semarang | 1 |  org  | 1 | kali  |  Rp 750,000  |  Rp 750,000  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |
|  | **Total 1-4** |  |  |  |  |  |  **Rp 20,000,000**  |

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| No. | Nama | NIDN | Bidang Ilmu | Alokasi Waktu | Uraian Tugas |
| 1. | Dr. Sumarno, Sp.PA. M.Si.Med | 0624035801 | Patologi Anantomi | 6 Jam | Uji proliferasi, Ekstraksi *M. azedarach* dan pembahasan  |
| 2. | dr. Anita Soraya, M.Sc | 0610108502 | Anatomi | 6 jam | Uji proliferasi dan Pembahasan |
| 3. | Dina Fatmawati, M.Sc | 0605058301 | Biologi | 6 jam | Analisis hasil dan pembahasan |

# Lampiran 2. Susunan organisasi tim penelitii dam pembagian tu

# Lampiran 3. Biodata Ketua dan Anggota Tim Peneliti

1. **Identitas diri Ketua Peneliti**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 1. | Nama Lengkap (dengan gelar) | Dr. Sumarno, M.Si.Med., Sp.PA |
| 2. | Jabatan Fungsional | Asisten Ahli |
| 3. | Jabatan Struktural | - |
| 4. | NIP/NIK/Identitas lainnya | 210103076 |
| 5. | NIDN | 061206730 |
| 6. | Tempat dan tanggal lahir | Semarang, 12 Juni 1967 |
| 7. | Alamat Rumah | Jl. Mulawarman selatan no.20 |
| 8. | Nomor telepon/faks/HP | 024-76481283 |
| 9. | Alamat Kantor | Jl. Raya Kaligawe KM.4 |
| 10. | Nomor telepon/Faks | 024-6583584 |
| 11. | Alamat email  | Bri354@yahoo.co.id |
| 12. | Lulusan yang telah dihasilkan  | S1 = orang, S2 = orang, S3 = orang |
| 13. | Mata kuliah yang diampu | 1. Patologi Anatomi
 |

1. **Riwayat Pendidikan**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  | **S-1** | **S-2** |
| Nama Perguruan tinggi | UNISSULA | UNDIP |
| Bidang Ilmu | Kedokteran | Patobiologi |
| Tahun masuk/Lulus | /2003 | /2010 |
| Judul Skripsi/thesis/Disertasi |  |  |
| Nama pembimbing/Promoter |  |  |

1. **Pengalaman Penelitian dalam 5 tahun terakhir**

(bukan skripsi,tesis,maupun disertasi)

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| No. | Tahun | Judul penelitian | Pendanaan |
| Sumber | Jml (juta Rp) |
| 1. | 2010 | Pengaruh pemberian jinten hitam (*Nigella sativa*) terhadap indeks apoptosis mencit C3H adenocarsinoma mamae | FK UNISSULA | 20 |
| 2. | 2011 | Aktivitas Fitokimia Ekstrak etanol gembili (D.esculanta) pada kultur sel kanker payudara T47D | DEPKES | 104 |

1. **Pengalaman Pengabdian masyarakat dalam 5 tahun terakhir**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| No. | Tahun | Judul Pengabdian kepada masyarakat  | Pendanaan |
| Sumber | Jml (juta Rp) |
| 1. |  |  |  |  |
| 2. |  |  |  |  |

1. **Pengalaman Penulisan artikel ilmiah dalam jurnal dalam 5 tahun terakhir**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| No. | Judul Artikel Ilmiah | Volume/Nomor/Tahun | Nama Jurnal |
| 1. | Pengaruh Pemberian ekstrak sarang semut terhadap aktivitas proliferasi dan indeks apoptosis adenocarsinoma payudara mencit C3H |  | **Majalah Patologi Indonesia**  |
|  | Rhabdomiosarcoma pada ginjal. | Vol. 1/2/2009 | Sains Medika |
|  | Adematoid Odontogenic Tumor | Vol. 2/2/2010 | Sains medika |

Semua data yang saya isikan dan tercantum dalam biodata ini adalah benar dan dapat dipertanggungjawabkan secara hukum. apabila di kemudian hari ternyata dijumpai ketidaksesuaian dengan kenyataan saya sanggup menerima resikonya.

Demikian biodata ini saya buat dengan sebenarnya untuk memenuhi salah satu persyaratan dalam pengajuan hibah penelitian bersaing.

 Semarang, 12 Agustus 2015

 Pengusul,

 dr. Sumarno, M.Si., Sp.PA

1. **Identitas diri anggota Peneliti**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 1. | Nama Lengkap (dengan gelar) | Dina fatmawati |
| 2. | Jabatan Fungsional |  |
| 3. | Jabatan Struktural | Koordinator laboratorium terpadu |
| 4. | NIP/NIK/Identitas lainnya | 210109143 |
| 5. | NIDN | 0605058302 |
| 6. | Tempat dan tanggal lahir | Surabaya, 5 Mei 1983 |
| 7. | Alamat Rumah | Jl. Condrokusumo No. 1, Semarang |
| 8. | Nomor telepon/faks/HP | 024-70021732 |
| 9. | Alamat Kantor | Jl. Raya Kaligawe KM.4 |
| 10. | Nomor telepon/Faks | 024-6583584 |
| 11. | Alamat email  | dienafatma@gmail.com |
| 12. | Lulusan yang telah dihasilkan  | S1 = 11 orang |
| 13. | Mata kuliah yang diampu | 1. Biologi Sel
2. Biologi reproduksi
 |

1. **Riwayat Pendidikan**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  | **S-1** | **S-2** |
| Nama Perguruan tinggi | Universitas Diponegoro | Universitas Gadjah Mada |
| Bidang Ilmu | Struktur dan fungsi hewan dan Mikrobiologi | Kedokteran molekuler  |
| Tahun masuk/Lulus | 2000/2005 | 2010-sekarang |
| Judul Skripsi/thesis/Disertasi | Pengaruh pemberian serbuk pasak bumi (*E.longifolia*) terhadap motilitas dan abnormalitas spermatozoa mencit (*M.musculus*) | Aktivitas ekstrak etanol gembili (*D.esculanta*) terhadap apoptosis sel kanker payudara T47D  |
| Nama pembimbing/Promoter | Pembimbing I : Dra. Tyas Rini, M.Si.Pembimbing II : Drs. Anwar Djaelani, M.Kes | Pembimbing utama:Prof. dr. Sofia Mubarika, M.Med.Sc. PhD.Pembimbing pendamping :Prof. DR. Mae S.H.Wahyuningsih, Apt., M. Kes. |

1. **Pengalaman Penelitian dalam 5 tahun terakhir**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| No. | Tahun | Judul penelitian | Pendanaan |
| Sumber | Jml (juta Rp) |
| 1.  | 2010 | Pemberian bixin dan norbixin terhadap struktur dan fungsi hepar | DIKTI | 10 |
| 2. | 2011 | Aktivitas fitokimia ekstrak etanol gembili pada kultur sel kanker payudara T47D secara invitro | DEPKES | 104 |
|  | 2011 | Jinten hitam sebagai kandidat antikanker payudara : studi pada mencit C3H adenocarsinoma mamae | FK Unissula | 20 |
|  | 2011 | Aktivitas sitotoksik senyawa alkaloid dan flavonoid mahota dewa (*Phaleria macrocarpa*) terhadap sel kanker payudara T47D | FK unissula | 7 |

1. **Pengalaman Penulisan artikel ilmiah dalam jurnal dalam 5 tahun terakhir**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| No. | Judul Artikel Ilmiah | Volume/Nomor/Tahun | Nama Jurnal |
| 1. | Efek serbuk pasak bumi (*E.longifolia*) terhadap motilitas dan abnormalitas spermatozoa mencit (*M.musculus*) | Vol.1/2/2009 | Sains Medika  |
| 2. | Kadar SGOT dan SGPT setelah pemberian serbuk pewarna dari pigmen selaput biji kesumba keling (*Bixa orellana*) | Vol.3/1/2011 | Sains Medika |
| 3. | Uji sitotoksik senyawa alkaloid mahkota dewa pada kultur sel kanker payudara T47D |  | Prosiding Seminar Nasional herbal on cancer |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| No.  | Nama Pertemuan Ilmiah/ Seminar  | Judul Artikel Ilmiah | Waktu dan tempat |
| 1.  | International conference 5th Eijkman Institute | Apoptosis inducing effect of ethanolic extract of gembili (*D.esculanta*) on T47D breast cancer cell line | 2011, Jakarta |

1. **Pengalaman penyampaian makalah secara oral pada pertemuan/seminar ilmiah dalam 5 tahun terakhir**

Semua data yang saya isikan dan tercantum dalam biodata ini adalah benar dan dapat dipertanggungjawabkan secara hukum. apabila di kemudian hari ternyata dijumpai ketidaksesuaian dengan kenyataan saya sanggup menerima resikonya.

Demikian biodata ini saya buat dengan sebenarnya untuk memenuhi salah satu persyaratan dalam pengajuan hibah penelitian bersaing.

 Semarang, 12 Agusutus, 2015

 Pengusul,

 Materai 6000

 Dina Fatmawati, M.Sc