

**PENGARUH EKSTRAK AIR BUAH NANAS [*Ananas comosus* (L.) Merr.]  
TERHADAP EKSPRESI CASPASE-3 DAN FRAGMENTASI DNA  
SEL ADENOKARSINOMA KOLOREKTAL WiDr**

**SKRIPSI**

**Untuk Memenuhi Persyaratan  
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran**



**SINTIN KHOTIJAH PRIBADI**

**G0010178**

**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS SEBELAS MARET**

**Surakarta**

*commit to user*  
**2013**

**PENGESAHAN SKRIPSI**

**Skripsi dengan judul: Pengaruh Ekstrak Air Buah Nanas [*Ananas comosus*  
(L.) Merr.] terhadap Ekspresi Caspase-3 dan Fragmentasi DNA  
Sel Adenokarsinoma Kolorektal WiDr**

Sintin Khotijah Pribadi, NIM: G0010178, Tahun: 2013

Telah diuji dan sudah disahkan di hadapan **Dewan Penguji Skripsi**  
Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta

Pada Hari Kamis, Tanggal 5 Desember 2013

**Pembimbing Utama**

Nama : **Dyah Ratna Budiani, Dra., M. Si**

NIP : 19670215 199403 2 001

(.....)

**Pembimbing Pendamping**

Nama : **Riza Novierta Pesik, dr., M. Kes**

NIP : 19651117 199702 2 001

(.....)

**Penguji Utama**

Nama : **Brian Wasita, dr., Ph. D**

NIP : 19790722 200501 1 003

(.....)

**Anggota Penguji**

Nama : **Lilik Wijayanti, dr., M. Kes**

NIP : 19690305 199802 2 001

(.....)

Surakarta, .....

Ketua Tim Skripsi

Dekan FK UNS

*commit to user*

**Ari Natalia Probandari, dr., MPH, Ph. D**  
NIP. 19751221 200501 2 001

**Prof. Dr. Zainal Arifin Adnan, dr., Sp.PD-KR-FINASIM**  
NIP. 19510601 197903 1 002

## 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 peneliti juga 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, 5 Desember 2013

**Sintin Khotijah Pribadi**  
**G0010178**



## ABSTRAK

**Sintin Khotijah Pribadi, G0010178, 2013.** Pengaruh Ekstrak Air Buah Nanas [*Ananas comosus* (L.) Merr.] terhadap Ekspresi Caspase-3 dan Fragmentasi DNA Sel Adenokarsinoma Kolorektal WiDr. Skripsi. Fakultas Kedokteran, Universitas Sebelas Maret, Surakarta.

**Latar Belakang:** Adenokarsinoma kolorektal merupakan neoplasma yang paling sering terdiagnosis ketiga di dunia. Berbagai pendekatan dalam penatalaksanaannya telah banyak dilakukan, terutama dalam penggunaan terapi target. Namun, kejadian resistensi masih muncul akibat aktivasi konstitutif jalur sinyal intraseluler. Di sisi lain, buah nanas [*Ananas comosus* (L.) Merr.] mengandung enzim bromelin yang secara spesifik mampu mempengaruhi sinyal intraseluler dan mengakibatkan hambatan proliferasi serta induksi apoptosis pada sel neoplasma. Konsumsi sehari-hari buah nanas tersebut yang dalam bentuk jus merupakan salah satu cara ekstraksi dengan pelarut air. Dalam penelitian kali ini, peneliti melihat pengaruh ekstrak air buah nanas terhadap ekspresi caspase-3 dan fragmentasi DNA dalam proses apoptosis sel adenokarsinoma kolorektal WiDr.

**Metode Penelitian:** Penelitian ini bersifat eksperimental laboratorik dengan metode *the post test only control group design*. Sampel berupa sel adenokarsinoma kolorektal WiDr yang dibagi dalam 6 kelompok: Kelompok Kontrol Negatif, Kelompok Kontrol Positif dengan pemberian obat doxorubicin 5 µg/ml dan 4 Kelompok Perlakuan dengan pemberian ekstrak air buah nanas 270 µg/ml, 202.5 µg/ml, 135 µg/ml dan 67.5 µg/ml. Sel kemudian diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C dan 5% CO<sub>2</sub>. Ekspresi caspase-3 dinilai dengan menghitung skor sitologis melalui pengecatan imunositokimia antibodi *antihuman* caspase-3. Fragmentasi DNA dinilai dengan elektroforesis *gel Agrose* 1%. Data skor sitologis dianalisis dengan uji *one way* ANOVA dan dilanjutkan uji LSD, sedangkan data hasil elektroforesis disajikan dalam bentuk foto dan dideskripsikan dengan kalimat.

**Hasil Penelitian:** Pada hasil uji *one way* ANOVA didapatkan  $p = 0.000$ , yang menunjukkan bahwa terdapat perbedaan skor sitologis yang bermakna. Pada hasil uji LSD didapatkan perbedaan bermakna skor sitologis antara kelompok kontrol positif dengan kelompok-kelompok lainnya, namun tidak terdapat perbedaan bermakna antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok-kelompok perlakuan. Hasil elektroforesis menunjukkan tidak terdapat fragmentasi DNA sel WiDr.

**Simpulan Penelitian:** Ekstrak air buah nanas tidak meningkatkan ekspresi caspase-3 dan tidak menyebabkan fragmentasi DNA sel adenokarsinoma kolorektal WiDr pada 48 jam perlakuan.

---

**Kata kunci:** ekstrak air buah nanas, adenokarsinoma kolorektal, WiDr, ekspresi caspase-3, fragmentasi DNA

## ABSTRACT

**Sintin Khotijah Pribadi, G.0010178, 2013.** The Effect of pineapple [*Ananas comosus* (L.) Merr.] Fruit Aqueous Extract to Caspase-3 Expression and DNA Fragmentation in WiDr Colorectal Adenocarcinoma Cell. Mini Thesis. Faculty of Medicine, Sebelas Maret University, Surakarta.

**Background:** Colorectal adenocarcinoma is the third most diagnosed neoplasm in the world. Many approach has been taken for therapy, especially targeted therapy. However, the resistance event is still occur due to constitutive activation of intracellular signaling. In the other hand, pineapple fruit [*Ananas comosus* (L.) Merr.] has bromelain enzyme that can specifically influence intracellular signaling and not only lead proliferation inhibition but also lead apoptosis induction in neoplasm cell. People consume pineapple fruit by making juice that belongs to aqueous extraction method. The purpose of this study is knowing effect of pineapple fruit aqueous extract to caspase-3 expression and DNA fragmentation from apoptosis process in WiDr colorectal adenocarcinoma cell.

**Methods:** This research was an experimental laboratory study with the post test only control group design. WiDr colorectal adenocarcinoma cell was divided into 6 group: Negative Control Group, Positive Control Group with doxorubicin 5 µg/ml and four Treatment Group with 270 µg/ml, 202.5 µg/ml, 135 µg/ml and 67.5 µg/ml extract concentration. Cell incubated for 48 hours in 37°C and 5% CO<sub>2</sub>. Caspase-3 expression was valued by cytologic score from immunocytochemistry staining with caspase-3 antihuman antibody. DNA fragmentation was valued by 1% gel Agarose electrophoresis. Cytologic score was analyzed by one way ANOVA test and LSD test. Data from electrophoresis was presented in photo and described in words.

**Result:** The result from one way ANOVA test, with p value = 0.000 means there is cytologic score significant difference. From LSD test, we know that there is significant difference between Positive Control Group and another group, but there isn't significant difference between Negative Control Group and Extract Treatment Groups. The result from electrophoresis shows that there isn't DNA fragmentation in WiDr cell.

**Conclusion:** Aqueous extract of pineapple fruit does not increase caspase-3 expression and lead DNA fragmentation in WiDr colorectal adenocarcinoma cell at 48 hours treatment.

---

**Keywords:** pineapple fruit aqueous extract, colorectal adenocarcinoma, WiDr, caspase-3 expression, DNA fragmentation

*commit to user*



## PRAKATA

Segala puji hanya bagi Allah. Sungguh, segala kekuatan dan karunia hanyalah berasal dari-Nya sehingga telah terselesaikan salah satu amanah yang penulis emban. Shalawat beserta salam semoga selalu tercurah kepada Rasulullah Muhammad Saw., pembawa risalah, kabar gembira dan peringatan dalam kebenaran yang tidak sedikitpun ada keraguan di dalamnya.

Skripsi dengan judul “Pengaruh Ekstrak Air Buah Nanas [*Ananas comosus* (L.) Merr.] terhadap Ekspresi Caspase-3 dan Fragmentasi DNA Sel Adenokarsinoma Kolorektal WiDr” ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana di Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini tidak dapat terselesaikan tanpa bantuan dari berbagai pihak, maka penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. **Prof. Dr. Zainal Arifin Adnan, dr., Sp.PD-KR-FINASIM**, selaku dekan Fakultas Kedokteran UNS.
2. **Dyah Ratna Budiani, Dra., M. Si**, selaku Pembimbing Utama.
3. **Riza Novierta Pesik, dr., M. Kes**, selaku Pembimbing Pendamping.
4. **Brian Wasita, dr., Ph. D**, selaku Penguji Utama.
5. **Lilik Wijayanti, dr., M. Kes**, selaku Penguji Pendamping.
6. Tim dan Staf Bagian Skripsi Fakultas Kedokteran UNS.
7. Staf Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran UNS.
8. Staf Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran UGM.
9. Staf Bagian Biologi Farmasi Fakultas Farmasi UGM.
10. Saudara, keluarga, teman dan semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini terdapat banyak kekurangan dan kelemahan, oleh karena itu saran dan kritik yang membangun sangat penulis harapkan. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi pihak yang membutuhkan pada khususnya dan dunia kedokteran pada umumnya.

Surakarta, 5 Desember 2013

Sintin Khotijah Pribadi

*commit to user*

## DAFTAR ISI

ABSTRAK .....	iv
PRAKATA .....	vi
DAFTAR ISI .....	vii
DAFTAR GAMBAR .....	viii
DAFTAR TABEL .....	ix
DAFTAR SINGKATAN .....	x
DAFTAR LAMPIRAN .....	xiii
<b>BAB I PENDAHULUAN</b>	
A. Latar Belakang Masalah .....	1
B. Rumusan Masalah .....	4
C. Tujuan Penelitian .....	4
D. Manfaat Penelitian .....	4
<b>BAB II LANDASAN TEORI</b>	
A. Ekstrak Air Buah Nanas .....	5
B. Adenokarsinoma Kolorektal .....	10
C. Sel Adenokarsinoma Kolorektal WiDr .....	17
D. Mekanisme Ekstrak Air Buah Nanas dalam Mempengaruhi Ekspresi Caspase-3 dan Fragmentasi DNA Adenokarsinoma Kolorektal .....	18
E. Mekanisme Apoptosis Sel .....	24
F. Kerangka Pemikiran .....	28
G. Hipotesis .....	29
<b>BAB III METODE PENELITIAN</b>	
A. Jenis Penelitian .....	30
B. Lokasi Penelitian .....	30
C. Subjek Penelitian .....	30
D. Variabel Penelitian .....	31
E. Definisi Operasional .....	31
F. Rancangan Penelitian .....	32
G. Alat dan Bahan .....	32
H. Cara Kerja .....	34
I. Teknik Penyajian dan Analisis Data .....	44
<b>BAB IV HASIL PENELITIAN</b>	
A. Data Hasil Penelitian .....	45
B. Tampilan Hasil Penelitian .....	46
C. Analisis Data .....	49
<b>BAB V PEMBAHASAN</b> .....	53
<b>BAB VI SIMPULAN DAN SARAN</b>	
A. Simpulan .....	63
B. Saran .....	63
DAFTAR PUSTAKA .....	64
LAMPIRAN .....	69

*commit to user*

## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar 2.1</b> Struktur Tanaman (a), Bunga Tahap Awal (b) dan Susunan Bunga Tahap Akhir (c) Nanas.....	7
<b>Gambar 2.2</b> Rangkaian Adenoma-Karsinoma pada Adenokarsinoma Kolorektal.....	15
<b>Gambar 2.3</b> Overview jalur EGFR dan efektor di bawahnya (a). Hasil yang diharapkan dari terapi anti-EGFR: tumor berespon (sensitif) ketika EGFR aktif dan efektor di bawahnya normal ( <i>wild type</i> ) (b); tumor tidak berespon (resisten) ketika efektor di bawahnya seperti KRAS, BRAF atau PI3K teraktivasi atau PTEN terinaktivasi (c) .....	21
<b>Gambar 2.4</b> Aktivasi siklus sel secara sinergis oleh jalur RAS-RAF-MAPK dan jalur PI3K. Aktivasi oleh sinyal mitogenik (pojok kiri atas), interaksi jalur menstimulasi progresi siklus sel ke arah fase S. Regulator negatif pada siklus sel ternaungi. TFs = <i>Transcription Factors</i> , RB = <i>Retinoblastoma</i> .....	23
<b>Gambar 2.5</b> Skema Kerangka Pemikiran .....	28
<b>Gambar 3.1</b> Skema Rancangan Penelitian.....	32
<b>Gambar 4.1</b> Grafik Rerata Skor Sitologis dan Makna Ekspresi Caspase-3 Tiap Kelompok.....	45
<b>Gambar 4.2</b> Tampilan mikroskopis preperat K (-). Tampak dalam gambar: sel dengan ekspresi caspase-3 positif (anak panah hitam). Pengecatan imunositokimia caspase-3. 1000 X.....	46
<b>Gambar 4.3</b> Tampilan mikroskopis preparat K (+). Tampak dalam gambar: sel dengan ekspresi caspase-3 positif (anak panah hitam). Pengecatan imunositokimia caspase-3. 1000 X.....	46
<b>Gambar 4.4</b> Tampilan mikroskopis preparat K I. Tampak dalam gambar: sel dengan ekspresi caspase-3 positif (anak panah hitam) dan sel mengalami apoptosis (anak panah biru). Pengecatan imunositokimia caspase-3. 1000 X. ....	47
<b>Gambar 4.5</b> Tampilan mikroskopis preparat K II. Tampak dalam gambar: sel dengan ekspresi caspase-3 positif (anak panah hitam) dan sel mengalami apoptosis (anak panah biru). Pengecatan imunositokimia caspase-3. 1000 X. ....	47
<b>Gambar 4.6</b> Tampilan mikroskopis preparat K III. Tampak dalam gambar: sel dengan ekspresi caspase-3 positif (anak panah hitam) dan sel mengalami apoptosis (anak panah biru). Pengecatan imunositokimia caspase-3. 1000 X. ....	48
<b>Gambar 4.7</b> Tampilan mikroskopis preparat K IV. Tampak dalam gambar: sel dengan ekspresi caspase-3 positif (anak panah hitam) dan sel mengalami apoptosis (anak panah biru). Pengecatan imunositokimia caspase-3. 1000 X. ....	48
<b>Gambar 4.8</b> Hasil elektroforesis <i>gel Agarose</i> DNA total tiap kelompok. Lajur 1: DNA ladder 100 bp, lajur 2: K (-), lajur 3: K (+), lajur 4: K I, lajur 5: K II, lajur 6: K III dan lajur 7: K IV.....	49



## DAFTAR TABEL

<b>Tabel 2.1.</b> Stadium Adenokarsinoma Kolorektal dan Kelangsungan Hidup Pasien .....	16
<b>Tabel 3.1</b> Nilai Persentase Sel (P).....	41
<b>Tabel 3.2</b> Nilai Intensitas Warna (I).....	42
<b>Tabel 3.3</b> Makna Ekspresi dari Skor Sitologis.....	42
<b>Tabel 4.1</b> Hasil Analisis Uji Normalitas .....	50
<b>Tabel 4.2</b> Ringkasan Hasil Uji LSD.....	51
<b>Tabel 4.3</b> Ringkasan Hasil Analisis Uji <i>One Way</i> ANOVA dan LSD .....	52



## DAFTAR SINGKATAN

1. 5-FU = 5-Fluorouracil
2. AJCC = *American Joint Committee on Cancer*
3. ANOVA = *Analysis of Variant*
4. APAF-1 = *Apoptosis Protease Activating Factor-1*
5. APC = *Adenomatous Polyposis Coli*
6. ATCC = *American Type Culture Collection*
7. ATP = *Adenosin Triphosphat*
8. Bax = *B-cell-lymphoma-2 associated protein*
9. Bcl2 = *B-cell-lymphoma-2*
10. BH = *Bcl-2 Homology*
11. BRAF = *B Rapidly Accelerated Fibrosarcoma*
12. CARDI = *Caribbean Agricultural Research and Development Institute*
13. CDC25A = *Cell Division Cycle 25 homolog A*
14. CDK = *Cyclin-Dependent Kinase*
15. CEA = *Carcinoembryonic Antigen*
16. CIN = *Chromosomal Instability*
17. Cox-2 = *Cyclooxygenase-2*
18. CSAp = *Colon Spesific Antigen*
19. DCC = *Deleted in Colorectal Cancer*
20. DD = *Death Domain*
21. DIABLO = *Direct IAP Binding Protein with Low pI*
22. DISC = *Death Initiation Signalling Complex*
23. DMSO = *Dimethylsulfoxide*
24. DNA = *Deoxyribonucleic Acid*
25. EDTA = *Ethylene Diamine Tetraacetic Acid*
26. EGFR = *Epidermal Growth Factor Receptor*
27. ELISA = *Enzym-Linked Immunosorbent Assay*
28. ERK = *Extracellular Regulated protein Kinase*
29. FAO = *Food and Agriculture Organization of United Nations*
30. FAP = *Familial Adenomatous Polyposis*
31. FBS = *Fetal Bovine Serum*
32. Fox = *Forkhead box*
33. GDP = *Guanine guanosine-5-Diphosphate*
34. GSK3 = *Glycogen Synthase Kinase 3*
35. GTP = *Guanine Guanosine-5-Triphosphate*
36. GTPase = *Guanine Triphosphatase*
37. HLA = *Human Leucosit Antigen*
38. hMLH = *mult Homolog*
39. hMSH = *mutS Homolog*
40. HNPCC = *Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer*
41. hPMS = *postmeiotic segregation increased*
42. HRP = *Horeseradish Peroxidase*
43. I = *Intensitas*
44. IK = *Intensitas Kuat* commit to user

45. IκB	= I <i>Kappa</i> B
46. IKK	= I <i>Kappa</i> B <i>Kinase</i>
47. IL	= Intensitas Lemah
48. IN	= Intensitas Negatif
49. IS	= Intensitas Sedang
50. K (-)	= Kelompok Kontrol Negatif
51. K (+)	= Kelompok Kontrol Positif
52. K I	= Kelompok Perlakuan I
53. K II	= Kelompok Perlakuan II
54. K III	= Kelompok Perlakuan III
55. K IV	= Kelompok Perlakuan IV
56. KRAS	= <i>Kristen Rat Sarcoma</i>
57. LD	= <i>Lethal Dose</i>
58. LSD	= <i>Least Significant Difference</i>
59. MAP2K	= <i>Mitogen-Activated Protein Kinase Kinase</i>
60. MAPK	= <i>Mitogen Activated Protein Kinase</i>
61. MDM2	= <i>Mouse Double Minute 2</i>
62. MOMP	= <i>Mitochondrial Outer Membrane Permeabilization</i>
63. MMP	= <i>Matrix Metalloproteinase</i>
64. MMR	= <i>Mismatch Repair</i>
65. MSS	= <i>Microsatellit Stable</i>
66. mTOR	= <i>Mammalian Target of Rapamycin</i>
67. MTT	= 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide)
68. MSI-H	= <i>High Microsatellite Instability</i>
69. MSI	= <i>Microsatellite Instability</i>
70. NCI	= <i>National Cancer Institute</i>
71. NFκB	= <i>Nuclear Factor-kappa B</i>
72. P	= Persentase
73. PAR	= <i>Protease-Activated Receptors</i>
74. PARP-1	= <i>Poly-Adenosine Diphosphate-Ribose Polymerase 1</i>
75. PBS	= <i>Phosphate Buffered Saline</i>
76. PI3K	= <i>Phosphatidylinositol 3-Kinase</i>
77. PIP2	= <i>Phosphatidyl-Inositol-4,5-Biphosphate</i>
78. PIP3	= <i>Phosphatidyl-Inositol-3,4,5-Triphosphate</i>
79. PK	= Persentase Kuat
80. PL	= Persentase Lemah
81. PN	= Persentase Negatif
82. PS	= Persentase Sedang
83. PTEN	= <i>Phosphatase and Tensin Homolog</i>
84. RB	= <i>Retinoblastoma</i>
85. RPMI	= <i>Rosewell Park Memorial Institute</i>
86. SDS	= <i>Sodium Dodecyl Sulfate</i>
87. SMAC	= <i>Second Mitochondria derived Activator of Caspase</i>
88. SMAD4	= <i>mothers against decapentaplegic homolog 4</i>
89. SPSS	= <i>Statistical Product and Service Solution</i>
90. SS	= Skor Sitologis <i>commit to user</i>

- 91. TFs = *Transcription Factors*
- 92. TGF = *Transforming Growth Factor*
- 93. TGFBR = *Transforming Growth Factor Beta Receptor*
- 94. TKIs = *Tyrosine Kinase Inhibitors*
- 95. TNFR = *Tumor Necrosis Factor Receptor*
- 96. TNM = *Tumor-Node-Metastasis*
- 97. UGM = *Universitas Gadjah Mada*
- 98. UNS = *Universitas Sebelas Maret*
- 99. VEGF = *Vascular Endothelial Growth Factor*
- 100. XIAP = *X-Linked Inhibitor of Apoptosis*



## DAFTAR LAMPIRAN

<b>Lampiran 1.</b> Foto Kegiatan Penelitian.....	68
<b>Lampiran 2.</b> Data Primer Skor Sitologis dan Makna Ekspresi Caspase-3	71
<b>Lampiran 3.</b> Hasil Uji Statistik Skor Sitologis Ekspresi Caspase-3.....	72
<b>Lampiran 4.</b> Surat Keterangan Hasil Determinasi Sampel Buah Nanas ...	74
<b>Lampiran 5.</b> Surat Ijin Penelitian Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada.....	75
<b>Lampiran 6.</b> Surat Keterangan Selesai Penelitian Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret...	76

