

**PEMBERIAN KOMBINASI  
5 FU-LEUCOVORIN DENGAN *PHALERIA  
MACROCARPA* UNTUK MENURUNKAN EKSPRESI  
VEGF DAN  
MEMPERKECIL TUMOR KOLON  
TIKUS *SPRAGUE DAWLEY***

***COMBINATION OF 5FU-LEUCOVORIN WITH PHALERIA  
MACROCARPA TO REDUCE VEGF EXPRESSION AND  
REDUCE COLON TUMOR OF  
SPRAGUE DAWLEY RAT***



**Tesis  
untuk memenuhi sebagian persyaratan  
mencapai derajat Sarjana S-2**

**Wasisto Dwi Yudisaputro  
22010111400091**

**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS DIPONEGORO  
SEMARANG  
2015**

# TESIS

PEMBERIAN KOMBINASI  
5 FU-LEUCOVORIN DENGAN *PHALERIA*  
*MACROCARPA* UNTUK MENURUNKAN EKSPRESI VEGF DAN  
MEMPERKECIL TUMOR KOLON  
TIKUS *SPRAGUE DAWLEY*

**Disusun oleh**

**Wasisto Dwi Yudisaputro**  
**22010111400091**

**akan dipertahankan di depan Tim Penguji**  
**pada tanggal 27 Juli 2015**  
**dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima**

**Menyetujui,**  
**Pembimbing**

Pembimbing I

Pembimbing II

Dr. dr. Selamat Budijitno, MSi.Med, Sp.B, Sp.B(K)Onk  
NIP. 19710807200812 1 001

Dr. Agus Priambodo, Sp.OT(K)Spine  
NIP. 19670814200312 1 002

**Mengetahui,**

Ketua Program Studi  
Magister Ilmu Biomedik  
Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

dr. Ahmad Zulfa Juniarto, Msi.Med, Sp.And, Ph.D  
NIP. 19700608 199702 1 001



## **PERNYATAAN**

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan di dalamnya tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi atau lembaga pendidikan lainnya, serta tidak terdapat unsur-unsur yang tergolong Plagiarism sebagaimana dimaksud dalam Permendiknas No.17 Tahun 2010. Pengetahuan yang diperoleh dari hasil penerbitan maupun yang belum atau tidak diterbitkan, sumbernya dijelaskan di dalam tulisan dan daftar pustaka.

Semarang, Desember 2015

Wasisto Dwi Yudisaputro

## RIWAYAT HIDUP

### A. Identitas

Nama : Wasisto Dwi Yudisaputro  
NIM Magister Biomedik : 22010111400091  
NIM PPDS I Bedah : 22040111300014  
Tempat/Tgl Lahir : Surabaya, 21 Desember 1985  
Agama : Islam  
Jenis Kelamin : Laki-laki

### B. Riwayat Pendidikan

1. SD Bangunsari III Ponorogo : Lulus tahun 1997
2. SLTPN 111 Jakarta : Lulus tahun 2000
3. SMUN I Probolinggo : Lulus tahun 2003
4. FK UNDIP Semarang : Lulus tahun 2010
5. PPDS Ilmu Bedah FK UNDIP : (2011 - sekarang)
6. Magister Ilmu Biomedik PPS UNDIP : (2012 - sekarang)

### C. Riwayat Pekerjaan

1. -

### D. Riwayat Keluarga

1. Nama Orang Tua  
Ayah : (Alm) Djoni Yudianto  
Ibu : (Alm) Endang Sriyati
2. Nama Istri : Yurida Binta Meutia
3. Nama Anak : Atiya Imanda Yudisaputro

## KATA PENGANTAR

Puji syukur kami panjatkan ke hadirat Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan berkah-Nya, sehingga kami dapat menyelesaikan tesis yang berjudul “PEMBERIAN KOMBINASI 5 FU-LEUCOVORIN DENGAN *PHALERIA MACROCARPA* UNTUK MENURUNKAN EKSPRESI VEGF DAN MEMPERKECIL TUMOR KOLON TIKUS *SPRAGUE DAWLEY*”.

Penelitian ini diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar derajat sarjana S-2 Magister Ilmu Biomedik dan Program Pendidikan Dokter Spesialis I di Bagian Ilmu Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Semarang.

Tesis ini diharapkan dapat memberikan kontribusi terhadap perkembangan ilmu di bidang bedah terutama bidang bedah onkologi.

Pada kesempatan yang baik ini, ingin kami menyampaikan ucapan terimakasih dan penghargaan yang sebesar-besarnya kepada :

1. dr. Sahal Fatah, Sp.B.Sp.BTKV. selaku Kepala Bagian / SMF Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro/Rumah Sakit Dr. Kariadi Semarang yang telah memberikan kesempatan kepada kami untuk mengikuti Program Pendidikan Dokter Spesialis I Bedah dan Program Magister Ilmu Biomedik serta perhatian, dorongan, dan bimbingan sehingga tesis ini dapat diselesaikan.
2. dr. Benny Issakh, Sp.B.Sp.B.(K)Onk. selaku Ketua Program Studi Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro yang telah memberikan

kesempatan kepada kami untuk mengikuti Program Pendidikan Dokter Spesialis I Bedah dan Program Magister Ilmu Biomedik serta perhatian dan bimbingan sehingga tesis ini dapat diselesaikan.

3. Dr. dr. Selamat Budijitno, M.Si Med, Sp.B.(K)Onk, guru sekaligus pembimbing I dalam penelitian ini, atas segala waktu, tenaga dan bimbingan yang diberikan sehingga tesis ini dapat selesai.
4. dr. Agus Priambodo, Sp.B, Sp.OT(K)Spine, guru sekaligus pembimbing II dalam penelitian ini, yang selalu meluangkan waktu, dan tenaga dalam membimbing tesis ini hingga selesai.
5. Prof. Yos Johan Utama, SH selaku Rektor Universitas Diponegoro Semarang.
7. Kepada guru-guru kami, staf pengajar Bagian Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
8. Prof. Dr. dr. Tri Nur Kristina, DMM, M.Kes selaku Dekan Fakultas Kedokteran
9. dr. A. Zulfa Juniarto, Msi.Med, Sp.And, Ph.D selaku Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
10. Guru-guru Program Studi Magister Ilmu Biomedik Program Pascasarjana Universitas Diponegoro yang telah memberi pengetahuan dan bimbingan kepada kami serta memberikan motivasi selama mengikuti program pendidikan magister dan penyusunan tesis ini.
11. Semua rekan sejawat Residen Bagian Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, karyawan dan karyawan Bagian Bedah,

karyawan dan karyawan Program Studi Magister Ilmu Biomedik Universitas Diponegoro serta staf yang telah membantu kami selama dalam penelitian hingga penyusunan tesis.

12. Yang tercinta istri ; Ditta dan anak kami; Manda atas kesabaran, dukungan moral dan semangat bagi kami untuk menyusun dan menyelesaikan tesis ini.

13. Orang tua kami Bapak (Alm) Djoni Yudianto, Ibu (Alm) Endang Sriyati dan Ibu Enny Indah Pertamaningsih atas dukungannya dalam menyelesaikan tesis ini.

14. Mertua Bapak Muhammad Sholeh Kosim dan Ibu Endang Martiningsih atas dukungannya yang telah diberikan.

Kami menyadari bahwa tesis ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu kami mengharapkan saran dan kritik untuk kesempurnaan tesis ini. Akhir kata, kami mohon maaf atas segala kesalahan dan kekhilafan, sengaja maupun tidak sengaja baik itu perkataan atau perbuatan yang kami lakukan selama kami menyelesaikan tesis ini.

Semarang, Desember 2015

Wasisto Dwi Yudisaputro



## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL .....	i
LEMBAR PENGESAHAN .....	ii
PERNYATAAN .....	iii
DAFTAR ISI .....	iv
BAB 1. PENDAHULUAN .....	1
1.1.Latar Belakang.....	1
1.2.Rumusan Masalah.....	4
1.3.Tujuan Penelitian .....	5
1.4.Manfaat Penelitian .....	6
1.5.Keaslian Penelitian .....	6
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA .....	11
2.1. Kanker Kolon .....	11
2.1.1. Epidemiologi.....	11
2.1.2. Anatomi dan Histologi.....	12
2.1.3. Etiologi dan Patogenesis.....	14
2.1.4. Klasifikasi.....	16
2.1.4. Penatalaksanaan.....	19
2.1.4. Prognosis.....	20
2.2. <i>Phaleria macrocarpa</i> .....	22
2.3. <i>Vascular endothelial growth factor (VEGF)</i> .....	26
2.4. 5FU-Leucovorin .....	30

2.5. 1,2 Dimethylhidroazine .....	33
BAB 3. KERANGKA TEORI, KONSEP DAN HIPOTESIS .....	35
3.1. Kerangka Teori .....	35
3.2. Kerangka Konsep .....	36
3.3. Hipotesis .....	36
BAB 4. METODE PENELITIAN .....	37
4.1. Desain Penelitian .....	37
4.2. Populasi dan Sampel Penelitian.....	38
4.2.1. Populasi.....	38
4.2.2. Sampel .....	38
4.3. Waktu dan Lokasi Penelitian.....	39
4.4. Variabel Penelitian .....	40
4.4.1. Variabel Bebas.....	40
4.4.2. Variabel Tergantung .....	40
4.4.3. Definisi Operasional .....	40
4.5. Bahan dan Alat Penelitian .....	41
4.5.1. Bahan untuk Perlakuan .....	41
4.5.2. Bahan untuk Pemeriksaan Histopatologi Rutin dan IHC	
Anti VEGF.....	42
4.5.3. Alat untuk pembuatan sediaan penelitian dengan IHC	
Anti VEGF.....	43
4.5.4. Alat untuk pengukuran diameter tumor.....	43
4.5.5. Alat untuk pengamatan dan dokumentasi sediaan.....	43

4.6. Prosedur Pengumpulan Data .....	44
4.7. Alur Kerja .....	45
4.8. Prosedur Penelitian .....	46
4.8.1. Prosedur pengukuran diameter tumor.....	46
4.5.2. Prosedur pembuatan preparat histopatologi.....	47
4.5.3. Prosedur pewarnaan monoclonal antibody anti VEGF (Mo Ab Anti VEGF).....	49
4.9. Analisis Data .....	51
 BAB 5. HASIL	
PENELITIAN.....	53
5.1. Analisa Deskriptif.....	54
5.1.1. Deskripsi data ekspresi VEGF.....	54
5.1.2. Deskripsi data massa tumor.....	56
5.2. Distribusi Data.....	57
5.3. Uji Statistik.....	58
5.3.1. Ekspresi VEGF .....	58
5.3.1. Diamater massa tumor .....	59
5.3.3. Korelasi ekspresi VEGF dengan diameter massa tumor .....	61
BAB 6. PEMBAHASAN.....	62
BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN .....	67
DAFTAR PUSTAKA.....	68

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Efek VEGF dan reseptor terhadap proses angiogenesis.....	30
Gambar 2. Grafik box plot ekspresi VEGF .....	55
Gambar 3. Grafik box plot diameter massa tumor .....	56
Gambar 4. Grafik korelasi ekspresi VEGF dengan diameter massa tumor.....	61
Gambar 5. Pemberian induksi <i>1,2 Dimethylhidrazine</i> secara subkutan .....	76
Gambar 6. Gambaran makroskopis tumor kolon .....	76
Gambar 7. Pengukuran massa tumor kolon.....	76
Gambar 8. Gambaran mikroskopis pengecatan H&E .....	77
Gambar 9. Gambaran mikroskopis kelompok kontrol .....	78
Gambar 10. Gambaran mikroskopis kelompok P1 .....	79
Gambar 11. Gambaran mikroskopis kelompok P2 .....	80
Gambar 12. Gambaran mikroskopis kelompok P3 .....	81

## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Perbandingan <i>5-year survival rates</i> antara klasifikasi <i>Dukes</i> , <i>staging</i> dan sistem TNM .....	21
Tabel 2. Nilai IC50 dari ekstrak <i>Phaleria Macrocarpa</i> terhadap kanker kolon, kanker payudara, sel HeLa, sel hepar .....	23
Tabel 3. Total kandungan phenol dan flavonoid dari berbagai buah <i>Phaleria macrocarpa</i> .....	25
Tabel 4. Karakteristik data ekspresi VEGF .....	55
Tabel 5. Karakteristik data diameter massa tumor .....	56
Tabel 6. Uji normalitas dan homogenitas data ekspresi VEGF dan diameter massa tumor.....	58
Tabel 7. Analisis perbedaan ekspresi VEGF antar kelompok perlakuan .....	59
Tabel 8. Analisis <i>Mann Whitney</i> ekspresi VEGF antar kelompok perlakuan....	59
Tabel 9. Analisis perbedaan diameter massa tumor antar kelompok perlakuan.....	60
Tabel 10. Analisis <i>post hoc</i> diameter massa tumor antar kelompok perlakuan.....	60
Tabel 11. Analisis Korelasi Ekspresi VEGF terhadap Diameter Massa Tumor.....	61

## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Hasil Pengukuran Penelitian .....	79
Lampiran 2. Foto Penelitian .....	80
Lampiran 3. Gambaran Mikroskopis Pengecatan H&E .....	77
Lampiran 4. Gambaran Mikroskopis Anti VEGF .....	82
Lampiran 5. Data Statistik .....	84

## DAFTAR SINGKATAN

1. 5FU = 5 Fluorouracyl
2. VEGF = *Vascular Endothelial Growth Factor*
3. ATP = *Adenosine Tri-Phosphate*
4. CDK = *Cyclin Dependent Kinase*
5. CIN = *Chromosomal Instability*
6. DNA = *Deoxyribo Nucleic Acid*
7. DCC = *Deleted in Colon Cancer*
8. EGFR = *Epidermal Growth Factor Receptor*
9. FGR = *Fibroblast Growth Factor Receptor*
10. HNPCC = *Hereditary Nonpolyposis Colon Cancer*
11. LCS = *Liquor Cerebro Spinalis*
12. MAPK = *Mitogen-Activated Protein Kinase*
13. MSI = *Microsatellite Instability*
14. MMR = *mismatch repair*
15. NCCN = *National Comprehensive Cancer Network*
16. PDGF = *Platelet-Derived Growth Factor Receptor*
17. RTK = *Receptor Tirosin Kinase*
18. TME = *Total Mesorectal Excision*
19. UTP = *Uridine Tri-Phosphate*
20. UMP = *Uridine Mono-Phosphate*

# Pemberian Kombinasi 5FU-Leucovorin dengan *Phaleria macrocarpa* untuk Menurunkan Ekspresi VEGF dan Memperkecil Tumor Kolon Tikus *Sprague dawley*

Yudisaputro WD\*, Budijitno S\*\*, Priambodo A \*\*\*

\*) Residen Bedah Umum Universitas Diponegoro / RSUP Dr. Kariadi, Semarang

\*\*\*) Staf Subbagian Bedah Onkologi Universitas Diponegoro / RSUP Dr. Kariadi, Semarang

\*\*\*\*) Staf Subbagian Bedah Orthopedi Universitas Diponegoro / RSUP Dr. Kariadi, Semarang

## Abstrak

### Pendahuluan

Insidensi kanker kolon di seluruh dunia masih tinggi dan menjadi penyebab kematian terbanyak kategori penyakit tidak menular. Pembedahan tetap merupakan pilihan utama dengan modalitas lainnya berupa kemoterapi, radiasi dan imunoterapi seperti *P macrocarpa* (Mahkota Dewa). Peneliti berusaha membuktikan efek pemberian ekstrak buah *P macrocarpa* terhadap tumor kolon terutama dalam hal ekspresi VEGF dan perubahan ukuran tumor.

### Metode

Penelitian berupa eksperimental laboratorik dengan desain *post test only*. Penelitian ini menggunakan tikus putih betina strain *Sprague dawley* dibagi menjadi 4 kelompok yaitu kelompok K, P1 (kelompok kemoterapi), P2 (kelompok *P macrocarpa*), dan P3 (Kelompok kombinasi). Tumor kolon diperoleh dengan induksi 1,2-DMH subkutan. Kemoterapi yang diberikan 5FU-leucovorin sebanyak 6 siklus sesuai *Rosswell Park Regiment*. *P macrocarpa* diberikan dengan dosis 0,495 mg/hari (0,99 mL /hari) per oral. Ekspresi VEGF dinilai dengan pengecatan IHC Anti VEGF sedangkan diameter massa tumor diukur menggunakan caliper tumor.

### Hasil

Ekspresi VEGF dan diameter massa tumor didapatkan rerata kelompok K, P1, P2, P3 berturut-turut  $23,43 \pm 13,626$ ,  $2,6 \pm 1,308$ ,  $1,80 \pm 3,473$ ,  $0,73 \pm 0,952$  dan  $1,403 \pm 0,265$ ,  $1,135 \pm 0,154$ ,  $1,339 \pm 0,111$ ,  $1,074 \pm 0,164$ . Analisis statistik menunjukkan terdapat perbedaan bermakna pada ekspresi VEGF antara kelompok K vs P1 ( $p=0.004$ ), K vs P2 ( $p=0.004$ ), K vs P3 ( $p=0,004$ ) dan P1 vs P3 ( $0,024$ ). dan pada diameter massa tumor antara kelompok K vs P1 ( $p=0,020$ ), K vs P3 ( $p=0,005$ ), dan P2 vs P3 ( $0,021$ ). Analisis korelasi ekspresi VEGF dengan diameter massa tumor didapatkan korelasi bermakna ( $p=0.031$ ).

### Kesimpulan

*P macrocarpa* mempunyai potensi sebagai imunostimulator yang dapat meningkatkan efektivitas kemoterapi 5FU-leucovorin dalam hal penurunan ekspresi VEGF dan penurunan ukuran tumor kolon tikus *Sprague dawley*.

Kata kunci : *P macrocarpa*, adenokarsinoma kolon, ekspresi VEGF, diameter massa tumor



# Combination of 5FU-Leucovorin With *Phaleria Macrocarpa* To Reduce VEGF Expression and Reduce Colon Tumor of *Sprague Dawley* Rat

Yudisaputro WD\*, Budijitno S\*\*, Priambodo A\*\*\*

\*) General Surgery Resident of Diponegoro University / RSUP Dr. Kariadi, Semarang

\*\*\*) Staff on Oncology Surgery of Diponegoro University / RSUP Dr. Kariadi, Semarang

\*\*\*\*) Staff on Orthopedy Surgery of Diponegoro University / RSUP Dr. Kariadi, Semarang

## Abstract

### Introduction

The incidence of colon cancer in the world is still high and the most cause of death of non-communicable disease category. Surgery remains the top choice therapy with other modalities such as chemotherapy, radiation and immunotherapy as *P macrocarpa* (Mahkota Dewa). This study seeks to prove the effects of fruit extracts *P macrocarpa* against colon adenocarcinoma, especially in terms of VEGF Expression and changes in the tumor mass.

### Method

Laboratory experimental research with post-test only design. This study used a female *Sprague dawley* white rats were divided into 4 groups : group K, P1 (chemotherapy group), P2 (*P macrocarpa* group), and P3 (combination group). Colon tumors induced by 1,2-DMH subcutaneously. Chemotherapy given 5FU-leucovorin as much as 6 cycles according Rosswell Park Regiment. *P macrocarpa* given at a dose of 0,495 mg / day (0.99 mL / day) orally. VEGF Expression was assessed by IHC Anti VEGF staining, while the diameter of the tumor mass was measured using a caliper tumor.

### Result

Mean the cell proliferation and diameter of tumor masses on K, P1, P2, P3 group was  $23,43 \pm 13,626$ ,  $2,6 \pm 1,308$ ,  $1,80 \pm 3,473$ ,  $0,73 \pm 0,952$  and  $1,403 \pm 0,265$ ,  $1,135 \pm 0,154$ ,  $1,339 \pm 0,111$ ,  $1,074 \pm 0,164$  respectively. Statistical analysis showed a significant difference in VEGF Expression between K vs P1 ( $p=0.004$ ), K vs P2 ( $p=0.004$ ), K vs P3 ( $p=0,004$ ), and between P1 vs P3 ( $0,024$ ) and significant difference in diameter of the tumor mass between K vs P1 ( $p=0,020$ ), K vs P3 ( $p=0,005$ ), dan P2 vs P3 ( $0,021$ ). Correlation analysis of VEGF expression with a diameter of the tumor mass was significant ( $p=0,031$ )

### Conclusion

*P macrocarpa* has the potential as immunostimulatory which can increase the effectiveness of 5FU-leucovorin chemotherapy in terms lowering the VEGF expression and decrease the diameter of adenocarcinoma colon of *Sprague dawley* rat.

Keywords : *P macrocarpa*, colon adenocarcinoma, VEGF Expression, tumor mass diameter

