



**PENGARUH PENAMBAHAN EKSTRAK BIT TERHADAP
RESPON TERAPI REGIMEN ADRIAMISIN SIKLOFOSFAMID
PADA TIKUS ADENOKARSINOMA MAMMA YANG
DIINDUKSI DMBA :**

Kajian terhadap volume tumor, respon patologi, kadar mRNA CD8,
CD11b, p53, Ki-67 dan caspase 3

Sri Susilowati

NIM: 22010116510010

Program Studi Doktor Ilmu Kedokteran / Kesehatan
Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang

Mei, 2022

**PENGARUH PENAMBAHAN EKSTRAK BIT TERHADAP RESPON TERAPI
REGIMEN ADRIAMISIN SIKLOFOSFAMID PADA TIKUS ADENOKARSINOMA
MAMMA YANG DIINDUKSI DMBA:**

Kajian terhadap volume tumor, respon patologi, kadar mRNA CD8, CD11b,
p53, Ki-67, dan caspase 3

DISERTASI

Untuk memperoleh gelar Doktor
dalam Ilmu Kedokteran/Kesehatan pada Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

Oleh:
Sri Susilowati
Lahir di Purworejo

HALAMAN PERSETUJUAN

PENGARUH PENAMBAHAN EKSTRAK BIT TERHADAP RESPON TERAPI REGIMEN ADRIAMISIN SIKLOFOSFAMID PADA TIKUS ADENOKARSINOMA MAMMA YANG DIINDUKSI DMBA:

Kajian terhadap volume tumor, respon patologi, kadar mRNA CD8, CD11b,
p53, Ki-67, dan caspase 3

Oleh:

Sri Susilowati
NIM: 22010116510010

Telah disetujui dan dinyatakan lulus pada tanggal 27 Mei 2021 oleh Tim Penguji
Program Studi Doktor Ilmu Kedokteran dan Kesehatan
Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang

Promotor

Ko Promotor

Prof.dr.C Suharti, Sp.PD-KHOM, Ph.D, FINASIM
NIP : 194711251974012001

Dr.dr.Neni Susilaningsih, M.Si.
NIP : 196301281989022001

Mengetahui

Dekan

Ketua Program Studi

Prof.Dr.dr. Dwi Pudjonarko, MKes.,Sp.S(K)
NIP : 196607201995121001

Prof.Dr.dr Tri Indah Winarni, M.Si.Med.,PA
NIP : 196605101997022001

**PENGARUH PENAMBAHAN EKSTRAK BIT TERHADAP RESPON TERAPI
REGIMEN ADRIAMISIN SIKLOFOSFAMID PADA TIKUS ADENOKARSINOMA
MAMMA YANG DIINDUKSI DMBA :**

Kajian terhadap volume tumor, respon patologi, kadar mRNA CD8, CD11b,
p53, Ki-67, dan caspase 3

Oleh:

Sri Susilowati
NIM: 22010116510010

Tim Penguji

- | | |
|---|----|
| 1. Dr.dr.Trilaksana Nugroho, M.Kes., Sp.M(K), FISCM
(Ketua Sidang) | 1. |
| 2. Prof. Dr. Mustofa, Apt., M.Kes.
(Penguji Eksternal) | 2. |
| 3. Dr.dr. Yan Wisnu Prajoko, Sp.B(K)Onk., M.Kes.
(Anggota) | 3. |
| 4. Dr.dr. Suhartono, M.Kes.
(Anggota) | 4. |
| 5. Prof.Dr.dr.Ign.Riwanto, Sp.BD
(Anggota) | 5. |
| 6. Dr.dr. Neni Susilaningsih, M.Si.
(Ko Promotor) | 6. |
| 7. Prof.dr. C. Suharti, Sp.PD-KHOM, PhD, FINASIM
(Promotor) | 7. |

PERNYATAAN ORISINALITAS

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Sri Susilowati

NIM : 22010116510010

Mahasiswa : Program Studi Doktor Ilmu Kedokteran/Kesehatan
Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang

Dengan ini menyatakan bahwa :

1. Disertasi berjudul “**Pengaruh Penambahan Ekstrak Bit terhadap Respon Terapi Regimen Adriamisin Siklofosamid pada Tikus Adenokarsinoma Mamma yang Diinduksi DMBA: Kajian terhadap volume tumor, respon patologi, kadar mRNA CD8, CD11b, p53, Ki-67 dan caspase 3**” adalah karya ilmiah asli dan belum pernah diajukan untuk mendapatkan gelar akademik (Doktor) di perguruan tinggi manapun.
2. Disertasi ini adalah murni gagasan, rumusan dan hasil penelitian saya serta dilakukan tanpa bantuan orang lain, kecuali Promotor, Ko-Promotor dan Narasumber.
3. Disertasi ini tidak terdapat karya atau pendapat yang telah ditulis atau dipublikasikan orang lain, kecuali secara tertulis dicantumkan sebagai acuan dalam naskah dengan menyebutkan nama pengarang dan judul aslinya serta dicantumkan dalam Daftar Pustaka.
4. Pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya dan apabila di kemudian hari terdapat penyimpangan dan ketidakbenaran dalam pernyataan ini, saya bersedia menerima sanksi akademik berupa pencabutan gelar yang saya peroleh dan sanksi lain sesuai dengan norma yang berlaku di Universitas Diponegoro Semarang.

Semarang, 27 Mei 2022

Yang membuat pernyataan

Sri Susilowati

Tidaklah Allah menurunkan suatu penyakit, melainkan akan menurunkan pula obat untuk penyakit tersebut (HR. Bukhari).

Flow with the Universe

Embrace good vibes and learn to let things flow. There is no need to force outcomes. Once you are in harmony with the Universe, what's meant to be yours will come to you (Good Vibes, Good Lives by Vex King).

Dipersembahkan untuk para pejuang kanker yang terus berusaha untuk melawan penyakit ini, untuk para peneliti dan tenaga kesehatan yang fokus dalam mengatasi masalah terkait kanker.

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur kepada Tuhan Yang Mahas Esa atas berkah dan rahmat-Nya sehingga saya dapat menyelesaikan disertasi ini sebagai salah satu syarat mendapatkan gelar Doktor Program Studi Doktor Ilmu Kedokteran/Kesehatan Universitas Diponegoro Semarang.

Saya menyadari tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak sejak awal sampai akhir penyusunan disertasi ini sangatlah sulit bagi saya untuk bisa menyelesaikan tugas ini, sehingga saya ingin mengucapkan banyak terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya atas bantuan dan bimbingannya kepada :

1. Prof. Dr. Yos Johan Utama, S.H., M.Hum selaku Rektor Universitas Diponegoro.
2. Prof. Dr. dr. Dwi Pudjonarko, M.Kes.,Sp.S selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
3. Prof. Dr.dr Tri Indah Winarni, M.Si.Med., PA selaku Ketua Program Studi Doktor Ilmu Kedokteran dan Kesehatan, Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
4. dr. Endang Mahati, M.Sc, Ph.D selaku Sekretaris Program Studi Doktor Ilmu Kedokteran dan Kesehatan, Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
5. Prof. dr. C. Suharti, SpPD-KHOM, PhD, FINASIM sebagai promotor penelitian atas bimbingan selama penyelesaian disertasi ini.
6. Dr.dr.Neni Susilaningsih, MSi sebagai ko-promotor penelitian atas bimbingan selama penyelesaian disertasi ini.

7. Dr.dr.Yan Wisnu Prajoko, Sp.B(K)Onk., M.Kes sebagai penguji (narasumber) mulai dari tahapan ujian proposal, ujian hasil penelitian, ujian kelayakan hingga ujian tertutup atas kritik dan saran yang diberikan untuk perbaikan disertasi ini.
8. Prof.Dr.dr.Ign.Riwanto, Sp.BD sebagai penguji (narasumber) mulai dari tahapan ujian proposal, ujian hasil penelitian, ujian kelayakan hingga ujian tertutup atas kritik dan saran yang diberikan untuk perbaikan disertasi ini.
9. Dr.dr.Suhartono, MKes sebagai penguji (narasumber) mulai dari tahapan ujian proposal, ujian hasil penelitian, ujian kelayakan hingga ujian tertutup atas kritik dan saran yang diberikan untuk perbaikan disertasi ini.
10. Prof. Dr. Mustofa, MKes., Apt selaku penguji eksternal dari Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada yang telah memberikan kritik dan saran untuk perbaikan disertasi ini.
11. Dr.rer.physiol dr. Septelia Inawati Wanandi selaku Ketua Klaster Molecular Biology and Proteomics Core Facilities (MBPCF) IMERI Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia yang telah memberikan ijin sehingga kami dapat melaksanakan penelitian dengan menggunakan fasilitas di Laboratorium ARF untuk penyelesaian disertasi ini.
12. Dr. Puspita Eka Wuyung, MSi., selaku Ketua Laboratorium Animal Research Facilities IMERI Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia beserta staff drh. Mary Ceria dan Elda serta mas Sahrul yang telah banyak membantu kelancaran penelitian untuk penyelesaian disertasi ini.

13. Kepala Laboratorium Patologi Anatomi beserta staff, Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada yang telah banyak membantu kelancaran penelitian untuk penyelesaian disertasi ini.
14. Dr.Hermawan Istiadi selaku Kepala Bagian Departemen Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro yang telah membantu analisa respon patologi.
15. Kepala Pusat Pengembangan Pengujian Obat dan Makanan Nasional, Badan POM yang telah bersedia menyediakan hewan uji untuk penelitian ini.
16. Pemilik dan Penanggungjawab Apotek Estetika dan Apotek Nusantara yang telah banyak membantu dalam pengadaan obat yang diperlukan untuk penelitian ini.
17. Lembaga Pengelola Dana Pendidikan (LPDP) Kementrian Keuangan yang telah mendanai studi dan penelitian ini melalui program beasiswa BUDI-DN Batch I.
18. Bapak Rektor Universitas Wahid Hasyim Semarang, Ibu Dekan Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim Semarang yang telah memberikan ijin tugas belajar, sehingga saya berkesempatan untuk menempuh pendidikan ini dan berkat doa serta harapannya, akhirnya saya dapat menyelesaikan studi ini.
19. Rasa terima kasih yang tak terhingga atas doa, keikhlasan dan dukungan dari keluarga yang senantiasa mendampingi selama perjuangan menempuh pendidikan ini, khususnya teruntuk orangtua tercinta, suami saya Supriyanto, anak-anak saya Kanaya Syifa Qotrunnada dan Nararya Avisenna Wisesa yang selalu bersama dalam suka maupun duka.

20. Semua pihak yang tidak bisa kami sebutkan satu per satu atas semua bantuan dan kerjasamanya selama saya menyelesaikan penelitian ataupun menempuh pendidikan.

Saya menyadari bahwa disertasi ini masih banyak kekurangan, oleh karena itu sumbang saran dari pembimbing dan pembaca akan sangat berguna bagi perbaikan di masa yang akan datang. Semoga Tuhan Yang Maha Esa melimpahkan berkah dan kemurahan-Nya kepada kita semua. Aamiin.

Semarang, 27 Mei 2022

Penulis

Sri Susilowati

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENJELASAN JUDUL.....	ii
HALAMAN PERSETUJUAN.....	iii
PERNYATAAN ORISINALITAS.....	v
HALAMAN EKSTRA	vi
UCAPAN TERIMA KASIH.....	vii
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR GAMBAR.....	xv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvii
DAFTAR SINGKATAN	xviii
GLOSSARY	xxii
ABSTRAK.....	xxiii
ABSTRACT.....	xxiv
RINGKASAN.....	xxv
SUMMARY.....	xlii
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Perumusan Masalah.....	7
C. Orisinalitas.....	10
D. Tujuan Penelitian.....	12
E. Manfaat Penelitian.....	14
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	15

A. Kanker Payudara.....	15
B. Sel T CD8.....	19
C. MDSC.....	21
D. p53.....	26
E. Protein Ki-67.....	27
F. Caspase 3.....	29
G. Adriamisin.....	30
H. Siklofosamid.....	33
I. Tanaman Bit (<i>Beta vulgaris var rubra</i> L).....	35
BAB III. KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS...	39
A. Kerangka teori.....	39
B. Kerangka konsep.....	42
C. Hipotesis.....	44
BAB IV. METODE PENELITIAN.....	47
A. Desain Penelitian.....	47
B. Populasi dan Sampel.....	49
C. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional.....	50
D. Materi Penelitian.....	54
E. Alur Penelitian.....	56
F. Teknik Pengumpulan Data.....	56
G. Analisis Data.....	59
H. Tempat dan Waktu Penelitian.....	61
I. Etika Penelitian.....	61
BAB V. HASIL PENELITIAN.....	62
A. Karakteristik adenokarsinoma mamma tikus yang diinduksi DMBA.....	62
B. Pengaruh penambahan ekstrak bit pada regimen AC terhadap volume	

tumor.....	66
C. Pengaruh penambahan ekstrak bit pada regimen AC terhadap respon patologi.....	68
D. Pengaruh penambahan ekstrak bit pada regimen AC terhadap kadar mRNA CD8.....	69
E. Pengaruh penambahan ekstrak bit pada regimen AC terhadap kadar mRNA CD11b.....	71
F. Pengaruh penambahan ekstrak bit pada regimen AC terhadap kadar mRNA p53.....	72
G. Pengaruh penambahan ekstrak bit pada regimen AC terhadap kadar mRNA Ki-67.....	74
H. Pengaruh penambahan ekstrak bit pada regimen AC terhadap kadar mRNA caspase 3	76
I. Uji korelasi variabel kadar mRNA CD8, CD11b, p53, Ki-67 dan caspase 3 dengan volume tumor.....	77
J. Uji korelasi variabel kadar mRNA CD8, CD11b, p53, Ki-67 dan caspase 3 dengan respon patologi	78
K. Uji multivariat terhadap faktor yang mempengaruhi volume tumor dan respon patologi	79
L. Pembahasan	82
BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN.....	94
A. Kesimpulan Umum.....	94
B. Kesimpulan Khusus.....	94
C. Saran.....	96
DAFTAR PUSTAKA.....	97
LAMPIRAN.....	105

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1.1. Publikasi Ilmiah Hasil Penelitian Umbi Bit.....	10
Tabel 4.1. Definisi operasional variabel penelitian.....	51
Tabel 5.1. Karakteristik dasar populasi penelitian.....	64
Tabel 5.2. Kriteria RECIST untuk respon tumor	68
Tabel 5.3. Hasil evaluasi respon tumor berdasar kriteria RECIST.....	68
Tabel 5.4. Hasil evaluasi respon patologi.....	69
Tabel 5.5. Ringkasan hasil uji korelasi terhadap variabel tergantung volume tumor relatif pada akhir pengamatan	78
Tabel 5.6. Ringkasan hasil uji korelasi terhadap variabel respon patologi	79
Tabel 5.7. Ringkasan analisis regresi linier berganda terhadap variabel tergantung volume tumor relatif pada akhir pengamatan	80
Tabel 5.8. Ringkasan matriks korelasi antar variabel terhadap respon patologi.....	81
Tabel 5.9 Hasil Uji bivariate (Chi-square) pengaruh perlakuan terhadap respon patologi	81

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2. 1. Aktivasi-deaktivasi limfosit T sitotoksik CD8 (CTL) pada kanker.....	20
Gambar 2.2. Tahapan diferensiasi myelopoiesis pada kanker.....	22
Gambar 2.3. Skema rekrutmen dan peran MDSC dalam perkembangan kanker dan penyebaran metastasis.....	24
Gambar 2.4. P53 mengaktifkan banyak proses efektor seluler.....	27
Gambar 2.5. Struktur kimia Doksorubisin.....	31
Gambar 2.6. Tanaman dan Umbi Bit merah.....	36
Gambar 3.1. Kerangka Teori.....	43
Gambar 3.2. Kerangka Konsep.....	44
Gambar 4.1. Desain Penelitian.....	48
Gambar 4.2. Alur Penelitian.....	57
Gambar 5.1. CONSORT penelitian.....	63
Gambar 5.2. Gambaran mikroskopis adenokarsinoma mamma tikus yang diinduksi DMBA.....	65
Gambar 5.3. Grafik perbedaan perkembangan volume tumor (rerata \pm SD) antar kelompok perlakuan pada setiap minggu pengamatan.....	67
Gambar 5.4. Boxplot rerata peringkat kadar mRNA CD8 dari kelompok kontrol negatif (C1), kontrol AC saja (C2), AC ditambah ekstrak bit dosis 25 mg/kg BB (P1) dan AC ditambah ekstrak bit dosis 100 mg/kg BB (P2).....	70
Gambar 5.5. Boxplot rerata peringkat kadar mRNA CD11b dari kelompok kontrol negatif (C1), kontrol AC saja (C2), AC ditambah ekstrak bit dosis 25 mg/kg BB (P1) dan AC ditambah ekstrak bit dosis 100	

	mg/kg BB (P2).....	72
Gambar 5.6.	Boxplot rerata kadar mRNA p53 dari kelompok kontrol negatif (C1), kontrol AC saja (C2), AC ditambah ekstrak bit dosis 25 mg/kg BB (P1) dan AC ditambah ekstrak bit dosis 100 mg/kg BB (P2).....	73
Gambar 5.7.	Boxplot rerata peringkat kadar mRNA Ki-67 dari kelompok kontrol negatif (C1), kontrol AC saja (C2), AC ditambah ekstrak bit dosis 25 mg/kg BB (P1) dan AC ditambah ekstrak bit dosis 100 mg/kg BB (P2).....	75
Gambar 5.8.	Boxplot rerata peringkat kadar mRNA caspase 3 dari kelompok kontrol negatif (C1), kontrol AC saja (C2), AC ditambah ekstrak bit dosis 25 mg/kg BB (P1) dan AC ditambah ekstrak bit dosis 100 mg/kg BB (P2).	77

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. <i>Ethical Clearence</i>	105
Lampiran 2. Surat keterangan produk ekstrak bit (CoA, MSDS, material origin)..	106
Lampiran 3. Perhitungan konversi dosis adriamisin dan siklofosamid (AC) dari manusia ke mencit.....	112
Lampiran 4. Data perkembangan berat badan tikus sejak pertama intervensi sampai akhir pengamatan.....	113
Lampiran 5. Data perkembangan volume tumor sejak awal intervensi sampai dengan akhir pengamatan dan data berat tumor pada akhir pengamatan.....	114
Lampiran 6. Data perkembangan volume tumor relatif tiap minggu pengamatan...	115
Lampiran 7. Data perhitungan penurunan volume tumor dan penentuan kriteria RECIST.....	116
Lampiran 8. Data pengamatan qRT-PCR terhadap kadar mRNA CD8,CD11b,p53, Ki-67 dan caspase 3.....	117
Lampiran 9. Data pembacaan respon patologi	118
Lampiran 10. Gambaran perkembangan berat badan tikus, gambaran makroskopis dan mikroskopis adenokarsinoma mamma tikus yang diinduksi DMBA.....	119
Lampiran 11. Hasil analisa statistik.....	120

DAFTAR SINGKATAN

AC	: <i>Adriamycin Cyclophosphamide</i>
APC	: <i>Antigen Presenting Cell</i>
APAF1	: <i>Apoptotic Protease Activating Factor 1</i>
BAX	: <i>Bcl-2-associated X protein</i>
BAD	: <i>BCL2 - associated agonist of cell death</i>
bFGF	: <i>basic Fibroblast Growth Factor</i>
BCS	: <i>Breast Conserving Surgery</i>
COX-2	: <i>Cyclooxygenase</i>
CMP	: <i>Common Myeloid Progenitor</i>
CD8	: <i>Cluster Differentiation 8</i>
CDK4	: <i>Cyclin-Dependent Kinase 4</i>
DC	: <i>Dendritic Cell</i>
DMBA	: <i>7,12-dimetil benz-(α) antrasena</i>
DCIS	: <i>Ductal Carcinoma In Situ</i>
EBC	: <i>Early Breast Cancer</i>
EBCTCG	: <i>The Early Breast Cancer Trialist Collaborative Group</i>
ER	: <i>Estrogen Receptor</i>
EMT	: <i>Epithelial-Mesenchymal-Transition</i>
FADD	: <i>FAS-Associated Death Domain</i>

GM-CSF	: <i>Granulocyte Macrophage- Colony Stimulating Factor</i>
G-CSF	: <i>Granulocyte colony-stimulating factor</i>
HER-2	: <i>Human Epidermal Growth Factor Receptor 2</i>
IL-6	: <i>Interleukin-6</i>
IL-8	: <i>Interleukin-8</i>
IL-1 β	: <i>Interleukin-1Beta</i>
IFN- γ	: <i>Interferon gamma</i>
IDO	: <i>Indole Amine 2,3 Dioxygenase</i>
LABC	: <i>Locally Advanced Breast Cancer</i>
LCIS	: <i>Lobular Carcinoma In Situ</i>
LOX	: <i>Lipoxygenase</i>
MDSC	: <i>Myeloid Derived Suppressor Cells</i>
M-MDSC	: <i>Monocytic - Myeloid Derived Suppressor Cells</i>
M-CSF	: <i>Macrophage Colony - Stimulating Factor</i>
MCF-7	: <i>Michigan Cancer Foundation-7</i>
MPT	: <i>Mitochondrial Permeability Transition</i>
MDM2	: <i>Mouse double minute 2 homolog</i>
NAC	: <i>Neoadjuvant Chemotherapy</i>
NF- κ B	: <i>Nuclear Factor-kappa B</i>
NO	: <i>Nitric oxide</i>
OS	: <i>Overall Survival</i>
PAH	: <i>Polycyclic Aromatic Hydrocarbon</i>

PFS	: <i>Progression Free Survival</i>
PD	: <i>Progressive Disease</i>
pCR	: <i>pathologic Complete Response</i>
PaCa	: <i>Pancreatic Cancer</i>
PGE2	: <i>Prostaglandin E₂</i>
PMN-MDSC	: <i>Polymorphonuclear Neutrophil - Myeloid Derived Suppressor Cells</i>
PR	: <i>Progesteron Receptor</i>
PUMA	: <i>p53 upregulated modulator of apoptosis</i>
RECIST	: <i>Response Evaluation Criteria In Solid Tumors</i>
RFS	: <i>Relapse Free Survival</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
SD	: <i>Stable Disease</i>
STAT	: <i>Signal transducer and activator of transcription</i>
TNBC	: <i>Triple Negative Breast Cancer</i>
TME	: <i>Tumor Micro Environment</i>
TIL	: <i>Tumor Infiltrating Lymphocyte</i>
TNF- α	: <i>Tumor Necrosis Factor- Alpha</i>
TRADD	: <i>Tumor Necrosis Factor Receptor (TNFR)-Associated Death Domain</i>
TCR	: <i>T Cell Receptor</i>
TAM	: <i>Tumor-Associated Macrophage</i>
TAN	: <i>Tumor-Associated Neutrophil</i>
TNM	: <i>Tumor, Lymph Node, Metastase</i>

TGF β : *Transforming Growth Factor Beta*

TRAILR4 : *Tumor Necrosis Factor (TNF)-Related Apoptosis Inducing Ligand*

VEGF : *Vascular Endothelial Growth Factor*

GLOSSARY

Respon imun	: adalah reaksi sel imun terhadap antigen atau rangsangan benda asing yang masuk ke dalam tubuh seperti virus, bakteri atau sel kanker.
Proliferasi	: pertumbuhan dan pertambahan sel yang sangat cepat karena adanya abnormalitas sel.
Apoptosis	: adalah kematian sel yang terprogram. Apoptosis merupakan salah satu strategi untuk menghambat pertumbuhan atau menghilangkan sel kanker.
Volume tumor	: adalah ukuran tumor yang dihitung berdasarkan diameter tumor terpanjang dan terpendek. Pengamatan volume tumor sebelum dan sesudah terapi dapat digunakan untuk menilai pertumbuhan tumor secara klinik.
Respon patologi	: merupakan respon tumor yang dinilai berdasarkan tingkat (skoring) regresi tumor (TRG 1-5) dari penilaian proporsi fibrosis terhadap sel tumor pada preparat irisan jaringan dengan pewarnaan H&E.
CD8	: adalah suatu marker yang menggambarkan subset dari limfosit sel T, merupakan sel imun adaptif yang lebih disukai untuk target kanker karena berfungsi sitolitik dan menekan pertumbuhan tumor.
CD11b	: adalah suatu marker yang dapat menggambarkan ekspresi MDSC pada tikus. MDSC adalah sel <i>myeloid immature</i> yang berperan dalam pertumbuhan tumor.
P53	: adalah protein penekan tumor, merupakan faktor transkripsi yang merespon berbagai macam stress dari luar, berperan dalam menjaga kerusakan DNA, menghambat pembelahan sel melalui penundaan siklus sel dan apoptosis.
Ki-67	: merupakan protein non histon dan marker dari proliferasi sel, berkorelasi dengan pencapaian <i>pathologic complete response</i> pada kemoterapi <i>neoadjuvant</i> .
Caspase 3	: adalah suatu protease asam sistein-aspartat memiliki peran penting dalam jalur signaling apoptosis. Caspase 3 merupakan salah satu protein eksekutor dalam proses apoptosis, selain caspase 6 dan 7.
Ekstrak bit	: Produk yang dibuat dari hasil ekstraksi bagian tanaman <i>Beta vulgaris var.rubra</i> L yaitu umbi atau akarnya. Dideskripsikan sebagai ekstrak bit merah yang diencerkan dengan Dextrin diasamkan dengan asam sitrat, pH 5,4 dan distabilisasi dengan asam askorbat. Ekstrak bit mengandung pigmen <i>betacyanin</i> dan <i>betaxanthin</i> dengan konsentrasi sangat bervariasi, masing masing antara 0,04-0,21% dan 0,02-0,14%.

Abstrak

Latar belakang: Kemoterapi berbasis antrasiklin, salah satunya regimen adriamisin siklofosfamid (AC) merupakan terapi standar yang masih digunakan pada pasien dengan kanker payudara dini atau stadium lanjut lokal. Respon patologi lengkap dari regimen AC masih rendah. Ekstrak bit terbukti memiliki aktivitas sitotoksik dan imunomodulator. Penambahan ekstrak bit sebagai terapi integrasi dapat bermanfaat meningkatkan respon terapi AC.

Tujuan penelitian: membuktikan pengaruh penambahan ekstrak bit terhadap respon terapi regimen AC pada tikus adenokarsinoma mamma melalui petanda volume tumor, respon patologi, respon imun dalam lingkungan mikro tumor (TME) (CD8;CD11b), aktivitas proliferasi (Ki-67) dan apoptosis (p53;caspase 3).

Metode penelitian: Rancangan penelitian ini *Randomized Post-test Only Control Group Design*. Dua puluh empat tikus yang berhasil tumbuh adenokarsinoma mamma setelah induksi DMBA dibagi menjadi 4 kelompok yaitu kontrol negatif, kontrol AC, AC ditambah ekstrak bit masing-masing dosis 25 dan 100 mg/kg BB. Regimen AC diberikan 4 siklus, seminggu sekali, secara intraperitoneal dengan dosis adriamisin 5 mg/kg BB dan siklofosfamid 50 mg/kg BB. Ekstrak bit diberikan 3 kali seminggu secara peroral. Volume tumor diamati seminggu sekali selama 4 minggu. Pemeriksaan respon patologi, kadar mRNA CD8, CD11b, p53, Ki-67 dan caspase 3 dilakukan terhadap jaringan tumor yang diambil pada akhir pengamatan.

Hasil: Penambahan ekstrak bit dosis 100 mg/kg BB pada regimen AC menyebabkan volume tumor lebih kecil ($p < 0,05$) dan respon patologi lebih baik dengan nilai OR 0,412 (CI 95% = 0,233 – 0,727). Selain itu, penambahan ekstrak bit dosis 100 mg/kg BB menyebabkan kadar mRNA CD8, p53 dan caspase 3 menjadi lebih tinggi ($p < 0,05$) dan kadar mRNA CD11b dan Ki-67 lebih rendah ($p < 0,05$).

Kesimpulan: Penambahan ekstrak bit dosis 100 mg/kg BB dapat meningkatkan respon terapi regimen AC. Ekstrak bit terbukti berperan dalam meningkatkan respon imun dalam TME, menghambat proliferasi dan meningkatkan apoptosis.

Kata kunci : bit, adriamisin, siklofosfamid, volume tumor, respon patologi, CD8, CD11b, p53, Ki-67, caspase 3, lingkungan mikro tumor

Abstract

Background :

Anthracycline-based regimen, for example adriamycin-cyclophosphamide (AC), is the standard adjuvant or neoadjuvant treatment for majority of patients with early or locally advanced breast cancer. AC regimen has a low complete pathological response. It has been known that beetroot extract has a cytotoxic and immunomodulatory activity. The addition of beetroot extract to AC regimen may increase the effectivity of AC regimen.

Objective :

This study aims to proved whether the adding of the beetroot extract to AC regimen will increase the effectivity of anti-tumor. We measured tumor volume, pathological response, markers of immune response in the tumor microenvironment (TME) (CD8; CD11b), proliferative activity (Ki-67) and apoptosis (p53; caspase3).

Methods :

This research design was Randomized Post-test Only Control Group Design. Twenty-four rats that successfully grew mammary adenocarcinoma after DMBA induction with tumor volume above 500 mm³ were divided into 4 groups, namely negative control, AC only control, AC plus beetroot extract at doses of 25 and 100 mg/kg BW, respectively. The Adriamycin at a dose of 5 mg/kg BW and Cyclophosphamide at a dose of 50 mg/kg BB was given 4 cycles, once a week, intraperitoneally. Beetroot extract was given orally 3 times a week. Tumor volume was observed once a week for 4 weeks. Pathological response examination, mRNA levels of CD8, CD11b, p53, Ki-67 and caspase 3 were performed on tumor tissue taken at the end of the observation.

Results :

The addition of beetroot extract at a dose of 100 mg/kg BW to the AC regimen yielded a greater decrease of tumor volume and a better pathological response with value of OR 0.412 (CI 95% = 0.233 – 0.727). Furthermore, supplementation of beetroot extract at a dose of 100 mg/kg BW expressed a higher level of CD8, p53 and caspase 3 and a lower level of CD11b and Ki-67 ($p < 0.05$).

Conclusion :

The addition of beetroot extract at a dose of 100 mg/kg BW increased the effectivity of AC regimen. Beetroot extract has been shown to play a role in enhancing the immune response in TME, inhibiting proliferation and increasing apoptosis.

Key words: bit, adriamycin, cyclophosphamide, tumor volume, pathological response, CD8, CD11b, p53, Ki-67, caspase 3, tumor microenvironment