

**PENGARUH EKSTRAK *PHALERIA MACROCARPA*,
KEMOTERAPI PACLITAXEL-CISPLATIN DAN
KOMBINASI KEDUANYA TERHADAP
EKSPRESI NF- KB DAN P53 KARSINOMA
EPIDERMOID**

Studi Eksperimental In Vivo Pada Mencit Swiss



Tesis

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

Magister Ilmu Biomedik

Sukri Fitrizan

22010112410020

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2015**

TESIS
PENGARUH EKSTRAK PHALERIA MACROCARPA,
KEMOTERAPI PACLITAXEL-CISPLATIN DAN
KOMBINASI KEDUANYA TERHADAP
EKSPRESI NF- KB DAN P53 KARSINOMA
EPIDERMOID

Studi Eksperimental In Vivo Pada Mencit Swiss

disusun oleh :

Sukri Fitrizan
NIM: 22010112410020

Menyetujui

Komisi pembimbing

Pembimbing I

Pembimbing II

Dr. M. Thohar Arifin, SpBS PhD.
NIP: 197404141999031013

Dr. Djoko Handojo, Msi. Med, Sp.B, Sp.B(K)Onk
NIP: 194811191978021001

Mengetahui,
Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik
Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

Dr.dr. RA Kisdjamiatun, Msc
NIP: 196401301990032001

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan didalamnya 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

Sukri Fitrizan

DAFTAR RIWAYAT HIDUP

A. Identitas

Nama : Sukri Fitrizan
NIM Magister Biomedik : 22010112410020
Tempat / Tgl Lahir : Pekanbaru, 11 Agustus 1981
Agama : Islam
Jenis kelamin : Laki-laki

B. Riwayat Pendidikan

1. SD 002 Pekanbaru : Lulus tahun 1993
2. SLTP 1 Pekanbaru : Lulus tahun 1996
3. SMUN 8 Pekanbaru : Lulus tahun 1999
4. FK Univ YARSI Jakarta : Lulus tahun 2007
5. PPDS Ilmu Bedah FK UNDIP : 2012 – Sekarang
6. Magister Ilmu Biomedik UNDIP : 2012 – Sekarang

C. Riwayat Pekerjaan

1. Tahun 2007 – 2009 : Dokter PTT Puskesmas Kecamatan Bengkalis, Kabupaten Bengkalis, Provinsi RIAU.
2. Tahun 2009 – Sekarang : PNS UPTD Kesehatan Puskesmas Kecamatan Bengkalis, Kabupaten Bengkalis, Provinsi RIAU

D. Riwayat Keluarga

1. Nama Orang Tua
Ayah : Bachzar
Ibu : Yanizar Zainal
2. Nama Istri : Rosfanty

KATA PENGANTAR

Puji syukur kami panjatkan ke hadirat Tuhan YME yang telah memberikan rahmat dan berkah-Nya, sehingga kami dapat menyelesaikan tesis yang berjudul “PENGARUH EKSTRAK *PHALERIA MACROCARPA*, KEMOTERAPI PACLITAXEL-CISPLATIN DAN KOMBINASI KEDUANYA TERHADAP EKSPRESI NF- KB DAN P53 KARSINOMA EPIDERMOID”.

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 sampaikan ucapan terimakasih dan penghargaan yang sebesar-besarnya kepada :

1. Prof. Dr. Yos Johan, SH, Mhum selaku Rektor Universitas Diponegoro, Semarang.
2. Prof. Dr. dr. Tri Nur Kristina, DMM, MKes selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Semarang.
3. 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.

4. 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, dorongan dan bimbingan sehingga tesis ini dapat diselesaikan.
5. dr. Djoko Handojo, Sp.B, Sp.B(K)Onk, Msi. Med, guru sekaligus pembimbing I dalam penelitian ini, atas segala waktu, tenaga dan bimbingan yang diberikan sehingga tesis ini dapat selesai.
6. dr. M. Thohar Arifin, SpBS PhD, guru sekaligus pembimbing II dalam penelitian ini, atas segala waktu, tenaga dan bimbingan yang diberikan sehingga tesis ini dapat selesai.
7. Kepada guru-guru kami, staf pengajar Bagian Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
8. Guru – guru Program Studi Magister Ilmu Biomedik Program Pasca Sarjana Universitas Diponegoro yang telah memberikan pengetahuan dan bimbingan kepada kami serta memberikan motivasi selama mengikuti program pendidikan magister dan penyusunan tesis ini.
9. Orang tua kami Bapak Bachzar dan Ibu Yanizar Zainal atas dukungan dan doanya dalam menyelesaikan tesis ini.

10. Istri kami Rosfanty atas dukungan dan doanya dalam menyelesaikan tesis ini.

11. Semua rekan sejawat Residen Bagian Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro yang telah membantu kami selama dalam penelitian hingga penyusunan tesis.

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

Sukri Fitrizan

DAFTAR ISI

	Halaman
JUDUL.....	i
LEMBAR PENGESAHAN.....	ii
LEMBAR MONITORING.....	iii
ABSTRAK.....	iv
DAFTAR RIWAYAT HIDUP.....	v
SURAT PERNYATAAN.....	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR GAMBAR.....	ix
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR SINGKATAN.....	xi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
I.1. LATAR BELAKANG.....	1
I.2. PERUMUSAN MASALAH	
I.2.1. Perumusan masalah umum.....	4
I.2.2. Perumusan masalah khusus.....	4
I.3. TUJUAN PENELITIAN	
I.3.1. Tujuan Umum.....	5
I.3.2. Tujuan Khusus.....	5
I.4. MANFAAT PENELITIAN.....	6

I.5. ORISINALITAS PENELITIAN.....	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
II.1. TINJAUAN UMUM KARSINOMA.....	12
II.2. KARSINOMA EPIDERMOID.....	32
II.3. PROTEIN p53 SEBAGAI GEN SUPRESOR TUMOR.....	44
II.4. EKSPRESI NF- κ B.....	48
II.5. KEMOTERAPI.....	54
II.6. PERAN PACLITAXEL-CISPLATIN SEBAGAI KEMOTERAPI <i>NEOADJUVANT</i> PADA KARSINOMA EPIDERMOID KULIT.....	60
II.7. <i>Phaleria macrocarpa</i> (MAHKOTA DEWA) SEBAGAI <i>NEOADJUVANT</i> PADA KARSINOMA EPIDERMOID KULIT.....	71
BAB III KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, HIPOTESIS.....	
III.1. KERANGKA TEORI.....	77
III.2. KERANGKA KONSEPSIONAL.....	78
III.3. HIPOTESIS PENELITIAN.....	78
BAB IV METODE PENELITIAN.....	
IV.1. Rancangan Penelitian.....	79
IV.2. Populasi dan sampel.....	80
IV.2.1. Populasi.....	80

IV.2.2. Sampel.....	80
IV.3. Waktu dan lokasi penelitian.....	82
IV.4. Variabel Penelitian.....	82
IV.4.1. Variabel bebas.....	82
IV.4.2. Variabel tergantung.....	82
IV.5. Definisi operasional.....	83
IV.6. Bahan dan Alat Penelitian.....	85
IV.7. Skema penelitian.....	87
IV.8. Prosedur Pemeriksaan Tumor.....	88
IV.9. Analisis Data.....	89
IV.10. Persyaratan etik.....	90
BAB V HASIL PENELITIAN.....	91
V.1. Ekspresi p53.....	93
V.2. Ekspresi NF- κ B	97
V.3. Uji korelasi antara Ekspresi p53 dan Ekspresi NF- κ B	100
BAB VI PEMBAHASAN.....	101
BAB VII KESIMPULAN dan SARAN.....	110
VII.1. Kesimpulan.....	110
V.2. Saran	110
ETHICAL CLEARANCE	
DAFTAR PUSTAK	

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Siklus sel dan <i>checkpoints</i>	14
Gambar 2. Kontrol terhadap perkembangan sel <i>Cyclin</i> - CDK.....	16
Gambar 3. Skema sederhana dasar molekular penyakit kanker.....	18
Gambar 4. Enam tanda utama kanker.....	18
Gambar 5. Peran p53 pada apoptosis.....	31
Gambar 6. Salah satu jalur model apoptosis.....	31
Gambar 7. Stadium TNM pada karsinoma epidermoid.....	36
Gambar 8. p53 mutant berakumulasi dalam sel.....	46
Gambar 9. Komponen jalur sinyal p53.....	47
Gambar 10. Aktivasi NF- κ B dengan jalur alternatif dan jalur klasik.....	50
Gambar 11. Regulasi faktor transkripsi NF- κ B.....	53
Gambar 12. Jalur Aktivasi NF- κ B.....	54
Gambar 13. Mekanisme kerja dari rejimen kemoterapi.....	57
Gambar 14. Siklus sel dan hubungan obat antitumor.....	60
Gambar 15. Bentuk-bentuk ikatan antara cisplatin dengan DNA.....	62
Gambar 16. Foto mikroskop elektron.....	64
Gambar 17. Buah mahkota dewa.....	71
Gambar 18. Diagram skematik hasil penelitian.....	92
Gambar 19. Pemeliharaan mencit swiss pada penelitian.....	93
Gambar 20. Foto mencit swiss yang sudah di induksi tumor.....	93

Gambar 21. Sel tumor terwarnai pada inti sel < 5%=skor 1.....	94
Gambar 22. Sel tumor terwarnai pada inti sel antara 5-50%=skor2.....	94
Gambar 23. Sel tumor terwarnai pada inti sel > 50%=skor 3.....	94
Gambar 24. Distribusi jumlah sel tumor dengan reaksi positif terhadap antibodi monoklonal p53 setelah perlakuan dalam 500 sel tumor pada masing-masing kelompok mencit (pembesaran 400x).....	.95
Gambar 25. Ekspresi NF-κB dengan nilai <i>Extent</i> = 1 dan <i>Intensity</i> = 1.....	98
Gambar 26. Ekspresi NF-κB dengan nilai <i>Extent</i> = 2 dan <i>Intensity</i> = 2.....	98
Gambar 27. Ekspresi NF-κB dengan nilai <i>Extent</i> = 3 dan <i>Intensity</i> = 3.....	98
Gambar 28. Ekspresi NF-κB pada masing-masing kelompok mencit (pembesaran 200x).....	99

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Spektrum mutasi gen p53.....	45
Tabel 2. Jumlah sel tumor dengan reaksi positif terhadap antibodi monoklonal p53 setelah perlakuan dalam 500 sel tumor pada masing-masing kelompok mencit (pembesaran 400x).....	95
Tabel 3. Ekspresi p53 setelah perlakuan pada masing-masing kelompok mencit.....	96
Tabel 4. Uji Mann-Whitney ekspresi p53 setelah perlakuan pada masing-masing kelompok mencit	96
Tabel 5. Skor <i>extent of staining</i> (E) dan <i>intensity of staining</i> (I).....	97
Tabel 6. Ekspresi NF- κ B setelah perlakuan pada masing-masing kelompok mencit.....	99
Tabel 7. Uji <i>Mann-Whitney</i> ekspresi NF- κ B setelah perlakuan pada masing-masing kelompok mencit.....	100

DAFTAR SINGKATAN

Akt	protein kinase
ATP	Adenosine tri phosphate
Bak	B cell lymphoma 2 antagonist/killer
Bax	Bcl-2 associated x protein
BSA	body surface area
Ca	carcinoma
CDKs	cyclin dependent kinase
CDKi	cyclin dependent kinase inhibitor
CTL	cytotoxic T lymphocytes
CPK2	cystein protein kinase-2
DMBA	9, 12-dimethyl-1,2-benzanthracene
DNA	deoxyribonucleic acid
E2F	essential-2 factor (faktor transkripsi)
EGF	epidermal growth factor
Erk	extracellular signal regulated kinase

GA	gallic Acid
GDP	guanine diphosphate
GF	growth factor
Grb2	growth receptor binding 2
GTP	guanine triphosphate
HE	hematoxylin eosin
HPV	human papilloma virus
IFN	interferon
IL	interleukin
IGF	insulin like growth factor
kD	kilodalton
MPF	M-phase promoting factor
MAPK	Mitogen activated protein kinase
MAPKK	Mitogen activated protein kinase kinase
MEK	MAPK ERK kinase
Myc	myelocytoma (protoonkogen)

MT	mutasi
NER	nuclear excision repair
NES	nuclear export signal
NF-kB	nuclear factor kappa B
NK	Natural Killer
PDGF	platelet derived growth factor receptor
FGR	fibroblast growth factor receptor
p53	protein 53
PM	Phaleria macrocarpa
p-Rb	protein retinoblastoma (tumor supressor gen)
RAS	Rat sarcom
RTKs	receptor tyrosine kinase
SPF	S-phase promoting factor
SH2	Src homology 2
SH3	Src homology 3
SOS	son of sevenless

TNF	tumor necrosis factor
TNM	tumor nodul metastasis
TPA	12-o-tetradecanoylphorbol-13-acetate
TCR	T cell receptor
UV	ultraviolet
WHO	World Health Organization

ABSTRAK

Pendahuluan : Ekstrak Mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa/PM*) memiliki potensi sebagai anti oksidan dan sitostatika. *PM* secara klinis dapat menurunkan ekspresi NF- κ B sekaligus meningkatkan tumor supresor p53. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui adanya pengaruh dan perbedaan ekspresi NF- κ B dan ekspresi p53 pada tiap kelompok perlakuan mencit Swiss dengan karsinoma epidermoid dan untuk menganalisa korelasi antara ekspresi NF- κ B dan ekspresi p53.

Metode : Penelitian dilakukan pada 12 mencit Swiss, yang dilakukan randomisasi post test dikelompokkan menjadi empat kelompok. Kelompok pertama adalah kelompok kontrol, kelompok ke-2 mendapatkan *PM* 0,0715 mg(0,36 ml)/hari, kelompok ke-3 mendapatkan paclitaxel 175 mg/m² dan cisplatin 50 mg/m² dan kelompok ke-4 mendapatkan *PM* 0,0715 mg(0,36 ml)/hari dikombinasi dengan paclitaxel 175 mg/m² dan cisplatin 50 mg/m². Keseluruhan mencit telah diinduksi karsinoma epidermoid menggunakan 9, 12-dimethyl-1,2-benzanthracene (DMBA) dan 12-o-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA) secara topikal. Ekspresi NF- κ B (EI) dihitung dengan rumus *Extent of staining* (E) x *Intensity of staining* (I). Ekspresi p53 dihitung jumlah sel tumor yang ekspresinya positif pada 500 sel tumor yang dibagi dalam 5 LPB. Ini dilakukan setelah perlakuan selama 9 minggu. Perbedaan diantara 4 grup dianalisis dengan uji *Kruskal Wallis* dan uji post hoc *Man-Whitney*. Untuk menganalisa korelasi antara ekspresi NF- κ B dan ekspresi p53 menggunakan uji korelasi *Spearman*.

Hasil : Ada perbedaan yang signifikan pada penurunan ekspresi NF- κ B antara 4 kelompok; dimana perbedaan yang signifikan antara 2 kelompok yang ditemukan pada perbandingan kelompok kontrol dengan kelompok-4 dan kelompok-2 dengan kelompok 4 ($p < 0,05$, masing-masing). Ada perbedaan yang signifikan meningkat pada ekspresi p53 antara 4 kelompok; dimana perbedaan yang signifikan antara 2 kelompok yang ditemukan pada perbandingan kelompok kontrol dengan semua kelompok lain dan antara kelompok-4 dengan semua kelompok lain ($p < 0,05$, masing-masing). Ada korelasi negatif yang sangat kuat antara NF- κ B dan ekspresi p53 ($p < 0,05$; $r = -0.826$).

Kesimpulan : Kombinasi *PM* dan kemoterapi paclitaxel-cisplatin secara signifikan dapat menurunkan ekspresi NF- κ B dan meningkatkan ekspresi p53 karsinoma epidermoid pada mencit Swiss.

Kata kunci : *Phaleria macrocarpa*, ekspresi p53 dan ekspresi NF- κ B, karsinoma epidermoid.

ABSTRACT

Background : Extract of *Phaleria macrocarpa* (Mahkota dewa) has antioxidant and cytostatic potential effect. *Phaleria macrocarpa* clinically can decrease the expression of NF- κ B as well as increasing p53 tumor supresor. The aim of this study was to investigate the influence and differences in the expression of NF- κ B and p53 expression in each treatment group of swiss mices with epidermoid carcinoma and to analyze the correlation between the expression of NF- κ B and the expression of p53.

Material and Method : A randomized post test only control group design on 12 Swiss mices were divided into 4 groups. The first group is control group, group-2 was given 0,0715 mg (0,36 ml) *Phaleria macrocarpa* extract/day, group-3 was given paclitaxel 175 mg/m² and cisplatin 50 mg/m², and group 4 was the combination of *Phaleria macrocarpa* extract and cytostatics (paclitaxel and cisplatin). All mice were inducted for epidermoid carcinoma with 9, 12-dimethyl-1,2-benzanthracene (DMBA) and 12-o-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA) topically. NF- κ B expression (EI) was scored with the equation of extent of staining (E) times intensity of staining (I). p53 expresiion was scored by the number of positive tumor cell out of 500 tumor cells from 5 high power field. Scoring was done after 9 weeks of treatment. Difference between 4 groups were analyzed with Kruskal Wallis test and psot hoc Man-Whitney test, while the correlation between NF- κ B and p53 expression was analyzed using Spearman test.

Results : There is a significant difference on NF- κ B expression decrease between 4 groups; where the significant difference between 2 groups were found on the comparison of control group with group 4 and group 2 with group 4 ($p < 0,05$; each). There is a significant difference on p53 expression increase between 4 groups; where the significant difference between 2 groups were found on the comparison of control group with all other groups and among groups 4 with all other groups ($p < 0,05$; each). There is a very strong negative correlation between NF- κ B and p53 expression ($p < 0,05$; $r = -0,826$).

Conclusion : Combination of *Phaleria macrocarpa* and paclitaxel-cisplatin significantly decreases the NF- κ B expression and increases the p53 expression in the epidermoid carcinoma cells in Swiss mices.

Key words : *Phaleria macrocarpa*, p53 exspression, NF- κ B expression, epidermoid carcinoma.