

**PENGARUH EKSTRAK *PHALERIA MACROCARPA*
TERHADAP EKSPRESI IL 12 DAN EKSPRESI
GRANZIME PADA KARSINOMA EPIDERMOID**

**Studi Eksperimental In Vivo Pada Mencit Swiss Yang Diberi
Neoadjuvant Paclitaxel dan Cisplatin**

***The Effects of Phaleria macrocarpa Extract on IL 12
expression and Granzyme expression on Epidermoid
Carcinoma
of Swiss Mice***

***In vivo experimental study in Swiss mice which given
neoadjuvant paclitaxel and cysplatin***



TESIS

Untuk memenuhi sebagian persyaratan mencapai derajat Sarjana S2

Magister Ilmu Biomedik

Ferdi Wiweko Ardianto

22010111400070

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS DIPONEGORO SEMARANG

2015

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 plagiarisme sebagaimana dimaksud dalam Permendiknas No.17 Tahun 2010. Pengetahuan yang diperoleh dari hasil penerbitan maupun yang belum/tidak diterbitkan, sumbernya dijelaskan di dalam tulisan dan daftar pustaka.

Semarang, Oktober 2015

Ferdi Wiweko Ardianto

RIWAYAT HIDUP

A. IDENTITAS

Nama : dr. Ferdi Wiweko Ardianto
NIM : 22010111400070
Tempat/Tanggal lahir : Jakarta, 17 Maret 1983
Agama : Islam
Jenis Kelamin : Laki-laki

B. RIWAYAT PENDIDIKAN

1. SDN 01 Jakarta : Lulus tahun 1994
2. SMPN 161 Jakarta : Lulus tahun 1997
3. SMUN 86 Jakarta : Lulus tahun 2000
4. FK Universitas Pembangunan Nasional Jakarta : Lulus tahun 2008
5. PPDS I Bedah FK UNDIP Semarang
6. Magister Ilmu Biomedik Pascasarjana UNDIP Semarang

KATA PENGANTAR

Puji syukur saya panjatkan pada Allah SWT atas rahmat dan karunia-Nya, sehingga saya dapat menyelesaikan karya ilmiah akhir dengan judul:

“PENGARUH EKSTRAK *PHALERIA MACROCARPA* TERHADAP EKSPRESI IL-12 DAN EKSPRESI GRANZIME PADA KARSINOMA EPIDERMOID”

Studi Eksperimental In Vivo Pada Mencit Swiss Yang Diberi Neoadjuvant Paclitaxel dan Cisplatin

Penelitian ini diajukan salah satu syarat untuk memperoleh gelar derajat sarjana S2 Ilmu Biomedik Program Pasca Sarjana. Saya berharap penelitian ini dapat memberikan kontribusi terhadap perkembangan ilmu bedah dan ilmu biomedik.

Dalam kesempatan baik ini, saya menyampaikan ucapan terima kasih dan penghargaan yang sebesar-besarnya kepada :

1. Prof. Sudharto P, MES, PhD, Rektor Universitas Diponegoro Semarang.
2. dr. Endang Ambarwati, SpRM(K), Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang.
3. Prof. Dr. dr. Anies. MKes, PKK, Ketua Program Pasca Sarjana Universitas Diponegoro Semarang
4. dr. A.Zulfa Juniarto, M.Si.Med, Sp.And, PhD Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik Program Pasca Sarjana Universitas Diponegoro Semarang.

5. dr. Djoko Handoyo SpB, SpB(K)Onk, selaku pembimbing I yang telah memberikan semua bimbingan, sumbangan pikiran, waktu, tenaga, dan perhatian dalam penyusunan tesis ini.
6. dr. M. Thohar Arifin SpBS PhD, selaku pembimbing II dan guru yang telah memberikan semua bimbingan, sumbangan pikiran, waktu, tenaga, dan perhatian sehingga tesis ini dapat terselesaikan..
7. Prof. Dr. dr. Suprihati, MSc, SpTHT-KL(K), Ketua Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran UNDIP/RSUP Dr.Kariadi Semarang.
8. dr. Sahal Fatah, SpB, SpBTKV, selaku guru, Ketua Bagian Ilmu Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, yang telah memberikan kesempatan, waktu, tenaga, perhatian dan bimbingan sehingga saya dapat menempuh Program Pendidikan Dokter Spesialis I Bedah dan menyelesaikan karya ilmiah akhir ini.
9. Guru-guru, staf pengajar Bagian Ilmu Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
10. Guru-guru Program Studi Magister Ilmu Biomedik Program Pascasarjana Universitas Diponegoro yang telah memberikan pengetahuan, bimbingan, dan motivasi selama mengikuti program pendidikan magister.
11. Tim penguji dan nara sumber yang telah dengan sabar dan berkenan member masukan, arahan dalam penelitian dan penulisan tesis ini.
12. Semua rekan sejawat residen, karyawan dan karyawan Program Studi Magister Ilmu Biomedik UNDIP, karyawan dan karyawan Bagian Ilmu

Bedah Fakultas Kedokteran UNDIP, serta semua yang telah membantu saya dalam penyusunan karya ilmiah akhir ini.

13. Orang tua saya, Bapak Sudijono, Ibu Astuti, Bapak mertua Bapak Edi, Ibu mertua saya Ibu Siti M atas kesabarannya, do'a, curahan kasih sayang dan dukungan material serta moral dalam menyelesaikan tesis ini.
14. Istri saya tercinta dr. Dhian Endarwati dan anakku tercinta Khanza Sandrica Ardhiona atas cinta kasih, pengorbanan, semangat, pengertian dan dorongan serta motivasi dalam menyelesaikan karya akhir ini.

Penulis menyadari bahwa karya ilmiah akhir ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu kritik dan saran saya harapkan demi perbaikannya. Akhir kata saya mohon maaf yang sebesar-besarnya atas segala kesalahan dan kekhilafan yang terjadi selama menyelesaikan penelitian ini. Semoga Allah SWT. Melimpahkan rahmat-Nya kepada kita semua. Amin.

Semarang, Oktober 2015

Ferdi Wiweko Ardianto

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN.....	ii
LEMBAR MONITORING	iii
LEMBAR PERNYATAAN	iv
RIWAYAT HIDUP	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
DAFTAR SINGKATAN	xiv
ABSTRAK	xvi
ABSTRACT	xvii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	5
1.3. Tujuan Penelitian	6
1.4. Manfaat Penelitian.....	7
1.5. Orisinalitas Penelitian	7
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	10
2.1. Karsinoma epidermoid	10

2.2. Karsinogenesis	14
2.3. Respon Immunologi Pada Sel Tumor	17
2.3.1. Sel Natural killer	19
2.3.2. Interferon- γ (IFN- γ)	22
2.3.3. Interleukin 12 (IL-12)	25
2.3.4. Perforin	26
2.3.5. Granzyme	26
2.4. Phaleria macrocarpa	29
BAB 3. KERANGKA TEORI, KONSEP DAN HIPOTESIS	33
3.1. Kerangka Teori.....	33
3.2. Kerangka Konsep	33
3.3. Hipotesis Penelitian	34
BAB 4. METODE PENELITIAN	35
4.1. Rancangan Penelitian	35
4.2. Populasi dan Sampel	36
4.3. Waktu dan Lokasi Penelitian	37
4.4. Variabel Penelitian	38
4.5. Definisi Operasional	38
4.6. Bahan dan Alat Penelitian	39
4.7. Alur Penelitian	42
4.8. Prosedur Penelitian	42
4.9. Pengumpulan data	46
4.10. Analisis Data	47

4.11. Etika Penelitian	47
BAB 5. HASIL PENELITIAN.....	48
5.1. Ekspresi Granzyme	50
5.2. Interleukin-12.....	52
5.3. Uji Korelasi Ekspresi Granzyme dengan IL-12	55
BAB 6. PEMBAHASAN	56
BAB 7. KESIMPULAN DAN SARAN	59
7.1. Kesimpulan	59
7.2. Saran	60
DAFTAR PUSTAKA	61
LAMPIRAN	64

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Struktur kristal kimia dari granzyme B.....	27
Gambar 2. Diagram skematik hasil penelitian	49
Gambar 3. Pemeliharaan mencit Swiss pada penelitian	49
Gambar 4. Foto mencit Swiss yang sudah diinduksi tumor	49
Gambar 5. Gambaran histologis ekspresi granzyme	50
Gambar 6. Boxplot ekspresi granzyme	50
Gambar 7. Gambaran histologis IL-12 (panah) dengan pewarnaan imunohistokimia (pembesaran 400 x)	52
Gambar 6. Boxplot IL-12	53

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Penelitian tentang <i>Phaleria macrocarpha</i>	7
Tabel 2. Deskriptif dan normalitas data Granzyme sesudah perlakuan.....	51
Tabel 3. Uji Kruskal Wallis Ekspresi Granzyme sesudah perlakuan.....	51
Tabel 4. Mann Whitney Test Ekspresi Granzyme sesudah perlakuan	52
Tabel 5. Deskriptif dan normalitas data IL-12	53
Tabel 6. Uji Kruskal Wallis IL-12 sesudah perlakuan	54
Tabel 7. Uji Mann Whitney IL-12 sesudah perlakuan.....	54
Tabel 8. Deskriptif dan normalitas data Granzyme dan IL-12.....	55
Tabel 9. Korelasi spearman Granzyme terhadap IL-12	55

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Gambar / foto ekspresi granzyme	64
Lampiran 2. Gambar / foto IL-12	65
Lampiran 3. Analisa Statistik Ekspresi Granzyme	66
Lampiran 4. Analisa Statistik IL-12.....	72
Lampiran 5. Hasil penelitian ekspresi granzyme dan IL-12 Post Perlakuan ..	79
Lampiran 6. Foto Mencit yang Diinduksi Tumor dan Perlakuan	80
Lampiran 7. Foto Pemeliharaan Mencit	81
Lampiran 8. Foto Pengolahan Ekstrak <i>Phaleria macrocarpa</i>	82
Lampiran 9. Ethical Clearance	83

DAFTAR SINGKATAN

ADCC	<i>Antibody-Dependent Cellular Cytotoxicity</i>
CTL	<i>cytotoxic T lymphocytes</i>
DMBA	9, 12-dimethyl-1,2-benzanthracene
FASL	Fas ligand
HLA-G	<i>Human Leucocyte Antigen - Gene</i>
ICAM	<i>Interseluler Adhesion Molecule</i>
IFN- γ	Interferon gamma
IgG	Immunoglobulin G
IL-2	Interleukin-2
IL-12	Interleukin-12
LAK	<i>Lymphokine Activated Killer</i>
LPPT	Lembaga Penelitian dan Pengujian Terpadu
MHC	<i>Major Histocompatibility Complex</i>
mRNA	<i>messenger Ribo Nucleic Acid</i>
NK cell	<i>Natural Killer Cell</i>
NKR-K	<i>Neuromedin K Receptor</i>
TCR	<i>T-Cell Receptor</i>
Th1	<i>T helper 1</i>
TIL	<i>Tumor Infiltrating Lymphocyte</i>
TNF- α .	<i>Tumor Necrosis Factor alpha</i>
TPA	12-0-tetradecanoylphorbol-13-acetate
WHO	<i>World Health Organization</i>

ABSTRAK

Latar Belakang : *Phaleria macrocarpa* (Mahkota Dewa) yang mengandung polifenol dapat menstimulasi produksi Interferon- γ pada beberapa populasi immunosit dan meningkatkan aktivitas Limfosit T sitotoksik (CTL) dan *Natural Killer Cell* (NK-Cell). Proses ini dapat dikenali dari ekspresi granzyme sebagai respon dari sel maligna dan IL-12(Interleukin-12). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui adanya pengaruh dan perbedaan ekspresi granzyme dan IL-12(Interleukin-12) pada tiap kelompok perlakuan mencit Swiss dengan karsinoma epidermoid dan untuk menganalisa korelasi antara ekspresi granzyme dan IL-12(Interleukin-12)

Metode : Penelitian dilakukan pada 18 mencit Swiss, yang dilakukan randomisasi pre dan post test dikelompokkan menjadi empat kelompok. Kelompok pertama adalah kelompok kontrol, kelompok ke-2 mendapatkan *Phaleria macrocarpa* 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 *Phaleria macrocarpa* 0,0715 mg(0,36 ml)/hari dikombinasi dengan paclitaxel 175 mg/m² dan cisplatin 50 mg/m². Keseluruhan mencit telah diinduksi karsinoma epidermoid) secara topikal. Ekspresi granzyme dan ekspresi IL-12 dihitung setelah pemberian *Phaleria macrocarpa*, paclitaxel dan cisplatin, dan kombinasi selama 9 minggu. Untuk menganalisa ekspresi granzyme dan ekspresi IL-12 menggunakan uji *Kruskal Wallis* dan uji *Man Whitney*. Untuk menganalisa korelasi antara ekspresi granzyme dan IL-12 menggunakan uji korelasi *Spearman*.

Hasil : Terdapat perbedaan yang signifikan pada variabel ekspresi granzyme dan ekspresi IL-12 diantara kelompok perlakuan terhadap kontrol. Terdapat peningkatan ekspresi granzyme dan ekspresi IL-12 pada kelompok ke- 4 dibandingkan dengan kelompok kontrol, kelompok ke-2 dan kelompok ke-3. Terdapat korelasi yang signifikan dan positif kuat antara ekspresi granzyme dan ekspresi IL-12 ($r=0,942$).

Kesimpulan : *Phaleria macrocarpa* dapat meningkatkan ekspresi granzyme dan ekspresi IL-12 pada sel tumor.

Kata kunci : *Phaleria macrocarpa*, ekspresi granzyme, ekspresi IL-12, karsinoma epidermoid kulit.

ABSTRACT

Background : Polyphenols in *Phaleria macrocarpa* (Mahkota Dewa) can stimulate Interferon- γ production in some immunocyt population and increase Cytotoxic T-Lymphocyt (CTL) and Natural Killer Cell (NK-Cell) activity. This process can be recognised from *granzyme* expression as a response to malignant cells and IL-12(Interleukin-12) of skin epidermoid carcinoma. Objective of this study is to prove the effect of *Phaleria macrocarpa* and combine with chemotherapy to mononuclear cells *granzyme* expression and IL-12(Interleukin-12) of skin epidermoid carcinoma.

Material and Method : A randomized pre and post test only control group design on 18 Swiss mice were divided into 4 groups. The first group is control group, group-2 was given 0,0715 mg (0,36 ml) *Phaleria macrocarpa*/day, group-3 was given paclitaxel 175 mg/m² and cisplatin 50 mg/m², and group 4 was given 0,0715 mg (0,36 ml) *Phaleria macrocarpa*/day combined with paclitaxel 175 mg/m² and cysplatin 50 mg/m². All mice were induced for epidermoid carcinoma) topically. Granzyme expressions and IL-12 expressions were measured at the end administration of *Phaleria macrocarpa*, paclitaxel and cysplatin, and combined for 9 weeks. *Kruskal Wallis test* and *Man Whitney test* was used to analyze granzyme expression and IL-12 expression. *Spearman's correlation test* was performed to analyze the correlation between granzyme expression and IL-12 expression.

Results : There was significant difference in granzyme expression variable and IL-12 expression among groups with control. There was significant increased of granzyme expression and IL-12 expression in group-4 compared with control group, group-2, and group-3. There was significant positive correlation between t granzyme expression variable and IL-12 expression ($r=0,942$).

Conclusion : *Phaleria macrocarpa* is able to increase the granzyme expressions and IL-12 expression of tumor cells.

Key words : *Phaleria macrocarpa, granzyme expression, IL-12 expression, skin epidermoid carcinoma.*