

**PENGARUH PEMBERIAN KOMBINASI 5FU-
LEUCOVORIN DENGAN *PHALERIA MACROCARPA*
TERHADAP DENSITAS SEL NK DAN EKSPRESI
GRANZYM B
STUDI EKSPERIMENTAL TUMOR KOLON TIKUS
*SPRAGUE DAWLEY***

***THE EFFECT OF 5FU-LEUCOVORIN WITH PHALERIA
MACROCARPA COMBINATION TO NK CELL DENSITY AND
GRANZYM B EXPRESSION
EXPERIMENT STUDY TO COLON TUMOR OF
SPRAGUE DAWLEY RAT***



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

Magister Ilmu Biomedik

**Syamsir Alam Lubis
22010112410036**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2015**

TESIS

PENGARUH PEMBERIAN KOMBINASI 5FU-
LEUCOVORIN DENGAN *PHALERIA MACROCARPA*
TERHADAP DENSITAS SEL NK DAN EKSPRESI
GRANZYM B
STUDI EKSPERIMENTAL TUMOR KOLON TIKUS *SPRAGUE*
DAWLEY

disusun oleh

Syamsir Alam Lubis
22010112410036

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji
Pada tanggal 2 Desember 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.Johnny Syoeib Sp.B(K)BD
NIP.195210111982031001

Mengetahui,

Ketua Program Studi
Magister Ilmu Biomedik
Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

Dr.dr.RA. Kisdjamatun RMD, M.Sc
NIP. 196401301990032001

LEMBAR MONITORING PERBAIKAN TESIS

Yang bertanda tangan dibawah ini menerangkan dengan sebenarnya bahwa saya telah menyetujui **Perbaikan Tesis** yang diajukan pada tanggal 2 Desember 2015.

Nama Mahasiswa : dr. Syamsir Alam Lubis

NIM : 22010112410036

Judul : “Pengaruh Pemberian Kombinasi 5FU-Leucovorin dengan *Phaleria Macrocarpa* Terhadap Densitas Sel-Nk Dan Ekspresi Granzym B Studi Eksperimental Tumor Kolon Tikus *Sprague Dawley*”

NO	NAMA	PENGUJI	TANDA TANGAN	TANGGAL
1.	Dr.dr.RA. Kisdjamiatun RMD, M.Sc	Penguji Ketua		
2.	Dr. dr. Selamat Budijitno, M.Si.Med, SpB, SpB(K)Onk	Penguji Anggota/ Pembimbing I		
3.	dr.Johny Sjoieib, Sp.B- KBD	Penguji Anggota/ Pembimbing II		
4.	Dr.dr. Nyoman Suci Widyastiti, M.Kes, Sp.PK	Penguji Anggota		

Pengaruh Pemberian Kombinasi 5fu-Leucovorin dengan *Phaleria Macrocarpa* Terhadap Densitas Sel-Nk Dan Ekspresi Granzym B Studi Eksperimental Tumor Kolon Tikus *Sprague Dawley*

Lubis SA*, Budijitno S**, Syoeib J ***

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

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

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

Abstrak

Pendahuluan

5FU-leucovorin (5FU) sebagai agen kemoterapi standar pengobatan kanker kolon memiliki efek samping neutropenia berat dan penurunan fungsi sel *Natural Killer* (NK) yang dikenal memiliki sifat anti tumor. *Phaleria macrocarpa* (PM) dikenal sebagai imunostimulator dan diduga sebagai anti tumor. Ekstrak tanamannya dilaporkan berperan meningkatkan fungsi sel NK mengapoptosis sel tumor melalui jalur *perforin-granzym*. Pemberian PM bersama 5FU diharapkan meningkatkan densitas sel NK beserta ekspresi *granzym B* dan bersinergi dalam membunuh sel tumor.

Metode

12 ekor tikus *Sprague dawley* yang berhasil diinokulasi *adenokarsinoma* kolon dibagi menjadi kelompok kontrol (5FU) dan kelompok perlakuan (5FU + PM 0.495/hari). Setelah 7 minggu perlakuan dilakukan pemeriksaan histopatologi jaringan tumor. Densitas sel NK dan ekspresi *granzym B* kedua kelompok dianalisa statistik menggunakan *independent t test* dan uji korelasi *Pearson*

Hasil

5FU + PM meningkatkan densitas sel NK dan ekspresi *granzym B* secara bermakna ($P < 0.001$ dan $p = 0.002$) dibanding 5FU saja. Terdapat hubungan positif yang bermakna antara keduanya ($p = 0.001$ dan $r = 0,819$).

Kesimpulan

PM merupakan imunostimulator potensial yang memiliki efek sinergis bila diberikan bersama 5FU dalam meningkatkan densitas sel NK dan ekspresi *Granzym B*

Kata kunci : *Phaleria macrocarpa*, densitas sel NK, ekspresi *Granzym B*, 5FU-Leucovorin

The Effect Of 5FU-Leucovorin With *Phaleria Macrocarpa* Combination To Nk Cell Density And Granzym B Expression

Experiment Study To Colon Tumor Of Sprague Dawley Rat

Lubis SA*, Budijitno S**, Syoeib J ***

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

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

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

Abstract

Introduction

5 FU-leucovorin (5 FU) as standard chemotherapeutic agents colon cancer treatments have side effects severe neutropenia and decrease Natural Killer (NK) cell function as known as anti-tumor properties. *Phaleria macrocarpa* (PM) is known as immunostimulatory and anti-tumor suspected. Extracts of the plant reportedly served to increase NK cell function therefore triggering apoptotic tumor cells via the *perforin-granzym*. Giving PM along with 5FU is expected to increase the density of NK cells and its expression *granzym B* and synergy in killing tumor cells.

Methods

12 *Sprague Dawley* rats were successfully inoculated with colon *adenocarcinoma* then divided into a control group (5FU) and the treatment group (5FU + PM 0.495 / day). After 7 weeks of treatment histopathology of tumor tissue was examined. NK cell density and expression *granzym B* two groups were statistically analyzed by independent t test and Pearson correlation test.

Results

5 FU + PM increase NK cell density and expression of *Granzyme B* was significantly ($P < 0.001$ and $p = 0.002$) compared to 5FU alone. There is a significant positive correlation between NK cell density and expression of *granzym B* ($p = 0.001$ and $r = 0.819$).

Conclusions

PM is an immunostimulatory potential to have a synergistic effect when administered together with 5FU in enhancing NK cell density and expression *Granzym B*

Keywords: *Phaleria macrocarpa*, NK cell density, B granzym expression, 5FU – Leucovorin.

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, 2 Desember 2015

Syamsir Alam Lubis

RIWAYAT HIDUP

A. Identitas

Nama : Syamsir Alam Lubis
 NIM Magister Biomedik : 22010112410036
 Tempat/Tgl Lahir : pendopo, 4 April 1977
 Agama : Islam
 Jenis Kelamin : Laki-laki

B. Riwayat Pendidikan

1. SD YPIP Pendopo : Lulus tahun 1989
2. SMP YKPP Pendopo : Lulus tahun 1993
3. SMU Assalam Surakarta : Lulus tahun 1997
4. FK Unissula Semarang : Lulus tahun 2004
5. PPDS Ilmu Bedah FK UNDIP : (2012 - sekarang)
6. Magister Ilmu Biomedik PPS UNDIP : (2012 - sekarang)

C. Riwayat Pekerjaan

1. Balai Pengobatan NU Mranggen : Tahun 2004 – 2011
2. RSI NU Demak : Tahun 2009 – 2012
3. Laborat cito Semarang : Tahun 2009 – 2012

D. Riwayat Keluarga

1. Nama Orang Tua
 - Ayah : Akadir Lubis
 - Ibu : Nurhalimah Hasibuan
2. Nama Istri : Mega Maharani
3. Nama Anak : Naila Afwa Nausshin
 Raisah Adilah Mulia Imani

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
LEMBAR MONITORING PERBAIKAN	iii
ABSTRAK	iv
PERNYATAAN	vi
RIWAYAT HIDUP	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
DAFTAR SINGKATAN	xv
KATA PENGANTAR	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. Keaslian Penelitian	7
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	9
2.1. Kanker Kolon	9

2.1.1. Epidemiologi	9
2.1.2. Anatomi dan Histologi	10
2.1.3. Etiologi dan Patogenesis	12
2.1.4. Klasifikasi.....	15
2.1.5. Penatalaksanaan.....	17
2.1.6. Prognosis	18
2.2. Respon sistem imunitas terhadap sel tumor.....	20
2.2.1. Antigen Tumor dan Pengenalan Sistem Imunitas	20
2.2.2. Peran Sistem Imunitas Seluler.....	22
2.2.2.1. Respon Imunitas melalui Limfosit T	22
2.2.2.2. Respon Imunitas melalui Sel NK.....	23
2.2.2.3. Respon Imunitas melalui Makrofag.....	26
2.2.3. Peran Sistem Imunitas Humoral.....	27
2.2.4. Granzym.....	27
2.2.3. Apoptosis.....	29
2.3. <i>Phaleria macrocarpa</i>	33
2.4. 5FU-Leucovorin.....	35
2.5. <i>1,2 Dimethylhidrazine</i>	37
BAB 3. KERANGKA TEORI, KONSEP, DAN HIPOTESIS	40
3.1. Kerangka Teori	40
3.2. Kerangka Konsep	41
3.3. Hipotesis	41
BAB 4. METODE PENELITIAN	42

4.1. Desain Penelitian.....	42
4.2. Populasi dan Sampel Penelitian	43
4.2.1. Populasi	43
4.2.2. Sampel	43
4.3. Waktu dan Lokasi Penelitian	44
4.4. Variabel Penelitian	45
4.4.1. Variabel Bebas.....	45
4.4.2. Variabel Tergantung	45
4.4.3. Definisi Operasional	45
4.5. Bahan dan Peralatan Penelitian.....	47
4.5.1. Bahan untuk Perlakuan	47
4.5.2. Bahan untuk Pemeriksaan jaringan.....	48
4.5.3. Alat untuk perawatan tikus.....	48
4.5.4. Alat untuk prosesing jaringan	48
4.5.5. Alat untuk pemeriksaan jaringan.....	48
4.5.6. Alat untuk pengamatan dan dokumentasi sediaan.....	49
4.6. Tehnik Pengumpulan Data	49
4.6.1. Prosedur Pemeliharaan Hewan Coba	49
4.6.2. Prosedur Pemberian Pakan dan Perlakuan	49
4.6.3. Prosedur Pembedahan Hewan Coba	50
4.7. Prosedur Penelitian.....	50
4.7.1. Aklimatisasi	50
4.7.2. Jaringan Adenokarsinoma Kolorektal	50

4.7.3. Prosedur penghitungan ekspresi sel NK dan granzyme B	51
4.8 Alur Kerja	52
4.9. Analisis Data	53
4.10. Etika Penelitian	53
4.11 Keterbatasan Penelitian	53
BAB V. HASIL PENELITIAN	54
5.1. Gambaran Proses Penelitian	54
5.2. Analisa deskriptif	55
5.2.1. Deskripsi densitas sel NK	55
5.2.1. Deskripsi ekspresi granzym B	56
5.3. Uji Komparasi densitas sel NK dan Granzym B	57
5.4. Uji Korelasi densitas sel NK dan Granzym B	57
BAB VI. PEMBAHASAN	59
6.1. Latar Belakang	59
6.2. <i>Phaleria macrocarpa</i>	61
BAB VII. SIMPULAN DAN SARAN	65
7.1. Simpulan	65
7.2. Saran	65
DAFTAR PUSTAKA	66
LAMPIRAN	75

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Skema kejadian morfologik & molekuler tumorigenesis	14
Gambar 2. Mekanisme granzyme memasuki sel target	28
Gambar 3. Jalur lisis sel yang dimediasi oleh limfosit T sitotoksik	32
Gambar 4. Kerangka Teori	40
Gambar 5. Kerangka Konsep	41
Gambar 6. Rancangan Peneitian	42
Gambar 7. Alur Penelitian	52
Gambar 8. <i>Box plot</i> median densitas sel NK adenoca kolon	55
Gambar 9. <i>Box plot</i> median ekspresi Granzym B adenoca kolon	56
Gambar10. Densitas sel NK dan Granzym B yang diberi 5FU –Leucovorin	62
Gambar11.Densitas sel NK dan ekspresi Granzym B yang diberi 5FU – Leucovorin dengan <i>Phaleria Macrocarpa</i>	63
Gambar12.Gamb. hewan coba sedang diinduksi <i>1,2-dimethylhidrazine</i>	77
Gambar13.Gamb. hewan coba sedang mendapat perlakuan	77
Gambar14.Gamb. makroskopis adenoca kolorektal yang diisolasi	77

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Perbandingan <i>5-year SR</i> klasifikasi <i>Dukes, staging</i> dan sistem TNM..	19
Tabel 2. Data densitas sel NK kelompok K dan kelompok P1	55
Tabel 3. Data ekspresi Granzym B kelompok K dan kelompok P1	56
Tabel 4. Analisis perbedaan densitas sel NK kelompok K dan kelompok P1	57
Tabel 5. Analisis perbedaan ekspresi Granzym B antara kelompok K dan P1	57
Tabel 6. Uji normalitas distribusi densitas sel NK antara kelompok K dan P1 ..	58
Tabel 7. Uji normalitas distribusi ekspresi antara kelompok K dan P1	58
Tabel 8. Uji Korelasi Pearson densitas sel NK dan ekspresi granzym B	58
Tabel 9. Tabulasi data densitas Sel NK	76
Tabel 10. Tabulasi data ekspresi Granzym B	76

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Perhitungan Dosis Konversi	75
Lampiran 2. Hasil pengamatan densitas sel NK dan Granzym B	76
Lampiran 3. Foto Penelitian	77
Lampiran 4. Analisis Statistik	78

DAFTAR SINGKATAN

1. ADCC = *Antibody Dependent Cellular Cytotoxicity*
2. ADP = *Adenosin Diphosphate*
3. Apaf-1 = *Apoptotic protease activating factor 1*
4. APC = *Adenoma poliposis coli*
5. APC = *Antigen Presenting Cell*
6. ATP = *Adenosine Tri-Phosphate*
7. CD8 = *Cluster of differentiation 8*
8. CDK = *Cyclin Dependent Kinase*
9. CIN = *Chromosomal Instability*
10. CTL = *Cytotoxic T Lymphocyte*
11. DCC = *Deleted in Colon Cancer*
12. DFS = *Disease Free Survival*
13. DISC = *Death Inducing Signaling Complex*
14. DNA = *Deoxyribonucleic Acid*
15. DMH = *1,2 Dimethylhydrazine*
16. dUTP = *Deoxyuridine Triphosphate*
17. EGFR = *Epidermal Growth Factor Receptor*
18. FADD = *Fas Associated Death Domain*
19. FasL = *Fas-ligand*
20. 5FU = *5 Fluorouracil*
21. FGF = *Fibroblast Growth Factor Receptor*
22. GA = *Gallic Acid*
23. HLA = *Human Leukocyte antigen*
24. HNPCC = *Hereditary Nonpolyposis Colon Cancer*
25. IFN- γ = *Interferon γ*
26. Ig = *Immunoglobulin*
27. IL-12 = *Interleukin -12*

- 28. KIR = *Killer Inhibitor Receptor*
- 29. LAK = *lymphokine Activated Killer*
- 30. LCS = *Liquor Cerebro Spinalis*
- 31. LOH = *Loss of Heterozygosity*
- 32. NCCN = *National Comprehensive Cancer Network*
- 33. NK = *Natural Killer*
- 34. NO = *Nitrit Oxide*
- 35. MAPK = *Mitogen-Activated Protein Kinase*
- 36. MHC = *Major Histocompatibility Complex*
- 37. MMC = *Mutation Malignant Colon*
- 38. MMR = *Mismatch Repair*
- 39. MSI = *Microsatellite Instability*
- 40. PDGF = *Platelet-Derived Growth Factor*
- 41. RTK = *Receptor Tirosin Kinase*
- 42. SGOT = *Serum Glutamin Oxidase Transferase*
- 43. SGPT = *Serum Glutamin Peroxidase Transferase*
- 44. TCR = *T-Cell Receptor*
- 45. TIL = *Tumor Infiltrating Lymphocytes*
- 46. TME = *Total Mesorectal Excision*
- 47. TNF = *Tumor Necrosis Factor*
- 48. TNM = *Tumor Node Metastase*
- 49. UMP = *Uridine Mono-Phosphate*
- 50. UMP = *Urasil Monofosfat*
- 51. UTP = *Uridine Tri-Phosphate*
- 52. VEGF = *vascular Endothelial Growth Factor*
- 53. WHO = *World Health Organization*

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan berkah-Nya, sehingga kami dapat menyelesaikan tesis yang berjudul:

“PENGARUH PEMBERIAN KOMBINASI 5FU-LEUCOVORIN DENGAN *PHALERIA MACROCARPA* TERHADAP DENSITAS SEL NK DAN GRANZYME B STUDI EKSPERIMENTAL TUMOR KOLON TIKUS *SPRAGUE DAWLEY*”

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

1. Prof. Drs. Sudharto P. Hadi, MS, Ph.D selaku Rektor Universitas Diponegoro Semarang.
2. Prof. Dr. dr. Tri Nur Kristina, DMM, M.Kes selaku Dekan Fakultas Kedokteran.
3. dr. A. Zulfa Juniarto, Msi. Med, Sp. And, PhD, selaku Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro
4. 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.

5. 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.
6. 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.
7. dr dr.Johnny Syoeib Sp.B(K)BD, guru sekaligus pembimbing II dalam penelitian ini, yang selalu meluangkan waktu, dan tenaga dalam membimbing tesis ini hingga selesai.
7. Kepada guru-guru kami, staf pengajar Bagian Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro
8. 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.
9. 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.

10. Yang tercinta istri ; Mega Maharani dan anak kami; Naila dan Raisah atas kesabaran, dukungan moral dan semangat bagi kami untuk menyusun dan menyelesaikan tesis ini.
11. Orang tua kami Bapak Akadir Lubis dan Ibu Nurhalimah Hasibuan atas dukungannya baik secara moral maupun finansial dalam menyelesaikan tesis ini.
12. Mertua Ibu Siti Fatimah 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, 2 Desember 2015

Syamsir Alam Lubis