

**PENGARUH PEMBERIAN KOMBINASI 5FU-LEUCOVORIN
DENGAN *PHALERIA MACROCARPA* TERHADAP
TERHADAP PROSENTASE EKSPRESI NFKB DAN VEGF
STUDI EKSPERIMENTAL ADENOKARSINOMA KOLON TIKUS
*SPRAGUE DAWLEY***

***THE EFFECT OF 5FU-LEUCOVORIN WITH PHALERIA
MACROCARPA COMBINATION TO NFKB AND VEGF EXPRESSION
AN EXPERIMENTAL STUDY TO COLON ADENOCARSINOMA OF
SPRAGUE DAWLEY RAT***



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

**Heri Pratomo
22010112410021**

**PROGRAM PASCA SARJANA
MAGISTER ILMU BIOMEDIK
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2015**

TESIS

PENGARUH PEMBERIAN KOMBINASI 5FU-LEUCOVORIN DENGAN *PHALERIA MACROCARPA* TERHADAP TERHADAP PROSENTASE EKSPRESI NFKB DAN VEGF
STUDI EKSPERIMENTAL ADENOKARSINOMA KOLON TIKUS *SPRAGUE DAWLEY*

disusun oleh

Heri Pratomo
22010112410021

Menyetujui,
Pembimbing

Pembimbing I

Pembimbing II

Dr.dr. Selamat Budijitno, MSi.Med, Sp.B, Sp.B(K)Onk
NIP.19710807 200812 1 001

dr. Benny Issakh, Sp.B, SpB(K)Onk
NIP. 19550626 18312 1 001

Mengetahui,

Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik
Program Pascasarjana Universitas Diponegoro

DR.dr. RA. Kisdjamiatun RMD, M.Sc
NIP.196401301990032001

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/tidak diterbitkan, sumbernya dijelaskan di dalam tulisan dan daftar pustaka.

Semarang, November 2015

Heri Pratomo

RIWAYAT HIDUP

A. Identitas

Nama : Heri Pratomo
NIM Magister Biomedik : 22010112410021
NIM PPDS I Bedah : 22040111300019
Tempat/Tgl Lahir : Grobogan, 3 Februari 1985
Agama : Islam
Jenis Kelamin : Laki-laki

B. Riwayat Pendidikan

1. SD N 3, Tanjungharjo : Lulus tahun 1994
2. SMP N 1, Ngaringan : Lulus tahun 2000
3. SMU N 1, Purwodadi : Lulus tahun 2003
4. FK Univ Islam Sultan Agung, Semarang : Lulus tahun 2009
5. PPDS Ilmu Bedah FK UNDIP : (2012 - sekarang)
6. Magister Ilmu Biomedik PPS UNDIP : (2012 - sekarang)

C. Riwayat Pekerjaan

1. Dokter RS Permata Bunda Purwodadi : Tahun 2009 - 2012

D. Riwayat Keluarga

1. Nama Orang Tua
Ayah : Alm. H. Partono
Ibu : Hj. Mutni Dwiati
2. Nama saudara kandung
dr. Heny Pramita
3. Nama Anak
Nicholas Rafif Pratomo

KATA PENGANTAR

Segala puji bagi Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan berkah-Nya, sehingga saya dapat menyelesaikan tesis yang berjudul:

“PENGARUH PEMBERIAN KOMBINASI 5FU-LEUCOVORIN DENGAN *PHALERIA MACROCARPA* TERHADAP EKSPRESI NFKB DAN VEGF PADA ADENOKARSINOMA 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, saya ingin menyampaikan ucapan terimakasih dan penghargaan yang sebesar-besarnya kepada :

1. Prof.DR. Yos Johan Utama,S.H, M.H selaku Rektor Universitas Diponegoro Semarang.
2. Prof. DR. dr. Tri Nur Kristina , DMM, M.Kes selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang.
3. dr. Ahmad Zulfa Juniarto, M.Si.Med, Sp.And. PhD selaku Ketua Program studi Magister ilmu biomedik Pasca sarjana Universitas Diponegoro periode 2014/2015
4. DR.dr. RA. Kisdjamiatun RMD, M.Sc selaku Ketua Program studi Magister ilmu biomedik Pasca sarjana Universitas Diponegoro periode 2015/2016
5. dr.Sahal Fatah,Sp.B, Sp.BTKV selaku Kepala Bagian / SMF Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro/ RSUP Dr. Kariadi yang telah memberikan kesempatan pada saya

untuk menempuh Program Pendidikan Dokter Spesialis I Bedah dan Program Magister Ilmu Biomedik.

6. dr. Benny Issakh, Sp.B.Sp.B.(K)Onk. selaku Ketua Program Studi Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, guru sekaligus pembimbing II dalam penelitian ini, 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.
7. 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.
8. Kepada guru-guru saya, staf pengajar Bagian Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro .
7. Guru-guru Program Studi Magister Ilmu Biomedik Program Pasca sarjana Universitas Diponegoro yang telah member pengetahuan dan bimbingan kepada saya serta memberikan motivasi selama mengikuti program pendidikan magister dan penyusunan tesis ini.
8. 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, dan penyusunan tesis ini.
9. Orang tua saya Alm. H. Partono dan Hj. Mutni Dwiati, yang telah memberikan dukungan dan semangat bagi saya untuk menyusun dan menyelesaikan tesis ini.
10. Keluarga saya dr. Heny Pramita, Nicholas Rafif Pratomo dan Ramona Intan Permatasari, S.ked yang telah memberikan semangat untuk menyelesaikan penelitian ini.

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

Semarang, November 2015

Heri Pratomo

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
ABSTRAK.....	iii
ABSTRACT.....	iv
PERNYATAAN	v
RIWAYAT HIDUP	vi
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
DAFTAR SINGKATAN	xiii
KATA PENGANTAR	xv
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	18
2.1.6. Prognosis.....	20
2.2. Nuklear Faktor Kappa B (NFKB).....	21
2.3. Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)	24
2.4. <i>Phaleria macrocarpa</i>	31
2.5. 5FU-Leucovorin	34
2.6. <i>1,2 Dimethylhidrazine</i> (DMH).....	45
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.....	44
4.4.1. Variabel Bebas.....	44
4.4.2. Variabel Tergantung	44
4.4.3. Definisi Operasional	45
4.5. Bahan dan Alat Penelitian	46
4.5.1. Bahan untuk Perlakuan	46
4.5.2. Bahan untuk Pemeriksaan Histopatologi Rutin	47

4.5.3. Alat untuk pembuatan slide dengan pewarnaan H&E	47
4.5.4. Alat untuk pengamatan dan dokumentasi sediaan	48
4.6. Prosedur Pengumpulan Data	48
4.7. Alur Kerja	50
4.8. Prosedur Penelitian	51
4.8.1. Prosedur pembuatan preparat histopatologi.....	51
4.8.2. Prosedur penghitungan ekspresi NFkB dan VEGF.....	54
4.9. Analisis Data	54
4.10 Etika Penelitian	55
BAB V. HASIL PENELITIAN	56
5.1. Gambaran Proses Penelitian	56
5.2. Analisa deskriptif	57
5.2.1. Deskripsi ekspresi VEGF	57
5.2.2. Deskripsi ekspresi NFkB	58
5.3. Uji Komparasi ekspresi NFkB dan VEGF.....	60
5.4. Uji Korelasi ekspresi NFkB dan VEGF.....	61
BAB VI. PEMBAHASAN	62
BAB VII. SIMPULAN DAN SARAN	65
7.1. Simpulan	65
7.2. Saran	65
DAFTAR PUSTAKA	66
LAMPIRAN.....	72

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Skematik kejadian morfologik & molekuler tumorigenesis kolorektal	18
Gambar 2. Aktifasi NFkB.....	25
Gambar 3. Regulasi faktor transkripsi NFkB	27
Gambar 4. Jalur Aktifasi NFkB	28
Gambar 5. Struktur molekul VEGF.....	30
Gambar 6. Box plot median ekspresi VEGF.....	58
Gambar 7. Box plot median ekspresi NFkB	60

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Keaslian penelitian..	22
Tabel 2. Perbandingan <i>5-year survival rates</i> antara klasifikasi <i>Dukes, staging</i> dan sistem TNM.....	36
Tabel 3. Total kandungan phenol dan flavonoid dari berbagai bagian buah <i>Phaleria macrocarpa</i>	39
Tabel 4. Nilai IC50 dari ekstrak <i>Phaleria macrocarpa</i> terhadap kanker kolon, kanker payudara, sel Hela, sel hepar	41
Tabel 5. Deskriptif dan distribusi normalitas data VEGF	57
Tabel 6. Uji t tidak berpasangan VEGF	57
Tabel 7. Deskriptif dan distribusi normalitas data NFkB	59
Tabel 8. Uji t tidak berpasangan NFkB	59
Tabel 9. Deskriptif dan distribusi normalitas data NFkB dan VEGF.....	61
Tabel 10. Hasil Uji Korelasi Pearson NFkB dan VEGF	61

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Perhitungan Dosis Konversi	72
Lampiran 2. Hasil Pengamatan Ekspresi NFkB dan VEGF.....	74
Lampiran 3. Foto Penelitian.....	75
Lampiran 4. Gambaran Mikroskopis Ekspresi NFkB dan VEGF	76
Lampiran 5. Analisis Statistik.....	77
Lampiran 5. <i>Ethical clearance</i>	82

DAFTAR SINGKATAN

5FU	= 5 Fluorouracyl
AOM	= <i>Azoxymethane</i>
Apaf-1	= <i>Apoptotic Peptidase Activating Factor 1</i>
APC	= <i>Adenoma-Poliposis Coli</i>
ATP	= <i>Adenosine Tri-Phosphate</i>
CDK	= <i>Cyclin Dependent Kinase</i>
CEA	= <i>Carcinoembryonic Antigen</i>
CIN	= <i>Chromosomal Instability</i>
CTL	= <i>Cytotoxic T Lymphocytes</i>
CXCL	= <i>Chemokine Ligand</i>
DCC	= <i>Deleted in Colon Cancer</i>
DFS	= <i>Disease-Free Survival</i>
DMH	= <i>Dimethylhydrazine</i>
DNA	= <i>Deoxyribo Nucleic Acid</i>
EGFR	= <i>Epidermal Growth Factor Receptor</i>
E2F	= <i>E2 Factor</i>
Erk	= <i>Extracellular Regulated Kinase</i>
FADD	= <i>Fas Associated via Death Domain</i>
FasL	= <i>Fas Ligand</i>
FdUMP	= <i>flourodeoxyuridine Monophosphate</i>
FGR	= <i>Fibroblast Growth Factor Receptor</i>
FLt	= <i>Fms-Like Tyrosine Kinase</i>
FLk	= <i>Fetal Liver Kinase</i>
GA	= <i>Gallic Acid</i>
GF	= <i>Growth Factor</i>
HIF	= <i>Hipoxia-Inducible Factor</i>
HNPCC	= <i>Hereditary Nonpolyposis Colon Cancer</i>
HRE	= <i>Hipoxia-Transduction Element</i>
IHC	= <i>Immunohistochemistry</i>
IKB	= <i>Inhibitor of kB</i>
IKK	= <i>Inhibitor of kB Kinase</i>

IL	= <i>Interleukin</i>
KDR	= <i>Kinase insert Domain Receptor</i>
LCS	= <i>Liquor Cerebro Spinalis</i>
LOH	= <i>Loss Of Heterozygosity</i>
LPS	= <i>Lipopolysaccharide</i>
MAPK	= <i>Mitogen-Activated Protein Kinase</i>
MMR	= <i>Mismatch Repair</i>
MSI	= <i>Microsatellite Instability</i>
NCCN	= <i>National Comprehensive Cancer Network</i>
NFKB	= <i>Nuklear Factor Kappa B</i>
NIK	= <i>NF-kB Inducing Kinase</i>
PAMP	= <i>Pathogen-Associated Molecular Patterns</i>
PDGF	= <i>Platelet-Derived Growth Factor Receptor</i>
Pi3k	= <i>Phosphoinositide 3 Kinase</i>
PKC	= <i>Protein Kinase C</i>
PM	= <i>Phaleria macrocarpa</i>
RHD	= <i>Rel Homology Domain</i>
RNA	= <i>Ribonucleic Acid</i>
RTK	= <i>Receptor Tيروسin Kinase</i>
TME	= <i>Total Mesorectal Excision</i>
TNF	= <i>Tumor Necrosis Factor</i>
TNM	= <i>Tumor Node Metastasis</i>
TRAF	= <i>Tumor necrosis factor receptor-Associated Factor</i>
UMP	= <i>Uridine Mono-Phosphate</i>
UTP	= <i>Uridine Tri-Phosphate</i>
VEGF	= <i>Vascular Endotelial Growth Factor</i>
VEGFR	= <i>Vascular Endotelial Growth Factor Receptor</i>
VPF	= <i>Vascular Permeability Factor</i>

Pengaruh Pemberian Kombinasi 5FU-Leucovorin dengan *Phaleria macrocarpa* Terhadap Ekspresi NFkB dan VEGF

Studi Eksperimental Adenokarsinoma Kolon Tikus *Sprague Dawley*

Pratomo H*, Budijitno S, Issakh B **

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

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

Abstrak

Pendahuluan

5FU-leucovorin (5FU) masih merupakan agen kemoterapi standar emas pengobatan kanker kolon, namun memiliki efek sitotoksik merugikan antara lain myelosuppressi berupa neutropenia berat. Beberapa tahun terakhir pemanfaatan tanaman obat sebagai agen terapeutik khususnya imunoterapi meningkat secara drastis. *Phaleria macrocarpa* (PM) dikenal sebagai imunostimulator dan sebagai anti tumor. Ekstrak tanamannya dilaporkan berperan sebagai inhibitor spesifik terhadap TNF (Tumor nuklear Factor) yang dapat merubah aktivitas proliferasi sel kanker dengan meningkatkan apoptosis dan menghambat pertumbuhan sel tumor. Pemberiannya bersama (5FU + PM) diharapkan menurunkan ekspresi NFkB dan VEGF, dan bersinergi dalam membunuh sel tumor.

Metode

Metoda penelitian yang digunakan adalah eksperimental dengan *Randomized post test control group only design*. Duabelas ekor tikus betina *Sprague dawley* yang berhasil diinokulasi adenokarsinoma kolon dibagi menjadi kelompok 2 kelompok : Kontrol (5FU+aquades 0,49/hari) dan kelompok perlakuan (5FU + PM 0.495/hari). Kemoterapi diberikan sebanyak 6 siklus sesuai *Rosswell Park Regiment*. Setelah perlakuan selama 7 minggu tumor dipersiapkan untuk pemeriksaan patologi menggunakan pengecatan imunohistokimia, ekspresi NFkB dan VEGF. Kedua kelompok dianalisa secara statistik menggunakan *independent t test* dan uji korelasi *Pearson*.

Hasil

Pemberian 5F-Leucovorin + PM menurunkan ekspresi NFkB dan VEGF secara bermakna ($p < 0,05$) dibanding 5FU-Leucovorin +plasebo. Pada uji korelasi terdapat hubungan yang positif kuat antara keduanya ($p = 0.001$ dan $r = 0,837$).

Kesimpulan

PM merupakan imunostimulator dan anti kanker potensial yang memiliki efek sinergis bila diberikan bersama 5FU-Leucovorin dalam menurunkan ekspresi NFkB dan VEGF.

Kata kunci : *Phaleria macrocarpa*, 5FU-Leucovorin, adenokarsinoma kolon, ekspresi NFkB, ekspresi VEGF.

The Effect Of 5FU-Leucovorin and Phaleria macrocarpa Combination on NFkB and VEGF Expresion

Experiment Study To Colon Adenocarcinoma Of Sprague Dawley Rat

Pratomo H*, Budijitno S, Issakh B**

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

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

Abstract

Introduction

5FU-leucovorin (5FU) is gold standard chemotherapy agent for colon cancer treatment, however it has cytotoxic effects which is myelosuppression. In the last few years, the use of medicinal plants as a therapeutic agent, especially in immunotherapy has been increased drastically. *Phaleria macrocarpa* (PM) is known as an immunostimulatory and anti-tumor. Its extract has been reported having a role as a specific inhibitor on TNF, which can change the proliferation activity of tumor cells by increasing apoptotic and inhibiting the tumor cells growth. Administration of 5FU+PM combination is expected to reduce the NFkB and VEGF expression and synergizing in killing tumor cells.

Method

This was experimental research with *Randomized post-test control group only design*. Twelve *Sprague dawley* rat which was inoculated with colon adenocarcinoma are divided into two group: control (5FU+aquadest 0,49/day) and treated (5FU+PM 0.495/day). Chemotherapy was given in 6 cycle according to *Rosswell Park Regiment*. After 7 weeks, pathology examination on tumor cells were done using immunohistochemistry stain as well as NFkB and VEGF expression. The analysis used independent t-test and Pearson correlation test.

Result

Administration of 5FU+PM significantly reduced expression of NFkB and VEGF ($p < 0.05$) compared with 5FU+placebo. There were strong positive correlation between both of them. ($p = 0.001$ and $r = 0.837$)

Conclusion

PM is a potential immunostimulatory and anti-tumor which has synergic effect in reducing NFkB and VEGF if administered together with 5FU.

Keywords: *Phaleria macrocarpa*, 5FU-leucovorin, colon adenocarcinoma, NFkB expression, VEGF expression.