

**PENGARUH PEMBERIAN KOMBINASI 5FU-
LEUCOVORIN DENGAN *PHALERIA MACROCARPA*
TERHADAP DENSITAS NK CELL DAN EKSPRESI
IFN- γ DARI TUMOR KOLON PADA TIKUS *SPRAGUE*
*DAWLEY***

***THE EFFECT OF 5FU-LEUCOVORIN AND PHALERIA
MACROCARPA COMBINATION ON DENSITY OF NK
CELL AND IFN- γ EXPRESSION IN COLON TUMOR
MASS OF
SPRAGUE DAWLEY RAT***



Junizal Firdaus
22010112410034

Tesis
untuk memenuhi persyaratan
mencapai derajat Sarjana S-2

**PROGRAM STUDI PASCA SARJANA
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2015**

TESIS

**PENGARUH PEMBERIAN KOMBINASI 5FU-
LEUCOVORIN DENGAN *PHALERIA MACROCARPA*
TERHADAP DENSITAS NK CELL DAN EKSPRESI
IFN- γ DARI TUMOR KOLON PADA TIKUS *SPRAGUE*
*DAWLEY***

disusun oleh
Junizal Firdaus

Menyetujui,
Pembimbing

Pembimbing I

Pembimbing II

Dr.dr. Selamat Budijitno, MSi.Med, Sp.B, Sp.B(K)Onk
NIP.19710807200812 1 001

dr.KunSemedi Sp.B KBD
NIP. 196410261990121001

Mengetahui,

Ketua Program Studi
Magister Ilmu Biomedik
Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

Prof. Dr. dr. Tri Nur Kristina, DMM, M.Kes
NIP.19590527 198603 2 001

PENGARUH PEMBERIAN KOMBINASI 5FU- LEUCOVORIN DENGAN *PHALERIA MACROCARPA* TERHADAP DENSITAS NK CELL DAN EKSPRESI IFN- γ DARI TUMOR KOLON PADA TIKUS *SPRAGUE* *DAWLEY*

Firdaus J*, Budijitno S**, KunSemedi ***

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

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

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

Abstrak

Pendahuluan

5FU-leucovorin (5FU-L) masih merupakan agen kemoterapi standar emas pengobatan kanker kolorektal, namun memiliki efek sitotoksik merugikan antara lain myelosuppressi berupa neutropenia berat dan penurunan fungsi sel NK yang dikenal juga memiliki sifat anti tumor. Beberapa tahun terakhir pemanfaatan tanaman obat sebagai agen terapeutik khususnya imunoterapi meningkat secara drastis. *Phaleria macrocarpa* (PM) dikenal sebagai imunostimulator dan diduga sebagai anti tumor. Ekstrak tanamannya dilaporkan berperan sebagai stimulator Natural Killer sel yang dapat merubah aktivitas proliferasi sel. Pemberiannya bersama (5FU-L + PM) diharapkan meningkatkan densitas sel NK dan ekspresi interferon gamma, 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 kolorektal dibagi menjadi kelompok 2 kelompok : Kontrol (5FU-L) dan kelompok perlakuan (5FU-L + 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, densitas sel NK dan ekspresi interferon gamma kedua kelompok dianalisa secara statistik menggunakan *independent t test* dan uji korelasi *pearson*.

Hasil

Pemberian 5FU-L + PM meningkatkan densitas sel NK dan ekspresi interferon gamma secara bermakna ($p < 0,05$) dibanding 5FU-L saja. Pada uji korelasi terdapat hubungan yang positif kuat antara keduanya ($p = 0,018$ dan $r = 0,666$).

Kesimpulan

PM merupakan imunostimulator potensial yang memiliki efek sinergis bila diberikan bersama 5FU-L dalam meningkatkan densitas sel NK dan ekspresi interferon gamma.

Kata kunci : *Phaleria macrocarpa*, 5FU-Leucovorin, adenokarsinoma kolon, ekspresi sel NK dan ekspresi interferon gamma

**THE EFFECT OF 5FU-LEUCOVORIN AND PHALERIA MACROCARPA COMBINATION
ON DENSITY OF NK CELL AND IFN- γ EXPRESSION IN COLON TUMOR MASS OF
SPRAGUE DAWLEY RAT**

Firdaus J*, Budijitno S**, KunSemedi ***

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

Abstract

Introduction

5FU-leucovorin (5FU-L) is still the absolute golden chemotherapeutic agent for colorectal cancer treatment, but has adverse cytotoxic effects among others myelo-suppression form of severe neutropenia as well as decreasing the NK cell function which is known to behave as an anti-tumor. In the last few years the use of medicinal plants as therapeutic agents, especially immunotherapy, increased drastically. *Phaleria macrocarpa* (PM) is known as immuno-stimulator and many suspect it to be an anti-tumor in nature. Extracts of the plant reportedly act as a stimulator of Natural Killer cells that can alter the activity of cell proliferation. If administered together (5FU-L & PM) there is the expectation that it could increase NK cell density and expression of IFN- γ , and kills tumor cells in synergy.

Method

The methods used in this study were experimental and of a post-test-only control-group design. Twelve female *Sprague Dawley* rats were successfully inoculated with colorectal *adenocarcinoma* and divided into two groups: the control (5FU-L) and the treatment group (5FU-L + PM 0.495 / day). Chemotherapy is given in 6 cycles in accordance with the *Rosswell Park Regiment*. After treatment for 7 weeks tumor pathology was prepared for examination using immunohistochemical staining, NK cell density and expression of IFN- γ and both groups were statistically analyzed through an independent T test and Pearson correlation.

Result

Granting results 5FU-L + PM increase NK cell density and expression of IFN- γ were significantly ($p < 0.05$) compared to 5FU-L only. In the correlation test there is a strong positive correlation between the two ($p = 0.018$ and $r = 0.666$).

Conclusion

That was drawn is that PM is an immunostimulatory potential to have a synergistic effect when administered together with 5FU-L in enhancing NK cell density and expression of IFN- γ .

Keywords: *Phaleria macrocarpa*, 5FU-leucovorin, colon adenocarcinoma, the expression of NK cells and expression of IFN- γ .

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini 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 dan lembaga pendidikan lainnya, serta tidak terdapat unsur-unsur yang tergolong Plagiarism sebagaimana yang 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, 31 November 2015

Junizal Firdaus

RIWAYAT HIDUP

A. Identitas

Nama : Junizal Firdaus
NIM Magister Biomedik : 22010112410034
NIM PPDS I Bedah : 22040111300020
Tempat/Tgl Lahir : Semarang, 21 Juni 1977
Agama : Islam
Jenis Kelamin : Laki-laki

B. Riwayat Pendidikan

1. SDN Cakra Madya Dwipa I/II : Lulus tahun 1989
2. Mts PPMIA Assalam Kartosuro : Lulus tahun 1992
3. SMAN 4 Semarang : Lulus tahun 1995
4. FK Univ Diponegoro Semarang : Lulus tahun 2002
5. PPDS Ilmu Bedah FK UNDIP : (2012 - sekarang)
6. Magister Ilmu Biomedik PPS UNDIP : (2012 - sekarang)

C. Riwayat Pekerjaan

1. Dokter umum RSPS – Pelabuhan Surabaya (2002-2003)
2. Dokter umum RSUD Tugurejo Semarang (2003-sekarang)

D. Riwayat Keluarga

1. Nama Orang Tua
Ayah : Barda Nawawi Arief
Ibu : Nilawati Abbas
2. Nama Istri : Novria Ariyani S
3. Nama Anak : Zavri Luqman Haritsz Firdaus
Revania Raisya Ardhani Firdaus

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
PERNYATAAN.....	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR TABEL.....	ix
DAFTAR LAMPIRAN.....	x
DAFTAR SINGKATAN	xiv
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	6
1.3. Tujuan Penelitian	7
1.4. Manfaat Penelitian	8
1.5. Keaslian Penelitian.....	8
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1. Kanker Kolon.....	11
2.1.1. Epidemiologi.....	11
2.1.2. Anatomi dan Histologi	12
2.1.3. Etiologi dan Patogenesis	14
2.2. Respon Sistem Imunitas Terhadap Sel Tumor	19
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 <i>Natural Killer</i> (<i>NK</i>)	29
2.2.2.3.	Respon Imunitas melalui Makrofag	34
2.2.3.	Peran Sistem Imunitas Humoral.....	35
2.3.	Apoptosis	35
2.4.	Phaleria macrocarpa	39
2.5.	5FU-Leucovorin.....	43
2.6.	1,2 Dimethylhidrazine.....	46
BAB 3.	KERANGKA TEORI, KONSEP DAN HIPOTESIS	50
3.1.	Kerangka Teori.....	51
3.2.	Kerangka Konsep.....	51
3.3.	Hipotesis.....	51
BAB 4.	METODE PENELITIAN.....	52
4.1.	Desain Penelitian.....	52
4.2.	Populasi dan Sampel Penelitian	52
4.2.1.	Populasi.....	52
4.2.2.	Sampel.....	53
4.3.	Waktu dan Lokasi Penelitian	54
4.4.	Variabel Penelitian	54
4.4.1.	Variabel Bebas	54
4.4.2.	Variabel Tergantung.....	54
4.4.3.	Definisi Operasional	54

4.5. Bahan dan Alat Penelitian.....	55
4.5.1. Bahan Untuk Perlakuan	55
4.5.2. Bahan Untuk Pemeriksaan Histopatologi Rutin	57
4.5.3. Bahan Tambahan Untuk Pewarnaan Imunohistokimia..	58
4.5.4. Alat Transplantasi Jaringan Tumor Pada Mencit.....	58
4.5.5. Alat Tambahan Untuk Pewarnaan Imunohistokimia	58
4.5.6. Alat Untuk Mengukur Berat Badan	59
4.5.7. Alat Untuk Pengamatan dan Dokumentasi Sediaan.....	59
4.6. Prosedur Pengumpulan Data	59
4.7. Alur Kerja	61
4.8. Prosedur Penelitian	61
4.8.1. Prosedur Transplantasi Tumor	61
4.8.2. Prosedur Pembuatan Preparat Histopatologi adenokarsinoma.....	62
4.9. Prosedur Penghitungan Densitas Sel NK dan Ekspresi IFN- γ ...	63
4.10. Analisis Data	64
4.11. Persyaratan Etik	64
BAB V. HASIL PENELITIAN.....	66
5.1. Analisa Deskriptif	70
5.1.1. Deskripsi Data Jumlah Densitas Sel NK.....	70
5.1.2. Deskripsi Data Jumlah Ekspresi IFN- γ	71
5.2. Uji Komparasi Densitas Sel NK dan Ekspresi IFN- γ	73

5.3. Uji Korelasi Jumlah Ekspresi Sel NK dan Ekspresi IFN- γ	75
BAB VI. PEMBAHASAN	76
BAB VII. SIMPULAN DAN SARAN	81
7.1. Simpulan	81
7.2. Saran.....	81

DAFTAR PUSTAKA

LAMPIRAN

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Skematik kejadian morfologik & molekuler tumorigenesis kolorektal ...	17
Gambar 2. Sistem imun innate dan addaptif.....	20
Gambar 3. Struktur 3D dari Interferon- γ	25
Gambar 4. Reaksi imun oleh limfosit T.....	28
Gambar 5. Tahapan sitolitik sel target oleh CTL.....	28
Gambar 6. Pengenalan sel target oleh sel NK.....	32
Gambar 7. Mekanisme kerja direk dan indirek NK sell	33
Gambar 8. Jalur kematian sel target yang dipengaruhi CTL/NK	39
Gambar 9. Kandungan pada <i>Phaleria Macrocarpa</i>	42
Gambar 10. Kerangka teori.....	50
Gambar 11. Kerangka konsep.....	51
Gambar 12. Desain penelitian.....	52
Gambar 13. Alur kerja	61
Gambar 14. Hasil pemeriksaan histopatologi adenokarsinoma kolon dengan pengecatan HE, pembesaran 400 x	67
Gambar 15. Hasil pengecatan dengan IHC <i>mouse monoclonal antibody</i> NK pembesaran 400 x	67
Gambar 16. Hasil pengecatan dengan IHC <i>mouse monoclonal antibody</i> IFN- γ pembesaran 400 x	68
Gambar 17. <i>Consolidated report</i> penelitian.....	69
Gambar 18. Grafik box plot jumlah ekspresi sel NK.....	71
Gambar 19. Grafik box plot jumlah ekspresi ifn- γ	72

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Perbandingan Kadar serum interferon γ pada penderita kanker kolon dengan orang normal	27
Tabel 2. Total kandungan phenol dan flavonoid dari berbagai bagian buah <i>Phaleria macrocarpa</i>	41
Tabel 3. Nilai IC50 dari ekstrak <i>Phaleria macrocarpa</i> terhadap kanker kolon, kanker payudara, sel HeLa, sel hepar	41
Tabel 4. Karakteristik data jumlah sel NK	70
Tabel 5. Karakteristik data jumlah ekspresi IFN- γ	72
Tabel 6. Deskriptif dan distribusi normalitas data NK	73
Tabel 7. Uji t tidak berpasangan	73
Tabel 8. Deskriptif dan distribusi normalitas data IFN- γ	74
Tabel 9. Uji t tidak berpasangan	74
Tabel 10. Hasil uji korelasi Pearsons NK dan IFN- γ	75

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Prosedur induksi 1,2 DMH.....	93
Lampiran 2. Perhitungan Dosis Konversi Phaleria Macrocarpa.....	95
Lampiran 3. Prosedur pemberian phaleria macrocarpa	96
Lampiran 4. Prosedur pemberian kemoterapi 5FU-leucoverin.....	97
Lampiran 5. Bagan alur kerja penelitian selama 23 minggu.....	
Lampiran 6. Jadwal monitoring	
Lampiran 7. Hasil Pengukuran penelitian.....	99
Lampiran 8. Foto Penelitian.....	101
Lampiran 9. Analisis Statistik.....	113

DAFTAR SINGKATAN

5FdUMP	= 5 flourodeoxyuridin monophospat
5FU-L	= 5 Fluorouracyl- leucovorin
ADCC	= Antibody dependent citotoxicity
APC	= Adenoma Poliposis Coli
ATP	= <i>Adenosine Tri-Phospate</i>
CD	= Cluster differntiation
CDK	= <i>Cyclin Dependent Kinase</i>
CEA	= carcinogenic embriogenic antigen
CIN	= <i>Chromosomal Instability</i>
CTL	= Citotoksik T limfosit
DCC	= <i>Deleted in Colon Cancer</i>
DCC	= Deleted in colon cancer
DMH	= Dimethylhidrazine
DNA	= <i>Deoxyribo Nucleic Acid</i>
EGFR	= <i>Epidermal Growth Factor Receptor</i>
FGR	= <i>Fibroblast Growth Factor Receptor</i>
FU	= Flourouracil
GA	= Galic Acid
HLA-G	= Histocompatibility antigen, class 1,G/ Human leukocyte antigen
G	
HNPCC	= <i>Hereditary Nonpolyposis Colon Cancer</i>
Ifn	= Interferon
IHC	= Immunohistocymia
KIR	= Killer inhibitor receptor (sel Nk reseptor type)
LCS	= <i>Liquor Cerebro Spinalis</i>
MAPK	= <i>Mitogen-Activated Protein Kinase</i>
MHC	= <i>major histocompatibility complex</i>
MMR	= <i>mismatch repair</i>
MSI	= <i>Microsatellite Instability</i>

NCCN	= <i>National Comprehensive Cancer Network</i>
NK	= Natural killer
PDGF	= <i>Platelet-Derived Growth Factor Receptor</i>
RTK	= <i>Receptor Tyrosin Kinase</i>
TCR	= T cell receptor
Th	= Sel T helper
TME	= <i>Total Mesorectal Excision</i>
UMP	= <i>Uridine Mono-Phosphate</i>
UTP	= <i>Uridine Tri-Phosphate</i>

KATA PENGANTAR

Segala puji bagi 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 PENINGKATAN DENSITAS SEL
NK DAN EKSPRESI IFN- γ DARI TUMOR KOLON PADA 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, ingin kami menyampaikan ucapan terimakasih dan penghargaan yang sebesar-besarnya kepada :

1. Prof. Dr. H. Yos Johan Utama, S.H., M.Hum. selaku Rektor Universitas Diponegoro Semarang.
2. Prof. Dr. dr. Tri Nur Kristina, DMM, M.Kes selaku Dekan Fakultas Kedokteran.
3. Dr.dr.RA. Kisdjariatun RMD, M.Sc 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. KunSemedi Sp.B KBD, guru sekaligus pembimbing II dalam penelitian ini, yang selalu meluangkan waktu, dan tenaga dalam membimbing tesis ini hingga selesai.
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. Kepada guru-guru kami, staf pengajar Bagian Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
10. 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.

11. Isteri dan kakak tercinta atas kesabaran, dukungan moral dan semangat untuk menyusun dan menyelesaikan tesis ini.
12. Orang tua – orang tua kami atas dukungannya baik secara moral maupun finansial dalam menyelesaikan tesis ini.

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, November 2015

Junizal Firdaus