

**KHASIAT KOMBINASI 5FU-LEUCOVORIN DENGAN  
PHALERIA MACROCARPA PADA TUMOR KOLON:  
STUDI EKSPERIMENTAL TERHADAP IL-12 DAN SEBUKAN  
LIMFOSIT DI SEKITAR MASSA TUMOR KOLON TIKUS  
SPRAGUE DAWLEY**

***THE EFFECT COMBINATION OF 5FU-LEUCOVORIN WITH  
PHALERIA MACROCARPA:  
EXPERIMENTAL STUDY OF IL-12 AND LIMPHOCYTES  
SURROUNDING OF COLON TUMOR MASS IN SPRAGUE DAWLEY  
RATS***



**Magister Ilmu Biomedik**

**E. Dion P. Purba S.  
22010112410007**

**PROGRAM PASCA SARJANA  
MAGISTER ILMU BIOMEDIK  
UNIVERSITAS DIPONEGORO  
SEMARANG  
2016**

## TESIS

**KHASIAT KOMBINASI 5FU-*LEUCOVORIN* DENGAN  
*PHALERIA MACROCARPA* PADA TUMOR KOLON:  
STUDI EKSPERIMENTAL TERHADAP IL-12 DAN SEBUKAN LIMFOSIT  
DI SEKITAR MASSA TUMOR KOLON TIKUS *SPRAGUE DAWLEY***

Disusun Oleh

E. Dion P. Purba S.  
22010112410007

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji  
pada tanggal 7 Januari 2016  
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. B. Parish Budiono, MSiMed, SpB, SpBKBD  
NIP. 19730317201012 1 001

Mengetahui,

Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik  
Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

Dr. dr. RA. Kisdjamiatun RMD, M.Sc  
NIP.19640130 19903 2 001

## **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 dan lembaga pendidikan lainnya, serta tidak terdapat unsur-unsur 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

E. Dion P. Purba S.

## RIWAYAT HIDUP

### A. Identitas

Nama : Eko Dion Pandin Purba S  
NIM Magister Biomedik : 22010112410007  
NIM PPDS I Bedah : 22040111300017  
Tempat/Tgl Lahir : Ujung Pandang, 10 Februari 1982  
Agama : Kristen  
Jenis Kelamin : Laki-laki

### B. Riwayat Pendidikan

1. SD Katolik, Rembang : Lulus tahun 1994
2. SMPN 2, Rembang : Lulus tahun 1997
3. SMUN 3, Semarang : Lulus tahun 2000
4. FK-Univ. Kristen Maranatha, Bandung : Lulus tahun 2010
5. PPDS Ilmu Bedah FK UNDIP : (2012 - sekarang)
6. Magister Ilmu Biomedik PPS UNDIP : (2012 - sekarang)

### C. Riwayat Pekerjaan

1. Dokter Klinik di Bandung, Jawa Barat

### D. Riwayat Keluarga

1. Nama Ayah : Jarisden Purba
2. Nama Ibu : Deogiva Pandin

## KATA PENGANTAR

Puji syukur bagi Tuhan Yang Maha Kudus yang telah memberikan berkat dan bimbingan-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis yang berjudul:

**KHASIAT KOMBINASI 5FU-*LEUCOVORIN* DENGAN**

***PHALERIA MACROCARPA* PADA TUMOR KOLON:**

**STUDI EKSPERIMENTAL TERHADAP IL-12 DAN SEBUKAN LIMFOSIT DI SEKITAR**

**MASSA TUMOR 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 sumbangsih terhadap perkembangan ilmu di bidang bedah terutama bidang bedah onkologi.

Pada kesempatan yang baik ini, penulis 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 (tahun 2015-sekarang) dan penguji.
3. Dr. dr. Awal Prasetyo, M.Kes, Sp. THT-KL, selaku Pembantu Dekan III Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro (tahun 2015-sekarang) dan penguji.

4. DR. dr. RA. Kisdjamiatun RMD, M.Sc selaku Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro (tahun 2015-sekarang)
5. dr. A. Zulfa Juniarto, Msi. Med, Sp. And, PhD, selaku Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro (tahun 2014-Desember 2015)
6. dr. Sahal Fatah, SpB, SpBTKV, 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.
7. dr. Benny Issakh, SpB,.SpB(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.
8. Dr. dr. Selamat Budijitno, M.Si Med, SpB, SpB(K)Onk, guru sekaligus pembimbing I dalam penelitian ini, atas segala waktu, tenaga dan bimbingan yang diberikan sehingga tesis ini dapat selesai.
9. dr. Bernardus Parish B, SpB, SpB-KBD, guru sekaligus pembimbing II dalam penelitian ini, yang selalu meluangkan waktu, dan tenaga dalam membimbing tesis ini hingga selesai.

10. Kepada guru-guru kami, staf pengajar Bagian Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
11. 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.
12. 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.
13. dr. Dewi Meika M, S.Ked, atas dukungan moral, masukan, dan semangat untuk menyusun dan menyelesaikan tesis ini.
14. Keluarga penulis yang terkasih, atas dukungannya baik secara moral, semangat, masukan, dan finansial, serta doa dalam menyusun dan menyelesaikan tesis ini.

Penulis menyadari bahwa tesis ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu penulis ucapkan banyak terima kasih atas saran dan kritik yang ada. Akhir kata, penulis memohon maaf atas segala kesalahan, baik itu perkataan atau perbuatan yang terjadi selama masa penyelesaian tesis ini.

Semarang, Desember 2015

Eko Dion Pandin Purba S.

## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
LEMBAR PENGESAHAN .....	ii
PERNYATAAN.....	iii
RIWAYAT HIDUP.....	iv
KATA PENGANTAR .....	v
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR GAMBAR .....	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
DAFTAR SINGKATAN .....	xiv
ABSTRAK .....	xvii
<i>ABSTRACT</i> .....	xviii
<b>BAB 1. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
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
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>15</b>
2.1. Kanker Kolon.....	15
2.1.1. Epidemiologi.....	15
2.1.2. Anatomi dan Histologi .....	16
2.1.3. Etiologi dan Patogenesis .....	18
2.1.4. Klasifikasi .....	20
2.1.5. Penatalaksanaan .....	23
2.1.6. Prognosis.....	24
2.2. Respon Imunologis Terhadap Sel Tumor .....	26
2.2.1. Antigen tumor .....	28



2.2.2. Sebukan Limfosit.....	29
2.3.3. Interleukin 12 (IL-12) .....	33
2.3. <i>Phaleria macrocarpa</i> .....	35
2.4. 5FU- <i>Leucovorin</i> .....	39
2.5. <i>1,2 Dimethylhydrazine</i> (1,2-DMH) .....	44
<b>BAB 3. KERANGKA TEORI, KONSEP, DAN HIPOTESIS .....</b>	<b>46</b>
3.1. Kerangka Teori .....	46
3.2. Kerangka Konsep.....	47
3.3. Hipotesis .....	47
<b>BAB 4. METODE PENELITIAN.....</b>	<b>48</b>
4.1. Desain Penelitian .....	48
4.2. Populasi dan Sampel Penelitian .....	49
4.2.1. Populasi .....	49
4.2.2. Sampel .....	50
4.3. Waktu dan Lokasi Penelitian .....	51
4.4. Variabel Penelitian.....	51
4.4.1. Variabel Bebas .....	51
4.4.2. Variabel Tergantung .....	51
4.4.3. Definisi Operasional .....	52
4.5. Analisis Data.....	52
4.6. Prosedur Pengumpulan Data.....	53
4.7. Alur Kerja .....	54
4.8. Etika Penelitian.....	54
<b>BAB 5. HASIL PENELITIAN .....</b>	<b>56</b>
5.1. Analisis Deskriptif .....	57
5.1.1. Deskripsi Data ekspresi IL-12.....	57
5.1.2. Deskripsi Data Jumlah Sebukan Limfosit di Sekitar Massa Tumor Kolon .....	58
5.2. Uji Komparasi Ekspresi IL-12 dan Jumlah Limfosit di Sekitar Massa Tumor Kolon .....	59
5.3. Uji Korelasi Ekspresi IL-12 dan Jumlah Sebukan Limfosit di Sekitar	

Massa Tumor Kolon .....	61
BAB 6. PEMBAHASAN .....	63
BAB 7. SIMPULAN DAN SARAN .....	74
7.1. Simpulan .....	74
7.2. Saran .....	74
DAFTAR PUSTAKA .....	76
LAMPIRAN .....	81

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Skema Kejadian Morfologi dan Molekuler Tumorigenesis Kolorektal .....	20
Gambar 2. Reaksi Limfosit T Spesifik ( <i>Immune T-Cell Mediated</i> ) .....	33
Gambar 3. Tahapan Sitolitik Sel Target Oleh CTL.....	34
Gambar 4. Biologi IL-12 .....	35
Gambar 5. Mekanisme Kerja 5FU- <i>Leucovorin</i> .....	41
Gambar 6. Modulasi Aktivitas 5FU.....	42
Gambar 7. Mekanisme Inhibisi <i>Thymidylate Synthase</i> (TS) Oleh 5FU .....	42
Gambar 8. Aktivasi p53 Oleh 5FU .....	43
Gambar 9. Fase-Fase Dalam Siklus Sel.....	43
Gambar10. <i>Consolidated Report</i> Penelitian.....	57
Gambar11. Grafik Box Plot Ekspresi IL-12 .....	58
Gambar12. Grafik Box Plot Jumlah Sebulan Limfosit di Sekitar Massa Tumor Kolon.....	59

## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Perbandingan <i>5-Year Survival Rates</i> Antara Klasifikasi <i>Dukes</i> , <i>Staging</i> , dan Sistem TNM.....	25
Tabel 2. Total Kandungan Fenol dan Flavonoid Dari Berbagai Bagian Buah <i>Phaleria macrocarpa</i> .....	38
Tabel 3. Nilai IC50 Dari Ekstrak <i>Phaleria macrocarpa</i> Terhadap Kanker.....	38
Tabel 4. Karakteristik Data Ekspresi IL-12.....	58
Tabel 5. Karakteristik Data Jumlah Sebukan Limfosit di Sekitar Massa Tumor Kolon.....	59
Tabel 6. Deskripsi dan Distribusi Normalitas Data Ekspresi IL-12.....	60
Tabel 7. Uji T Tidak Berpasangan Pada Ekspresi IL-12 .....	60
Tabel 8. Deskripsi dan Distribusi Normalitas Data Jumlah Sebukan Limfosit di Sekitar Massa Tumor .....	60
Tabel 9. Uji T Tidak Berpasangan Pada Jumlah Sebukan Limfosit di Sekitar Massa Tumor.....	61
Tabel 10. Deskripsi Data Ekspresi IL-12 dan Jumlah Sebukan Limfosit di Sekitar Massa Tumor Kolon.....	61
Tabel 11. Hasil Uji Korelasi <i>Pearson's</i> Ekspresi IL-12 dan Jumlah Sebukan Limfosit di Sekitar Massa Tumor.....	62

## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. <i>Ethical Clearance</i> Penelitian .....	81
Lampiran 2. Perhitungan Dosis Konversi Penelitian .....	82
Lampiran 3. Bahan dan Alat Dalam Penelitian.....	83
Lampiran 4. Prosedur Penelitian .....	84
Lampiran 5. Hasil Penghitungan Penelitian.....	93
Lampiran 6. Foto Penelitian .....	94
Lampiran 7. Gambaran Mikroskopis Hasil Penelitian.....	96
Lampiran 8. Data Statistik Penelitian.....	98

## DAFTAR SINGKATAN

5FU	= <i>5-Fluorouracyl</i>
µg	= mikrogram
a.	= arteri
ABC	= <i>Avidin-Biotin-Peroxidase Complex</i>
ADCC	= <i>Antibody-Dependent Cellular Cytotoxicity</i>
ADP	= <i>Adenosin Diphosphate</i>
APC	= <i>Adenoma poliposis coli</i>
APC	= <i>Antigen Presenting Cell</i>
AS	= Amerika Serikat
ATP	= <i>Adenosine Tri-Phosphate</i>
CD4 <sup>+</sup>	= <i>Cluster of Differentiation 4</i>
CD8	= <i>Cluster of Differentiation 8</i>
CDK	= <i>Cyclin Dependent Kinase</i>
CIN	= <i>Chromosomal Instability</i>
cm	= <i>centimeter</i>
CTL	= <i>Cytotoxic T-Lymphocyte</i>
DC	= <i>Dendritic Cell</i>
DCC	= <i>Deleted in Colon Cancer</i>
DFS	= <i>Disease Free Survival</i>
DISC	= <i>Death Inducing Signaling Complex</i>
DMH	= <i>1,2 Dimethylhidrazine</i>
DNA	= <i>Deoxyribo Nucleic Acid</i>
dUMP	= <i>2' Deoxyuridine 5' Monophosphate</i>
dUTP	= <i>2' Deoxyuridine 5' Triphosphate</i>
EGFR	= <i>Epidermal Growth Factor Receptor</i>
FAS	= <i>Fatty Acid Synthase</i>
FASL	= <i>Fatty Acid Synthase Ligand</i>
Fc	= <i>Fragment</i>
FdUMP	= <i>5' Fluoro 2' Deoxyuridine 5' O Monophosphate</i>

FGR = *Fibroblast Growth Factor Receptor*  
GA = *Gallic Acid*  
HE = *Hematoxylin-Eosin*  
HNPCC = *Hereditary Nonpolyposis Colon Cancer*  
IFN = *Interferon*  
IFN- $\gamma$  = *Interferon  $\gamma$*   
Ig = *Imunoglobulin*  
IgG = *Imunoglobulin G*  
IL-12 = *Interleukin 12*  
LCS = *Liquor Cerebro Spinalis*  
K-ras = *Kirsten Rat Sarcoma*  
MAF = *Macrophage Activating Factor*  
MAPK = *Mitogen-Activated Protein Kinase*  
MHC = *Major Histocompatibility Complex*  
ml = *mililiter*  
mm = *milimeter*  
MMC = *Mixed Model Coexpression*  
MMR = *Mismatch Repair*  
MSI = *Microsatellite Instability*  
NCCN = *National Comprehensive Cancer Network*  
NO = *Nitrit Oxide*  
OS = *Overall Survival*  
PDGF = *Platelet-Derived Growth Factor Receptor*  
PM = *Phaleria macrocarpa*  
RI = *Republik Indonesia*  
RTK = *Receptor Tirosin Kinase*  
s.c. = *subcutan*  
Th = *T-helper lymphocyte*  
TME = *Total Mesorectal Excision*  
TNF = *Tumor Necrotizing Factor*  
TNF- $\alpha$  = *Tumor Necrotizing Factor  $\alpha$*

TS = *Thymidylate synthase*

Ts = *T-supressor lymphocyte*

UMP = *Uridine Mono-Phosphate*

UTP = *Uridine Tri-Phosphate*

v. = *vena*

VEGF = *Vascular Endothelial Growth Factor*



**KHASIAT KOMBINASI 5FU-LEUCOVORIN DENGAN  
PHALERIA MACROCARPA PADA TUMOR KOLON:  
STUDI EKSPERIMENTAL TERHADAP IL-12 DAN SEBUKAN LIMFOSIT  
DI SEKITAR MASSA TUMOR KOLON TIKUS *SPRAGUE DAWLEY***

Eko Dion Pandin Purba S\*, Selamat Budijitno\*\*, Bernardus Parish Budiono\*\*\*

\*) 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

Insidensi kanker kolon di dunia meningkat, dan penyebab kematian terbanyak. 5FU-Leucovorin merupakan *first line* yang saat ini direkomendasikan. Penggunaan imunoterapi meningkat. *Phaleria macrocarpa* (PM) sebagai imunostimulator dan anti tumor. PM berperan dalam peningkatan ekspresi IL-12 dan proliferasi serta aktivitas limfosit di sekitar massa tumor. Pemberiannya bersama PM diharapkan meningkatkan ekspresi IL-12 dan jumlah sebulan limfosit di sekitar massa tumor, dan bersinergi dalam membunuh sel tumor.

#### Metode

Metode penelitian adalah eksperimental dengan *Randomized post test control group only design*. Duabelas ekor tikus betina *Sprague dawley* yang berhasil diinokulasi adenokarsinoma kolorektal dibagi menjadi 2 kelompok : kontrol/K (5FU) dan kelompok perlakuan/P1 (5FU + PM 0.495 mg/hari). Kemoterapi diberikan 6 siklus sesuai *Rosswell Park Regiment*. Perlakuan selama 6 minggu, pemeriksaan patologi menggunakan pengecatan Hematosiklin-Eosin (HE) dan pewarnaan dengan antibodi IL-12, penghitungan jumlah limfosit di sekitar massa tumor kolon dan ekspresi IL-12. Uji korelasi menggunakan *Pearson's*.

#### Hasil

Lima FU-Leucovorin+PM meningkatkan ekspresi IL-12 dan jumlah sebulan limfosit di sekitar massa tumor kolon secara bermakna ( $p < 0,05$ ) dibanding pemberian 5FU-Leucovorin saja. Pada uji korelasi terdapat hubungan yang positif kuat antara keduanya ( $p = 0,0001$  dan  $r = 0,836$ ).

#### Kesimpulan

PM merupakan imunostimulator potensial yang berefek sinergis meningkatkan ekspresi IL-12 dan jumlah limfosit di sekitar massa tumor kolon bila diberikan bersama 5FU-Leucovorin.

Kata kunci : *Phaleria macrocarpa*, 5FU-Leucovorin, adenokarsinoma kolon, sebulan limfosit di sekitar massa tumor, ekspresi IL-12

**THE EFFECT COMBINATION OF 5FU-LEUCOVORIN WITH PHALERIA  
MACROCARPAE:  
EXPERIMENTAL STUDY OF IL-12 AND LIMPHOCYTES SORROUNDING OF COLON  
TUMOR MASS IN SPRAGUE DAWLEY RATS**

Purba S Eko Dion Pandin \*; Budijitno S\*\*; Budiono Bernardus Parish \*\*\*

\*) 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

World colon cancer incidence increase with high mortality rate. 5FU-*Leucovorin* was still as gold standart of chemotherapy agent for colorectal cancer, but it has harm cytotoxicity. In recent years, the utilization of certain medicinal plants as therapeutic agents has increased. *Phaleria macrocarpa* (PM) is known as immunostimulatory and anti-tumor suspected. Its flavonoid increase IL-12 titer, also proliferation and activity of lymphocyte around tumor mass. Combination of 5FU-*Leucovorin*+PM is expected to increase the IL-12 titer and lymphocytes around colon tumor mass, and also synergy in killing tumor cells.

#### Method

Method with *randomized post test control group only design*. Twelve *Sprague dawley* rats who were successfully inducted with *adenocarsinoma* colorectal cancer cells, were randomly allocated into 2 groups: control group/K (5FU-*Leucovorin*) and treated group/P1(5FU-*Leucovorin*+PM 0.495mg/day). Chemotherapy was given 6 cycles as *Rosswell Park Regiment*. After treatment for 6 weeks, tumor pathology is prepared for examination using immunohistochemical and HE staining, the IL-12 titer and total lymphocytes around the colon tumor mass was count. The correlation test was using *Pearson's*.

#### Result

Administration of 5FU-*Leucovorin*+PM increases the IL-12 titer and total lymphocytes around colon tumor mass significantly ( $p < 0.05$ ) compared with only 5FU-*Leucovorin*. The correlation test was a strong positive correlation between the two ( $p = 0,001$  dan  $r = 0,836$ ).

#### Conclusion

PM is an immunostimulatory potential to have a synergistic effect when administered together with 5FU-*Leucovorin* in increasing the IL-12 titer and total lymphocytes around colon tumor mass.

**Keywords:** *Phaleria macrocarpa*, 5FU-*Leucovorin*, adenocarcinoma colon, lymphocyte around tumor mass, IL 12 titers.