

**Pengaruh Ekstrak *Artemisia vulgaris* terhadap  
Ekspresi *P53* dan *Caspase-8***

**(Studi pada Adenokarsinoma Mammae Mencit C3H yang Diberi Regimen  
Kemoterapi Adriamycin-Cyclophosphamide)**

***Effect of Artemisia vulgaris Extract on  
P53 Expression and Caspase-8 Expression***

***(Study on Adenocarcinoma Mammae C3H Mice Given Adriamycin-  
Cyclophosphamide Chemotherapy Regimen)***



**Tesis**

**Untuk memenuhi sebagian persyaratan  
mencapai derajat Sarjana S-2**

**Magister Ilmu Biomedik**

**Jonathan Sugiharto**

**22010116420020**

**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS DIPONEGORO  
SEMARANG**

**2018**

## **Thesis**

Pengaruh Ekstrak *Artemisia vulgaris* terhadap  
Ekspresi *P53* dan *Caspase-8*  
(Studi pada Adenokarsinoma Mammae Mencit C3H yang Diberi Regimen  
Kemoterapi Adriamycin-Cyclophosphamide)

Disusun Oleh :  
Jonathan Sugiharto  
22010116320002

Menyetujui,

Pembimbing I

Pembimbing II

Dr. dr. Hardian  
NIP.19630414 199001 1 001

Dr.dr. Selamat Budijitno, M.Si.Med, Sp.B, SpB(K)Onk, FICS  
NIP. 19710807 2008121001

Mengetahui,

Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik  
Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

Dr. dr. Yan Wisnu Prajoko, M.Kes, Sp.B, Sp.B(K)Onk  
NIP. 197501242008011006

## **PERNYATAAN**

Dengan ini saya menyatakan bahwa proposal 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. Pengetahuan yang diperoleh dari hasil penerbitan maupun yang belum/tidak diterbitkan, sumbernya dijelaskan di dalam tulisan dan daftar pustaka.

Semarang, April 2017

Jonathan Sugiharto

## **RIWAYAT HIDUP**

### **A. Identitas**

Nama : Jonathan Sugiharto  
NIM : 22010116420020  
Tempat / Tanggal Lahir : Surabaya, 3 Mei 1989  
Agama : Katolik  
Jenis Kelamin : Laki-laki

### **B. Riwayat Pendidikan**

1. SDK Santa Clara, Surabaya : lulus tahun 2001
2. SLTP Santa Clara, Surabaya : lulus tahun 2004
3. SMAK St Louise 1, Surabaya : lulus tahun 2007
4. FK Universitas Hang Tuah, Surabaya : lulus tahun 2013
5. Magister Ilmu Biomedik FK UNDIP : 2017 – sekarang

### **C. Riwayat Pekerjaan**

1. Dokter Rumah Sakit RSUD Kota Bangun Kutai Kartanegara tahun 2016 – 2017

### **D. Riwayat Keluarga**

1. Nama Orang Tua

Ayah : dr. Dharmawan Sugiharto Sp.B

Ibu : dr. Scholastica Aman Widjaya

## KATA PENGANTAR

Puji syukur kami panjatkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa yang telah memberikan rahmat dan berkah-Nya, sehingga kami dapat menyelesaikan tesis yang berjudul “Pengaruh Ekstrak *Artemisia vulgaris* terhadap Ekspresi *P53* dan Caspase-8 pada Adenokarsinoma Mammae Mencit C3H (Studi pada Adenokarsinoma Mammae Mencit C3H yang Diberi Regimen Kemoterapi Adriamycin-Cyclophosphamide)”.

Penelitian ini diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar derajat sarjana S-2 Magister Ilmu Biomedik 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. dr. Tri Nur Kristina, DMM, M.Kes selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
2. Dr. dr. Yan Wisnu Prajoko, M.Kes, Sp.B, Sp.B(K)Onk selaku Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro (2017 – sekarang).
3. Dr. dr. Kis Djamiatun RMD, M.Sc selaku Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro (2015 – 2017).

4. Dr. dr. Selamat Budijitno, M.Si.Med, Sp.B, Sp.B.(K)Onk, FICS guru sekaligus pembimbing I dalam penelitian ini, atas segala waktu, tenaga dan bimbingan yang diberikan sehingga tesis ini dapat diselesaikan.
5. Dr. dr. Hardian sebagai pembimbing II dalam penelitian ini, atas segala waktu, tenaga dan bimbingan yang diberikan sehingga tesis ini dapat diselesaikan.
7. Guru-guru Program Studi Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro yang telah memberi pengetahuan dan bimbingan kepada kami serta memberikan motivasi selama mengikuti program pendidikan magister dan penyusunan tesis ini.
8. Semua rekan mahasiswa Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, karyawan dan karyawan Program Studi Magister Ilmu Biomedik Universitas Diponegoro serta staf yang telah membantu kami selama dalam penelitian hingga penyusunan tesis.
9. Pimpinan dan staf Lembaga Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) Universitas Gajah Mada Yogyakarta atas bantuan dan kerjasamanya dalam melaksanakan penelitian untuk menyelesaikan tesis ini.
10. dr. Novan Adi Setiawan, Sp.PA serta staf Bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta atas bantuan dalam pembuatan, pewarnaan dan pembacaan preparat hasil penelitian tesis ini.
11. Orang tua kami Bapak Dharmawan Sugiharto dan Ibu Scholastica Aman Widjaya atas dukungannya dalam menyelesaikan tesis ini.

12. Istri yang tercinta Salvata Andrina Savira atas kesabaran, dukungan moral dan semangat bagi kami untuk menyusun dan 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, Mei 2018

Jonathan Sugiharto

## 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 .....	xvi
ABSTRACT .....	xvii
BAB 1 PENDAHULUAN .....	1
1.1. Latar belakang .....	1
1.2. Perumusan masalah .....	6
1.3. Tujuan penelitian .....	6
1.4. Manfaat penelitian .....	7
1.5. Orisinalitas penelitian .....	8
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA .....	10



2.1. Adenokarsinoma mammae.....	10
2.1.1. Definisi.....	10
2.1.2. Epidemiologi.....	10
2.1.3. Faktor Resiko.....	11
2.1.4. Klasifikasi.....	14
2.1.5. Modalitas Terapi Kanker Payudara.....	17
2.2. Karsinogenesis.....	19
2.3. Mekanisme Siklus Sel Eukariot.....	24
2.4. P53.....	30
2.5. Adriamycin.....	37
2.6. Cyclophosphamide.....	39
2.7. Apoptosis.....	42
2.8. Artemisia vulgaris.....	46
<b>BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS .....</b>	<b>50</b>
3.1. Kerangka teori .....	50
3.2. Kerangka konsep .....	51
3.3. Hipotesis penelitian .....	51
<b>BAB 4 METODE PENELITIAN .....</b>	<b>52</b>
4.1. Rancangan penelitian .....	52
4.2. Sampel penelitian.....	53
4.3. Waktu dan lokasi penelitian .....	53

4.4. Variabel penelitian .....	54
4.5. Definisi operasional .....	54
4.6. Bahan dan alat peneltian.....	56
4.7. Alur Kerja .....	59
4.8. Analisis data .....	60
4.9. Cara pengumpulan data.....	60
4.10. Persyaratan etik penelitian.....	61
BAB 5 HASIL PENELITIAN .....	62
5.1. Ekspresi P53.....	63
5.2. Ekspresi Caspase-8.....	65
5.3. Korelasi P53 dan Caspase-8.....	67
BAB 6 PEMBAHASAN .....	68
BAB 7 SIMPULAN DAN SARAN .....	71
7.1. Simpulan .....	71
7.2. Saran .....	71
DAFTAR PUSTAKA .....	73
LAMPIRAN	

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1	Siklus sel dan <i>check point</i> ..... 26
Gambar 2	Kontrol terhadap perkembangan sel Cyclin – CDK ..... 28
Gambar 3	Aktivitas regulasi kompleks Cyclin – CDK terhadap siklus sel.. 29
Gambar 4	Gen TP53 berada di kromosom 17..... 35
Gambar 5	Representasi skematik molekul p53..... 35
Gambar 6	Struktur kimia <i>Adriamycin (Doxorubicin)</i> ..... 38
Gambar 7	Struktur kimia <i>Cyclophosphamide</i> ..... 40
Gambar 8	Perubahan morfologi sel pada Apoptosis..... 43
Gambar 9	Mekanisme Apoptosis..... 44
Gambar 10	Tanaman <i>Artemisia vulgaris</i> ..... 47
Gambar 11	<i>Consolidated report</i> penelitian ..... 62
Gambar 12	Grafik box plot data p53..... 64
Gambar 13	Grafik box plot data Caspase-8..... 66

## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1 Orisinalitas penelitian .....	8
Tabel 2 Karakteristik data <i>P53</i> .....	62
Tabel 3 Analisis <i>Post Hoc</i> kadar <i>P53</i> antar kelompok .....	62
Tabel 4 Karakteristik data <i>Caspase-8</i> .....	65
Tabel 5 Analisis <i>Post Hoc Caspase-8</i> antar kelompok.....	65
Tabel 6 Hasil uji Korelasi <i>Pearsons</i> .....	67

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Perhitungan dosis konversi
Lampiran 2	Hasil pengukuran penelitian
Lampiran 3	Foto penelitian
Lampiran 4	Gambaran mikroskopis pengecatan IHC p53
Lampiran 5	Gambaran mikroskopis pengecatan IHC Caspase-8
Lampiran 6	Data statistic
Lampiran 7	Ethical clearance
Lampiran 8	Surat sampel simplisia dari IPB
Lampiran 9	Sertifikat kesehatan hewan laboratorium
Lampiran 10	Surat ijin penelitian dari LPPT UGM
Lampiran 11	Surat ijin penelitian dari Patologi Anatomi FK UNS

## DAFTAR SINGKATAN

1. 5-FU     *5-Fluorouracil*
2. AC        *Adriamycin – Cyclophosphamide*
3. ADP       *Adenosine Diphosphate*
4. ART        *Artemisinin*
5. ATP        *Adenosine Triphosphate*
6. APC        *Antigen Presenting Cell*
7. BFGF      *Basic Fibroblast Growth Factor*
8. BRCA      *Breast Cancer Gene*
9. CD         *Cluster of Determinant*
10. CDK      *Cyclin Dependent Kinase*
11. CMF      *Cyclophosphamide, Methotrexate, Fluorouracil*
12. CTL      *Cytotoxic T Lymphocyte*
13. Co60     *Cobalt 60*
14. COX-2    *Cyclooxygenase-2*
15. DNA      *Deoxyribo Nucleic Acid*
16. DTH      *Delayed Type Hypersensitivity*
17. ER         *Estrogen Receptor*
18. FAC      *Fluorouracil, Doxorubicin, Cyclophosphamide*
19. FEC      *Fluorouracil, Epirubicin, Cyclophosphamide*
20. Her2     *Human Epidermal Growth Factor Receptor 2*

21. ICAM *Intercellular Adhesion Molecules*
22. IFN- $\gamma$  Interferon gamma
23. IgG Immunoglobulin G
24. LAK *Lymphocyte-activated Killer*
25. MAF *Macrophage Activating Factor*
26. MHC *Major Histocompatibility Complex*
27. MMP *Matrix Metallo Proteinase*
28. NF $\kappa$ B *Nuclear Factor kappa Gene Binding*
29. NK *Natural Killer Cells*
30. P53 Protein 53
31. PR *Progesteron Receptor*
32. Rb Retinoblastoma
33. RNA *Ribo Nucleic Acid*
34. ROS *Reactive Oxygen Species*
35. Th1 *T helper 1*
36. TIL *Tumor Infiltrating Lymphocyte*
37. TIMP *Tissue Inhibitor of Matrix Metallo Proteinase*
38. TNF *Tumor Necrosis Factor*
39. VEGF *Vascular Endothelial Growth Factor*

**Pengaruh Ekstrak *Artemisia vulgaris* terhadap  
Ekspresi *p53* dan *Caspase-8*  
(Studi pada Adenokarsinoma Mammae Mencit C3H yang Diberi Regimen  
Kemoterapi Adriamycin-Cyclophosphamide)  
Sugiharto J\*, Hardian \*\*, Budijitno S\*\*\***

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

\*\*) Staf Bagian Ilmu Fisiologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Semarang

\*\*\*) Staf Sub Bagian Bedah Onkologi Universitas Diponegoro / RSUP dr. Kariadi, Semarang

**Abstrak**

**Pendahuluan :** Insiden kanker payudara di dunia masih tinggi. Pembedahan tetap merupakan pilihan utama dengan modalitas lain berupa kemoterapi, radiasi, dan imunoterapi seperti *Artemisia vulgaris* (AV).

**Tujuan :** Menganalisis peningkatan respon efek apoptosis *Adriamycin-Cyclophosphamide* pada adenokarsinoma mammae mencit C3H yang diberi ekstrak *Artemisia Vulgaris*.

**Metode :** Penelitian ini menggunakan desain "*Post test only control group design*" terhadap 24 ekor mencit C3H betina dipilih secara acak dan dibagi menjadi empat kelompok, yaitu : kelompok K (kontrol), P1 (kemoterapi), P2 (ekstrak), dan P3 (kombinasi). Adenokarsinoma mammae berasal dari inokulasi mencit donor. Kemoterapi Adriamycin 0,18 mg dan Cyclophosphamide 1,8 mg diberikan sebanyak 2 siklus. AV diberikan dengan dosis 13 mg (0,2 ml) sekali sehari peroral. Kadar *p53* dan *Caspase-8* dinilai dengan pengecatan imunohistokimia

**Hasil :** Rerata kadar *p53* dan *Caspase-8* didapatkan kelompok K, P1, P2, P3 berturut-turut  $22,06 \pm 1,73$ ,  $37,16 \pm 1,20$ ,  $24,60 \pm 1,08$ ,  $39,78 \pm 1,19$  dan  $17,16 \pm 1,28$ ,  $26,20 \pm 1,11$ ,  $24,60 \pm 1,08$ ,  $39,78 \pm 1,19$ . Analisis statistik menunjukkan terdapat perbedaan bermakna pada kadar *p53* antara kelompok K vs P1, P3 ( $p = 0,001$ ), K vs P2 ( $p = 0,048$ ), P1 vs P2 ( $p = 0,001$ ), P1 vs P3 ( $p = 0,039$ ), P2 vs P3 ( $p = 0,001$ ) dan pada *Caspase-8* antara kelompok K vs P1, P3 ( $p = 0,001$ ), K vs P2 ( $p = 0,048$ ), P1 vs P2 ( $p = 0,001$ ), P1 vs P3 ( $p = 0,039$ ), P2 vs P3 ( $p = 0,001$ ). Analisis korelasi antara kadar *p53* dengan *Caspase-8* didapatkan korelasi bermakna ( $p = 0,047$  dan  $r = 0,883$ ).

**Kesimpulan :** *Artemisia vulgaris* dapat meningkatkan efektifitas kemoterapi *Adriamycin-Cyclophosphamide* pada mencit C3H dengan adenokarsinoma mammae dalam meningkatkan kadar *p53* dan *Caspase-8*.

**Kata kunci :** *Artemisia vulgaris*, adenokarsinoma mammae, *p53*, *Caspase-8*.



***Effect of Artemisia vulgaris Extract on  
P53 Expression and Caspase-8 Expression  
(Study on Adenocarcinoma Mammae C3H Mice Given Adriamycin-  
Cyclophosphamide Chemotherapy Regimen)***  
Sugiharto J\*, Hardian \*\*, Budijitno S\*\*\*

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

\*\*) Staff on Physiology of Medicine Faculty / Diponegoro University, Semarang

\*\*) Staff on Oncology Surgery of Diponegoro Universitas / RSUP dr. Kariadi, Semarang

**Abstract**

**Background :** The incidence of breast cancer worldwide is still high. Surgery remains the top choice with other modalities of chemotherapy, radiation, and immunotherapy such as *Artemisia vulgaris* (AV).

**Aims :** The study was aimed to demonstrate that administration of AV extract increased the levels of *p53* and *Caspase-8* in adenocarcinoma mammae.

**Methods :** This study used "Post test only control group design" on 24 females C3H mice that were randomly selected and divided into four groups : group K (control), P1 (chemotherapy), P2 (extract), and P3 (combination). Adenocarcinoma mammae comes from the inoculation of donor mice. Chemotherapy of Adriamycin 0,18 mg and Cyclophosphamide 1,8 mg were given in 2 cycles. AV 13 mg (0.2 ml) was given once daily orally. *P53* and *Caspase-8* levels were evaluated by imunohistochemical staining.

**Results :** Mean of *p53* and *Caspase-8* levels were found in groups K, P1, P2, P3 were  $22,06 \pm 1,73$ ,  $37,16 \pm 1,20$ ,  $24,60 \pm 1,08$ ,  $39,78 \pm 1,19$  dan  $17,16 \pm 1,28$ ,  $26,20 \pm 1,11$ ,  $24,60 \pm 1,08$ ,  $39,78 \pm 1,19$ . The statistical analysis showed that there were significant differences in the levels of *p53* between groups of K vs P1, P3 ( $p = 0,001$ ), K vs P2 ( $p = 0,048$ ), P1 vs P2 ( $p = 0,001$ ), P1 vs P3 ( $p = 0,039$ ), P2 vs P3 ( $p = 0,001$ ), and in *Caspase-8* between groups of K vs P1, P3 ( $p = 0,001$ ), K vs P2 ( $p = 0,048$ ), P1 vs P2 ( $p = 0,001$ ), P1 vs P3 ( $p = 0,039$ ), P2 vs P3 ( $p = 0,001$ ). Correlation analysis between *p53* and *Caspase-8* showed significant correlation ( $p = 0,047$  dan  $r = 0,883$ ).

**Conclusion :** *Artemisia vulgaris* can improve the effectivity of Adriamycin-Cyclophosphamide chemotherapy on C3H mice with adenocarcinoma mammae in terms of elevated levels of *P53* and *Caspase-8*.

**Keywords :** *Artemisia vulgaris*, adenocarcinoma mammae, *p53*, *Caspase-8*.