

**PENGARUH PEMBERIAN
EKSTRAK PHALERIA MACROCARPA TERHADAP
INDEKS APOPTOSIS SEL ADENOKARSINOMA
MAMMA DAN PERKEMBANGAN MASSA
TUMOR PAYUDARA MENCIT C3H**

*THE EFFECT OF PHALERIA MACROCARPA EXTRACT ON
APOPTOTIC INDEX AND TUMOUR MASS PROGRESSION OF
BREAST ADENOCARCINOMA C3H MICE*



Tesis

**Untuk memenuhi sebagian persyaratan
mencapai derajat Sarjana S2 dan
Program Pendidikan Dokter Spesialis I Bedah**

**dr. Teguh Suryanto
G4A002024**

**PROGRAM PASCA SARJANA
MAGISTER ILMU BIOMEDIK
DAN
PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS I BEDAH
UNIVERSITAS DIPONEGORO SEMARANG
2007**

Tesis

**PENGARUH PEMBERIAN
EKSTRAK PHALERIA MACROCARPA TERHADAP
INDEKS APOPTOSIS SEL ADENOKARSINOMA
MAMMA DAN PERKEMBANGAN MASSA
TUMOR PAYUDARA MENCIT C3H**

*THE EFFECT OF PHALERIA MACROCARPA EXTRACT ON
APOPTOTIC INDEX AND TUMOUR PROGRESSION OF
BREAST ADENOCARCINOMA C3H MICE*

Disusun oleh :

**dr. Teguh Suryanto
G4A002024**

Menyetujui :
Komisi Pembimbing

Pembimbing I

Pembimbing II

dr. Djoko Handojo, SpB, SpBOnk
NIP. 130 675 341

Prof. Dr. dr. I Riwanto, SpB, SpB-KBD
NIP. 130 529 454

Mengetahui :

Ketua
Program Studi PPDS I Bedah
Universitas Diponegoro

Ketua
Program Studi Magister Ilmu Biomedik
Program Pasca Sarjana
Universitas Diponegoro

dr. Sidharta Darsojono, SpB, SpU
NIP. 131 757 921

Prof. dr. Soebowo, SpPA(K)
NIP. 130 352 249

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. Pengetahuan yang diperoleh dari hasil penerbitan maupun yang belum/tidak diterbitkan, sumbernya dijelaskan di dalam tulisan dan daftar pustaka.

Semarang, Maret 2007

Penulis

RIWAYAT HIDUP SINGKAT

A. IDENTITAS

Nama : dr. Teguh Suryanto
NIM Magister Biomedik : G4A002024
NIM PPDS I Bedah : G3A002013
Tempat / Tgl lahir : Semarang, 9 Juli 1968
Agama : Islam
Jenis kelamin : Laki-laki

B. Riwayat Pendidikan

1. SD : SD Kanisius Semarang, lulus tahun 1981
2. SMP : SMP N 1 Semarang, lulus tahun 1984
3. SMA : SMA N 1 Semarang, lulus tahun 1987
4. FK UNDIP Semarang Jawa Tengah : lulus tahun 1995
5. PPDS I Ilmu Bedah FK UNDIP Semarang Jawa Tengah
6. Magister Ilmu Biomedik Pasca Sarjana UNDIP Semarang Jawa Tengah

KATA PENGANTAR

Puji syukur dipanjatkan kehadiran Allah SWT atas limpahan rahmat dan anugerahNya, sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis dengan judul : Pengaruh Pemberian Ekstrak *Phaleria macrocarpa* terhadap Indeks Apoptosis Sel Adenokarsinoma Mamma dan Perkembangan Massa Tumor Payudara Mencit C3H.

Penelitian ini diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar derajat sarjana S2 Ilmu Biomedik Program Pasca Sarjana dan Program Pendidikan Dokter Spesialis I Bedah Universitas Diponegoro Semarang.

Penulis menyadari tugas ini tidak dapat terselesaikan dengan baik tanpa dukungan dari berbagai pihak. Kepada dr. Djoko Handojo, SpB, SpBOnk dan Prof. Dr. dr. I Riwanto, SpB, SpB-KBD sebagai dosen pembimbing , yang selalu memberikan dukungan moral yang tak ternilai harganya, penulis mengucapkan terima kasih atas bimbingan, sumbangan pikiran, serta kesabarannya dalam proses penyelesaian tesis ini.

Dalam kesempatan ini penulis juga menghaturkan terima kasih kepada :

1. dr. Soejoto, SpKK(K),Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang.
2. Prof. dr. H. Soebowo, SpPA(K), Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik Program Pasca Sarjana Universitas Diponegoro Semarang.
3. Prof. Dr. dr. Tjahjono, SpPA(K)FIAC, Ketua Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran UNDIP / RS dr. Kariadi Semarang.

4. dr. Djoko Handojo, SpB, SpBOnk, Ketua Bagian Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro / RSUP dr. Kariadi Semarang.
5. dr. Sidharta Darsojono, SpB, SpU, Ketua Program Studi PPDS I Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang.
6. dr. RB Bambang Witjahjo, MKes, Ketua Laboratorium Histologi FK UNDIP Semarang.
7. dr. Harijadi, SpPA(K), Kepala Instalasi Patologi Anatomi RSU Sardjito – FK UGM Yogyakarta.
8. Tim penguji dan nara sumber yang telah dengan sabar berkenan memberi masukan, arahan dalam penelitian dan penulisan tesis ini.
9. Semua rekan sejawat Residen Ilmu Bedah FK UNDIP, pegawai Lab. Histologi FK UNDIP, pegawai Instalasi PA RS Sardjito - FK UGM Yogyakarta.
10. Ucapan terima kasih khusus kepada kedua orang tua dan mertua saya yang telah memberikan dukungan moril dan materiil untuk keberhasilan studi saya.
11. Tesis ini kupersembahkan untuk istriku Ariyanti, dan anak-anakku tercinta Zufar, dan Hanif.

Penulis menyadari bahwa penelitian ini masih jauh dari sempurna. Kritik dan saran demi kesempurnaan penelitian ini akan diterima dengan senang hati. Penulis berharap penelitian ini dapat berguna bagi masyarakat serta memberi sumbangan bagi perkembangan ilmu kedokteran.

Semarang, Maret 2007
Penulis

DAFTAR ISI

| | Halaman |
|------------------------------------|---------|
| HALAMAN JUDUL | i |
| LEMBAR PENGESAHAN | ii |
| PERNYATAAN | iii |
| RIWAYAT HIDUP | iv |
| KATA PENGANTAR | v |
| DAFTAR ISI | vii |
| DAFTAR GAMBAR | xi |
| DAFTAR TABEL | xii |
| DAFTAR LAMPIRAN | xiii |
| ABSTRAK (bahasa Indonesia) | xiv |
| ABSTRAK (bahasa Inggris) | xv |
| Bab 1. PENDAHULUAN | 1 |
| 1.1 Latar belakang | 1 |
| 1.2. Rumusan masalah | 4 |
| 1.3. Tujuan penelitian | 4 |
| 1.3.1. Tujuan umum | 4 |
| 1.3.2. Tujuan khusus | 4 |
| 1.4. Manfaat penelitian | 5 |

| | |
|---|----|
| Bab 2. TINJAUAN PUSTAKA | 6 |
| 2.1. Phaleria macrocarpa | 6 |
| 2.2. Respon imunologik terhadap sel tumor | 8 |
| 2.3. Mekanisme efektor dalam melawan tumor | 12 |
| 2.3.1. Peran makrofag dalam respon antitumor | 12 |
| 2.3.2. Antibodi yang diproduksi limfosit B berperan dalam sitotoksisitas sel tumor | 13 |
| 2.3.3. Limfosit T sebagai Efektor anti tumor | 14 |
| 2.3.4. Sel Natural Killer (NK) sebagai efektor anti tumor | 16 |
| 2.4. Apoptosis | 21 |
| 2.5. Kanker payudara | 24 |
| 2.5.1. Embriologi dan anatomi | 24 |
| 2.5.2. Etiologi dan patogenesis | 25 |
| 2.5.3. Klasifikasi | 27 |
| Bab 3. KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS | 28 |
| 3.1. Kerangka teori | 28 |
| 3.2. Kerangka konsep | 29 |
| 3.3. Hipotesis penelitian | 29 |
| Bab 4. METODE PENELITIAN | 30 |
| 4.1. Rancangan penelitian | 30 |
| 4.2. Sampel penelitian | 31 |
| 4.3. Waktu dan lokasi penelitian | 32 |

| | Halaman |
|--|---------|
| 4.4. Variabel penelitian | 32 |
| 4.4.1. Variabel bebas | 32 |
| 4.4.2. Variabel tergantung | 32 |
| 4.4.3. Definisi operasional | 33 |
| 4.5. Bahan dan alat penelitian | 33 |
| 4.5.1 Bahan untuk perlakuan | 33 |
| 4.5.2. Bahan transplantasi jaringan tumor pada mencit | 35 |
| 4.5.3. Bahan untuk pemeriksaan histopatologi rutin | 35 |
| 4.5.4. Alat transplantasi jaringan tumor pada mencit | 35 |
| 4.5.5. Alat untuk pembuatan sediaan penelitian dengan pewarnaan H&E | 36 |
| 4.5.6. Alat untuk pengukuran diameter tumor | 36 |
| 4.5.7. Alat untuk pengamatan dan dokumentasi | 36 |
| 4.6. Pelaksanaan penelitian | 36 |
| 4.7. Alur kerja | 37 |
| 4.8. Prosedur pemeriksaan | 38 |
| 4.8.1. Prosedur transplantasi tumor | 38 |
| 4.8.2. Prosedur pengukuran diameter tumor | 39 |
| 4.8.3. Prosedur pembuatan preparat histopatologi | 39 |
| 4.9. Cara mengumpulkan data | 40 |
| 4.10. Analisis data | 41 |
| BAB 5. HASIL | 42 |
| BAB 6. PEMBAHASAN | 50 |

| | Halaman |
|---------------------------------|---------|
| BAB 7. SIMPULAN DAN SARAN | 54 |
| DAFTAR PUSTAKA | 55 |

DAFTAR GAMBAR

| | Halaman |
|--|---------|
| Gambar-1. Aktifitas seluler pada sintesa <i>Nuclear Factor kappa-B</i> (NF- κ B) | 7 |
| Gambar-2. Flowchart jalur sinyal RTK-Ras-MAPK pada <i>receptor tyrosine kinase</i> | 8 |
| Gambar-3. Reaksi immune <i>T-Cell mediated</i> | 16 |
| Gambar-4. Tahapan sitolitik sel target oleh CTL | 16 |
| Gambar-5. Pengenalan sel target oleh sel-NK | 21 |
| Gambar-6. Jalur apoptosis sel target oleh reseptor CD95/Fas | 23 |
| Gambar-7. Jalur Apoptosis Sel Target yang diinduksi oleh granzyme B | 24 |
| Gambar-8. Grafik batang ukuran diameter tumor sebelum perlakuan. | 43 |
| Gambar-9. Grafik batang ukuran diameter tumor setelah perlakuan | 43 |
| Gambar-10. Grafik garis ukuran diameter tumor sebelum dan setelah perlakuan | 44 |
| Gambar-11. Grafik batang nilai rata-rata hasil penghitungan <i>indeks apoptosis</i> pada tiap kelompok percobaan | 45 |
| Gambar-12. Hasil post hoc test variable perkembangan tumor | 46 |
| Gambar-13. Hasil post hoc test variable indeks apoptosis | 48 |
| Gambar-14. Scatter plot uji korelasi Pearson untuk mean apoptosis body (x-axis) terhadap ukuran akhir tumor (y-axis) dengan $r=-0,773$ dan $p<0,001$ | 49 |

DAFTAR TABEL

| | Halaman |
|--|---------|
| Tabel-1. Tumor antigen yang menstimulasi respon sel-T | 9 |
| Tabel-2. Nilai hasil penghitungan ukuran diameter awal tumor pada tiap kelompok percobaan | 42 |
| Tabel-3. Nilai hasil penghitungan ukuran diameter tumor setelah perlakuan dan rata-rata selisih ukuran diameter tumor pada tiap kelompok percobaan | 43 |
| Tabel-4. Nilai rata-rata hasil penghitungan <i>indeks apoptosis</i> pada tiap kelompok percobaan | 44 |
| Tabel-5 Uji normalitas data selisih ukuran tumor tiap kelompok percobaan..... | 45 |
| Tabel-6 . Uji homogenitas data untuk selisih ukuran tumor..... | 46 |
| Tabel-7 . Hasil uji ANOVA pada variabel perkembangan massa tumor | 46 |
| Tabel-8 . Uji normalitas data indeks apoptosis tiap kelompok percobaan..... | 47 |
| Tabel-9 . Uji homogenitas indeks apoptosis data tiap kelompok percobaan..... | 47 |
| Tabel-10 . Uji ANOVA untuk variabel indeks apoptosis..... | 48 |
| Tabel-11 . Tabel Pearson's correlation test untuk variabel ukuran akhir tumor terhadap indeks apoptosis | 49 |

DAFTAR LAMPIRAN

| | Halaman |
|---|---------|
| Lampiran hasil pemeriksaan mikroskopis masa tumor | 60 |

ABSTRAK

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK PHALERIA MACROCARPA TERHADAP INDEKS APOPTOSIS SEL ADENOKARSINOMA MAMMA DAN PERKEMBANGAN MASSA TUMOR PAYUDARA MENCIT C3H

Latar belakang : *Phaleria macrocarpa* (Mahkota Dewa) tanaman obat yang banyak dipakai untuk pengobatan alternatif kanker yang mengandung poliphenol. Poliphenol alamiah menstimulasi produksi Interferon- γ (IFN- γ) pada populasi immunosit , yang meningkatkan aktivitas sel T sitotoksik (CTL) dan sel *Natural Killer* (NK), CTL dan sel NK berperan pada immunitas seluler tumor. Aktifitas CTL dan sel NK dapat dilihat dari indeks apoptosis sel tumor. Pengaruh dari apoptosis sel tumor diukur dari perkembangan ukuran/diameter massa tumor.

Tujuan : Membuktikan terdapatnya perbedaan indeks apoptosis sel dan perbedaan perkembangan massa tumor.

Metoda : penelitian *pre and post test only control group design* pada hewan coba. Kelompok control : mencit C3H tanpa pemberian ekstrak *Phaleria macrocarpa*, kelompok 1: 0,035mg/hari; kelompok 2: 0,0715 mg /hari dan kelompok 3 : 0,14 mg /hari. Setelah inokulasi tumor, diukur diameter tumor, diberikan perlakuan 3 minggu, diukur diameter tumor akhir, diambil tumornya dan diperiksa indeks apoptosis.

Dilakukan uji delta dengan ANOVA pada selisih ukuran diameter tumor, uji ANOVA pada indeks apoptosis dan uji korelasi Pearson antara indeks apoptosis dengan ukuran diameter tumor.

Hasil : Terdapat perbedaan bermakna pada selisih ukuran diameter tumor ($p < 0,001$), dan pada indeks apoptosis terjadi perbedaan yang bermakna ($p < 0,001$). Didapatkan korelasi asimetrik negatif bermakna ($p < 0,001$) dengan koefisien korelasi -0,773.

Simpulan Terdapat hambatan perkembangan massa tumor yang bermakna mulai pemberian dosis 0,035 mg/hari, peningkatan dosis tidak mempunyai efek yang bermakna, dan terdapat korelasi asimetrik negatif bermakna ($p < 0,001$, $r = -0,773$) antara peningkatan indeks apoptosis dengan perkembangan massa tumor.

Kata kunci : *Phaleria macrocarpa*, indeks apoptosis, diameter tumor, adenokarsinoma mamma

ABSTRACT

THE EFFECT OF PHALERIA MACROCARPA EXTRACT ON APOPTOTIC INDEX AND TUMOUR MASS PROGRESSION OF BREAST ADENOCARCINOMA C3H MICE

Background: Polyphenols in *Phaleria macrocarpa* (Mahkota Dewa) which stimulate Interferon- γ production in some immunocyt population can increase Cytotoxic T-Lymphocyt (CTL) and Natural Killer Cell (NK-Cell) activity; which can be recognized from apoptotic index as a response to malignant cells and resistancy of clinically tumor development which can be measure from tumor growth diameter.

Objective: To prove the difference of apoptotic index and tumor diameter size and analyze the correlation between apoptotic index and tumor diameter size.

Material and method: A *randomized post test only control group design* on 20 C3H-mice were divided into 4 treatment groups. The first group is control group, group-1 was administered with 0,035mg *Phaleria macrocarpa*/day, group-2: 0,0715mg/day, group-3: 0,14mg/day. After complete tumor cell inoculation, diameter size of tumor before-treatment was measured. All of group were treated for 3 weeks, then measured before and after-treatment tumor diameter size and evaluate the tumor apoptotic index. A *One Way ANOVA Test* is used to evaluate the difference of before-and-after tumor diameter size and tumor apoptotic index. *Pearson's Correlation test* was performed to analyze the correlation between tumor apoptotic index and tumor diameter size.

Result: There is significantly difference of tumor size among groups, and significantly negative correlation ($p < 0,001$) between tumor apoptotic index and tumor diameter size, with correlation coefficient -0,773.

Conclusion: The reduction of tumor was start at 0,035mg/day administration of *Phaleria macrocarpa* extract, and there is significantly negative correlation between tumor apoptotic index and tumor diameter size.

Key words : *Phaleria macrocarpa*, *apoptotic index*, *tumor diameter*, *adenocarcinoma mammae*