

**PENGARUH PEMBERIAN KOMBINASI
CYCLOPHOSPHAMIDE - TRANSFER FACTOR
TERHADAP EKSPRESI GRANZYME B MENCIT C3H
DENGAN ADENOCARCINOMA MAMMA
(Studi eksperimental laboratorik)**

*THE EFFECT OF CYCLOPHOSPHAMIDE – TRANSFER FACTOR
COMBINATION ON GRANZYME B EXPRESSION IN C3H MICE WITH BREAST
ADENOCARCINOMA
(Experimental study of laboratoric)*



TESIS

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

**Arief Budiman
G4A005019**

**PROGRAM PASCA SARJANA MAGISTER ILMU BIOMEDIK
PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS I ILMU BEDAH
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2011**

TESIS

**PENGARUH PEMBERIAN KOMBINASI
CYCLOPHOSPHAMIDE - TRANSFER FACTOR
TERHADAP EKSPRESI GRANZYME B MENCIT C3H
DENGAN ADENOCARCINOMA MAMMA**

Disusun oleh :

**ARIEF BUDIMAN
G4A005019**

Menyetujui

Komisi Pembimbing

Pembimbing I

Pembimbing II

dr. Djoko Handojo, SpB (K) Onk
NIP. 130 675 341

Prof.dr. Edi Dharmana, MSc, PhD, Sp.ParK
NIP. 130 529 451

Mengetahui :

Ketua
Program Studi Magister Ilmu
Biomedik Program Pasca Sarjana
Universitas Diponegoro
Semarang

Ketua
Program Studi PPDS I Bedah
Universitas Diponegoro
Semarang

DR. dr. Winarto, DMM, SpMK, Sp.M(K)
NIP. 130 675 15

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

PERNYATAAN

Dengan ini saya 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 atau lembaga pendidikan lainnya. Pengetahuan yang diperoleh dari hasil penerbitan maupun yang belum/ tidak diterbitkan, sumbernya dijelaskan di dalam tulisan dan daftar pustaka.

Semarang, Juli 2011

Penulis

RIWAYAT HIDUP SINGKAT

A. Identitas

Nama : dr. Arief Budiman

NIM PPDS I BEDAH : G3A006003 / G4A005019

Tempat / Tgl lahir : Surakarta / 18 Januari 1972

Alamat : Jl. Taman Kelud Selatan no.5 Semarang /
Jl. Veteran no. 253 Surakarta

Agama : Islam

Jenis kelamin : Laki-laki

Istri : Rita Noviani, S.Si, M.Sc

B. Riwayat Pendidikan

1. SDN 33 Danukusuman, Surakarta, Jawa Tengah : Lulus tahun 1983
2. SMPN 1, Surakarta, Jawa Tengah : Lulus tahun 1989
3. SMAN 1, Surakarta, Jawa Tengah : Lulus tahun 1991
4. FK UNISSULA, Semarang, Jawa Tengah : Lulus tahun 2002
5. PPDS I Ilmu Bedah FK UNDIP, Semarang, Jawa Tengah
6. Magister Ilmu Biomedik Pasca Sarjana UNDIP Semarang, Jawa Tengah.

KATA PENGANTAR

Syukur Alhamdulillah penulis panjatkan ke hadirat Alloh SWT, sumber segala hikmat dan pengetahuan, karena berkat anugerah-Nya, penulis dapat menyelesaikan tesis dengan judul 'Pengaruh Pemberian Kombinasi *Cyclophosphamide* - *Transfer Factor* Terhadap Ekspresi Granzyme B Mencit C3H dengan Adenocarcinoma Mamma', guna memenuhi sebagian persyaratan dalam mencapai derajat S-2 dan memperoleh keahlian dalam bidang Ilmu Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang. Salam dan sholawat senantiasa tersampaikan kepada junjungan kami Nabi Besar Muhammad SAW atas segala suri tauladannya.

Penulis menyadari tugas ini tidak dapat terselesaikan dengan baik tanpa dukungan dari berbagai pihak, untuk itu kiranya tidaklah berlebihan apabila pada kesempatan ini penulis menghaturkan rasa terima kasih dan penghormatan yang setinggi-tingginya kepada :

1. Rektor Universitas Diponegoro Semarang Prof. Drs. Sudharto Prawata Hadi, MES, PhD dan mantan Rektor Prof. Dr. dr. Susilo Wibowo, MSi. Med, Sp.And yang telah memberikan ijin bagi penulis untuk menempuh PPDS-1 Ilmu Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang.
2. Direktur Program Pascasarjana Universitas Diponegoro, Prof. Dr. dr. Anies, M.Kes, dan mantan direktur program Pascasarjana Prof. Drs. Y. Warella, MPA,

Ph.D yang telah memberikan ijin bagi penulis untuk menempuh Program Pascasarjana Universitas Diponegoro Semarang.

3. Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik Program Pascasarjana Universitas Diponegoro Dr. dr. Winarto, DMM, SpMK, SpM(K), para pengelola DR. dr. Andrew Johan, MSi.Med, dr. Neni Susilaningsih, Msi.Med yang telah meluangkan waktu, tenaga dan pikiran untuk memberikan pengarahan dan dukungan moril selama pendidikan.
4. Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, dr. Endang Ambarwati, SpKFR dan mantan Dekan dr. Soejoto, PAK, Sp.KK(K), yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk mengikuti PPDS-1 Ilmu Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang.
5. Direktur Utama Rumah Sakit Umum Pusat Dr. Kariadi Semarang, dr. Hendriani Selina, Sp.A(K), MARS, dan mantan Direktur Utama Rumah Sakit Dr. Kariadi Semarang dr. Budi Riyanto, Sp.PD, M.Sc, yang telah memberikan ijin bagi penulis untuk meneliti dan menempuh PPDS-1 di Bagian Ilmu Bedah/SMF Bedah di RSUP Dr. Kariadi Semarang.
6. dr. Djoko Handojo, SpB,SpB(K)Onk, selaku Kepala Bagian Bedah dan juga sebagai pembimbing utama kami. Terimakasih atas bimbingan dan arahnya.
7. dr.Sidharta Darsojono, SpB, SpU, selaku Ketua Program Studi Pendidikan Spesialis Bedah FK UNDIP Semarang, atas kemudahan dan kebijaksanaannya.

8. Prof.dr.Edi Dharmana, MSc, PhD, SpParK, sebagai pembimbing kedua kami.
Terimakasih atas waktu dan kesabarannya dalam membimbing penulisan tesis kami.
9. dr. Harijadi, Sp.PA(K), Kepala Instalasi Patologi Anatomi RSUD dr Sardjito FK UGM Yogyakarta.
10. Tim Penguji dan narasumber yang telah memberikan masukan dan arahan dalam penelitian dan penulisan tesis ini.
11. Dosen pengajar kami di Magister Ilmu Biomedik dan PPDS Bedah atas segala bimbingannya.
12. Drs. H. Sri Widodo (Alm) dan Hj.Asfiah Sri Rejeki, kedua orangtuaku tercinta atas segala yang telah beliau berikan dengan penuh keihlasan dan kasih sayang.
13. H. Dalmadi dan Hj. Siti Amanah, orangtua keduaku tercinta.
14. Hj. Rita Noviani, S.Si, M.Sc, istriku tercinta atas bakti, kesetiaan dan dukungan moril maupun spirituil dalam menyusun tesis ini.
15. Semua pihak yang membantu kelancaran proses penelitian kami.

Semoga Allah SWT membalas segala kebaikan dan melimpahkan hidayah-Nya untuk kita semua.

Semarang, Juli 2011

Penulis

Arief Budiman

DAFTAR ISI

| | Halaman |
|------------------------------|---------|
| Judul..... | i |
| Lembar Pengesahan..... | ii |
| Pernyataan..... | iii |
| Riwayat Hidup Singkat..... | iv |
| Kata Pengantar..... | v |
| Daftar Isi..... | viii |
| Daftar Tabel dan Grafik..... | xii |
| Daftar Gambar..... | xiii |
| Daftar Lampiran..... | xiv |
| Abstrak..... | xv |
| Abstrack..... | xvi |
| BAB I PENDAHULUAN | 1 |
| 1.1. Latar belakang | 1 |
| 1.2. Rumusan masalah | 5 |
| 1.3. Tujuan penelitian | 6 |

| | |
|--|----------|
| 1.3.1. Tujuan umum | 6 |
| 1.3.2. Tujuan khusus | 6 |
| 1.4. Manfaat penelitian | 6 |
| 1.5. Keaslian penelitian..... | 7 |
| BAB II TINJAUAN PUSTAKA | 9 |
| 2.1. Kanker payudara | 9 |
| 2.1.1. Etiologi dan patogenesis | 11 |
| 2.1.2. Klasifikasi | 13 |
| 2.2. Respon imunologik terhadap sel tumor..... | 15 |
| 2.3. Mekanisme efektor dalam melawan sel tumor..... | 17 |
| 2.3.1. Peran makrofag dalam respon antitumor..... | 17 |
| 2.3.2. Limfosit T sitotoksik (CTL) sebagai efektor anti tumor..... | 18 |
| 2.3.3. Sel Natural Killer (NK) sebagai efektor anti tumor..... | 20 |
| 2.4. Granzyme..... | 23 |
| 2.5. Apoptosis..... | 26 |
| 2.6. Transfer factor..... | 28 |

| | |
|--|----|
| 2.7. Cyclophosphamide..... | 30 |
| BAB III KERANGKA TEORI, KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS | 33 |
| 3.1. Kerangka teori | 33 |
| 3.2. Kerangka konsep | 34 |
| 3.3. Hipotesis penelitian | 34 |
| BAB IV METODE PENELITIAN | 35 |
| 4.1. Ruang lingkup penelitian | 35 |
| 4.2. Tempat dan waktu penelitian | 35 |
| 4.3. Jenis dan rancangan penelitian | 35 |
| 4.4. Populasi dan sampel..... | 37 |
| 4.4.1. Populasi..... | 37 |
| 4.4.2. Sampel..... | 37 |
| 4.4.2.1. Kriteria inklusi..... | 37 |
| 4.4.2.2. Kriteria eksklusi..... | 38 |
| 4.4.3. Besar sampel..... | 38 |
| 4.5. Variabel penelitian | 38 |
| 4.5.1. Variabel bebas | 38 |

| | Halaman |
|-------------------------------------|---------|
| 4.5.2. Variabel tergantung | 39 |
| 4.5.3. Definisi operasional | 39 |
| 4.6. Bahan dan alat | 40 |
| 4.7. Prosedur pengumpulan data..... | 40 |
| 4.8. Alur kerja penelitian..... | 42 |
| 4.9. Cara mengumpulkan data..... | 43 |
| 4.10. Analisis data..... | 43 |
| 4.11. Etika penelitian..... | 44 |
| BAB V HASIL PENELITIAN..... | 45 |
| BAB VI PEMBAHASAN..... | 49 |
| BAB VII KESIMPULAN DAN SARAN..... | 53 |
| DAFTAR PUSTAKA | 54 |

DAFTAR TABEL DAN GRAFIK

| | Halaman |
|---|---------|
| Tabel 1. Keaslian penelitian..... | 7 |
| Tabel 2. Nilai rerata ekspresi granzyme B pada tiap kelompok percobaan..... | 47 |
| Grafik Boxplot ekspresi granzyme B pada tiap kelompok percobaan..... | 47 |

DAFTAR GAMBAR

| | Halaman |
|---|---------|
| Gambar 1. Skema mekanisme perubahan malignansi pada sel normal..... | 11 |
| Gambar 2. Tahapan sitolitik sel target oleh CTL..... | 20 |
| Gambar 3. Pengenalan sel target oleh sel-NK..... | 23 |
| Gambar 4. Struktur kristal kimia dari granzyme B..... | 25 |

DAFTAR LAMPIRAN

| | Halaman |
|---|---------|
| Lampiran 1. <i>Ethical Clearance</i> | 59 |
| Lampiran 2. Gambar Hasil Pemeriksaan Granzyme B..... | 60 |
| Lampiran 3. Tabulasi Data Penelitian..... | 62 |
| Lampiran 4. Analisis Statistik..... | 63 |
| Lampiran 5. Bahan transplantasi jaringan tumor pada mencit..... | 72 |
| Lampiran 6. Bahan untuk pemeriksaan pengecatan granzyme B..... | 72 |
| Lampiran 7. Prosedur transplantasi tumor..... | 72 |
| Lampiran 8. Prosedur pembuatan preparat blok paraffin..... | 73 |
| Lampiran 9. Prosedur pengecatan granzyme B..... | 74 |

ABSTRAK

PENGARUH PEMBERIAN KOMBINASI *CYCLOPHOSPHAMIDE* - *TRANSFER FACTOR* TERHADAP EKSPRESI GRANZYME B MENCIT C3H DENGAN ADENOCARCINOMA MAMMA

(Studi eksperimental laboratorik)

Latar belakang : Imunitas seluler lebih berperan penting dalam immunosurveillance kanker dibanding imunitas humoral. Aktifitas sel NK dalam immunosurveillance tumor sangat penting yang ditunjukkan dengan ekspresi granzyme. Beberapa penelitian membuktikan kombinasi *cyclophosphamide* - *transfer factor* mampu memberikan efek sinergis terhadap penurunan proliferasi sel tumor, membunuh sel kanker dan meningkatkan skor ekspresi perforin. Belum ada penelitian bahwa kombinasi *cyclophosphamide* - *transfer factor* juga mampu memberikan efek sinergis terhadap ekspresi granzyme.

Tujuan : Menganalisis efek pemberian kombinasi *cyclophosphamide-transfer factor* terhadap ekspresi granzyme B mencit C3H dengan adenocarcinoma mamma.

Metoda : Penelitian eksperimental laboratorik dengan desain “*Randomized Post test only control group*”. Menggunakan mencit betina C3H berjumlah 20 ekor. Sampel dibagi 4 kelompok : K sebagai kontrol, P1 diberi kombinasi *cyclophosphamide-transfer factor*, P2 diberi *transfer factor* dan P3 diberi *cyclophosphamide*. Dilakukan uji ANOVA dengan tingkat kepercayaan 95 %.

Hasil : Terdapat perbedaan bermakna pada jumlah sel mononuklear yang mengekspresi granzyme B pada seluruh kelompok perlakuan ($p < 0,05$). Hasil uji Post Hoc tidak terdapat perbedaan bermakna pada kelompok pemberian *cyclophosphamide* secara tunggal dibanding dengan kombinasi.

Simpulan : Terdapat peningkatan signifikan pada jumlah sel mononuklear yang mengekspresi granzyme B mencit C3H dengan adenocarcinoma mamma yang diberi kombinasi *cyclophosphamide-transfer factor* dibanding yang hanya diberikan *cyclophosphamide* atau *transfer factor* saja.

Kata kunci : *cyclophosphamide, transfer factor*, granzyme B, adenocarcinoma mamma

ABSTRACT
THE EFFECT OF CYCLOPHOSPHAMIDE – TRANSFER FACTOR
COMBINATION ON GRANZYME B EXPRESSION IN C3H MICE WITH
BREAST ADENOCARCINOMA
(Experimental study of laboratoric)

Background : Cellular immunity has more important role in cancer immunosurveillance compared with humoral immunity. NK cells activity in cancer immunosurveillance is very important that showed with granzyme expression. Several researches proved that combination of *cyclophosphamide - transfer factor* was able to give synergical effect to the decrease of tumor cell proliferation, to kill cancer cell, and to increase perforin expression score. There has been no further research whether the combination of *cyclophosphamide - transfer factor* are also capable of giving synergical effect on granzyme expression.

Objectives : To analyze the effect of *cyclophosphamide – transfer factor* on mononuclear cell on granzyme B expression in C3H mice with breast adenocarcinoma.

Methods: Laboratorial experiment research by using “*Randomized Post test only control group*” design using 20 of C3H female mice. Sample was divided into 4 groups: K as control, P1 was treated with combination of *cyclophosphamide-transfer factor*, P2 was treated with *transfer factor* and P3 was treated with *cyclophosphamide*. Performed ANOVA test with level of trust 95 %.

Results: There was a significant difference in mononuclear cell that express granzyme B among the groups ($p < 0,05$). There was no significant difference in a group which was only given *cyclophosphamide* compared to combination of *cyclophosphamide-transfer factor*.

Conclusion: There is a significant increase on mononuclear cells that express granzyme B in C3H mice with breast adenocarcinoma treated with *cyclophosphamide – transfer factor* combination compared to *cyclophosphamide* or *transfer factor* only.

Keywords: *cyclophosphamid, transfer factor, granzyme B, breast adenocarcinoma.*