

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK *PHALERIA*  
*MACROCARPA* TERHADAP EKSPRESI *VASCULAR*  
*ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR* TUMOR DAN  
PERKEMBANGAN UKURAN MASSA TUMOR PADA  
ADENOKARSINOMA MAMMA MENCIT C3H**

*THE INFLUENCE OF PHALERIA MACROCARPA EXTRACT OF  
VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR EXPRESSION  
AND TUMOR GROWTH ON ADENOCARCINOMA MAMMA C3H MICE*



Tesis

Untuk memenuhi sebagian persyaratan guna mencapai derajat Sarjana S2  
dan memperoleh keahlian dalam bidang Ilmu Bedah

Lily Juniarti Halim

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

## Tesis

# **PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK *PHALERIA MACROCARPA* TERHADAP EKSPRESI *VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH* *FACTOR* TUMOR DAN PERKEMBANGAN UKURAN MASSA TUMOR PADA ADENOKARSINOMA MAMMA MENCIT C3H**

Oleh:

Lily Juniarti Halim

Telah dipertahankan di depan penguji dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima.

Menyetujui:

Komisi Pembimbing

Pembimbing Utama

Pembimbing Kedua

dr. Djoko Handoyo, SpB, SpB(K)Onk

Prof. dr. Edi Dharmana, MSc, PhD, SpParK

NIP. 194811191978021001

NIP. 194703121976031001

Mengetahui:

Ketua

Ketua

Program Studi Magister Ilmu Biomedik

Program Studi PPDS I Ilmu Bedah

Universitas Diponegoro

Universitas Diponegoro

DR. dr. Winarto, SpMK, SpM, DMM

dr. Sidharta Darsojono, Sp.B, Sp.U

NIP. 194906171978021001

NIP. 194505281988011001

**LEMBAR MONITORING PERBAIKAN  
UJIAN TESIS**

Yang bertanda tangan di bawah ini menerangkan dengan sebenarnya bahwa saya telah menyetujui **Perbaikan Tesis** yang diajukan pada tanggal 31 Maret 2011 atas:

Nama Mahasiswa : dr. Lily Juniarti Halim

Bagian : Ilmu Bedah

Judul Penelitian : Pengaruh Pemberian Ekstrak *Phaleria Macrocarpa* Terhadap Ekspresi *Vascular Endothelial Growth Factor* Tumor dan Perkembangan Ukuran Massa Tumor pada Adenokarsinoma Mamma Mencit C3H

No	Nama	Narasumber	Tanda Tangan	Tanggal
1.	dr. Djoko Handojo, SpB, SpB(K)Onk	Pembimbing I		
2.	Prof. dr. Edi Dharmana, MSc, PhD, SpPark	Pembimbing II		
3.	Prof. Dr. Lisyani Suromo, SpPK(K)	Narasumber		
4.	Prof. Dr. dr. H. Tjahjono, SpPA(K), FIAC	Narasumber		
5.	dr. Niken Puruhita, Mmed Sc, SpGK	Narasumber		
6.	dr. Neni Susilaningsih, M.Si	Narasumber		
7.	Dr. dr. Winarto, SpMK, SpM	Narasumber		
8.	Dr. dr. Andrew Johan, M.Si	Narasumber		

\* Diletakkan di halaman setelah lembar Pengesahan Tesis.

## **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, 10 Januari 2011

Penulis

## **RIWAYAT HIDUP SINGKAT**

### **A. Identitas**

Nama : dr. Lily Juniarti Halim  
NIM Magister Ilmu Biomedik : G4.A0.03.045  
NIM PPDS I Ilmu Bedah : G3.A0.04.004  
Tempat / Tgl lahir : Semarang, 5 Juni 1973  
Agama : Katolik  
Jenis kelamin : Perempuan

### **B. Riwayat Pendidikan**

1. SD Regina Pacis Semarang, Jawa Tengah : Lulus tahun 1986
2. SMP Domenico Savio Semarang, Jawa Tengah : Lulus tahun 1989
3. SMA Kolese Loyola Semarang, Jawa Tengah : Lulus tahun 1992
4. FK Universitas Padjadjaran Bandung, Jawa Barat : Lulus tahun 1998
5. PPDS I Ilmu Bedah FK Universitas Diponegoro Semarang, Jawa Tengah
6. Pasca Sarjana Magister Ilmu Biomedik Universitas Diponegoro Semarang,  
Jawa Tengah

## KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Tuhan YME atas limpahan rahmat dan anugerahNya, sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis dengan judul “Pengaruh pemberian ekstrak *Phaleria macrocarpa* terhadap ekspresi *vascular endothelial growth factor* tumor dan perkembangan ukuran massa tumor pada adenokarsinoma mamma 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 Ilmu Bedah Universitas Diponegoro Semarang.

Penulis menyadari tugas ini tidak dapat diselesaikan dengan baik tanpa dukungan dari berbagai pihak. Kepada dr. Djoko Handojo, SpB, SpB(K)Onk sebagai dosen pembimbing utama dan Prof. Dr. Edi Dharmana, MSc, PhD, SpParK sebagai dosen pembimbing kedua. 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. Prof. Sudharto Prawata Hadi, MES PhD, Rektor Universitas Diponegoro Semarang.
2. Prof. Dr. dr. Anies, PKK, MKK, Ketua Program Pasca Sarjana Universitas Diponegoro Semarang.
3. dr. Endang Ambarwati, SpKFR, Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang.

4. Dr. dr. Winarto, SpMK, SpM, DMM, Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik Program Pasca Sarjana Universitas Diponegoro Semarang.
5. Prof. Dr. dr. Tjahjono, SpPA(K) FIAC, Ketua Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro / RSUP Dr. Kariadi Semarang.
6. dr. Djoko Handojo, SpB, SpB(K)Onk, Ketua Bagian Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro / RSUP dr. Kariadi Semarang.
7. dr. Sidharta Darsojono, SpB, SpU, Ketua Program Studi PPDS I Ilmu Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang.
8. dr. Sahal Fatah, SpB, SpKTV, Wakil Ketua Program Studi PPDS I Ilmu Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang.
9. dr. Harijadi, SpPA(K), Kepala Instalasi Patologi Anatomi RSU dr. Sardjito / FK Universitas Gajah Mada Yogyakarta.
10. Ibu Agustina Supriyanti, Amd. Ketua Analis dan Tehnisi Instalasi Patologi Anatomi RSU dr. Sardjito / FK Universitas Gajah Mada Yogyakarta.
11. Prof. Dr. Lisyani Suromo, SpPK(K); dr. Niken Puruhita Mmed.Sc, SpG(K), dr. Neni Susilaningsih, M.Si, selaku narasumber yang telah dengan sabar berkenan memberi masukan, arahan, serta koreksi dalam penelitian dan penulisan tesis ini.
12. Semua rekan sejawat residen Ilmu Bedah FK Undip, pegawai Laboratorium Histologi FK Universitas Diponegoro, pegawai Instalasi Patologi Anatomi RSU Sardjito / FK Universitas Gajah Mada yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.
13. Orang tua penulis yang telah memberikan dukungan moril dan material untuk keberhasilan studi penulis.

14. Saudara-saudara sekandung penulis yang selalu mendorong semangat dan mendukung semua kegiatan penulis.

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

Semarang, 10 Januari 2011

Penulis



## DAFTAR ISI

	Hal
LEMBAR PENGESAHAN .....	ii
LEMBAR MONITORING PERBAIKAN UJIAN TESIS .....	iii
PERNYATAAN .....	iv
RIWAYAT HIDUP SINGKAT .....	v
KATA PENGANTAR .....	vi
DAFTAR ISI .....	ix
DAFTAR GAMBAR .....	xiii
DAFTAR TABEL .....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN .....	xv
DAFTAR SINGKATAN .....	xvi
ABSTRAK .....	xix
<i>ABSTRACT</i> .....	xx
BAB 1 PENDAHULUAN .....	1
1.1. Latar belakang .....	1
1.2. Rumusan masalah .....	5
1.3. Tujuan penelitian .....	5
1.3.1. Tujuan umum .....	5
1.3.2. Tujuan khusus .....	5
1.4. Manfaat penelitian .....	6
1.5. Orisinalitas penelitian .....	7

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA .....	9
2.1. Adenokarsinoma mamma .....	9
2.1.1. Etiologi .....	9
2.1.2. Klasifikasi .....	11
2.2. Perkembangan massa tumor .....	11
2.3. <i>Vascular endothelial growth factor</i> (VEGF) .....	18
2.4. <i>Phaleria macrocarpa</i> .....	23
BAB 3 KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS .....	27
3.1. Kerangka teori .....	27
3.2. Kerangka konsep .....	28
3.3. Hipotesis penelitian .....	28
BAB 4 METODE PENELITIAN .....	29
4.1. Rancangan penelitian .....	29
4.2. Populasi dan sampel .....	30
4.2.1. Populasi .....	30
4.2.2. Sampel .....	30
4.3. Waktu dan lokasi penelitian .....	31
4.4. Variabel penelitian .....	31
4.4.1. Variabel bebas .....	31
4.4.2. Variabel perantara .....	32
4.4.3. Variabel tergantung .....	32
4.5. Definisi operasional .....	32

4.6. Bahan dan alat penelitian .....	32
4.6.1. Bahan untuk perlakuan .....	32
4.6.2. Bahan transplantasi jaringan tumor pada mencit .....	34
4.6.3. Bahan untuk pemeriksaan histopatologi rutin .....	34
4.6.4. Bahan tambahan untuk pewarnaan IHC .....	35
4.6.5. Alat transplantasi jaringan tumor pada mencit .....	35
4.6.6. Alat untuk pembuatan sediaan penelitian dengan pewarnaan H&E .....	35
4.6.7. Alat tambahan untuk pewarnaan IHC .....	35
4.6.8. Alat untuk pengukuran diameter tumor .....	36
4.6.9. Alat untuk pengamatan dan dokumentasi sediaan .....	36
4.7. Pelaksanaan penelitian .....	36
4.8. Alur kerja .....	38
4.9. Prosedur penelitian .....	39
4.9.1. Prosedur transplantasi tumor .....	39
4.9.2. Prosedur pengukuran diameter tumor .....	40
4.9.3. Prosedur pembuatan preparat histopatologi teknik <i>Avidin-Biotin-peroxidase Complex (ABC)</i> .....	40
4.10. Analisis data .....	44
4.11. Etika penelitian .....	44
<b>BAB 5 HASIL PENELITIAN .....</b>	<b>46</b>
5.1. Ekspresi VEGF .....	46
5.2. Perkembangan massa tumor .....	48

5.3. Korelasi ekspresi VEGF dan perkembangan massa tumor .....	50
BAB 6 PEMBAHASAN .....	51
BAB 7 SIMPULAN DAN SARAN .....	55
7.1. Simpulan .....	55
7.2. Saran .....	55
DAFTAR PUSTAKA .....	56
Lampiran 1. Data dasar .....	63
Lampiran 2. Analisis statistik .....	64
Lampiran 3. Hasil pemeriksaan mikroskopis .....	70
<i>Ethical clearance</i> .....	71

## DAFTAR GAMBAR

	Hal
Gambar 1.1. Jalur kematian sel target .....	15
Gambar 2.1. Struktur molekul VEGF-VEGFR-1 .....	20
Gambar 5.1. Boxplot ekspresi VEGF .....	47
Gambar 5.2. Boxplot perkembangan massa tumor .....	49

## DAFTAR TABEL

	Hal
Tabel 5.1. Nilai rerata hasil pengukuran ekspresi VEGF pada tiap kelompok percobaan (persen) .....	46
Tabel 5.2. Nilai rerata hasil selisih pengukuran perkembangan massa tumor (cm) .....	48

## DAFTAR LAMPIRAN

	Hal
Lampiran 1. Data dasar .....	63
Lampiran 2. Analisis statistik .....	64
Lampiran 3. Hasil pemeriksaan mikroskopis .....	70

## DAFTAR SINGKATAN

ABC	<i>avidin-biotin-peroxidase complex</i>
Akt	<i>protein kinase B</i>
ADP	adenosine diphosphate
Apaf-1	<i>apoptotic protease activating factor-1</i>
AP-1	protein aktivasi 1
ATP	adenosine triphosphate
BaPDE	benzoapyrene diol-epoxide
bFGF	<i>basic fibroblast growth factor</i>
Bak	<i>B cell lymphoma 2 antagonist/killer</i>
BaP	benzoapyrene
BaPD	benzoapyrene diol-epoxide
Bax	<i>Bcl-2 associated X protein</i>
BcL-2	<i>basal cell lymphoma 2</i>
Bcl-XL	<i>basal cell lymphoma extra large</i>
Bid	<i>BH3 interacting domain death agonist</i>
Bim	<i>Bcl-2 interacting mediator of cell death</i>
BRCA	<i>breast cancer susceptibility</i>
BSA	<i>bovine serum albumin</i>
COX-2	<i>cyclooxygenase</i>
CTL	sitotoksik T limfosit ( <i>cytotoxic T lymphosit</i> )
DAB	diaminobenzidine



DNA	deoxyribonucleic acid
DBL	dihydroxybenzalacetone
EGF/HER1	<i>epidermal growth factor</i>
Erk	<i>extracellular regulated kinase</i>
FADD	Fas-associated death domain
FasL	FasLigand
FLICE	FADD-Like IL-1 converting enzyme
Flt-1	<i>Fms-like tyrosine kinase</i>
GA	gallic acid
GF	<i>growth factor</i>
H&E	hematoxylin&eosin
HIF	<i>hypoxia-inducible factor</i>
HRE	<i>hypoxia responsive element</i>
IFN	interferon
IHC	imunohistokimia
IL	interleukin
IKK	<i>IκBα kinase complex</i>
KDR/Flk-1	<i>kinase insert domain-containing receptor</i>
LPS	<i>lipopolysaccharide</i>
MHC I	<i>major histocompatibility</i>
MMPs	matrix metalloproteinases
MoAb	<i>Mouse monoclonal antibody</i>
NFAT	<i>nuclear factor of activated T cells</i>

NFκB	<i>nuclear factor kappa B</i>
NK cell	<i>sel natural killer</i>
NO	<i>nitric oxide</i>
NOS	<i>nitric oxide synthase</i>
NR	<i>no respons</i>
PARP	<i>poly(ADP-ribose) polymerase cleavage</i>
PBS	<i>phosphat buffer saline</i>
PDGF	<i>platelet-derived growth factor</i>
PIGF	<i>placental growth factor</i>
PI3K	phosphoinositide 3'kinase
PKC	protein kinase C
PR	<i>partial respons</i>
RIP-1	<i>receptor interacting protein-1</i>
SKRT	survey kesehatan rumah tangga
TcR	<i>T cell receptor</i>
TNF	<i>tumor necrosis factor</i>
TNF-R	<i>tumor necrosis factor receptor</i>
TNM	tumor nodule metastasis
TRADD	<i>TNF receptor-associated death domains</i>
TRAFs	<i>TNF receptor-associated factors</i>
VEGF	<i>vascular endothelial growth factor</i>
VEGFR	<i>vascular endothelial growth factor receptor</i>
WHO	<i>World Health Organization</i>

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK *PHALERIA  
MACROCARPA* TERHADAP EKSPRESI *VASCULAR  
ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR* TUMOR DAN  
PERKEMBANGAN UKURAN MASSA TUMOR PADA  
ADENOKARSINOMA MAMMA MENCIT C3H**

*Lily Juniarti Halim, Djoko Handoyo, Edi Dharmana,*

**ABSTRAK**

**Latar belakang:** *Phaleria macrocarpa* mengandung zat aktif polifenol yang menghambat faktor transkripsi *nuclear factor κB* (NF-κB) melalui pembatasan pelepasan *tumor necrosis factor* (TNF) yang akan menghambat proliferasi dan menurunkan *vascular endothelial growth factor* (VEGF), sehingga menekan angiogenesis. Ekspresi VEGF dapat diukur untuk mengetahui dampak terhadap perkembangan massa tumor.

**Tujuan:** Membuktikan pengaruh pemberian dosis bertingkat ekstrak *Phaleria macrocarpa* terhadap ekspresi VEGF dan perkembangan massa tumor pada adenokarsinoma mamma.

**Metode:** Penelitian ini adalah penelitian eksperimental pada hewan coba dengan *post test only control group design*. Dua puluh mencit C3H yang telah ditanam tumor dibagi secara random menjadi 4 kelompok: kontrol, P1 diberi ekstrak *Phaleria macrocarpa* 0,035 mg / hari, P2 diberi 0,0715 mg / hari, P3 diberi 0,14 mg / hari. Peneliti mengukur diameter tumor sebelum dan setelah pemberian ekstrak. Setelah 3 minggu dilakukan pemeriksaan imunohistokimia untuk mengevaluasi ekspresi VEGF. Analisis statistik *one way ANOVA* dengan uji Bonferroni dilakukan untuk menganalisis ekspresi VEGF dan perkembangan massa tumor. Uji korelasi Pearson dilakukan untuk menganalisis korelasi antara ekspresi VEGF dan perkembangan massa tumor.

**Hasil:** Terdapat penurunan ekspresi VEGF ( $p=0,014$ ) yang bermakna antara P1 dan P2. Perkembangan massa tumor juga menunjukkan penurunan yang bermakna ( $p=0,004$ ) antara P1 dan P2 dengan dosis ekstrak yang tepat adalah 0,0715 mg / hari. Terdapat korelasi bermakna ( $p<0.001$ ) antara ekspresi VEGF dan perkembangan massa tumor, dengan korelasi positif kuat 0.983.

**Simpulan:** Ekstrak *Phaleria macrocarpa* menurunkan ekspresi VEGF dan perkembangan massa tumor adenokarsinoma mamma mencit C3H.

**Kata kunci:** *Phaleria macrocarpa*, VEGF, perkembangan massa tumor, adenokarsinoma mamma.

# ***THE INFLUENCE OF PHALERIA MACROCARPA EXTRACT OF VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR EXPRESSION AND TUMOR GROWTH ON ADENOCARCINOMA MAMMA C3H MICE***

*Lily Juniarti Halim, Djoko Handojo, Edi Dharmana*

## **ABSTRACT**

**Background:** *Phaleria macrocarpa* contains active polyphenols which inhibit of nuclear factor  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) transcription factors through restrict tumor necrosis factor (TNF) release, which will inhibits proliferation and down regulates vascular endothelial growth factor (VEGF), therefore, will also suppress angiogenesis. The VEGF expression can be measured to know the impact on tumor growth.

**Objective:** To prove the influence of *Phaleria macrocarpa* extract on VEGF expression and tumor growth in adenocarcinoma mamma which received gradual dose administration.

**Method:** This study was an animal experimental with post test only control group design. Twenty C3H mice with tumor, were divided into 4 groups by simple randomization: control, P1 was administered with 0.035 mg *Phaleria macrocarpa* extract / day, P2 with 0.0715 mg extract / day, and P3 with 0.14 mg extract / day. We calculated tumor diameter before and after extract administration. After 3 weeks we performed immunostaining to evaluate VEGF expression score. One way ANOVA test was used as statistically analysis in VEGF expression and tumor growth. Pearson's correlation test was used to analyze the correlation between VEGF expression and tumor growth.

**Results:** VEGF expression decreased significantly ( $p=0.014$ ) between P1 and P2. Tumor growth decreased significantly ( $p=0.004$ ) between P1 and P2 with the exact dose was 0.0715 mg / day. There was statistically significant correlation ( $p<0.001$ ) between VEGF expression and tumor growth, with positive strong correlation 0.983.

**Conclusion:** *Phaleria macrocarpa* extract decreases VEGF expression and tumor growth on adenocarcinoma mamma C3H mice.

**Key words:** *Phaleria macrocarpa*, VEGF, tumor growth, adenocarcinoma mamma.