

**PENGARUH EKSTRAK *PHALERIA MACROCARPA*
TERHADAP INDEK MITOSIS SEL DAN PERTUMBUHAN
DIAMETER KARSINOMA EPIDERMOID**

**Studi Eksperimental In Vivo Pada Mencit Swiss Yang Diberi Neoadjuvant
Paclitaxel dan Cisplatin**

***The Effects of Phaleria macrocarpa Extract on Mitotic Index and
Tumor Mass Progression on Epidermoid Carcinoma of Swiss
Mice***

***In vivo experimental study in Swiss mice which treated neoadjuvant
paclitaxel and cysplatin***



TESIS

Untuk memenuhi sebagian persyaratan mencapai derajat Sarjana S2

Magister Ilmu Biomedik

Vito Mahendra Ekasaputra

22010110400076

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS DIPONEGORO SEMARANG

2015

TESIS

**PENGARUH EKSTRAK *PHALERIA MACROCARPA*
TERHADAP INDEK MITOSIS SEL DAN
PERTUMBUHAN DIAMETER KARSINOMA
EPIDERMOID**

**Studi Eksperimental In Vivo Pada Mencit Swiss Yang Diberi
Neoadjuvant Paclitaxel dan Cisplatin**

Disusun Oleh :

Vito Mahendra Ekasaputra
22010110400076

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji
pada tanggal 29 April 2015
dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

Menyetujui,
Pembimbing

Pembimbing I

Pembimbing II

dr. M. Thohar Arifin, SpBS, PhD
NIP: 197404141999031013

dr. Djoko Handojo, Sp.B, Sp.B(K)Onk
NIP: 194811191978021001

Mengetahui :

Ketua Program Studi
Magister Ilmu Biomedik
Fakultas Kedokteran UNDIP

dr. Achmad Zulfa Juniarto, M.Si.Med, SpAnd, PhD
NIP. 197006081997021001

PERNYATAAN

Saya bertandatangan di bawah ini 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, serta tidak terdapat unsur-unsur yang tergolong Plagiarism sebagaimana yang dimaksud dalam Permendiknas No. 17 Tahun 2010. Pengetahuan yang diperoleh dari hasil penelitian maupun yang belum atau tidak diterbitkan, sumbernya dijelaskan di dalam tulisan dan daftar pustaka.

Semarang, 1 Agustus 2014

Vito Mahendra Ekasaputra

RIWAYAT HIDUP

A. IDENTITAS

Nama : dr. Vito Mahendra Ekasaputra
NIM Magister Biomedik : 22010110400076
Tempat/Tanggal lahir : Mataram, 27 Februari 1980
Agama : Islam
Jenis Kelamin : Laki-laki

B. RIWAYAT PENDIDIKAN

1. SDN IV Mataram : Lulus tahun 1992
2. SMPN II Mataram : Lulus tahun 1995
3. SMUN I Mataram : Lulus tahun 1998
4. FK Universitas Islam Sultan Agung Semarang : Lulus tahun 2005
5. PPDS I Bedah FK UNDIP, Semarang
6. Magister Ilmu Biomedik Pascasarjana UNDIP, Semarang

KATA PENGANTAR

Puji syukur saya panjatkan pada Allah SWT atas rahmat dan karunia-Nya, sehingga saya dapat menyelesaikan karya ilmiah akhir dengan judul:

“PENGARUH EKSTRAK *PHALERIA MACROCARPA* TERHADAP INDEK MITOSIS SEL DAN PERTUMBUHAN DIAMETER KARSINOMA EPIDERMOID”

Studi Eksperimental In Vivo Pada Mencit Swiss Yang Diberi Neoadjuvant Paclitaxel dan Cisplatin

Penelitian ini diajukan salah satu syarat untuk memperoleh gelar derajat sarjana S2 Ilmu Biomedik Program Pasca Sarjana. Saya berharap penelitian ini dapat memberikan kontribusi terhadap perkembangan ilmu bedah dan ilmu biomedik.

Dalam kesempatan baik ini, saya menyampaikan ucapan terima kasih dan penghargaan yang sebesar-besarnya kepada :

1. dr. M. Thohar Arifin SpBS PhD., selaku pembimbing I yang telah memberikan semua bimbingan, sumbangan pikiran, waktu, tenaga, dan perhatian dalam penyusunan tesis ini.
2. dr. Djoko Handojo SpB, SpB(K)Onk., selaku pembimbing II dan guru yang telah memberikan semua bimbingan, sumbangan pikiran, waktu, tenaga, dan perhatian sehingga tesis ini dapat terselesaikan.
3. Prof. Sudharto P, MES, PhD, mantan Rektor Universitas Diponegoro Semarang.
4. Prof. Dr. Yos Johan Utama, SH., MH., Rektor Universitas Diponegoro Semarang

5. Prof. Dr. Ir. Purwanto, DEA., Ketua Program Pasca Sarjana Universitas Diponegoro Semarang.
6. dr. Endang Ambarwati, SpRM(K), mantan Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang.
7. Prof. Dr. dr. Tri Nur Kristina, DMM, Mkes, Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang.
8. dr. Achmad Zulfa Juniarto, MsiMed., SpAnd, PhD. , Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik Program Pasca Sarjana Universitas Diponegoro Semarang.
9. Prof. Dr. dr. Suprihati, MSc, SpTHT-KL(K), Ketua Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran UNDIP/RSUP Dr.Kariadi Semarang.
10. dr. Sahal Fatah, SpB, SpBTKV, selaku guru, Ketua Bagian Ilmu Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, yang telah memberikan kesempatan, waktu, tenaga, perhatian dan bimbingan sehingga saya dapat menempuh Program Pendidikan Dokter Spesialis I Bedah dan menyelesaikan karya ilmiah akhir ini.
11. Guru-guru, staf pengajar Bagian Ilmu Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
12. Guru-guru Program Studi Magister Ilmu Biomedik Program Pascasarjana Universitas Diponegoro yang telah memberikan pengetahuan, bimbingan, dan motivasi selama mengikuti program pendidikan magister.
13. Tim penguji dan nara sumber yang telah dengan sabar dan berkenan member masukan, arahan dalam penelitian dan penulisan tesis ini.

14. Semua rekan sejawat residen, karyawan dan karyawan Program Studi Magister Ilmu Biomedik UNDIP, karyawan dan karyawan Bagian Ilmu Bedah Fakultas Kedokteran UNDIP, serta semua yang telah membantu saya dalam penyusunan karya ilmiah akhir ini.
15. Orang tua saya, Alm. R. Danang Djojo ME., Ibu Atty Damayanti, Ibu mertua saya Ibu Asiah Nuri Suhud atas kesabarannya, do'a, curahan kasih sayang dan dukungan material serta moral dalam menyelesaikan tesis ini.
16. Istri saya tercinta dr. Dian Ayu Zahraini dan anak-anakku tercinta M. Alvito Farrosqi, M. Kenzie Mahendra, Kirana Alisavia Maheswari, atas cinta kasih, pengorbanan, semangat, pengertian dan dorongan serta motivasi dalam menyelesaikan karya akhir ini.

Penulis menyadari bahwa karya ilmiah akhir ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu kritik dan saran saya harapkan demi perbaikannya. Akhir kata saya mohon maaf yang sebesar-besarnya atas segala kesalahan dan kekhilafan yang terjadi selama menyelesaikan penelitian ini. Semoga Allah SWT. Melimpahkan rahmat-Nya kepada kita semua. Amin.

Semarang, April 2015

Vito Mahendra Ekasaputra

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
LEMBAR PENGESAHAN TESIS.....	ii
LEMBAR MONITORING.....	iii
LEMBAR PERNYATAAN.....	iv
RIWAYAT HIDUP.....	v
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR.....	viii
DAFTAR TABEL.....	ix
DAFTAR LAMPIRAN.....	x
DAFTAR SINGKATAN.....	xi
ABSTRAK.....	xii
ABSTRACT.....	xiii
BAB 1 PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Perumusan Masalah.....	6
1.3 Tujuan Penelitian.....	7
1.3.1 Tujuan Umum.....	7
1.3.2 Tujuan Khusus.....	7
1.4 Manfaat Penelitian.....	8
1.5 Orisinalitas Penelitian.....	9
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	11
2.1 Karsinoma Epidermoid.....	11
2.1.1 Epidemiologi.....	11
2.1.2 Etiologi.....	11
2.1.3 Gambaran Klinis.....	12
2.1.4 Penanganan.....	13
2.2 Siklus Sel Eukariot.....	17
2.2.1 Interfase.....	17
2.2.2 Fase Mitosis.....	21

2.2.3	Indek Mitosis.....	23
2.3	Pengendalian Pertumbuhan dan Differensiasi Sel.....	24
2.3.1	Protein Transduksi Sinyal.....	25
2.3.2	Faktor Transkripsi.....	27
2.4	Volume Tumor.....	29
2.5	Phaleria macrocarpa.....	30
BAB 3 KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, HIPOTESIS.....		36
3.1	Kerangka Teori.....	36
3.2	Kerangka Konsep.....	37
3.3	Hipotesis.....	37
BAB 4 METODE PENELITIAN.....		38
4.1	Rancangan Penelitian.....	38
4.2	Populasi dan Sampel.....	39
4.2.1	Populasi.....	39
4.2.2	Sampel.....	39
4.3	Waktu dan Lokasi Penelitian.....	41
4.4	Variabel Penelitian.....	41
4.5	Definisi Operasional.....	42
4.6	Bahan dan Alat.....	44
4.7	Skema Penelitian.....	47
4.8	Prosedur Pemeriksaan.....	48
4.9	Cara Pengumpulan Data.....	49
4.10	Analisis Data.....	49
4.11	Persyaratan Etik.....	50
BAB 5 HASIL PENELITIAN.....		51
5.1	Perubahan Ukuran Tumor.....	54
5.2	Indek Mitosis.....	58
5.3	Uji Korelasi Antara Indek Mitosis Dengan Perubahan Diameter Tumor...	61
BAB 6 PEMBAHASAN.....		63
BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN.....		71
7.1	Kesimpulan.....	71
7.2	Saran.....	72
DAFTAR PUSTAKA.....		73
LAMPIRAN.....		76

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1 Fase Pada Siklus Sel.....	17
Gambar 2 Kontrol Terhadap Perkembangan Sel Cyclin-CDK.....	19
Gambar 3 Fase Dalam Mitosis.....	23
Gambar 4 Diagram Skematik Hasil Penelitian.....	52
Gambar 5 Pemeliharaan mencit swiss pada penelitian.....	53
Gambar 6 Foto mencit swiss yang sudah diinduksi tumor.....	53
Gambar 7 Pengukuran diameter massa tumor dengan caliper (CaliPro).....	53
Gambar 8 Pengukuran diameter tumor sebelum dan sesudah perlakuan.....	55
Gambar 9 Boxplot perubahan diameter tumor.....	56
Gambar 10 Sel yang mengalami mitosis.....	59
Gambar 11 Boxplot indek mitosis.....	60
Gambar 12 Pathway penghantaran sinyal growth factor melalui RTKs.....	66

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Penelitian tentang <i>Phaleria macrocarpa</i>	9
Tabel 2. Definisi Operasional.....	42
Tabel 3. Rerata pengukuran diameter tumor sebelum dan sesudah Perlakuan.....	55
Tabel 4. Deskriptif dan normalitas data selisih diameter tumor.....	56
Tabel 5. Uji Kruskal Wallis selisih diameter tumor	57
Tabel 6. Uji Mann Whitney Selisih Diameter Tumor.....	57
Tabel 7. Deskriptif dan normalitas Data Indek Mitosis.....	59
Tabel 8. Uji Kruskal Wallis Indek Mitosis.....	60
Tabel 9. Uji Mann Whitney Indek Mitosis.....	61
Tabel 10. Uji korelasi antara indik mitosis dengan perubahan diameter tumor	61
Tabel 11. Uji korelasi Spearman selisih diameter tumor terhadap indik Mitosis.....	62

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Gambar / foto sel dengan gambaran mitosis.....	76
Lampiran 2. Analisa Statistik Perubahan Diameter Tumor.....	77
Lampiran 3. Analisa Statistik Indek Mitosis.....	80
Lampiran 4. Uji Korelasi Selisih Diameter Tumor dan Indek Mitosis.....	85
Lampiran 5. Patologi Anatomi Sampel, Ukuran Diameter Tumor Pre dan Post Perlakuan, Indek Mitosis Post Perlakuan.....	86
Lampiran 6. Foto Mencit yang Diinduksi Tumor, Perlakuan, dan Pengukuran Tumor.....	88
Lampiran 7. Foto Pemeliharaan Mencit.....	89
Lampiran 8. Foto Pengolahan Ekstrak <i>Phaleria macrocarpa</i>	90
Lampiran 9. Ethical Clearance.....	91
Lampiran 10. Surat Keterangan Telah Melakukan Penelitian di LPPT Unit IV Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.....	92

DAFTAR SINGKATAN

Akt	<i>protein kinase</i>
ATP	<i>Adenosine tri phosphate</i>
Bak	<i>B cell lymphoma 2 antagonist/killer</i>
Bax	<i>Bcl-2 associated x protein</i>
BSA	<i>body surface area</i>
Ca	<i>carcinoma</i>
CDKs	<i>cyclin dependent kinase</i>
CTL	<i>cytotoxic T lymphocytes</i>
DMBA	<i>9, 12-dimethyl-1,2-benzanthracene</i>
DNA	<i>deoxyribonucleic acid</i>
E2F	<i>essential-2 factor (faktor transkripsi)</i>
EGFR	<i>epidermal growth factor receptor</i>
Erk	<i>extracellular signal regulated kinase</i>
GA	<i>gallic Acid</i>
GDP	<i>guanine diphosphate</i>
GF	<i>growth factor</i>
Grb2	<i>growth receptor binding 2</i>
GTP	<i>guanine triphosphate</i>
HE	<i>hematoxylin eosin</i>
IFN	<i>interferon</i>
IL	<i>interleukin</i>
MAPK	<i>Mitogen activated protein kinase</i>

MAPKK	<i>Mitogen activated protein kinase kinase</i>
MEK	MAPK ERK kinase
Myc	<i>myelocytoma</i> (protoonkogen)
NES	<i>nuclear export signal</i>
NF-kB	<i>nuclear factor kappa B</i>
NK	<i>Natural Killer</i>
PDGF	<i>platelet derived growth factor receptor</i>
FGR	<i>fibroblast growth factor receptor</i>
PM	<i>Phaleria macrocarpa</i>
pRb	protein retinoblastoma (tumor supressor gen)
RAS	Rat sarcom
RTKs	<i>receptor tyrosine kinase</i>
SH2	Src homology 2
SH3	Src homology 3
SOS	<i>son of sevenless</i>
TNF	<i>tumor necrosis factor</i>
TPA	12-o-tetradecanoylphorbol-13-acetate
WHO	<i>World Health Organization</i>

ABSTRAK

Latar Belakang : Polifenol yang terdapat di dalam *Phaleria macrocarpa* dapat menghambat dan memblokir reseptor *growth factor*, dan menghambat *mitogen activated protein kinase* (MAPK) pada jalur sinyal reseptor tyrosine kinase (RTKs); dimana proses ini dapat dikenal dari penurunan indeks mitosis sebagai respon dari munculnya sel ganas dan resistensi secara klinis dari perkembangan tumor yang dapat diukur dari diameter perkembangan tumor. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui adanya pengaruh dan perbedaan indeks mitosis dan perkembangan diameter tumor pada tiap kelompok perlakuan mencit Swiss dengan karsinoma epidermoid dan untuk menganalisa korelasi antara indeks mitosis dan perkembangan diameter tumor.

Metode : Penelitian dilakukan pada 18 mencit Swiss, yang dilakukan randomisasi pre dan post test dikelompokkan menjadi empat kelompok. Kelompok pertama adalah kelompok kontrol, kelompok ke-2 mendapatkan *Phaleria macrocarpa* 0,0715 mg(0,36 ml)/hari, kelompok ke-3 mendapatkan paclitaxel 175 mg/m² dan cisplatin 50 mg/m² dan kelompok ke-4 mendapatkan *Phaleria macrocarpa* 0,0715 mg(0,36 ml)/hari dikombinasi dengan paclitaxel 175 mg/m² dan cisplatin 50 mg/m². Keseluruhan mencit telah diinduksi karsinoma epidermoid menggunakan 9, 12-dimethyl-1,2-benzanthracene (DMBA) dan 12-o-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA) secara topikal. Ukuran diameter tumor diukur sebelum dan setelah pemberian *Phaleria macrocarpa*, paclitaxel dan cisplatin, dan kombinasi selama 9 minggu. Indeks mitosis dihitung setelah perlakuan. Untuk mengevaluasi perkembangan diameter tumor menggunakan uji *Kruskal Wallis* dan uji *Man Whitney*, untuk menganalisa indeks mitosis dilakukan uji *Kruskal Wallis* dan uji *Man Whitney*. Untuk menganalisa korelasi antara indeks mitosis dan selisih diameter tumor menggunakan uji korelasi *Spearman*.

Hasil : terdapat perbedaan yang signifikan pada variabel indeks mitosis dan perkembangan diameter tumor diantara kelompok perlakuan terhadap kontrol. Terdapat hambatan terhadap perkembangan tumor dan penurunan dari indeks mitosis pada kelompok ke-4 dibandingkan dengan kelompok kontrol, kelompok ke-2 dan kelompok ke-3. Terdapat korelasi yang signifikan dan positif kuat antara indeks mitosis tumor dan diameter perkembangan tumor ($r=0,813$).

Kesimpulan : *Phaleria macrocarpa* dapat menurunkan indeks mitosis sel tumor dan menghambat progressivitas dari massa tumor.

Kata kunci : *Phaleria macrocarpa*, indeks mitosis, diameter tumor, karsinoma epidermoid.

ABSTRACT

Background : Polyphenols in *Phaleria macrocarpa* (Mahkota Dewa) can inhibit and block growth factor receptor, and inhibit mitogen activated protein kinase (MAPK) in receptor tyrosine kinase (RTKs) pathway; which can be recognized from the decrease of mitotic index as a response to malignant cells and resistance of clinically tumor development which can be measured from tumor growth diameter. Objective of this study is to prove the difference of mitotic index and diameter alteration of tumor growth and to analyze the correlation between mitotic index and diameter alteration of tumor growth.

Material and Method : A randomized pre and post test only control group design on 18 Swiss mice were divided into 4 groups. The first group is control group, group-2 was treated 0,0715 mg (0,36 ml) *Phaleria macrocarpa*/day, group-3 was treated paclitaxel 175 mg/m² and cisplatin 50 mg/m², and group 4 was treated 0,0715 mg (0,36 ml) *Phaleria macrocarpa*/day combined with paclitaxel 175 mg/m² and cisplatin 50 mg/m². All mice were inducted for epidermoid carcinoma with 9, 12-dimethyl-1,2-benzanthracene (DMBA) and 12-o-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA) topically. Tumor size diameter were measured before and after the administration of *Phaleria macrocarpa*, paclitaxel and cisplatin, and combined for 9 weeks. Mitotic index were measured at the end of treatment. *Kruskal Wallis test and Man Whitney test* was used to evaluate the progression of tumor diameter size and *Man Whitney Test* was used to analyze mitotic index. *Spearman's correlation test* was performed to analyze the correlation between mitotic index and diameter alteration of tumor size.

Results : There was significant difference in mitotic index and diameter alteration of tumor growth among groups with control. There was significant inhibition of tumor growth and decrease of mitotic index in group-4 compared with control group, group-2, and group-3. There was significant positive correlation between tumor mitotic index and diameter alteration of tumor size ($r=0,813$).

Conclusion : *Phaleria macrocarpa* is able to decrease the mitotic index of tumor cells and inhibit tumor mass progression.

Key words : *Phaleria macrocarpa, mitotic index, tumor diameter, epidermoid carcinoma.*