

**EFEKTIVITAS PEMBERIAN EKSTRAK *PHALERIA*
MACROCARPA TERHADAP PENINGKATAN
EKSPRESI GRANZYME SEL MONONUKLEAR DAN
HAMBATAN PERKEMBANGAN DIAMETER TUMOR
PADA MENCIT SWISS DENGAN KARSINOMA
EPIDERMOID KULIT**

*Effecttiveness of Phaleria Macrocarpa Supplementation on The
Increase of Granzyme Expression and Tumor Growth Inhibition in
Swiss Mice with Epidermoid Skin Cancer*



Tesis

untuk memenuhi sebagian persyaratan
mencapai derajat Sarjana S-2
Magister Ilmu Biomedik

Djoko Handojo

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2015**

TESIS

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK *PHALERIA*
MACROCARPA TERHADAP EKSPRESI *GRANZYME SEL*
MONONUKLEAR SERTA PERKEMBANGAN MASSA TUMOR
PADA MENCIT SWISS DENGAN KARSINOMA
EPIDERMOID KULIT**

Disusun Oleh :

Djoko Handoyo

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. dr. Selamat Budijitno, M.Si.Med.,
Sp.B., SpB(K)Onk
NIP. 197108072008121001

Prof.dr. Edi Dharmana, MSc., PhD.,
Sp.Park.
NIP. 194703121976031001

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, Maret 2015

Djoko Handojo

RIWAYAT HIDUP

A. IDENTITAS

Nama : dr. Djoko Handojo, Sp.B, Sp.B(K)Onk
NIM Magister Biomedik : 22010110400051
Tempat/Tanggal lahir : Magelang, 19 November 1948
Agama : Islam
Jenis Kelamin : Laki-laki
Status : Menikah
Alamat : Jl. Guntur No.10 Semarang

RIWAYAT PENDIDIKAN

1. SD Negeri Bandung : Lulus tahun 1960
2. SMP Negeri, Jakarta : Lulus tahun 1963
3. SMA Negeri Semarang : Lulus tahun 1967
4. FK UNDIP Semarang : Lulus tahun 1974
5. PPDS I Bedah FK UNDIP, Semarang : Lulus tahun 1986
6. PPDS II Bedah Onkologi FK UI, Jakarta : Lulus tahun 1987
7. Magister Ilmu Biomedik Pascasarjana UNDIP, Semarang

B. RIWAYAT PEKERJAAN

Staf Pengajar UNDIP, Semarang

KATA PENGANTAR

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

“EFEKTIVITAS PEMBERIAN EKSTRAK *PHALERIA MACROCARPA* TERHADAP PENINGKATAN EKSPRESI GRANZYME SEL MONONUKLEAR DAN HAMBATAN PERKEMBANGAN DIAMETER TUMOR PADA MENCIT SWISS DENGAN KARSINOMA EPIDERMOID KULIT “

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. dr. Selamat Budijitno, Sp.B, Sp.B(K)Onk., selaku pembimbing I yang telah memberikan semua bimbingan, sumbangan pikiran, waktu, tenaga, dan perhatian dalam penyusunan tesis ini.
2. Prof.dr. Edi Dharmana, MSc., PhD., Sp.Park., selaku pembimbing II 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, Msi.Med, 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. Guru-guru Program Studi Magister Ilmu Biomedik Program Pascasarjana Universitas Diponegoro yang telah memberikan pengetahuan, bimbingan, dan motivasi selama mengikuti program pendidikan magister.
11. Semua rekan karyawan dan karyawan Program Studi Magister Ilmu Biomedik UNDIP, serta semua yang telah membantu saya dalam penyusunan karya ilmiah akhir ini.

Saya 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.

Semarang, Maret 2015

Djoko Handojo

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
LEMBAR PENGESAHAN TESIS.....	ii
LEMBAR PERNYATAAN.....	iii
RIWAYAT HIDUP.....	iv
KATA PENGANTAR.....	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR.....	ix
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR LAMPIRAN.....	xi
DAFTAR SINGKATAN.....	xii
ABSTRAK.....	xiii
ABSTRACT.....	xiv
BAB 1 PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Perumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.3.1 Tujuan Umum.....	4
1.3.2 Tujuan Khusus.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
1.5 Orisinalitas Penelitian.....	6
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1 Karsinoma Epidermoid.....	7
2.1.1 Anatomi dan histologi.....	7
2.1.2 Insiden.....	8
2.1.3 Etiologi.....	9
2.1.4 Lokasi dan anatomi.....	11
2.1.5 Klasifikasi dan staging.....	11
2.1.6 Gambaran klinis.....	14
2.1.7 Diagnosis.....	14
2.1.8 Penanganan.....	15

2.1.9	Perkembangan massa tumor.....	18
2.2	Respon imunologik terhadap sel tumor.....	19
2.3	Mekanisme effektor dalam melawan tumor.....	20
2.4	Granzyme.....	26
2.5	Mahkota Dewa.....	28
2.6	Kerangka Teori.....	30
2.7	Kerangka Konsep.....	31
2.8	Hipotesis.....	31
BAB 3 METODE PENELITIAN.....		33
3.1	Rancangan Penelitian.....	33
3.2	Sampel penelitian.....	34
3.3	Lokasi Penelitian.....	35
3.4	Variabel Penelitian.....	36
3.5	Bahan dan alat penelitian.....	37
3.6	Pelaksanaan penelitian.....	41
3.7	Alur Penelitian.....	42
3.8	Prosedur pemeriksaan.....	42
3.9	Cara pengumpulan data.....	46
3.10	Analisis data.....	46
BAB 4 HASIL PENELITIAN.....		48
4.1	Ekspressi Granzyme.....	50
4.2	Perubahan Ukuran Tumor.....	52
4.3	Uji Korelasi Ekspressi Granzyme Dengan Perubahan Diameter Tumor...	57
BAB 5 PEMBAHASAN.....		58
BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN.....		62
6.1	Kesimpulan.....	62
6.2	Saran.....	63
DAFTAR PUSTAKA.....		64
LAMPIRAN.....		67

DAFTAR GAMBAR

		Halaman
Gambar 1	Tahapan sitolitik sel target oleh CTLs.....	22
Gambar 2	Jalur apoptosis sel target yang diinduksi oleh Granzyme B.....	26
Gambar 3	Struktur kristal kimia dari granzyme B.....	28
Gambar 4	Buah Mahkota dewa.....	29
Gambar 5	Kerangka teori.....	30
Gambar 6	Kerangka konsep.....	31
Gambar 7	Skema rancangan penelitian.....	34
Gambar 8	Alur penelitian.....	42
Gambar 9	Diagram skematik hasil penelitian.....	49
Gambar 10	Gambaran histologis ekspresi granzyme.....	50
Gambar 11	Boxplot perubahan ekspresi granzyme.....	50
Gambar 12	Pemeliharaan mencit swiss pada penelitian.....	53
Gambar 13	Foto mencit swiss yang sudah diinduksi tumor.....	53
Gambar 14	Pengukuran diameter massa tumor dengan caliper.....	53
Gambar 15	Grafik pengukuran diameter tumor sebelum dan sesudah perlakuan.....	54
Gambar 16	Boxplot perubahan selisih diameter tumor.....	55

DAFTAR TABEL

		Halaman
Tabel 1	Orisinalitas penelitian.....	6
Tabel 2	Definisi operasional.....	36
Tabel 3	Deskriptif dan normalitas data ekspresi <i>granzyme</i> sesudah perlakuan.....	51
Tabel 4	Uji Kruskal Wallis Ekspresi <i>Granzymes</i> sesudah perlakuan.....	51
Tabel 5	Mann Whitney Test Ekspresi <i>Granzymes</i> sesudah perlakuan.....	52
Tabel 6	Rerata pengukuran diameter tumor sebelum dan sesudah perlakuan.....	54
Tabel 7	Deskriptif dan normalitas data selisih diameter tumor sebelum dan sesudah perlakuan.....	55
Tabel 8	Uji Kruskal Wallis selisih diameter tumor.....	56
Tabel 9	Mann Whitney test selisih diameter tumor.....	56
Tabel 10	Deskriptif dan normalitas data selisih diameter tumor dan Ekspresi <i>granzyme</i>	57
Tabel 10	Korelasi Spearmanselisih Ekspresi <i>Granzyme</i> terhadap selisih diameter tumor	57

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1	Gambar / foto ekspresi granzyme..... 67
Lampiran 2	Analisa statistik perubahan diameter tumor..... 68
Lampiran 3	Analisa statistik granzyme..... 77
Lampiran 4	Uji korelasi selisih diameter tumor dan ekspresi granzyme.. 86
Lampiran 5	Ukuran diameter tumor ore dan post perlakuan, selisih Diameter tumor dan ekspresi granzyme post perlakuan..... 87
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

DAFTAR SINGKATAN

ADCC	<i>Antibody-Dependent Cellular Cytotoxicity</i>
CTL	<i>cytotoxic T lymphocytes</i>
DMBA	9, 12-dimethyl-1,2-benzanthracene
FASL	Fas ligand
HLA-G	<i>Human Leucocyte Antigen - Gene</i>
ICAM	<i>Interseluler Adhesion Molecule</i>
IFN- γ	Interferon gamma
IgG	Immunoglobulin G
IL-2	Interleukin-2
IL-12	Interleukin-12
LAK	<i>Lymphokine Activated Killer</i>
LPPT	Lembaga Penelitian dan Pengujian Terpadu
MHC	<i>Major Histocompatibility Complex</i>
mRNA	<i>messenger Ribo Nucleic Acid</i>
NK cell	<i>Natural Killer Cell</i>
NKR-K	<i>Neuromedin K Receptor</i>
TCR	<i>T-Cell Receptor</i>
Th1	<i>T helper 1</i>
TIL	<i>Tumor Infiltrating Lymphocyte</i>
TNF- α .	<i>Tumor Necrosis Factor alpha</i>
TPA	12-0-tetradecanoylphorbol-13-acetate
WHO	<i>World Health Organization</i>

ABSTRACT

Background : Polyphenols in *Phaleria macrocarpa* (Mahkota Dewa) can stimulate Interferon- production in some immunocyt population and increase Cytotoxic T-Lymphocyt (CTL) and Natural Killer Cell (NK-Cell) activity. This process can be recognised from *granzyme* expression as a response to malignant cells and resistance of clinically tumor development which can be measured from tumor growth diameter of skin epidermoid carcinoma. Objective of this study is to prove the effect of gradation dose of *Phaleria macrocarpa* and combine with chemotherapy to mononuclear cells *granzyme* expression and tumor growth of skin epidermoid carcinoma.

Material and Method : A randomized pre and post test only control group design in 36 Swiss mice were divided into 5 groups. The first group is control group, group-2 was treated with 0,035 mg (0,175 ml) *Phaleria macrocarpa*/day, group-3 was treated 0,0715 mg (0,36 ml) /day, group-4 was treated with paclitaxel 175 mg/m² and cisplatin 50 mg/m², and group 5 was treated with 0,0715 mg (0,36 ml) *Phaleria macrocarpa*/day combined with paclitaxel 175 mg/m² and cysplatin 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 cysplatin, and combined for 9 weeks. Granzyme expressions 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 *granzyme* expression. *Spearman's correlation test* was performed to analyze the correlation between *granzyme* expression and diameter alteration of tumor size.

Results : There was significant difference in *granzyme* expression variable and diameter alteration of tumor growth among groups with control. There was significant inhibition of tumor growth and increased of *granzyme* expression in group-5 compared with control group, group-2, group-3, and group-4. There was significant strongly negative correlation between *granzyme* expression and diameter alteration of tumor size ($r=-0,668$).

Conclusion : *Phaleria macrocarpa* is able to increase the *granzyme* expressions of tumor cells and inhibit tumor mass progression.

Key words : *Phaleria macrocarpa*, *granzyme expression*, *tumor diameter*, *skin epidermoid carcinoma*.

ABSTRAK

Latar Belakang : Polifenol pada *Phaleria macrocarpa* (Mahkota Dewa) dapat menstimulasi produksi Interferon- pada beberapa populasi immunosit dan meningkatkan aktivitas Limfosit T sitotoksik (CTL) dan *Natural Killer Cell* (NK-Cell). Proses ini dapat dikenali dari ekspresi granzyme sebagai respon dari sel maligna dan secara klinis terhadap hambatan dari pertumbuhan tumor yang dapat diukur dari perkembangan diameter tumor karsinoma epidermoid. Tujuan penelitian ini untuk membuktikan pengaruh dosis bertingkat Mahkota dewa dan kombinasi dengan kemoterapi terhadap ekspresi granzyme sel mononuklear dan perkembangan diameter tumor karsinoma epidermoid.

Metode : Penelitian dengan desain randomized pre dan post test dilakukan pada 36 mencit Swiss, yang dikelompokkan menjadi lima kelompok. Kelompok pertama adalah kelompok kontrol, kelompok ke-2 mendapatkan *Phaleria macrocarpa* 0,035 mg/hari (0,175 ml)/hari, kelompok ke-3 0,0715 mg/hari (0,36 ml)/hari, kelompok ke-4 mendapatkan paclitaxel 175 mg/m² dan cisplatin 50 mg/m² dan kelompok ke-5 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. Ekspresi granzyme dihitung setelah perlakuan. Perkembangan diameter tumor dan ekspresi *granzyme* dianalisis menggunakan uji *Kruskal Wallis* dan uji *Man Whitney*. Korelasi antara ekspresi granzyme dan selisih diameter tumor menggunakan uji korelasi *Spearman*.

Hasil : terdapat perbedaan yang signifikan pada variabel ekspresi granzyme dan perkembangan diameter tumor diantara kelompok perlakuan terhadap kontrol. Terdapat hambatan terhadap perkembangan tumor dan peningkatan dari ekspresi granzyme pada kelompok ke- 5 dibandingkan dengan kelompok kontrol, kelompok ke-2, ke-3, dan kelompok ke-4. Terdapat korelasi yang signifikan dengan sifat hubungan negatif kuat antara ekspresi granzyme dan diameter perkembangan tumor ($r=-0,668$).

Kesimpulan : *Phaleria macrocarpa* dapat meningkatkan ekspresi granzyme pada sel tumor dan menghambat progressivitas dari massa tumor.

Kata kunci : *Phaleria macrocarpa*, *ekspresi granzyme*, *diameter tumor*, *karsinoma epidermoid kulit*.

