

**PENGARUH PEMBERIAN KOMBINASI 5FU-
LEUCOVORIN DENGAN *PHALERIA MACROCARPA*
TERHADAP PROLIFERASI SEL DAN DIAMETER
ADENOKARSINOMA KOLON TIKUS *SPRAGUE*
*DAWLEY***

***THE EFFECT OF 5FU-LEUCOVORIN WITH PHALERIA
MACROCARPA COMBINATION TO CELL PROLIFERATION
AND DIAMETER OF COLON ADENOCARSINOMA OF
SPRAGUE DAWLEY RAT***



**Tesis
Untuk memenuhi sebagian persyaratan
mencapai derajat Sarjana S-2**

Magister Ilmu Biomedik

**Luqman Alwi
22010110400020**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2015**

TESIS

PENGARUH PEMBERIAN KOMBINASI 5FU-LEUCOVORIN DENGAN
PHALERIA MACROCARPA TERHADAP PROLIFERASI SEL DAN
DIAMETER ADENOKARSINOMA KOLON TIKUS *SPRAGUE DAWLEY*

disusun oleh

Luqman Alwi
22010110400020

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji
Pada tanggal 24 Februari 2015
dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

Menyetujui,
Pembimbing

Pembimbing I

Pembimbing II

Dr.dr. Selamat Budijitno, M.Si.Med, Sp.B, Sp.B(K)Onk
NIP.19710807200812 1 001

dr.Edwin Basyar, M.Kes, Sp.B, Sp.BA
NIP. 19620925199203 1 002

Mengetahui,

Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik
Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

Prof. Dr. dr. Tri Nur Kristina, DMM, M.Kes
NIP.19590527 198603 2 001

Pengaruh Pemberian Kombinasi 5FU-Leucovorin dengan *Phaleria macrocarpa* terhadap Proliferasi Sel dan Diameter Adenokarsinoma Kolon Tikus *Sprague dawley*

Alwi L, Budijitno S*, Basyar E**

*) Residen Bedah Umum Universitas Diponegoro / RSUP Dr. Kariadi, Semarang

***) Staf Subbagian Bedah Onkologi Universitas Diponegoro / RSUP Dr. Kariadi, Semarang

***) Staf Subbagian Bedah Anak Universitas Diponegoro / RSUP Dr. Kariadi, Semarang

Abstrak

Pendahuluan

Insidensi kanker kolon di seluruh dunia masih tinggi dan menjadi penyebab kematian terbanyak kategori penyakit tidak menular. Pembedahan tetap merupakan pilihan utama dengan modalitas lainnya berupa kemoterapi, radiasi dan imunoterapi seperti *P macrocarpa* (Mahkota Dewa). Peneliti berusaha membuktikan efek pemberian ekstrak buah *P macrocarpa* terhadap adenokarsinoma kolon terutama dalam hal proliferasi sel dan perubahan diameter massa tumor.

Metode

Penelitian berupa eksperimental laboratorik dengan desain *post test only*. Penelitian ini menggunakan tikus putih betina strain *Sprague dawley* dibagi menjadi 4 kelompok yaitu kelompok K, P1 (kelompok kemoterapi), P2 (kelompok *P macrocarpa*), dan P3 (Kelompok kombinasi). Tumor kolon diperoleh dengan induksi 1,2-DMH subkutan. Kemoterapi yang diberikan 5FU-leucovorin sebanyak 6 siklus sesuai *Rosswell Park Regiment*. *P macrocarpa* diberikan dengan dosis 0,495 mg/hari (0,99 mL /hari) per oral. Proliferasi sel dinilai dengan pengecatan IHC Ki-67 sedangkan diameter massa tumor diukur menggunakan caliper tumor.

Hasil

Proliferasi sel dan diameter massa tumor didapatkan rerata kelompok K, P1, P2, P3 berturut-turut 37.150 ± 8.878 , 28.567 ± 12.531 , 35.533 ± 8.982 , 22.567 ± 3.445 dan 1.403 ± 0.265 , 1.135 ± 0.154 , 1.339 ± 0.111 , 1.074 ± 0.164 . Analisis statistik menunjukkan terdapat perbedaan bermakna pada proliferasi sel antara kelompok K vs P3 ($p=0.011$), P2 vs P3 ($p=0.022$) dan pada diameter massa tumor antara kelompok K vs P1 ($p=0.020$), K vs P3 ($p=0.005$), P2 vs P3 (0.021). Analisis korelasi proliferasi sel dengan diameter massa tumor didapatkan korelasi tidak bermakna ($p=0.405$).

Kesimpulan

P macrocarpa mempunyai potensi sebagai imunostimulator yang dapat meningkatkan efektivitas kemoterapi 5FU-leucovorin dalam hal penurunan proliferasi sel dan penurunan diameter adenokarsinoma kolon tikus *Sprague dawley*.

Kata kunci : *P macrocarpa*, adenokarsinoma kolon, proliferasi sel, diameter massa tumor

The Effect of 5FU-Leucovorin with *Phaleria macrocarpa* Combination to Cell proliferation and Diameter of Colon Adenocarcinoma of *Sprague dawley* Rat

Alwi L, Budijitno S*, Basyar E**

*) General Surgery Resident of Diponegoro University / RSUP Dr. Kariadi, Semarang

***) Staff on Oncology Surgery of Diponegoro University / RSUP Dr. Kariadi, Semarang

****) Staff on Pediatric Surgery of Diponegoro University / RSUP Dr. Kariadi, Semarang

Abstract

Introduction

The incidence of colon cancer in the world is still high and the most cause of death of non-communicable disease category. Surgery remains the top choice therapy with other modalities such as chemotherapy, radiation and immunotherapy as *P macrocarpa* (Mahkota Dewa). This study seeks to prove the effects of fruit extracts *P macrocarpa* against colon adenocarcinoma, especially in terms of cell proliferation and changes in diameter of the tumor mass.

Method

Laboratory experimental research with post-test only design. This study used a female *Sprague dawley* white rats were divided into 4 groups : group K, P1 (chemotherapy group), P2 (*P macrocarpa* group), and P3 (combination group). Colon tumors induced by 1,2-DMH subcutaneously. Chemotherapy given 5FU-leucovorin as much as 6 cycles according Rosswell Park Regiment. *P macrocarpa* given at a dose of 0,495 mg / day (0.99 mL / day) orally. Cell proliferation was assessed by IHC Ki-67 staining, while the diameter of the tumor mass was measured using a caliper tumor.

Result

Mean the cell proliferation and diameter of tumor masses on K, P1, P2, P3 group was 37.150 ± 8.878 , 28.567 ± 12.531 , 35.533 ± 8.982 , 22.567 ± 3.445 and 1.403 ± 0.265 , 1.135 ± 0.154 , 1.339 ± 0.111 , 1.074 ± 0.164 respectively. Statistical analysis showed a significant difference in cell proliferation between K vs P3 ($p=0.011$), P2 vs P3 ($p=0.022$) and significant difference in diameter of the tumor mass between K vs P1 ($p=0.020$), K vs P3 ($p=0.005$), P2 vs P3 (0.021). Correlation analysis of cell proliferation with a diameter of the tumor mass was not significant ($p=0.405$).

Conclusion

P macrocarpa has the potential as immunostimulatory which can increase the effectiveness of 5FU-leucovorin chemotherapy in terms lowering the cell proliferation and decrease the diameter of adenocarcinoma colon of *Sprague dawley* rat.

Keywords : *P macrocarpa*, colon adenocarcinoma, cell proliferation, tumor mass diameter

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

Semarang, Februari 2015

Luqman Alwi

RIWAYAT HIDUP

A. Identitas

Nama : Luqman Alwi
NIM Magister Biomedik : 22010110400020
NIM PPDS I Bedah : 22040111300004
Tempat/Tgl Lahir : Serang, 17 April 1984
Agama : Islam
Jenis Kelamin : Laki-laki

B. Riwayat Pendidikan

1. SD YPWKS III Cilegon : Lulus tahun 1996
2. SLTPN III Cilegon : Lulus tahun 1999
3. SMUN III Bandung : Lulus tahun 2002
4. FK UNDIP Semarang : Lulus tahun 2008
5. PPDS Ilmu Bedah FK UNDIP : (2011 - sekarang)
6. Magister Ilmu Biomedik PPS UNDIP : (2011 - sekarang)

C. Riwayat Pekerjaan

1. Tahun 2009-2010 : Dokter PTT Puskesmas Beruta, Kec Bulik Timur,
Kab Lamandau, Kalimantan Tengah

D. Riwayat Keluarga

1. Nama Orang Tua
Ayah : Samsul Hadi
Ibu : Fatmah Sam
2. Nama Istri : Chrisna Ayu Intanar
3. Nama Anak : Alya Soraya Alwi
Alila Farahsyifa Alwi

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN.....	ii
LEMBAR MONITORING PERBAIKAN	iii
ABSTRAK	iv
PERNYATAAN	vi
RIWAYAT HIDUP	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
DAFTAR SINGKATAN	xv
KATA PENGANTAR	xvi
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	6
1.3. Tujuan Penelitian	7
1.4. Manfaat Penelitian.....	8
1.5. Keaslian Penelitian.....	8
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	10
2.1. Kanker Kolon.....	10

2.1.1. Epidemiologi	10
2.1.2. Anatomi dan Histologi	11
2.1.3. Etiologi dan Patogenesis	13
2.1.4. Klasifikasi.....	16
2.1.5. Penatalaksanaan.....	18
2.1.6. Prognosis	19
2.2. Pembelahan Mitosis dan Ki-67 <i>Labelling Index</i>	21
2.2.1. Pembelahan Mitosis	21
2.2.2. Ki-67 <i>Labelling Index</i>	28
2.3. <i>Phaleria macrocarpa</i>	29
2.4. 5FU-Leucovorin.....	32
2.5. <i>1,2 Dimethylhidrazine</i>	34
BAB 3. KERANGKA TEORI, KONSEP, DAN HIPOTESIS	38
3.1. Kerangka Teori	38
3.2. Kerangka Konsep.....	39
3.3. Hipotesis	39
BAB 4. METODE PENELITIAN	40
4.1. Desain Penelitian.....	40
4.2. Populasi dan Sampel Penelitian	41
4.2.1. Populasi	41
4.2.2. Sampel	41
4.3. Waktu dan Lokasi Penelitian	42
4.4. Variabel Penelitian	43

4.4.1. Variabel Bebas.....	43
4.4.2. Variabel Tergantung	43
4.4.3. Definisi Operasional	43
4.5. Bahan dan Alat Penelitian	44
4.5.1. Bahan untuk Perlakuan	44
4.5.2. Bahan untuk Pemeriksaan Histopatologi Rutin H&E dan IHC Ki-67	45
4.5.3. Alat untuk pembuatan sediaan penelitian dengan IHC Ki-67	46
4.5.4. Alat untuk pengukuran diameter tumor	46
4.5.5. Alat untuk pengamatan dan dokumentasi sediaan	46
4.6. Prosedur Pengumpulan Data.....	47
4.7. Alur Kerja	48
4.8. Prosedur Penelitian.....	49
4.8.1. Prosedur pengukuran diameter tumor	49
4.8.2. Prosedur pembuatan preparat blok parafin.....	50
4.8.3. Prosedur pengecatan jaringan dengan H&E.....	51
4.8.4. Prosedur pengecatan jaringan dengan IHC Ki-67	51
4.8.5. Prosedur penghitungan proliferasi sel.....	53
4.9. Analisis Data	53
BAB 5. HASIL PENELITIAN.....	54
5.1 Analisa Deskriptif	55
5.1.1. Deskripsi data proliferasi sel	55

5.1.2. Deskripsi data diameter massa tumor	57
5.2 Distribusi Data	58
5.3 Uji Statistik	59
5.3.1. Proliferasi sel	59
5.3.2. Diameter massa tumor.....	60
5.3.3. Korelasi proliferasi sel dg diameter massa tumor.....	61
BAB 6. PEMBAHASAN	63
BAB 7. SIMPULAN DAN SARAN.....	68
7.1 Simpulan	68
7.2 Saran	68
DAFTAR PUSTAKA	69
LAMPIRAN	78

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Skematik kejadian morfologik & molekuler tumorigenesis kolorektal	16
Gambar 2. Fase-fase dalam siklus sel.....	22
Gambar 3. Aktivitas regulasi kompleks cyclin-CDK terhadap siklus sel	23
Gambar 4. Fase-fase dalam mitosis.....	25
Gambar 5. Kromosom pada fase Mitosis.....	26
Gambar 6. <i>Consolidated report</i> penelitian	55
Gambar 7. Grafik box plot proliferasi sel.....	56
Gambar 8. Grafik box plot diameter massa tumor	57
Gambar 9. Grafik korelasi proliferasi sel dengan diameter massa tumor.....	62
Gambar 10. Pemberian induksi <i>1,2 Dimethylhydrazine</i> secara subkutan	80
Gambar 11. Gambaran makroskopis tumor kolon	80
Gambar 12. Pengukuran massa tumor kolon	80
Gambar 13. Gambaran mikroskopis pengecatan H&E	81
Gambar 14. Gambaran mikroskopis kelompok kontrol	82
Gambar 15. Gambaran mikroskopis kelompok P1	82
Gambar 16. Gambaran mikroskopis kelompok P2	83
Gambar 17. Gambaran mikroskopis kelompok P3	83

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Perbandingan <i>5-year survival rates</i> antara klasifikasi <i>Dukes</i> , <i>staging</i> dan sistem TNM.....	20
Tabel 2. Total kandungan phenol dan flavonoid dari berbagai bagian buah <i>Phaleria macrocarpa</i>	30
Tabel 3. Nilai IC50 dari ekstrak <i>Phaleria macrocarpa</i> terhadap kanker kolon, kanker payudara, sel Hela, sel hepar.....	30
Tabel 4. Karakteristik data proliferasi sel.....	56
Tabel 5. Karakteristik data diameter massa tumor.....	57
Tabel 6. Uji normalitas dan homogenitas data proliferasi sel dan diameter massa tumor.....	58
Tabel 7. Analisis perbedaan proliferasi sel antar kelompok perlakuan.....	59
Tabel 8. Analisis <i>post hoc</i> proliferasi sel antar kelompok perlakuan.....	59
Tabel 9. Analisis perbedaan diameter massa tumor antar kelompok perlakuan.....	60
Tabel 10. Analisis <i>post hoc</i> diameter massa tumor antar kelompok perlakuan.....	60
Tabel 11. Analisis Korelasi Proliferasi Sel terhadap Diameter Massa Tumor.....	61

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Perhitungan Dosis Konversi	78
Lampiran 2. Hasil Pengukuran Penelitian.....	79
Lampiran 3. Foto Penelitian	80
Lampiran 4. Gambaran Mikroskopis Pengecatan H&E	81
Lampiran 5. Gambaran Mikroskopis IHC Ki-67.....	82
Lampiran 6. Data Statistik.....	84

DAFTAR SINGKATAN

1. 5FU = 5 Fluorouracyl
2. ATP = *Adenosine Tri-Phosphate*
3. CDK = *Cyclin Dependent Kinase*
4. CIN = *Chromosomal Instability*
5. DNA = *Deoxyribo Nucleic Acid*
6. DCC = *Deleted in Colon Cancer*
7. EGFR = *Epidermal Growth Factor Receptor*
8. FGR = *Fibroblast Growth Factor Receptor*
9. HNPCC = *Hereditary Nonpolyposis Colon Cancer*
10. LCS = *Liquor Cerebro Spinalis*
11. MAPK = *Mitogen-Activated Protein Kinase*
12. MSI = *Microsatellite Instability*
13. MMR = *mismatch repair*
14. NCCN = *National Comprehensive Cancer Network*
15. PDGF = *Platelet-Derived Growth Factor Receptor*
16. RTK = *Receptor Tirosin Kinase*
17. TME = *Total Mesorectal Excision*
18. UTP = *Uridine Tri-Phosphate*
19. UMP = *Uridine Mono-Phosphate*

KATA PENGANTAR

Puji syukur kami panjatkan ke hadirat Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan berkah-Nya, sehingga kami dapat menyelesaikan tesis yang berjudul “PENGARUH PEMBERIAN KOMBINASI 5FU-LEUCOVORIN DENGAN PHALERIA MACROCARPA TERHADAP PROLIFERASI SEL DAN DIAMETER ADENOKARSINOMA KOLON TIKUS SPRAGUE DAWLEY”.

Penelitian ini diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar derajat sarjana S-2 Magister Ilmu Biomedik dan Program Pendidikan Dokter Spesialis I di Bagian Ilmu Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Semarang.

Tesis ini diharapkan dapat memberikan kontribusi terhadap perkembangan ilmu di bidang bedah terutama bidang bedah onkologi.

Pada kesempatan yang baik ini, ingin kami menyampaikan ucapan terimakasih dan penghargaan yang sebesar-besarnya kepada :

1. dr. Sahal Fatah, Sp.B.Sp.BTKV. selaku Kepala Bagian / SMF Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro/Rumah Sakit Dr. Kariadi Semarang yang telah memberikan kesempatan kepada kami untuk mengikuti Program Pendidikan Dokter Spesialis I Bedah dan Program Magister Ilmu Biomedik serta perhatian, dorongan, dan bimbingan sehingga tesis ini dapat diselesaikan.
2. dr. Benny Issakh, Sp.B.Sp.B.(K)Onk. selaku Ketua Program Studi Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro yang telah memberikan

kesempatan kepada kami untuk mengikuti Program Pendidikan Dokter Spesialis I Bedah dan Program Magister Ilmu Biomedik serta perhatian dan bimbingan sehingga tesis ini dapat diselesaikan.

3. Dr. dr. Selamat Budijitno, M.Si Med, Sp.B.(K)Onk, guru sekaligus pembimbing I dalam penelitian ini, atas segala waktu, tenaga dan bimbingan yang diberikan sehingga tesis ini dapat selesai.
4. dr.Edwin Basyar, M.Kes, Sp.B, Sp.BA, guru sekaligus pembimbing II dalam penelitian ini, yang selalu meluangkan waktu, dan tenaga dalam membimbing tesis ini hingga selesai.
5. Prof. Drs. Sudharto P. Hadi, MS, Ph.D selaku Rektor Universitas Diponegoro Semarang.
7. Kepada guru-guru kami, staf pengajar Bagian Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
8. Prof. Dr. dr. Tri Nur Kristina, DMM, M.Kes selaku Dekan Fakultas Kedokteran dan Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
9. Guru-guru Program Studi Magister Ilmu Biomedik Program Pascasarjana Universitas Diponegoro yang telah memberi pengetahuan dan bimbingan kepada kami serta memberikan motivasi selama mengikuti program pendidikan magister dan penyusunan tesis ini.
10. Semua rekan sejawat Residen Bagian Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, karyawan dan karyawan Bagian Bedah, karyawan dan karyawan Program Studi Magister Ilmu Biomedik

Universitas Diponegoro serta staf yang telah membantu kami selama dalam penelitian hingga penyusunan tesis.

11. Yang tercinta istri ; Chrisna dan anak kami; Alya dan Alila atas kesabaran, dukungan moral dan semangat bagi kami untuk menyusun dan menyelesaikan tesis ini.
12. Orang tua kami Bapak Samsul Hadi dan Ibu Fatmah Sam atas dukungannya dalam menyelesaikan tesis ini.
13. Mertua Bapak Aris Sambono dan Ibu Naning Sulistyowati atas dukungannya yang telah diberikan.

Kami menyadari bahwa tesis ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu kami mengharapkan saran dan kritik untuk kesempurnaan tesis ini. Akhir kata, kami mohon maaf atas segala kesalahan dan kekhilafan, sengaja maupun tidak sengaja baik itu perkataan atau perbuatan yang kami lakukan selama kami menyelesaikan tesis ini.

Semarang, Februari 2015

Luqman Alwi