

KARYA AKHIR

ANALISIS KADAR *TUMOR NECROSIS FACTOR ALPHA* (TNF- α) CAIRAN BILASAN BRONKUS PADA PASIEN KANKER PARU

*ANALYSIS OF TUMOR NECROSIS FACTOR ALPHA (TNF- α)
BRONCHIAL WASHING IN LUNG CANCER PATIENT*

DEWI SRI KARTINI



**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS-1 (SP.1)
PROGRAM STUDI ILMU PATOLOGI KLINIK
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2018**

**ANALISIS KADAR *TUMOR NECROSIS FACTOR ALPHA*
(TNF- α) CAIRAN BILASAN BRONKUS PADA PASIEN
KANKER PARU**

Karya Akhir

Sebagai Salah Satu Syarat Mencapai Gelar Spesialis-1 (Sp.1)

Program Studi
Ilmu Patologi Klinik

Disusun dan Diajukan oleh

Dewi Sri Kartini

Kepada

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS-1 (SP-1)
PROGRAM STUDI ILMU PATOLOGI KLINIK
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2018**

KARYA AKHIR

ANALISIS KADAR TUMOR NECROSIS FACTOR ALPHA (TNF- α) CAIRAN BILASAN BRONKUS PADA PASIE KANKER PARU

Yang disusun dan diajukan oleh

DEWI SRI KARTINI

Nomor Pokok C108214109

Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Tesis

pada tanggal 19 April 2018

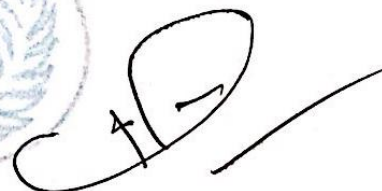
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui

Komisi Penasihat,

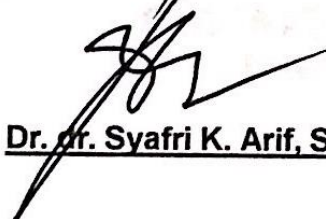


Dr. dr. Tenri Esa, M.Si, Sp.PK
Pembimbing Utama



dr. H. Ibrahim Abd Samad, Sp.PK(K)
Pembimbing Anggota

Ketua KPPS Dokter Spesialis
Fakultas Kedokteran Unhas

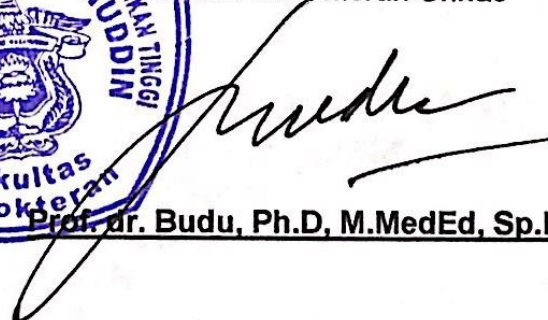


Dr. dr. Syafri K. Arif, Sp.An-KIC-KAKV



Dekan

Fakultas Kedokteran Unhas



Prof. dr. Budu, Ph.D, M.MedEd, Sp.M(K)

PERNYATAAN KEASLIAN KARYA AKHIR

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : DEWI SRI KARTINI

Nomor Pokok : C108214109

Program Studi : Ilmu Patologi Klinik

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa tesis yang saya tulis ini, benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan tesis ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 19 April 2018

Yang menyatakan,

Dewi Sri Kartini

PRAKATA

Alhamdulillah Rabbil Aalamiinn, penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT yang Maha Kuasa, Maha Pemurah, Maha Pengasih dan Penyayang atas limpahan anugerahNya sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis yang berjudul **“ANALISIS KADAR TUMOR NECROSIS FACTOR ALPHA (TNF- α) CAIRAN BILASAN BRONKUS PADA PASIEN KANKER PARU”**

sebagai salah satu persyaratan dalam Program Pendidikan Dokter Spesialis Patologi Klinik.

Penulis menyadari bahwa tesis ini masih memiliki banyak kekurangan sehingga dengan segala kerendahan hati penulis mengharapkan saran dan kritik dari semua pihak. Penulis juga menyadari bahwa tesis ini dapat diselesaikan berkat bantuan dan partisipasi berbagai pihak, untuk itu pada kesempatan ini penulis menghaturkan terima kasih dan penghargaan yang sebesar-besarnya atas bimbingan dan perhatian serta kesabaran yang tulus dari Dr.dr. Tenri Esa, Msi, SpPK selaku Ketua Komisi Penasihat/Pembimbing Utama dan dr. H.Ibrahim Abdul Samad, Sp.PK(K) selaku Anggota Penasihat / Sekretaris Pembimbing, Dr.dr.Burhanuddin Bahar,MS sebagai Anggota Komisi Penasihat/ Pembimbing Metode Penelitian dan Statistik, dr. Arif Santoso, SpP(K), PhD, FAPSR, sebagai Anggota Tim Penilai, dan dr. Rachmawati A Muhiddin, Sp.PK(K) sebagai Anggota Tim Penilai, yang telah meluangkan banyak waktu, tenaga dan pikiran untuk memberikan bimbingan dan arahan kepada penulis sejak awal masa penelitian, penyusunan naskah hasil penelitian hingga seminar hasil penelitian ini.

Pada kesempatan ini pula, penulis menyampaikan terima kasih yang tulus dan penghargaan yang sebesar-besarnya kepada:

1. Guru besar di Departemen Ilmu Patologi Klinik dan Guru Besar Emeritus FK-UNHAS, Alm. Prof. dr. Hardjoeno SpPK(K), yang telah merintis pendidikan dokter spesialis Patologi Klinik di FK Unhas.
2. Guru sekaligus orang tua kami, dr. H. Ibrahim Abd. Samad, Sp.PK(K) dan dr. Hj. Adriani Badji, Sp.PK yang senantiasa mendukung pendidikan penulis, membimbing, memberi ilmu yang tidak ternilai harganya, arahan dan dukungan serta nasehat kepada penulis.
3. Guru besar di Departemen Ilmu Patologi Klinik, Prof. dr. Mansyur Arif, PhD, Sp.PK(K), guru kami yang telah membimbing, mengajar dan memberikan ilmu yang tidak ternilai dengan penuh ketulusan hati.
4. Ketua Departemen Ilmu Patologi Klinik FK-UNHAS dr. Ulang Bahrun, SpPK(K), PhD., guru kami yang senantiasa membimbing, mengajar, memberi nasehat dan mendorong penulis supaya lebih maju.
5. Ketua Program Studi Departemen Ilmu Patologi Klinik FK-UNHAS, Dr. dr. Tenri Esa, M.Si, Sp.PK, guru kami yang senantiasa mengajar, memberi bimbingan, nasehat serta motivasi kepada penulis.
6. Sekretaris Program Studi Departemen Ilmu Patologi Klinik FK-UNHAS, dr. Rachmawati A. Muhiddin, Sp.PK(K), guru kami yang senantiasa mengajar dan membimbing penulis.
7. Penasihat Akademik dr. Hj. Darmawaty ER, SpPK(K) yang senantiasa membimbing dan mengajar penulis.
8. Semua guru, Supervisor di Departemen Ilmu Patologi Klinik FK-UNHAS tanpa terkecuali dan khususnya dr. Fitriani Mangarengi, SpPK(K) yang

senantiasa memberikan bimbingan dan arahan selama penulis menjalani pendidikan sampai pada penyusunan karya akhir ini.

9. Direksi RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar atas kesempatan yang diberikan kepada penulis untuk menjalani pendidikan di rumah sakit ini.
10. Kepala Instalasi Laboratorium Patologi Klinik RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar, dr.Asvin Nurulita, M.Kes, Sp.PK beserta staf yang telah membantu selama masa pendidikan dan penyelesaian tesis ini.
11. Kepala Instalasi Laboratorium RSPTN UNHAS, Dr.dr.Yuyun Widaningsih, MKes, SpPK beserta staf atas kerjasamanya selama masa pendidikan penulis.
12. Kepala Instalasi Laboratorium RS. Labuang Baji, Kepala Instalasi Laboratorium RS. Stella Maris, Kepala Instalasi Laboratorium RS. Ibnu Sina, Direktur UPTD PMI, Kepala Unit Transfusi Darah Makassar, Ketua Departemen Ilmu Penyakit Dalam, Direktur RSUD Sekadau dan Direktur RSUD Dobobeserta seluruh staf yang menerima dan membantu penulis dalam menjalani masa pendidikan.
13. Kepala Unit Penelitian Fakultas Kedokteran UNHAS beserta staf yang telah memberi izin dan membantu dalam proses pemeriksaan sampel penelitian ini.
14. Seluruh pasien yang telah bersedia menjadi subyek dalam penelitian ini, penulis mengucapkan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya.
15. Teman-teman sejawat PPDS Departemen Ilmu Patologi Klinik, khususnya dr. Wandani Syahrir, Sp.PK, dr. Sukmawaty, Sp.PK, dr. Chelvi Wijaya, SpPK, dan dr. Fitrie Octavia, Sp.PKsertasahabat-sahabat sekaligus saudara saya dr. Kartika Paramita, dr. Rahmi Rifany Latief, dr. Sri Anita, dr. Asriyani Azikin,

dr. Saraswati W, dr. Melissa Heidy W, dr. Gita Medita Sunusi dan dr. Dewi Kartika Tungadi yang telah berbagi suka dan duka selama masa pendidikan penulis, serta banyak memberikan bantuan, motivasi, dukungan dan semangat selama masa pendidikan dan penyelesaian tesis ini. Kebersamaan dan persaudaraan merupakan hal yang tak terlupakan dan semoga tali silaturahmi ini tetap terjaga.

16. Seluruh pihak yang tidak dapat penulis tulis satu persatu yang telah memberikan dukungan yang sangat berarti kepada penulis.

Akhirnya ucapan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada kedua orang tua saya tercinta, Ayahanda Drs.H. M. Akib Hamzah dan Ibunda Hj. Fitriani Munier, serta ibu mertua saya tersayan Hj. Djunaena Dachlanatas doa tulus, kasih sayang, dukungan semangat, dan pengertian selama menjalani pendidikan. Terima kasih buat saudaradan saudara ipar saya tercinta dr. Desliantry, Sarini SKM, Yustianawati Sawe SP, Arfandi SEserta seluruh keluarga besar atas doa yang tulus, kasih sayang dan dukungan yang selalu mengiringi penulis selama menjalani pendidikan.

Khusus kepada suami tercinta dr. Nur Rachmat Adi Sawe, MKes, SpGKdan anak-anakku tercinta Nayla Aurora Safitri dan Muh. Julian Akbar Sawe, penuh keharuan dan kecintaan penulis ucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya atas segala pengorbanan, kesabaran, pengertian, dukungan, kasih sayang dan doa tulus selama ini yang telah mengiringi perjalanan panjang penulis dalam mengikuti pendidikan.

Penulis berharap karya akhir ini dapat memberi sumbangan bagi perkembangan ilmu pengetahuan terutama di bidang Ilmu Patologi Klinik di masa

yang akan datang. Semoga Allah SWT senantiasa menyertai dan memberkati setiap langkah pengabdian kita. Aamiin YRA.

Makassar, 12 April 2018

Dewi Sri Kartini

ABSTRAK

KARTINI. Analisis Kadar *Tumor Necrosis Factor Alpha* (TNF- α) Cairan Bilasan Bronkus pada Pasien Kanker Paru.

Dibimbing oleh **Tenri Esadan Ibrahim Abdul Samad.**

Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- α) adalah sitokin proinflamasi yang berperan penting pada imunitas bawaan dan adaptif, proliferasi sel dan apoptosis. Sel kanker adalah salah satu sel yang dapat mensekresi TNF- α . Aktivasi TNF- α pada NF- κ B dan *caspase* berperan pada efek proinflamasi dan antitumor. Cairan bilasan bronkus mengandung banyak sitokin termasuk TNF- α yang dihasilkan sel tumor dan berperan dalam proses keganasan paru. Tujuan penelitian adalah menganalisis kadar TNF- α cairan bilasan bronkus pada pasien kanker paru dan bukan kanker paru. Penelitian metode *cross sectional* dilaksanakan di RSUP dr. Wahidin Sudirohusodo, Makassar periode Mei 2017-Maret 2018. Diperoleh 56 subyek penelitian yang terdiri atas 32 sampel kelompok kanker paru dan 24 sampel kelompok bukan kanker paru. Kadar TNF- α bilasan bronkus diperiksa menggunakan metode *sandwich Enzyme Linked Immunosorbent Assay* (ELISA). Data dianalisis secara statistik dengan uji *Mann Whitney* dan uji *Kruskal-Wallis*. Hasil penelitian diperoleh perbedaan bermakna kadar TNF- α bilasan bronkus antara kelompok kanker paru (7.93pg/mL) dan kelompok bukan kanker paru (8.78pg/mL) dengan nilai $p < 0.05$. Berdasarkan jenis histopatologi dan letak lesi tumor kelompok kanker paru tidak berbeda bermakna masing-masing antara *Non-Small Cell Lung Cancer* (8.28pg/mL) dan *Small Cell Lung Cancer* (7.24pg/mL) dengan nilai $p > 0,05$; lesi sentral (8.21pg/mL) dan lesi perifer (7.38pg/mL) dengan nilai $p < 0.05$. *Median survival rate* pada kadar TNF- α < 8.78 pg/mL lebih rendah dibandingkan jika ≥ 8.78 pg/mL pada kanker paru tipe NSCLC meskipun tidak ada perbedaan yang bermakna ($p < 0.05$). Disimpulkan kadar TNF- α cairan bilasan bronkus menurun pada kelompok kanker paru dan memberikan prognosis yang buruk jika kadarnya rendah.

Kata kunci : TNF- α , kanker paru, *small cell lung cancer*, *non-small cell lung cancer*, lesi sentral, lesi perifer

ABSTRACT

KARTINI. Analysis of *Tumor Necrosis Factor Alpha* (TNF- α) Bronchial Washing in Lung Cancer Patient.

Supervised by **Tenri Esa** and **Ibrahim Abdul Samad**.

Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- α) is a proinflammatory cytokine that plays an important role in innate and adaptive immunity, cell proliferation and apoptosis. Cancer cells are one of the cell that can secrete TNF- α . Activation of TNF- α in NF-kB and caspase plays a role in the proinflammatory and antitumor effects. Bronchial washing contains many cytokines including TNF- α produced by tumor cells and has a role in the pulmonary malignancy process. The aim of this study was to analyzed TNF- α bronchial washing in lung cancer and non-lung cancer patient. A cross-sectional study was conducted in dr. Wahidin Sudirohusodo, Makassar during May 2017-Maret 2018 period. Samples of 56 subjects consisted of 32 samples of lung cancer group and 24 samples of non-lung cancer group. Measurement of the TNF- α level in bronchial washing tested with Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) sandwich method. Data were analyzed statistically by Mann-Whitney Test and Kruskal-Wallis Test. The results showed significant differences in TNF- α bronchial washing among lung cancer group (7.93 pg/mL) and non-lung cancer group (8.78 pg/mL) ($p < 0.05$). Based on type of histopathology and tumor lesion localization of lung cancer group, there was no significant difference between *Non-Small Cell Lung Cancer* (8.28 pg/mL) and *Small Cell Lung Cancer* (7.24 pg/mL) ($p > 0.05$); central lesion (8.21 pg/mL) and peripheral lesion (7.28 pg/mL) ($p > 0.05$) respectively. The median survival rate TNF- α < 8.78 pg / mL was lower than if ≥ 8.78 pg / mL in *Non-Small Cell Lung Cancer* although there was no significant difference ($p < 0.05$). It was concluded that TNF- α levels of bronchial washing decreased in the lung cancer group and gave a poor prognosis if the levels were low.

Keyword : TNF- α , lung cancer, small cell lung cancer, non-small cell lung cancer

DAFTAR ISI

	halaman
SAMPUL / JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
PERNYATAAN KEASLIAN KARYA AKHIR	iii
PRAKATA	iv
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
DAFTAR SINGKATAN	xvii
I. PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	5
C. Tujuan Penelitian	6
D. Hipotesis Penelitian	7
E. Manfaat Penelitian	7

II.	TINJAUAN PUSTAKA	
A.	Kanker Paru	
1.	Definisi	9
2.	Epidemiologi	10
3.	Etiologi	10
4.	Patogenesis	15
5.	Diagnosis	19
B.	TNF- α	
1.	Definisi TNF- α	30
2.	Penemuan TNF- α	31
3.	Sitokin proinflamasi	31
4.	Jalur signal TNF- α intraseluler	32
C.	TNF- α pada Kanker Paru	34
III.	KERANGKA PENELITIAN	
A.	Kerangka Teori	37
B.	Kerangka Konsep	38
IV.	METODE PENELITIAN	
A.	Desain Penelitian	39
B.	Tempat dan Waktu Penelitian	39
C.	Populasi Penelitian	39
D.	Sampel dan Cara Pengambilan Sampel	40
E.	Perkiraan Besar Sampel	40
F.	Kriteria Inklusi dan Eksklusi	41
G.	Izin Penelitian dan Kelayakan Etik	42
H.	Cara Kerja	42

I. Tes Kuantitas Total Protein	43
J. Tes TNF- α	45
K. Alur Penelitian	49
L. Definisi Operasional dan Kriteria Objektif	50
M. Metode Analisis	52
V. HASIL DAN PEMBAHASAN	
A. Hasil Penelitian	53
B. Pembahasan	62
C. Ringkasan Hasil Penelitian	66
VI. KESIMPULAN DAN SARAN	
A. Kesimpulan	69
B. Saran	69
DAFTAR PUSTAKA	70
LAMPIRAN	

DAFTAR TABEL

Nomor	Halaman
1. Tampilan umum berdasarkan skala Karnofsky WHO	21
2. Pengelompokan stadium kanker paru	29
3. Karakteristik Subjek Penelitian	54
4. Perbandingan umur kelompok kanker paru dan Kelompok bukan kanker paru	55
5. Perbandingan status merokok kelompok kanker paru dan kelompok bukan kanker paru	56
6. Perbandingan status gizi kelompok kanker paru dan kelompok bukan kanker paru	57
7. Perbedaan kadar TNF- α pada kelompok kanker paru dan kelompok bukan kanker paru	57
8. Perbedaan kadar TNF- α pada kelompok kanker paru berdasarkan riwayat merokok	58
9. Perbedaan kadar TNF- α pada kelompok kanker paru berdasarkan status gizi	59
10. Perbedaan kadar TNF- α pada kelompok kanker paru berdasarkan jenis histopatologi	60
11. Perbedaan kadar TNF- α pada kelompok kanker paru berdasarkan letak lesi tumor	60
12. Perbedaan kadar TNF- α pada kelompok kanker paru Tipe NSCLC berdasarkan <i>one year survival rate</i>	61

DAFTAR GAMBAR

Nomor	halaman
1. Immunoediting sel.....	16
2. Respon imun innate dan adaptif pada tumor.....	18
3. Imun anti tumor dan pro tumor.....	19
4. Struktur kristal TNF- α	30
5. Jalur signal TNF- α	33
6. Proses pembentukan makrofag.....	35
7. Sel imun stimulasi dan inhibisi kanker.....	36
8. Grafik kurva <i>Kapplan Meier one year survival rate</i>	62

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	halaman
1. <i>Ethical clearance</i>	76
2. Naskah penjelasan untuk responden.....	77
3. <i>Informed concent</i>	79
4. Data dasar penelitian.....	80
5. Curriculum vitae	84

DAFTAR SINGKATAN

Lambang/ singkatan	Arti dan Keterangan
APC	: <i>Antigen presenting cell</i>
ALK	: Anaplastic Lymphoma Kinase
BALF	: <i>Bronchoalveolar lavage fluid</i>
CA-125	: Cancer antigen 125
CEA	: <i>Carcinoembryonic antigen</i>
CYFRA 21-1	: <i>Cytoceratin-19fragmented21-1</i>
CYP1A1	: Cytochrome P450 Famili1 Subfamili A
DNA	: <i>Deoxyribo-nucleic acid</i>
ELISA	: <i>Enzyme-linked immunoabsorbant assay</i>
EGFR	: <i>Endhotelial growth factor receptor</i>
FNAB	: <i>Fine needle aspiration biopsy</i>
IKK	: I κ B Kinase
IFN- γ	: Interferon- γ
IL-2	: Interleukin-2
IL-4	: Interleukin-4

IL-5	: Interleukin-5
IL-10	: Interleukin-10
IL-13	: Interleukin-13
JAK	: Janus kinase
KEK	: Kekurangan energi kronis
MDC	: <i>Macrophage derived chemokine</i>
MAPK	: Mitogen Activated Protein Kinase
MCP1	: Monocyte chemoattractant protein 1
M1	: <i>Classically activated macrophages</i>
M2	: <i>Alternatively activated macrophages</i>
MDSC	: <i>Myeloid-derived suppressor cells</i>
NF- κ B	: <i>Nuclear factor kappa B</i>
NSCLC	: <i>Non small cell lung carcinoma</i>
NSE	: <i>Neuron spesific enolase</i>
PAH	: <i>Polycyclic aromatic hydrocarbon</i>
PID	: <i>Pulmonary inflammatory disease</i>
PGE2	: Prostaglandin E2
PPOK	: Penyakit paru obstruktif kronik

RIP	: Receptor interacting protein
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
RONS	: <i>Reactive Oxygen Nitrogen Species</i>
SCC	: <i>Squamous cell carcinoma antigen</i>
SCLC	: <i>Small cell lung carcinoma</i>
STAT	: <i>Signal transducer and activator of transcription</i>
TACE	: <i>TNF-α converting Enzyme</i>
TAMs	: <i>Tumor-associated macrophages</i>
TANs	: <i>Tumor-associated Neutrophils</i>
TILs	: <i>Tumor-Infiltrating Lymphocytes</i>
TSLP	: <i>Thymic stromal lymphopoietin</i>
TP 53	: Tumor protein 53
TGF β 1	: Transforming growth factor β 1
Th	: T helper
TNF- α	: <i>Tumor necrosis factor alpha</i>
TNF-R1	: <i>Tumor necrosis factor alpha receptor 1</i>
TNF-R2	: <i>Tumor necrosis factor alpha receptor 2</i>

Treg	: T regulator
TRADD	: <i>TNF-R1 associated death domain</i>
TRAF2	: <i>TNF receptor associated factor</i>
TSNAs	: <i>Tobacco-specific n-nitrosamines</i>
TBNA	: <i>Transbronchial needle aspiration</i>
TBLB	: <i>Transbronchial lung biopsy</i>
TSLP	: <i>Thymic stromal lymphopoietin</i>
TTB	: <i>Transthoracic biopsy</i>
TTNA	: <i>Transthoracic needle aspiration</i>
TNM	: (T=Tumor Primer, N=Nodus Limfe, M=Metastasis)
VEGF	: <i>Vascular endothelial growth factor</i>

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Kanker paru merupakan peringkat pertamapenyakit keganasan di dunia yang mencapai hingga 13 persen dari semua diagnosis kanker. (Kementerian Kesehatan RI,2015). Data angka kematian akibat kanker paru secara global didapatkan 1.7 juta kematian dari 2 juta kasus kanker paru (Fitzmaurice C, 2017).

Perkiraan insidenskasus baru kanker paru di Amerika Serikat untuk tahun 2017 adalah 222.500 jiwa (116.990 jiwa pada pria dan 105.510 jiwa pada wanita), dengan angka kematian 155.870 jiwa (84.590 jiwa pada laki-laki dan 71.280 jiwa pada wanita (American Cancer Society, 2017).

Data statistik kanker paru di Amerika menyebutkan bahwa angka kejadian kanker paru sebanyak 1 : 14 untuk laki-laki dan 1 : 17 untuk wanita. Pasien yang terdiagnosa sebagai kanker paru diperkirakan ada 1 penderita setiap 2.5 menit (Kanker paru WHO, 2017).

Data registrasi di Rumah Sakit Kanker Dharmais tahun 2003-2007 menunjukkan bahwa kanker trakea, bronkus dan paru merupakan keganasan terbanyak kedua pada pria (13,4%) setelah kanker nasofaring

(13,63%) dan merupakan penyebab kematian akibat kanker terbanyak pada pria (28,94%)(Kementerian Kesehatan RI, 2015).

Hasil penelitian melaporkan hanya 15 % dari kasus kanker paru didiagnosis pada tahap awal. *Five year survival* rata-rata untuk semua stadium kanker paru sekitar 14-17% untuk tipe NSCLC dan hanya 6% pada tipe SCLC (Gomes M et al, 2014). *One year survival* diperkirakan hanya 45% (Walser T, 2008). Kanker paru yang telah bermetastase memiliki tingkat kelangsungan hidup lima tahun hanya 4,0 %.(Kementerian Kesehatan RI, 2015).

Insiden kanker paru pada perokok dilaporkan lebih tinggi dibanding dengan yang tidak merokok (Amin Z, 2014). Data top 10 pengonsumsi rokok dunia pada tahun 2014 didapatkan Indonesia menjadi peringkat 4 terbanyak yaitu 4.1% setelah Tiongkok, Rusia dan Amerika Serikat (The tobacco atlas, 2015). Data juga menyebutkan bahwa 1 dari 9 perokok berat akan menderita kanker paru. Diperkirakan 25% kanker paru dari non perokok adalah perokok pasif (Amin Z, 2014).

Kanker adalah penyakit inflamasi (Disis ML, 2010). Inflamasi secara fisiologis dibutuhkan oleh tubuh dalam proses sistem pertahanan tubuh, tetapi pada kasus kanker, inflamasi kronis merupakan lingkungan mikro pendukung pertumbuhan dan perkembangan kanker. (Hernawati, 2017).

Sitokin merupakan *chemical messenger* yang memfasilitasi komunikasi antar sel-sel imun untuk berkoordinasi dalam respon imun

baik *innate* maupun *adaptive immunity*. Sitokin dikelompokkan dalam lima famili yaitu TNF(*Tumor Necrosis Factor*), IFN (Interferon), TGF (*Transforming Growth Factor*), kemokin dan CSF (*colony Stimulating Factor*), (Heuretz RM et al, 2017).

Pemeriksaan tumor marker kanker paru seperti *carcinoembryonic antigen* (CEA), *neuron specific enolase* (NSE) dan *cytokeratin 19 fragment*(CYFRA21-1) pada *bronchoalveolarlavage fluid* (balf) didapatkan tidak ada perbedaan yang bermakna antara keganasan dan non keganasan tumor paru untuk NSE dan CYFRA21-1 (Coo Choo, 2013).Penanda tumor tersebut hingga saat ini masih belum bisa digunakan secara tunggal untuk diagnosa pasti, tetapi digunakan sebagai bahan evaluasi setelah terapi (Perhimpunan Dokter Paru Indonesia, 2016).

Bronchoalveolar Lavage Fluid (BALF) mengandung banyak sitokin yang berperan pada proses keganasan paru. Salah satunya TNF alfa yang diproduksi langsung oleh sel kanker atau diproduksi tubuh sebagai respon dari keberadaan sel keganasan. Peningkatan penanda biologis dariBALFdapat dideteksi lebih awal daripada kelainan yang ditunjukkan hasil foto rontgen(Chen Z, 2014).Pengumpulan sediaan BALF merupakan tindakan rutin yang dilakukan klinisi saat melakukan bronkoskopi, yang merupakan salah satu modal utama untuk pemeriksaan sitologi dalam rangka penegakan diagnosa kanker paru (Jusuf A dkk, 2015).

Beberapa mediator inflamasi seperti TNF- α , IL6, TGF- β 1 dan IL 10 telah menunjukkan peranannya dalam inisiasi dan progresi kanker (Landskron G, 2014). Peranan TGF- β 1 yang diteliti oleh Syahrir W dkk melaporkan kadar TGF- β 1 pada cairan bilasan bronkus kelompok kanker paru lebih tinggi (1407.8 ± 164.3 pg/ml) dibanding dengan kelompok bukan kanker paru (1297.6 ± 136.7 pg/ml). Peranan IL 6 yang diteliti oleh Sukmawati dkk pada cairan bilasan bronkus kelompok kanker paru lebih tinggi (195.5 ± 13.6 pg/ml) dibanding dengan kelompok bukan kanker paru (187.1 ± 14.6 pg/ml). Peranan IL 10 yang diteliti oleh Octavia F dkk pada cairan bilasan bronkus kelompok kanker paru ditemukan lebih tinggi (70.2 ± 85.6 pg/ml) dibandingkan pada kelompok bukan kanker paru (24.7 ± 22.3 pg/ml) (Syahrir W dkk. 2017, Sukmawati dkk. 2017, Octavia F dkk. 2017).

Zhongho Chen dkk menemukan kadar TNF- α balf meningkat pada kanker paru tipe NSCLC ($1.4 \pm 0,2$ pg/ml) dibanding bukan kanker paru (1.2 ± 0.3 pg/ml) dengan nilai $p=0.72$. Kadar TNF- α pre dan post kemoterapi juga mengalami penurunan dari 35.2 ± 5.4 pg/ml menjadi 25.3 ± 2.3 pg/ml (Xiao YS et al. 2013). Peningkatan TNF- α pasien kanker paru pada cairan bilasan bronkus ditemukan lebih tinggi dibandingkan dalam serum (Zhongho Chen dkk, 2013., Petrovic M et al, 2013).

Sitokin TNF- α adalah sitokin proinflamasi yang berperan penting pada imunitas *innate* dan adaptif, proliferasi sel dan proses apoptosis (Gomes M et al, 2014, Popa J et al, 2007). Sitokin TNF- α adalah suatu

endotoksin-induced serum factor yang menyebabkan nekrosis tumor (Fieldmen, 2000). Makrofag alveolar tipe *classically activated macrophages*(M1) pada kanker paru dapat menghasilkan TNF- α yang bersifat antitumor (Almatrodi SA et al, 2014).

Sitokin TNF- α juga diproduksi oleh sel kanker dan dapat bereaksi sebagai promotor endogen kanker. Peran TNF- α dikaitkan pada semua tahapan proses karsinogenesis termasuk transformasi seluler, proliferasi, invasi, angiogenesis dan metastase (Hernawati, 2017). Di sisi lain, TNF alfa berperan sebagai pembunuh kanker (Xia W, 2008).

Histopatologi karsinoma paru dibagi menjadi *small cell lung cancer* (SCLC) dan *non-small cell lung cancer* (NSCLC) yang terdiri dari karsinoma sel skuamosa, adenokarsinoma, karsinoma bronkhoalveolar dan karsinoma sel besar (Jusuf A dkk, 2015).

Penelitian mengenai TNF- α pada penderita suspek kanker paru dengan bahan BALF di Makassar sepanjang pengetahuan kami belum pernah dilakukan sehingga kami tertarik untuk melakukan penelitian mengenai analisis kadar TNF alfa pada bilasan bronkuspasien kanker paru.

B. Rumusan Masalah

Mencermati uraian dalam latar belakang masalah di atas, dapat dirumuskan pertanyaan penelitian sebagai berikut :

1. Apakah ada perbedaan kadar TNF- α cairan bilasan bronkus antara kelompok kanker paru dan bukan kanker paru?
2. Apakah ada perbedaan kadar TNF- α cairan bilasan bronkus pasien kanker paru berdasarkan jenis kanker secara histopatologi?
3. Apakah ada perbedaan kadar TNF- α cairan bilasan bronkus pasien kanker paru berdasarkan letak lesi tumor?
4. Apakah ada perbedaan kadar TNF- α cairan bilasan bronkus pasien kanker paru berdasarkan *survival rate*?

C. Tujuan Penelitian

1. Tujuan umum

Menganalisis kadar TNF- α cairan bilasan bronkus pada pasien kanker paru.

2. Tujuan khusus

- a. Menentukan kadar TNF- α cairan bilasan bronkus pada kelompok pasien kanker paru.
- b. Menentukan kadar TNF- α cairan bilasan bronkus pada kelompok pasien bukan kanker paru.
- c. Menganalisis perbedaan kadar TNF- α cairan bilasan bronkus pada kelompok pasien kanker paru berdasarkan jenis histopatologi (SCLC dan NSCLC).

- d. Menganalisis perbedaan kadar TNF- α cairan bilasan bronkus pada kelompok pasien kanker paru berdasarkan letak lesi tumor (sentral atau perifer).
- e. Menganalisis perbedaan kadar TNF- α cairan bilasan bronkus pada kelompok pasien kanker paru berdasarkan *one year survival rate*.

D. Hipotesis Penelitian

1. Kadar TNF- α cairan bilasan bronkus lebih rendah pada kelompok pasien kanker paru dibandingkan pada kelompok bukan kanker paru.
2. Ada perbedaan kadar TNF- α cairan bilasan bronkus pada kelompok pasien kanker paru berdasarkan jenis histopatologi (SCLC dan NSCLC).
3. Ada perbedaan kadar TNF- α cairan bilasan bronkus pada kelompok pasien kanker paru berdasarkan letak lesi tumor (sentral atau perifer).
4. Ada perbedaan kadar TNF- α cairan bilasan bronkus pada kelompok pasien kanker paru berdasarkan *one year survival rate*.

E. Manfaat Penelitian

1. Memberikan informasi ilmiah mengenai kadar TNF- α cairan bilasan bronkus pada kanker paru.

2. Dapat dijadikan salah satu alternatif pemeriksaan dalam membantu penegakan diagnosis atau prognosis kanker parutan selanjutnya berguna untuk penatalaksanaan terapi.
3. Diharapkan dapat dijadikan salah satu landasan bagi penelitian lanjutan pada kanker paru.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. KankerParu

1. Definisi

Kanker paru adalah tumor ganas primer yang berasal dari sel epitel saluran napas yaitu bronkus atau alveolus. Sebuah sel normal dapat menjadi sel kanker apabila oleh berbagai sebab terjadi ketidakseimbangan antara onkogen dengan fungsi gen *suppressortumor* dalam proses tumbuh dan kembangnya sebuah sel. Perubahan atau mutasi gen yang menyebabkan terjadinya hiperekspresi onkogen dan hilangnya fungsi gen tumor *suppresor* menyebabkan sel tumbuh dan berkembang tak terkendali. Perubahan ini berjalan dalam beberapa tahap atau yang dikenal dengan proses *multistep carcinogenesis* (Alberts B et al, 2014).

Secara histopatologi kanker paru dibagi menjadi *small cell lung cancer* (SCLC) dan *non-small cell lung cancer* (NSCLC). NSCLC adalah tipe yang paling umum dari kanker paru, mencakup 75-80% dari semua kasus, terdiri dari adenokarsinoma yang mencakup 40% kanker paru dan lebih banyak muncul pada wanita, karsinoma sel skuamosa mencakup 25-30% dari kasus kanker paru serta paling banyak terjadi pada pria dan orang tua dan karsinoma sel besar mencakup 10-15% dari seluruh kasus kanker

paru(Jusuf A dkk, 2015).

2. Epidemiologi

Data statistik di Indonesia, untuk prevalensi maupun mortalitas kanker paru belum tersedia. Data statistik cenderung tersebar di beberapa pusat pelayanan kesehatan. Walaupun begitu, didapatkan kanker paru berada di urutan ke-3 terbanyak setelah kanker payudara dan kanker leher rahim. Kanker paru jarang ditemui pada usia di bawah 40 tahun dan insidensnya terus meningkat hingga usia 80 tahun (Pradipta EA, 2014).

Data registrasi di Rumah Sakit Kanker Dharmas tahun 2003-2007 menunjukkan bahwa kanker trakea, bronkus dan paru merupakan keganasan terbanyak kedua pada pria (13,4%) setelah kanker nasofaring (13,63%) dan merupakan penyebab kematian akibat kanker terbanyak pada pria (28,94%)(Kementerian Kesehatan RI, 2015).

Tingkat kelangsungan hidup lima tahun (*five-year survival rate*) kanker paru hanya 17,8% lebih rendah dari jenis kanker lainnya, seperti usus (65,4%), payudara (90,5%) dan prostat (99,6%). (U.S. National Institutes of Health, 2011).

3. Etiologi

Etiologi kanker paru dapat dikaitkan dengan adanya evolusi kanker paru. Evolusi kanker paru adalah proses interaksi *multistep* dari epigenetik, genetik dan faktor lingkungan yang menyebabkan disregulasi onkogen

dan gen *suppressor* tumor yang akhirnya memuncak dan mengaktivasi terjadinya kanker (Ansari J et al, 2016).

a. Faktor epigenetik

Epigenetik adalah modifikasi eksternal DNA yang mengaktifkan atau menonaktifkan gen. DNA methylation (DNMT) adalah mekanisme regulasi epigenetik yang terbanyak. Over ekspresi DNMT terlibat dalam patogenesis kanker paru. Peningkatannya terutama pada kanker paru perokok. Asap rokok dapat menginduksi inflamasi kronik dan meningkatkan *reactive oxygen species* (ROS) yang mengarah pada meningkatnya metilasi DNA. Paparan asap rokok pada epitel respirasi juga dapat mempengaruhi modifikasi histon (Ansari J et al, 2016).

b. Faktor genetik

Variasi genetik yang memiliki resiko kanker paru pada perokok ditemukan pada 5p15.33, **6p21.33** dan 15q25 sedangkan pada non perokok ditemukan pada 10q25.2, **6q.22.2** dan **6p21.32** (Urman A, 2015). Genetik berperan dalam patogenesis kanker paru, dihubungkan dengan kecenderungan menderita kanker paru dengan atau tanpa riwayat terpapar dengan rokok. Peningkatan risiko kanker paru 2 kali lebih besar pada orang dengan riwayat keluarga kanker paru dan risiko ini juga meningkat pada bukan perokok (Cruz DC, et al 2011).

Mutasi yang terjadi pada beberapa gen yang berperan dalam kanker paru adalah *proto oncogene*, *tumor supresor gene* dan *Gene encoding enzyme*. Rokok selain sebagai inisiator juga merupakan

promotor dan progresor yang diketahui sangat berkaitan dengan terjadinya kanker paru (Amin Z, 2014).

Pada kanker paru seperti pada keganasan lainnya, tumorigenesis berkaitan dengan aktivasi protein pemicu pertumbuhan atau *proto onco*gene seperti Kirsten ras sarkoma (KRAS), *Epidermal Growth Factor Receptor* (EGFR), BRAF, MEK-1, HER2, MET, ALK dan RET serta inaktivasi gen penekan tumor atau *tumor suppressor gene* seperti TP53 (tumor protein 53), PTEN dan LKB-1 (Johnson, J.L., 2012, Cooper, W.A. et al, 2013).

Ada 3 gen yang paling patogen pada kanker paru yaitu EGFR, KRAS dan TP53. Mutasi EGFR terutama terjadi pada kanker NSCLC adenokarsinoma, bukan perokok, etnik Asia Tenggara dan terutama pada perempuan (Sun S, 2007). Protein TP53 berperan dalam regulasi aktivitas sel seperti siklus sel, kematian sel, diferensiasi, perbaikan DNA dan formasi pembuluh darah yang dikenal dengan "*The Guardian of the Genome*". Mutasi TP53 dan KRAS terutama terjadi pada kanker paru SCLC dan perokok (Halvorsen A.R, 2016).

Penderita kanker paru sebagian merupakan pasien lanjut usia, hal ini disebabkan karena pemendekan telomer secara kontinyu selama siklus-siklus replikasi sel berulang, dan makin tua seseorang maka peluang kerusakan DNA makin besar (De Groot et al, 2012). Kromosom yang rentan terhadap terjadinya kanker paru dalam keluarga terletak pada kromosom **6q23-225** (Cruz DC, et al 2011).

c. Rokok

Asap rokok menyebabkan kanker paru (Swanton C.2016). Faktor durasi, intensitas merokok serta jenis rokok yang dikonsumsi turut mempengaruhi bertambahnya risiko terjadinya kanker paru. Rokok mengandung komposisi berbagai zat karsinogenik yang dapat mempengaruhi progresifitas penyakit kanker paru(Cruz DC, et al 2011, Gridelli C et al. 2015).

Asap rokok mengandung berbagai zat karsinogenik, seperti *polycyclic aromatic hydrocarbon* (PAH), senyawa amin aromatik, N-nitrosamine. Berbagai zat organik dan anorganik lainnya seperti *benzene*, *vinyl chlorida*, *arsenic*, dan *chromium* juga terkandung dalam asap rokok. Zat karsinogenik yang berperan penting dalam kanker paru yaitu *tobacco-specific N-Nitrosamines* (TSNAs) yang dibentuk dari hasil nitrosasi nikotin selama proses pembuatan rokok dan selama merokok. Zat TSNAs bersifat karsinogenik diantaranya adalah *4-metylnitrosamine-1-(3-pyridyl)-1-butanone* (NNK) (de Groot P, 2012).

Zat TSNAs secara langsung ke paru melalui inhalasi, sedangkan secara sistemik melalui absorpsi sirkulasi paru. Zat karsinogen pada rokok seperti NNK dapat terikat pada DNA dan menyebabkan adisi DNA. Potongan DNA ini akan terikat pada zat kimia lainnya yang juga bersifat karsinogenik yaitu PAH yang terdapat dalam asap rokok. DNA yang teradisi akan digantikan dengan DNA normal, atau sel tersebut akan diapoptosis. Jika proses perbaikan DNA ini gagal maka akan

menyebabkan mutasi gen yang bersifat permanen (Cruz DC, et al 2011). Semua tipe kanker paru berhubungan dengan rokok, namun tipe SCLC dan adenokarsinoma berhubungan kuat dengan rokok (Sun S, 2007).

Terdapat hubungan antara rata-rata jumlah rokok yang dihisap per hari dengan tingginya insiden kanker paru. Dikatakan bahwa 1 dari 9 perokok berat akan menderita kanker paru. Perokok pasif juga berisiko terkena kanker paru. Anak-anak yang terpapar asap rokok selama 25 tahun ketika pada usia remaja akan terkena risiko kanker paru dua kali lipat dibanding dengan yang tidak terpapar, dan perempuan yang hidup dengan suami/pasangan perokok juga berisiko terkena kanker paru 2-3 kali lipat. Diperkirakan 25% kanker paru dari non-perokok berasal dari akibat perokok pasif (Amin Z, 2015).

d. Penyakit paru lainnya

Beberapa penyakit bukan keganasan juga dihubungkan dengan peningkatan risiko kanker paru, salah satunya adalah PPOK (Penyakit Paru Obstruktif Kronik). Penelitian-penelitian terbaru yang dilakukan secara *cohort* memperlihatkan bahwa PPOK secara signifikan berhubungan dengan peningkatan risiko kanker paru, khususnya pada laki-laki. Penyakit paru obstruktif kronik ditandai dengan inflamasi kronik yang berespon terhadap kortikosteroid dan inflamasi kronik ini sendiri dipercaya berhubungan dengan kanker paru (Keshamouni et al, 2010).

e. Diet

Diet yang tidak sehat dan kurang mengkonsumsi vitamin, anti oksidan serta mikronutrien lainnya terutama total karotenoid dapat meningkatkan resiko kanker paru dan kanker lainnya. Konsumsi *lutein*, *zeaxanthin*, *lycopene*, *alpha carotene* dan beta *cryptoxanthin* memberikan efek protektif terhadap pertumbuhan sel kanker (Keshamouni et al, 2010).

f. Faktor lingkungan

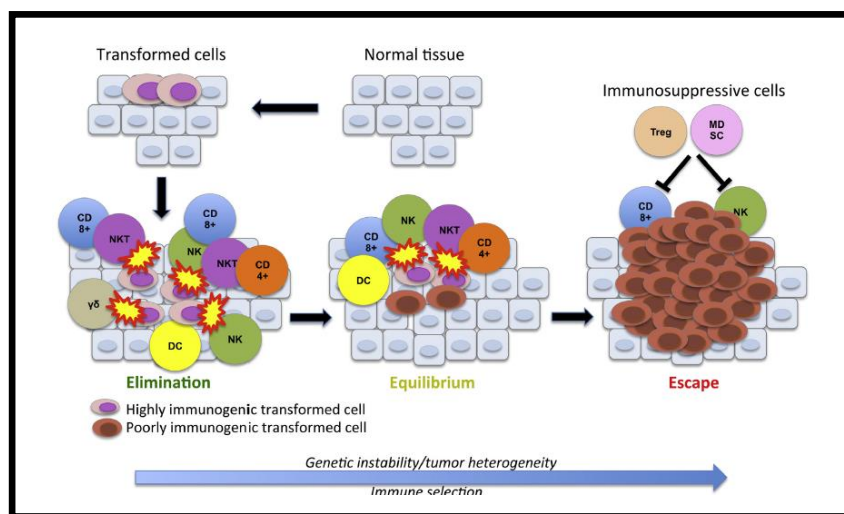
Zat karsinogen pada rokok memegang peranan penting terhadap kejadian kanker paru. Kurang lebih 85-90% penderita kanker paru adalah perokok, namun demikian kanker paru dapat juga mengenai individu yang bukan perokok (perokok pasif). Polutan lain seperti gas radon dan asbestos dikaitkan dengan kejadian kanker paru (De Groot et al, 2012). Asap rokok arus samping (asap yang dilepaskan ke lingkungan sekelilingnya) memiliki kadar nikotin 4-6 kali lebih banyak daripada asap rokok arus utama (asap yang dihisap oleh perokok) (susanna dkk, 2003).

4. Patogenesis

Sel normal yang terpapar berbagai rangsangan onkogenik akan mengalami transformasi dan menjadi sel tumor. Tumorigenesis diawali oleh sel yang mengekspresikan berbagai marker spesifik tumor dan memberikan sinyal proinflamatorik yang selanjutnya mengawali proses *imunoediting* (Carbone DP, 2015).

Immuoediting terdiri dari 3 fase yaitu eliminasi, *equilibrium* dan *escape*. Pada fase eliminasi, respon sistim imun *innate* dan adaptif dapat

menghancurkan sel-sel tumor sehingga menekan pertumbuhan tumor. Sel tumor yang terseleksi untuk tetap hidup yang terdiri atas berbagai varian karena mutasi serta lebih resisten terhadap serangan sistem imun akan berada dalam keadaan “*dormant*” atau fase *equilibrium*. Sel tumor yang mampu menghindari dari eliminasi dan deteksi oleh sistem imun akan masuk ke fase *escape* (Bremnes RM et al, 2016).



Gambar 1. *Immunoediting* Sel (Bremnes RM, 2015)

Teori genetik karsinogenesis menjelaskan adanya paparan karsinogen akan menyebabkan perubahan genetika menjadi fenotipe ganas. Metabolit zat karsinogen menyebabkan kerusakan genetika di sel epitel dan menginduksi respon inflamasi yang berujung mutasi genetik. Mutasi genetik yang terjadi akan mengaktifasi proto-onkogen dan inaktivasi gen supresor tumor (Keshamouni V et al, 2010).

Berdasarkan studi epidemiologi molekuler, terdapat tiga gen utama yang terlibat dalam patogenesis kanker paru yaitu *Epidermal Growth Factor Receptor* (EGFR), KRAS, dan TP53. Mutasi pada EGFR

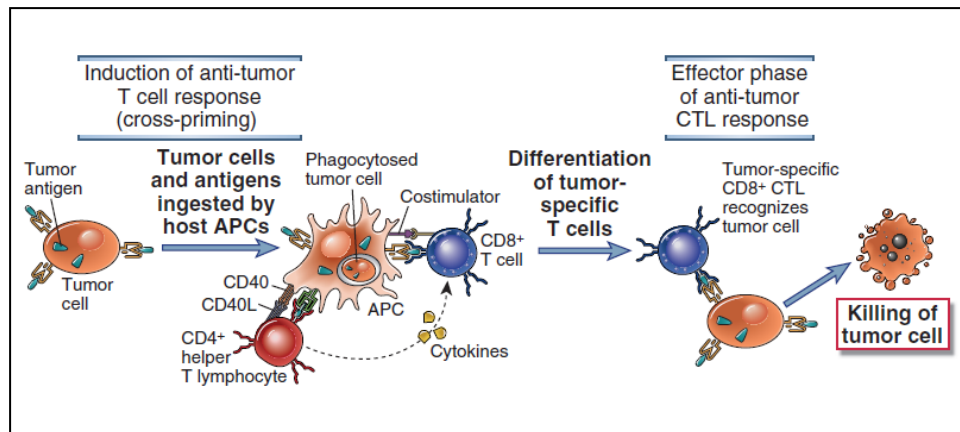
berhubungan erat dengan status tidak pernah merokok, NSCLC tipe adenokarsinoma, perempuan dan pada etnis Asia Timur. Mutasi pada KRAS didapatkan pada NSCLC subtype adenokarsinoma dengan riwayat merokok, kandungan aktif rokok yaitu NNK merusak KRAS khususnya pada kodon 12 (Sun S et al, 2007, Kadara H, 2016). Mutasi gen suppressor TP53 ditemukan pada 40-60% NSCLC dan 70% SCLC Mutasi gen KRAS dan TP53 lebih sering pada perokok (Johnson J, 2012).

Total leukosit dan *differential count* leukosit cairan BALF pada pasien kanker paru dan orang sehat yang perokok dan tidak perokok didapatkan persentase jumlah makrofag alveolar lebih tinggi (60-90 %) disusul oleh limfosit (10-20%) dan neutrofil (1-15%) (Kulawik JD, 2003).

Tumor associated Macrophages (TAMs) ditemukan meningkat jumlahnya pada kanker (Lievence, L.A. et al. 2013). Makrofag alveolar adalah sel fagosit mononuclear yang berasal dari *bone marrow* dan bermigrasi menjadi monosit pada darah perifer ke paru-paru. Ada 2 tipe makrofag yaitu makrofag klasik (M1) dan makrofag alternatif (M2). Polarisasi makrofag menjadi subset M1 di aktivasi oleh IFN gamma dan LPS yang mempunyai fungsi anti tumor dengan mensekresi iNOS, IL-1, **TNF** dan IL-6. Sub tipe M2 terbagi menjadi M2a, M2b dan M2c yang berfungsi sebaliknya yaitu sebagai pro tumor dengan mensekresi IL-4, IL13 (M2a), TLR, IL-1R (M2b) dan IL-10 (M2c). (Almatroodi SA, 2014).

Tumor associated neutrophils (TANs) dapat mempromosi kanker. Neutrofil meningkat jumlahnya pada inflamasi dan menginfiltrasi pada

kanker. Fenotip N1 bersifat anti tumor dan N2 bersifat protumor seperti pada TAMs (Saha S, 2016, Coffelt 2016, Fridlender 2012).

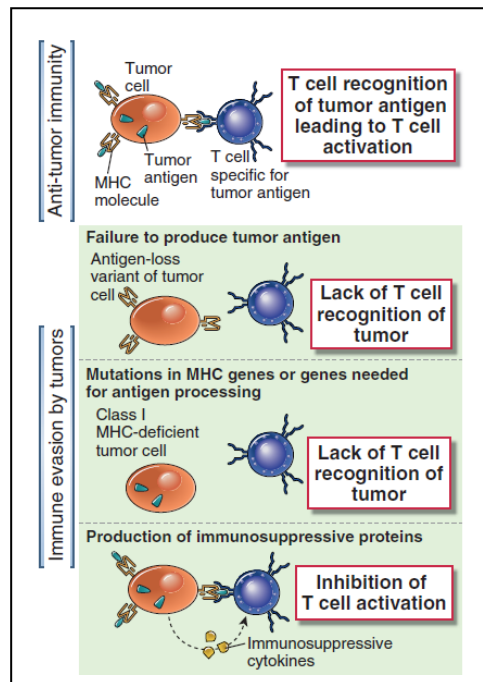


Gambar 2. Respon imun *innate* dan adaptif pada tumor (Abbas AK, 2012)

Respon *innate immunity* pada sel tumor yang terdiri dari **NK cell** dan makrofag terutama berfungsi untuk membunuh sel tumor. Sel tumor akan difagosit oleh makrofag (APC) dan mempresentasikan pada sel limfosit T CD8 dengan bantuan costimulator B7 dan CD28 (Abbas AK 2012, Baratawidjaja 2014) Gambar 1.

Penghindaran sel tumor terhadap sistim imun *innate* dan adaptif dapat disebabkan karena gagalnya diproduksi antigen tumor, mutasi gen MHC I yang diperlukan untuk pengenalan antigen dan adanya sitokin immunosupresan yang menghambat aktivasi sel T (Gambar 2) (Abbas AK, 2012). Beberapa tumor mengekspresikan ligan untuk reseptor menghambat sel T misalnya *programmed death protein* (PD-1) atau *cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4* (CTLA-4). Tumor juga mungkin hanya memicu sedikit produksi kostimulator B7 pada APC yang

menyebabkan kecenderungan pengikatan reseptor penghambat (Abbas AK, 2012).



Gambar 3. Imun anti tumor dan pro tumor (Abbas AK, 2012)

5. Diagnosis

Diagnosis ditegakkan berdasarkan:

a. Anamnesis

Gambaran klinik penyakit kanker paru tidak banyak berbeda dari penyakit paru lainnya, terdiri dari keluhan subyektif dan gejala obyektif. Dari anamnesis akan didapat keluhan utama dan perjalanan penyakit, serta faktor–faktor lain yang sering sangat membantu tegaknya diagnosis.

Keluhan utama dapat berupa (Jusuf A dkk, 2015) :

- 1) Batuk-batuk dengan / tanpa dahak (dahak putih, dapat juga purulen)

- 2) Batuk darah
- 3) Sesak napas
- 4) Suara serak
- 5) Sakit dada
- 6) Sulit / sakit menelan
- 7) Benjolan di pangkal leher
- 8) Sembab muka dan leher, kadang-kadang disertai sembab lengan dengan rasa nyeri yang hebat.

Tidak jarang yang pertama terlihat adalah gejala atau keluhan akibat metastasis di luar paru, seperti kelainan yang timbul karena kompresi hebat di otak, pembesaran hepar atau patah tulang kaki. Gejala dan keluhan yang tidak khas seperti berat badan berkurang, nafsu makan hilang, demam hilang timbul, sindrom paraneoplastik, seperti *hypertrophic pulmonary osteoarthropathy*, trombosis venaperifer dan neuropati (Jusuf A dkk 2015).

b. Pemeriksaan fisik

Tampilan umum (*performance status*) penderita tampak menurun. Penemuan abnormal terutama pada pemeriksaan fisis paru berupa suara napas yang abnormal, benjolan superfisial pada leher, ketiak atau di dinding dada, tanda pembesaran hepar atau asites dan adanya nyeri ketok pada tulang-tulang (Jusuf A dkk, 2015).

Tabel 1. Tampilan umum berdasarkan skala karnofsky dan WHO
(Kementerian Kesehatan RI, 2015)

Skala	WHO	Pengertian
90-100	0	Dapat beraktivitas normal, tanpa keluhan yang menetap.
70-90	1	Dapat beraktivitas normal tetapi ada keluhan berhubungan dengan sakitnya.
50-70	2	Mebutuhkan bantuan pada orang lain untuk aktivitas rutin
30-50	3	Sangat tergantung pada bantuan orang lain untuk aktivitas rutin
10-30	4	Tidak dapat bangkit dari tempat tidur

c. Pemeriksaan tumor marker

Tumor marker yang paling sering digunakan pada kanker paru adalah *neuron specific enolase* (NSE), *carcinoembryonic antigen* (CEA), *cytokeratin 19 fragments* (CYFRA 21-1), *squamous cell carcinoma antigen* (SCC), dan *cancer antigen 125* (CA 125) (Jusuf A dkk, 2015).

Neuron Specific Enolase merupakan isoensim glikolitik neurospesifik dari enolase. Terdiri dari dua rantai polipeptida yang sangat mirip, dan masing-masing memiliki berat molekul 39kD, diproduksi di bagian sentral dan perifer dari neuron juga dari tumor malignan yang berasal dari *neuroectodermal*. Namun NSE juga dapat ditemukan pada eritrosit, sel plasma dan trombosit, NSE dapat keluar ke serum jika pemisahan serum dan eritrosit tidak dilakukan dalam waktu 60 menit setelah pengambilan darah vena (*European Group on Tumor Marker*, 2014).

Carcinoembryonic Antigen merupakan molekul glikoprotein dengan berat ~180 kD, yang diproduksi selama perkembangan embrio dan fetus. Tumor marker ini merupakan salah satu tumor marker yang ditemukan dan memiliki sensitivitas yang tinggi untuk adenokarsinoma tahap lanjut (terutama pada keganasan kolon, namun ditemukan pada keganasan di payudara dan paru). Sensitivitas CEA tinggi pada adenokarsinoma dan karsinoma sel kecil paru (*European Group on Tumor Marker, 2014*).

Squamous Cell Carcinoma Antigen merupakan protein dengan berat molekul 48kD, yang homolog kuat dengan *serpin family* dari penghambat protease. Pengukuran SCC dalam serum digunakan pada pasien *squamous cell carcinoma* pada serviks, esofagus, kepala dan leher juga paru. Salah satu tujuan pemeriksaan SCC pada kanker paru yaitu untuk membantu menentukan diagnosis histologinya (*European Group on Tumor Marker, 2014*).

Cancer Antigen 125 merupakan molekul dengan berat 200kD. Tumor marker ini adalah antigen diferensiasi yang muncul pada jaringan fetus dari *coelomic epithelial derivatives*. Pemeriksaan CA125 terutama pada kanker ovarium namun kadang ditemukan juga pada kanker payudara dan kanker paru (*European Group on Tumor Marker, 2014*).

CYFRA 21-1 (*Cytokeratin 19 Fragments*) merupakan tumor marker yang baru. Pada penelitian histopatologi, ditemukan bahwa CYFRA 21-1 amat banyak ditemukan pada kanker paru. CYFRA 21-1 merupakan tumor

marker yang paling sensitif untuk kanker paru yaitu pada NSCLC juga pada tumor skuamosa (*European Group on Tumor Marker, 2014*).

d. Pemeriksaan radiologi

Hasil pemeriksaan radiologis adalah salah satu pemeriksaan penunjang yang mutlak dibutuhkan untuk menentukan lokasi tumor primer dan metastasis, serta penentuan stadium penyakit berdasarkan sistem TNM. Pemeriksaan radiologi paru yaitu foto toraks PA/lateral, bila mungkin CT-scan toraks, bone scan, bone survey, USG abdomen dan Brain-CT dibutuhkan untuk menentukan letak kelainan, ukuran tumor dan metastasis (Jusuf A dkk, 2015).

- 1) Foto toraks : Pada pemeriksaan foto toraks PA/lateral akan dapat dilihat bila masa tumor dengan ukuran tumor lebih dari 1 cm. Tanda yang mendukung keganasan adalah tepi yang ireguler, disertai indentasi pleura, tumor satelit tumor, dll.. Keganasan harus difikirkan bila cairan bersifat produktif, dan/atau cairan sero hemoragik (Tan WD et al, 2016).
- 2) CT-Scan toraks : Teknik pencitraan ini dapat mendeteksi tumor dengan ukuran lebih kecil dari 1 cm secara lebih tepat. Demikian juga tanda-tanda proses keganasan juga tergambar secara lebih baik, bahkan bila terdapat penekanan terhadap bronkus, tumor intra bronkial, atelektasis, efusi pleura yang tidak masif dan telah terjadi invasi ke mediastinum dan dinding dada meski tanpa gejala. Lebih jauh lagi dengan CT-scan, keterlibatan KGB yang

sangat berperan untuk menentukan stage juga lebih baik karena pembesaran KGB (N1 s/d N3) dapat dideteksi. Demikian juga ketelitiannya mendeteksi kemungkinan metastasis intrapulmoner (Tan WD et al, 2016).

- 3) Pemeriksaan radiologik lain : Kekurangan dari foto toraks dan CT-scan toraks adalah tidak mampu mendeteksi telah terjadinya metastasis jauh. Untuk itu dibutuhkan pemeriksaan radiologik lain, misalnya *Brain-CT* untuk mendeteksi metastasis di tulang kepala / jaringan otak, *bone scan* dan/atau *bone survey* dapat mendeteksi metastasis diseluruh jaringan tulang tubuh. USG abdomen dapat melihat ada tidaknya metastasis di hati, kelenjar adrenal dan organ lain dalam rongga perut (Tan WD et al, 2016).

e. Pemeriksaan histopatologi

Diagnosis pasti kanker paru dapat ditegakkan berdasarkan pemeriksaan biopsi yang dapat memberikan informasi sitologi dan histopatologi. Bahan pemeriksaan dapat diambil dengan berbagai cara yaitu bronkoskopi, biopsi aspirasi jarum, *Transbronchial Needle Aspiration* (TBNA), *Transbronchial Lung Biopsy* (TBLB), *Transthoracic Biopsy* (TTB). Biopsi jarum halus dapat dilakukan bila terdapat pembesaran KGB atau teraba masa yang dapat terlihat superfisial, punksi dan biopsi pleura harus dilakukan jika ada efusi pleura, torakoskopi medik dan sitologi sputum. Semua bahan yang diambil dengan pemeriksaan tersebut di atas harus dikirim ke laboratorium (Jusuf A dkk, 2015).

f. Klasifikasi histopatologi

Lebih dari 90% seluruh tumor kanker primer timbul pada jaringan epitel bronchial. Kanker ini berkumpul sehingga disebut bronkogenik karsinoma. Kanker paru diklasifikasikan sesuai dengan tipe histologi selnya, yaitu (Jusuf A dkk,2015):

1) *Small cell carcinoma*

Lokasi tumor ditengah-tengah, berkembang cepat, dan sering berbentuk maligna. Banyak bermetastasis melalui limfe dan sistem sirkulasi. Berhubungan dengan sindrom paraneoplastik. Prognosis jelek, dapat bertahan hidup biasanya tidak lebih dari 2 tahun dengan pengobatan.

2) *Non small cell carcinoma*

Mencakup karsinoma epidermoid/karsinoma sel skuamous, adenokarsinoma tumor dan *large cell carcinoma*. Pada karsinoma epidermoid/karsinoma sel skuamous sering kali terlokalisasi di tengah atau cabang bronkhus segmental. Pada lokasi perifer, kavitas dapat terbentuk di jaringan paru, berhubungan erat dengan rokok, berkembang lambat, kurang invasif, metastasis sering kali terbatas dirongga toraks, termasuk nodus limfe regional, pleura, dan dinding dada, biasanya berhubungan dengan gejala dan obstruksi dan pneumonia, pasien mengeluh nyeri dada, batuk, dispnea, dan hemoptisis. Adenokarsinoma tumor biasanya terletak di daerah perifer,

berkembang lambat, penyebaran secara hematogen, frekuensi tinggi metastasis ke otak, letak lain termasuk adrenal, hati, tulang dan ginjal. Tipe predominan pada yang bukan perokok dan sering pada wanita. Sering timbul dalam fibrotik paru. Sedangkan *Large cell carcinoma* terletak di perifer, lesi subpleura dengan nekrotik. Sering kali berbentuk tumor bermassa lebih besar dari pada adenokarsinoma. Berkembang lambat, prognosis buruk.

g. Klasifikasi berdasarkan stadium

Stadium kanker paru berdasarkan sistem TNM (T=Tumor Primer, N=Nodus Limfe, M=Metastasis) (IASLC, 2015).

Tumor Primer (T)

Tx : Tumor primer tidak dapat dinilai, atau tumor dibuktikan dari terdapatnya sel-sel ganas dalam sputum atau bilasan bronkus tetapi tidak tampak dengan pemeriksaan pencitraan atau bronkoskopi

Tis : Karsinoma in situ

T0 : Tak ada tumor primer

T1 : Tumor ≤ 3 cm pada dimensi terbesar, dikelilingi oleh paru atau *pleura visceralis* dan tak ada bukti-bukti adanya invasi proksimal dari bronkus dalam lobus pada bronkoskopi; T1a : Tumor ≤ 2 cm T1b : Tumor > 2 cm tapi ≤ 3 cm ;

T2 : Tumor > 3 cm tapi ≤ 7 cm, atau tumor primer pada ukuran apa pun dengan tambahan adanya atelektatis atau pneumonitis obstruktif dan membesar ke arah hilus. Pada bronkoskopi, ujung proksimal tumor yang

tampak, ≥ 2 cm distal dari karina. Setiap atelektasis atau pneumonia obstruktif yang menyertai, harus melibatkan kurang dari sebelah paru dan tidak ada efusi pleura; T2a : Tumor > 3 cm tapi ≤ 5 cm ; T2b : Tumor > 5 cm tapi ≤ 7 cm.

T3 : Tumor > 7 cm atau dengan ukuran berapa pun, langsung membesar dan menyebar ke struktur di sekitarnya seperti dinding dada, diafragma atau mediastinum; tumor yang pada bronkoskopi berjarak 2 cm distal dari karina; atau tumor yang disertai atelektasis dan pneumonitis obstruktif dari satu paru atau adanya efusi pleura.

T4 : Tumor dari berbagai ukuran yang menyerang salah satu dari berikut: mediastinum, jantung, pembuluh darah besar, trakea, saraf laringeal rekuren, esofagus, tubuh vertebra, karina; tumor terpisah nodul dalam lobus ipsilateral yang berbeda.

Tx : Tiap tumor yang tidak bisa diketahui atau dibuktikan dengan radiografi atau bronkoskopi, tapi didapatkan adanya sel ganas dari sekresi bronkopulmoner.

Nodus Limfe (N)

N0 : Tidak ada metastasis simpul getah bening regional

N1 : Terdapat tanda terkenanya kelenjar peribronkial/atau hilus homolateral, termasuk penjalaran/pembesaran langsung tumor primer

N2 : Metastasis di mediastinal ipsilateral dan/atau kelenjar getah bening subkrania

N3 :Metastasis di hilus kontralateral mediastinal, kontralateral, sisi tak sama panjang ipsilateral atau kontralateral, atau kelenjar getah bening supraklavikula

Nx :Syarat minimal untuk membuktikan terkenanya kelenjar regional tak terpenuhi.

Metastasis (M)

M0 : Tak ada bukti adanya metastasis jauh

M1 : Terdapat bukti adanya metastasis jauh ; M1a : Tumor nodul yang terpisah dalam lobus kontralateral, tumor pleura dengan nodul atau efusi pleura ganas (atau perikardia) ; M1b : metastasis jauh

Mx : Syarat minimal untuk menentukan adanya metastasis jauh tak bisa dipenuhi

Tabel 2. Pengelompokan stadium kanker paru

Stadium	T	N	M
<i>Occult</i> Carcinoma	Tx	N0	M0
Stadium 0	Tis T1a	N0 N0	M0 M0
Stadium IA	T1b	N0	M0
Stadium IB	T2a	N0	M0
Stadium IIA	T1a T1b T2a	N1 N1 N1	M0 M0 M0
Stadium IIB	T2b T3 (>7cm)	N1 N0	M0 M0
Stadium IIIA	T1a T1a T2a T2b T3 T4 T4	N2 N2 N2 N2 N1 N0 N1	M0 M0 M0 M0 M0 M0 M0
Stadium IIIB	T4 Sembarang T	N2 N3	M0 M0
Stadium IVA	Sembarang T	Sembarang N	M1a (pleura, paru kontralateral)
Stadium IVB	Sembarang T	Sembarang N	M1b (metastasis jauh)

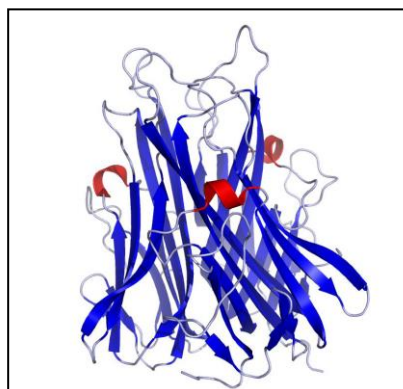
(Sumber: *International Association for the Study of Lung Cancer*, 2015)

B. Tumor Necrosis Factor Alfa (TNF- α)

1. Definisi TNF- α

Tumor Necrosis Factor (TNF- α) dikenal juga dengan istilah *cachectin*, *Cytotoxic Factor* (CF), *Hemorrhagic Factor*, *Macrophage Cytotoxic Factor* (MCF) adalah sitokin dengan multifungsi yang berperan dalam regulasi, inflamasi dan efek sitotoksik pada limfoid normal, sel non limfoid dan sel tumor. TNF- α disekresi oleh makrofag, monosit, neutrofil, T cells dan sel yang mengalami transformasi (Biolegend, 2017).

TNF- α disintesis sebagai protein soluble (sTNF) 17.5 kDa dengan 157 asam amino dan protein transmembran (tmTNF) 26 kDa dengan 233 asam amino. Protein soluble diperoleh dari protein transmembran yang mengalami pembelahan oleh TNF- α *Converting Enzyme* (TACE) (Biolegend, 2017., Kallioli GD, 2015, Kurnianda J, 2015, Parameswaran N, 2010). Struktur kristal TNF- α terlihat pada Gambar 4 (Vijayaraghava A. 2017).



Gambar 5. Struktur kristal TNF- α (Vijayaraghava A, 2017)

2. Penemuan TNF- α

Tumor Necrosis Factor (TNF- α) ditemukan pada tahun 1892 ketika *William Coley* mencoba terapi toksin bakteri pada pasien sarcoma (Balkwill F, 2009). Infeksi bakteri menyebabkan tumor menjadi nekrosis. *Coley* kemudian menginjeksi pasien kanker dengan supernatan yang diperoleh dari kultur bakteri. supernatan kultur kemudian diberi nama toksin *Coley*. Komponen aktif pada toksin *Coley* tadi adalah lipopolisakarida atau endotoksin dari dinding sel bakteri (Balkwill F, 2009).

Tumor Necrosis Factor (TNF- α) ketika diekspresikan secara lokal oleh sel-sel imun, sitokin ini mempunyai efek terapi, namun ketika disekresikan pada sistem sirkulasi (terjadi disregulasi) dapat menimbulkan penyakit termasuk kanker. TNF- α sendiri kini dikenal sebagai mediator utama inflamasi, ketika ada stimulus patogen, TNF- α akan menginduksi mediator inflamasi lain dan protease yang merupakan pemeran dalam respon inflamasi. TNF- α juga diproduksi oleh sel tumor dan dapat bereaksi sebagai tumor promoter endogen. (Aggarwal BB et al, 2012).

3. Sitokin proinflamasi

Tumor Necrosis Factor (TNF- α) adalah sitokin pro-inflamasi yang berperan penting pada imunitas bawaan dan adaptif, proliferasi sel dan proses apoptosis (Papa J et al 2007). TNF- α adalah suatu *endotoxin-induced serum factor* yang menyebabkan nekrosis tumor. Satu dekade kemudian, peneliti mengisolasi protein dari *endotoxin-treated cells* yang disebut *cachectin* karena perannya diduga sebagai dasar molekul dari

cachexia. Kloning berikutnya dari gen yang mengkode *cachectin* dan TNF- α dimana ditegaskan bahwa dua molekul ini adalah identik (Fieldmen 2000).

TNF- α diproduksi oleh berbagai jenis sel termasuk makrofag, monosit, neutrofil, adiposit, fibroblast, sel T CD4⁺ dan CD8⁺, sel B, sel epitel kolumnar kolon, sel NK dan CD3⁺CD56⁺*hepatic natural T cells*, sel dendritik, sel mast, keratinosit dan sel plasma (Popa J 2007, Mukhopadhyay S et al. 2006).

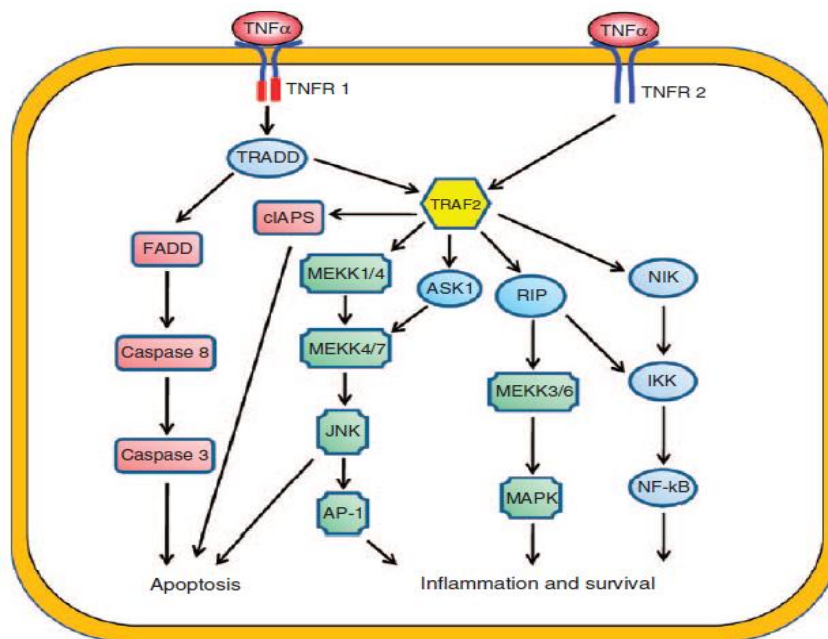
Pro-TNF- α dikonversi menjadi TNF- α aktif oleh ikatan membran metalloproteinase yang disebut TNF- α *converting enzyme* (TACE). *Matrix metalloproteinase (MMP)-12* secara invitro juga melepaskan TNF- α aktif dari sintesis bentuk pro dan menunjukkan bahwa pelepasan TNF- α dari makrofag setelah terpapar asap rokok tergantung pada TACE dan MMP-12 (Barnes PJ 2004).

Tumor Necrosis Factor (TNF- α) berinteraksi dengan salah satu dari dua reseptor TNF- α yaitu *tumor necrosis factor receptor (TNFR)-1* (a55 kd reseptor dengan afinitas tinggi) dan TNFR-2 (a75 kd reseptor dengan afinitas rendah). Sinyal intraseluler terjadi sebagai akibat dari hubungan silang TNF- α dengan reseptornya (Mac Ewan DJ 2002, Brenner 2015).

4. Jalur signal TNF- α intraseluler

Tumor Necrosis Factor (TNF- α) memediasi efeknya melalui 2 reseptor yang berbeda yaitu TNF-R1 dan TNF-R2. TNF-R1 diekspresikan secara universal pada semua jenis sel dan memiliki peran lebih luas

dalam aktivasi NF- κ B dibandingkan TNF-R2. TNF-R2 diekspresikan hanya pada sel endotel dan sel imun. Ligasi antara TNF dan TNF-R1 menginduksi trimerisasi reseptor dan perekrutan protein adaptor TNF-R1 *associated death domain* protein (TRADD) yang berikatan dengan domain kematian spesifik (*Death Domain*) pada domain sitoplasma TNF-R1. Protein domain kematian terkait TNF-R1 juga merekrut TNF *receptor associated factor* (TRAF2) dan mengaktifkan I κ B *kinase* (IKK) melalui *receptor-interacting protein* (RIP) (Kalliolas GD, 2015).



Gambar 7. Jalur Signal TNF α (Wu Y, 2010)

Ligasi TNF-R2 diperlukan dan cukup untuk menginduksi respons sitotoksik dan *proinflammatory* TNF- α . TNF-R2 dapat berkontribusi terhadap respons TNF-R1 pada konsentrasi TNF- α yang rendah, di mana TNF-R2 menangkap TNF- α dan meneruskannya ke TNF-R1. Meskipun jalur transduksi sinyal TNF rumit dan tidak

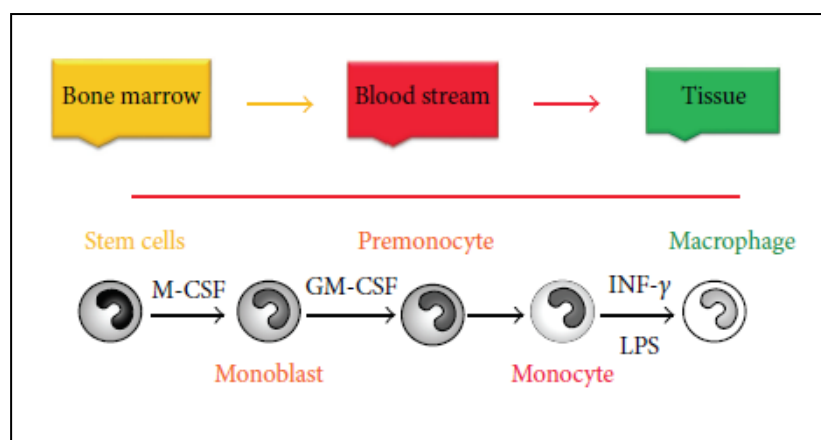
sepenuhnya dipahami, efek proinflamasi TNF- α terutama karena kemampuannya untuk mengaktifkan NF-kB sedangkan efek anti-tumor disebabkan oleh aktivasi Caspase 3 dan induksi apoptosis. Sel yang terpapar TNF- α diikuti dengan teraktivasinya NF-kB dan mengarah pada ekspresi berbagai gen yang berkaitan dengan inflamasi. Aktivasi transien NF-kB sebagai respon terhadap stimulasi oleh sitokin menginduksi respon inflamasi; Aktivasi NF-kB yang berkelanjutan telah dikaitkan dengan beberapa aspek onkogenesis, seperti mempromosikan proliferasi sel kanker, mencegah apoptosis dalam resistensi obat dan meningkatkan angiogenesis dan metastasis tumor (Wu Y, Zhou BP, 2010).

C. TNF- α pada Kanker Paru

Sitokin TNF- α pada kanker paru dihasilkan oleh sel-sel imun khususnya makrofag alveolar selain sel kanker paru sendiri. Makrofag alveolar adalah sel fagosit mononuklear yang berasal dari *bone marrow* yang bermigrasi menjadi monosit darah perifer ke paru-paru dan berdiferensiasi menjadi makrofag alveolar melalui pengaruh dari IFN- γ dan lipopolisakarida (Gambar 8) (Almatrodi SA et al, 2014).

Sel-sel imun *innate* dan adaptif yang mengatur pertumbuhan tumor dibedakan atas sel imun yang menstimulasi pertumbuhan cancer dan sel imun yang menghambat pertumbuhan kanker. Sel imun *innate* yang menstimulasi pertumbuhan kanker terdiri dari neutrofil, makrofag (M2) dan *myeloid derived suppressor cells* (MDSC) sedangkan yang menghambat

pertumbuhan kanker terdiri dari *dendritic cells* (DC) dan makrofag (M1). Sel imun adaptif yang menstimulasi pertumbuhan kanker terdiri dari sel Th2 CD4, sel Treg CD4 dan limfosit B sedangkan yang menghambat pertumbuhan kanker terdiri dari sel T sitotoksik (CTL CD8), sel Th1 CD4 dan sel Th17 CD4 (Tabel 3) (Disis ML, 2010).

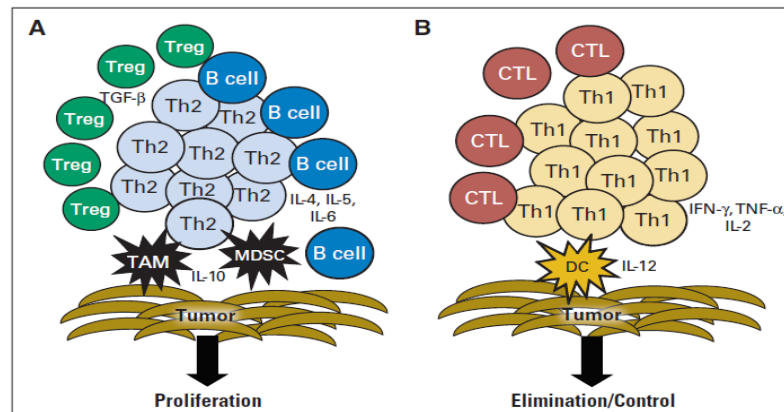


Gambar 8. Proses pembentukan makrofag (Almatrodi SA, 2014)

Sel Th terdiri dari beberapa fenotip yaitu Th1, Th2, Th17 dan Treg. Sel Th1 dapat mensekresi sitokin IFN- γ , TNF- α , IL-2, bekerja bersama CTL dan dapat merusak jaringan. Sel Th2 dapat mensekresi sitokin IL-10, IL-4, IL-5 dan dapat membatasi proliferasi CTL. Sel Th17 dapat mensekresi IL-17 dan berperan pada patologi penyakit autoimun. Sel Treg dapat mensekresi IL-10 dan TGF- β yang akan mengurangi respon imun (Disis ML, 2010., Heuertz RM et al, 2017).

Makrofag alveolar dapat mensekresi sitokin proinflamasi seperti TNF- α , IL-1, IL-6 dan IL-12, selain itu juga dapat mensekresi sitokin antiinflamasi seperti IL-10, TGF- β dan IL-13 (Almatrodi SA et al, 2014).

Makrofag pada lingkungan mikrotumor atau *tumor associated macrophages* (TAMs) dibedakan menjadi dua fenotip yaitu *tumor inhibitory* atau antitumor (M1) dan *tumor promoting* atau protumor (M2) (Disis ML, 2010., Lievense LA et al, 2013).



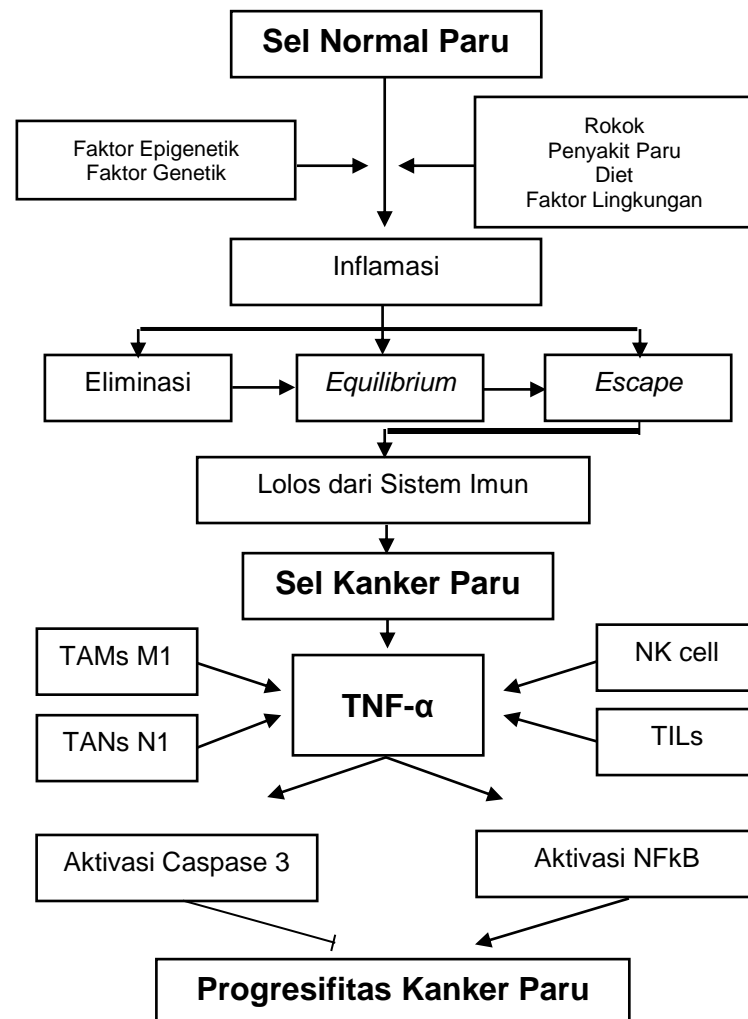
Gambar 9. Sel imun stimulasi dan inhibisi kanker (Disis ML, 2010)

Sitokin TNF- α memediasi efeknya melalui TNF-R1 dan TNF-R2. Ligasi tersebut akan mengaktifkan caspase 3 yang akan menginduksi apoptosis sel kanker sehingga memberikan efek antitumor (Wu Y et al, 2010).

BAB III

KERANGKA PENELITIAN

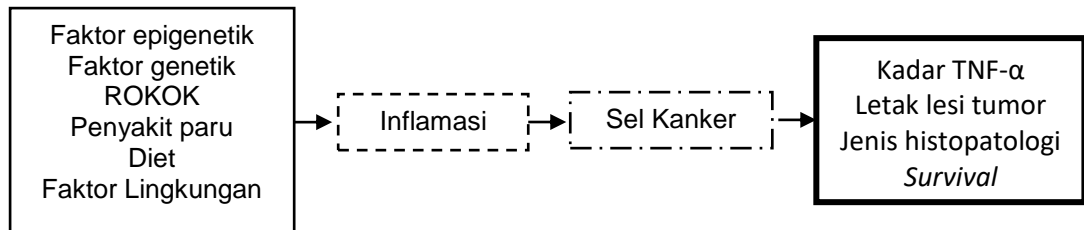
A. Kerangka Teori




Keterangan


TNF- α	: Tumor Necrosis Factor Alpha
TAMs	: Tumor-Associated Macrophages
TANs	: Tumor-Associated Neutrophils
TILs	: Tumor-Infiltrating Lymphocyte
NK cell	: Sel Natural Killer
NF κ B	: Nuclear Factor kappa B

B. Kerangka Konsep



Keterangan:

 : Variabel Kendali

 : Variabel antara

 : Variabel tidak tergantung

 : Variabel tergantung

BAB IV

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian studi komparatif yang berbentuk *cross sectional*, menganalisis kadar *Tumor Necrosis Factor Alpha* (TNF- α) cairan bilasan bronkus pada penderita kanker paru.

B. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat penelitian

- a. Ruang bronkoskopi RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar dan rumah sakit jejaring lainnya untuk pengambilan sampel dan data sampel.
- b. Unit Penelitian FKUH / Rumah Sakit Perguruan Tinggi Negeri Unhas (RSPTN UH) untuk pemeriksaan sampel.

2. Waktu penelitian

Penelitian dilakukan mulai bulan Desember 2017 dengan menggunakan sampel simpan yang mulai dikumpulkan sejak bulan Mei 2017.

C. Populasi Penelitian

Populasi terjangkau adalah semua penderita suspek kanker paru yang menjalani prosedur bronkoskopi di ruang bronkoskopi RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar dan rumah sakit jejaring lainnya.

D. Sampel dan Cara Pengambilan Sampel

Sampel penderita adalah semua populasi terjangkau yang didiagnosis kanker paru oleh klinisi di Bagian Pulmonologi RSUP Dr Wahidin Sudirohusodo Makassar dan rumah sakit jejaring lainnya yang memenuhi kriteria.

E. Perkiraan Besar Sampel

Besar sampel diperkirakan berdasarkan rumus:

$$n_1=n_2= 2\left(\frac{(z\alpha+z\beta)SD}{x_1-x_2}\right)^2$$

Keterangan :

$z\alpha$ = Nilai Standar untuk 0.05 = 1.64

$z\beta$ = Nilai Standar untuk 0.1 = 1.28

S = Simpangan baku dari selisih rerata = 1

X_1-X_2 = Selisih rerata dua kelompok yang bermakna = 1

$$n = 2 \left(\frac{(1.64) + (1.28)1}{1} \right) = 17.05(\text{dibulatkan } 18 \text{ sampel})$$

Jumlah minimal sampel dalam penelitian ini adalah 18 sampel untuk masing-masing kelompok sehingga total sampel minimal adalah 36 sampel.

F. Kriteria Inklusi dan Eksklusi

1. Kriteria inklusi

a. Populasi Kelompok Kanker Paru:

- 1) Semua pasien dewasa yang didiagnosis kanker paru oleh klinisi di Bagian Pulmonologi, yang telah menjalani prosedur bronkoskopi dan telah dikonfirmasi dengan pemeriksaan sitologi.
- 2) Belum pernah mendapat terapi kanker paru
- 3) Bersedia ikut dalam penelitian dengan menandatangani *informed consent*.

b. Populasi Kelompok Bukan Kanker Paru:

- 1) Semua pasien dewasa yang telah menjalani prosedur bronkoskopi, telah dikonfirmasi dengan pemeriksaan sitologi, dan didiagnosis bukan kanker paru oleh klinisi di Bagian Pulmonologi.
- 2) Bersedia ikut dalam penelitian dengan menandatangani *informed consent*.

2. Kriteria eksklusi

Pasien yang terdeteksi menderita penyakit keganasan primer lain yang ditegakkan dari anamnesis, pemeriksaan fisis dan pemeriksaan penunjang lainnya.

G. Izin Penelitian dan Kelayakan Etik

Setiap tindakan dilakukan seizin dan sepengetahuan pasien yang dijadikan sampel penelitian melalui lembar *informed consent* dan dinyatakan memenuhi persyaratan etik untuk dilaksanakan dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan (KEPK), Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, Rumah Sakit Pendidikan Tinggi Negeri UNHAS (RSPTN UH) dan RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar, dengan nomor rekomendasi persetujuan etik : **2/H4.8.4.5.31/PP36-KOMETIK/2018**.

H. Cara Kerja

1. Alokasi subyek

Subyek penelitian yang telah memenuhi kriteria inklusi yang dibagi menjadi dua kelompok yaitu kelompok kanker paru dan kelompok bukan kanker paru.

2. Cara penelitian

- a. Melakukan pencatatan identitas penderita yang memenuhi kriteria inklusi dan memberikan penjelasan lengkap mengenai apa yang akan dilakukan terhadap mereka dan bila setuju mereka akan mengisi dan menandatangani *informed consent*.

- b. Subyek penelitian yang memenuhi kriteria inklusi dilakukan pengambilan cairan bilasan bronkus. Cairan bilasan bronkus yang digunakan sebagai sampel yaitu 3 ml sisa cairan bilasan bronkus yang diperoleh saat pasien menjalani prosedur bronkoskopi yang dilakukan oleh klinisi, sebagai salah satu tindakan untuk menegakkan diagnosa pasien. Cairan bilasan bronkus disentrifus selama 5 menit dengan kecepatan 3000 rpm, dipisahkan antara supernatan dan natan, setelah itu disimpan di dalam kulkas -80°C .
- c. Pemeriksaan kadar TNF alfa cairan bilasan bronkus dilakukan di Unit Penelitian FKUH/RSPTN UH.

I. Tes Kuantitas Total Protein

1. Persiapan sampel

- a. Sampel adalah supernatan yang diperoleh dari 3 ml cairan bilasan bronkus.
- b. Sampel disimpan pada suhu -80°C dan *running* secara bersamaan setelah sampel mencukupi.

2. Alat dan bahan

- a. *Coomasie Plus Assay Reagent*
- b. *Albumin Standard Ampul*
- c. *96 well mikrotitre plates*

3. Prinsip tes

Tes ini menggunakan *coomasie-binding coloimetric method* untuk menilai kuantitas total proteinyang terkandung pada sampel. Konsentrasi proteinpada sampel di estimasi dari absorbansi protein standar.

4. Cara kerja:

- a. Pengenceran *Standard Solution*. Kit *Coomasie Plus* (Bradford) Assay dilengkapi dengan standar dengan konsentrasi tertentu yang kemudian dapat diencerkan dalam tabung kecil oleh pemeriksa.
- b. Masukkan 10 μ l standar dan sampel masing-masing ke *blank well*.
- c. Tambahkan 300 μ l reagen *Coomasie Plus* ke dalam masing-masing *well* dan homogenkan menggunakan *shaker* selama 30 detik, kemudian inkubasi selama 10 menit pada suhu ruang.
- d. Pengukuran : Pasang *blank well* dengan nol, ukur absorbansi *Optical Density* (OD) tiap *well* satu persatu dengan panjang gelombang 630 nm.
- e. Berdasarkan konsentrasi standard dan nilai absorbansi yang digunakan, hitung persamaan regresi linier pada kurva standar. Hitung konsentrasi pada sampel berdasarkan nilai absorbansinya. Penggunaan *software* khusus dapat digunakan untuk membantu perhitungan.

J. Tes Human Tumor Necrosis Factor (TNF alfa)

Biolegend® ELISA

1. Persiapan sampel

- a. Sampel adalah cairan bilasan bronkus yang diperoleh dari tindakan bronkoskopi
- b. Sampel stabil selama 24 jam pada suhu 2-8° C dan stabil selama 1 tahun pada suhu -80° C

2. Alat dan bahan

- a. *Anti-human TNF- α Pre-coated 96-well Strip Microplate*
- b. *Human TNF- α Detection Antibody*
- c. Mikropipet dan tip
- d. *Human TNF- α Standard*
- e. Air suling
- f. Avidin-HRP B
- g. *Substrat solution D*
- h. *Stop solution*
- i. *Assay Buffer A*
- j. *Wash Buffer (20X)*
- k. *Plate Sealers*
- l. *Microplate reader able pada 450 nm*
- m. *Deionized water*
- n. *Wash bottle or automated microplate washer*
- o. *Timer*

- p. *Plate Shaker*
- q. *Polypropylene vials*

3. Prinsip tes

Tes ini menggunakan *enzyme-linked immunoabsorbant assay* (ELISA) dengan metode sandwich *biotin double antibody* untuk mengukur kadar *Tumor Necrosis Factor* (TNF- α) yang ditambahkan ke dalam *well* yang telah dilapisi dengan antibodi monoklonal TNF- α kemudian diinkubasi. Ditambahkan antibodi TNF- α yang berlabel biotin untuk bereaksi dengan *avidin-HRP B solution* yang membentuk kompleks imun. Enzim yang tidak terikat setelah diinkubasi dikeluarkan dengan pencucian, kemudian ditambahkan substrat *solution D*. Larutan akan berubah warna menjadi biru dan kemudian menjadi kuning karena efek dari asam. Tingkat warna larutan dan kadar TNF- α berkorelasi positif.

4. Cara kerja

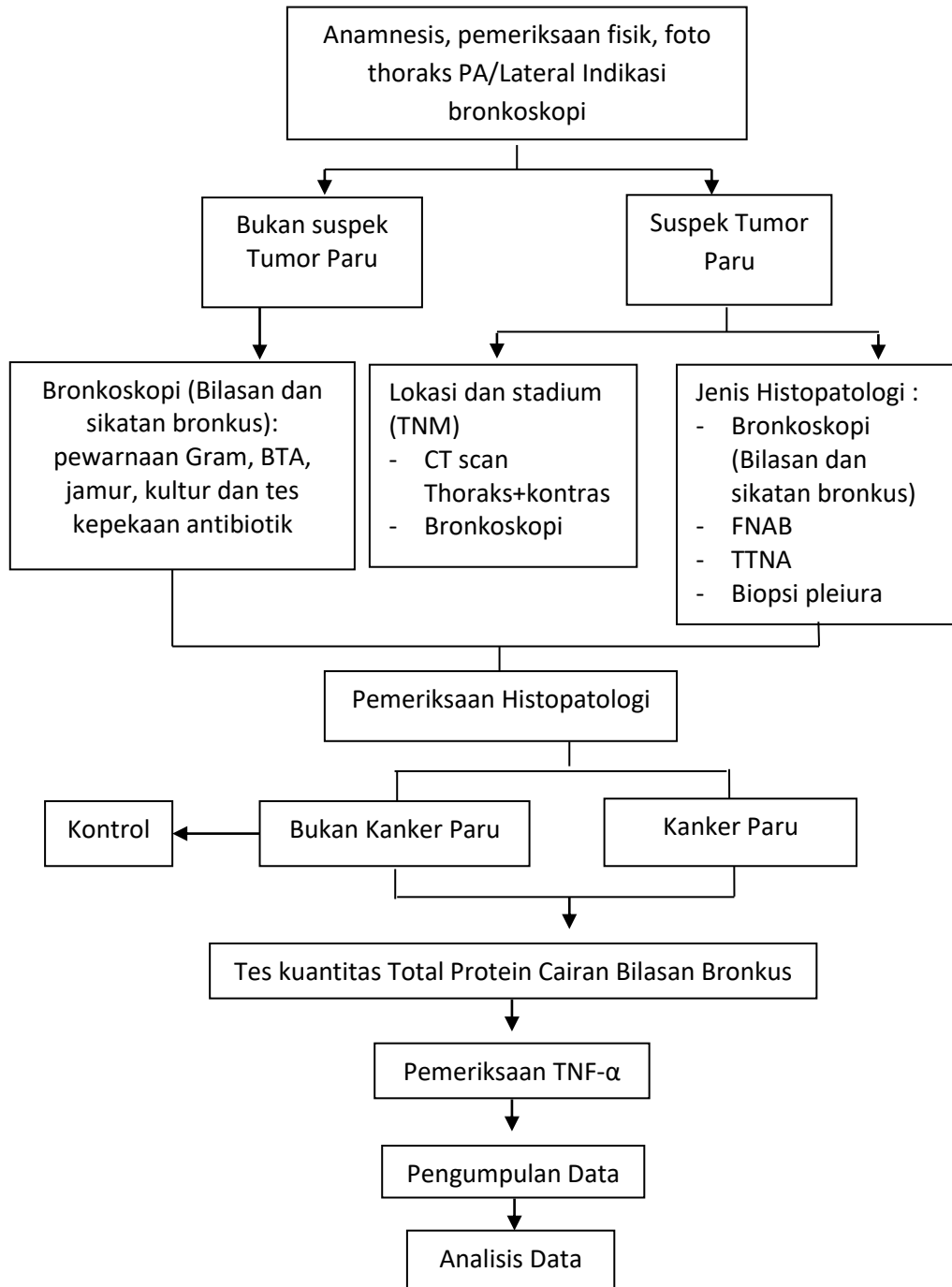
- a. Letakkan semua reagen pada suhu ruangan sebelum digunakan. Sangat direkomendasikan bahwa semua sampel dan standar *dirunning* dobel ato tripel. Kurva standar diperlukan untuk setiap pemeriksaan.
- b. Jika tdk semua *mikroplate* tdk digunakan, pindahkan kelebihan stip.
- c. Siapkan 500 ul dari 1000 pg/ml standar dengan mengencerkan 25 ul dari larutan standar dalam 475ul buffer A. Lakukan 6x pengenceran 1:2 secara serial dari larutan standar pada tabung

terpisah menggunakan *buffer A* sebagai *diluent*. Hasil akhirnya konsentrasi standar TNF alfa manusia pada tabung adalah 1000 pg/ml, 250pg/ml, 125 pg/ml, 62.5 pg/ml, 31.3 pg/ml dan 15.6 pg/ml secara berurutan. *Buffer A* sebagai standar nol (0 pg/ml).

- d. Cuci *plate* 4 kali dengan *wash buffer* sebanyak 300 ul setiap sumur dan buang residue *buffer* yang tertinggal dengan menepuk *plate* yang terbalik pada kertas absorban.
- e. Tambahkan 50 ul *buffer A* pada masing2 sumur yang berisi baik larutan dilusi standar maupun sampel.
- f. Tambahkan 50ul larutan dilusi standar atau sampel.
- g. Segel *plate* dengan *plate sealer* yang ada dalam kit dan inkubasi *plate* pada suhu ruang selama 2 jam sementara diputar pada 2000 rpm.
- h. Buang isi *plate* ke dalam wastafel kemudian cuci *plate* 4kali dengan buffer pencuci seperti di langkah 4.
- i. Tambahkan 100 ul larutan *HumanTNF* alfa deteksi antibodi pada tiap sumur dan inkubasi pada suhu ruangan sampai 1 jam selama diputar.
- j. Buang isi *plate* ke dalam wastafel kemudian cuci *plate* 4kali dengan buffer pencuci seperti di langkah 4.
- k. Tambahkan 100ul larutan avidin-HRP B pada tiap sumur dan segel *plate* dan inkubasi pada suhu ruangan selama 30 menit sementara diputar

- l. Buang isi *plate* ke dalam *wastafel* kemudian cuci *plate* 5 kali dengan *buffer* pencuci seperti di langkah 4. Untuk pencucian terakhir ini, rendam selama 30 detik sampai 1 menit untuk setiap pencucian. Hal ini akan membantu untuk meminimalkan latar belakang.
- m. Tambahkan 100ul substrat *solution* D pada tiap sumur dan inkubasi selama 15 menit pada ruangan gelap. Sumur yang berisi *human tnf alfa* seharusnya berubah menjadi warna biru dengan proporsi intensitas sebanding dengan konsentrasinya.
- n. Stop reaksi dengan penambahan 100ul larutan stop *solution* pada tiap sumur. Warna larutan akan berubah dari biru menjadi kuning.
- o. Baca absorbansnya pada 450nm dalam 30 menit. Jika *reader* dapat membaca pada gelombang 570 nm absorbans pada 570 nm dapat disubstraksi pada 450 nm.

K. Alur Penelitian



Keterangan

- FNAB : *Fine Needle Aspiration Biopsy*
 TTNA : *Transthoracic Needle Aspiration*
 BALF : *Bronchoalveolar Lavage Fluid*
 TNF- α : *Tumor Necrosis Factor Alpha*

L. Defenisi operasional dan Kriteria Objektif

1. Penderita kanker paru adalah pasien dewasa yang didiagnosis kanker paru oleh klinisi di Bagian Pulmonologi, yang telah menjalani prosedur bronkoskopi dan telah dikonfirmasi dengan pemeriksaan sitologi.
2. Kelompok bukan kanker paru adalah pasien dewasa dengan indikasi bronkoskopi yang telah menjalani prosedur bronkoskop dan telah dikonfirmasi bukan kanker paru oleh klinisi di Bagian Pulmonologi.
3. *Tumor Necrosis Factor Alpha* (TNF- α) adalah kadar TNF- α yang diukur pada sampel cairan bilasan bronkus pasien dengan metode ELISA menggunakan kit Human TNF- α Biolegend® dengan metode ELISA dengan *pre coated plates* Immuno assay Legend max™ yang diproduksi oleh Biolegend, Inc (Canada, USA) dengan satuan pg/ml.
4. Jenis histopatologi adalah jenis histopatologi dari kanker paru berdasarkan pemeriksaan patologi anatomi yang ditetapkan oleh bagian Patologi Anatomi dan terbagi menjadi 2 jenis yaitu NSCLC (*Non Small Cell Lung Carcinoma*) dengan sub tipe Karsinoma Sel Squamosa, Adenokarsinoma, Karsinoma sel Besar dan SCLC (*Small Cell Lung Carcinoma*).
5. Stadium kanker paru berdasarkan sistem TNM (T=Tumor primer, N=Nodus limfe, M=Metastasis) dari *American Joint Committee on cancer* (AJCC) versi 7 tahun 2010 yang ditetapkan oleh klinisi di Departemen Pulmonologi. Stadium awal termasuk *occult* carcinoma,

stadium 0 – stadium IIIA yang masih dapat direseksi/pembedahan; stadium lanjut termasuk stadium IIIB – stadium IV.

6. Bronkoskopi adalah prosedur invasif menggunakan bronkoskop untuk melihat secara langsung kelainan patologis pada trakeobronkial yang dilakukan oleh klinisi di Bagian Pulmonologi.
7. Cairan bilasan bronkus adalah cairan yang diinstilasi ke dalam trakeobronkial di sekitar lesi lalu diaspirasi kembali.
8. Letak lesi tumor sentral terletak intrabronkial yang memenuhi kriteria yaitu secara radiologi terletak parahiler, menempel pada struktur mediastinum dan atau hasil bronkoskopi menunjukkan lesi infiltratif intralumen.
9. Lesi tumor perifer yaitu memenuhi kriteria secara radiologi terletak dilateral hemithoraks atau menempel di dinding dada dan tidakmenempel atau menekan organ mediastinum dan atau hasil bronkoskopi tidak menunjukkan lesi intrabronkial atau hasil menunjukkan peradangan kronik.
10. Status merokok adalah riwayat merokok pasien yang dihitung menggunakan rumus indeks Brinkman (Jumlah rata-rata rokok yang dihisap sehari (batang)xlama merokok (tahun) dengan klasifikasi perokok ringan (0-199),perokok sedang (200-599) dan perokok berat (≥ 600).

11. Status gizi adalah status gizi pasien yang ditetapkan oleh klinisi berdasarkan indeks massa tubuh (IMT) dengan klasifikasi KEK berat ($IMT < 17$), KEK ringan ($IMT 17-18.4$) dan normal ($IMT 18.5 - 25.0$).
12. *One years survival rate* adalah rata-rata waktu ketahanan hidup pasien kanker paru yang kurang dari satu tahun sejak terdiagnosa sebagai kanker paru berdasarkan pemeriksaan histopatologi.
13. *Median survival* adalah waktu dimana 50% subjek mengalami kematian berdasarkan nilai kadar $TNF-\alpha < 8.78$ dan ≥ 8.78 .

M. Metode Analisis

Seluruh data yang diperoleh dikelompokkan sesuai tujuan dan jenis data, kemudian dianalisis dengan menggunakan software SPSS versi 22. Data yang diperoleh kemudian ditentukan distribusinya normal atau tidak dan jumlah subjek yang akan dianalisa. Data kadar $TNF-\alpha$ bilasan bronkus untuk 1 kali pengukuran yang didapatkan tidak terdistribusi normal (jumlah sampel > 50 menggunakan parameter *Kolmogorov-Smirnov* dengan $p < 0,05$). Penelitian ini menggunakan uji komparatif numerik tidak berpasangan. Jika membandingkan 2 kelompok menggunakan uji *Mann Whitney* dan jika lebih 2 kelompok menggunakan uji *Kruskal Wallis*. Uji *survival* menggunakan Kurva *Kaplan Meier* dengan membandingkan kadar $TNF-\alpha$ yang < 8.78 dan ≥ 8.78 sebagai nilai *cut off* antara kanker paru dan bukan kanker paru.

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Karakteristik sampel penelitian

Penelitian dilakukan di RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar selama periode Desember 2017, dengan menggunakan sampel simpan yang telah dikumpulkan sejak Mei 2017. Diperoleh 56 subyek yang memenuhi kriteria penelitian, terdiri atas 32 sampel kelompok kanker paru dan 24 sampel kelompok bukan kanker paru.

Berdasarkan histopatologinya sampel kelompok kanker paru terdiri atas 21 sampel *Non Small Cell Lung Carcinoma* (NSCLC) dan 11 sampel *Small Cell Lung Carcinoma* (SCLC). Berdasarkan stadium kelompok kanker paru dibagi atas stadium IV 20 sampel, stadium IIIB 4 sampel, stadium IIA 5 sampel, dan stadium IIIA, stadium IIB serta IB masing-masing 1 sampel. Sebagian besar subyek penelitian pada kelompok kanker paru adalah laki-laki 26 orang (81,3%), usia \geq 50 tahun juga 26 orang (81,3 %), status gizi KEK ringan 15 orang (46,9%) dan status merokok perokok sedang dan berat masing-masing 10 orang (31,3%). Karakteristik subjek penelitian untuk stadium kanker paru sebagian besar adalah stadium IV 20 orang (62,5%).

Tabel 3. Karakteristik Subjek Penelitian

Variabel	Kategori	Kelompok Kanker Paru (n=32)		Kelompok bukan Kanker Paru (n=24)
		NSCLC (n=21)	SCLC (n=11)	
Umur	<40 tahun	2	0	7
	40-49 tahun	0	4	6
	50-59 tahun	8	2	5
	≥60 tahun	11	5	6
Jenis Kelamin	Laki-laki	17	8	14
	Perempuan	4	3	10
Status Gizi	KEK Berat	10	1	2
	KEK Ringan	5	10	6
	Normal	6	0	16
Status Merokok	Tidak merokok	5	3	9
	Perokok Ringan	1	3	12
	Perokok Sedang	6	4	3
	Perokok Berat	9	1	0
Stadium	I A	0	0	
	I B	0	1	
	II A	0	5	
	II B	0	1	
	III A	0	1	
	III B	3	1	
	IV	18	2	
Letak Lesi	Sentral	15	6	
	Perifer	6	5	
<i>Survival</i>	≤ 1 thn	17	4	
	> 1 thn	3	4	

Sumber : Data Primer

Keterangan : NSCLC: *Non Small Cell Lung Carcinoma*; SCLC: *Small Cell Lung Carcinoma*; KEK: Kekurangan Energi Kronis; n: Jumlah sampel

Sebaran umur sampel kelompok kanker paru dan bukan kanker paru adalah 28 – 77 tahun. Persentase kelompok kanker paru lebih tinggi pada umur ≥50 tahun, sedangkan pada kelompok bukan kanker paru lebih tinggi pada umur < 40 tahun. Perbandingan umur sampel kelompok kanker paru dan kelompok bukan kanker paru dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Perbandingan umur kelompok kanker paru dan kelompok bukan kanker paru

Umur	Kelompok		Total	
	Kanker Paru	Bukan Kanker Paru		
<40	n	2	7	9
tahun	%	6,2%	29,2%	16,1%
40-49	n	4	6	10
tahun	%	12,5%	25,0%	17,8%
50-59	n	10	3	13
tahun	%	31,3%	12,5%	23,2%
≥60	n	16	6	22
tahun	%	50%	25%	39,3%
Total	n	32	24	36
	%	100,0%	100,0%	100,0%

Sumber : Data Primer

Keterangan : n = jumlah sampel

Persentase perokok berat lebih tinggi pada kelompok kanker paru dibandingkan kelompok bukan kanker paru, sedangkan pada perokok ringan lebih banyak didapatkan pada kelompok bukan kanker paru. Sebaran status merokok antara kelompok kanker paru dan kelompok bukan kanker paru dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Perbandingan status merokok kelompok kanker paru dan kelompok bukan kanker paru

Status Merokok	Kelompok		Total	
	Kanker Paru	Bukan Kanker Paru		
Tidak merokok	n	8	9	17
	%	47,1%	52,9%	100%
Perokok Ringan	n	4	12	16
	%	25%	75%	100%
Perokok Sedang	n	10	3	13
	%	76,9%	23,1%	100%
Perokok Berat	n	10	0	10
	%	100%	0,0%	100%
Total	n	32	24	56
	%	57,1%	42,9%	100,0%

Sumber : Data Primer

Keterangan : n = jumlah sampel

Persentase status gizi pada kelompok kanker paru lebih tinggi pada KEK ringan, sedangkan pada kelompok bukan kanker paru lebih tinggi pada status gizi normal. Sebaran status gizi antara kelompok kanker paru dan kelompok bukan kanker paru dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 6. Perbandingan status gizi kelompok kanker paru dan kelompok bukan kanker paru

Status Gizi	Kelompok		Total	
	Kanker Paru	Bukan Kanker Paru		
KEK	n	11	2	13
Berat	%	34,4%	8,3%	23,2%
KEK	n	15	6	21
Ringan	%	46,9%	25,0%	37,5%
Normal	n	6	16	22
	%	18,7%	66,7%	39,3%
Total	n	32	24	56
	%	100,0%	100,0%	100,0%

Sumber : Data Primer

Keterangan : n = jumlah sampel

2. Kategori Kadar *Tumor Necrosis Factor Alpha*(TNF- α) pada

Kelompok Kanker Paru dan Kelompok Bukan Kanker Paru

Uji statistik yang digunakan untuk menilai perbedaan kadar TNF- α pada kelompok kanker paru dan kelompok bukan kanker paru adalah *Mann Whitney* karena data kadar TNF- α yang didapatkan terdistribusi tidak normal. (Tabel 7)

Tabel 7. Perbedaan kadar TNF- α pada kelompok kanker paru dan kelompok bukan kanker paru.

Kelompok	N	Kadar TNF- α (pg/mL)		p*
		Mean	SD	
Kanker Paru	32	7.93	1.95	0,01
Bukan Kanker Paru	24	8.78	1.36	

Keterangan : * = Uji *Mann Whitney*

Diperoleh perbedaan yang bermakna kadar TNF- α antara kelompok kanker paru dan kelompok bukan kanker paru ($p < 0,05$), yaitu

kadar TNF- α lebih rendah secara signifikan pada kelompok kanker paru dibandingkan pada kelompok bukan kanker paru.

3. Kategori Kadar *Tumor Necrosis Factor Alpha*(TNF- α) pada Kelompok Kanker Paru Berdasarkan Status Merokok

Status merokok pada kelompok kanker paru dibedakan atas tidak merokok, perokok ringan, perokok sedang dan perokok berat. Data kadar TNF- α pada kelompok ini didapatkan terdistribusi tidak normal sehingga uji statistik yang digunakan adalah uji *Kruskal-Wallis*(Tabel 8).

Tabel 8. Perbedaan kadar TNF- α pada kelompok kanker paru berdasarkan riwayat merokok

Riwayat Merokok	N	Kadar TNF- α (pg/mL)		p*
		Mean	SD	
Tidak merokok	8	8.23	2.62	0.5
Ringan	4	8.67	1.64	
Sedang	10	7.30	0.84	
Berat	10	8.01	2.33	

Keterangan : * = Uji *Kruskal-Wallis*

Tidak terdapat perbedaan bermakna kadar TNF- α pada kelompok kanker paru berdasarkan riwayat merokok ($p > 0,05$).

4. Kategori Kadar *Tumor Necrosis Factor Alpha* (TNF- α) pada Kelompok Kanker Paru Berdasarkan Status Gizi

Status gizi kelompok kanker paru dibedakan atas KEK berat, KEK ringan dan normal. Data kadar TNF- α yang didapatkan pada kelompok ini

terdistribusi tidak normal sehingga uji statistik yang digunakan adalah uji *Kruskal-Wallis* (Tabel 9).

Tabel 9. Perbedaan kadar TNF- α pada kelompok kanker paru berdasarkan status gizi

Status Gizi	N	Kadar TNF- α (pg/mL)		p*
		Mean	SD	
KEK berat	11	8.21	2.20	
KEK ringan	15	7.92	2.15	0.8
Normal	6	7.40	0.65	

Keterangan : * = Uji *Kruskal-Wallis*

Tidak terdapat perbedaan bermakna kadar TNF- α pada kelompok kanker paru berdasarkan status gizi ($p > 0,05$).

5. Kategori Kadar *Tumor Necrosis Factor Alpha* (TNF- α) pada Kelompok Kanker Paru Berdasarkan Jenis Histopatologis

Terdapat dua jenis hasil pemeriksaan histopatologis yang didapatkan pada bilasan bronkus kelompok kanker paru pada penelitian ini yaitu *Non Small Cell Lung Carcinoma* (NSCLC) dan *Small Cell Lung Carcinoma* (SCLC). Data kadar TNF- α pada kelompok kanker paru didapatkan terdistribusi tidak normal sehingga uji statistik yang digunakan adalah uji *Mann Whitney* (Tabel 10).

Tabel 10. Perbedaan kadar TNF- α pada kelompok kanker paru berdasarkan jenis histopatologi

Histopatologi	N	Kadar TNF- α (pg/mL)		p*
		Mean	SD	
NSCLC	21	8.28	2.10	0,08
SCLC	11	7.24	1.49	

Keterangan : * = Uji *Mann Whitney*

Tidak terdapat perbedaan bermakna kadar TNF- α pada kelompok kanker paru berdasarkan jenis histopatologinya ($p > 0,05$).

6. Kategori Kadar *Tumor Necrosis Factor Alpha*(TNF- α) pada Kelompok Kanker Paru Berdasarkan Letak Lesi Tumor

Letak lesi tumor pada kelompok kanker paru terbagi menjadi letak lesi sentral dan perifer. Data kadar TNF- α berdasarkan letak lesi tumor pada kelompok kanker paru yang didapatkan tidak terdistribusi normal sehingga uji statistik yang digunakan adalah uji *Mann Whitney*(Tabel 11).

Tabel 11. Perbedaan kadar TNF- α pada kelompok kanker paru berdasarkan letak lesi tumor

Letak Lesi Tumor	N	Kadar TNF- α (pg/mL)		p*
		Mean	SD	
Letak Lesi Sentral	21	8.21	2.24	0,381
Letak Lesi Perifer	11	7.38	1.14	

Keterangan : * = Uji *Mann Whitney*

Tidak terdapat perbedaan bermakna kadar TNF- α pada kelompok kanker paru berdasarkan letak lesi tumor ($p > 0,05$).

7. Kategori Kadar Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- α) pada Kelompok Kanker Paru Berdasarkan One Year Survival Rate

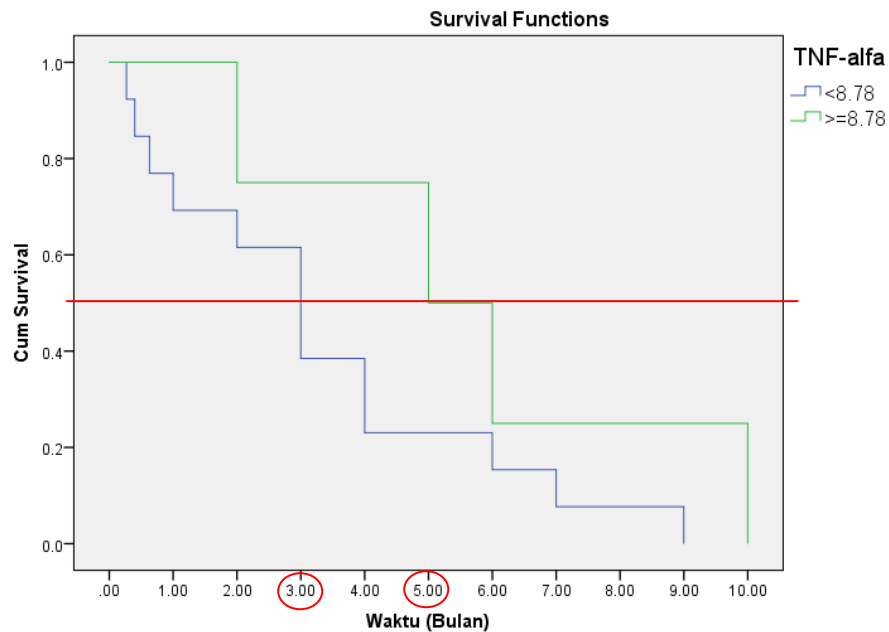
One year survival rate pasien kanker paru berdasarkan kadar TNF- α dengan menggunakan kurva *Kaplan Meier* (Tabel 12 dan Gambar 9).

Tabel 12. Perbedaan kadar TNF- α pada kelompok kanker paru Tipe NSCLC berdasarkan *One Year Survival Rate*

TNF-alfa	Survival time (bulan)				p
	Median	Min	Max	Mean	
<8.78	3	0.27	9	3.31	0.182
\geq 8.78	5	2	10	5.75	

Keterangan : * = *log rank test*

Tidak terdapat perbedaan bermakna *survival rate* pada kadar TNF- α ($p \leq 0.182$) yang <8.78 pg/mL dengan ≥ 8.78 pg/mL. *Median survival rate* kadar TNF- α <8.78 pg/mL dan ≥ 8.78 pg/mL tampak pada bulan ke-3 dan ke-5.



Gambar 10. Grafik Kurva *Kaplan Meier one year survival rate* Kanker Paru tipe NSCLC

B. Pembahasan

Penelitian ini dilakukan di RSUP. Dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar dengan jumlah sampel 56 orang yang terbagi atas 32 sampel pada kelompok kanker paru dan 24 sampel pada kelompok bukan kanker paru (Tabel 3). Persentase umur pada kelompok kanker paru lebih tinggi pada usia ≥ 50 tahun dan paling rendah pada usia < 40 tahun (Tabel 4). Penderita kanker paru sebagian besar adalah lanjut usia sejalan dengan penelitian oleh Cruz DS (2011) rata-rata usia penderita 65-74 tahun. Usia lanjut menyebabkan peluang kerusakan DNA semakin besar yang akan memudahkan terjadinya kerusakan sel. (Cruz DS, et al, 2011, De Groot et al, 2012).

Laki-laki merupakan populasi terbanyak pada kelompok kanker paru dan kelompok bukan kanker paru dengan persentasi masing-masing 81,3% dan 58,3% (Tabel 3). Insiden kanker paru pada laki-laki merupakan tertinggi di Asia dan Amerika, sedangkan pada wanita insiden tertinggi didapatkan di Amerika Utara dan Eropa Utara. Beberapa negara memperlihatkan tingginya insiden kanker paru sejalan dengan tingginya angka perokok. Pada penelitian ini persentase penderita kanker paru lebih tinggi pada laki-laki disebabkan karena populasi perokok didapatkan lebih banyak pada laki-laki dibandingkan wanita. (Cruz DS, et al, 2011, De Groot et al,2012)

Persentase perokok sedang dan perokok berat lebih tinggi pada kelompok kanker paru, sedangkan perokok ringan lebih tinggi pada kelompok bukan kanker paru (Tabel 5). Rokok dan zat yang terkandung didalamnya memegang peranan penting untuk terjadinya kanker paru. Faktor durasi, intensitas merokok serta jenis rokok yang dikonsumsi turut mempengaruhi bertambahnya risiko terjadinya kanker paru. (Cruz DC, et al 2011).

Berdasarkan status gizi, persentase pada kelompok kanker paru lebih tinggi pada status gizi KEK (Kehilangan Energi Kronis) ringan, sedangkan pada kelompok bukan kanker paru lebih tinggi pada status gizi normal (Tabel 6). Proses keganasan yang terjadi pada kelompok kanker paru secara langsung mempengaruhi status gizi. Kadar TNF- α ditemukan meningkat pada pasien kakeksia akibat kanker. (Zarogoulidis P.et

al,2013). Terjadinya kakeksia pada pasien kanker paru disebabkan karena kurangnya asupan makanan, metabolisme yang tidak normal, dan peran dari sitokin-sitokin proinflamasi yang dilepaskan oleh sel kanker yang menyebabkan perubahan dalam sistem endokrin dan muskuloskeletal tubuh (Ferraroetal,2012).

Kadar TNF- α ditemukan menurun pada kanker paru dan berbeda bermakna dengan yang bukan kanker paru (Tabel 7). Demikian pula pada SCLC ditemukan kadar TNF- α lebih rendah dibanding NSCLC meskipun tidak berbeda bermakna. Hal ini bertentangan dengan hasil penelitian dari Yun Song dkk. Berdasarkan teori dikatakan bahwa makrofag alveolar tipe M1 yang berperan menghambat sel kanker (anti tumor) mensekresikan iNOS, IL-1, TNF- α dan IL-6 (Xiao-YS et al, 2013, Almatrodi SA, 2014). TNF- α yang dihasilkan M1 berperan sebagai antitumor sehingga kadarnya ditemukan lebih tinggi pada yang bukan kanker paru dibandingkan pada kanker paru. Peran TNF- α pada TNFR1 dan TNFR2 juga saling berkontribusi dalam menginduksi respon sitotoksik dan proinflamasi. Efek proinflamasi TNF- α terutama karena kemampuannya untuk mengaktifkan NF-kB sedangkan efek antitumor disebabkan oleh caspase 3 dan dapat menginduksi terjadinya apoptosis (Wu Y, Zhou BP, 2010). Peran apoptosis TNF- α sebagai antitumor ditandai dengan peningkatan kadarnya pada yang bukan kanker paru seperti pada penelitian ini.

Kadar TNF- α ditemukan lebih tinggi pada perokok ringan dan lebih rendah pada perokok sedang namun kadarnya tidak ditemukan

perbedaan yang bermakna antara pasien yang tidak merokok, perokok ringan, perokok sedang dan perokok berat (Tabel 8). Beberapa teori mengatakan bahwa asap rokok mengandung berbagai zat karsinogenik *tobacco-specific N-Nitrosamines* (TSNAs) seperti *4-metylnitrosamine-1-(3-pyridyl)-1-butanone* (NNK) yang dapat terikat pada DNA dan menyebabkan adisi DNA. DNA yang teradisi akan mengalami apoptosis atau mutasi gen yang bersifat permanen dan rokok sangat dikaitkan dengan semua tipe kanker terutama SCLC dan adenokarsinoma (de Groot P, 2012, Cruz DC, et al 2011, Sun S, 2007).

Kadar TNF- α pada kanker paru dengan status gizi normal ditemukan lebih rendah dibandingkan status gizi KEK sedang dan KEK berat, meskipun tidak berbeda bermakna (Tabel 9). Sitokin TNF- α sebagai salah satu mediator yang potensial terjadinya kaheksia dengan menurunkan nafsu makan dan meningkatkan lipolysis pada penderita kanker disamping sitokin lain seperti IL-6, IL-1 dan IFN- γ (Tisdale MJ, 2002, Fieldmen 2000).

Berdasarkan histopatologinya, kadar TNF- α lebih tinggi pada NSCLC dibandingkan SCLC meskipun tidak berbeda bermakna (Tabel 10). Hal ini sejalan dengan hasil penelitian Gomes dkk yang mendapatkan *five year survivalrate* untuk semua stadium kanker paru sekitar 14-17% untuk tipe NSCLC dan hanya 6% pada tipe SCLC. Dengan kata lain prognosis NSCLC lebih baik dibanding SCLC (Gomes M et al, 2014).

Kadar TNF- α tidak berbeda bermakna pada letak lesi tumor (Tabel 11). Beberapa teori dikatakan bahwa lokasi tumor sentral, berkembang cepat, sering maligna dan memiliki prognosis yang jelek, terutama tipe SCLC. Lokasi tumor perifer berhubungan dengan rokok, berkembang lambat dan kurang invasif, terutama tipe NSCLC adenokarsinoma (Jusuf A dkk, 2015).

One year survival rate kadar TNF- α tipe NSCLC yang <8.78 pg/mL (berdasarkan perbedaan kadar *mean*-nya antara kanker paru dan bukan kanker paru) dimiliki oleh **13** pasien sedangkan yang ≥ 8.78 pg/mL dimiliki oleh **4** pasien (Tabel 12). *Median survival rate* (Gambar 10) pada pasien dengan kadar TNF- α <8.78 pg/mL hanya sampai bulan ke-**3**. Hal ini menunjukkan bahwa pasien dengan kadar TNF- α yang rendah cenderung memiliki prognosis yang buruk. Demikian pula sebaliknya, *median survival rate* pada pasien dengan kadar TNF- α ≥ 8.78 pg/mL tampak sedikit lebih lama yaitu sampai bulan ke-**5**. Hal ini menunjukkan bahwa pasien dengan kadar TNF- α yang tinggi cenderung memiliki prognosis yang baik. Pada TNF- α yang rendah, TNF-R2 akan menangkap TNF- α dan meneruskannya ke TNF-R1 dan dapat mengaktivasi *caspase* 8 dan meneruskan ke *caspase* 3 untuk menginduksi apoptosis/ nekrosis sel kanker paru sehingga didapatkan kadarnya dalam bilasan bronkus menurun (Kallioli GD 2015, Wu Y 2010).

C. Ringkasan Hasil Penelitian

Hasil penelitian ini dapat diringkas sebagai berikut :

1. Persentase umur kelompok kanker paru lebih tinggi pada umur ≥ 50 tahun, sedangkan pada kelompok bukan kanker paru lebih tinggi pada umur < 40 tahun.
2. Persentase kelompok perokok berat lebih tinggi pada kelompok kanker paru, sedangkan perokok ringan lebih tinggi pada kelompok bukan kanker paru.
3. Persentase pada kelompok kanker paru lebih tinggi pada status gizi KEK ringan, sedangkan pada kelompok bukan kanker paru lebih tinggi pada status gizi normal.
4. Kadar TNF- α berbeda bermakna ($p < 0,05$) antara kelompok kanker paru dan kelompok bukan kanker paru, yaitu kadar TNF- α lebih rendah secara signifikan pada kelompok kanker paru (7.93 ± 1.95 pg/mL) dibandingkan kelompok bukan kanker paru (8.78 ± 1.36 pg/mL).
5. Tidak ditemukan perbedaan bermakna kadar TNF- α pada kelompok kanker paru berdasarkan status merokok ($p > 0,05$).
6. Tidak ditemukan perbedaan bermakna kadar TNF- α pada kelompok kanker paru berdasarkan status gizi ($p > 0,05$).
7. Tidak ditemukan perbedaan bermakna kadar TNF- α pada kelompok kanker paru berdasarkan jenis histopatologi ($p > 0,05$), kadar TNF-

α pada jenis NSCLC (8.28 ± 2.10 pg/mL) dan SCLC (7.24 ± 1.49 pg/mL).

8. Tidak ditemukan perbedaan bermakna kadar TNF-α pada kelompok kanker paru berdasarkan letak lesi tumor ($p > 0,05$).
9. Tidak terdapat perbedaan bermakna *one year survival rate* dengan kadar TNF-α pada kanker paru NSCLC kadar < 8.78 pg/mL dan yang ≥ 8.78 pg/mL ($p < 0.05$).

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

1. Kadar TNF- α bilasan bronkus pada kanker paru lebih rendah dibanding kelompok bukan kanker paru.
2. Berdasarkan tipe histologi NSCLC dan SCLC, kadar TNF- α bilasan bronkus tidak ada perbedaan.
3. Berdasarkan letak lesi tumor sentral dan perifer, kadar TNF- α bilasan bronkus tidak ada perbedaan.
4. Berdasarkan *one year survival rate*, kadar TNF- α bilasan bronkus pada kelompok kanker parutipe NSCLC, tidak ada perbedaan.

B. Saran

1. Diperlukan penelitian lebih lanjut dengan jumlah sampel yang lebih besar untuk menentukan nilai *cut-off* TNF- α agar dapat digunakan untuk membantu menegakkan prognosis kanker paru.
2. Dibutuhkan jumlah sampel yang lebih merata pada berbagai stadium kanker paru untuk menganalisa hubungan kadar TNF- α bilasan bronkus dengan stadium kanker paru.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, AK., Litchman, A.H. 2012. *Immunity to Tumor. Cellular and Molecular Immunology. 7th Edition.* Saunders Philadelphia. 389-404
- Aggarwal, B.B., Gupta,S.C., Ji, Hye Kim. 2012. Historical Perspectives on Tumor Necrosis Factor and Its Superfamily: 25 Years Later, A Golden Journey. Review Article. Cytokine Research Laboratory. *BloodJournal.* Vol.119:651-665.
- Alberts, B et al. 2014. Cell Communities: Tissue, Stem Cell and Cancer. *Essential Cell Biology.* Fourth Edition. 683-724
- Almatrodi, S.A. et al. 2014. Alveolar Macrophage Polarisation in Lung Cancer. Lung Cancer International. *Hindawi Publishing in Lung Cancer.* 1-7.
- American Cancer Society (ACS). 2014. Estimated New Cancer Cases and Deaths for 2017. National Cancer Institute. Seer Cancer Statistics Review.
- Amin,Z. 2014. Kanker Paru. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam. Edisi VI. EGC. Jakarta. 2998-3007.
- Ansari,J., Shackford, R.E., El-Osta,H. 2016. Epigenetics in Non Small Cell Lung Cancer: From Basics to Therapeutics. Review. *Translational Lung Cancer Research.* 5(2): 155-171.
- Ardestani S. 2013. New Insight Into Tumor Necrosis Factor-Alpha in Cancer. Dissertation. Vanderbilt University. Tennessee.
- Balkwil,F. 2009. Tumour Necrosis Factor and Cancer. Perspectives. *Nature Reviews Cancer.* Vol.9: 361-370.
- Baratawidjaja, K.G. et al. 2014. Imunologi Tumor. Imunologi Dasar. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Edisi 11. 401-426.
- Barnes PJ, Cosio MG. 2006. Cells and Mediators of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Eur Respir Mon.* 38:131158
- Biologend®. Human TNF α ELISA Kit. Biologend.com. USA & Canada. 1-16.
- Bremnes, R.M. et al. 2015. The Role of Tumor Infiltrating Lymphocytes in Development, Progression and Prognosis of Non Small Cell Lung Cancer. *Journal of Thoracic Oncology.* Vol.11(6): 789-800.
- Brenner,D., Blaser,H., Mak,T.W. 2015. Regulation of Tumour Necrosis Factor Signalling: Live or Let Die. Reviews. Macmillan Publishers. Vol.15:362-373.m and Potential for Immunotherapy. *Journal of Thoracic Oncology.* Vol.10(7): 974-984.
- Carbone, D.P., et al. 2015. Non Small Cell Lung Cancer: Role of The Immune System
- CCRC Farmasi UGM File. 2017. Mekanisme dan Regulasi Apoptosis. 1-17.
- Coffelt, S.B. et al. 2016. Neutrophils in Cancer: Neutral no More. *Nature Reviews Cancer.* Vol.19:431-443.

- Coo Choo et al. 2013 Evaluation of VEGF-C and Tumor Markers in Bronchoalveolar Lavage Fluid for Lung Cancer Diagnosis
- Cooper,W.A., Lam, D.C.L., O'Toole, S.A., Minna, J.D., 2013. Molecular Biology of Lung Cancer. *J Thorac Dis.* 5:479-490
- Cruz DC, Tanoue LT, Matthay RA.(2011). Lung Cancer: Epidemiology, Etiology and Prevention. *Clinical Chest Medicine*;34:1-8.
- De Groot, P., Munden, RF., 2012.Lung Cancer Epidemiology,Risk Factors, and Prevention. *Radiolo Clin N Am*;50:863-876.
- Didkowska, J et al. 2016. Lung Cancer Epidemiology: Contemporary and Future Challenges Worldwide. *Annals of Translation Medicine.* Vol.4:1-11
- Disis, M.L. 2010. Immune Regulation of Cancer. *Journal of Clinical Oncology.* Vol.28. 4531-4537.
- Drutskaya, M.S. et al. 2010. Tumour Necrosis Factor, Lymphotoxin and Cancer. Critical Review. *IUBMB Life.* 62(4):283-289.
- Faurschout, P et al, 1996. Classification of Pulmonary Lesions Into Central and Peripheral With a Template Applied on Chest X-Ray. *Respiratory Medicine.* 90:349-352.
- Fitzmaurice, C. 2017. Global, Regional and National Cancer Incidence, Mortality, Years of Live lost for 32 Cancer Group, 1990-2015. *Jama Oncology.* 3(4):524-548.
- Feldman AM, Combes A, Wagner D. 2000. The Role of Tumor Necrosis Factor in The Pathophysiology o Heart Failure. *J Am Coll Cardiol.* 35: 537-544.
- Fridlender, Z.G., Albelda,S.M. 2012. Tumor Associated Neutrophils: Friend or Foe?. *Review. Carcinogenesis.* Vol.33:949-955.
- Gibson, D.L., Byers, L.A., Kurie, J.M. 2014. Smoking, p53 Mutation and Lung Cancer.*NIH Public Access.* 12:1-5.
- Gomes,M., Teixeira,A.L., Coelho,A., Araujo,A., Medeiros,R. 2014. The Role Inflammation in Lung Cancer. *Inflammation and Lung Cancer.* 1-23.
- Guan,S.S. et al. 2016. IL-6 dan TNF- α promote Metastaseof Lung Cancer by inducing: epithelial-mesenchymal transition.*Oncology Letters.*13:4657-4660
- Halvorsen, A.R. et al. 2016. TP53 Mutation Spectrum in Smokers and Never Smokers Lung Cancer Patients. *Frontiers in Genetics.* Vol.7.1-10.
- Herbst, R.S., Heymach, J.V., Lippman, S.M.2008. Molecular Origins of Cancer : Lung Cancer. *N Eng J Med*;359:1367-80.
- Hernawati, S. 2017. Mekanisme Signaling Transduksi Inflamasi Kronis dengan Kanker. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Indonesia.
- Heuertz, RM., Ezekiel,U.R. 2017. Cytokines. *Clinical Immunology and Serology. A laboratory Perspective.* Fourth Edition. FA Davis Company. Philadelphia. 77-87.



- Horiuchi, T., Mitoma, H., Harashima, S.I., Tsukamoto, H., Shimoda, T. 2010. Transmembrane TNF- α : Structure, Function and Interaction with anti-TNF agents. *Reviews. Rheumatology*. 49: 1215-1228.
- Horsssen R et al. 2006. TNF Alfa in Cancer Treatment: Molecular Insights, Antitumor Effects and Clinical Utility Department of Surgical Oncology. *The Oncologist. Journal of Biology*. 11:397-408.
- Jian, Li., Ping, Chen., Chao, Ming Mao., Xing, Ping Tang., Li Rong Zhu. 2014. Evaluation of Diagnostic Value of Four Tumor Markers in Bronchoalveolar Lavage Fluid of Peripheral Lung Cancer. Original Article. *Asia Pacific Journal of Clinical Oncology*. 10: 141-148.
- Johnson, J.L. et al. 2012. Genetic and Biochemical Alterations in Non Small Cell Lung Cancer. *Hindawi Publishing Corporation*. 1-18
- Jusuf, A., Haryanto, A., Syahrudin, E., Endart, S., Mudjiantoro, S, Sutantio N. 2015. Kanker paru jenis karsinoma bukan sel kecil. Pedoman diagnosis dan penatalaksanaan kanker paru jenis karsinoma bukan sel kecil di Indonesia. PDPI & POI, Jakarta.
- Kadara, H., Scheet, P., Wistuba, I.I., Spira, A.E. 2016. Early Events in The Molecular Pathogenesis of Lung Cancer. Review. *Cancer Prevention Research*. 518-527
- Kalliolias, G.D., Ivashkiv, L.B. 2015. TNF Biology, Pathogenic Mechanisms and Emerging Therapeutic Strategies. *Nature Reviews Rheumatology*. 1-14.
- Kanker Paru. Pedoman Diagnosis dan Penatalaksanaan di Indonesia. Perhimpunan Dokter Paru Indonesia. 1973-2003
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. (2015). Informasi dan Data Kementerian Kesehatan RI.
- Keshamouni VG, Kalemkerian GP. (2010). Lung Cancer overview in Lung Cancer Metastasis: Novel Biological Mechanism and Impact on Clinical Practice. Springer-Verlag New York. Pg:13-39.
- Key Statistics For Lung Cancer. 2017.
- Kitamura, H., Yazawa, T., Okudela, K., Shimoyamada, H., Sato, H. 2008. Molecular and Genetic Pathogenesis of Lung Cancer: Differences Between Small Cell and Non Small Cell Carcinomas. *The Open Pathology Journal*, Vol 2, 106-114
- Kulawik, JD., Guzman, J., Costabel, U. 2003. Immune Cells in Bronchoalveolar Lavage in Peripheral Lung Cancer Analysis of 140 Cases. *Respiration. Clinical Investigation*. 70: 43-48.
- Kurnianda J. 2015. Terapi Biologi pada Kanker. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam. EGC. Jakarta. 2916-2919.
- Landskron, G., Fuente, M.D.L., Thuwajit, P., Thuwajit, T., Hermoso, M.A. 2014. Chronic Inflammation and Cytokines in The Microenvironment. *Journal of Immunology Research. Hindawi Publishing Corporation*. 1-19.
- Lievense, L.A. et al. 2013. Tumor Associated Macrophage in Thoracic Malignancies. Review. *Elsevier. Lung Cancer* 80:256-262.

- MacEwan, D.J. 2002. TNF ligands and receptors - a matter of life and death. *British J Pharm.* 135:855-875.
- Matanic D et al. 2003. Cytokines in Patients with Lung Cancer. *Scandinavian Journal of Immunology.* 57: 173-178.
- McAllister,S.S. and Weinbwrg,R.A. The Tumour-Induced Systemic Environment as Critical Regulator of Cancer Progression and Metastasis. Review. *Nature Cell Biology.* Vol.16:717-727.
- Miller YE.2005. Pathogenesis of Lung Cancer 100 Year Report. *Am J Repir Cell Mol Biol.* 33:216-223.
- Miller, L.E. 2017. Immunology Tumor. Clinical Immunology and Serology. *A laboratory Perspective.* Fourth Edition. FA Davis Company. Philadelphia. 278-303.
- Mukhopadhyay S et al. 2006. Role of TNF alpha in Pulmonary Pathophysiology. *University of Utah Health Science Center.*
- National Comprehensive Cancer Network (NCCN). 2016. Lung Cancer Non Small Cell Lung Cancer. *Lung Cancer Research Council.* 1-124.
- Neurath,M.F., Finotto,S. 2012. The Emerging Role of T Cell Cytokines in Non Small Cell Lung Cancer. Cytokine and Growth Factor Reviews. Elsevier. 23:315-322.
- Octavia,F., Esa.T., Samad, I.A., Santoso.A., Burhanuddin. 2017. Analisis Kadar Interleukin 10 Cairan Bilasan Bronkus Pasien Kanker Paru. Program Studi Ilmu Patologi Klinik. Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.
- Olmos, G., Liado J. 2014.Tumor Necrosis Factor Alpha : A Link between Neuroinflammation and Excitotoxicity. *Hindawi Publishing Corporation.*
- Parameswaran N, Patial S. 2010. TNF- α signaling in Macrophages. NIH Public Access. 20(2): 87-103.
- Park ER et al. 2012. A Snapshot of Smokers After Lung and Colorectal Cancer Diagnosis.
- Petrovic, M. 2013. TNF alpha and IL-6 concentration in Bronchoalveolar Lavage Fluid (BALF) of NSCLC. European Respiratory Society Annual Congress. Medical Faculty, University of Kragujevac, Kragujevac, Serbia
- Petrovic,M. 2013. European Respiratory Society Annual Congress. Medical Faculty, University of Kragujevac, Serbia.
- Popa, J. et al. 2007. The role of TNF-a in chronic inflammatory conditions, intermediary metabolism, and cardiovascular risk. *J Lipid Res.* 48:751–762.
- Pradipta, A.E, Wardhani, D.P, Uyainah, A.2014.Kapita Selekt Kedokteran edisi 4. *Media Aesculapius.* Jakarta: 168-173
- Reuter, S. et al. 2010. Oxidative Stress, Inflammation and Cancer: How are they linked?. NIH Public Access. 11:1-14.

- Saha,S., Biswas,S.K. 2016. Tumor Associated Neutrophils Show Phenotypic and Functional Divergence in Human Lung Cancer. *Cancer Cell Previews*. Elsevier.11-13.
- Sansone,P., Bromberg,J. 2011. Environment, Inflammation and Cancer. *ScienceDirect*. Elsevier.21:80-85.
- Seifart,C et al. 2005.TNF- α , TNF- β , IL-6, and IL-10 polymorphisms in patients with lung cancer.
- Stockmann,C., Schadendorf,D., Klose,R., Helfrich, I. The Impact of The Immune System on Tumor: Angiogenesis and Vascular Remodeling. *Frontiers in Oncology*. Vol.4: 1-10.
- Sukmawaty., Esa.T., Samad, I.A., Santoso.A., Burhanuddin. 2017. Analisis Kadar Interleukin 6 Cairan Bilasan Bronkus Pasien Kanker Paru. Program Studi Ilmu Patologi Klinik. Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.
- Sun Sophie et al.2007. Lung Cancerin Never Smoker a Different Disease. *Nature Publishing Group*. Vol.7778-789.
- Susanna, D., Hartono, B., Fauzan,H. 2003. Penentuan Kadar Nikotin dalam Asap Rokok. *Jurnal Ekologi Kesehatan*. Vol.2: 272-274.
- Suzuki,K. et al. 2011. Prognostic Immune Markers in Non Small Cell Lung Cancer. *American Association for Cancer Research*. 5247-5256.
- Swanton, C., Govindan, R., 2016. Clinical Implication of Genomic Discoveries in Lung Cancer. *The New England Journal of Medicine*
- Syahri,W., Esa.T., Samad, I.A., Santoso.A., Burhanuddin. 2017. Analisis Kadar TGF-Beta 1 Cairan Bilasan Bronkus Pasien Kanker Paru. Program Studi Ilmu Patologi Klinik. Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.
- Tan WD, Huq S.(2016). Non-Small Cell Lung Cancer. Diakses 9 November 2016. Available from:<http://emedicine.medscape.com>
- Tisdale, M.J. 2002. Cachexia in Cancer Patients. *Reviews*. *Nature Publishing Group*. Vol.2. 862-871.
- U.S National Institute of Health.(2013).National Cancer Institute, SEER Cancer Statistic Review. Diakses 9 November 2016. Available from:<http://seer.cancer.gov>
- Urman, A., Hosgood, H.D. 2015. Lung Cancer Risk, Genetic Variation and Air Pollution. *EBioMedicine*. 491-492.
- Vijayaraghava A., Doreswamy V. 2017. Exercise and The Cytokines IL-6 and TNF- α : A Review, *Ann Med Physiol*.1(1):3-8.
- Wajant, H., Pfizenmaier ,K., Scheurich P. 2003. Tumor Necrosis Factor signaling. *Nature Publishing Group*.
- Walser,T., Cui X., Yanagawa, J., Lee, J.M., Heinrich,E., Lee,G., Sharma,S., Dubinet, S.M. 2008. Smoking and Lung Cancer. The Role of Inflammation. *Proc Am Thorac Soc*. Vol 5: 811-815.
- Wang, B et al. 2014. Expression of Tumor Necrosis Factor-Alpha-Mediated Genes Predicts Recurrence-Free Survival in Lung Cancer.

- Xia, Wang., Yong, Lin. 2008. Tumor necrosis factor and cancer, buddies or foes?*. *Acta Pharmacol Sin.* National Institutes of Health Public Access. 29(11):1275-1288.
- Y,Wu., Bp,Zhou. 2010. TNF- α /NF- κ B/Snail pathway in cancer cell migration and invasion. *British Journal of Cancer.* 102, 639 – 644
- Yifeng X., Shen s., Verna, I.M., 2014. NF- κ B, an Active Player in Human Cancer. *Masters of Immunology. Cancer Immunology research.* 823-830.
- Yun Song X., et al. 2013. Research on the Relationship Between Serum Levels of Inflammatory Cytokines and Non-small Cell Lung Cancer. *Vol.14:4765-4768.*
- Zhongbo, Chen. et al. 2014. TGF- β 1, IL-6, and TNF- α in Bronchoalveolar Lavage Fluid: Useful Markers for Lung Cancer?. *Scientific Reports.* 4:5595: 1-4.
- Zhou W et al. 2015. Meta Analysis of The Associations between TNF alfa or IL 6 gene polymorphism and Susceptibility to Lung Cancer. Department of Respiration, General Hospital of Ningxia Medical University, Shengli Street, Yinchuan 750004, China. .

Lampiran 1

 KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI UNIVERSITAS HASANUDDIN FAKULTAS KEDOKTERAN RSPTN UNIVERSITAS HASANUDDIN RSUP Dr. WAHIDIN SUDIROHUSODO MAKASSAR KOMITE ETIK PENELITIAN KESEHATAN Sekretariat : Lantai 3 Gedung Laboratorium Terpadu JL.PERINTIS KEMERDEKAAN KAMPUS TAMALANREA KM.10 MAKASSAR 90245. Contact Person: dr. Agussalim Bukhari, MMed,PhD, SpGK TELP. 081241850858, 0411 5780103, Fax : 0411-581431			
REKOMENDASI PERSETUJUAN ETIK			
Nomor : 2 / H4.8.4.5.31 / PP36-KOMETIK / 2018			
Tanggal: 3 Januari 2018			
Dengan ini Menyatakan bahwa Protokol dan Dokumen yang Berhubungan Dengan Protokol berikut ini telah mendapatkan Persetujuan Etik :			
No Protokol	UH170121054		No Sponsor Protokol
Peneliti Utama	dr. Dewi Sri Kartini		Sponsor Pribadi
Judul Peneliti	Analisis Kadar Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF-a) Cairan Bilasan Bronkus pad Pasien Kanker Paru		
No Versi Protokol	2	Tanggal Versi	29 Desember 2017
No Versi PSP	2	Tanggal Versi	29 Desember 2017
Tempat Penelitian	RSUP dr. Wahidin Sudirohusodo dan RSPTN Universitas Hasanuddin Makassar		
Dokumen Lain			
Jenis Review	<input type="checkbox"/> Exempted <input checked="" type="checkbox"/> Expedited <input type="checkbox"/> Fullboard Tanggal	Masa Berlaku	Frekuensi review lanjutan
		3 Januari 2018 sampai 3 Januari 2019	
Ketua Komisi Etik Penelitian	Nama Prof.Dr.dr. Suryani As'ad, M.Sc.,Sp.GK (K)	Tanda tangan	Tanggal
Sekretaris Komisi Etik Penelitian	Nama dr. Agussalim Bukhari, M.Med.,Ph.D.,Sp.GK (K)	Tanda tangan	Tanggal
Kewajiban Peneliti Utama: <ul style="list-style-type: none"> • Menyerahkan Amandemen Protokol untuk persetujuan sebelum di implementasikan • Menyerahkan Laporan SAE ke Komisi Etik dalam 24 jam dan dilengkapi dalam 7 hari dan Lapo SUSAR dalam 72 jam setelah Peneliti Utama menerima laporan • Menyerahkan Laporan Kemajuan (progress report) setiap 6 bulan untuk penelitian resiko tinggi dan setiap setahun untuk penelitian resiko rendah • Menyerahkan laporan akhir setelah Penelitian berakhir • Melaporkan penyimpangan dari prokol yang disetujui (protocol deviation / violation) • Mematuhi semua peraturan yang ditentukan 			

Lampiran 2

**NASKAH PENJELASAN UNTUK MENDAPAT PERSETUJUAN
DARI SUBYEK PENELITIAN**

**Judul penelitian : Analisis Kadar *Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- α)*
Cairan Bilasan Bronkus Pada Pasien Kanker Paru**

Penjelasan kepada subyek penelitian :

Selamat pagi Bapak/Ibu, saya dokter Dewi, lengkapnya Dewi Sri Kartini. Bapak/Ibu. Saya sedang menjalani pendidikan dokter spesialis mengambil spesialis Patologi Klinik yang bertugas di laboratorium rumah sakit ini, laboratorium itu tempat yang biasanya orang periksa darah atau urin, atau cairan tubuh lainnya.

Sehubungan dengan pendidikan tersebut, maka saya harus melakukan penelitian tentang suatu penyakit. Kebetulan judul yang saya pilih adalah analisis kadar Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- α) pada cairan bilasan bronkus pasien kanker paru. Saya memilih Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- α) karena pemeriksaan ini dapat menjadi penanda untuk regresikan kanker. Kadar Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- α) yang rendah menandakan regresi kanker paru yang juga rendah. Manfaat penelitian ini adalah untuk mengukur kadar Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- α) penderita kanker paru terhadap prognostik kanker paru, sehingga saya berada disini mengharapkan bapak/ibu bersedia diikutkan menjadi sampel penelitian saya dengan diambil cairan bilasan bronkus untuk saya teliti. Adapun manfaat yang bapak/ibu dapatkan jika bersedia ikut dalam penelitian ini, bapak/ibu akan mengetahui kadar Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- α) yang ada pada cairan bilasan bronkus bapak/ibu. Keikutsertaan bapak/ibu pada penelitian saya ini tidak ada pemberian kompensasinya namun pemeriksaan ini tidak dipungut biaya (gratis) karena telah didanai oleh penelitian saya, jadi bapak/ibu tidak perlu khawatir dengan pembiayaannya.

Proses pengambilan cairan bilasan bronkus bapak/ibu ini sudah tercakup saat bapak/ibu menjalani tindakan bronkoskopi. Cairan bilasan bronkus yang saya gunakan sebagai sampel yaitu 3 ml sisa cairan bilasan bronkus yang diperoleh saat bapak/ibu menjalani prosedur bronkoskopi. Bila ada yang bapak/ibu ingin tanyakan atau ada sesuatu yang tidak berkenan, boleh menghubungi saya di no HP 081241525421.

Hasil pemeriksaan cairan bilasan bronkus bapak/ibu akan dijaga kerahasiaannya, hanya saya dan tim komisi etik yang boleh

mengetahui. Bila bapak/ibu bersedia dengan sukarela kiranya menandatangani lembar persetujuan (formulir surat persetujuan) sebagai bukti saya telah minta ijin dan bapak/ibu telah menyetujuinya sesuai yang diwajibkan dalam etika atau sopan santun dalam melakukan penelitian. Namun apabila bapak/ibu tidak bersedia hal itu tidak akan berpengaruh terhadap pelayanan yang akan bapak/ibu jalani. Terima kasih pak/bu.

Identitas Peneliti:

Nama : dr. Dewi Sri Kartini

Alamat : PPDS Ilmu Patologi Klinik FK-UNHAS

Telepon : 081241525421

Lampiran 4

DATA DASAR PENELITIAN

No.	RM	JK	Umur (tahun)	Riwayat Merokok (Index Brinkman)	Status Gizi	Nilai TNF- α (pg/ml)	Diagnosis	Tipe Histologi Sel Kanker/ Tipe Infeksi	Stage	Letak Lesi Tumor	Survival	Kemo Terapi
1.	749603	L	62	4	3	7.8	Kanker Paru	NSCLC 2	IV	2	3 bln	Tidak
2	772251	L	64	3	1	6.3	Kanker Paru	NSCLC 1	IIIB	1	8 hr	Tidak
3	749737	P	75	1	3	6.6	Kanker Paru	NSCLC 3	IV	1	7 bln	Tidak
4	777664	L	28	4	1	13.8	Kanker Paru	NSCLC 2	IV	1	5 bln	Tidak
5	745502	L	66	2	3	8.1	Kanker Paru	NSCLC 1	IV	1	12 hr	Tidak
6	798367	L	68	1	3	6.6	Kanker Paru	NSCLC 2	IV	1	4 bln	Tidak
7	762747	L	55	4	1	7.2	Kanker Paru	NSCLC 2	IV	2	4 bln	Ya
8	760958	L	67	3	1	7.8	Kanker Paru	NSCLC 1	IV	1	9 bln	Tidak
9	753904	L	52	4	2	5.7	Kanker Paru	NSCLC 3	IV	1	H	Ya
10	764014	L	66	3	2	7.2	Kanker Paru	NSCLC 2	IIIB	1	2 bln	Tidak
11	769557	L	51	3	3	7.8	Kanker Paru	NSCLC 2	IV	2	6 bln	Tidak
12	753870	P	39	1	2	9.4	Kanker Paru	NSCLC 2	IV	1	H	Ya
13	771124	L	51	4	2	8.8	Kanker Paru	NSCLC 2	IV	1	6 bln	Tidak
14	765619	L	55	4	1	8.8	Kanker Paru	NSCLC 2	IV	1	H	Tidak
15	750052	L	57	4	1	6.9	Kanker Paru	NSCLC 2	IV	1	19 hr	Tidak
16	746353	L	58	3	1	9.1	Kanker Paru	NSCLC 2	IV	1	#	Tidak
17	511048	L	77	4	1	8.5	Kanker Paru	NSCLC 2	IV	2	3 bln	Tidak

18	751089	P	56	1	1	9.4	Kanker Paru	NSCLC 2	IV	1	2 bln	Ya
19	766689	L	60	4	1	6.9	Kanker Paru	NSCLC 2	IV	2	1 bln	Tidak
20	776736	L	66	3	3	7.5	Kanker Paru	NSCLC 2	IIIB	2	3 bln	Tidak
21	775262	P	66	1	2	13.8	Kanker Paru	NSCLC 2	IV	1	10 bln	Ya
22	753723	L	50	3	2	6.3	Kanker Paru	SCLC	IV	2	#	Ya
23	750220	P	43	1	2	6.0	Kanker Paru	SCLC	IIA	2	H	Tidak
24	777053	P	40	1	2	6.3	Kanker Paru	SCLC	IIA	1	H	Tidak
25	746884	L	63	4	1	5.7	Kanker Paru	SCLC	IIA	1	#	Ya
26	745690	L	53	2	2	6.6	Kanker Paru	SCLC	IIB	2	H	Tidak
27	759228	P	47	1	2	7.8	Kanker Paru	SCLC	IV	1	14 hr	Tidak
28	767766	L	48	2	2	10.0	Kanker Paru	SCLC	IB	2	7 bln	Ya
29	750739	L	68	2	2	10.0	Kanker Paru	SCLC	IIA	1	10 bln	Tidak
30	769390	L	72	3	2	7.5	Kanker Paru	SCLC	IIIB	1	#	Tidak
31	777709	L	71	3	2	6.6	Kanker Paru	SCLC	IIIA	2	H	Tidak
32	770553	L	64	3	2	6.9	Kanker Paru	SCLC	IIA	1	9 bln	Tidak
33	778852	P	46	1	2	10.6	Bukan kanker paru					
34	778457	L	65	2	3	11.0	Bukan kanker paru					
35	762180	L	43	2	3	8.8	Bukan kanker paru					
36	755735	P	29	1	2	8.8	Bukan kanker paru					

37	735199	P	35	3	3	9.4	Bukan kanker paru						
38	740576	P	56	1	2	10.6	Bukan kanker paru						
39	757489	P	47	2	3	9.1	Bukan kanker paru						
40	758207	P	59	2	3	10.6	Bukan kanker paru						
41	754978	P	45	1	3	6.9	Bukan kanker paru						
42	768041	L	53	2	3	9.4	Bukan kanker paru						
43	750844	L	36	2	3	8.8	Bukan kanker paru						
44	772792	L	48	3	3	7.2	Bukan kanker paru						
45	766575	L	26	1	3	6.3	Bukan kanker paru						
46	753076	L	68	2	3	8.5	Bukan kanker paru						
47	750257	P	64	1	2	6.6	Bukan kanker paru						
48	748055	P	31	1	3	10.3	Bukan kanker paru						
49	762973	L	64	2	3	10.0	Bukan kanker paru						
50	766294	L	57	3	3	7.8	Bukan kanker paru						

51	774928	P	65	1	2	7.2	Bukan kanker paru					
52	767455	L	32	2	1	9.7	Bukan kanker paru					
53	503422	L	31	2	1	7.8	Bukan kanker paru					
54	675385	P	40	1	3	7.8	Bukan kanker paru					
55	767547	L	72	2	2	8.5	Bukan kanker paru					
56	689020	L	56	2	3	9.1	Bukan kanker paru					

Keterangan :

Jenis Kelamin (JK) :

L=Laki-laki

P=Perempuan

Pembagian status gizi berdasarkan IMT :

1= <17 : KEK Berat

2= 17-18,4 : KEK Ringan

3= 18,5-25,0 : Normal

Status merokok :

1= tidak merokok

2= perokok ringan

3= perokok sedang

4= perokok berat

Letak lesi tumor:

1= sentral

2= perifer

Survival Rate :

= tidak dapat dihubungi

H= masih hidup saat dihubungi

Lampiran 5

CURRICULUM VITAE**I. Data Pribadi**

- a. Nama : Dewi Sri Kartini
- b. NIP : 19770421 200604 2 023
- c. Pangkat/Golongan : III d
- d. Jenis Kelamin : Perempuan
- e. Agama : Islam
- f. Tempat/Tanggal lahir : Ujung Pandang/ 21 April 1977
- g. Alamat : Perdos Tamalanrea UNHAS Blok G/15
Makassar

II. Riwayat Pendidikan

- a. SD Negeri Mawas Makassar, lulus tahun 1989.
- b. SMP Negeri 2 Makassar, lulus tahun 1992.
- c. SMA Negeri 3 Makassar, lulus tahun 1995.
- d. Sarjana Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar, lulus tahun 1999.
- e. Profesi Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar, lulus tahun 2002.
- f. Program Pendidikan Dokter Spesialis Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar, periode 1 Juli 2014 – sekarang.

III. Riwayat Pekerjaan

- a. Dokter umum Dinas Kesehatan Kabupaten Luwu (2002 - 2009)
- b. Dokter umum Dinas Kesehatan Kabupaten Sinjai
(2009- sekarang)

IV. Karya Ilmiah / Artikel yang telah dipublikasikan

- a. Gambaran Morfologi Eritrosit Pada Darah Simpan *Packed Red Cell*
(Indonesian Journal of Clinical Pathology and Medical Laboratory
**Vol. 23, No.2, March 2017, Page 103-106, p-ISSN 0854-4263,
e-ISSN 4277- 4685**)
- b. Prolaps Rektum pada Hipotiroid Kongenital (Laporan Kasus)
(Dipresentasikan pada pertemuan ilmiah **MaCPLAM** Tahun 2016)