

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini bersifat analitik dengan design quasi experimental.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Departemen THT-KL FK USU/RSUP. H. Adam Malik Medan. Penelitian dilakukan mulai bulan Maret 2015 sampai Oktober 2015.

3.3 Populasi, Sampel dan Teknik Pengambilan Sampel

3.3.1 Populasi

Populasi adalah penderita yang didiagnosis KNF berdasarkan anamnesis, pemeriksaan fisik dan hasil biopsi histopatologi yang berobat ke divisi Onkologi-Bedah Kepala Leher Departemen THT-KL FK USU/RSUP. H. Adam Malik Medan dan telah menjalani kemoradioterapi konkuren.

3.3.2 Kriteria Sampel

3.3.2.1 Inklusi

1. Penderita yang didiagnosis KNF, baik laki-laki maupun perempuan pada kelompok umur di atas atau sama dengan 20 tahun dengan keadaan umum baik.
2. Penderita yang belum pernah mendapat pengobatan dengan radioterapi, kemoterapi dan kombinasi keduanya.
3. Bersedia diikutsertakan dengan menandatangani *informed consent*

3.3.2.1 Eklusi

Keadaan umum yang jelek, wanita hamil dan keganasan yang lain.

3.3.3 Sampel

Penentuan jumlah minimal sampel berdasarkan pengamatan pendahuluan dengan menggunakan rumus:

$$n = \frac{[Z_{\alpha}\sqrt{2PQ} + Z_{\beta}\sqrt{P_1Q_2 + P_2Q_2}]^2}{(P_1 - P_2)^2}$$

Keterangan:

n :jumlah sampel

Z_a :nilai standar distribusi statistik pada kesalahan tertentu $\alpha = 1,96$.

Z_b :nilai standar distribusi statistik pada kesalahan tertentu $\beta = 0,842$

P :Proporsi PPAR γ pada penderita karsinoma nasofaring

P₁ :Proporsi PPAR γ pada penderita karsinoma nasofaring sebelum kemoradioterapi konkuren

P₂ :Proporsi PPAR γ pada penderita karsinoma nasofaring sesudah kemoradioterapi konkuren

Q :1 – P (Proporsi PPAR γ pada penderita karsinoma nasofaring)

$$n = \frac{[1,96\sqrt{2 \times 9 \times 8} + 0,842\sqrt{(15 \times 4) + (3 \times 2)}]^2}{(15 - 3)^2}$$

$$n = 8,9 = 9 \text{ orang}$$

Besar sampel yang didapat 25 orang.

3.3.4 Teknik Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel penelitian adalah dengan cara *non probability consecutive sampling*

3.4 Variabel Penelitian

Karsinoma nasofaring, ekspresi PPAR γ , kemoradioterapi konkuren, gambaran klinis, skor karnosky, ukuran tumor primer (T), ukuran kelenjar getah bening leher (N), stadium klinis.

3.5 Definisi Operasional

1. Karsinoma nasofaring adalah tumor ganas yang berasal dari sel epitel yang melapisi permukaan nasofaring dengan diagnosis ditegakkan berdasarkan hasil pemeriksaan histopatologi dan dinilai berdasarkan kriteria WHO.
2. Ekspresi PPAR γ adalah pemeriksaan imunohistokimia yang pada pewarnaan coklat pada sitoplasma dan membran sel. Skor imunoreaktif diperoleh dengan mengalikan skor luas dengan skor intensitas (Horvai, 2008). Skor Intensitas (Intensitas pewarnaan) PPAR γ dinilai (0,1,2,3) dan Skor luas (Tingkat pewarnaan) PPAR γ dinilai (0,1,2,3)

Hasil ukur skor imunoreaktif:

Ekspresi PPAR γ negative : 0-3

Ekspresi PPAR γ positif / overekspresi: 4-9

3. Kemoradioterapi konkuren adalah pemberian radioterapi bersamaan dengan kemoterapi. Berdasarkan NCCN 2010 kemoterapi cisplatin 100 mg/m² diberikan pada hari ke-1, 22 dan 43 bersamaan dengan radioterapi \geq 70 Gy pada tumor primer dan 50 Gy pada pembesaran kelenjar getah bening leher bilateral.
4. Gambaran klinis adalah keadaan atau keluhan seseorang datang berobat antara lain benjolan dileher, epistaksis, tinnitus, hidungsumbat, pandangan ganda, sakit kepala.
5. Skor karnosky adalah cara standar untuk mengukur kemampuan pasien kanker dalam melakukan tugas sehari-hari.
Hasil ukur: \geq 80, 70, \leq 60
 \geq 80: Aktivitas seperti biasa
70 : Mampu merawat diri sendiri tapi tidak dapat beraktivitas normal atau bekerja
 \leq 60: Aktivitas dengan bantuan orang lain
6. Tumor primer (T) karsinoma nasofaring adalah besar dan perluasan tumor primer sesuai kriteria AJCC tahun 2010 yang diukur oleh ahli Radiologi dengan memakai CT-Scan.
Hasil ukur: 0, 1, 2, 3, 4

- T0 : Tidak terbukti adanya tumor primer
- T1 : Tumor terbatas di nasofaring atau tumor meluas ke orofaring dan/kavum nasi tanpa perluasan ke parafaring.
- T2 : Tumor dengan perluasan ke daerah parafaring.
- T3 : Tumor melibatkan struktur tulang dasar tengkorak dan/atau sinus paranasal
- T4 : Tumor dengan perluasan intrakranial dan/atau terlibatnya syaraf kranial, hipofaring, orbita atau dengan perluasan ke fossa infratemporal/ruang mastikator.

7. Ukuran kelenjar getah bening leher (N) adalah ukuran kelenjar getah bening leher sesuai kriteria AJCC tahun 2010 yang diukur oleh ahli Radiologi dengan memakai CT-Scan.

Hasil ukur: 0,1,2,3

- N0 : Tidak ada metastase ke KGB regional
- N1 : Metastase kelenjar getah bening leher unilateral dengan diameter terbesar 6 cm atau kurang, di atas fossa supraklavikular, dan/atau unilateral atau bilateral kelenjar getah bening retrofaring dengan diameter terbesar 6 cm atau kurang.
- N2: Metastase kelenjar getah bening bilateral dengan diameter terbesar 6 cm atau kurang, di atas fossa supraklavikular.
- N3: Metastase pada kelenjar getah bening diatas 6 cm dan/atau pada fossa supraklavikular.

8. Stadium karsinoma nasofaring adalah penentuan stadium penyakit berdasarkan klasifikasi AJCC tahun 2010 yang dikelompokkan menjadi: I, II, III, IV.

3.6 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah jaringan nasofaring dalam bentuk blok parafin dengan pulasan hematoxilin eosin yang telah didiagnosis sebagai karsinoma nasofaring. Bahan ini diperiksa secara immunohistokimia sebelum dan sesudah kemoradioterapi konkuren dengan menilai immunoreaktivitas antibodi PPAR γ .

Reagen untuk pemeriksaan histopatologi: formalin 10%, blok parafin, aqua destillata, hematoxyllin-eosin.

Reagen untuk pemeriksaan imunohistokimia: xylol, alkohol absolut, alkohol 95%, alkohol 80%, alkohol 70%, H₂O₂ 0,5% dalam methanol, Phospat Buffer Saline (PBS), antibodi primer PPAR γ mouse monoclonal antibody (Santa Cruz Biotechnology), antibodi sekunder, Envision, Chromogen Diamino Benzidine (DAB). Lathium Carbonat jenuh, Tris EDTA, Hematoxylin, aqua destillata.

3.7 Instrumen Penelitian

Penelitian ini membutuhkan beberapa peralatan sebagai berikut:

- a. Catatan medis penderita dan status penelitian penderita
- b. Formulir persetujuan ikut penelitian
- c. Alat tulis menulis
- d. Alat untuk biopsi: blakesley nasal foscep lurus/bengkok, endoskopi kaku, 4 mm, 0⁰.
- e. Alat untuk pemeriksaan imunohistokimia: sistem visualisasi imunohistokimia (Envision kit), mesin pemotong jaringan (microtome), silanized slide.
- f. Mikroskop (Olympus CX21)

3.8 Prosedur Kerja Pewarnaan Imunohistokimia PPAR γ

1. Deparafinisasi slide (Xylol 1, Xylol 2, Xylol 3) @ 5 menit
2. Rehidrasi (Alkohol absolute, Alk 96%, Alk 80%, Alk 70%) @ 4 menit
3. Cuci dengan air mengalir 5 menit
4. Masukkan slide ke dalam PT Link Dako Epitope Retrieval : set up Preheat 65°C, Running time 98°C selama 15 menit. ± 1 jam
5. Pap Pen. Segera masukkan dalam Tris Buffered Saline (TBS) pH 7,4 5 menit
6. Blocking dengan peroxidase block 5-10 menit
7. Cuci dalam Tris Buffered Saline (TBS) pH 7,4 5 menit
8. Blocking dengan Normal horse Serum (NHS)3% 15 menit
9. Cuci dalam Tris Buffered Saline (TBS) pH 7,4 5 menit
10. Inkubasi dengan Antibodi PPAR γ dengan pengenceran 1:40 1 jam
11. Cuci dalam Tris Buffered Saline (TBS) pH 7,4 5 menit

	/Tween 20	
12.	Dako Real Envision Rabbit/Mouse	30 menit
13.	Cuci dalam Tris Buffered Saline (TBS) pH 7,4 /Tween 20	5-10 menit
14.	DAB+Substrat Chromogen solution dengan pengenceran 20 µL DAB : 1000 µL substrat (tahan 5 hari di suhu 2-8°C setelah di-mix)	5 menit
15.	Cuci dengan air mengalir	10 menit
16.	Counterstain dengan Hematoxylin	3 menit
17.	Cuci dengan air mengalir	5 menit
18.	Lithium carbonat (5% dlm aqua)	2 menit
19.	Cuci dengan air mengalir	5 menit
20.	Dehidrasi (Alk 80%, Alk 96%, Alk Abs)	@5 menit
21.	Clearing (Xylol 1, Xylol 2, Xylol 3)	@5 menit
22.	Mounting + cover glass	

Untuk identifikasi ekspresi PPAR γ dilakukan langkah-langkah di atas dan dilakukan pewarnaan imunohistokimia PPAR γ secara tidak langsung (Indirect) kemudian untuk skor akhir digunakan skor imunoreaktif yang dievaluasi oleh tiga orang ahli patologi. Penilaian ekspresi PPAR γ bersifat semikuantitatif yang dinyatakan dengan:

- Skor Intensitas (Intensitas pewarnaan) PPAR γ dinilai:

0 : berarti negatif
 1 : lemah
 2 : sedang
 3 : kuat.

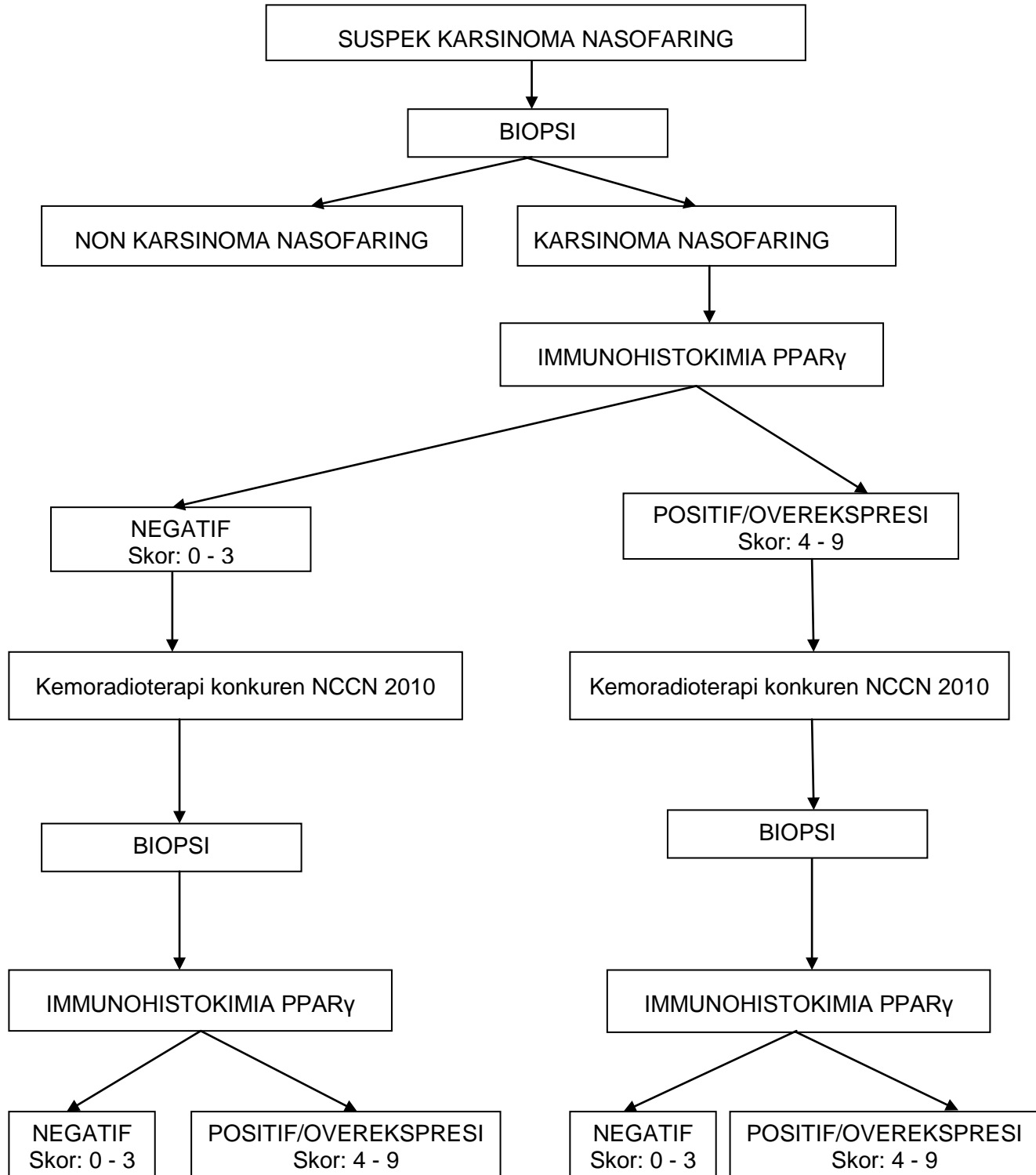
- Skor luas (Tingkat pewarnaan) PPAR γ dinilai:

0 : berarti negatif
 1 : pewarnaan positif < 10% jumlah sel
 2 : pewarnaan positif 10-50% jumlah sel
 3 : pewarnaan positif > 50% jumlah sel

Menurut presentase area pewarnaan positif dibandingkan dengan keseluruhan area karsinoma pada 1-3 lapang pandang (LP) yang dinilai.

- Skor intensitas dan skor luas dikalikan untuk memperoleh skor akhir (skor imunoreaktif). Skor imunoreaktif 4 atau lebih dinilai positif atau *overexpression* PPAR γ (Horvai, 2008)

3.9 Kerangka Kerja



Gambar 2.9 Kerangka kerja

3.10 Cara Pengumpulan Data

Data diambil dari hasil pemeriksaan di Departemen THT-KL FK USU/RSUP. H. Adam Malik Medan. Pemeriksaan histopatologi dan imunohistokimia di Departemen Patologi Anatomi FK USU yang dilakukan oleh satu orang ahli patologi.

3.11 Cara Analisis Data

Data yang telah terkumpul dideskripsikan untuk menjelaskan perbedaan proporsi ekspresi PPAR γ berdasarkan distribusi gambaran klinis, skor Karnofsky, ukuran tumor (T), ukuran kelenjar getah bening (N), stadium klinis. Keseluruhan data dipresentasikan dalam bentuk tabel.

3.12 Etika penelitian

Pelaksanaan penelitian terlebih dahulu akan diminta persetujuan dari Komisi Etik penelitian bidang kesehatan Fakultas Kedokteran USU.

BAB 4

HASIL PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian analitik dengan design quasi experimental. Sampel diambil dari populasi yang memenuhi kriteria inkludengan perhitungan minimal besar sampel yaitu 25 sampel, kemudian dilakukan uji statistik *Wilcoxon Signed Ranks test*. Diperoleh hasil sebagai berikut:

Tabel 4.1 Distribusi frekuensi dan perbedaan proporsi gambaran klinis pada karsinoma nasofaring sebelum dan sesudah pemberian kemoradioterapi konkuren.

Gambaran klinis	Sebelum kemoradioterapi		Sesudah kemoradioterapi		p
	n	%	n	%	
Benjolan leher	22	88,0	16	64,0	0,014
Epistaksis	10	40,0	0	0	0,002
Hidung sumbat	17	68,0	3	12,0	0,000
Tinnitus	21	84,0	7	28,0	0,000
Pandangan ganda	9	36,0	1	4,0	0,005
Sakit kepala	16	64,0	5	20,0	0,001

Distribusi perbedaan proporsigambaran klinis tertinggi ditemukan pada kelompok benjolan leher sebanyak 22 gejala (88,0%) sebelum kemoradioterapi konkuren dan 16 gejala (64,0%) sesudah kemoradioterapi konkuren, sedangkan gambaran klinis yang terendah pada kelompok pandangan ganda sebanyak 9 gejala (36,0%) sebelum kemoradioterapi konkuren dan gambaran klinis yang terendah pada kelompok epistaksis sesudah kemoradioterapi konkuren sebanyak 0 (0,0%) atau tidak ada gejala epistaksis, dengan uji statistik *Wilcoxon Signed Ranks Test* terdapat perbedaan bermakna pada keseluruhan gambaran klinis pada Tabel 4.1 yang menunjukkan nilai $p < 0,05$, dimana gambaran klinis tersebut berbeda sebelum dan sesudah pemberian kemoradioterapi konkuren.

Tabel 4.2 Distribusi frekuensi dan perbedaan proporsi skor karnofsky berdasarkan karsinoma nasofaring sebelum dan sesudah kemoradioterapi konkuren.

Skor karnofsky	Sebelum kemoradioterapi		Sesudah kemoradioterapi	
	n	%	n	%
≥ 80	11	44.0	17	68.0
70	14	56.0	8	32.0
Total	25	100	25	100

$p=0,014$

Berdasarkan tabel di atas diketahui skor karnofsky berdasarkan KNF tertinggi pada kelompok 70 sebanyak 14 (56,0%) sebelum kemoradioterapi konkuren dan sebanyak 17 (68,0%) pada kelompok ≥ 80 sesudah kemoradioterapi konkuren dengan uji statistik *Wilcoxon Signed Ranks Test* terdapat perbedaan bermakna pada skor karnofsky yang menunjukkan nilai $p=0,014$, dimana skor karnofsky tersebut berbeda sebelum dan sesudah pemberian kemoradioterapi konkuren.

Tabel 4.3 Distribusi frekuensi dan perbedaan proporsi kelompok ukuran tumor primer (T) KNF berdasarkan ekspresi PPAR γ sebelum dan sesudah kemoradioterapi konkuren.

Tumor Primer	Kelompok PPAR γ (sebelum)				Total		Kelompok PPAR γ (sesudah)				Total	
	Negatif		Positif				Negatif		Positif			
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
T0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	9,1	1	4,0
T1	2	28,6	4	22,2	6	24,0	8	57,1	4	36,4	12	48,0
T2	2	28,6	5	27,8	7	28,0	3	21,4	1	9,1	4	16,0
T3	0	0,0	5	27,8	5	20,0	3	21,4	4	36,4	7	28,0
T4	3	42,9	4	22,2	7	28,0	0	0,0	1	9,1	1	4,0
Total	7	100,0	18	100,0	25	100,0	14	100,0	11	100,0	25	100,0

$p=0,001$

Distribusi perbedaan proporsi kelompok ukuran tumor primer pada karsinoma nasofaring berdasarkan tampilan ekspresi PPAR γ positif yang tertinggi ditemukan pada kelompok T2 dan T3 masing-masing sebanyak 5 (27,8%) sebelum kemoradioterapi konkuren dan sesudah kemoradioterapi konkuren ditemukan pada kelompok T1 dan T3 masing-masing sebanyak 4 (36,4%). Hasil yang terendah ditemukan pada kelompok T0 sebanyak 0 pada sebelum kemoradioterapi konkuren sedangkan pada sesudah kemoradioterapi konkuren kelompok T0 sebanyak 1, kemudian tampilan ekspresi PPAR γ negatif tertinggi ditemukan pada kelompok T4 sebanyak 3 (42,9%) pada sebelum kemoradioterapi konkuren dan kelompok T1 sebanyak 8 (57,1%) pada sesudah kemoradioterapi konkuren. Hasil terendah ditemukan pada kelompok T0 dan T3 sebanyak masing-masing 0 pada sebelum kemoradioterapi konkuren dan kelompok T0 dan T4 masing-masing sebanyak 0 pada sesudah kemoradioterapi konkuren, dengan uji statistik dengan *Wilcoxon Signed Ranks Test* terdapat perbedaan bermakna pada kelompok ukuran tumor primer sebelum dan sesudah kemoradioterapi konkuren didapatkan nilai $p=0,011$, dimana jumlah kelompok ukuran tumor primer berbeda sebelum dan sesudah kemoradioterapi konkuren.

Tabel 4.4 Distribusi frekuensi dan perbedaan proporsi kelompok ukuran kelenjar getah bening (N) KNF berdasarkan ekspresi PPAR γ sebelum dan sesudah kemoradioterapi konkuren.

Kelenjar Getah Bening	Kelompok PPAR γ (sebelum)				Total		Kelompok PPAR γ (sesudah)				Total	
	Negatif		Positif				Negatif		Positif			
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
N0	1	14,3	2	11,1	3	12,0	1	7,1	5	45,5	6	24,0
N1	1	14,3	2	11,1	3	12,0	6	42,9	4	36,4	10	40,0
N2	3	42,9	5	27,8	8	32,0	6	42,9	1	9,1	7	28,0
N3	2	28,6	9	50,0	11	44,0	1	7,1	1	9,1	2	8,0
Total	7	100,0	18	100,0	25	100,0	14	100,0	11	100,0	25	100,0

$p=0,001$

Distribusi perbedaan proporsi kelompok ukuran kelenjar getah bening pada karsinoma nasofaring berdasarkan tampilan ekspresi PPAR γ positif yang tertinggi ditemukan pada kelompok N3 sebanyak 9 (50,0%) sebelum kemoradioterapi konkuren dan N0 sebanyak 5 (45,5%) sesudah kemoradioterapi konkuren. Hasil yang terendah ditemukan pada kelompok N0 dan N1 masing-masing sebanyak 2 (11,1%) pada sebelum kemoradioterapi konkuren sedangkan pada sesudah kemoradioterapi konkuren kelompok N2 dan N3 masing-masing sebanyak 1 (9,1%), kemudian tampilan ekspresi PPAR γ negatif tertinggi ditemukan pada kelompok N2 sebanyak 3 (42,9%) pada sebelum kemoradioterapi konkuren dan kelompok N1 dan N2 sebanyak masing-masing 6 (42,9%) pada sesudah kemoradioterapi konkuren. Hasil terendah ditemukan pada kelompok N0 dan N1 masing-masing sebanyak 1 (14,3%) pada sebelum kemoradioterapi konkuren dan kelompok N0 dan N3 masing-masing sebanyak 1 (7,1%) pada sesudah kemoradioterapi konkuren, dengan uji statistik dengan *Wilcoxon Signed Ranks Test* terdapat perbedaan bermakna pada kelompok ukuran kelenjar getah bening sebelum dan sesudah kemoradioterapi konkuren didapatkan nilai $p=0,001$, dimana jumlah kelompok ukuran kelenjar getah bening berbeda sebelum dan sesudah kemoradioterapi konkuren.

Tabel 4.5 Distribusi frekuensi dan perbedaan proporsi kelompok stadium klinis KNF berdasarkan ekspresi PPAR γ sebelum dan sesudah kemoradioterapi konkuren

Stadium Klinis	Kelompok PPAR γ (sebelum)				Total		Kelompok PPAR γ (sesudah)				Total	
	Negatif		Positif				Negatif		Positif			
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	9,1	1	4,0
I	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	7,1	1	9,1	2	8,0
II	1	14,3	1	5,6	2	8,0	4	28,6	4	36,4	8	32,0
III	3	42,9	5	27,8	8	32,0	8	57,1	3	27,3	11	44,0
IV	3	42,9	12	66,7	15	60,0	1	7,1	2	18,2	3	12,0
Total	7	100,0	18	100,0	25	100,0	14	100,0	11	100,0	25	100,0

$p=0,001$

Berdasarkan tabel di atas diketahui distribusi perbedaan proporsi kelompok stadium klinis pada karsinoma nasofaring berdasarkan tampilan ekspresi PPAR γ positif tertinggi pada stadium IV sebanyak 12 (66,7%) sebelum kemoradioterapi konkuren dan pada stadium II sebanyak 4 (36,4%) sesudah kemoradioterapi konkuren. Hasil yang terendah kelompok stadium 0 dan I sebanyak masing-masing 0 pada sebelum kemoradioterapi konkuren dan kelompok stadium 0 dan stadium 1 masing-masing sebanyak 1 (9,1%) pada sesudah kemoradioterapi konkuren. Sedangkan tampilan ekspresi PPAR γ negatif tertinggi ditemukan pada kelompok stadium III dan stadium IV masing-masing sebanyak 3 (42,9%) pada sebelum kemoradioterapi konkuren dan kelompok stadium III sebanyak 8 (57,1%) pada sesudah kemoradioterapi konkuren. Hasil yang terendah kelompok stadium 0 dan I sebanyak masing-masing 0 (0,0%) pada sebelum kemoradioterapi konkuren dan kelompok stadium 0 (0,0%) pada sesudah kemoradioterapi konkuren, dengan uji statistik dengan *Wilcoxon Signed Ranks Test* terdapat perbedaan bermakna pada kelompok stadium klinis sebelum dan sesudah kemoradioterapi konkuren didapatkan nilai $p=0,001$, dimana jumlah kelompok stadium klinis berbeda sebelum dan sesudah kemoradioterapi konkuren.

BAB 5

PEMBAHASAN

Telah dilakukan penelitian terhadap pemberian kemoradioterapi konkuren ekspresi PPAR γ pada penderita karsinoma nasofaring di RSUP H. Adam Malik Medan yaitu sebanyak 25 sampel dan akan dijabarkan seperti dibawah ini.

5.1 Distribusi frekuensi dan perbedaan proporsi gambaran klinis pada karsinoma nasofaring sebelum dan sesudah pemberian kemoradioterapi konkuren.

Pada penelitian ini ditemukan distribusi perbedaan proporsi gambaran klinis tertinggi ditemukan pada kelompok benjolan leher sebanyak 22 gejala (88,0%) sebelum kemoradioterapi konkuren dan 16 gejala (64,0%) sesudah kemoradioterapi konkuren. Hal ini sama dengan penelitian yang dilakukan oleh Wei dan Kwong (2010) mengemukakan bahwa keluhan utama terbanyak pada karsinoma nasofaring adalah benjolan di leher 75,8%, kemudian diikuti dengan keluhan hidung tersumbat 73,4% dan terapi yang paling banyak digunakan adalah kemoterapi 56% sampai 62%. Beberapa penelitian menyatakan bahwa pemberian kemoradioterapi konkuren memberikan hasil yang lebih baik daripada pemberian radioterapi tunggal pada karsinoma nasofaring stadium II, stadium lanjut lokal (locally advance) dan stadium lanjut (Chen, et al., 2011; Lin, et al., 2003).

Pemberian kemoradioterapi konkuren pada karsinoma nasofaring diharapkan bisa terjadi perbaikan gejala klinis seperti yang dijumpai pada penelitian ini dimana perbaikan gejala klinis sebelum dan setelah kemoraditerapi konkuren yang paling banyak ditemukan pada gejala hidung tersumbat, tinnitus dan epistaksis.

Hal ini didukung oleh penelitian Cummings, Fredrickson & Harker (2005) mengatakan tanda yang paling sering ditemukan adalah benjolan pada leher (80%), umumnya bersifat bilateral, di mana kelenjar limfe yang terlibat paling sering adalah nodus limfe jugulodigastrik, atas dan tengah

pada rantai servikal anterior. Mulyarjo,(2002) menambahkan melalui aliran getah bening, sel-sel kanker dapat sampai ke kelenjar getah bening leher dan tertahan disana, karena memang kelenjar ini merupakan pertahanan pertama agar sel-sel kanker tidak langsung ke bagian tubuh yang lebih jauh. Pembesaran tampak sebagai benjolan pada leher samping (limfadenopati servikal). Selanjutnya sel-sel kanker dapat berkembang terus, menembus kelenjar dan mengenai otot dibawahnya. Kelenjar menjadi lekat pada otot dan sulit digerakkan (*fixed*). *Limfadenopati servikal* merupakan gejala utama yang membawa penderita datang ke dokter. Hal yang sama dalam pernyataan Roezin & Adham (2009) keluhan benjolan di leher yang mendorong pasien untuk berobat, karena sebelumnya tidak terdapat keluhan lain.

Sebuah penelitian dari 4768 pasien mengidentifikasi gejala yang dikeluhkan pada saat pertama datang adalah benjolan di leher(75,8%), gangguan hidung (73,4%), gangguan telinga(62,4%), sakit kepala (34,8%), penglihatan ganda(10,7%), rasa kebas diwajah (7,6%), penurunan berat badan (6,9%), dan trismus (3,0%). Saraf kranial yang paling sering terlibat adalah kelima, keenam, ketiga dan kedua belas. (Wei & Kwong 2010).

5.2 Distribusi frekuensi dan perbedaan proporsi skor karnofsky berdasarkan karsinoma nasofaring sebelum dan sesudah kemoradioterapi konkuren.

Nilai skor Karnofsky pada penelitian ini dengan uji statistik *Wilcoxon Signed Ranks Test* terdapat perbedaan bermakna pada skor karnofsky yang menunjukkan nilai $p=0,014$, dimana skor karnofsky tersebut berbeda sebelum dan sesudah pemberian kemoradioterapi konkuren. Hal ini sama ditemukan pada penelitian Kurniawati et al., (2013) dengan karakteristik dari 48 sampel yang diteliti, hasil analisis hubungan skor Karnofsky menurut stadium, pada penelitian tersebut didapatkan hubungan yang bermakna dengan nilai $p = 0,041$ ($p < 0,05$). Berdasarkan penelitian tersebut mengatakan pada penderita KNF semakin tinggi skor Karnofsky maka kualitas hidupnya semakin baik. Sedangkan pada

penelitian lain oleh Baehaqi, (2012) dengan desain penelitian observasional bahwa pasien yang terbanyak dijumpai pada kelompok skor karnofsky 70. Harnoko et al. (2007) menambahkan tampilan klinis penderita kanker paru dalam skor karnofsky terbanyak adalah 70-80. Melalui uji *chi square* tidak ada perbedaan bermakna pada kedua kelompok tersebut ($p=0,302$). Pasien dengan skor karnofsky sebelum kemoradioterapi melakukan aktifitas yang terbatassetelah menjalani kemoradioterapi meningkat menjadi skor 80. Walaupun ketahanan hidup yang lama merupakan tujuan utama kemoterapi, namun kualitas hidup juga merupakan pertimbangan yang penting dalam terapi (Kayl & Meyers 2006). Dilaporkan juga bahwa semakin bertambahnya stadium pada pasien dengan kanker kepala dan leher maka skor Karnofsky semakin menurun. Secara teoritis bahwa semakin meningkatnya stadium penyakit akan menimbulkan gejala yang lebih berat pada KNF tergantung dari perluasan tumornya. Sesuai dengan penelitian ini skor karnofsky pada penderita KNF cenderung membaik. (Kayl & Meyers 2006)

5.3 Distribusi frekuensi dan proporsi kelompok ukuran tumor primer (T) KNF berdasarkan ekspresi PPAR γ sebelum dan sesudah kemoradioterapi konkuren.

PPAR γ ini ditemukan dapat terekspresi dalam beberapa jenis tumor, sehingga menimbulkan dugaan bahwa PPAR γ memiliki peranan didalam diferensiasi garis sel kanker dan dalam regulasi siklus sel (Qing, et al., 2009; Philip, 2003). Pada karsinoma sel skuamous kepala dan leher terlihat adanya overekspresi pada PPAR γ . (Shirley, 2009)

Kelompok ukuran tumor primer karsinoma nasofaring pada penelitian ini yang berdasarkan tampilan ekspresi PPAR γ positif yang tertinggi ditemukan pada kelompok T2 dan T3 (27,8%) sebelum kemoradioterapi konkuren dan sesudah kemoradioterapi konkuren ditemukan pada kelompok T1 dan T3 (36,4%). Secara klinis terdapat perbaikan klinis yang bermakna antara kelompok ukuran tumor primer (T) sebelum kemoradioterapi konkuren dan sesudah kemoradioterapi konkuren dengan ekspresi PPAR γ , pada uji statistik dengan *Wilcoxon Signed Ranks*

Test dijumpai perbedaan yang bermakna antara kelompok ukuran tumor primer (T) sebelum kemoradioterapi konkuren dan sesudah kemoradioterapi konkuren dengan ekspresi PPAR γ . Pada penelitian ini mungkin PPAR γ berperan sebagai tumor suppression, dimana kemoterapi sebagai ligan akan mengaktifkan fungsi PPAR γ sebagai transkripsi gen yaitu dimana aktivitasnya akan mengurangi proliferasi sel dan induksi differensiasi, induksi apoptosis dan menghambat pertumbuhan sel sehingga terjadi penurunan ekspresi PPAR γ pada karsinoma nasofaring.

Namun berbeda dengan penelitian *in vivo* yang dilakukan oleh McCormick, et al., (2015), ekspresi PPAR γ pada karsinoma oral sel skuamosa (OSCC) pada kelompok tikus terdapat nilai $p < 0,05$ dimana tidak dijumpai perbedaan yang bermakna tetapi dengan pemberian agonis PPAR γ *rosiglitazone* dan *pioglitazone* sebagai kemopreventif dapat mengurangi kejadian karsinoma oral dan dapat mengurangi invasi kanker, karena dapat menghambat proliferasi sel, induksi apoptosis, induksi diferensiasi, menghambat angiogenesis dan peradangan. Data tersebut menunjukkan bahwa penggunaan PPAR γ tipe *wild* bermanfaat untuk memberikan target molekul yang berguna sebagai kemopreventif pada karsinoma mulut. Pemberian *cisplatin* pada karsinoma paru-paru dalam kelompok tikus dapat memberikan efek sinergis yaitu terjadi pengurangan angiogenesis dan meningkatkan efek proapoptotik dengan mengurangi massa karsinoma paru-paru sekitar 90% dalam kelompok tikus. (Frohlich & Wahl, 2015)

Kristiansen, et al., (2006), pada penelitian terhadap karsinoma pankreas menemukan tampilan overekspresi PPAR γ positif pada karsinoma pankreas yaitu 75% dimana ekspresi yang ditemukan diduga adalah PPAR γ tipe mutagen. Namun pada penelitian ini tidak dilakukan intervensi pemberian kemoradioterapi konkuren sehingga tidak dijumpai hasil pemeriksaan ekspresi PPAR γ .

5.4 Distribusi frekuensi dan perbedaan proporsi kelompok ukuran kelenjar getah bening (N) KNF berdasarkan ekspresi PPAR γ sebelum dan sesudah kemoradioterapi konkuren.

Kelenjar getah bening karsinoma nasofaring pada penelitian berdasarkan ekspresi PPAR γ dilakukan uji statistik dengan *Wilcoxon Signed Ranks Test* untuk menguji hubungan antara sebelum dan sesudah kemoradioterapi konkuren didapatkan nilai $p=0,001$ sehingga dapat disimpulkan bahwa ditemukan hubungan yang signifikan antara kelenjar getah bening karsinoma nasofaring berdasarkan ekspresi PPAR γ sebelum dan sesudah kemoradioterapi konkuren PPAR γ .

Penelitian ini menemukan overekspresi PPAR γ positif paling banyak dijumpai pada kelompok ukuran kelenjar getah bening pada karsinoma nasofaring berdasarkan tampilan ekspresi PPAR γ positif yang tertinggi ditemukan pada kelompok N3 (50,0%) sebelum kemoradioterapi konkuren dan sesudah kemoradioterapi konkuren ditemukan pada kelompok N0 sebanyak (45,5%). Dapat disimpulkan bahwa tampilan ekspresi PPAR γ positif meningkat sebelum pemberian kemoradioterapi konkuren dan tampilan ekspresi PPAR γ positif menurun sesudah pemberian kemoradioterapi konkuren. Diduga yang berperan dalam karsinoma nasofaring ini adalah PPAR γ tipe mutan. Dengan adanya mutasi pada PPAR γ akan mengakibatkan hilangnya ikatan ligan sehingga terjadi proliferasi sel yang berlebihan dan terhentinya apoptosis sel yang memicu pertumbuhan karsinoma. (Shirley, 2009; Schweitzer, et al., 2009)

Secara klinis terdapat perbaikan klinis yang bermakna antara kelompok ukuran kelenjar getah bening sebelum kemoradioterapi konkuren dan sesudah kemoradioterapi konkuren dengan ekspresi PPAR γ . Kemoterapi pada karsinoma nasofaring dapat membantu menurunkan tingkat metastase kelenjar getah bening. Peranan PPAR γ pada karsinoma dapat menekan pertumbuhan sel kanker pada manusia. Terbukti dengan pemberian kemoradioterapi konkuren dapat menurunkan ukuran kelenjar getah bening karsinoma nasofaring dikarenakan aktivitas transkripsi gen PPAR γ mungkin dapat menyebabkan berkurangnya proliferasi, migrasi,

inflamasi dan meningkatkan diferensiasi dan apoptosis sel. (Frohlich & Wahl, 2015).

Hasil yang sama juga ditemukan oleh Suzuki, et al., (2006) pada penelitian terhadap karsinoma payudara dimana dijumpai hubungan yang signifikan antara ukuran kelenjar getah bening karsinoma payudara berdasarkan ekspresi PPAR γ sebanyak 238 jaringan ($P=0.0001$). PPAR γ pada karsinoma payudara berhubungan dengan estrogen receptor alpha (ER) alphan dan berkorelasi terhadap ukuran kelenjar getah bening, dijumpai ekspresi PPAR γ meningkat. Ligan PPAR γ memiliki aktivitas sebagai antiproliferasi melawan berbagai macam sel keganasan. PPAR γ agonis menghambat proliferasi karsinoma payudara dan menggunakan ligan PPAR γ sebagai sebuah novel terhadap terapi untuk pasien karsinoma payudara stadium lanjut. Ligan PPAR γ , 15-deoxy-Delta(12,14), prostaglandin J(2) (15d-PGJ(2)), akan menghambat *estrogen responsive element dependent transactivation* oleh estradiol dalam sel MCF-7, sebagai tambahan juga dapat diblok oleh PPAR γ antagonist GW9662. Heterodimer dapat mengikat ERE dan mungkin memodulasi jalur ER-sinyal, tapi ini belum diteliti di karsinoma payudara.

5.5 Distribusi frekuensi dan perbedaan proporsi kelompok stadium klinis KNF berdasarkan ekspresi PPAR γ sebelum dan sesudah kemoradioterapi konkuren

Distribusi frekuensi stadium klinis pada karsinoma nasofaring berdasarkan tampilan ekspresi PPAR γ positif tertinggi pada stadium 4 (66,7%) sebelum kemoradioterapi konkuren dan pada stadium 2 (36,4%) sesudah kemoradioterapi konkuren. Diduga PPAR γ tipe mutan yang berperan dalam penelitian karsinoma nasofaring ini.

Pada penelitian karsinoma nasofaring dijumpai peningkatan tampilan ekspresi PPAR γ positif semakin meningkat sejalan dengan peningkatan stadium klinis sebelum pemberian kemoradioterapi konkuren dan sesudah pemberian kemoradioterapi konkuren tampilan ekspresi PPAR γ positif menurun pada stadium klinis karsinoma nasofaring. Penelitian ini

melakukan uji dengan uji statistik dengan *Wilcoxon Signed Ranks Test* untuk menguji hubungan antara stadium klinis karsinoma nasofaring berdasarkan ekspresi PPAR γ sebelum dan sesudah kemoradioterapi konkurendengan nilai $p=0,001$, ditemukan hubungan yang signifikan antara stadium klinis karsinoma nasofaring berdasarkan ekspresi PPAR γ sebelum dan sesudah kemoradioterapi konkuren PPAR γ .

Secara klinis terdapat perbaikan klinis yang bermakna antara kelompok stadium klinis sebelum kemoradioterapi konkuren dan sesudah kemoradioterapi konkurendengan menurunnya ekspresi PPAR γ . Jalur kemoterapi sebagai ligan terhadap PPAR γ dapat menurunkan ekspresi PPAR γ sebagai tumor progression yang mengakibatkan induksi apoptosis meningkat sehingga terjadi kematian sel tumor (Tachibana et al., 2008). Tachibana et al., (2008) mengemukakan bahwa PPAR γ dapat berperan sebagai tumor suppression dan tumor progression. PPAR γ berperan sebagai tumor suppression dimana keseluruhan ligan PPAR γ dinyatakan sebagai antikanker yang berfungsi sebagai dasar terapi dalam beberapa tumor atau sebagai kemopreventif. PPAR γ yang berperan sebagai tumor progression terlibat dalam proliferasi sel dan ekspresi PPAR γ berubah dari jaringan normal ke jaringan abnormal. Pada penelitian ini ekspresi PPAR γ banyak menurun setelah pemberian kemoradioterapi. Namun dasar molekuler untuk kerja antitumor dari PPAR- γ agonis masih belum dijelaskan secara lengkap tetapi sejumlah penelitian mendukung bahwa aktivasi PPAR- γ dapat menginduksi apoptosis dan dengan demikian menyebabkan efek antikanker. (Belfiore., Genua., Malaguarnera., 2009) Hal yang sama dilakukan oleh penelitian Kristiansen, et al., (2006), dimana pada karsinoma pankreas terdapat 71,3% ekspresi PPAR γ dari kasus karsinoma pankreas yang diteliti ekspresi PPAR γ positif berhubungan dengan stadium klinis yang tinggi, dengan pemberian kemoterapi dapat mengurangi tingkat stadium klinis. Selain apoptosis, aktivasi PPAR- γ dapat mengurangi perkembangan tumor dengan menghentikan proliferasi sel kanker dengan melibatkan terhentinya siklus sel. (Belfiore., Genua., Malaguarnera., 2009)

BAB 6

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil analisis data dan pembahasan maka dapat diambil kesimpulan bahwa

1. Distribusi frekuensi dan perbedaan proporsi gambaran klinis tertinggi ditemukan pada kelompok benjolan leher sebanyak 22 gejala (88,0%) (sebelum kemoradioterapi konkuren) dan 16 gejala (64,0%) (sesudah kemoradioterapi konkuren) dan dengan uji statistik dengan *Wilcoxon signed Ranks Test* dijumpai perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$).
2. Distribusi frekuensi dan perbedaan proporsi Skor karnofsky berdasarkan karsinoma nasofaring tertinggi pada kelompok 70 sebanyak 14 (56,0%) (sebelum kemoradioterapi konkuren) dan sebanyak 17 (68,0%) pada kelompok ≥ 80 (sesudah kemoradioterapi konkuren) dan dengan uji statistik dengan *Wilcoxon signed Ranks Test* dijumpai perbedaan yang bermakna ($p = 0,014$).
3. Distribusi frekuensi dan perbedaan proporsi kelompok ukuran tumor primer pada karsinoma nasofaring berdasarkan tampilan ekspresi PPAR γ positif tertinggi ditemukan pada kelompok T2 dan T3 sebanyak 5 (27,8%) (sebelum kemoradioterapi konkuren) dan T1 dan T3 sebanyak 4 (36,4%) (sesudah kemoradioterapi konkuren). Secara klinis terdapat perbaikan klinis bermakna antara kelompok ukuran tumor primer (T) sebelum kemoradioterapi konkuren dan sesudah kemoradioterapi konkuren dengan ekspresi PPAR γ dan dengan uji statistik dengan *Wilcoxon signed Ranks Test* dijumpai perbedaan yang bermakna ($p = 0,011$).
4. Distribusi frekuensi dan perbedaan proporsi kelompok kelenjar getah bening pada karsinoma nasofaring berdasarkan tampilan ekspresi PPAR γ positif tertinggi ditemukan pada kelompok N3 sebanyak 9 (50,0%) (sebelum kemoradioterapi konkuren) dan N0 sebanyak 5 (45,5%) (sesudah kemoradioterapi konkuren). Secara klinis terdapat perbaikan klinis bermakna antara kelompok kelenjar getah bening (N)

sebelum kemoradioterapi konkuren dan sesudah kemoradioterapi konkuren dengan ekspresi PPAR γ dengan uji statistik dengan *Wilcoxon signed Ranks Test* dijumpai perbedaan yang bermakna ($p = 0,001$).

5. Distribusi frekuensi dan perbedaan proporsi kelompok stadium klinis pada karsinoma nasofaring berdasarkan tampilan ekspresi PPAR γ positif tertinggi pada stadium IV sebanyak 12 (66,7%) (sebelum kemoradioterapi konkuren) dan pada stadium II sebanyak 4 (36,4%) (sesudah kemoradioterapi konkuren). Secara klinis terdapat perbaikan klinis bermakna antara kelompok stadium klinis sebelum kemoradioterapi konkuren dan sesudah kemoradioterapi konkuren dengan ekspresi PPAR γ dan dengan uji statistik dengan *Wilcoxon signed Ranks Test* dijumpai perbedaan yang bermakna ($p = 0,001$).

6.2 Saran

Diperlukan penelitian lanjutan untuk melakukan penelitian besar pada kontribusi PPAR γ dan kemoradioterapi konkuren terhadap perubahan ukuran tumor, ukuran kelenjar getah bening dan stadium klinis dan untuk membuktikan peran PPAR γ dalam menekan progresivitas yang menilai komplikasi dan kualitas hidup.