

**PROFIL IgA(VCA-p18+EBNA1) DAN VIRAL LOAD DNA EBV
SEBAGAI FAKTOR RESIKO KELUARGA PENDERITA
KARSINOMA NASOFARING DENGAN EBV POSITIF**

Disertasi

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar Doktor

Program Studi

Ilmu Kedokteran

Disusun dan diajukan oleh

NOVA AUDREY LUETTA PIETER

Kepada

PROGRAM PASCA SARJANA

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2013



DISERTASI**PROFIL IgA(VCA-p18+EBNA1) DAN VIRAL LOAD DNA EBV
SEBAGAI FAKTOR RESIKO KELUARGA PENDERITA
KARSINOMA NASOFARING DENGAN EBV POSITIF**

Disusun dan diajukan oleh

NOVA AUDREY LUETTA PIETER

Nomor Pokok P0200307041

telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Disertasi

pada tanggal 20 Agustus 2013

dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui

Komisi Penasihat,

Prof.dr.Irawan Yusuf,PhD
Promotor

Dr.dr.Eka Savitri,SpTHT-KL(K)
Kopromotor

Ketua Program Studi
Ilmu Kedokteran

Direktur Program Pascasarjana
Universitas Hasanuddin



dr.Suryani As'ad,M.sc,SpGK

Prof.Dr.Ir.Mursalim

PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI

Yang bertanda tangan di bawah ini

Nama : Nova Audrey Luetta Pieter

Nomor mahasiswa : P0200307041

Program Studi : Ilmu Kedokteran

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

Makassar, Agustus 2013

Yang menyatakan

Nova Audrey Luetta Pieter



PRAKATA

Shaloom, Halleluya !

Puji syukur saya panjatkan kepada Tuhan Yesus Kristus yang telah melimpahkan segala berkat dan kasih karuniaNya sehingga saya dapat merampungkan disertasi ini.

Pertama-tama saya menyampaikan rasa hormat dan terima kasih sebagai wujud penghargaan yang tulus kepada ayahanda John Pieter (alm), panutan dan tempat saya belajar tentang disiplin dan kerja keras, senantiasa mendorong saya untuk mengembangkan diri dalam pendidikan maupun karier. Ibunda Lies Pieter Sahetapy atas limpahan kasih sayang, perhatian dan cinta yang begitu besar, tak terkikis oleh jarak dan waktu. Beliau berdua adalah teladan yang baik bagi saya, dan inilah yang bisa saya persembahkan kepada alm pipos dan mimos.

Selanjutnya perkenankan saya dengan tulus dan penuh hormat menyampaikan terima kasih dan penghargaan yang tak terhingga kepada :

Prof.dr.Irawan Yusuf Ph.D, selaku promotor dan guru yang awalnya memperkenalkan biomolekuler sampai menumbuhkan minat saya sejak pendidikan spesialis, membimbing dan memberi contoh nilai-nilai yang baik dalam keilmuan.

Dr.dr.Eka Savitri,Sp.THT-KL (K), selaku ko-promotor juga sebagai teman sejawat dan guru saya di Bagian THT Fakultas Kedokteran Makassar yang turut memberikan bimbingan, mendorong dan memberikan semangat dalam merampungkan disertasi saya.

Prof.dr.Sofia Mubarika,MSc selaku penguji eksternal dari Bagian Histologi Fakultas Kedokteran UGM Jogjakarta yang selalu memberikan semangat dan telah meluangkan waktu, pikiran dan arahan dalam merampungkan disertasi ini.



Prof.dr.R.Sedjawidada, Sp.THT-KL (K) selaku guru dan senior di Bagian THT Fakultas Kedokteran Unhas Makassar yang juga memberikan bimbingan dan dengan ketelitiannya memberikan yang terbaik untuk disertasi ini.

Dr.dr.Abdul Qadar Punagi,Sp.THT-KL (K) selaku teman sejawat dan guru saya di Bagian THT Fakultas Kedokteran Unhas Makassar yang turut memberikan masukan dan saran yang bermanfaat untuk kesempurnaan disertasi ini.

dr.Upik A. Miskad,Ph.D, selaku penguji dari Bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Unhas Makassar yang telah memberikan kritikan dan saran yang bermanfaat untuk kesempurnaan disertasi ini.

Dr.dr.Burhanuddin Bahar, MS selaku penguji sekaligus membantu dan membimbing dalam pengolahan dan penyajian data hasil penelitian saya.

Penghormatan yang tulus juga saya sampaikan kepada Ketua Bagian THT Fakultas Kedokteran Unhas Makassar Prof.Dr.dr.Sutji Pratiwi Rahardjo,Sp.THT-KL (K) yang memberi rekomendasi saat saya memasuki pendidikan S3 juga selalu mendorong untuk kelancaran penyelesaian pendidikan saya. Tidak lupa juga saya ucapkan banyak terima kasih kepada teman-teman sejawat di Bagian THT-KL Fakultas Kedokteran Unhas yang telah memberikan support selama saya mengikuti pendidikan, staf administrasi Hayati Pide dan Bapak Mustari, beserta semua residen terutama dr.Imelda G. Agus, dr. A.Tenri Uleng dan paramedis Fransiska,SST yang telah membantu dalam pengumpulan sampel-sampel penelitian. Juga kepada staf perawat poliklinik THT-KL dan staf Lontara III RS Dr.Wahidin

tersebut atas suasana kerja yang nyaman serta toleransi yang diberikan selama ini sehingga dapat meringankan beban dalam masa penelitian yang penuh kesibukan.



Ucapan terima kasih juga kepada Direktur RS Wahidin Sudirohusodo atas segala bantuan dan fasilitas yang diberikan khususnya dalam pengumpulan sampel-sampel penelitian.

Terima kasih juga tak lupa saya sampaikan kepada Rektor Universitas Hasanuddin Prof.Dr.dr. Idrus Paturusi,SpOT, Direktur Program Pasca Sarjana Universitas Hasanuddin serta Koordinator Pendidikan S3 Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Prof.Dr.dr. Suryani As'ad,MSc yang telah menerima saya sebagai peserta didik pada Program Studi S3 Ilmu Kedokteran.

Direktur Pusat Kegiatan Penelitian Universitas Hasanuddin dan staf Beti Sapada yang telah membantu dalam pengolahan sampel-sampel penelitian, saya ucapkan banyak terima kasih. Juga kepada Ibu Dewi Paramita,S.Si,M.Si,PhD sebagai pembimbing penelitian di Laboratorium Biomolekuler Fakultas Kedokteran UGM beserta staf mbak Nanik Ermawanti dan mbak Aning yang telah membantu dalam pengelolaan dan pemeriksaan sampel-sampel penelitian saya, tak lupa saya sampaikan ucapan terima kasih yang tulus atas kerjasama yang terjalin baik selama ini.

Pimpinan dan para staf Laboratorium Prodia Makassar atas segala bantuan dan fasilitas yang diberikan kepada saya selama penelitian ini saya sampaikan terima kasih.

Terima kasih yang tidak terhingga juga saya sampaikan kepada Ibu Nur dan Bapak Dahyar sebagai staf administrasi S3 Kedokteran yang tiada lelah membantu dan memberikan semangat dalam penyelesaian pendidikan saya.

Dr.dr.Masyita Gaffar,Sp.THT-KL selaku teman dan sahabat yang punya waktu ditengah kesibukan pendidikan lanjutnya dalam berikan inspirasi serta memberi keyakinan tentang layaknya hasil n ini dipublikasikan di jurnal internasional.



Gembala sidang GBI Celebes Community dan para staf serta pendoa syafaat yang selalu tidak putus-putusnya dengan dukungan doa sehingga saya akhirnya dapat merampungkan disertasi ini

Ibu mertua Ruth Pirrik Duma, terima kasih selalu untuk dukungan dan cintanya. Kepada saudara-saudara saya: Lana, Carry, Juliet dan Nyong Junior , berkat doa, dorongan dan kasih sayang kalian sehingga saya akhirnya dapat menyelesaikan pendidikan ini.

Akhirnya kepada suami saya tercinta Samuel Trindianus Duma, terima kasih atas toleransi yang sangat besar, kesabaran dalam memberi ruang dan waktu untuk penyelesaian pendidikan ini bahkan turut membantu dalam proses penyusunan disertasi, ini amat berharga buat saya.

Keluarga dan teman-teman yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu terima kasih saya atas segalanya, semoga disertasi ini dapat membawa manfaat bagi kita semua.

Makassar, 15 Agustus 2013

Nova Audrey Luetta Pieter



ABSTRAK

NOVA AUDREY LUETTA PIETER. *Profil IgA(VCA-P18+EBNA1) dan Viral Load DNA EBV sebagai Faktor Resiko Keluarga Penderita Karsinoma Nasofaring dengan EBV positif* (dibimbing oleh Irawan Yusuf dan Eka Savitri).

Kanker nasofaring (KNF) merupakan salah satu keganasan yang sangat berkaitan dengan infeksi virus yaitu Epstein-Barr (EBV) dimana diperkirakan 90 % populasi dunia terinfeksi oleh virus ini, sangat onkogenik dan sangat mudah menular melalui saliva. Penelitian ini bertujuan untuk melihat gambaran/profil kadar IgA (VCA-p18+EBNA1) dan viral load (VL) pada anggota keluarga penderita KNF dengan EBV positif. Desain penelitian adalah cross sectional bersifat analitik observasional dengan jumlah sampel 50 anggota keluarga KNF yang datang di RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo secara consecutive sampling. Analisis univariat, bivariat dan uji t digunakan untuk mengukur dan melihat hubungan kadar Ig A (VCA-p18+EBNA1) dan VL. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perempuan terbanyak (28 %) dengan umur rerata keluarga penderita KNF $31,12 \pm 11,91$. Sedangkan hubungan keluarga penderita KNF didapat anak kandung terbanyak (68 %) dengan suku Bugis terbanyak (58 %). Dari distribusi risiko KNF dikelompokkan 3 kategori yaitu: high risk KNF, intermediate risk KNF dan low risk KNF dimana intermediate risk KNF yang terbanyak (50 %). Hasil kadar IgA (VCA-p18+EBNA1) sangat bermakna ($p=0.000$) dibandingkan kadar VL ($p=0.337$). Ada 16 % kelompok high risk KNF yang masih dalam distribusi normal namun perlu waspada. Analisa korelasi Pearson secara statistik menunjukkan ada hubungan walaupun tidak bermakna. Disimpulkan bahwa kadar IgA (VCA-p18+EBNA1) dan VL dapat menjadi metode skrining dan deteksi dini bagi anggota keluarga penderita KNF.

Kata kunci : anggota keluarga KNF, IgA (VCA-p18+EBNA1), viral load



ABSTRACT

NOVA AUDREY LUETTA PIETER. *Profile IgA (VCA-p18+EBNA1) and Viral Load DNA EBV as A Risk Factor Relatives Of Nasopharynx Cancer Patient With EBV positive* (supervised by Irawan Yusuf and Eka Savitri).

Nasopharynx cancer (NPC) is one of the malignancies closely related to viral infection i.e Epstein-Barr (EBV) and it is estimated that 90 % of the world population are infection with this virus. The virus is highly oncogenic and very easily transmitted by saliva. This study is to show the IgA (VCA-p18+EBNA1) level profile and viral load (VL) in relatives of NPC patients with an EBV positive. The method used is cross sectional and analytical by observation with a consecutive sampling of 50 relatives of NPC patients treated at the Dr. Wahidin Sudirohusodo General Hospital. Univariate and bivariate analysis and t test are used to measure and to show the correlation of Ig A (VCA-p18+EBNA1) level and VL. Results show 28 % of the NPC patients are female with an average age of $31,12 \pm 11,91$. Sixty eight percent of the relatives are siblings and 58 % are of the Buginese tribe. According to risk distribution of NPC, the sampling are grouped in 3 categories i.e high risk, intermediate risk and low risk to NPC with the intermediate risk 50 %. The IgA (VCA-p18+EBNA1) level is significant ($p=0.000$) compared with the VL level ($p=0.337$). Sixteen percent of the high risk group have a normal pattern but it still needs high awareness. Statistically the Pearson correlation analysis shows a relationship but not significant. We conclude that IgA (VCA-p18+EBNA1) and VL level could be used as a screening method and early detection in relatives of NPC patients.

Keywords : NPC relatives, IgA (VCA-p18+EBNA1), viral load



DAFTAR ISI

	halaman
PRAKATA	iv
ABSTRAK	viii
ABSTRACT	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GRAFIK	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR SINGKATAN	xvi
I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Rumusan Masalah	5
C. Tujuan Penelitian	6
D. Manfaat Penelitian	6
II. TINJAUAN PUSTAKA	7
A. Kanker Nasofaring	7
1. Definisi dan Epidemiologi	7
2. Anatomi Rongga Nasofaring	8
3. Etiologi dan Gambaran Klinis	10



4. Klasifikasi dan Stadium	13
B. Keterkaitan Antara Epstein-Barr virus dan KNF	16
C. Pemeriksaan Serologis EBV	21
D. Kerangka Teori	23
III. KERANGKA KONSEP	24
IV. METODE PENELITIAN	25
A. Desain Penelitian	25
B. Lokasi dan Waktu Penelitian	25
C. Populasi Penelitian	25
D. Sampel dan Cara Pemilihan Sampel	26
E. Kriteria Inklusi dan Eksklusi	26
F. Ijin Subyek Penelitian	27
G. Besar Sampel	27
H. Bahan dan Cara Penelitian	27
I. Identifikasi Variabel	32
J. Definisi Operasional	32
K. Alur penelitian	34
L. Metode Analisis	35
V. HASIL PENELITIAN	36
Karakteristik Umum Sampel	36
Hasil Pemeriksaan IgA (VCA-p18+EBNA1)	39
Hasil Pemeriksaan Viral Load	40



4. Hasil pemeriksaan IgA (VCA-p18+EBNA1) dan Viral Load	42
VI. PEMBAHASAN	47
Kadar IgA (VCA-p18+EBNA1) dan kadar Viral Load pada keluarga penderita KNF di Makassar	52
VII. PENUTUP	55
A. Kesimpulan	55
B. Saran	55
DAFTAR PUSTAKA	57
LAMPIRAN	



DAFTAR TABEL

nomor		halaman
1.	Karakteristik sampel penelitian	37
2.	Pengelompokan keluarga penderita KNF berdasarkan gambaran histopatologi penderita KNF	37
3.	Gambaran histopatologi penderita KNF	38
4.	Distribusi penderita berdasarkan stadium KNF	38
5.	Kadar IgA(VCA-p18+EBNA1) pada keluarga penderita KNF	39
6.	Hubungan umur, jenis kelamin, dan status keluarga penderita KNF dengan IgA(VCA-p18+EBNA1)	40
7.	Jumlah EBV DNA dan kadar IgA(VCA-p18+EBNA1) pada keluarga penderita KNF	41
8.	Distribusi kategori KNF berdasarkan IgA (VCA-p18+EBNA1) dan VL	42
9.	Distribusi resiko KNF berdasarkan IgA (VCA-p18+EBNA1) dan VL	43
10.	Distribusi resiko KNF menurut jenis kelamin	44
11.	Distribusi resiko KNF menurut umur	44
12.	Distribusi resiko KNF berdasarkan hubungan keluarga	45
13.	Kadar IgA (VCA-p18+EBNA1) dan Viral Load pada keluarga penderita KNF dibandingkan dengan CoV orang normal	45
	hasil analisis korelasi Pearson antara IgA (VCA-p18+EBNA1) dan EBV Viral Load pada keluarga penderita KNF	46



DAFTAR GRAFIK

nomor	halaman
1. Kadar IgA(VCA-p18+EBNA1) pada keluarga penderita KNF	39
2. Jumlah EBV DNA per ml darah	42



DAFTAR GAMBAR

nomor		halaman
1.	Anatomi Nasofaring dan struktur sekitarnya	9
2.	Struktur EBV	17
3.	Siklus hidup Epstein-Barr Virus dan berbagai kanker yang berhubungan dengan EBV	19
4.	Infeksi epitel nasofaring oleh EBV melalui limfosit B, cell to cell transmission dan integrin	20
5.	Virus masuk ke dalam sel-sel epitel setelah berikatan dengan protein-protein yang berbeda sebagai ligandnya	21



DAFTAR ARTI LAMBANG DAN SINGKATAN

Lambang/singkatan	Arti dan keterangan
cm	centimeter
CoV	Cut of Value
CTL	Cytotoxic T Lymphocytic
CT-scan	Computed Tomography –scan
DNA	Deoxyribonucleic acid, asam deoksiribonukleat
et al	et alii, dan kawan-kawan
FNAB	Fine Needle Aspiration Biopsy
gp	glikoprotein
H ₂ O	HidrogenOksida
Ig	Imunoglobulin
ml	mililiter
M	Metastatic
MgCl ₂	MagnesiumClorida
MRI	Magnetic Resonance Imaging
N	Numb
nm	nanometer

optical density

Polimerase Chain Reaction



RNA	Ribonucleic acid, asan ribonukleat
T	Tumour
µg	microgram
ul	microliter
USG	Ultra Sono Graphy
VL	Viral Load
WHO	World Health Organization



BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Kanker Nasofaring (KNF) merupakan keganasan epitelial yang merupakan neoplasma dengan insiden tersering pada traktus aerodigestif bagian atas. KNF merupakan salah satu keganasan di bidang Ilmu Kesehatan Telinga Hidung Tenggorok (THT) yang banyak mendapatkan perhatian, karena angka kematian yang ditimbulkannya. Secara global diperkirakan 65.000 kasus baru dan 38.000 kematian per tahun (Chan, 2005). Epidemiologi KNF menunjukkan pola penyebaran yang menarik diberbagai belahan dunia, karena adanya variasi geografik yang khas. KNF paling banyak dijumpai pada ras Mongol, disamping Mediteranian, dan beberapa ras di Afrika bagian utara dengan pengelompokkan pada kelompok resiko tinggi (Canton, Cina), *intermedia*/sedang (Afrika Utara) dan kelompok resiko rendah (negara Barat) (Guy de The, 2005). Insidensi KNF menunjukkan adanya karakteristik geografis. Di seluruh dunia insidensi tertinggi terdapat di Cina Selatan, dan merupakan keganasan yang endemis pada orang-orang Canton di propinsi Guangdong Cina, dengan insiden 10 sampai dengan 150 per 100.000 penduduk pertahun, usia rata-rata 40-50 tahun. (Cheng, 2001).

Di Indonesia KNF menduduki urutan ke-4 di antara semua kanker setelah kanker rahim, payudara, dan kulit, dengan



insidensi sekitar 6,2 per 100.000 penduduk (SK Menkes, 2007). Tetapi seluruh bagian THT di Indonesia mendudukkan KNF pada peringkat pertama penyakit kanker pada daerah kepala leher dengan perbandingan antara laki-laki dan wanita adalah 2-3:1 (Susworo, 2004). Di Yogyakarta, KNF relatif lebih tinggi, mencapai 5,7 per 100.000 populasi (Soeripto, 1998). Insidensi di Makassar propinsi Sulawesi Selatan, Kuhuwael (2001) melaporkan pada RSUD Dadi dan RS.Dr.Wahidin Sudirohusodo selama periode 10 tahun (1990-1999) ditemukan 274 (47,98%) kasus KNF dari tumor ganas kepala dan leher dengan perbandingan antara laki-laki dan wanita adalah 2,6:1. Sedangkan periode Januari 2004 sampai dengan Juni 2007 didapatkan 33% dari keganasan di bagian telinga, hidung dan tenggorok (Punagi dan Savitri, 2007).

Kanker nasofaring ini merupakan salah satu keganasan yang sangat berkaitan dengan infeksi virus yaitu Epstein Barr (EBV). EBV merupakan suatu agen dari infeksi mononukleosis yang sudah diakui sebagai salah satu penyebab kanker, merupakan virus herpes yang umum menginfeksi manusia. Diperkirakan 90 % populasi dunia terinfeksi oleh virus ini dimana genome EBV permanen didalam host terinfeksi (**Every Body Virus**) dan sangat onkogenik. Di negara berkembang, infeksi primer umumnya terjadi sebelum umur 20 tahun dan sangat mudah menular melalui saliva (*kissing disease*). Sebagian besar orang akan

di EBV tanpa implikasi klinis yang serius, sementara pada
h kecil orang, virus EBV dapat bereaktivasi dan berkembang



menjadi tumor di kemudian hari. Hal ini akan bergantung pada kerentanan genetik dan faktor lingkungan (Thomson, 2004). Chan *et al.*(2002) berpendapat bahwa adanya gambaran geografi penderita KNF yang unik, mengindikasikan KNF mempunyai hubungan antara lingkungan dengan faktor genetik. Hal ini dapat dilihat pada perubahan epitel nasofarings menjadi displasi (*dysplasia*) yang merupakan tanda awal kemungkinan pertumbuhan KNF sangat mungkin disebabkan karena paparan lingkungan yang bersifat karsinogen. Perkembangan epitel normal menjadi displasia disebabkan juga karena ada ketidakaktifan beberapa gen supresi tumor (*tumor suppression genes*) terutama p14, p15 dan p16 yang diakibatkan oleh kelainan gen yang berupa kehilangan alelnya (*allelic losses*) pada kromosom pendek 3 dan 9, tetapi keadaan tersebut belum cukup bagi epitel displasia menjadi displasia yang berat (*severe dysplasi*). Dengan adanya kehilangan alelnya pada 11q, 13q dan 16q pada kromosom 12 akan merupakan awal proses terjadinya karsinoma, mutasi p53 akan menyebabkan metastasis. Dengan demikian EBV terbukti berhubungan erat dengan kejadian KNF. Protein produk gen virus dapat dideteksi pada jaringan KNF pada mayoritas penderita yaitu LMP1 (*Latent Membrane Protein 1*), LMP2 (*Latent Membrane Protein 2*), EBNA 1-6 (*Epstein Barr Nuclear Antigen 1-6*), juga dijumpai peningkatan titer antibodi protein virus (*viral capsid antigen/VCA* dan *early-antigen/EA*) =

B dan EA) IgA (Haryana & Fachiroh, 2006). Menariknya selain EBV juga dikaitkan dengan beberapa kanker spesifik lainnya seperti:



lymphoma Burkitt's, Hodgkin's disease, kanker lambung dan kanker payudara (Ai-Di Gu *et al*, 2009).

Hubungan antara EBV dan KNF pertama kali diteliti pada tahun 1966, didapatkan kenaikan serum antibodi terhadap sel yang terinfeksi EBV. Penelitian ini di beberapa negara, mendapatkan data bahwa pada KNF terjadi peningkatan kadar antibodi IgG dan IgA terhadap VCA, dan peningkatan kadar antibodi IgA tersebut tidak terjadi pada tumor-tumor kepala leher selain KNF. Peningkatan VCA dapat terlihat 8-30 bulan sebelum terjadinya KNF sehingga sangat penting untuk skrining dan deteksi dini (Zeng *et al*, 1985).

Pemeriksaan serologik terbukti dapat digunakan sebagai deteksi dini dan follow up penderita KNF. Selain itu muatan virus (*Viral Load*) EBV mempunyai kekuatan untuk menunjukkan progresifitas penyakit (Stevens SJ, 2005). Virus EBV apabila menginfeksi *host* virus akan menetap selamanya dalam tubuh atau dalam bentuk episom sel B memori (*long life*). Bila kondisi sistem imun menurun (*immunocompromised*) maka episom dapat mengalami reaktivasi dan selanjutnya akan memacu replikasi dalam individu. Oleh karena itu DNA virus (*viral load*) dalam sirkulasi diharapkan dapat digunakan sebagai indikator dalam kepentingan klinik. *Viral load* adalah indikator terbaik untuk menentukan prognostik KNF, serta merupakan marker penting untuk memonitor

fitas rekurensi penderita KNF (Tan Eng Lai, *et al*, 2006).



KNF cenderung lebih banyak terjadi pada ras tertentu (mongoloid) dan lebih sering terjadi pada pria dibandingkan wanita (2-3 : 1). Hal ini menimbulkan dugaan adanya faktor genetik yang berperan dalam etiologi penyakit ini. Resiko KNF meningkat secara signifikan pada generasi pertama, insidennya 6 kali lebih tinggi dibandingkan dengan populasi umum. Bahkan KNF juga ditemukan pada generasi ke dua dan ketiga (Xiaohong, 2004; Zhang, 1999) Angka kejadian KNF pada keluarga penderita KNF adalah 15,5%. Dari hubungan kekeluargaan tersebut 71% saudara kandung dan 29% orang tua kandung (Loh, 2006).

Dengan melihat insiden resiko terjadinya KNF yang cukup tinggi seperti disebutkan diatas (6 kali lebih tinggi dari populasi umum) pada generasi pertama, maka penelitian ini diperlukan untuk deteksi dini dan mendapatkan KNF stadium awal sehingga dapat dilakukan perbaikan penatalaksanaannya, dengan demikian harapan hidup dapat ditingkatkan . Penelitian *cross sectional* respon antibodi IgA (VCA-p18 + EBNA1) dan viral load pada keluarga penderita KNF ini belum pernah dilakukan di Sulawesi Selatan, khususnya di Makassar.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian dalam latar belakang masalah diatas maka dapat dirumuskan pertanyaan penelitian sebagai berikut : “Apakah dengan melihat hubungan antara perbedaan kadar IgA (VCA-p18 + EBNA 1) dan kadar DNA EBV pada keluarga penderita KNF dapat menjadi alasan deteksi dini KNF?



C. Tujuan Penelitian

Tujuan Umum :

Penelitian ini bertujuan untuk menilai apakah profil kadar IgA (VCA-p18 + EBNA 1) & viral load pada anggota keluarga penderita KNF merupakan faktor resiko pada EBV positif.

Tujuan Khusus :

1. Menilai kadar IgA (VCA-p18 + EBNA 1) pada keluarga penderita KNF.
2. Menilai kadar viral load DNA EBV pada keluarga penderita KNF
3. Membandingkan kadar IgA (VCA-p18 + EBNA 1) & viral load DNA EBV pada keluarga penderita KNF.

D. Manfaat Penelitian :

1. Memberikan informasi awal pada kelompok resiko tinggi KNF agar diagnosis KNF dapat ditegakkan secara dini dan ditangani lebih awal.
2. Pemeriksaan ini dapat menjadi metode diagnostik deteksi dini KNF pada orang normal dengan resiko tinggi.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Kanker Nasofaring

1. Definisi dan Epidemiologi

Kanker Nasofaring merupakan suatu tumor ganas yang tumbuh dari sel epitel yang melapisi nasofaring (Wei, 2006). Secara epidemiologi KNF menunjukkan pola penyebaran yang menarik diberbagai belahan dunia, karena adanya variasi geografik yang khas. Insidensi KNF menunjukkan adanya karakteristik geografis. Di seluruh dunia insidensi tertinggi KNF terdapat di Cina Selatan, dimana KNF merupakan keganasan yang endemis pada orang-orang Canton di Provinsi Guandong Cina, dengan insiden 10 sampai dengan 150 per 100.000 penduduk pertahun, dengan usia rata-rata 40-50 tahun (Cheng, 2001). Di Hongkong 1 dari 40 laki-laki menderita KNF sebelum usia 75 tahun (Chan, 2004). Insidensi sedang KNF terdapat pada penduduk di daerah Asia Selatan, termasuk disini adalah ras melayu yaitu Thailand, Vietnam, Malaysia, Singapura Indonesia dengan angka sekitar 5 sampai dengan 9 per 100.000 penduduk pertahun (Cheng, 2001). Sedangkan negara Eropa Amerika Utara dan Jepang mempunyai angka kejadian 1 per 100.000

ik.



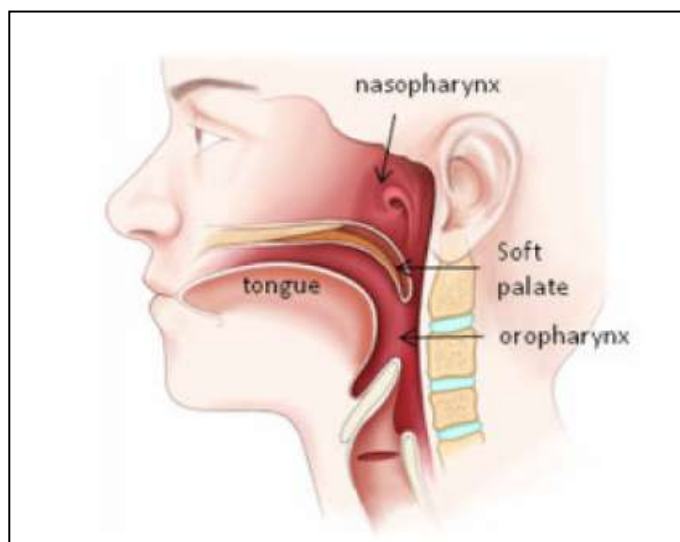
Berbagai studi epidemiologik mengenai angka kejadian ini telah dipublikasikan diberbagai jurnal. Salah satunya yang menarik adalah penelitian mengenai angka kejadian KNF pada para migran dari daratan Tiongkok yang telah bermukim secara turun temurun di China Town (pecinan) di San Fransisco Amerika Serikat. Terdapat perbedaan yang bermakna dalam terjadinya KNF antara para migran dari daratan Tiongkok ini dengan penduduk sekitarnya yang terdiri atas kulit putih (*Caucasians*), kulit hitam dan Hispanik, dimana kelompok Tionghoa menunjukkan angka kejadian yang lebih tinggi. Sebaliknya, apabila orang Tionghoa migran ini dibandingkan dengan kerabatnya yang masih tinggal didaratan Tiongkok maka terdapat penurunan yang bermakna dalam hal terjadinya KNF pada kelompok migran tersebut. Jadi kesimpulan yang dapat diambil adalah, bahwa kelompok migran masih membawa gen yang memudahkan untuk terjadinya KNF, tetapi karena lingkungan yang berubah seperti pola makan dan pola hidup selama diperantauan maka faktor yang selama ini dianggap sebagai pemicu timbulnya KNF bisa berkurang (Susworo, 2004)

2. Anatomi rongga nasofaring

Nasofaring adalah ruangan berbentuk persegi panjang, merupakan daerah peralihan antara kavum nasi dengan orofaring. Ukuran nasofaring bervariasi pada tiap-tiap individu, diameter antero-posterior rata-rata 2-3 cm dan diameter transversal dan vertikal hampir ekitar 3-4 cm. Nasofaring merupakan bagian paling kranial dari an terletak tepat dibawah basis kranii, dinding superior dan



posterior merupakan lengkungan yang dibentuk oleh basis sfenoid, basis oksiput dan korpus vertebra servikalis I dan II. Dasar nasofaring terbuka ke arah orofaring dengan batas berupa garis imajiner setinggi *palatum molle*. Apabila *isthmus* faring tertutup, maka permukaan posterior *palatum molle* sebagai dinding inferior nasofaring. Di sebelah anterior, nasofaring terbuka ke arah koana. Pada dinding lateral nasofaring, kurang lebih 1 cm di posterior ujung konka inferior, terdapat orifisium tuba auditiva. Orifisium tuba auditiva mempunyai tonjolan kearah medial, terdiri dari kartilago tuba auditiva dan jaringan lunak di tepi superior dan posteriornya yang disebut torus tubarius. Tepat di supero-posterior torus tubarius terdapat suatu cekungan yang disebut *fossa Rosenmuller*. Fossa ini merupakan lokasi awal kanker nasofaring (Wei dan Sham, 1996). Batas-batas nasofaring secara lebih jelas dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Anatomi nasofaring dan struktur sekitarnya (Wei, 2008)



3. Etiologi dan Gambaran Klinis

Secara umum, KNF disebabkan oleh 3 faktor yaitu kerentanan genetik, EBV, dan faktor lingkungan. Kerentanan genetik dan EBV merupakan faktor tetap sementara faktor lingkungan merupakan faktor pendukung. Hampir semua kasus KNF adalah positif EBV dan virus ini juga ditemukan pada semua sel tumor KNF. Jia (2003) berpendapat bahwa infeksi EBV merupakan unsur yang utama pada perkembangan KNF dan adanya perubahan genetik baik dari lahir atau yang didapat sesudah lahir mengakibatkan epitel nasofarings rentan terhadap infeksi EBV. Kelainan genetik yang didapat sejak lahir (*inherited*), dapat dikatakan penyebab pertama, sedang infeksi EBV merupakan penyebab kedua

Tahun 1964 Tony Epstein dengan Yvonne Barr dan Burt Achong melakukan penelitian terhadap contoh jaringan penderita limfoma Burkitt dengan menggunakan mikroskop elektron mendapatkan partikel-partikel yang menyerupai herpes virus dan disimpulkan bahwa virus tersebut diidentifikasi sebagai virus penyebab tumor. Pada kultur jaringan terbukti merupakan virus yang mempunyai potensi berubah sifatnya (*transforming viruses*) sangat kuat sehingga keberadaannya sangat dikenal oleh para peneliti (Thorley-Lawson,2005), sedangkan (Pegtel *et al.*,2005)

akan bahwa EBV laten dijumpai pada 100 % *undifferentiated* KNF. Hubungan antara EBV dengan KNF diperkuat oleh Neidobitek dan



Pegtel yang mengatakan bahwa tidak ada tumor pada manusia yang mempunyai hubungan konsisten dengan EBV selain KNF bentuk non keratinisasi. Pada penelitian lebih lanjut didapatkan bukti kuat tentang peranan EBV pada terjadinya kanker dengan penemuannya yang membuktikan bahwa infeksi EBV pada manusia menyebabkan sel B menjadi abadi (*immortalized*) seperti pada *Lymphoblastoid cell lines* (LCLs), dan dibuktikan secara *invivo* mampu menginduksi proliferasi sel B menjadi ganas (*malignant*) bila di inokulasi pada beberapa primata yang bukan manusia (*non human primates*) (Khana, 1995).

Scott *et al.*,2005 mengatakan bahwa ekspresi EBNA1 dan LMP1 sebagai salah satu tanda keganasan epitel nasofaring sangat berhubungan dengan aktifnya *Signal Transducer and Activator of Transcription* (STAT) tersebut tidak dijumpai/aktif pada epitel normal,sehingga disimpulkan adanya hubungan antara EBV dengan keganasan epitel dan aktifitas STAT merupakan salah satu gejala awal keganasan epitel.

Selain faktor genetik dan virus EBV, sejumlah makanan dan zat kimia juga diduga turut memicu terjadinya KNF. Penelitian yang dilakukan oleh Huang (1999) tentang hubungannya dengan lingkungan dan kebiasaan makan makanan tertentu sebagai salah satu faktor resiko. Konsumsi ikan asin dan beberapa makanan lain yang diasinkan dari

di tradisional Canton, Cina dan Tunisia terutama pada masa anak-anak merupakan salah satu faktor resiko. Kandungan N-



nitrosodimethylamine dalam makanan tersebut diduga sebagai agen alkilating suatu karsinogen yang dapat menginduksi sel skuamosa dan dapat mengaktifkan virus EBV. Chien (2003) berpendapat bahwa etnis Cina-Melayu yang mengkonsumsi ikan asin mempunyai risiko terjadi KNF sebesar 17 kali lebih besar dibanding dengan yang tidak pernah makan ikan asin, sedangkan di Hongkong konsumsi ikan asin sejak masa sapih mempunyai risiko KNF sebesar 2-8 kali. Beberapa makanan yang diawetkan seperti telur bebek yang diasinkan, pasta kedelai yang difermentasi (*fermented black bean paste*) yang dikonsumsi terus menerus sejak masa sapih dapat menaikkan risiko KNF sebesar 3-5 kali. Zat kimia seperti formaldehida, hidrokarbon aromatik tertentu, debu pabrik kimia dan penggunaan herbal sebagai obat tradisional yang mengandung tumbuhan *Croton Tiglium* (*Chinese herb*) turut berperan sebagai salah satu penyebab terjadinya KNF (Wei, 2006). Beberapa penelitian menunjukkan adanya hubungan antara merokok dalam jangka waktu yang lama dengan risiko terjadinya KNF (Xiaohong(Rose), 2005). Penelitian epidemiologis oleh Yu et al (1990) yang disadur oleh Chien (2003) mengatakan bahwa di Cina Selatan konsumsi rokok 30 bungkus per tahun menaikkan risiko KNF sebesar 2 kali.

Pada stadium awal, tumor yang kecil dapat hanya menyebabkan gejala yang tidak jelas atau bahkan tidak menyebabkan gejala apapun.

dengan bertambah besarnya tumor gejala-gejala yang terjadi



tetap tidak spesifik dan membingungkan (Wei dan Sham, 1996 ; Wei 2006).

Keluhan klinis sangat tergantung dengan lokasi tumor primer serta perluasannya, baik hanya terbatas pada jaringan sekitarnya atau sudah metastasis regional kelenjar getah bening maupun jauh. Gejala paling banyak dikeluhkan saat penderita datang adalah adanya benjolan di leher, dimana benjolan ini merupakan tanda adanya metastasis tumor ke limfonodi leher.

Gejala lain dapat berupa gangguan pada rongga hidung; epistaksis, obstruksi nasi, ingus campur darah. Gangguan pada telinga; telinga terasa penuh, tersumbat, tinitus, otitis media serosa atau penurunan pendengaran tipe konduktif. Gangguan neurologis; keatas mengenai grup anterior saraf kranial II, III, IV, V dan VI dengan keluhan diplopia, hipestesi pipi, reflek kornea menurun dan sakit kepala. Jika semua saraf grup anterior terkena akan menyebabkan sindrom petrosphenoid berupa neuralgia trigeminal dan oftalmoplegia sepihak (unilateral). Perluasan kebelakang mengenai grup posterior saraf kranial VII, VIII, IX, X, XI dan XII, dapat mengenai otot rahang sehingga menimbulkan trismus (Wei, 2006; Kuhuwael, 2001).

4. Klasifikasi dan Stadium

Klasifikasi WHO tahun 1979 membagi Kanker Nasofaring

menjadi 2 tipe yaitu tipe I dan tipe II. Tipe I menunjukkan gambaran histopatologinya kedalam 3 tipe yaitu :

1) Tipe I : karsinoma sel skuamosa berkeratinisasi dapat dilihat adanya gambaran sel skuamosa dan gambaran *intercellular bridge* serta gambaran keratin,



2). WHO II : karsinoma berdiferensiasi tidak berkeratinisasi, pada tipe ini dengan mikroskop biasa tidak tampak gambaran diferensiasi sel skuamosa, tetapi sel tumor mempunyai batas yang tegas dan mempunyai struktur yang tertata, dan 3). WHO III : karsinoma tidak berdiferensiasi / anaplastik. Tipe ini merupakan tipe yang didapatkan paling banyak, dan terdapat gambaran inti (nuclei) sel tumor berbentuk oval atau bulat, tatanan sel tidak beraturan, ireguler, sel tumor berbentuk spindle (*spindle shape*), beberapa diantaranya mengandung inti yang hiperkromatis. (Shanmugaratnam, 1998; Chien, 2003). Pada tipe terakhir juga mempunyai gambaran yang paling heterogen, termasuk disini limfoepitelioma, yang dikenal sebagai tumor *Schmincke* atau *Regaud*, dimana terdapat karsinoma sel skuamosa dengan infiltrasi limfoid, karsinoma anaplastik, karsinoma *clear cell* dan karsinoma sel spindle (Shanmugaratnam, 1978; Pathmanatan *et al*, 1995; Wei dan Sham, 1996).

Pada pemeriksaan dengan mikroskop cahaya dapat digambarkan perbedaan dari ketiga jenis histopatologi karsinoma nasofaring. Pada karsinoma sel skuamosa dengan keratinisasi (WHO 1) tampak adanya diferensiasi sel skuamosa, dengan jembatan antar sel dan atau keratinisasi hampir menyeluruh lapangan pandang. Pada karsinoma sel skuamosa tanpa keratinisasi (WHO 2) tidak tampak diferensiasi skuamosa, tetapi sel tumor memiliki batas sel yang jelas dan susunannya

tingkat atau *pavemented*. Pada karsinoma tidak berdiferensiasi (WHO 3), sel tumor mempunyai inti pucat dan besar. Tidak didapatkan



batas sel yang jelas. Sel dapat tersusun tak teratur tetapi jelas membentuk kumpulan massa atau berupa sel lepas-lepas dalam jaringan limfoid (Wei dan Sham, 1996; Chan, 2005). Di Indonesia maupun di Makasar WHO tipe III banyak ditemukan, kemudian jarang WHO tipe II dan hampir tidak pernah WHO tipe I.

Stadium kanker nasofaring berdasarkan TNM-UICC 2010 dibagi atas: 1). T1: tumor terbatas di nasofaring; 2). T2: tumor meluas ke jaringan lunak; 3). T2a: tumor meluas ke orofaring dan atau rongga hidung tanpa keterlibatan parafaring; 4). T2b: tumor dengan keterlibatan parafaring; 5). T3: tumor menginvasi struktur tulang dan atau sinus paranasalis; 6). T4: tumor meluas ke intrakranial dan atau mengenai syaraf kranial, fossa infratemporal, hipofaring, orbita atau ruang mastikator. Ukuran besarnya kelenjar limfe leher dapat dibagi: 1). N0: tidak teraba adanya pembesaran kelenjar limfe leher; 2). N1: terdapat pembesaran kelenjar limfe leher unilateral dengan diameter kurang atau sama dengan 6 cm pada dimensi terbesar dan terletak di atas fossa supraklavikular; 3). N2: terdapat pembesaran kelenjar limfe leher bilateral dengan diameter kurang atau sama dengan 6 cm pada dimensi terbesar dan terletak di atas fossa supraklavikular; 4). N3: pembesaran kelenjar limfe leher dengan diameter lebih dari 6 cm dan di dalam fossa supraklavikular; 5). N3a: pembesaran kelenjar limfe leher lebih dari 6 cm, terdapat disebelah kranial fossa supraklavikular; 6). N3b: pembesaran kelenjar limfe leher lebih dari 6 cm



dan sudah ekstensi ke fossa supraklavikular. Metastasis jauh dibagi menjadi: 1). M0: tidak ada metastasis jauh; 2). M1: ada metastasis jauh.

Besar tumor dan metastasisnya dibagi menjadi 4 stadium yaitu: stadium I: T1 N0 M0; stadium IIA: T2a N0 M0; stadium IIB: T1/T2a N1 M0, T2b N0/N1 M0; stadium III: T1/T2a/T2b N2 M0, T3 N0/N1/N2 M0; stadium IVA: T4 N0/N1/N2 M0; stadium IVB: setiap T N3 M0; stadium IVC: setiap T setiap N M0 (UICC, 2010)

Diagnosis ditegakkan berdasarkan anamnesis sistematis, pemeriksaan fisis THT, radiologi yang meliputi foto polos, CT-Scan dan atau MRI untuk melihat massa tumor, sedang untuk melihat adanya metastasis jauh, dapat diketahui melalui pemeriksaan foto toraks, bone survey/scaning dan USG hati.

Pemeriksaan patologi dapat berupa pemeriksaan sitologi; biopsi sikatan (brush) dan aspirasi jarum halus (FNAB) atau histopatologi dengan melakukan biopsi nasofaring dengan atau tanpa bantuan endoskop.

Pemeriksaan serologis yaitu dengan mendeteksi antibodi yang dihasilkan oleh EBV (Wei, 2006).

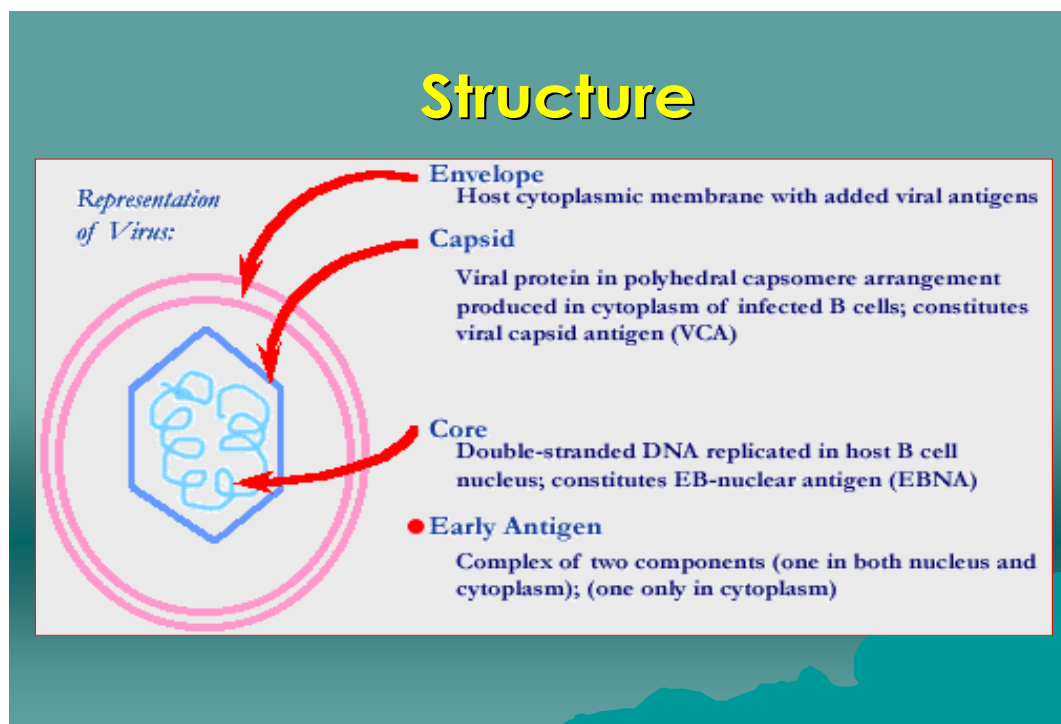
B. Keterkaitan Antara Epstein – Barr Virus dan KNF

EBV merupakan suatu gamma herpes virus dengan panjang 184 kbp terdiri dari untai ganda genome DNA yang mengkode lebih dari 95

ditularkan melalui saliva dan mengadakan replikasi di epitel, bersifat menetap, tersembunyi dan sepanjang masa serta



menginfeksi lebih dari 90% populasi dunia terutama dewasa yang didahului dengan infeksi primer. Pada negara yang belum berkembang, infeksi primer EBV biasanya terjadi selama beberapa bulan pertama sampai beberapa tahun kehidupan dan sering tanpa gejala. Sedangkan pada negara berkembang, infeksi primer lebih sering terjadi pada waktu remaja atau dewasa dan biasanya memberikan gejala yang khas pada beberapa kasus (Tao *et al*, 2006).



Gambar 2: Struktur EBV (<http://www.med.sc.edu:85/virol/herpes.htm>)

Pada awal proses infeksi, bagian envelop virus akan berfusi dulu dengan membran sel host sehingga nukleokapsid virus dapat masuk kedalam sel dalam keadaan inaktif atau sebaliknya mulai aktif membentuk

enzim yang diperlukan untuk pembentukan partikel virus baru. Hal ini menentukan apakah terjadi infeksi laten atau litik. Infeksi litik lebih



sering berlangsung pada epitel mukosa sedangkan infeksi laten pada limfosit B dan beberapa jenis epitel tertentu (Kieff *et al*, 1995; Mongan dan Harahap, 2000; Munir, 2007).

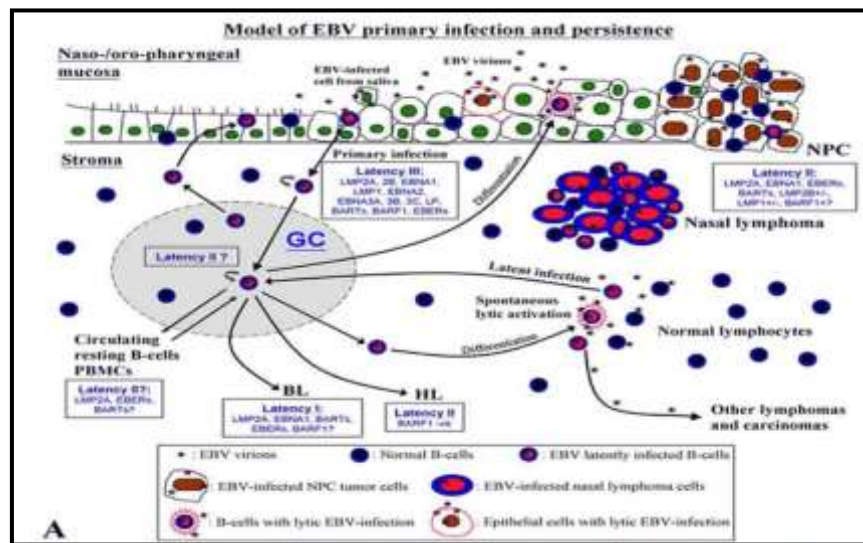
Walaupun patogenesis bagaimana EBV menyebabkan KNF belum diketahui dengan jelas, hubungan keduanya telah terbukti dengan ditemukannya EBV DNA dan atau *Epstein Barr Nuclear Antigen* (EBNA) pada semua sel tumor KNF (Thomson, 2004; Korcum, 2006).

Terdapat dua subtipe EBV yang diketahui dapat menginfeksi manusia yaitu: EBV-1 dan EBV-2. EBV-1 dan EBV-2 berbeda dalam organisasi gen-gen yang mengkode untuk antigen inti EBV (EBNA-2, EBNA-3a, EBNA-3b, EBNA-3c). In vitro transformasi EBV-2 ke sel B kurang efisien dibandingkan EBV-1, dan kemampuan hidup lapisan sel limfoblastoid EBV-2 kurang dibandingkan lapisan EBV-1.

Pada waktu infeksi akut, EBV pertamakali menginfeksi dan berkembang pada epitel skuamosa bertingkat di orofaring. Virus menembus epitel orofaring masuk ke dalam limfosit B dan menyebabkan proliferasi. Pada infeksi primer EBV, 3 antibodi (IgG, IgM dan IgA) diproduksi untuk melawan EBV *viral capsid antigen* (EBV-VCA), 2 antibodi (IgG dan IgA) dihasilkan sebagai respon dini terhadap antigen R. Pada infeksi laten, EBNA-3a, EBNA-3b dan EBNA-3c mendatangkan respon dari CTL spesifik yang merupakan respon dominan terhadap protein EBV

3).

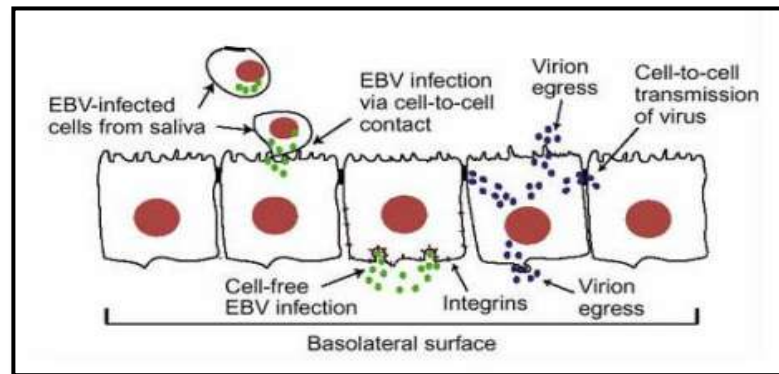




Gambar 3. Siklus hidup Epstein-Barr Virus dan berbagai kanker yang berhubungan dengan EBV (Qian Tao, 2006)

EBV merubah pertumbuhan limfosit B yang mengakibatkan transformasi perkembangan yang menetap diregulasi oleh ekspresi gen-gen virus yang meningkat. Gen-gen tersebut termasuk 3 *integral membrane proteins*, *latent membrane proteins* 1, 2A dan 2B (LMP) dan 6 antigen inti EBV (EBNA 1, 2, 3A, 3B, 3C dan EBNA-LP) dan 2 *non-coding nuclear RNAs* (EBERs). Setelah infeksi pertama, EBV menetap dalam sirkulasi sel-sel B memori yang tidak aktif pada individu yang sehat dengan kadar antigen terbatas pada frekuensi 1 : 1 x 10⁵⁻⁶ sel dan merupakan reservoir virus dalam waktu yang lama. Sel-sel B yang tidak aktif akan masuk kedalam siklus litik dan lisis secara intermiten, melepaskan kembali virions kedalam saliva (gambar 4).

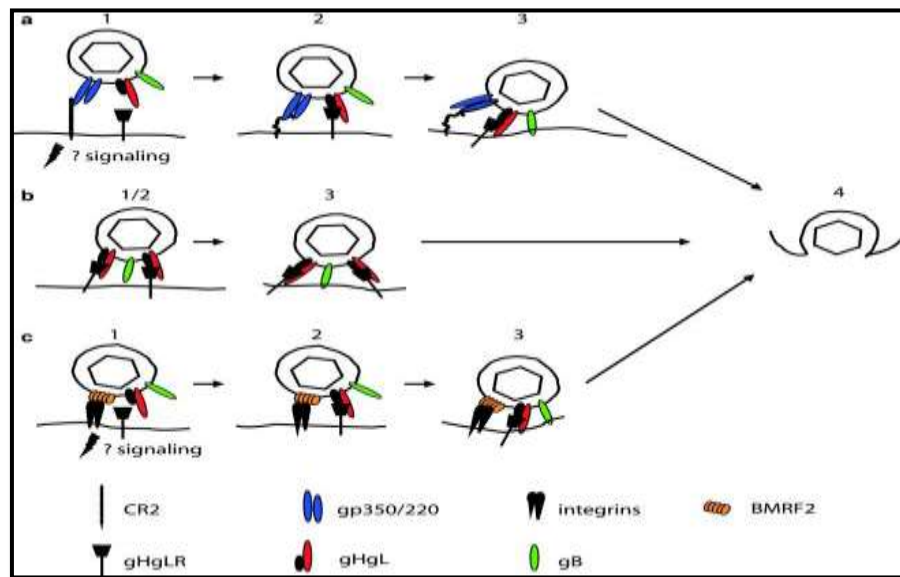




Gambar 4. Infeksi epitel nasofaring oleh EBV melalui limfosit B, *cell to cell transmission* dan integrin (Morgan, 2008)

Kanker nasofaring tidak berdiferensiasi berhubungan dengan EBV, dimana hubungan EBV dengan 2 subtype KNF yang lain masih kontroversial. Hampir semua kanker nasofaring tidak berdiferensiasi positif EBV tanpa melihat asal geografi. Pada KNF tidak berdiferensiasi, EBV menginfeksi sel-sel nasofaring posterior dalam fossa Rosenmuller. Meskipun reseptor yang cocok EBV tidak didapatkan pada sel-sel epitel, terdapat suatu reseptor permukaan yang berhubungan dengan sel-sel B secara antigen (gambar 3). Reseptor CD 21/CR2 telah ditemukan dan dapat digunakan sebagai *point the entry* oleh EBV. Ada tiga model untuk menerangkan infeksi pada sel-sel tersebut oleh EBV. Pertama, diperkirakan EBV masuk kedalam sel-sel nasofaring melalui endositosis IgA-mediated, virus dilapisi oleh IgA spesifik terhadap gp350/220 sehingga dapat berikatan dengan IgA reseptor. Kedua, masuk melalui dua protein ekstra, gH dan gL yang merupakan ligand dari sel-sel epitel. Ketiga, masuk melalui integrins dan gHgL (gambar 5).





Gambar 5. Virus masuk kedalam sel-sel epitel setelah berikatan dengan protein-protein yang berbeda sebagai ligandnya (Fletcher,2007)

C. Pemeriksaan serologis EBV

Berbagai antibodi yang dihasilkan sebagai respon terhadap virus EBV diantaranya heterophile antibody, anti *Viral Capsid Antigen* (VCA), *Early Antigen* (EA), dan *Epstein Barr Nuclear Antigen* (EBNA). Pemeriksaan Immunoglobulin A sebagai respon antibodi terhadap EBV penting dilakukan untuk diagnosis dini KNF. EBNA1 adalah protein nuklear yang berfungsi mempertahankan genom virus dan di temukan pada semua penderita KNF (Thompson, 2004; Korcum, 2006).

Metode yang pertama kali dikembangkan dan menjadi gold bagi pemeriksaan EBV sampai saat ini adalah *fluorometric Assay* (IFA). Walaupun memiliki spesifitas yang metode ini tetap memiliki beberapa kelemahan, antara lain waktu

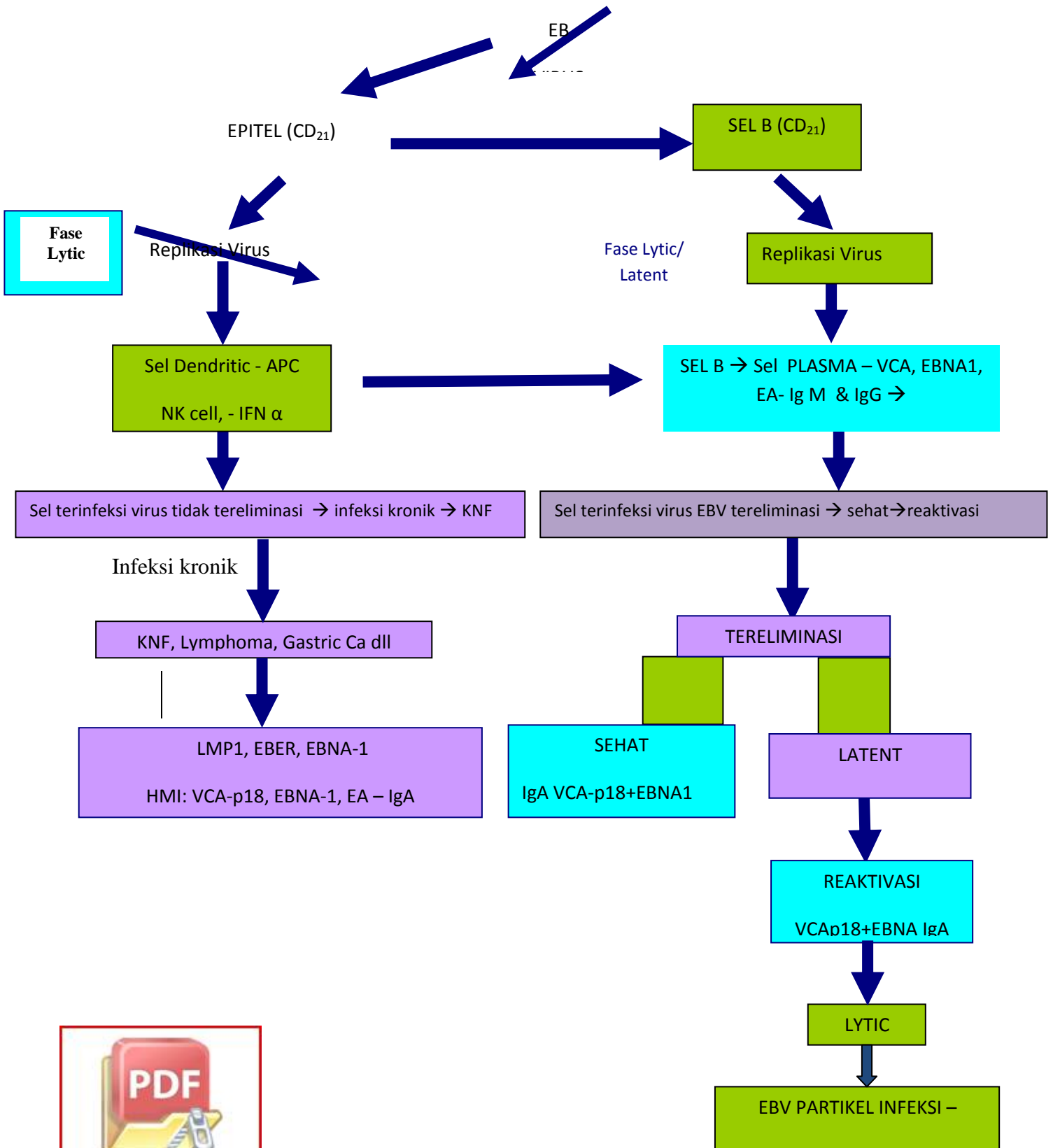


pemeriksaan yang lama, sulit diotomasi, sulit distandarisasi karena viabilitas dalam antigen yang digunakan, dan pembacaan hasil akhir yang subyektif serta membutuhkan keahlian khusus karena dilakukan di bawah mikroskop fluoresensi.

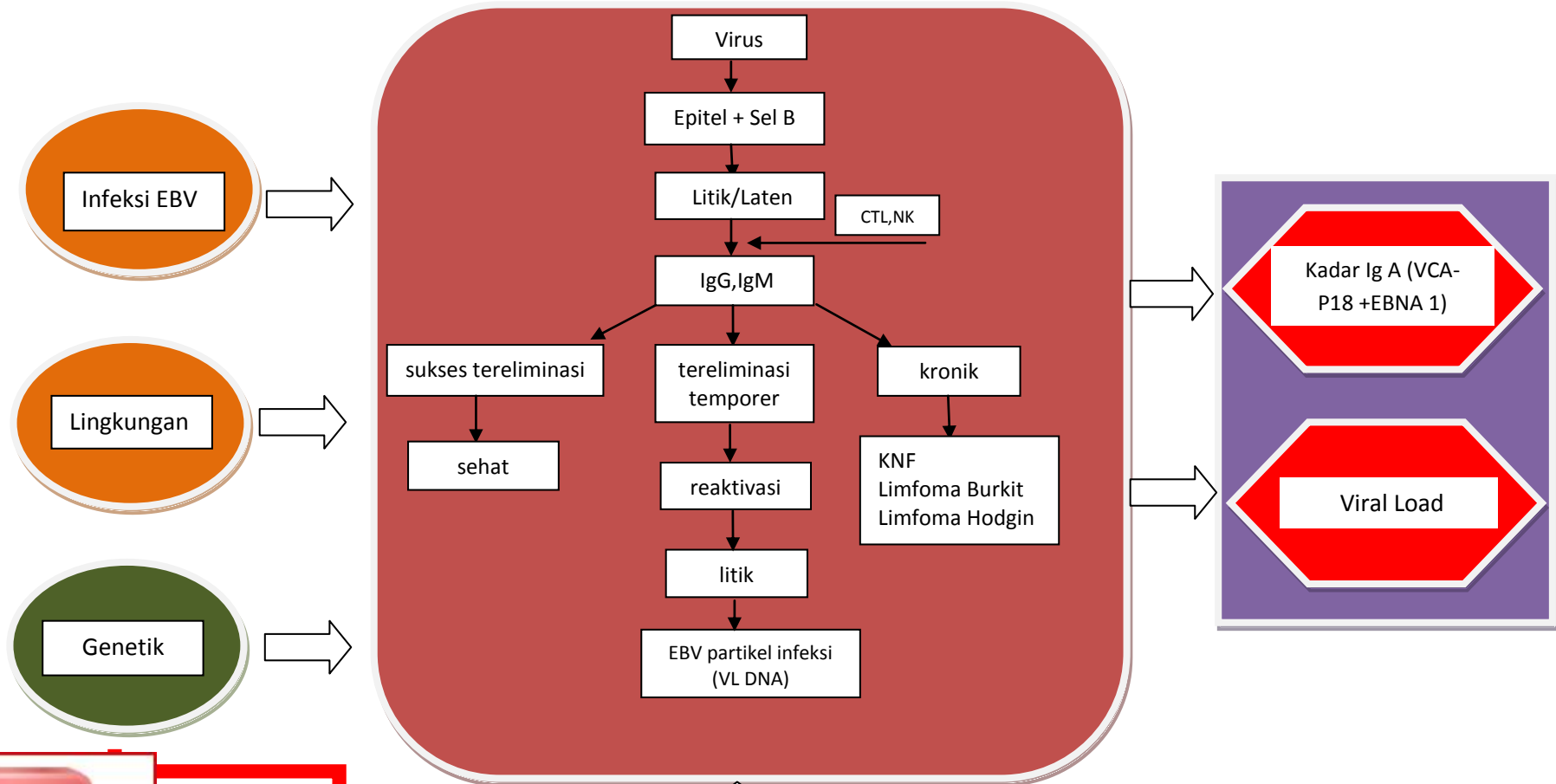
Kesulitan ini telah diatasi dengan pengembangan metode *Enzyme Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) untuk pemeriksaan EBV. Metode ini memerlukan waktu lebih singkat, dapat diotomasi, serta menggunakan pembacaan hasil akhir yang lebih obyektif sehingga sesuai untuk pemeriksaan dalam jumlah banyak. Pemeriksaan IgA dengan metode ELISA, berupa kombinasi dua antigen berasal dari peptida sintetik yang dibuat berdasarkan sekuen imunodominat epitop protein EBNA1 dan VCA-p18 telah dikembangkan di Indonesia yang dipelopori oleh Fakultas Kedokteran Universitas Gajah Mada sejak tahun 2005. Pemeriksaan ini berguna untuk uji saring dan deteksi dini KNF terutama pada populasi tertentu (prevalensi KNF tinggi, ras mongoloid, riwayat KNF pada keluarga, dan faktor lingkungan yang mendukung) (Fachiroh, 2006; Steven, 2006).



D. KERANGKA TEORI



BAB III KERANGKA KONSEP



- Variabel Bebas
- Variabel terikat
- Variabel Antara
- Variabel tidak diteliti

BAB IV

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan studi *cross sectional* yang bersifat analitik observasional. Penelitian ini bertujuan untuk deteksi dini KNF dan mengetahui perbedaan kadar IgA (VCA-p18+EBNA1) dan viral load dalam plasma pada keluarga penderita KNF.

B. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di RSUP Dr.Wahidin Sudirohusodo Makassar dan Laboratorium Biomolekuler Fakultas Kedokteran UGM selama periode waktu Agustus 2012- Mei 2013.

C. Populasi Penelitian

Populasi penelitian adalah keluarga pasien KNF termasuk anak kandung, saudara kandung, orang tua kandung, yang datang berobat ke poliklinik THT RSUP Dr.Wahidin Sudirohusodo, Makassar selama periode waktu Agustus 2012- Mei 2013.



D. Sampel dan Cara Pemilihan Sampel

Sampel adalah seluruh populasi terjangkau yang memenuhi kriteria penelitian dan sampel penelitian diambil dari populasi penelitian yang telah teridentifikasi dan memenuhi kriteria. Pengambilan sampel dilakukan secara *consecutive sampling*.

E. Kriteria Inklusi dan Eksklusi

1. Kriteria inklusi

- a. Keluarga pasien KNF yaitu anak, dan/atau saudara dan/atau orang tua kandung sebagian atau keseluruhannya yang tanpa keluhan terkait KNF
- b. Tidak dibatasi umur, jenis kelamin, suku dan ras
- c. Serumah dengan pasien minimal 1-2 tahun terakhir
- d. Tidak mempunyai riwayat gangguan hemostatik
- e. Bersedia menjadi sampel penelitian

2. Kriteria eksklusi

- a. Penderita KNF yang telah ditegakkan diagnosis
- b. Sampel darah lisis
- c. Penderita tidak kooperatif



F. Ijin Subyek Penelitian

Dalam pelaksanaan penelitian ini, setiap tindakan dilakukan atas seijin penderita/orang tua penderita melalui lembar *informed consent* dan dinyatakan memenuhi persyaratan etik untuk dilaksanakan dari Komisi Etik Penelitian Biomedik pada Manusia Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.

G. Besar Sampel

Besar sampel dihitung berdasarkan distribusi Gaus, untuk kelompok keluarga pasien KNF jumlah minimum sampel besar untuk distribusi tersebut adalah 50 orang.

H. Bahan dan Cara

1. Bahan dan Alat penelitian

- a. Alat diagnostik THT
- b. *Vacumtainer*
- c. Needle holder
- d. Kertas + alkohol 70 %
- e. *Cool Box*
- f. *Marker pen*

LISA reader 2001 tipe 10.550



2. Cara penelitian

- a. Dilakukan anamnesis.
- b. Dilakukan pemeriksaan THT: otoskopi, rinoskopi anterior, rinoskopi posterior dan faringoskopi.
- c. Bagi yang memenuhi kriteria inklusi, dimasukkan sebagai sampel penelitian.
- d. Dilakukan *Informed Consent* untuk kemudian ditanda tangani.
- e. Pemeriksaan Ig A (VCA-p18+EBNA1) dan Viral Load di laboratorium biomolukuler UGM.

Pemeriksaan Ig A (VCA-p18 + EBNA 1) dengan Metode ELISA

Cara Kerja :

- 1) Sampel darah diambil sebanyak 6 ml , diambil 0,5 ml darah + 4,0 ml N lysis buffer dicampur segera dan disimpan pada suhu -80°C
- 2) Sisa darah diisolasi serumnya kemudian disimpan pada suhu -20°C
- 3) Serum dianalisa menggunakan peptida sintetik imunodominan epitop protein VCA-p18 dan EBNA1.
- 4) Piring ELISA yang lapsi dengan peptida kombinasi (1 ug/ml EBNA1 + 0,5 ug/ml VCA-p18) dalam 0,05 M Na_2CO_3 , pH 9,6 diinkubasikan 2 jam pada 4°C



- 5) Setelah itu buang cairan, berikan 3 % BSA (dalam 1x PBS) 200 ul /wadah pada lapisan, lalu diinkubasikan 1 jam pada 37°C kemudian dicuci 3 kali dengan PBS Tween 0.05 %.
- 6) Berikutnya ambil 100 ul sampel (1:100) serum dimasukkan dan diinkubasikan i jam pada 37°C, tutup piring/ wadah
- 7) Buang cairan, setelah pencucian keempat dengan PBS-Tween 0.05%, buang cairan pencuci
- 8) Berikan konjugate (mouse anti-human IgA-HRP dilarutkan dalam cairan sampel(1;4000), tutup piring inkubasikan 1 jam pada 37°C
- 9) Buang cairan, cuci dengan PBS Tween 0.05% (4x), buang cairan pencuci
- 10) Campurkan larutan TMB A (merah) dan B (biru) (1:1), berikan warna dengan TMB (100ul/wadah), inkubasikan dalam ruang gelap 30 menit.
- 11) Berikan 0.5 M H₂SO₄ 100 ul/wadah, hindari terjadi gelembung
- 12) Baca OD 450 nm dengan menggunakan pembaca ELISA.

Isolasi DNA dengan metode Boom

Cara Kerja :

1 ml sampel + 70 µl of silica, inkubasi 10 menit, sentrifuge ± 10 detik (14.000 rpm) buang supernatant. Tambahkan 1 ml wash buffer (campur dengan vortex) sentrifuse 10 detik 14.000 rpm (dilakukan



sebanyak 3 kali). Tambahkan 1 ml 70% ethanol (campur dengan vortex) sentrifuse 10 detik 14.000 rpm (dilakukan sebanyak 3 kali). Pencucian terakhir dengan ditambahkan 1 ml aseton, sentrifuse 10 detik 14.000 rpm. Panaskan silica pada pemanas dengan suhu 56⁰C selama 10 menit (buka tutup tube). Tambahkan 100 ul elution buffer, inkubasi 20 menit pada suhu 56⁰C (setiap 2 menit di vortex). Sentrifus 3 menit 14.000 rpm, pindahkan supernatan ke tube yang bersih. Sebelum di gunakan untuk PCR terlebih dahulu disentrifus selama 3 menit pada kecepatan maksimal.

1) Preparasi FastStar DNA Master Hybridization probes : pipet 60 µl LC Fast start reaction Mix Hybridization probes (tube 1b) + 60 µl LC Fast Enzyme (tube 1a), campur dengan menggunakan pipet (jangan divortex).

2) Preparasi PCR Master Mix :

H ₂ O	7,6 µl
MgCl ₂	2,4 µl
EBV F QP1 (20 pmol/ml)	0,5 µl
EBV R QP2 (20 pmol/ml)	0,5 µl
Probe 1 EBNA-1 FLN (4 pmol/ml)	1 µl
Probe 1 EBNA-2 LLN (4 pmol/ml)	1 µl
FastStart DNA Master Mix	2 µl



- 3) Pipet 15 μ l PCR Master Mix ke dalam kapiler yang berada dalam adaptornya
- 4) Tambahkan 5 μ l isolat DNA kedalam 15 μ l PCR Mix di dalam kapiler
- 5) Untuk kurva standard

Plasmid	10^5 5	10^4 5	10^3 5	10^2 5	10^1 5
H ₂ O	20	20	20	20	20

Dimasukkan kedalam kapiler yang berisi 15 μ l PCR Mix

- 6) Kemudian disentrifuse dengan sentrifus lightCycler
- 7) Masukkan kedalam LightCycler PCR
- 8) Kondisi amplifikasi (pre inkubasi, amplifikasi dan cooling)

- Pre inkubasi : 95⁰C
- Amplifikasi :
 - Segment 1 : 95⁰C
 - Segment 2 : 55⁰C
 - Segment 3 : 72⁰C
- Cooling : 40⁰C

Hasil (konsentrasi) akan diperoleh setelah LightCycler PCR berjalan \pm 45 menit.



- f. Bila hasil pemeriksaan Ig A (VCA-p18 dan EBNA1) dan viral load lebih dari CoV, maka dilakukan follow up sampai terbukti ada massa tumor di nasofaring dengan pemeriksaan nasoendoskopi.

I. Identifikasi Variabel

Dalam penelitian ini beberapa variabel dapat diidentifikasi berdasarkan peran dan skalanya :

1. Variabel bebas adalah riwayat kanker nasofaring (KNF) pada keluarga
2. Variabel tergantung adalah kadar IgA (VCA –p18+EBNA1) dan jumlah viral load

J. Definisi Operasional

Keluarga pasien KNF adalah individu sehat yang keluarganya dalam satu garis keturunan (anak, saudara, orang tua) kandung ada yang menderita kanker nasofaring.

Penderita kanker nasofaring (KNF) adalah penderita yang secara histopatologis menderita kanker nasofaring

IgA (VCA-p18+EBNA1) adalah antibodi yang dihasilkan sebagai respon terhadap virus EB.

Pemeriksaan kadar IgA (VCA-p18 + EBNA1) adalah pemeriksaan Ig-A metode Elisa, menggunakan dua macam antigen sekaligus yaitu



protein EBNA-1 dan VCA-p18 berupa peptida sintetik yang dipilih dari epitop yang imunogenik .

Viral Load DNA EBV adalah jumlah muatan virus EB dalam copies/ml.

Pemeriksaan viral load DNA EBV adalah pemeriksaan dengan *quantitative light cyclers* (LC) *real time* PCR.

EBV di atas Cut off Value adalah bila kadar IgA (VCA-p18+EBNA1) $> 0,32$ dengan menggunakan pembaca Elisa yang densitas optis ditentukan pada 450 nm(OD^{450}).

EBV di bawah Cut off Value adalah bila kadar IgA (VCA-p18+EBNA1) $< 0,32$ dengan menggunakan pembaca Elisa yang densitas optis ditentukan pada 450 nm (OD^{450}).

Viral Load DNA EBV di atas Cut off Value adalah bila jumlah viral load > 2000 EBV DNA per ml darah.

Viral Load DNA EBV di bawah Cut off Value adalah bila jumlah viral load < 200 EBV DNA per ml darah.

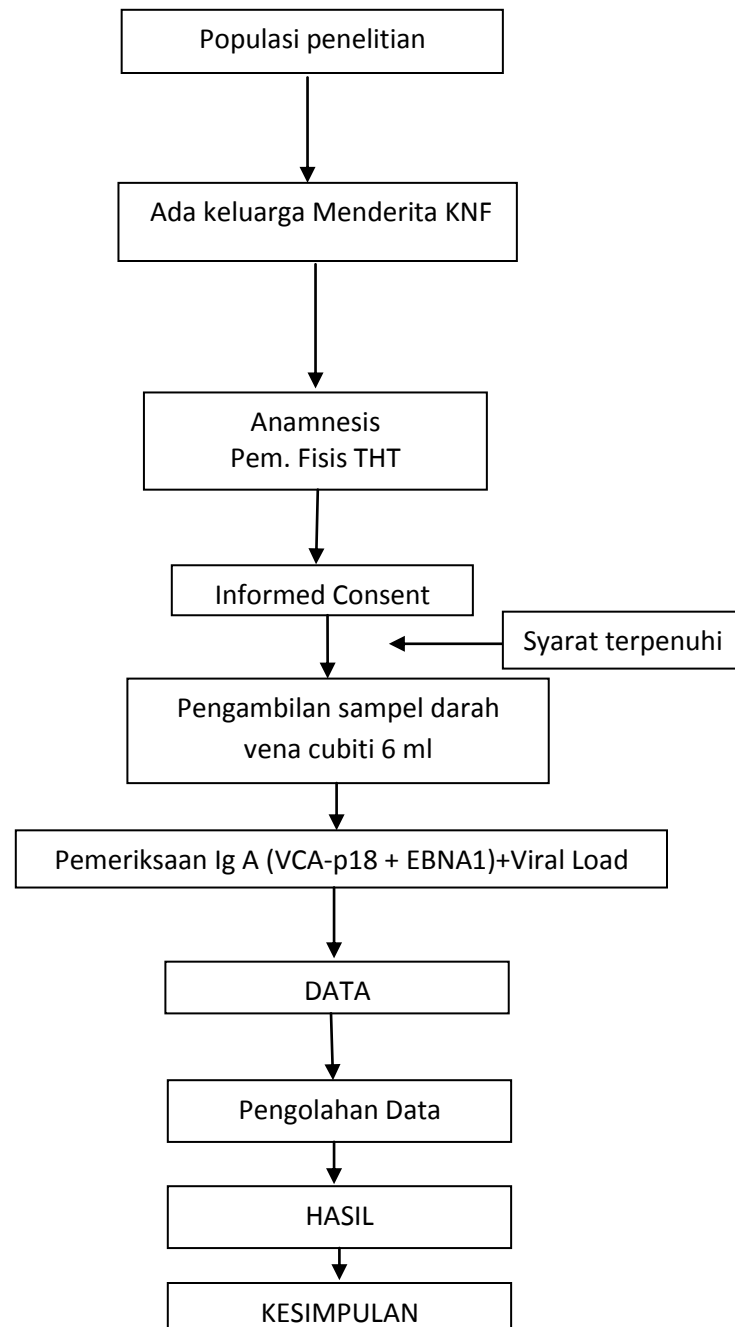
EBV (Epstein Barr Virus) adalah virus yang merupakan salah satu faktor dalam etiologi KNF, dan antibodi yang dihasilkan oleh virus ini dapat berguna sebagai penanda serologi untuk diagnosis awal KNF.

Faktor lingkungan adalah sejumlah makanan dan zat kimia yang juga

urut memicu terjadinya KNF



K. Alur Penelitian



K. Metode Analisis

Seluruh data yang diperoleh, dikelompokkan sesuai dengan tujuan dan jenis data. Untuk selanjutnya diuji dengan menggunakan :

1. Analisis univariat

Digunakan untuk menentukan distribusi frekuensi, rerata, standar deviasi dan rentang nilai.

2. Analisis bivariat

Uji Chi-square(X^2) untuk membandingkan variabel yang berskala numerik antara dua kelompok yang tidak berpasangan.

3. Uji t

Uji *t independent* untuk membandingkan nilai rerata 2 kelompok yang tidak berpasangan. Pengolahan data dengan menggunakan SPSS for Windows version 20. Penilaian hasil uji hipotesis dinyatakan sebagai berikut :

- Tidak bermakna bila $p > 0,05$
- Bermakna bila $p \leq 0,05$



BAB V

HASIL PENELITIAN

Selama periode penelitian bulan Agustus 2012 sampai dengan Mei 2013 telah dilakukan penelitian untuk melihat respon antibodi IgA (VCA-p18+EBNA1) dan viral load pada 50 anggota keluarga dari penderita kanker nasofaring. Dilakukan pemeriksaan darah (*whole blood*) untuk menilai IgA (VCA-p18+EBNA1) dan pemeriksaan plasma untuk menilai viral load. Hasilnya adalah sebagai berikut :

1. Karakteristik Umum Sampel

Karakteristik sampel penelitian dapat dilihat pada Tabel 1, berdasarkan jenis kelamin terbanyak adalah perempuan 28 orang (56%), umur rerata keluarga penderita KNF $31,12 \pm 11,91$ dimana termuda usia 13 tahun dan paling tua 66 tahun. Hubungan keluarga dengan penderita KNF pada penelitian didapatkan anak kandung 34 orang (68%), saudara kandung 13 orang (26%), ibu kandung 2 orang (4%) dan cucu 1 orang (2%). Sedangkan suku terbanyak adalah suku Bugis 29 orang (58%) diikuti suku Makassar 10 orang (20%), suku Toraja 9 orang (18%) dan terakhir Raha dan Bali masing-masing 1 orang (2%) yang sudah lama

karena bertransmigrasi di Sulawesi.



Tabel 1. Karakteristik sampel penelitian

Karakteristik	n	%
Jenis Kelamin :		
Laki-Laki	22	44,0
Perempuan	28	56,0
Umur :		
< 20 tahun	8	16,0
20 – 29 tahun	17	34,0
30 – 39 tahun	13	26,0
40 – 49 tahun	8	16,0
≥ 50 tahun	4	8,0
Hubungan keluarga dengan penderita KNF:		
Anak	34	68,0
Saudara	13	26,0
Ibu	2	4,0
Cucu	1	2,0
Suku :		
Bugis	29	58,0
Toraja	9	18,0
Makassar	10	20,0
Raha	1	2,0
Bali	1	2,0

Dari 50 keluarga penderita KNF berdasar atas gambaran histopatologis penderita KNF menurut WHO 1979 didapatkan terbanyak adalah WHO tipe III yaitu 44 orang (88%), selanjutnya WHO tipe II sebanyak 6 orang (12%) dan tidak didapatkan adanya WHO tipe I pada penelitian ini dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Pengelompokan keluarga penderita KNF berdasarkan gambaran histopatologi penderita KNF

Gambaran Histopatologi	n	%
Tipe II	6	12,0
Tipe III	44	88,0
Total	50	100,0

pada tabel 3, dari 50 keluarga penderita KNF yang berasal dari 34 keluarga KNF, didapatkan 28 orang (82,36%) dengan gambaran



histopatologis WHO tipe III, dan 6 orang (17,64%) dengan gambaran histopatologis WHO tipe II.

Tabel 3. Gambaran histopatologi penderita KNF

Gambaran Histopatologi	n	%
Tipe II	6	17,64
Tipe III	28	82,36
Total	34	100

Gambaran distribusi keluarga penderita KNF berdasar atas stadium penderita KNF menurut TNM-UICC 2010 terbanyak stadium IVB 16 orang (32%),selanjutnya stadium III 13 orang (26%),stadium IIB 7 orang (14%), stadium IVA 6 orang (12%), stadium II A 4 orang (8%) dan terakhir sama jumlahnya stadium I dan IVC yaitu 2 orang (4%) dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Distribusi keluarga penderita KNF berdasarkan stadium KNF

Stadium KNF	Jumlah	%
Stadium I	2	4,0
Stadium IIA	4	8,0
Stadium IIB	7	14,0
Stadium III	13	26,0
Stadium IVA	6	12,0
Stadium IVB	16	32,0
Stadium IVC	2	4,0
Total	50	100,0



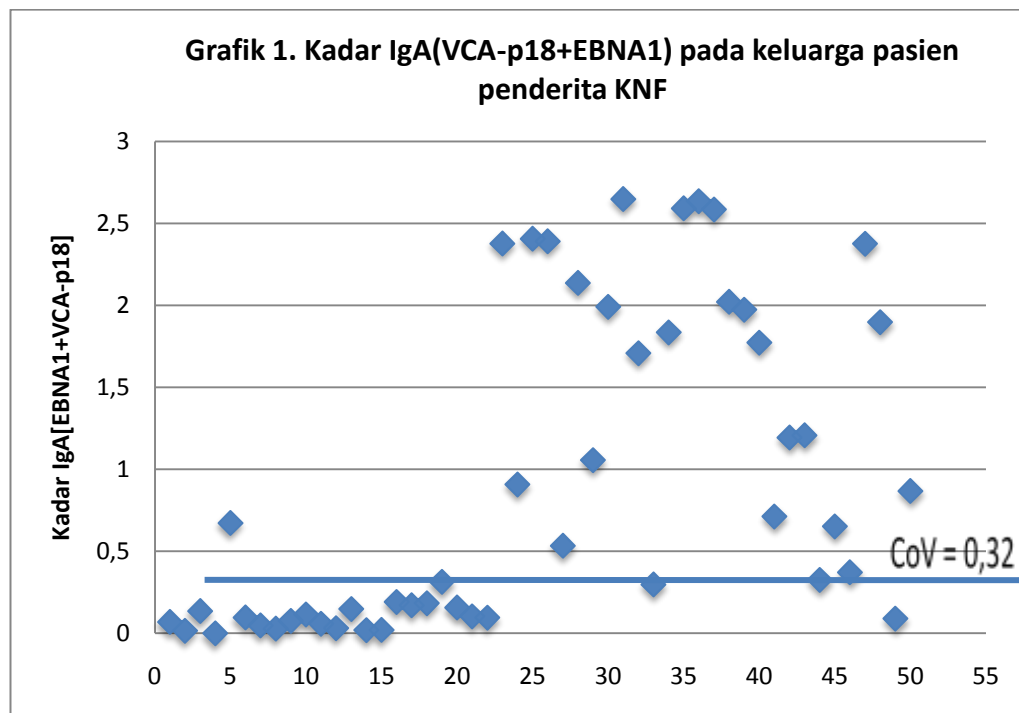
2. Hasil Pemeriksaan IgA (VCA-p18+EBNA1)

Dari hasil pemeriksaan kadar IgA (VCA-p18+EBNA1) dengan metode ELISA pada 50 anggota keluarga penderita KNF didapatkan pada keluarga penderita KNF yang diatas *Cut off Value (CoV)* 28 orang (56%) dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Kadar IgA (VCA-p18+EBNA1) pada keluarga penderita KNF

IgA (VCA-p18+EBNA1)	Jumlah	%
> CoV	28	56,0
≤ CoV	22	44,0
Total	50	100,0

Cut off Value=0,32



terlihat pada grafik 1 terdapat 26 sampel menunjukkan hasil positif (diatas *Cut off Value (CoV)*) dan 24 sampel menunjukkan hasil negatif (di bawah *Cut off Value (CoV)*) untuk pemeriksaan IgA (VCA-p18+EBNA1), 2 sampel ada di daerah



batas (border line) dan 22 sampel menunjukkan hasil dibawah *Cut off Value* (CoV).

Tabel 6. Hubungan umur, jenis kelamin dan status keluarga penderita KNF dengan IgA (VCA-p18+EBNA1)

Variabel	IgA (VCA-p18+EBNA1)				p (Chi Square-Test)
	> CoV		≤CoV		
	n	%	n	%	
Umur					
a. < 20 tahun	3	10,71	5	22,7	0.565
b. 20-29 tahun	9	32,1	8	36,4	
c. 30-39 tahun	7	25,0	6	27,3	
d. 40-49 tahun	6	21,4	2	9,1	
e. ≥ 50 tahun	3	10,7	1	4,5	
Jenis Kelamin					
a. Laki-Laki	10	35,7	12	54,5	0.183
b. Perempuan	18	64,3	10	45,5	
Hubungan Keluarga :					
a. Anak	17	60,7	17	77,3	0.389
b. Saudara	8	28,6	5	22,7	
c. Ibu	2	7,1	0	0,0	
d. Cucu	1	3,6	0	0,0	

Tabel 6 menunjukkan pada kelompok umur 20 – 29 tahun yang terbanyak menunjukkan hasil diatas CoV ada 9 orang (32,1%) sedangkan jenis kelamin terbanyak diatas CoV adalah perempuan 18 orang (64,3%). Berdasarkan hubungan keluarga yang terbanyak di atas CoV adalah anak kandung sebanyak 17 orang (60,7%).

3. Hasil Pemeriksaan Viral Load



Dari hasil pemeriksaan viral load pada 50 anggota keluarga a KNF didapatkan 13 orang yang menunjukkan hasil diatas *Cut*

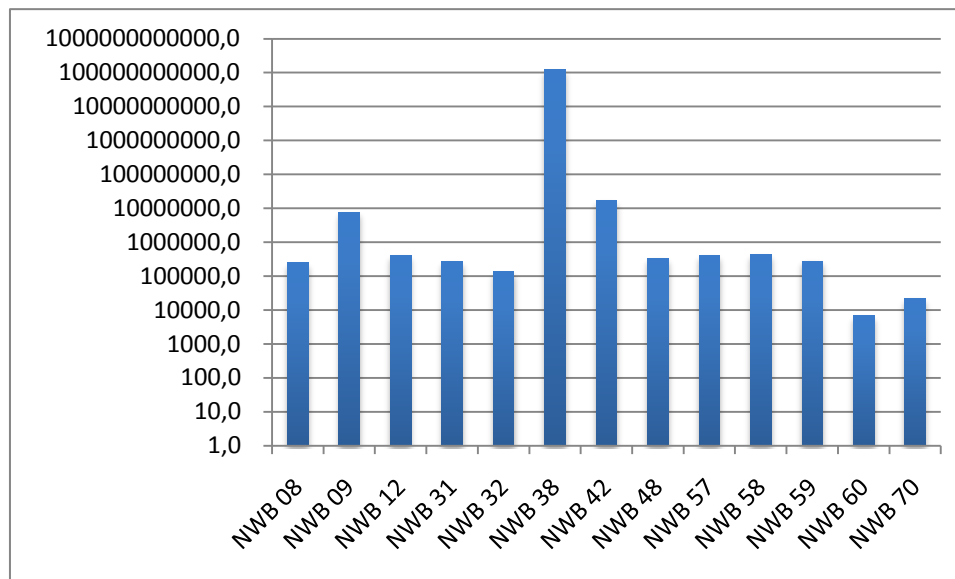
off Value (CoV). Pada tabel 7 terlihat ada 5 anggota keluarga (4 anak kandung dan 1 saudara kandung) dengan hasil diatas CoV tetapi bila dibandingkan dengan hasil IgA (VCA-p18+EBNA1) hasilnya dibawah CoV.

Tabel 7. Jumlah EBV DNA dan kadar IgA (VCA-p18+EBNA1) pada keluarga penderita KNF

No	Kode sampel	Hubungan keluarga dengan penderita KNF	Jumlah EBV DNA per ml darah (copies/ml)	Kadar IgA (VCA-p18+EBNA1)
1	NWB 08	Anak	247.600	0,3260
2	NWB 09	Anak	7.678.000	0,6520
3	NWB 12	Anak	405.600	2,3759
4	NWB 31	Anak	263.000	0,1145
5	NWB 32	Anak	135.100	0,0580
6	NWB 38	Saudara	125.180.000.000	0,0205
7	NWB 42	Anak	17.092.000	0,1710
8	NWB 48	Anak	334.200	0,1030
9	NWB 57	Saudara	408.000	2,4065
10	NWB 58	Saudara	421.800	2,3910
11	NWB 59	Anak	278.400	0,5335
12	NWB 60	Anak	6.732	2,1365
13	NWB 70	Ibu	21.400	0,8680



Grafik 2 : Jumlah EDV DNA per ml darah



- Kisaran EBV DNA yang terdeteksi pada sampel adalah 6.732×10^3 – 1.25×10^{10}
- Pada 13 pasien yang EBV DNA nya terdeteksi semuanya berada di atas CoV (2,000 EBV DNA per ml darah).

4. Hasil pemeriksaan IgA (VCA-p18+EBNA1) dan Viral Load

Tabel 8. Distribusi kategori KNF berdasarkan IgA (VCA-p18+EBNA1) dan VL

Kategori	Jumlah	%
IgA (VCA-p18+EBNA1) dan VL tinggi	8	16,0
IgA (VCA-p18+EBNA1) tinggi dan VL rendah	21	42,0
IgA (VCA-p18+EBNA1) rendah dan VL tinggi	5	10,0
IgA (VCA-p18+EBNA1) dan VL rendah	16	32,0
Total	50	100,0



8 terlihat bahwa bila dikelompokkan hasil IgA (VCA-p18+EBNA1) dan viral load ada 4 kategori kelompok yaitu yang terbanyak adalah

kelompok IgA (VCA-p18+EBNA1) tinggi dan viral load rendah sebanyak 21 orang (42 %) diikuti berturut-turut kelompok IgA (VCA-p18+EBNA1) dan viral load yang rendah ada 16 orang (32%), kelompok IgA (VCA-p18+EBNA1) dan viral load yang tinggi ada 8 orang (16%) dan terakhir kelompok Ig A (VCA-p18+EBNA1) rendah dan viral load tinggi ada 5 orang (10%).

Tabel 9. Distribusi resiko KNF berdasarkan IgA (VCA-p18+EBNA1) dan VL

Kategori	Jumlah	%
High risk KNF	8	16,0
Intermediate risk KNF	21	42,0
Low risk KNF	21	42,0
Total	50	100,0

Tabel 9, kategori kelompok diperkecil menjadi 3 kelompok yaitu kelompok *high risk* KNF, *intermediate risk* KNF dan *low risk* KNF dimana kelompok *intermediate risk* dan *low risk* KNF sebanyak 21 orang (42%), selanjutnya kelompok *high risk* KNF 8 orang (16%).



Tabel 10. Distribusi resiko KNF menurut jenis kelamin

Jenis Kelamin	High Risk		Intermediate risk		Low risk		Total		p (uji chi- square)
	n	%	n	%	n	%	n	%	
Laki-Laki	4	50,0	7	33,3	11	52,4	22	44,0	0,431
Perempuan	4	50,0	14	66,7	10	47,6	28	56,0	
Total	8	100,0	21	100,0	21	100,0	50	100,0	

Pada tabel 10 didapatkan jenis kelamin perempuan yang terbanyak pada kelompok *intermediate risk* KNF (66,7%), dan pada kelompok *low risk* KNF didapatkan terbanyak jenis kelamin laki-laki (52,4%). Sedangkan pada kelompok *high risk* KNF seimbang antara laki-laki dan perempuan (50%).

Tabel 11. Distribusi resiko KNF menurut umur

Umur	High Risk		Intermediate risk		Low risk		Total		p (uji chi- square)
	n	%	n	%	n	%	n	%	
<20 thn	1	12,5	2	9,5	5	23,8	8	16,0	0,196
20 – 29 thn	1	12,5	9	42,9	7	33,3	17	34,0	
30 – 39 thn	1	12,5	6	28,6	6	28,6	13	26,0	
40 – 49 thn	4	50,0	2	9,5	2	9,5	8	16,0	
≥ 50 thn	1	12,5	2	9,5	1	4,8	4	8,0	
Total	8	100,0	21	100,0	21	100,0	50	100,0	

Tabel 11 terlihat kelompok *intermediate risk* yang paling banyak ada 9 orang (42,9%) dengan kisaran umur 20 - 29 tahun diikuti kelompok sebanyak 7 orang (33,3%) dengan kisaran umur yang sama dan kelompok *high risk* ada 4 orang (50%) dengan umur tahun.



Tabel 12. Distribusi resiko KNF berdasarkan hubungan keluarga

Hubungan keluarga	High Risk		Intermediate risk		Low risk		Total		p (uji chi-square)
	n	%	n	%	n	%	n	%	
Anak	5	62,5	14	66,7	15	71,4	34	68,0	0,694
Saudara	2	25,0	6	28,6	5	23,8	13	26,0	
Ibu	1	12,5	1	4,8	0	0,0	2	4,0	
Cucu	0	0,0	0	0	1	4,8	1	2,0	
Total	8	100,0	21	100,0	21	100,0	50	100,0	

Pada tabel 12 yang paling banyak pada ketiga kelompok resiko KNF adalah anak kandung dengan kelompok *low risk* 15 orang (71,4%) diikuti kelompok *intermediate risk* 14 orang (66,7%) dan terakhir kelompok *high risk* 5 orang (62,5%).

Tabel 13. Kadar IgA (VCA-p18+EBNA1) dan Viral Load pada keluarga penderita KNF dibandingkan dengan CoV orang normal

Keluarga Penderita KNF	N	rerata±SD	CoV	P (one-sample t-test)
IgA (VCA-p18+EBNA1)	50	0.9261 ± 0.9557	0,32	0.000
Viral Load	13	9.631.330.141±34.718.054.846.927	2000	0.337

*CoV IgA=0,32, CoV EBV Viral Load=2000 EBV DNA per ml darah

Dari tabel 13 terlihat kadar IgA (VCA-p18+EBNA1) pada keluarga penderita KNF sangat bermakna ($p=0.000$), lain halnya dengan kadar viral load ternyata terdapat perbedaan yang tidak bermakna ($p=0.337$).



Tabel 14. Hasil analisis korelasi Pearson antara IgA (VCA-p18+EBNA1) dan EBV Viral Load pada keluarga penderita KNF

		EBV Viral Load
Ig A (VCA-p18+EBNA1)	r	-2,75
	p	0,363
	n	13

Dari hasil diatas, diperoleh nilai signifikan 0,363 yang menunjukkan bahwa tidak terdapat korelasi antara IgA (VCA-p18+EBNA1) dengan viral load keluarga penderita KNF dengan nilai korelasi Pearson sebesar -2,75 menunjukkan korelasi negatif dengan kekuatan korelasi yang lemah. Dengan demikian ada korelasi tetapi tidak signifikan atau secara statistik tidak bermakna tetapi sebenarnya ada hubungan.



BAB VI

PEMBAHASAN

Berdasarkan data dari berbagai populasi dunia KNF merupakan kanker dengan insidens tertinggi di Guandong, Cina dimana didapatkan 150/100.000 populasi dan di Asia Tenggara termasuk Indonesia didapatkan 6,2/100.000 populasi khususnya di Makassar 5/100.000 populasi dan biasanya terjadi lebih banyak pada pria dengan usia produktif antara 40 – 50 tahun. Penelitian ini mengambil sampel keluarga penderita KNF karena dalam penelitian sebelumnya dikatakan insiden resiko terjadinya KNF yang cukup tinggi (6 kali lebih tinggi dari populasi umum) pada generasi pertama (Yang, 2004; Zhang 1999). Berdasarkan karakteristik sampel umur rerata keluarga penderita KNF adalah $31,12 \pm 11,91$ menunjukkan kecenderungan pada usia produktif dimana didapatkan kisaran umur 20 – 29 tahun sebanyak 17 orang (34 %) dengan umur termuda 13 tahun dan paling tua 66 tahun. Sedangkan jenis kelamin terbanyak adalah perempuan 28 orang (56 %) dengan rasio 1,2 : 1, hal ini sedikit berbeda dengan penelitian-penelitian sebelumnya dimana didapatkan laki-laki lebih banyak dengan rasio 1,3 : 1 (Suwito M, dan 0,8 : 1 (Wai, Tong Ng, 2005). Suku terbanyak adalah suku 9 orang (58 %), hampir sama dengan penelitian sebelumnya



tentang penderita dan keluarga penderita KNF di Makassar (Punagi, 2008; Savitri E, 2009; Suwito M, 2009).

Berdasarkan hubungan keluarga dengan penderita KNF pada penelitian ini didapatkan terbanyak adalah anak kandung 34 orang (68 %) disusul saudara kandung 13 orang (26 %) dan orang tua kandung dalam hal ini ibu kandung 2 orang (4 %). Hal ini hampir sama dengan penelitian sebelumnya mengenai keluarga penderita KNF (Suwito M, 2009) dimana didapatkan anak kandung terbanyak 48,6 %, saudara kandung 34,3 % dan orang tua kandung 17,1 %. Tetapi berbeda dengan penelitian sebelumnya (Wai, Tong Ng *et al*, 2005), hubungan keluarga terbanyak berturut-turut adalah saudara kandung 54,8 %, orang tua kandung 49,3 % dan anak kandung 6,7 % dari total sampel 929 orang. Hal ini bisa disebabkan oleh karena perbedaan pola budaya di Indonesia dan Taiwan dimana hubungan kekerabatan di Indonesia masih sangat akrab dengan orangtua kandung masih tinggal bersama-sama dengan anak kandung walaupun sudah berumah tangga. Berbeda dengan di Taiwan dimana hubungan kekerabatan sudah sangat individual dengan orangtua kandung yang sudah tinggal terpisah dengan anak kandungnya walaupun anak kandungnya belum berumah tangga dan hanya bertemu sekali-sekali.

Distribusi keluarga penderita KNF berdasar atas gambaran histopatologi penderita KNF menurut WHO 1979 didapatkan terbanyak

WHO tipe III 44 orang (88 %) disusul WHO tipe II sebanyak 6 (12 %) dan tidak didapatkan sama sekali WHO tipe I, sesuai



dengan yang dilaporkan oleh Suwito M (2009) yang juga melakukan penelitian pada keluarga penderita KNF. Sedangkan dari gambaran histopatologi penderita KNFnya didapatkan WHO tipe III 28 orang (82,36 %) diikuti WHO tipe II 6 orang (17,64 %) sesuai juga dengan yang dilaporkan oleh Fransiska TBA (2004) dan Punagi AQ (2005). Dari penelitian-penelitian yang dilakukan diatas sesuai dengan penelitian Fachiroh J, 2005; Pegtel *et al*, 2005; Tay WL *et al*, 2008 yang mengatakan bahwa histopatologi WHO tipe II dan III hampir 100 % berhubungan dengan infeksi virus Epstein-Barr.

Pada distribusi keluarga penderita KNF berdasar atas stadium penderita KNF menurut TNM-UICC 2010 terbanyak adalah stadium IV B 16 orang (32 %) selanjutnya disusul stadium III 13 orang (26 %), terbalik dengan penelitian sebelumnya (Chan, 2004; Savitri E, 2009; Suwito M, 2009) dimana didapatkan terbanyak stadium III 48,6 % selanjutnya stadium IV 40 %. Dengan demikian menandakan bahwa hampir sebahagian besar penderita KNF datang berobat dalam kondisi stadium lanjut sehingga menyebabkan prognosis pengobatan dan harapan hidup jelek. Oleh karena itu skrining dan deteksi dini KNF sangat diperlukan melalui pola pendekatan biomolekuler terhadap virus Epstein-Barr.

Dari distribusi risiko KNF berdasarkan pemeriksaan IgA (VCA-p18+EBNA1) dan viral load kami kelompokkan menjadi 3 kategori

yaitu *high risk* KNF dimana IgA (VCA-p18+EBNA1) dan viral load tinggi, *intermediate risk* KNF dengan IgA (VCA-p18+EBNA1) tinggi



dan viral load rendah serta terakhir *low risk* KNF dimana IgA (VCA-p18+EBNA1) rendah dan viral load tinggi serta IgA (VCA-p18+EBNA1) dan viral load rendah. Kelompok *intermediate risk* KNF sama banyaknya dengan kelompok *low risk* KNF ada 42 % sedangkan kisaran umur yang terbanyak pada umur 20 – 29 tahun di kelompok *intermediate risk* dan *low risk* dan anak kandung memegang urutan teratas pada semua kelompok resiko. Hal ini membuktikan bahwa riwayat keluarga adalah salah satu hal yang berkontribusi terhadap resiko KNF dimana kerabat tingkat pertama dari penderita KNF memiliki 6-19 kali lipat resiko terkena penyakit dibandingkan dengan mereka yang tidak memiliki hubungan keluarga. Efek ini sangat kuat pada kasus KNF dibandingkan dengan kanker lain (Hutajulu et al, 2011). Sedjawidada, 2007 juga melaporkan 1 penderita KNF dengan 1 anak kandung yang juga diketahui setelah di *follow-up* menderita KNF. Selain infeksi EBV sendiri dan kerentanan genetik, faktor lingkungan yang mereka tinggali bersama juga berperan untuk terjadinya insidens dan perkembangan KNF. Ini mengindikasikan bahwa paparan lingkungan yang sama dan juga konsumsi makanan seperti ikan asin dan makanan yang diawetkan seperti mie instan secara konsisten dapat menjadi kontributor penting dalam pengelompokan familial KNF. Pola konsumsi makanan ini sangat populer di masyarakat kita padahal ikan asin dan makanan pengawet lainnya memiliki kandungan nitrosamin yang

i sebagai karsinogen pada hewan.



Kami mengelompokkan IgA (VCA-p18+EBNA1) tinggi dan viral load rendah kedalam kelompok *intermediate risk* karena masih tingginya kadar IgA (VCA-p18+EBNA1) dimana kadar serum IgA/VCA masih diakui sebagai penanda serologis yang berguna untuk deteksi dini dan diagnosis dari KNF. Ini sesuai dengan temuan bahwa kadar antibodi IgA/VCA yang tinggi dapat diamati beberapa bulan sebelum terjadinya KNF dan pada penderita dengan kanker primer atau berulang (Tiwawech D *et al*, 2003).

Kemungkinan juga virus tidak tereaktivasi pada infeksi laten sehingga kelompok ini adalah *carrier* yang mana virus tidak muncul dan tidak terekspresi, nanti terekspresi bila ada faktor pencetusnya seperti yang telah dibahas diatas. Sedangkan kadar viral load yang rendah pada penelitian kami (dari 50 sampel keluarga penderita KNF hanya 13 sampel yang terdeteksi) menginformasikan kurangnya korelasi antara antibodi EBV dan kadar viral load diantara individu-individu yang tidak terkena dalam keluarga beresiko tinggi. Temuan ini sesuai dengan yang ditemukan Leung *et al* pada 36 anggota keluarga yang sehat dari keluarga penderita KNF yang memiliki hasil anti VCA IgA yang positif namun tidak memiliki bukti adanya kanker pada masa *follow-up* ; 27 dari 36 anggota keluarga ini memiliki kadar DNA EBV yang tidak terdeteksi (Xiaohong Rose Yang *et al*, 2005). Sedangkan pada *low risk* yang IgA (VCA-p18+EBNA1) rendah dan viral load tinggi kemungkinan tidak akan menjadi

kena bukan IgG sehingga belum merupakan suatu faktor resiko.



Kadar IgA (VCA-p18+EBNA1) dan kadar Viral Load pada keluarga penderita KNF di Makassar

Hasil pemeriksaan kadar IgA (VCA-p18+EBNA1) dengan metode ELISA pada 50 anggota keluarga penderita KNF didapatkan yang diatas CoV sebanyak 28 orang (56 %) dan pada kadar viral load yang diatas CoV sebanyak 13 orang (26 %) dengan rata-rata 0.9261 ± 0.9557 pada kadar IgA (VCA-p18+EBNA1) dan pada kadar viral load rata-rata $9.631.330.141 \pm 34.718.054.846.927$. Hasil kadar IgA (VCA-p18+EBNA1) ternyata sangat bermakna dengan nilai $p=0.000$ ($p<0.05$) dan hasil kadar viral load yang ternyata tidak bermakna dengan nilai $p=0.337$ ($p>0.05$) kalau dibandingkan dengan kadar orang normal. Ini dapat membuktikan bahwa kadar IgA (VCA-p18+EBNA1) lebih dapat dipakai sebagai marker untuk skrining dan deteksi dini kejadian KNF.

Dari 50 sampel didapatkan 8 anggota keluarga (16 %) yang tinggi kedua-duanya baik kadar IgA (VCA-p18+EBNA1) dan viral load (kategori *high risk* KNF). Sesuai dengan tabel kemungkinan nilai z observasi, masih berada dalam batas distribusi normal namun perlu waspada bagi mereka yang termasuk kategori *high risk* karena cenderung memiliki resiko yang lebih tinggi dan membutuhkan waktu yang lebih singkat untuk dapat menjadi KNF, karena itu untuk anggota-anggota keluarga yang telah terdeteksi hasil pemeriksaannya demikian, perlu diberi informasi dan

an dengan baik sehingga mereka bisa lebih mengerti tentang tersebut, follow-up yang lebih ketat disertai pemeriksaan klinis



yang teliti sangat dibutuhkan karena kebanyakan penderita-penderita di negara-negara dengan insidens KNF yang tinggi seperti Indonesia hanya datang ke rumahsakit untuk berobat pada stadium III atau IV. Melihat penelitian Wai, Tong Ng *et al* (2005) meneliti 929 sampel dari keluarga penderita KNF didapatkan IgA VCA positif pada 84 orang dan dilakukan follow up 6-32 bulan ternyata yang berkembang menjadi KNF sebanyak 9 orang (10,7 %). Penelitian Lo,S *et al* (2004) mendapatkan dari 66 orang normal dengan Ig VCA positif di follow up selama < 4 tahun hanya 1 orang (2 %) yang berkembang menjadi KNF. Pada penelitian Xiaohong (Rose) Yang *et al* (2005) di Taiwan dari 100 sampel keluarga penderita KNF hanya 1 orang yang terdeteksi KNF. Sedangkan penelitian Tiwawech, Danai (2008) di Thailand pada 122 sampel kontrol didapatkan IgA/EBNA1 positif pada 5 orang (4,10 %). Data dari Malaysia didapatkan 2 penderita dengan stadium IIB ditemukan DNA viral load yang tinggi, 2 penderita lain stadium IVB dan IIB persisten tinggi titer IgA VCA tetapi rendah DNA viral loadnya.

Analisis korelasi Pearson antara kadar IgA (VCA-p18+EBNA1) dengan EBV viral load pada keluarga penderita KNF walaupun menunjukkan korelasi negatif dengan kekuatan korelasi yang lemah tetapi secara statistik tetap terdapat hubungan walaupun tidak bermakna. Hal ini bisa disebabkan oleh perbedaan faktor genetik, faktor lingkungan dan

an tubuh (Thomson, 2004).



Perbedaan profil IgA (VCA-p18+EBNA1) dan Viral Load kemungkinan disebabkan oleh variasi genetik *host* dan virus. Variasi *host* dapat disebabkan karena variasi MHC kelas I/HLA, sedangkan variasi virus adalah LMP. Aspek *host* lain yang mungkin berperan selain genetik adalah perbedaan kebiasaan makan.

Dilihat dari keseluruhan data mengindikasikan bahwa keluarga penderita KNF merupakan kelompok resiko tinggi untuk menderita KNF dan temuan ini menyokong hipotesis peranan faktor genetik. Oleh karena itu merupakan satu hal yang penting melakukan skrining dan deteksi dini bagi anggota keluarga penderita KNF sebagaimana pemeriksaan yang kami lakukan dalam penelitian ini.



BAB VII

PENUTUP

A. KESIMPULAN

1. Kadar IgA (VCA-p18+EBNA1) ternyata lebih tinggi pada keluarga penderita KNF dibandingkan dengan kadar orang normal.
2. Berdasarkan penelitian ini didapatkan korelasi negatif dengan kekuatan korelasi yang lemah antara kadar IgA (VCA-p18+EBNA1) dengan viral load yang walaupun tidak bermakna tetapi terdapat hubungan.
3. Pemeriksaan kadar IgA (VCA-p18+EBNA1) disertai viral load dapat menjadi metode skrining dan deteksi dini bagi anggota keluarga penderita KNF.

B. SARAN

1. Pada saat skrining dan deteksi dini KNF diberikan motivasi untuk memeriksakan anggota keluarga yang lain terutama yang generasi pertama sehingga penatalaksanaan KNF dapat ditingkatkan.

Perlu dilakukan follow up secara berkala pada anggota keluarga yang mempunyai resiko tinggi dimana kadar IgA (VCA-p18+EBNA1) dan Viral Load diatas Cut off Value untuk mendeteksi KNF stadium dini.



3. Perlu tambahan data yang lebih terperinci tentang keluarga penderita KNF pada *form* data penderita KNF yang selama ini digunakan di bagian THT – KL sehingga lebih memudahkan penelusuran keluarga yang akan dilakukan pemeriksaan skrining dan deteksi dini.
4. Diperlukan pola pendekatan dalam penatalaksanaan KNF yang terintegrasi lintas sektoral dan multidisipliner yang mengutamakan upaya-upaya preventif baik promotif dan edukatif serta melibatkan semua strata masyarakat, pemerintah maupun swasta.
5. Diperlukan penelitian lanjut secara longitudinal dengan jumlah sampel yang lebih besar guna mendapatkan hasil yang lebih baik.



DAFTAR PUSTAKA

- Adham M., Kurniawan A.N., Roezin A., Hemani B.,Gondhowiardjo S., Tan I.B.,Middledorp J.M. 2012. Nasopharyngeal Carcinoma in Indonesia : Epidemiology, Incidence, Signs and Symptoms at Presentation. *Chinese Journal of Cancer*. 31(4):185-96.
- Cao S.M.,Liu Zhiwei, Jia W.H., et al.2011. Fluctuation of Epstein-Barr Virus Serological Antibody and Risk for Nasopharyngeal Carcinoma : A prospective Screening Study with a 20- year Follow Up.
- Chan ATC, Teo PML, Johnson PJ. Nasopharyngeal Cancer. 2004. Dalam: Rosen St, Cancer Treatment and Research, Head and Neck Cancer, edited by Bruce Brockstein, Gregory Masters, kluwer Academic Publishers, New York,;275-77.
- Chang C.M., Yu K.J., Hsu W.L.,Major J.M, et al.2013. Correlate of anti-EBV EBNA 1 IgA positivity among Unaffected Relatives from Nasopharyngeal Carcinoma Multiplex Families. *British J of Cancer*, Jan 3; 106 (1) :206-9.
- Cheng H. Nasopharyngeal Cancer and the Southeast Asian Patient. 2001.*American Family Physician*;63:1776-82.
- Chia KS, and Lee HP. Epidemiologi. In:Chong VHF and Tsao SY 1997.ed.s. *Nasopharyngeal carcinoma*. Armour Publisihing Pte Ltd, Singapore:1-5.
- Chien, Chu Y., Chen, Yang J, et al.2001. Serologic Markers of Epstein-Barr Virus Infection and Nasopharyngeal Carcinoma in Taiwanese Men. *New England J of Med*.345(26) : 1877-8.
- Chan JKC, Bray F, McCarron P et al. Nashopharyngeal Carcinoma. 2005.Dalam: *Patology & Genetics Head and Neck Tumour, WHO Classification of Tumours*, edited by Leon Barnes et al, IARCPress, Lyon; 85-87.
- Cohen J.2000.Epstein-Barr Virus Infection. *N Engl J Med*;343:481-492.
- Dardari.R, Hinderer.W, Lang.D, et al. 2001.Antibody Responses to Recombinant Epstein-Barr Virus Antigens in Nasopharyngeal Carcinoma Patients: Complementary Test of ZEBRA Protein and Early Antigens p54 and p138. *Journal of Microbiology*, Sept,;3164-170.



- De the Guy, Robertson E (ed).2005. sero Epidemiology of EBV and Associated Malignancies. Caister Academic Press, England. 29-34.
- De Paschale M., Clerici P.2012. serological diagnosis of Epstein-Barr Virus Infection : Problems and Solutions. World J.Virol.Feb 12;1(1):31-43.
- Deng H., zeng Y., Lei Y., Zhao Z., Wang P., Li B., Pi Z., Tan B., et al. 1995. Serological survey of Nasopharyngeal Carcinoma in 21 cities of South China. Chin Med J (Engl) Apr; 108(4):300-3.
- Fachiroh J., Prasetyanti P.R., Paramita D.K., Haryana S.M.,Middledrop J.M.,et al 2008. Dried Blood Sampling for Epstein-Barr Virus Immunoglobulin G (Ig G) and IgA Serology in Nasopharyngeal Carcinoma Screening. J Clin Microbiol. Apr 46 : 1374-80.
- Fachiroh.J , Paramita DK, Harywiyanto B, et al. 2006. Single-Assay Combination of Epstein-Barr Virus (EBV) EBNA1 and Viral Capsid Antigen-p18-Derived Synthetic Peptides for measuring Anti-EBV Immunoglobulin G (IgG) and IgA Antibody Levels in Sera from Nasopharyngeal Carcinoma Patients: Options for Field Screening. Journal of Clinical Microbiology, Apr,:1459-1467.
- Fletcher LMH. 2007. Epstein-Barr Virus Entry,Minireview, Journal of Virology,Aug.;7825-7832
- Fransiska TBA. 2004.Akurasi hasil pemeriksaan biopsi jarum halus secara endoskopik tersangka karsinoma nasofaring, Karya Akhir PPDS FK-UNHAS.
- Gu A.D., Lu L.X., Xie Y.B. et al.2009. Clinical Values of Multiple Epstein-Barr Virus (EBV) Serological Biomarkers Detected by XMAP.J of Translational Med. 7:73.
- Hildesheim A, Apple RJ, Chien-Jen Chen et al. 2002.Association of HLA Class I and II Alleles and Extended Haplotypes With Nasopharyngeal Carcinoma in Taiwan. Journal of National Cancer Institute;94:23;1780-88.
- Ho JHC. 1967.Nasopharyngeal carcinoma in Hongkong. Dalam: Cancer of the nasopharynx.Copenhagen: International Against Cancer,;58-63.
- Hsu W.L., Yu K.J., Chien Y.C.,et al 2011. Familial Tendency and Risk of Nasopharyngeal Carcinoma in Taiwan : Effect of Covariates on Risk. J.Epidemiol.Feb.173(3):292-94.

S .H., Ng N., Jati B.R., Fachiroh J., Herdini C., Hariwiyanto B., Haryana J. et al.2011. Seroreactivity Against Epstein-Barr Virus (EBV) among first-



degree Relatives of Sporadic EBV-associated Nasopharyngeal Carcinoma in Indonesia. *J Med Virol.* May; 84(5):768-76.

Hutajulu S.H., Indrasari S.R., Indrawati L.P.L., Harijadi A., Duin S., Haryana S.M., et al. 2011. Epigenetic Markers for Early Detection of Nasopharyngeal Carcinoma in A High Risk Population. *Molecular Cancer*, 10.48 :1-9.

Ji M.F., Wang D.K., Yu Y.L., Guo Y.Q., Liang J.S. et al. 2007. Sustained Elevation of Epstein-Barr Virus Antibody Levels Preceding Clinical Onset of Nasopharyngeal Carcinoma. *British J of Cancer*, Feb 26 ; 96 (4):623-30

Kuhuwael FG. 2001. Aspek klinis karsinoma nasofaring di RSUD Dadi dan RS. Wahidin Sudirohusodo tahun 1990-1999. *Pertemuan Ilmiah Berkala XV.* Fakultas Kedokteran UNHAS

Korcum AF, Ozyar E, Ayhan A. 2006 Epstein-Barr Virus genes and nasopharyngeal cancer. *Turkish journal of cancer* .36:97-102.

Kwong DLW, Sham JST, Au GKH et al. 2004. Concurrent and Adjuvant Chemoterapy for Nasopharyngeal Carcinoma: A Factorial Study. *Journal of Clinical Oncology*; 22:2643-53.

Lanier A, Bender T, Talbot M et al. 1980. Nasopharyngeal Carcinoma in Alaskan Eskimos, Indians and Aleuts: A Review of Cases and Study of Epstein-Barr Virus, HLA, and Environmental Factor. *Cancer*; 46:2100-106.

Liu Y., Huang Q., Liu W., Liu Q., et al. 2012. Establishment of VCA and EBNA 1, Ig A- Based Combination by Enzyme-linked Immunosorbent Assay as Preferred Screening Method for Nasopharyngeal Carcinoma : a two-stage design with a preliminary performance study and a mass screening in Southern China *Int J of Cancer*, 131(2): 406-16

Lo YMD, Chan LYS, Kwok WL et al. 1999. Quantitative Analysis of Cell-free Epstein-Barr Virus DNA in Plasma of Patients with Nasopharyngeal Carcinoma. *Cancer Research*; 59:1188-1191.

Lo S, Wai KH, Wei WI. 2004. Outcome of Patients With Positive Epstein-Barr Virus Serologic Status in the Absence of Nasopharyngeal Carcinoma in Hongkong. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 130:770-772.

Goh BC, LU J et al. 2006. Familial nasopharyngeal carcinoma in cohort of patients. *Arch Otolaryngo Head Neck Surg.*; 132:1;82-5.



- Lin J, Jan J. 1999. Locally advanced nasopharyngeal cancer: long term outcomes of radiation therapy. *Radiology*; 211:513-518
- Morgan A. Vaccine and Immunotherapy Technologies. Sir Mark Oliphant conferences(<http://www.w3.org/1999/xhtml>, diakses 13 April 2009)
- Neel III HB, Taylor WF,. 1990.Application of Epstein-Barr Virus serologic testing and a new staging system to North American patients with nasopharyngeal carcinoma. Dalam: Diagnosis, staging and management of nasopharyngeal cancer. *Head and neck cancer*. American society for head and neck surgery. BC Decker inc. Toronto, Philadelphia:;153-155.
- Ng M.H., Chen H.L., Iuo R.X., Chan K.K., Woo P.C., et al.1998. Serological Diagnosis of Nasopharyngeal Carcinoma by Enzyme Linked Immunosorbent Assay : Optimization, Standardization and Diagnostic Criteria. *Chin Med J (Engl)*. Jun, 111(6) :531-6.
- Paramita D.K., Fachiroh J, Middledrop J.M., et al.2009.. Two-step Epstein-Barr Virus Immunoglobulin A Enzyme-Linked Immunosorbent Assay System for Serological Screening and Confirmation of Nasopharyngeal Carcinoma. *Clin Vaccine Immunol*.May, 16 (5) : 707-11.
- Paramita D.K., Fachiroh J., Haryana S.M., Middledrop J.M. 2008. Evaluation of Commercial EBV Recombline Assay for diagnosis of Nasopharyngeal Carcinoma. *J of Clin Virology* 42(4):343-52.
- Pathmanathan. Pathology. Dalam: Chong VFH, Tsao SY., 1997.eds. Nasopharyngeal carcinoma. Singapore: Loi Printing,;6-13.
- Punagi AQ, Savitri E. 2007.Profil Karsinoma Nasofaring di Rumah Sakit Pendidikan FK.UNHAS Periode Januari 2004-Juni 2007.Bagian THT-FKUH,1-5
- Punagi AQ. 2008.Analisis Polimorfisme Gen VEGF Pada Gambaran Klinis Dan Histopatogi Karsinoma Nasofaring. Disertasi Program Doktor,FK-UNHAS,
- Raab-Traub, Robertson E. 2005. Epstein Barr Virus in The Pathogenesis of NPC. Epstein-Barr Virus. Caister Academic Press, England. 71-92
- Qian,Tao et al. 2006.Epstein-Barr virus(EBV) and its associated human cancers- genetics,pathobiology and novel therapeutics. *Frontiers in Bioscience* 11,; 2-2713.



- Savitri Eka, 2009. Ekspresi Interleukin-8, Interleukin-10 dan Viral Load Epstein-Barr sebagai Indikator Prognostik Pada Kanker Nasofaring, Disertasi Program Doktor, FK-UNHAS
- Savitri Eka, Mubarika S. 2012. Profil Viral Load Epstein Barr Virus dan Titer Antibodi IgA (VCA-p18+EBNA 1) pada Karsinoma Nasofaring di Makassar dan Yogyakarta. *J Indon Med Assoc*, Vol.62.No.5:174-7
- Stevens SJC, Verkuijlen SAWM, Hariwiyanto B, et al. 2006. Non-invasive diagnosis of nasopharyngeal carcinoma: nasopharyngeal brushings reveal high Epstein-Barr virus DNA load and carcinoma-specific viral BARF1 mRNA. Department of Pathology, Vrije Universiteit Medical Center, Amsterdam, The Netherlands; Gadjah Mada University, Yogyakarta, Indonesia, Dr Cipto Mangunkusumo Hospital, Jakarta and Departement of Head & Neck Oncology and Surgery, Antoni van Leeuwenhoek Hospital, Amsterdam, The Netherlands. *Int.J. Cancer*; 119:608-614.
- Stevens S.J.C., Verkuijlen S.A.W.M., Hariwiyanto B., Fachiroh J., Paramita D.K., et al. 2005. Diagnostic Value of Measuring Epstein-Barr Virus (EBV) DNA Load and Carcinoma-Specific viral mRNA in Relation to Anti-EBV Immunoglobulin A (Ig A) and Ig G Antibody Levels in Blood of Nasopharyngeal Carcinoma Patients from Indonesia. *J Clin. Microbiology*. July, 43(7) : 3066-73
- Susworo R. 2004. Kanker Nasofaring Epidemiologi dan Pengobatan Mutakhir. *Cermin Dunia Kedokteran*; 144:16-18.
- Shanmugaratnam K, Chan SH, de-The G, Goh JEH, Khor TH, Simon MJ, Tye CY. 1979. Histopathology of nasopharyngeal carcinoma: Correlation with epidemiology, survival rates and other biological characteristics. *Cancer*; 44: 1029-44.
- Tabuchi K., Nakayama M., Nishimura B., Hayashi K., Hara A. 2011. Early Detection of Nasopharyngeal Carcinoma. *Int J of Otolaryngology*.
- Thomson MP, Kurzrock R. 2004. Epstein-Barr Virus and Cancer. *Review. Clinical Cancer Research* ; 10: 803-821.
- Tiwawech D., Srivatanakul P., Karaluk A., Ishida T. 2003. Significance of Plasma Ig A and Ig G Antibodies to Epstein-Barr Virus Early and Viral Capsid Antigens in Nasopharyngeal Carcinoma. *Asian Pacific J Cancer Prev*, Apr-Jun: 4: 113-8



- Wei WI, Sham JS. Cancer of the nasopharyng. 1996. Dalam: *Cancer of the Head and Neck*. Third edition. editor: Eugene N Myers & James Y Suen. WB Saunders company. Philadelphia, : 277-93.
- Wei WI. 2006. Nasopharyngeal Cancer. In : Bailey BJ, Johnson JT. *Head & Neck Surgery-Otolaryngology*, 4th edition, Philadelphia : Lippincott Williams & Wilkins, 1657-68.
- Wei HJ, Bing JF, Zong LX et al. 2004. Familial Risk and Clustering of Nasopharyngeal Carcinoma in Guangdong, China. *Cancer*;101:363-9.
- Wei HJ, Collins A, Yi XZ et al. 2005. Complex segregation analysis of nasopharyngeal carcinoma in Guangdong, China: evidence for a multifactorial mode of inheritance (complex segregation analysis of NPC in China). *European journal of Human Genetics*;13:248-52.
- Wai, Tong Ng, Tsz KY, Yung RWH et al. 2005. Screening for family members of patients with nasopharyngeal carcinoma. *Int. J. cancer*;113:998-1001.
- Tay WL, Tan PH, Yip GWC et al. 2008. Nasopharyngeal Carcinoma: an Enigmatic Tumor. *ARBS Annual Review of Biomedical Sciences*;10:27-35.
- Xin Li, Ghandri N, Piacantelli D et al. 2007. Associations between HLA Class I alleles and the prevalence of nasopharyngeal carcinoma (NPC) among Tunisians. *Journal of Translational medicine*;5:22;1-13
- Xiaohong (Rose) Yang et al. 2005. Distribution of Epstein-Barr Viral Load in Serum of Individuals from Nasopharyngeal Carcinoma High-Risk Families in Taiwan. *Int J of Cancer* Feb 1; 118(3) :780-4
- Xiaohong (Rose) Yang, Diehl S, Pfeiffer R et al. 2005. Evaluation of Risk Factors for Nasopharyngeal Carcinoma in High-Risk Nasopharyngeal Carcinoma Families in Taiwan. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 14:4;900-905.
- Yin CC, Jen YC, Mei YL, et al. 2001. Serologic Markers of Epstein-Barr Virus Infection and Nasopharyngeal Carcinoma in Taiwanese Men. *N. Engl J Med*;345:1877-82.
- Zhang F, Zhang J. 1999. Clinical hereditary characteristics in nasopharyngeal carcinoma through Ye-Liang's family cluster. *Chin Med J (Engl)*;112:2;185-7.
- Zhang LG, Wu YC, et al. 1985. Prospective studies on nasopharyngeal carcinoma in Epstein-Barr virus IgA/VCA antibody-positive persons in Wuzhou City, China. *J Cancer*;36:545-7.



No	Nama	Keluarga dari	Umur	Suku	JK	stadium	PA	karsinogenesis	NWB	IgA(VCA-p18+EBNA1)	Viral Load
1	Ny.Yt	E.L,44th (anak)	25th	Toraja	P	T2bN1M0 / IIB	Undifferentiated Ca (Tipe III)	ikan asin	1	0,069	0 (tidak terdeteksi)
2	Tn. Ir	E.L (saudara)	41th	Toraja	L	T2bN1M0 / IIB	Undifferentiated Ca (Tipe III)	ikan bakar	2	0,0155	0 (tidak terdeteksi)
3	Ny. NI	Nas,68 th (anak)	29 thn	Bugis	P	T2aN3M0/IVB	SCC Non Keratinizing non differentiated bilateral (tipe III)	ikan bakar, ikan asin, obat nyamuk bakar	11	0,1355	0 (tidak terdeteksi)
4	Ny.Y	Dg.Nino,64 th (anak)	31th	Makassar	P	T3N2M1/III	SCC Non Keratinizing diferensiasi jelek (tipe III)	ikan bakar	23	0	0 (tidak terdeteksi)
5	Ny.Md	Pas,65 th(anak)	36th	Bugis	P	T4N1M0/IVA	SCC Non Keratinizing non differentiated (tipe III)	ikan asin,ikan bakar	26	0,6725	0 (tidak terdeteksi)
6	Tn.J	Pas,65 th(anak)	35th	Bugis	L	T4N1M0/IVA	SCC Non Keratinizing non differentiated (tipe III)	ikan asin,ikan bakar	27	0,096	0 (tidak terdeteksi)
7	Tn.S	L.W,66 th(anak)	30th	Raha	L	T1N3M0/IVB	SCC tidak berkeratinisasi tidak berdiferensiasi (III)	ikan bakar,ikan asin,rokok	28	0,0475	0 (tidak terdeteksi)
8	An.S	Sum,39 th(anak)	13th	Bugis	P	T1N3M0/IVB	SCC tidak berkeratinisasi tidak berdiferensiasi (III)	ikan asin	29	0,028	0 (tidak terdeteksi)
9	Tn.Ag	A. M (cucu)	17th	Bugis	P	T2N0M0/II	SCC tdk berkeratin tdk berdiff (III)	rokok,ikan asin	30	0,076	0 (tidak terdeteksi)
10	Tn.Ar	Az ,59 th(anak)	20th	Bugis	L	T4 N3M1/lvc	SCC tidak berkeratinisasi tidak berdiferensiasi (III)	ikan asin	31	0,1145	263.000
11	Tn. Bs	Som ,60 th (anak)	27th	Bugis	L	T3N2M0/III	SCC non keratinizing (III)	rokok, ikan bakar, asin	32	0,058	135.100
12	Ny. Mn	Som ,60 th (anak)	42 thn	Bugis	P	T3N2M0/III	SCC non keratinizing (III)	ikan bakar	33	0,031	0 (tidak terdeteksi)
13	Tn. M.N	Som ,60 th (anak)	66th	Bugis	L	T3N2M0/III	SCC non keratinizing (III)	rokok, ikan bakar, asin	34	0,1485	0 (tidak terdeteksi)
14	Tn. Sm	Amd ,60 th(anak)	21th	Bugis	L	T1N0M0/I	SCC berdiferensiated (II)	ikan asin,bakar	37	0,019	0 (tidak terdeteksi)
15	Tn.Rb	D.D,38 th(saudara)	32th	Toraja	P	T3N0M0/III	SCC tidak berkeratinisasi tidak berdiferensiasi (III)	ikan bakar	38	0,0205	125.180.000.000
16	Tn. An	D.D ,38 th(saudara)	40th	Toraja	L	T3N0M0/III	SCC tidak berkeratinisasi tidak berdiferensiasi (III)	rokok,ikan bakar	40	0,1915	0 (tidak terdeteksi)
17	Tn. Am	Amd ,60 th (anak)	26th	Bugis	L	T3N0M0/III	SCC non keratinizing (III)	ikan asin,ikan bakar	42	0,171	17.092.000
18	Nn. Ni	R(anak)	22th	Makassar	P	T3N0M0/III	SCC non keratinizing (III)	ikan bakar	43	0,1835	0 (tidak terdeteksi)
19	Tn. C	R(anak)	28th	Makassar	L	T3N0M0/III	SCC non keratinizing (III)	rokok, ikan bakar	45	0,314	0 (tidak terdeteksi)
20	Tn.Srd	Rn ,55 th(anak)	16th	Bugis	P	T1N1M0/IIB	SCC tidak berkeratinisasi tidak berdiferensiasi (III)	ikan asin,bakar	47	0,1565	0 (tidak terdeteksi)
21	Tn			Bugis	L	T4N2M1/IVC	SCC tidak berkeratinisasi tidak berdiferensiasi (III)	rokok,ikan bakar	48	0,103	334.200
22	Ny			Bugis	P	T2N0M0/lia	SCC tidak berkeratinisasi tidak berdiferensiasi (III)	ikan bakar, ikan asin	51	0,095	0 (tidak terdeteksi)
23	Ny			Toraja	P	T2N3M0/IVB	SCC Non Keratinizing non differentiated bilateral (tipe III)	ikan bakar,daging asap	55	2,377	0 (tidak terdeteksi)
24	Ny			Toraja	P	T2N3M0/IVB	SCC Non Keratinizing non differentiated bilateral (tipe III)	ikan bakar,daging asap	56	0,9075	0 (tidak terdeteksi)
25	Ny			Bugis	P	T2N3M0/IVB	SCC Non keratinizing (III)	ikan asin,ikan bakar	57	2,4065	408.000



26	Ny.A.I	A.G,53 th(saudara)	40th	Bugis	P	T2N3M0/IVB	SCC Non keratinizing (III)	ikan asin,ikan bakar	58	2,391	421.800
27	Tn M. S.	Ts, 60th (anak)	28th	Toraja	L	T3N2M0/III	SCC Non Keratinizing non differentiated bilateral (tipe III)	rokok,alkohol	59	0,5335	278.400
28	Tn.Ib	Sur,48th (anak)	19th	Bugis	L	T4N1M0/IVA	SCC tdk berdiff (II)	rokok,ikan bakar,ikan asin	60	2,1365	6.732
29	Ny.Hj.A	M.Y,22th (ibu)	49th	Bugis	P	T3N2M0/III	SCC tidak berkeratinisasi ,diferensiasi jelek (III)	ikan asin,ikan bakar	61	1,0565	0 (tidak terdeteksi)
30	Ny.Has	Hj.C,34 th (saudara)	40th	Bugis	P	T2N3M0/IVB	SCC tidak berkeratinisasi,tidak berdiferensiasi (III)	ikan asin,ikan bakar,kayu bakar	62	1,991	0 (tidak terdeteksi)
31	Ny.Nh	B.S.,61 th (anak)	23th	Bugis	p	T2N0M0/II	SCC Non keratinizing (III)	ikan asin,ikan bakar	63	2,6485	0 (tidak terdeteksi)
32	Tn.Mrd	B.S.,61 th (anak)	20th	Bugis	L	T2N0M0/II	SCC Non keratinizing (III)	rokok,ikan bakar	64	1,7085	0 (tidak terdeteksi)
33	Tn.W	N.S,54th(anak)	15th	Bali	L	T4N3M0/IVB	SCC keratinizing,tidak berdiferensiasi (III)	sate,kemenyan	65	0,2975	0 (tidak terdeteksi)
34	Tn.Rm	R.D.N,49th (anak)	24th	Bugis	L	T1N1M0/IIB	SCC Non Keratinizing ,differentiated bilateral (tipe II)	rokok,ikan bakar,ikan asin	66	1,835	0 (tidak terdeteksi)
35	Ny.Msr	K.D.R,41 th(saudara)	35th	Makassar	P	T4N2M0/IVA	SCC Non Keratinizing ,differentiated bilateral (tipe II)	ikan asin,ikan bakar,kayu bakar	67	2,5915	0 (tidak terdeteksi)
36	Ny.My	B.S.,61 th (anak)	32th	Bugis	p	T2N0M0/II	SCC Non keratinizing (III)	ikan asin,ikan bakar	68	2,6355	0 (tidak terdeteksi)
37	Ny.Ntl	S.S,71 th(anak)	34 th	Toraja	P	T1N0M0/I	Undifferentiated Ca (Tipe III)	ikan asin	16	2,5845	0 (tidak terdeteksi)
38	Nn.Alf	Has,44th (anak)	15th	Makassar	P	T1N1M0/IIB	SCC Non Keratinizing diferensiasi jelek (tipe III)	ikan bakar	18	2,0215	0 (tidak terdeteksi)
39	Tn.Af	Has,44 th (anak)	20th	Makassar	L	T1N1M0/IIB	SCC Non Keratinizing diferensiasi jelek (tipe III)	ikan bakar	19	1,9735	0 (tidak terdeteksi)
40	Tn.Idr	D.N,64 th (anak)	22th	Makassar	P	T3N2M1/III	SCC Non Keratinizing diferensiasi jelek (tipe III)	ikan bakar	24	1,773	0 (tidak terdeteksi)
41	Ny. Nhd	Hd,60 th(anak)	24th	Bugis	P	T4N2M1/IVC	SCC tidak berkeratinisasi tidak berdiferensiasi (III)	Ikan Bakar	44	0,7125	0 (tidak terdeteksi)
42	Tn. Yu	D.P,57 th (saudara)	52 th	Toraja	L	T1N2M0/III	SCC tidak berkeratinisasi ,diferensiasi jelek (III)	rokok, ikan bakar	52	1,1935	0 (tidak terdeteksi)
43	Tn.M.A	Mul,41 th (saudara)	33th	Makassar	L	T2N3M0/IVB	SCC tidak berkeratinisasi ,diferensiasi jelek (III)	rokok,ikan bakar	53	1,207	0 (tidak terdeteksi)
44	H. H	Nas (anak)	42 thn	Bugis	L	T2aN3M0/IVB	SCC non keratinisasi tidak berdiferensiasi bilateral (III)	ikan asin, ikan bakar	8	0,326	247.600
45	Tn. Am	Nas(anak)	40 thn	Bugis	L	T2aN3M0/IVB	SCC non keratinisasi tidak berdiferensiasi bilateral (III)	ikan asin, ikan bakar	9	0,652	7.678.000
46	Ny. Ris	Nas,68 th (anak)	35 thn	Bugis	P	T2aN3M0/IVB	SCC Non Keratinizing non differentiated bilateral (tipe III)	ikan bakar, obat nyamuk bakar	10	0,372	0 (tidak terdeteksi)
47	Ny			Bugis	P	T2aN3M0/IVB	SCC Non Keratinizing non differentiated bilateral (tipe III)	ikan bakar, ikan asin, obat nyamuk bakar	12	2,3795	405.600
48	Ny			Makassar	P	T1N1M0/IIB	SCC tidak berkeratinisasi,tidak berdiferensiasi (III)	ikan asin,ikan bakar,kayu bakar	14	1,898	0 (tidak terdeteksi)
49	Ny			Toraja	P	T4N3M0/IVB	SCC Non keratinizing (III)	ikan bakar,daging asap	69	0,0895	0 (tidak terdeteksi)
50	Ny			Toraja	P	T4N3M0/IVB	SCC Non keratinizing (III)	ikan bakar,daging asap	70	0,868	21.400