

**EKSPRESI NRF2 SEBAGAI INDIKATOR
STRES OKSIDATIF PADA AMELOBLASTOMA**

SKRIPSI



Oleh:

YASMINIA SAMBAC SHOFIE PUTRI LLAHFI
NIM: 021911133001

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

**EKSPRESI NRF2 SEBAGAI INDIKATOR
STRES OKSIDATIF PADA AMELOBLASTOMA**

SKRIPSI



Oleh:

YASMINIA SAMBAC SHOFIE PUTRI LLAHFI
NIM: 021911133001

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

LEMBAR PENGESAHAN

**EKSPRESI NRF2 SEBAGAI INDIKATOR
STRES OKSIDATIF PADA AMELOBLASTOMA**

SKRIPSI

**Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Menyelesaikan
Pendidikan Dokter Gigi Di Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Airlangga Surabaya**

Oleh:

YASMINIA SAMBAC SHOFIE PUTRI LLAHFI
NIM: 021911133001

Menyetujui

Pembimbing Utama



Sisca Meida Wati, drg.,
M.Kes., Ph.D., Sp.PMMF
NIP. 198805192012122002

Pembimbing Serta



Bambang Sumaryono, drg.,
M.Kes., Sp.PMMF
NIP. 195712211985031001

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

PENETAPAN PANITIA PENGUJI SKRIPSI

Skripsi ini telah diuji pada tanggal 29 Desember 2022

PANITIA PENGUJI SKRIPSI

- 1. Prof. Dr. Retno Pudji Rahayu, drg., M.Kes., Sp.PMMF (K)**
(Ketua Penguji)
- 2. Prof. Dr. Theresia Indah Budhy, drg., M.Kes., Sp.PMMF (K)**
(Sekretaris Penguji)
- 3. Sisca Meida Wati, drg., M.Kes., Ph.D., Sp.PMMF (Pembimbing**
Utama/Anggota Penguji)
- 4. Bambang Sumaryono, drg., M.Kes., Sp.PMMF (Pembimbing**
Serta/Anggota Penguji)

SURAT PERNYATAAN ORISINALITAS

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Yasminia Sambac Shofie Putri Llahfi

NIM : 021911133001

Program Studi : Pendidikan Dokter Gigi

Fakultas : Kedokteran Gigi

Jenjang : S1

Menyatakan bahwa saya tidak melakukan plagiat dalam penulisan skripsi saya yang berjudul:

**EKSPRESI NRF2 SEBAGAI INDIKATOR STRES OKSIDATIF
PADA AMELOBLASTOMA**

Apabila suatu saat nanti terbukti melakukan tindakan plagiat, maka saya akan menerima sanksi yang telah ditetapkan.

Demikian surat pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Surabaya, 29 Desember 2022




Yasminia Sambac Shofie Putri Llahfi

021911133001

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur saya panjatkan kehadirat Allah swt. karena atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga saya dapat menyelesaikan skripsi berjudul **“Ekspresi NRF2 sebagai Indikator Stres Oksidatif pada Ameloblastoma”** sebagai salah satu syarat kelulusan Program Studi Pendidikan Dokter Gigi Strata 1, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Surabaya. Shalawat serta salam tidak lupa tercurahkan kepada Nabi Muhammad saw. beserta keluarga dan para sahabatnya. Skripsi ini tidak lepas dari bantuan, dukungan, dan bimbingan dari berbagai pihak. Perkenankanlah saya menyampaikan terima kasih kepada:

1. Dr. Agung Sosiawan, drg., M.Kes. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga yang telah memberikan kesempatan untuk menempuh pendidikan S-1 di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga.
2. Prof. Dr. Retno Pudji Rahayu, drg., M.Kes., Sp.PMMF (K) selaku Ketua Departemen Patologi Mulut dan Maksilofasial sekaligus ketua penguji skripsi yang telah memberikan arahan dan masukan yang sangat berarti dalam penyempurnaan skripsi ini.
3. Sisca Meida Wati, drg., M.Kes., Ph.D., Sp.PMMF selaku pembimbing utama yang senantiasa membimbing, memberi arahan dan masukan serta memberikan motivasi dalam pembuatan skripsi ini.
4. Bambang Sumaryono, drg., M.Kes., Sp.PMMF selaku pembimbing serta yang telah membimbing, memberi arahan dan masukan dalam pembuatan skripsi ini.
5. Prof. Theresia Indah Budhy, drg., M.Kes., Sp.PMMF (K) selaku anggota penguji skripsi yang telah memberikan arahan dan masukan yang sangat berarti dalam penyempurnaan skripsi ini.
6. Astari Puteri, drg. yang telah memberikan arahan dan masukan selama saya mengerjakan proposal skripsi yang membangun kesempurnaan skripsi ini.
7. Mbak Levi Indriani selaku sekretaris Departemen Patologi Mulut dan Maksilofasial yang senantiasa mengingatkan, memberi semangat dan saran dalam penyusunan skripsi ini.

8. Ayah dan mamah tercinta, Abdullah Effendi dan Siti Luthfiyah, adik saya Kalyca, serta seluruh saudara dan keluarga yang telah memberikan semangat, motivasi, dan doa yang sangat berharga untuk setiap langkah penyusunan skripsi ini.
9. Seluruh dosen Fakultas Kedokteran Gigi, segenap staf pendidikan, akademik, dan sebagainya yang telah memberikan ilmu, pengalaman serta dukungannya.
10. Dr. Willy Sanjaya, dr., Sp.PA dan Priangga Adi Wiratama, dr., Sp.PA yang telah memberikan arahan dan masukan serta membantu selama proses penelitian skripsi ini.
11. Segenap staf Patologi Anatomi RSUD Dr. Soetomo yang telah membantu selama proses penelitian skripsi ini.
12. Teman-teman seperjuangan Desmodentium 2019, serta semua sahabat saya semasa sekolah yang telah memberikan doa dan dukungan yang berharga.
13. Seluruh pihak yang turut membantu dalam penyusunan skripsi ini dan tidak dapat saya sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih membutuhkan penyempurnaan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak yang memerlukan.

Surabaya, 29 Desember 2022

Penulis

**EXPRESSION OF NRF2 AS AN INDICATOR OF OXIDATIVE STRESS
IN AMELOBLASTOMA**

ABSTRACT

Background: Ameloblastoma is a slowly growing but locally infiltrative aggressive epithelial odontogenic neoplasm with various histopathological variants and mostly occurs in the mandible. Oxidative stress is a condition of imbalance between the formation and accumulation of ROS and the ability of the body's biological system to detoxify its reactive products in cells and tissues. NRF2 is a transcription factor that plays an important role in regulating the expression of antioxidant enzymes and cytoprotective genes, which are involved in cellular oxidative stress, electrophilic and oncogenic processes. Oxidative stress is a risk factor for the progression and tumorigenesis of various malignancies, one of which is ameloblastoma. However, little is known about the specific mechanism between oxidative stress and ameloblastoma and the role of NRF2 in ameloblastoma pathogenesis. **Purpose:** To explain of NRF2 overexpression in ameloblastoma. **Methods:** Using paraffin block patients with ameloblastoma from Anatomical Pathology installation of RSUD Dr. Soetomo 2016-2020, consisting of 7 follicular, 8 plexiform, 10 follicular-plexiform, and 7 acanthomatous, stained in IHC anti-human nrf2 antibody were included in this study. Observations were made with microscope to see the tissues expressing NRF2. The expression of NRF2 were analyzed using Fisher's Exact and Chi Square test. **Results:** The expression of NRF2 in ameloblastoma cell components was found, which was significantly higher than in normal conditions. There was a significant difference between the expression of NRF2 in normal oral mucosa and ameloblastoma, but there was no significant difference between the expression of NRF2 in various type of ameloblastoma. **Conclusion:** NRF2 expression was increased (overexpression) in ameloblastoma.

Keywords: Ameloblastoma, NRF2, KEAP1-NRF2 system, oxidative stress.

EKSPRESI NRF2 SEBAGAI INDIKATOR STRES OKSIDATIF PADA AMELOBLASTOMA

ABSTRAK

Latar Belakang: Ameloblastoma merupakan neoplasma odontogenik epitelial agresif yang tumbuh lambat namun infiltratif secara lokal dengan berbagai varian histopatologi dan sebagian besar terjadi di mandibula. Stres oksidatif merupakan suatu kondisi ketidakseimbangan antara pembentukan dan akumulasi ROS dengan kemampuan sistem biologis tubuh untuk mendetoksifikasi produk reaktifnya di dalam sel dan jaringan. NRF2 merupakan faktor transkripsi yang berperan penting dalam mengatur ekspresi enzim antioksidan dan gen sitoprotektif, yang terlibat dalam proses stres oksidatif seluler, elektrofilik dan onkogenik. Stres oksidatif menjadi salah satu faktor risiko progresivitas dan tumorigenesis berbagai kondisi keganasan salah satunya ameloblastoma. Namun, sedikit yang diketahui tentang mekanisme spesifik antara stres oksidatif dan ameloblastoma serta hubungan peran NRF2 pada patogenesis ameloblastoma. **Tujuan:** Untuk mengetahui apakah terjadi overekspresi protein NRF2 pada ameloblastoma secara imunohistokimia. **Metode:** Menggunakan potongan blok parafin pasien ameloblastoma dari laboratorium PA RSUD Dr. Soetomo tahun 2016-2020, terdiri dari 7 folikular, 8 pleksiform, 10 folikular-pleksiform, dan 7 akantomatous, diberi pewarnaan IHC *anti-human nrf2 antibody*. Selanjutnya dilakukan pengamatan dengan mikroskop untuk melihat jaringan yang mengekspresikan NRF2. Hasil ekspresi NRF2 dianalisis dengan uji *Fisher's Exact* dan *Chi Square*. **Hasil:** Ditemukan ekspresi NRF2 positif pada 25 sampel ameloblastoma, yang secara signifikan lebih tinggi dibandingkan dengan sampel ameloblastoma yang tidak mengekspresikan NRF2. Terdapat perbedaan yang signifikan antara ekspresi NRF2 pada mukosa rongga mulut normal dengan jaringan ameloblastoma, namun tidak ada perbedaan yang signifikan antara ekspresi NRF2 pada berbagai tipe ameloblastoma. **Kesimpulan:** Terjadi peningkatan ekspresi (overekspresi) NRF2 pada ameloblastoma.

Kata kunci: Ameloblastoma, NRF2, sistem KEAP1-NRF2, stres oksidatif.

DAFTAR ISI

	Halaman
Sampul Depan	i
Sampul Dalam.....	ii
Lembar Pengesahan	iii
Penetapan Panitia Penguji Skripsi.....	iv
Surat Pernyataan Orisinalitas	v
Ucapan Terima Kasih.....	vi
<i>Abstract</i>	viii
Abstrak	ix
Daftar Isi.....	x
Daftar Tabel	xiii
Daftar Gambar.....	xiv
Daftar Lampiran	xv
Daftar Singkatan.....	xvi
 BAB 1 PENDAHULUAN	 1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
 BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	 4
2.1 Ameloblastoma	4
2.1.1 Etiologi dan Patogenesis	5
2.1.2 Gambaran Klinis	6
2.1.3 Klasifikasi	6
2.1.4 Gambaran Histopatologi	10
2.1.5 Gambaran Radiografis	13
2.1.6 Prognosis dan Terapi.....	15
2.2 ROS dan Stres Oksidatif	16
2.2.1 <i>Reactive Oxygen Species</i> (ROS)	16

2.2.2 Stres Oksidatif.....	19
2.3 NRF2	20
2.3.1 Struktur NRF2	20
2.3.2 Aktivitas NRF2 pada Kondisi Normal	21
2.3.3 Aktivitas NRF2 pada Kondisi Stres Oksidatif	23
2.3.4 NRF2 pada Metabolisme dan Progresivitas Kanker dan Tumor	24
2.4 <i>Mutation Pathway</i> pada Ameloblastoma	27
2.4.1 MAPK <i>Pathway</i>	29
2.4.2 FGFR2.....	30
2.4.3 RAS	30
2.4.4 BRAF	32
2.4.5 MEK.....	33
2.4.6 ERK.....	34
 BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN	35
3.1 Kerangka Konseptual Penelitian	35
3.2 Analisis Kerangka Konseptual	36
3.3 Hipotesis Penelitian.....	37
 BAB 4 METODE PENELITIAN.....	38
4.1 Jenis Penelitian.....	38
4.2 Rancangan Penelitian	38
4.3 Subjek Penelitian dan Besar Sampel.....	38
4.3.1 Subjek Penelitian.....	38
4.3.2 Besar Sampel.....	39
4.4 Variabel Penelitian	40
4.5 Definisi Operasional Variabel	40
4.6 Lokasi dan Waktu Penelitian	41
4.7 Alat dan Bahan Penelitian.....	41
4.7.1 Alat Penelitian.....	41
4.7.2 Bahan Penelitian.....	42
4.8 Prosedur Penelitian.....	43

4.8.1 Pengumpulan Sampel.....	43
4.8.2 Pengecatan HE	44
4.8.3 Pengecatan IHC.....	45
4.9 Pengolahan dan Analisis Data.....	47
4.10 Alur Penelitian	49
 BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA	 50
5.1 Hasil Penelitian	50
5.1.1 Ekspresi NRF2	52
5.2 Analisis Data Penelitian	55
5.2.1 Analisis Data Ekspresi NRF2	55
 BAB 6 PEMBAHASAN.....	 57
 BAB 7 PENUTUP	 62
7.1 Kesimpulan	62
7.2 Saran.....	62
 DAFTAR PUSTAKA	 63
 LAMPIRAN.....	 67

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Klasifikasi Ameloblastoma	7
Tabel 5.1 Karakteristik Klinikopatologi dan Distribusi Lesi Berdasarkan Lokasi Anatomi.....	51
Tabel 5.2 Perbedaan Ekspresi NRF2 antara Mukosa Rongga Mulut Normal (Berdekatan dengan Tumor) dengan Ameloblastoma.....	53
Tabel 5.3 Perbedaan Ekspresi NRF2 antara Berbagai Tipe Ameloblastoma secara Imunohistokimia	54
Tabel 5.4 Uji <i>Fisher's Exact</i>	55
Tabel 5.5 Uji <i>Chi Square</i>	56

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Ameloblastoma tipe solid/multikistik.....	11
Gambar 2.2 Ameloblastoma tipe unikistik.....	11
Gambar 2.3 Ameloblastoma tipe perifer	12
Gambar 2.4 Ameloblastoma tipe desmoplastik.....	12
Gambar 2.5 <i>Ameloblastic carcinoma</i>	13
Gambar 2.6 Gambaran radiografis ameloblastoma	14
Gambar 2.7 Gambaran radiografis <i>large ameloblastoma</i>	14
Gambar 2.8 <i>The double-faced role of ROS</i>	18
Gambar 2.9 Struktur NRF2	21
Gambar 2.10 Regulasi NRF2 pada sel normal	22
Gambar 2.11 Regulasi NRF2 pada sel kanker.....	25
Gambar 2.12 <i>Mutation pathway</i> pada ameloblastoma	27
Gambar 5.1 Hasil pengecatan IHC pada mukosa rongga mulut normal dan ameloblastoma.....	53
Gambar 5.2 Hasil pengecatan IHC pada berbagai tipe ameloblastoma	54

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Laik Etik Penelitian	67
Lampiran 2. Hasil Uji Statistika	68

DAFTAR SINGKATAN

AOS	: <i>Anti-oxidative stress response element</i>
ARE	: <i>Antioxidant Response Element</i>
BRAF	: <i>B-Raf proto-oncogene serine/threonine kinase</i>
bZIP	: <i>basic leucine zipper</i>
CMYC	: <i>C-myc proto-oncogene</i>
CNC	: <i>Cap'n'collar</i>
CUL3	: <i>Cullin 3-based ubiquitin E3 ligase complex</i>
DLG	: <i>Discs-large</i>
EGFR	: <i>Epidermal Growth Factor Receptor</i>
eNOS	: <i>endothelial nitric oxide</i>
EpRE	: <i>Electrophile Response Element</i>
ERK	: <i>Extracellular signal-Regulated Kinase</i>
ETC	: <i>Electron Transport Chain</i>
FGF	: <i>Fibroblast Growth Factors</i>
FGF1	: <i>Fibroblast Growth Factor 1</i>
FGF2	: <i>Fibroblast Growth Factor 2</i>
FGFR2	: <i>Fibroblast Growth Factor Receptor 2</i>
GTP	: <i>Guanosine triphosphate</i>
HRAS	: <i>Harvey rat sarcoma viral oncogene homolog</i>
KEAP1	: <i>Kelch-like ECH related protein 1</i>
KRAS	: <i>Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog</i>
MAPK	: <i>Mitogen-Activated Protein Kinase</i>
MEK	: <i>MAPK/ERK kinase</i>
NADPH	: <i>Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate</i>
Neh	: <i>NRF2-ECH homology</i>
NFE2	: <i>Nuclear Factor Erythroid 2</i>

NFE2L2	: <i>Nuclear Factor Erythroid derivative 2 Like 2</i>
NOX	: <i>NADPH oxidases</i>
NQO1	: <i>NAD(P)H quinone dehydrogenase 1</i>
NRAS	: <i>Neuroblastoma RAS viral oncogene homolog</i>
NRF2	: <i>Nuclear factor-erythroid 2-Related Factor-2</i>
NRF2-ECH	: <i>NRF2 erythroid-derived CNC homology</i>
NSCLC	: <i>Non-Small Cell Lung Cancer</i>
OSCC	: <i>Oral Squamous Cell Carcinoma</i>
pJNK	: <i>phosphorylated c-Jun N-terminal Kinases</i>
PLGA	: <i>Polymorphous Low-Grade Adenocarcinoma</i>
RAS	: <i>Rat Sarcoma</i>
RNS	: <i>Reactive Nitrogen Species</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
RTK	: <i>Reseptor Tirosin Kinase</i>
SACC	: <i>Salivary Adenoid Cystic Carcinoma</i>
sMAF	: <i>small musculoaponeurotic fibrosarcoma</i>
TNF α	: <i>Tumor Necrosis Factor Alpha</i>
WHO	: <i>World Health Organization</i>
XO	: <i>Xanthine Oxidase (XO)</i>