

## **BAB 5**

### **HASIL PENELITIAN**

#### **5.1 .Karakteristik Pasien**

Empat puluh pasien karsinoma mammae stadium III B yang sesuai dengan kriteria inklusi dalam penelitian ini, dan selanjutnya dibagi ke dalam dua kelompok, kontrol dan perlakuan berdasarkan randomisasi. Masing-masing kelompok beranggotakan 20 pasien. Kelompok perlakuan mendapatkan terapi EPA selain kemoterapi, sedangkan kelompok kontrol hanya mendapat kemoterapi saja. Pemeriksaan jumlah sel T CD8+ dalam darah perifer dilakukan sebelum kedua kelompok mendapatkan kemoterapi dan perlakuan. Kriteria inklusi studi ini meliputi hasil pemeriksaan patologi anatomi yang berupa karsinoma duktus invasif dan menggunakan regimen CAF. Indeks Karnofsky  $\geq 70$ , dan kadar Hb  $>10$  gr/dl sebagai syarat untuk melakukan terapi kemoterapi pada pasien. Pasien dengan kelainan hepar, paru-paru, alergi terhadap EPA, terlambat mengikuti jadwal kemoterapi lebih dari 7 hari, dan berusia di atas 70 tahun dieksklusi dari studi ini.

Penelitian ini melibatkan pasien wanita dengan rerata usia  $45,95 \pm 5,03$  tahun sedangkan kelompok perlakuan (EPA)  $46,0 \pm 5,56$  tahun. Uji normalitas menunjukkan kelompok kontrol memiliki sebaran normal ( $p=0,065$ ) namun untuk kelompok perlakuan adalah abnormal ( $p=0,35$ ). Uji Mann Whitney menunjukkan keduanya tidak memiliki perbedaan bermakna ( $p>0,05$ ) dengan nilai  $p = 0,583$ .

## 5.2. Uji Normalitas variabel jumlah sel T CD8+

Jumlah sel T CD8+ diukur sebelum dan setelah 20 hari perlakuan. Uji normalitas dilakukan untuk mengetahui apakah sebaran datanya normal atau tidak. Pada penelitian ini dipilih uji Saphiro-Wilk dengan pertimbangan jumlah sampel adalah 40 pasien (< 50 pasien)

**Tabel 2.** Hasil uji normalitas variabel jumlah sel T CD8+

Variabel		Nilai p
CD8+ pre perlakuan	Kontrol	0,002
	Perlakuan	< 0,05
CD8+ post perlakuan	Kontrol	0,006
	Perlakuan	< 0,05
Selisih CD4	Kontrol	0,018
	Perlakuan	0,113

*\*Shapiro-Wilk*

Data yang ada kami lakukan tranformasi dengan log10 namun tidak kami dapatkan sebaran data yang normal.

## 5.3 Hasil uji beda variabel jumlah sel T CD8+ antara kelompok kontrol dan perlakuan

Uji beda dilakukan pada variabel jumlah sel T CD8+ pre dan post perlakuan serta selisih jumlah sel T CD8+ antara kelompok kontrol dan perlakuan. Variabel jumlah CD8+ pre dan jumlah sel T CD8+ post tersebut digunakan uji Wilcoxon mengingat sebaran kelompok perlakuan yang abnormal ( $p > 0,05$ ).

Variabel selisih jumlah sel T CD8+ pada kedua kelompok dilakukan uji Mann Whitney. Nilai p ketiganya disajikan dalam tabel 3.

**Tabel 3.** Hasil uji beda jumlah sel T CD8+ antara kelompok kontrol dan perlakuan

Variabel	Kontrol	Perlakuan	Nilai p
CD8+ pre perlakuan	700,5 (170 – 2396)	772,35 (289 – 3462)	0,495*
CD8+post perlakuan	631,8 (227 – 1616)	1131,7 (483 – 3506)	0,001*
Selisih CD8+	-68,7 (-1811 – 648)	359 (13 – 748)	0,003*

\* Uji Mann-Whitney

Berdasarkan hasil tersebut dapat diambil kesimpulan bahwa tidak didapat perbedaan bermakna ( $p=0,495$ ) pada jumlah sel T CD8+ sebelum perlakuan antara kelompok kontrol dan perlakuan. Hal ini menunjukkan bahwa kedua kelompok dapat saling dibandingkan pengukurannya satu sama lain pasca perlakuan. Variabel jumlah CD8+ post perlakuan dari kedua kelompok menunjukkan perbedaan yang berbeda bermakna secara statistik ( $p=0,001$ ). Variabel selisih jumlah sel T CD8+ antara kelompok kontrol dan perlakuan juga menunjukkan hasil berbeda bermakna ( $p=0,003$ ).

#### 5.4 Hasil uji beda variabel jumlah sel T CD8+ sebelum dan sesudah perlakuan

Analisis data dilanjutkan dengan melakukan uji beda secara terpisah antara kelompok kontrol dan perlakuan antara sebelum dan sesudah perlakuan, seperti yang ditampilkan dalam tabel 4 di bawah ini. Analisis uji beda dilakukan dengan Wilcoxon mengingat sebaran data yang abnormal pada kedua kelompok.

**Tabel 4.** Hasil uji beda jumlah sel T CD8+ antara sebelum dan sesudah perlakuan

Variabel	Jumlah sel T CD 8+		Nilai p
	Pre perlakuan	Post perlakuan	
Kontrol	700,5 (170 – 2396)	631,8 (227 – 1616)	0,911*
EPA	772,35 (289 – 3462)	1131,7 (483 – 3506)	< 0,05*

\*Tes Wilcoxon

Hasil uji beda ini menunjukkan pada kelompok kontrol didapatkan tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara rerata pre perlakuan dan post perlakuan (  $p=0,911$  ). Sementara itu dari hasil uji rerata pada pada kelompok perlakuan didapatkan rerata yang meningkat dari 772 menjadi 1131 dengan nilai  $p<0.05$  sehingga didapatkan peningkatan yang bermakna pada kelompok perlakuan.

## 5.5 Pembahasan

Empat puluh pasien dikelompokkan menjadi dua, yaitu kelompok yang mendapat kemoterapi dan EPA, serta kelompok yang hanya mendapat kemoterapi. Kedua kelompok masing-masing beranggotakan 20 individu. Jumlah sel T CD8+ diukur sebelum dan setelah 20 hari masa studi. Penelitian ini bertujuan membuktikan pengaruh penambahan EPA dengan kemoterapi CAF terhadap jumlah sel T CD+ pada kelompok pasien kanker payudara stadium IIIB.

Analisis normalitas data pada variabel usia tidak menunjukkan sebaran data yang normal, dan kami lakukan transformasi menggunakan Log10 namun tetap tidak didapatkan data dengan sebaran yang normal, sehingga untuk uji perbedaan dilakukan dengan Mann-Whitney. Uji non parametrik tersebut didapatkan bahwa rerata usia kedua kelompok tidak berbeda, sehingga diharapkan bias dapat ditekan.

Penilaian terhadap rerata jumlah sel T CD8+ pada kelompok kontrol sebelum dan sesudah kemoterapi tampak bahwa terjadi penurunan dari 700 sel/ l menjadi 631 sel/ l. Hal ini menunjukkan bahwa supresi sel T CD8+ memang terjadi pada pasien yang menderita karsinoma duktal invasif payudara yang menjalani kemoterapi *neoadjuvant*. Hasil ini sesuai dengan banyak penelitian sebelumnya yang menyimpulkan bahwa supresi sistem imun memang terjadi. Supresi sistem imun ini dapat terjadi oleh karena kemoterapi yang diberikan pada pasien. Hasil analisis ini kontras dengan rerata jumlah sel T CD8+ pada kelompok perlakuan pre dan post perlakuan yaitu sebelum perlakuan rerata 772

sel/ l meningkat menjadi 1131 sel/ l. Apabila dibandingkan kedua angka ini mengalami peningkatan yang bermakna ( $p < 0,05$ )

Hal ini sesuai dengan penelitian oleh Catherine J Field, pemberian EPA meningkatkan jumlah sel T CD8+ baik pada darah perifer maupun intra tumor. Aktifitas sel NK dan fagositosis yang dimediasi oleh makrofag dimana distimulasi oleh sel T CD4+ yang berakibat pada aktivasi sel T CD8+ yang akan melakukan stimulasi apoptosis terhadap sel ganas. Sel T CD4+ dapat memfasilitasi imunitas anti tumor melalui beberapa jalan, antara lain: sel T CD4+ mampu memproduksi beberapa sitokin yang mampu memfasilitas perkembangan dan pematangan dari sel T CD8+. <sup>31-34</sup> Sitokin itu antara lain sitokin tipe 1 seperti IL1, IL2, dan IFN . Sitokin tipe2 seperti IL4, IL5,IL10 dan IL13. Selain itu beberapa sitokin seperti GM CSF dan IL3. Sel T CD 4+ juga mampu membantu sel T CD8+ dengan menghasilkan CD40 pada APC yang mempunyai efek antigen presentasi dan co stimulator dan yang terakhir sel T CD4+ dapat secara langsung maupun tidak langsung melisiskan sel target. Sebagai contoh GSM CSF mengaktifkan tumor spesifik CD4+ yang memacu beberapa sitokin. Sitokin ini mampu mengaktifkan makrofag dan eosinofil menghasilkan nitrit oksida dan superoksida yang mampu melisiskan sel. <sup>9,35</sup>

EPA merupakan asam lemak *poly unsaturated* yang telah banyak diteliti penggunaannya sebagai salah satu bentuk terapi *adjuvant* di berbagai penyakit mulai dari dementia, penyakit jantung koroner, infark miokard, kanker, skizoprenia dan lain sebagainya.<sup>36,37</sup> Pada penyakit kanker sendiri, EPA banyak disebut sebagai bentuk terapi *adjuvant* yang menjanjikan dan telah banyak diteliti.

Hasil penelitian EPA sendiri hingga saat ini sangat bervariasi, sebagian menunjukkan efektif, sebagian tidak. Penelitian Mantovani G et al menunjukkan bahwa terapi EPA sebanyak 237 gr/hari, disertai diet lain yang kaya kandungan polifenol 400 mg/hari, medroxiprogesterone acetate 500 mg/hari, A-lipoic acid 300 mg/hari, carbocysteine lysine salt 2.7 g/hari, vitamin E 400 mg/hari, vitamin A 30,000 IU/hari, vitamin C 500 mg/hari, dan selective cyclooxygenase-2 inhibitor Celecoxib 200 mg/hari merupakan bentuk terapi yang aman sekaligus efektif pada sindrom cachexia pada kanker. Indikator keberhasilan terapi ini antara lain peningkatan nafsu makan, penurunan radikal bebas oksigen dan kadar sitokin proinflamasi, serta peningkatan kualitas hidup.<sup>36,37</sup> Penelitian Bruera E et al menunjukkan hasil yang serupa hanya dengan menggunakan intervensi berupa minyak ikan yang kaya kandungan EPA.<sup>31</sup> Penelitian Kimura Y dan Sumiyoshi M merupakan satu dari banyak penelitian terbaru yang berusaha mengungkapkan jalur anti tumor dan anti metastase dari EPA. Hingga saat ini walau telah terbukti memiliki fungsi sebagai anti tumor dan anti metastasis, mekanisme bagaimana EPA dapat melakukan itu masih menjadi misteri.<sup>31</sup>

Hasil penelitian ini terjadi peningkatan jumlah sel T CD8+ dalam darah perifer yang signifikan dibandingkan kelompok kontrol. Hal ini memberikan kesan bahwa pemberian EPA mengurangi tingkat immunodepresi yang dialami pasien-pasien kanker. Penurunan jumlah sel T CD8+ dalam darah hanya terjadi pada kelompok kontrol sedangkan pada kelompok perlakuan seluruhnya mengalami peningkatan, kemudian dibandingkan *delta* / selisih jumlah CD8+ pada kedua kelompok.

Keterbatasan penelitian ini adalah tidak dinilainya faktor asupan diet pasien yang mungkin dapat berpengaruh pada imunitas pasien, status gizi pasien serta tidak dikerjakannya pengukuran kadar IL-2 dan IL-12 yang merupakan sitokin yang memicu jumlah CD8+ dalam darah pasien.