

BAB 6

PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan pengaruh pemberian ekstrak *Phaleria macrocarpa* terhadap penurunan indeks mitosis dan menurunnya atau penghambatan pertumbuhan karsinoma epidermoid pada 12 ekor mencit Swiss yang telah diinduksi karsinoma epidermoid, dan dilakukan analisis apakah terdapat perbedaan bermakna antara kelompok yang diberikan ekstrak *Phaleria macrocarpa*, sitostatika paclitaxel dan cisplatin, dan kombinasi *Phaleria macrocarpa* dengan sitostatika paclitaxel dan cisplatin.

Pada ukuran diameter awal tumor diperoleh hasil yang hampir sama pada setiap kelompok kecuali dengan kelompok kontrol, dan setelah dieksplorasi hasilnya homogen. Hal ini dapat terjadi karena pada saat induksi tumor, dilakukan pengolesan DMBA dan 12-0-TPA dengan dosis yang sama pada tiap sampel, tetapi penetrasi karsinogen dan luas area pengolesan sangat dipengaruhi oleh faktor ketelitian dari peneliti dan teknisi laboratorium. Perubahan diameter tumor pre dan post test, didapatkan perbedaan yang bermakna antara kelompok K dengan kelompok P1 ($p=0,049$), P2 ($p=0,049$), dan P3 ($p=0,049$) menunjukkan penurunan nilai rerata selisih diameter tumornya sebelum dan setelah perlakuan dibandingkan kontrol secara bermakna. Pada selisih diameter tumor tidak didapatkan regressi dari ukuran diameter tumor, tetapi secara signifikan didapatkan hambatan terhadap progressivitas dari pertumbuhan tumor. Hal ini sesuai dengan penelitian

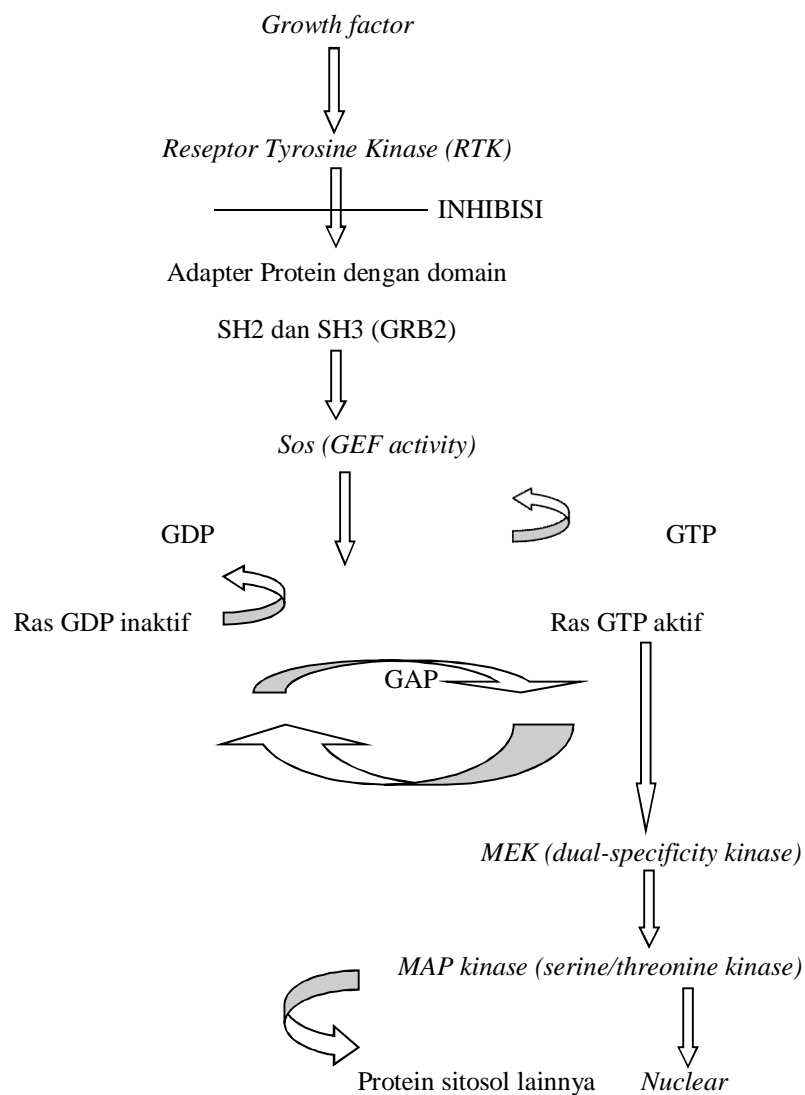
Selamat B. Dkk dimana pemberian ekstrak *Phaleria macrocarpa* pada mencit C3H yang diinokulasi adenokarsinoma mamma, terjadi hambatan pertumbuhan diameter tumor yang signifikan.²⁵ Hal ini sesuai juga dengan penelitian sebelumnya bahwa ekstrak *Phaleria macrocarpa* mempunyai efek memblok reseptor growth faktor, dan menghambat *Mitogen – Activated Protein Kinase* (MAPK), pada jalur sinyal Receptor Tirosin Kinase (RTKs).^{13,14} Ekstrak *Phaleria macrocarpa* juga akan memblok berbagai RTKs, seperti *Epidermal Growth factor receptor (EGFR)*, *Platelet Derived Growth Factor Receptor (PDGF)*, *Fibroblast Growth Factor Receptor (FGR)*, sehingga dapat menghambat Jalur signal pada RTKs yang mempunyai fungsi yang luas dalam regulasi pembelahan sel, differensiasi, survival, dan pengaturan metabolisme sel p21.^{15,16}

Pada uji Mann Whitney terhadap variabel indek mitosis didapatkan adanya penurunan indek mitosis yang bermakna ($p=0,043$) antara kelompok Kontrol dan P1, kelompok kontrol dengan P2 dan antara kelompok kontrol dengan P3 secara signifikan. Terdapat perbedaan bermakna ($p=0,043$) antara P1 terhadap P3, antara P2 terhadap P3 secara signifikan, sedangkan antara P1 terhadap P2 tidak signifikan ($p=0,456$). Hasil ini menunjukkan terdapat perbedaan jumlah mitosis yang bermakna dengan pemberian *Phaleria macrocarpa* pada dosis 0,0715 mg/hari (0,36 ml/hari) terhadap kontrol, dan pemberian sitostatika paclitaxel – cisplatin, serta kombinasi sitostatika paclitaxel – cisplatin dan *Phaleria macrocarpa* dosis 0,0715 mg/hari (0,36 ml/hari) terdapat penurunan indek mitosis yang bermakna dibandingkan

kontrol. Hasil ini juga menunjukkan adanya penurunan indek mitosis yang berbeda bermakna ($p=0,043$) antara kelompok yang diberi kombinasi sitostatika paclitaxel – cisplatin dan *Phaleria macrocarpa* dosis 0,0715 mg/hari (0,36 ml/hari) (P3) dibandingkan dengan kelompok yang diberi *Phaleria macrocarpa* pada dosis 0,0715 mg/hari (0,36 ml/hari) (P1) dan kelompok yang mendapatkan sitostatika paclitaxel dan cisplatin (P2).

Proses ini dapat dijelaskan dengan mekanisme sebagai berikut : mekanisme relatif yang sering digunakan oleh sel kanker untuk memperoleh otonomi pertumbuhan adalah dengan mutasi gen yang mengkode berbagai komponen di jalur penghantar sinyal. Molekul penghantar sinyal ini menghubungkan reseptor faktor pertumbuhan ke sasarannya di inti sel. Jalur utama penghantaran sinyal dari membran sel ke inti sel adalah RAS-REF-MAPK. Sekitar 30 % dari semua tumor pada manusia mengandung versi mutan gen RAS. Jalur utama sinyal mitogenik pada berbagai jenis sel melibatkan protein RAS melalui adaptor SH2-SH3 yang berhubungan dengan protein Sos. Protein Sos secara langsung akan mengaktifkan RAS dengan menginduksi perubahan GDP menjadi GTP. Protein RAS normal berpindah bolak – balik antara keadaan tereksitasi (menyalurkan sinyal) dan keadaan tenang (inaktif). Pada keadaan inaktif, protein RAS berikatan dengan GDP pada saat sel terangsang oleh faktor pertumbuhan, RAS inaktif menjadi aktif dengan menukar GDP untuk GTP. RAS aktif kemudian mengaktifkan berbagai regulator proliferasi di bagian hilir termasuk jenjang RAF-MAP kinase, yang membanjiri inti sel dengan sinyal untuk proliferasi sel. Protein kinase Mek

berperan mengaktifkan protein kinase lain, yaitu MAP-kinase yang terletak pada residu threonine maupun tyrosin, sehingga MAP kinase menjadi aktif. Mek disebut juga MAP-kinase kinase (MAPKK), berada dalam sitoplasma dan pada proses normal tetap berada jauh dari nukleus selama transmisi sinyal berlangsung. Selain dirangsang untuk meneruskan sinyal dari faktor pertumbuhan, MAP-kinase juga berperan pada maturasi meiotik dengan memfasilitasi pembentukan spindle.^{21,24}



Gambar 12. Pathway penghantaran sinyal Growth Factor melalui RTKs²³

Setelah terjadi transduksi sinyal dari membran sel ke inti sel maka akan terjadi pengaktifan 3 faktor transkripsi yang penting adalah termasuk keluarga fos, jun dan myc. Dalam sel yang sedang istirahat, gen-gen ini dan proteinnya hampir tidak dapat dideteksi. Terdapatnya gen *MaPK* akan mengakibatkan kadar fos dan jun meningkat dengan cepat dalam beberapa menit disusul kemudian oleh peningkatan *myc* dalam waktu 1-2 jam. Apabila telah terakumulasi dalam nukleus dalam jumlah yang cukup, masing-masing faktor transkripsi dapat mengaktifasi sejumlah besar gen responder. Stimulasi faktor pertumbuhan mengakibatkan akumulasi protein nukleus *Myc*. Dalam keadaan normal ekspresi gen *myc* dikontrol secara ketat oleh jalur sinyal sitoplasmik yang diaktivasi oleh mitogen. Ekspresi berlebihan *c-myc* mengganggu keseimbangan regulator transkripsi akibat peningkatan heterodimer *Myc-max* yang menyebabkan proliferasi sel menjadi tidak terkendali. Aktivasi *Ras-Ref-Mapk* dan faktor transkripsi *Myc* mengakibatkan peningkatan transkripsi gen *Mdm2* yang fungsinya menurunkan stabilitas gen *p53*. Peningkatan gen *Mdm2* akan menghambat fungsi *p53* sebagai gen supresor sehingga mengakibatkan tidak terbentuknya *p21* yang diperlukan untuk menghambat aktivitas kompleks *cyclin-cdk* sehingga siklus sel tidak berhenti pada fase *G1*.^{22, 23}

Faktor transkripsi *Myc* juga mempengaruhi produk gen *Rb* juga dapat berperan sebagai faktor transkripsi. Fosforilasi *pRb* pada atau dekat dengan *R* point, akan menginaktivasi *pRb* sehingga akan dilepaskan *transcription factor*

E2F yang menyebabkan sel akan mentranskripsikan gen untuk mensintesa protein pada fase S. Inaktivasi gen Rb karenanya dapat menyebabkan aktivasi transkripsi gen sasaran yang mengatur siklus sel pada fase G1/S secara terus menerus sehingga menyebabkan proliferasi sel tidak terkendali.

Penurunan indeks mitosis pada setiap kelompok perlakuan disebabkan karena senyawa polifenol yang terkandung dalam ekstrak *Phaleria macrocarpa* mempunyai efek memblok reseptor *growth factor* pada jalur sinyal *Receptor Tyrosine Kinase (RTKs)*, dan menghambat *Mitogen Activated Protein Kinase (MAPK)*, sehingga terjadi hambatan penghantaran sinyal utama MAPK dari membran sel ke inti sel, sehingga siklus sel akan masuk ke fase G0 dan sel tidak dapat bermitosis.^{13, 14} Penurunan indeks mitosis yang lebih bermakna pada kelompok yang diberi kombinasi sitostatika paclitaxel – cisplatin dan *Phaleria macrocarpa* dosis 0,0715 mg/hari (0,36 ml/hari) (P3) dibandingkan dengan kelompok yang hanya mendapatkan *Phaleria macrocarpa* dosis 0,0715 mg/hari (0,36 ml/hari) (P1) dan sitostatika paclitaxel – cisplatin (P2) dapat disebabkan oleh karena efek sinergistik dari senyawa polifenol pada ekstrak *Phaleria macrocarpa* dengan sitostatika paclitaxel yang berkerja dengan menghambat proliferasi sel dengan cara menginduksi blok mitosis pada metafase / anafase, sehingga membentuk lempeng metafase yang inkomplit pada kromosom dan pengaturan spindle microtubule menjadi abnormal. Cisplatin bekerja dengan mekanisme menghambat *crosslink* dari DNA, dan secara aktif mengganggu siklus sel.⁹

Uji korelasi dilakukan pada variabel indeks mitosis terhadap rerata selisih diameter tumor pre dan post perlakuan. Dari uji korelasi Spearman didapatkan bahwa penurunan indeks mitosis mempunyai korelasi yang bermakna ($p < 0,05$) terhadap penurunan perkembangan diameter tumor. Koefisien korelasi yang terhitung adalah sebesar 0,8134. Hal ini berarti terdapat hubungan yang erat antara penurunan indeks mitosis dan penurunan perkembangan diameter tumor. Bila indeks mitosisnya menurun, maka perkembangan tumornya akan menurun. Pada penelitian ini tumor tidak mengalami regresi dari perbandingan dengan ukuran diameter awal tumor sebelum perlakuan, tetapi mengalami hambatan laju pertumbuhan yang cukup bermakna.

Secara umum jumlah sel yang ada pada suatu jaringan merupakan fungsi kumulatif antara masuknya sel baru dan keluarnya sel yang ada pada populasi. Masuknya sel baru dalam suatu jaringan sebagian besar ditentukan oleh kecepatan proliferasinya, sementara sel dapat meninggalkan populasinya karena kematian sel atau berdiferensiasi menjadi jenis sel lainnya.

Proliferasi sel dapat dirangsang oleh faktor pertumbuhan instrinsik, jejas, kematian sel, bahkan dapat pula oleh deformasi mekanis jaringan. Mediator kimiawi yang terdapat pada lingkungan mikro sel dapat menghambat atau merangsang pertumbuhan sel. Kendali pertumbuhan yang terpenting adalah penginduksian sel istirahat (*resting cell*) pada fase G₀ ke siklus sel sehingga sel gagal mengadakan mitosis.

Hambatan laju pertumbuhan tumor dapat disebabkan oleh berkurangnya laju mitosis sel tumor. Penyebab lain kemungkinan adalah terjadinya apoptosis dan diferensiasi sel, hal ini masih perlu diteliti lebih lanjut mengenai hubungan indeks apoptosis terhadap perkembangan diameter tumor karsinoma epidermoid.

Ekstrak Mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) mempunyai potensi sebagai imunostimulator dan sitostatika. Ekstrak Mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) secara klinis dapat menghambat laju perkembangan ukuran diameter tumor, meskipun dalam penelitian ini tidak dapat menyebabkan regresi dari tumor. *Phaleria macrocarpa* sebagai sumber alternatif penggunaan obat-obat sitostatika yang saat ini harganya relatif mahal dan juga sebagai adjuvant dari sitostatika. Peneliti juga menyadari masih banyak hal yang harus diteliti untuk melengkapi dan menyempurnakan penelitian ini, dan bila memungkinkan penelitian ini dapat ditingkatkan menjadi uji klinis pada manusia.