

BAB VI

PEMBAHASAN

Pemeriksaan tumor pada kolon secara makroskopis, berhasil tumbuh 100% dari masing-masing kelompok dan bersifat multipel dengan rerata multiplikasi dari kelompok K, P1, P2, dan P3 berturut-turut yaitu 2.5, 2.8, 2.5, dan 2.6 (lampiran 2, halaman 79). Hasil ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan Dani et al, dimana pada penelitian mereka dilakukan induksi tumor kolon menggunakan 1,2-DMH dan tumor yang tumbuh 100% dan bersifat multipel.⁵⁷

Perhitungan proliferasi sel didapatkan rerata yang paling tinggi pada kelompok kontrol dan rerata yang paling rendah pada kelompok yang mendapatkan kombinasi 5FU-leucovorin + *P macrocarpa*. Analisis perbedaan proliferasi sel antar kelompok perlakuan didapatkan perbedaan yang bermakna. Perbedaan bermakna dapat ditemui antara kelompok kontrol dengan kelompok yang diberi kombinasi 5FU-leucovorin + *P macrocarpa*, selain itu terdapat pula perbedaan bermakna antara kelompok yang diberi *P macrocarpa* saja dengan kelompok kombinasi 5FU-leucovorin + *P macrocarpa*. Pada kelompok kemoterapi 5FU-leucovorin yang merupakan regimen standar kemoterapi untuk keganasan kolorektal dapat menurunkan proliferasi sel seperti pada kelompok kombinasi 5FU-leucovorin + *P macrocarpa* tetapi tidak bermakna.

Penelitian ini menggunakan kemoterapi *5-fluorouracil* sebagai terapi lini pertama pada keganasan kolorektal sesuai *NCCN Guideline*, dan merupakan agen kemoterapi yang sederhana dan sudah lama digunakan lebih dari 4 dekade, selain

itu penggunaannya dikarenakan pertimbangan kelayakan aplikasi saat perlakuan pada hewan coba. 5FU-leucovorin bekerja pada siklus sel fase S dengan cara menghambat target enzim *Thymidylate synthase* dengan hasil akhir penghambatan sintesis dan fungsi DNA. Sedangkan *Phaleria macrocarpa* melalui zat aktif polifenol berupa *gallic acid* (*GA : 3,4,5-trihydroxybenzoic acid*) secara selektif menginduksi kematian sel kanker dengan cara menghambat proliferasi sel kanker.¹³ Senyawa *polifenol* ini juga menghambat *Mitogen-Activated Protein Kinase* (MAPK), pada jalur sinyal *Receptor Tyrosin Kinase* (RTKs) seperti *Epidermal Growth Factor Receptor* (EGFR), *Platelet-Derived Growth Factor Receptor* (PDGF), *Fibroblast Growth Factor Receptor* (FGR.) yang sangat berperan dalam mitosis sel.^{12,13,15} Zat aktif lainnya yaitu flavonoid merupakan inhibitor spesifik terhadap CDKs (*Cyclin-dependent kinases*), menginduksi *arrest* pada fase G2/M, *upregulation* gen p53 dan p21, *downregulation* cyclin B1 dan CDK1 yang dapat merubah aktivitas proliferasi sel. Pada penelitian ini pemberian 5FU-leucovorin saja atau *Phaleria macrocarpa* saja tidak dapat menurunkan proliferasi sel secara bermakna, dengan pemberian kombinasi mekanisme kerja satu sama lain saling memperkuat penurunan proliferasi sel. Zat lain yang terkandung dalam ekstrak *Phaleria macrocarpa* seperti alkaloid, terpenoid, saponin bisa dijadikan bahan penelitian lebih lanjut terutama dalam perannya terhadap proliferasi sel atau pengeksplorasian terhadap titer sitokin lainnya (seperti CDKs, gen p53 dan p21, serta VEGF) perlu dipertimbangkan. Selain itu diperlukan pemeriksaan proliferasi sel menggunakan IHC PCNA sebagai pembanding hasil penelitian

Rerata paling tinggi dan paling rendah pada pengukuran diameter massa tumor terdapat pada kelompok kontrol dan kelompok kombinasi 5FU-leucovorin + *Phaleria macrocarpa*. Analisis perbedaan diameter massa tumor antar kelompok perlakuan didapatkan perbedaan yang bermakna. Perbedaan bermakna terdapat antara kelompok kontrol dengan kelompok yang diberi kemoterapi 5FU-leucovorin atau kelompok yang diberi kombinasi 5FU-leucovorin + *Phaleria macrocarpa*. Selain itu terdapat perbedaan bermakna antara kelompok yang diberi *Phaleria macrocarpa* saja dengan kelompok yang diberi kombinasi 5FU-leucovorin + *Phaleria macrocarpa*. Pada kelompok yang diberi kemoterapi regimen standar 5FU-leucovorin dapat menurunkan diameter massa tumor seperti pada kelompok kombinasi 5FU-leucovorin + *Phaleria macrocarpa* tetapi tidak didapatkan perbedaan bermakna.

Meskipun kriteria evaluasi respon terapi pada tumor solid yang digunakan kelompok peneliti kanker di Eropa menggunakan diameter tumor maksimum, perlu dipertimbangkan tumor load dalam hal ini sering diwakili oleh volume tumor yang secara klinis merupakan faktor penting yang mempengaruhi prognosis.^{62,63} Pada penelitian lain diameter maksimal tumor berhubungan dengan jumlah limfonodi positif yang berarti ada hubungan dengan metastasis limfatik dan metastasis jauh.⁶⁴

Penelitian ini menggunakan regimen kemoterapi “Rosswell Park” dimana menggunakan sitostatika kemoterapi agen tunggal yaitu *5-Fluorouracil* sebanyak 6 siklus. Berdasarkan rekomendasi *National Comprehensive Cancer Network* (NCCN) tahun 2013 regimen kemoterapi pada kanker kolon yang saat ini

digunakan dalam bentuk kombinasi seperti mFOLFOX 6, FLOX, CapeOx. Hasil penelitian dari data proliferasi sel dan data diameter massa tumor menunjukkan bahwa kelompok P1 vs P3 dan P1 vs P2 tidak signifikan, bukan berarti agen kemoterapi gagal menurunkan proliferasi sel atau menurunkan diameter massa tumor, juga tidak dapat diasumsikan pemberian *P macrocarpa* sama baiknya dengan pemberian kemoterapi. Hal tersebut dikarenakan saat ini pemberian kemoterapi agen tunggal telah ditinggalkan berdasarkan rekomendasi terbaru yang lebih menyarankan penggunaan kombinasi agen kemoterapi seperti protokol *De Gramont, Mayo clinic, FOLFOX, FLOX, CapeOx*, dan sebagainya. Pemberian kombinasi 5FU-leucovorin + *P macrocarpa* lebih baik dari semua kelompok, begitu pula dibanding kelompok yang diberi 5FU-leucovorin saja bukan berarti dikarenakan efek *P macrocarpa* yang dapat meningkatkan efektivitas, kemungkinan dikarenakan adanya sinergi dari semua bahan kimia yang terkandung di dalamnya sehingga tampak lebih baik dari semua kelompok. *P macrocarpa* yang digunakan bukan dari ekstrak murni tetapi dari *crude extract* sehingga harus dilakukan purifikasi zat aktif di dalamnya untuk mengetahui efek yang lebih jelas terhadap sel tumor. Hal ini menjadi keterbatasan penelitian sehingga diperlukan penelitian lanjutan berupa penggunaan kombinasi agen kemoterapi dan purifikasi zat aktif *P macrocarpa* yang akan diteliti manfaatnya.

Pada penelitian terdahulu yang dilakukan Faried dkk menemukan bahwa zat aktif kandungan polifenol dari *P macrocarpa* berupa *gallic acid* dapat menghambat proliferasi sel kanker kolon HT-29 dengan konsentrasi CI_{50} 0,24 mg/ml dan kanker kolon Colo201 dengan konsentrasi CI_{50} 0,18 mg/ml.¹³

Penelitian yang dilakukan Riwanto dkk menemukan bahwa suplementasi *P macrocarpa* terhadap kemoterapi adriamycin-cyclofosfamid pada kanker payudara dapat menurunkan pertumbuhan tumor dan meningkatkan indeks apoptosis secara signifikan dibandingkan kelompok lain.⁶⁵ Begitu pula penelitian yang dilakukan Budijitno menemukan bahwa *P macrocarpa* dapat meningkatkan ekspresi perforin oleh CTL dan sel NK serta meningkatkan indeks apoptosis pada adenokarsinoma mamma.⁶⁶

Analisis korelasi proliferasi sel terhadap diameter massa tumor pada penelitian ini didapatkan korelasi yang tidak bermakna. Pada penelitian yang dilakukan Skaustymowicz dkk penilaian proliferasi dengan marker Ki-67 berkorelasi signifikan dengan keterlibatan metastasis limfonodi regional dan digunakan untuk mengevaluasi derajat agresivitas dan potensi metastasis.⁶⁷ Selain itu, penelitian Saleh dkk menunjukkan bahwa ekspresi Ki-67 menggambarkan derajat diferensiasi sel neoplasma, makin rendah derajat diferensiasi makin tinggi ekspresi Ki-67 pada sel neoplasma.⁶⁸ Pada penelitian ini penilaian terhadap *grading* histopatologis dan metastasis limfonodi tidak dilakukan sehingga menjadi keterbatasan penelitian.

Ekstrak *Phaleria macrocarpa* mempunyai potensi sebagai imunostimulator yang penggunaannya bersifat suplementatif bagi terapi primer, sebagai sumber alternatif penggunaan obat-obatan tradisional. Peneliti juga menyadari masih banyak keterbatasan penelitian yang harus diperbaiki untuk melengkapi dan menyempurnakan penelitian ini. Bila memungkinkan penelitian ini dapat ditingkatkan menjadi uji klinis pada manusia.