

## BAB 6

### PEMBAHASAN

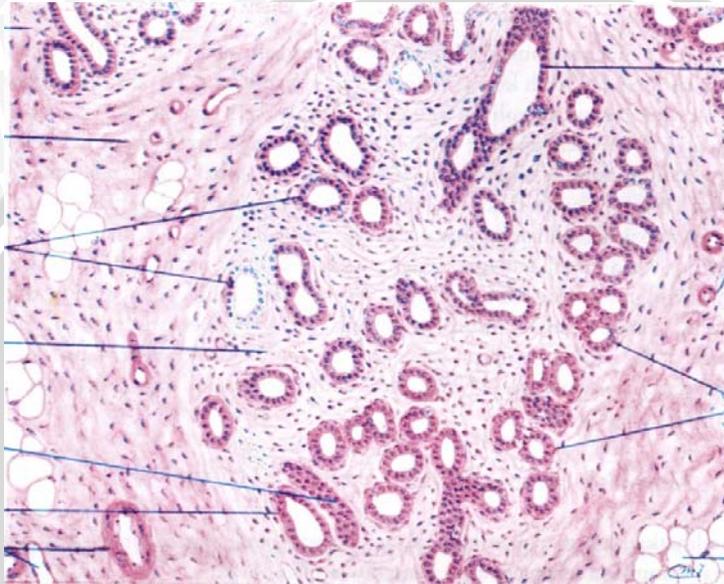
Penelitian ini bertujuan untuk mengamati peran Elektro-Akupuntur (EA) terhadap kadar interleukin-2 pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar yang di induksi dengan DMBA. Dimana induksi DMBA dilakukan 3 kali dalam seminggu (14 kali induksi) yang dilakukan setiap hari senin, kamis dan sabtu. Induksi dilakukan dengan dosis 10 mg/bb dengan pelarut menggunakan minyak jagung (Kirubha, 2012 dengan modifikasi). Penginduksian payudara tikus dengan menggunakan DMBA bertujuan untuk membuat tikus sebagai model kanker payudara. Penelitian ini menggunakan lima kelompok penelitian dimana terdapat dua kelompok kontrol yaitu kontrol negatif dan kontrol positif. Pada kelompok kontrol negatif tikus diberikan diet normal tanpa diberikan induksi DMBA dan tanpa diberikan terapi EA dan kelompok kontrol positif adalah tikus yang diberi diet normal serta diberikan induksi DMBA dan tanpa diberikan terapi EA. Sedangkan pada kelompok perlakuan terdapat tiga kelompok yaitu tikus yang diberikan diet normal serta di berikan induksi DMBA kemudian diberikan terapi EA pada titik Zusanli (ST 36) dengan frekuensi 15 Hz dalam 30 menit selama 3, 5, dan 10 hari secara berturut-turut.

#### 6.1 Induksi DMBA

DMBA merupakan senyawa karsinogen spesifik untuk eksperimental kanker payudara dan kanker kulit pada hewan percobaan (Dandekar et al., 1986). DMBA telah digunakan secara luas sebagai penginduksi dalam

pemeriksaan keberhasilan agen kemoterapi dalam menghambat pembentukan kanker payudara pada setting preklinis (Padmavathi et al., 2006). Induksi DMBA sebanyak 1 ml diberikan kepada kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan yaitu kelompok III, IV dan V. Induksi dilakukan diantara payudara abdominal region kanan dan kiri, sebanyak 14 kali induksi yang dilakukan satu kali tiap tiga hari. Pada kelompok kontrol negatif, induksi dilakukan hanya dengan menggunakan minyak jagung tanpa diberikan DMBA. Setelah dilakukan induksi, dilakukan pemeriksaan histologi terhadap sel payudara tikus pada tikus yang diberikan induksi DMBA maupun tikus yang hanya diinduksi dengan minyak jagung dengan menggunakan pewarnaan hematoxilin-eosin dan kemudian diperiksa dibawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 40 kali. Hasil pemeriksaan dapat dilihat pada gambar 5.1 dan 5.2. Hasil induksi pada kelompok control negative, yaitu tikus yang hanya disuntik menggunakan minyak jagung tanpa diberikan DMBA terdapat pada gambar 5.1 dimana terlihat sel payudara memiliki inti sel tunggal, inti sel sama besar (monomorfik), hipokromatik, dan tidak terdapat proliferasi yang abnormal ditunjukkan dengan duktus intralobular yang masih terlihat dengan jelas dan renggang. Payudara normal (non-laktasi) terdiri atas 15-20 lobi, dimana setiap lobus dipisahkan oleh stroma interlobar dan masing-masing mempunyai duktus lakteferus yang bermuara secara independen pada permukaan putting susu. Stroma interlobar terdiri atas jaringan ikat padat dan lemak dengan jumlah bervariasi. Kelenjar mammae nonlaktasi ditandai dengan banyak jaringan ikat dan sedikit unsur kelenjar. Lobules mengandung kelompok-kelompok tubuli kecil, yang dilapisi epitel kuboid atau silindris rendah. Tubuli ini mirip duktus dan tetap dalam tahap ini selama kelenjar mammae tidak aktif. Kadang-kadang terlihat tubulus yang lebih nyata, seperti duktus intralobular kecil

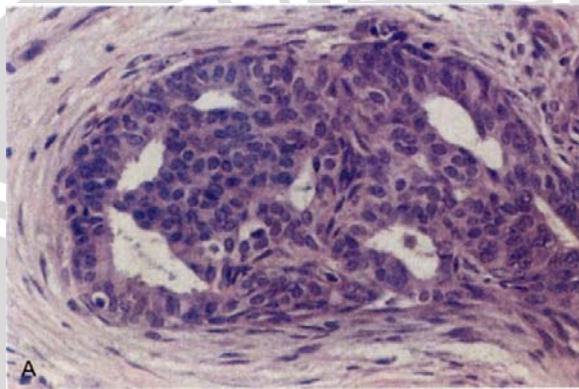
atau duktus ekskretorius intralobular besar yang dikelilingi oleh jaringan ikat intralobular longgar dan halus yang mengandung fibroblast, limfosit, sel plasma dan eosinophil, seperti yang ditunjukkan oleh gambar 6.1 (Eroschenko, 2003).



**Gambar 6.1 Gambaran Histologi Jaringan Payudara normal (Eroschenko, 2003)**

Sedangkan gambaran histologi pada tikus yang diberikan induksi DMBA terlihat pada gambar 5.2 terlihat sel payudara yang memiliki inti banyak, hiperkromatik, polimorfik, dan terdapat proliferasi berlebihan yang ditunjukkan dengan sel-sel yang rapat hingga hampir menutupi duktus intralobular. Adanya proiferasi yang berlebihan kearah dalam lobuler menunjukkan terjadinya karsinoma lobuler insitu. Hal ini seperti yang ditunjukkan oleh gambar 6.1 dimana terjadi hiperplasia epitel tidak khas dan sering didominasi oleh perubahan fibrosa atau kistik. Secara histologis, spectrum perubahan ploriferatif hampir bersifat tak-terbatas, nucleus bervariasi dri derajat rendah dan monomorfik hingga derajat tinggi dan heterogen (polimorfik). Lobuler mungkin terisi oleh sel kuboid yang tersusun teratur, yang didalamnya mungkin memperlihatkan pola kelenjar kecil

(disebut juga fenestrasi). Kadang-kadang epitel yang berproliferasi menjorok ke dalam lumen duktus dalam bentuk tonjolan-tonjolan papilaris kecil (papilomatosis duktus). Di dalam asinus, sel normal diganti oleh sel yang relative uniform, bersitoplasma jernih tersusun longgar, dan non-kohefif. Ukuran asinus secara umum meningkat, tetapi bentuk lobulernya tetap tidak berubah (Kumar ., et all, 2007; Underwood, 2000; Kumar et all., 2007).



**Gambar 6.2** Gambaran Histologi Jaringan payudara yang terindikasi adanya Karsinoma Lobuler Insitu. Perbesaran 100X (Kumar et all., 2007)

## 6.2 Kadar Interleukin-2 Dalam Serum Darah Tikus

Kadar interleukin-2 diukur dari serum darah tikus yang diambil dari jantung tikus setelah dilakukan induksi dan terapi elektro-akupunktur. Serum darah kemudian di lakukan sentrifugasi selama 10 menit dengan putaran 600 rpm, selanjutnya serum yang dihasilkan di ambil dan disimpan pada suhu  $-20^{\circ}\text{C}$ . serum darah kemudian dihitung kadar interleukin-2 dengan menggunakan metode Elisa *sandwich*.

Berdasarkan uji *Anova* diperoleh hasil adanya perbedaan secara nyata pada kadar interleukin-2 dari masing-masing kelompok ( $p = 0.000$ ). Namun

perbedaan kadar interleukin-2 yang terjadi belum jelas terjadi antar kelompok, sehingga dilanjutkan dengan analisa *Post Hoc test* untuk mengetahui signifikansi perbedaan kadar interleukin-2 diantara masing-masing kelompok penelitian.

Kadar interleukin-2 secara nyata/signifikan lebih tinggi pada kelompok I (kontrol negatif) dibandingkan dengan kadar interleukin-2 pada kelompok II (kontrol positif) dengan hasil  $p = 0.029$  yang ditunjukkan pada table 5.1. Perbedaan yang bermakna ini menunjukkan bahwa induksi DMBA yang menimbulkan kanker payudara pada tikus memberikan efek berupa penurunan kadar interleukin-2 dibandingkan kelompok tikus tanpa diinduksi DMBA. Hal ini sejalan dengan studi yang dilakukan oleh Toris (1985) yang mengungkapkan bahwa sel kanker dapat secara signifikan menurunkan TH-1/TH-2 dan rasio sel dendritik, dimana adanya penurunan aktivitas TH-1 berdampak terhadap menurunnya aktivasi IL-2 sehingga terjadi penurunan terhadap kadar IL-2 (Abascal dan Eric, 2007; Corwin, 2009).

Kadar interleukin-2 pada tikus juga memiliki perbedaan secara nyata antara kelompok II (kontrol positif) dengan kelompok perlakuan yaitu kelompok III (perlakuan I), kelompok IV (perlakuan II) dan juga kelompok V (perlakuan III) dengan nilai  $p < 0.05$  seperti yang ditunjukkan oleh table 5.1. Berdasarkan hasil pengujian di atas menunjukkan bahwa adanya pemberian terapi EA pada tikus yang diinduksi dengan DMBA untuk menimbulkan kanker payudara terbukti efektif dalam meningkatkan kadar Interleukin-2 pada tikus secara bermakna. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Cheng *et al* (2002) yang menyatakan bahwa adanya terapi Elektro-Akupunktur dapat secara efektif mengaktifkan encephalin,  $\beta$ -endorphin dan endomorphin secara simultan. Dalam penelitiannya Cheng (2002) menggunakan 3 frekuensi yaitu 2 Hz, 15 Hz dan 100

Hz. Setelah dilakukan EA didapatkan bahwa terapi EA dengan frekuensi 15 Hz dapat mengaktivasi interleukin-2 lebih banyak dibandingkan dengan frekuensi 2 Hz dan 100 Hz (Han et al, 2004).

Selanjutnya kadar interleukin-2 pada kelompok III (perlakuan I) dibandingkan dengan kelompok IV (perlakuan II) dan dengan kelompok V (perlakuan III), didapatkan hasil perbedaan yang nyata dengan  $p < 0.05$  ( $p = 0.000$ ;  $p = 0.000$ ) seperti table 5.1. Selain itu pada table 5.1 juga dapat diketahui bahwa terdapat perbedaan secara nyata pada kelompok IV (perlakuan II) dibanding kelompok V (perlakuan III), didapatkan hasil  $p = 0.001$ .

Berdasarkan rata-rata kadar interleukin-2 pada gambar 5.3 dan data hasil uji pada tabel 5.1, terdapat perbedaan yang nyata pada tiap kelompok perlakuan (kelompok III, IV dan V) dimana nilai  $p < 0.05$ . Terapi Elektro-Akupunktur dapat memberikan perbedaan kadar interleukin-2 secara signifikan dimana semakin banyak hari/dosis terapi Elektro-akupunktur yang diberikan dapat memberikan rata-rata kadar interleukin-2 yang lebih tinggi dibandingkan tikus yang tidak diberikan terapi elektro-akupunktur. Hal ini terlihat dari pemberian terapi EA selama 3 hari yang memiliki rata-rata kadar IL-2 paling sedikit diantara kelompok perlakuan yaitu  $55.434 \pm 0.634$  pg/ml, sedangkan pemberian terapi EA selama 10 hari memiliki rata-rata kadar interleukin-2 paling banyak pada tikus kelompok perlakuan yaitu  $61.475 \pm 1.071$  pg/ml. Selanjutnya, didapatkan hasil bahwa tindakan EA yang paling efektif untuk meningkatkan kadar interleukin-2 adalah terapi EA yang diberikan pada titik ST 36 dengan frekuensi 15 Hz selama 30 menit dalam sepuluh hari berturut-turut.

Adanya kanker payudara di dalam tubuh akan memicu terjadinya perlawanan oleh sistem imun untuk memerangi sel kanker namun sel kanker

dapat menghindari deteksi dan tumbuh. Sel-sel kanker akan mengeluarkan zat-zat yang menciptakan dominasi terhadap TH-2 dan membuat tubuh kurang mampu melawan sel kanker. Pada studi yang dilakukan oleh Kondo dan Toris (1985) mengindikasikan bahwa sel kanker dapat secara signifikan menurunkan TH-1/TH-2 dan rasio sel dendritik (DC1/DC2) (Abascal dan Yarnell, 2007). Adanya penurunan aktivasi pada TH1 akan menurunkan rangsangan TH-1 terhadap proliferasi IL-2 yang akan menurunkan efisiensi perlawanan respons imun terhadap sel kanker (Corwin, 2009). Adanya stimulasi pada titik akupunktur ST36 dapat mengaktifkan jaringan neurotransmitter di otak, pada tingkat sel stimulasi di titik ST36 dapat menginduksi sintesis enzim *nitrat oxide* (NO) dalam keratinosit. Sel-sel kulit yang menghasilkan neurotransmitter NO yang mengirimkan sinyal melalui sum-sum tulang belakang ke otak. Akupunktur dapat merangsang sinyal *hipotalamus-hipofisis-andrenal* (HPA) untuk melepaskan neurotransmitter opioid endogen ( $\beta$ -endorphin), yang bergerak dari otak menuju darah ke lokasi tubuh yang mengandung sel-sel kekebalan tubuh. Adanya rangsangan tersebut mengakibatkan TH-1 teraktivasi dan meningkatkan rangsangan produksi IL-2. Adanya rangsangan IL-2 yang meningkat menimbulkan peningkatan pula pada kadar IL-2 pada tubuh, dengan demikian akan meningkat pula pengaktifan sel NK (*natural killer*), produksi IFN- $\gamma$  dan peningkatan produk-produk sitokin. Dimana produk-produk tersebut adalah produk yang memiliki sifat tumoricidal atau aktifitas sitolitik terhadap sel-sel tumor, sehingga dapat menekan pertumbuhan tumor secara langsung. Menurut penelitian dari Johnston (2009) menunjukkan bahwa akupunktur dari ST 36 dapat meningkatkan IL-2 baik pada tikus maupun pada manusia. Temuan ini menunjukkan bahwa stimulasi akupunktur dari ST 36 juga menghasilkan kaskade

molecular berurutan sepanjang baris berikut : tusuk jarum meningkatkan sekresi IL-2, yang mengnduksi peningkatan ekspresi NKp44, sehingga menyebabkan peningkatan aktifitas sitolitik sel NK (Johnston *et all*, 2009).

Penelitian ini membuktikan bahwa pemberian terapi Elektro-Akupuntur dapat memberikan perbedaan terhadap rata-rata kadar Interleukin-2 serum pada tikus (*Rattus norvegicus*) galur wistar yang diinduksi DMBA.

### 6.3 Keterbatasan Penelitian

- a. Hanya dilakukan penilaian secara deskriptif dalam menentukan adanya proliferasi pada sel jaringan payudara
- b. Pada penelitian ini tidak dilakukan pemeriksaan indeks/derajat proliferasi dikarenakan adanya keterbatasan alat pada laboratorium PA FKUB, dan secara umum DMBA telah digunakan secara luas dalam menginduksi terjadinya kanker payudara
- c. Hanya menggunakan satu jenis frekuensi yaitu 15 Hz dan juga hanya dilakukan selama 30 menit tanpa menggunakan variasi lain
- d. Hanya menggunakan perbedaan hari sebagai variable bebas yang dilakukan