

BAB 6

PEMBAHASAN

Kanker kolon merupakan penyakit yang ditimbulkan oleh ekspansi progresif sel yang dapat melepaskan diri dari pengawasan regulator sel dan mekanisme homeostasis normal (Warsinggih, 2010). Limpa menunjukkan peranan dalam patogenesis *colitis-associated colon cancer* (CAC) melalui mekanisme peningkatan sel-sel imun dan juga mediator inflamasi, salah satunya TNF- α , yang memperparah keadaan penyakit (Morgan, *et al.*, 2013).

CAC pada mencit Balb/C dapat diinduksi oleh *Azoxymethane* (AOM) dan *Dextran Sodium Sulfate* (DSS). Pemberian AOM dan DSS dalam air minum menyebabkan pertumbuhan cepat tumor multipel pada kolon pada tiap tikus selama 10 minggu dan pemberian DSS akan meningkatkan gen TNF- α pada limpa. Peningkatan TNF- α akan meningkatkan produksi Nf-kB yang merupakan peninduksi pertumbuhan tumor, sehingga tumor dapat berkembang (Robertis, *et al.*, 2011 ; da Silva, *et al.* 2006).

Daun benalu mangga diduga bisa menjadi terapi suportif untuk kanker kolon. Salah satu kandungan dari daun benalu mangga ini adalah flavonoid (Ikawati, *et al.*, 2004). Kuersetin merupakan salah satu jenis flavonoid tipe flavonol yang mampu menghambat gen protein p53 mutan, tirosin kinase, *heat shock protein* dan siklooksigenase (Ikawati, *et al.*, 2004). Penggunaan etanol 90% dikarenakan flavonoid tidak larut dalam air dan juga tidak beracun, sehingga etanol digunakan sebagai pelarut. Bahan aktif benalu mangga lain seperti tanin dan saponin kurang bermanfaat dalam pengobatan *colitis*. Oleh karena itu, ekstrak etanol benalu mangga digunakan pada penelitian ini untuk menurunkan

inflamasi melalui penurunan gen TNF- α pada limpa model *colitis-associated colon cancer* yang diinduksi AOM dan DSS.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan rancangan *true experimental post-test only control group design* yang terdiri dari 5 kelompok. Kelompok B, C, D, E diberi 10 mg/kg BB *azoxymethane* (AOM) secara intra peritoneal pada hari ke 1 (minggu ke 0) dan *Dekstran Sulfate Sodium Salt* (DSS) 5% per oral melalui air minum pada minggu ke 1, 3, 5, 7, 9, 11, dan 13 masing-masing selama seminggu, sedangkan kelompok A hanya diberi akuades. Pada minggu ke-6 mencit diperiksa *Serum Amyloid A* (SAA) (Gambar 5.1) dengan hasil peningkatan 3 kali lipat pada kelompok perlakuan (B,C,D, dan E) dibandingkan dengan kelompok kontrol dan *Fecal Occult Blood Test* (FOBT) (Tabel 5.1) dengan hasil feses berwarna hijau yang menandakan ada eritrosit di feses pada mencit kelompok perlakuan. Uji SAA dan FOBT menunjukkan telah terjadinya *colitis* setelah administrasi DSS. Kelompok B, C, dan D diberi ekstrak etanol daun benalu mangga (*Dendrothoe pentandra*) dengan dosis 125 mg/kg BB, 250 mg/kg BB, dan 500 mg/kg BB pada minggu ke 6. Pembedahan dilakukan di minggu ke-14.

6.1 Gen TNF- α pada Limpa Mencit Model *colitis-associated colon cancer*

Hasil penelitian pada Tabel 5.2, didapatkan peningkatan rata-rata gen TNF- α pada limpa mencit kontrol positif (mencit dengan induksi AOM dan DSS) sebesar 1,03, dibandingkan dengan kontrol negatif (mencit tanpa perlakuan) sebesar 0,18. Analisis *Post Hoc* (Tabel 5.3) didapati perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) antara dua kelompok ini ($p = 0,000$). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian AOM dan DSS berpengaruh pada gen TNF- α pada limpa mencit. Efek ini sesuai dengan hasil penelitian da Silva, (2006) dan Egger, (2000) yang

menunjukkan peningkatan TNF- α pada limpa mencit yang mengalami *colitis* karena induksi DSS.

Azoxymethana (AOM) adalah bahan karsinogenik kolonik genotoksik yang banyak digunakan untuk investigasi karsinogenesis pada abdomen di hewan coba. AOM-induced tumor memiliki banyak kesamaan karakteristik histopatologis dengan kanker kolon manusia dan mutasi pada K-Ras dan β -catenin, beberapa model juga menunjukkan instabilitas mikrosatelit yang mengindikasikan defek sistem *mismatch repair* (MMR) (Kobaek-Larsen *et al.*, 2000). Dekstran Sodium Sulfat (DSS) adalah bahan karsinogenik kolonik non-genotoksik yang juga sering digunakan untuk memproduksi *colitis* pada mencit, yang memiliki tanda klinis sama dengan *ulcerative colitis* (UC) manusia. Penggunaan DSS menghasilkan inflamasi pada kolon dan stres nitrosatif yang menimbulkan displasia dan neoplasma pada kolon (Tanaka, *et al.*, 2006).

Gen TNF- α diduga dapat digunakan sebagai marker untuk faktor prognostik pada kanker akibat inflamasi kronis. Pada studi Popivanova *et al.* (2008) menunjukkan penurunan jumlah dan ukuran tumor secara makroskopis dan mikroskopis akibat penurunan TNF- α , namun masih butuh penelitian lebih lanjut.

6.2 Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Benalu Mangga (*Dendrothoe pentandra*) terhadap Gen TNF- α di Limpa

Dari hasil uji one way ANOVA (Lampiran 2) didapatkan nilai signifikansi $p = 0,000$ ($p < 0,05$) antara kelompok kontrol dan kelompok uji sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan gen TNF- α yang signifikan pada 2 atau lebih kelompok perlakuan. Maka dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak

daun benalu mangga (*Dendrothoe pentandra*) memiliki pengaruh yang signifikan terhadap gen TNF- α pada limpa mencit CAC.

Senyawa yang terkandung dalam benalu mangga yang kemungkinan memiliki efek sebagai antikanker adalah flavonoid, yakni kuersetin (Artanti, *et al.*, 2006). Penelitian Nijveldt, *et al.* (2001) yang menunjukkan kuersetin menurunkan gen TNF- α dengan cara menghambat jalur *cyclooxygenase-2* (COX-2). Selain sebagai antiinflamasi, kuersetin juga dapat berperan sebagai antioksidan dengan menghambat produksi nitrit oksida, aktivasi Nf-kB, dan iNOS (*inducible nitric oxide synthase*) (Hamalainen *et al.*, 2006). Kuersetin juga mampu menghambat gen protein p53 mutan, tirosin kinase, dan *heat shock protein* (Ikawati *et al.*, 2004). Berdasarkan penelitian ini, kuersetin merupakan flavonoid yang berpotensi dikembangkan sebagai terapi pendamping kanker berbasis imun.

6.3 Dosis Optimum Pemberian Ekstrak Daun Benalu Mangga (*Dendrothoe pentandra*) terhadap Gen TNF- α di Limpa

Pada uji multi komparasi Post-Hoc (Tabel 5.3) didapatkan perbedaan jumlah gen TNF- α yang signifikan ($p < 0,05$) pada semua kelompok kecuali antara kelompok A dan E. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat pengaruh perbedaan konsentrasi ekstrak etanol daun benalu mangga terhadap jumlah gen TNF- α pada hampir semua kelompok perlakuan.

Mencit kelompok A (kontrol negatif) dan E (dosis 500mg/kg BB) memberi hasil yang tidak signifikan ($p = 0,561$). Dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak benalu mangga dengan dosis 500 mg/kg BB dapat menunjukkan tebalnya gen TNF- α yang hampir sama pada mencit kelompok kontrol negatif dan meningkat signifikan dibandingkan dengan kelompok dosis lain yang lebih rendah.

Dalam uji korelasi Pearson (Lampiran 4) yang dilakukan untuk mengetahui hubungan antara pemberian ekstrak etanol benalu mangga dalam berbagai dosis terhadap gen TNF- α pada limpa model *colitis-associated colon cancer* didapatkan koefisien korelasi -0,963. Nilai negatif ini menunjukkan semakin tinggi dosis ekstrak etanol daun benalu mangga yang diberikan pada mencit model *colitis-associated colon cancer* maka gen TNF- α pada limpa mencit tersebut akan semakin menurun. Penurunan TNF- α menandakan aktivitas inflamasi kronis pada kolon dan limpa yang diinduksi oleh AOM dan DSS dapat tersupresi. Hal ini seperti yang dilaporkan oleh Popivanova, *et al.* (2008), akan mengurangi jumlah dan ukuran tumor makroskopis dalam waktu yang singkat, dan menurunkan regulasi inflamasi yang menumbuhkan sel kanker.

Hasil ini juga sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Lin, *et al.* (2005) yang menyatakan bahwa salah satu efek flavonoid adalah menurunkan regulasi COX-2 dan Nf-kB yang merupakan enzim peregulasi tumor sehingga keadaan inflamasi tidak mengalami progresi menjadi kanker kolon.

Keterbatasan penelitian ini adalah tidak dilakukan uji toksisitas ekstrak benalu mangga terhadap mencit model CAC. Selain itu, uji efek samping dan uji kombinasi dengan agen antikanker lain seperti busulphan dan cisplastin tidak dilakukan sehingga butuh penelitian yang lebih lanjut.