

BAB V

PEMBAHASAN

Penelitian ini merupakan bagian dari suatu rangkaian penelitian di Departemen Biokimia dan Biologi Molekuler FKUI yang mempelajari tentang potensi bahan alam dalam menghambat karsinogenesis. Seperti pada penelitian lainnya induksi karsinogenesis dilakukan menggunakan N,2-fluoroenilasetamida (FAA) dengan dosis 40 µg/hari selama 8 minggu. Sementara itu bahan alam yang akan diuji khasiat antikarsinogenesisnya adalah minyak buah merah yang akhir-akhir ini sering dibicarakan karena diduga dapat menyembuhkan bermacam-macam penyakit seperti kanker, DM, HIV bahkan AIDS sekalipun. Khasiat buah merah tersebut diduga disebabkan oleh kandungan antioksidan yang terdapat di dalamnya seperti beta karoten dan alfa tokoferol. Bahan alam lain yang pernah diteliti adalah tomat, yang terbukti dapat melindungi sel dari serangan radikal bebas maupun induksi karsinogenesis.

Pada penelitian ini diamati pengaruh buah merah terhadap 2 aspek yaitu: (1) aspek **karsinogenesis** yang diamati melalui pengukuran asam sialat, proteasom dan histopatologis serta (2) aspek **gangguan fungsi hati** yang dinilai berdasarkan pemeriksaan aktivitas GPT, protein total dan albumin serta pemeriksaan histopatologis.

5.1 Karsinogenesis

Pada penelitian ini dilakukan pemeriksaan sampel yang berasal dari darah dan hati. Hal ini disebabkan hati merupakan target utama dari FAA dan proses kerusakan yang berlangsung di jaringan hati maupun di jaringan lain akan tercermin di dalam darah.

5.1.1 Asam sialat

Asam sialat merupakan komponen glikoprotein dan glikolipid membran yang banyak berperan dalam pengenalan seluler dan molekuler.¹² Selain berperan dalam pertumbuhan dan diferensiasi sel, senyawa ini juga terlibat dalam berbagai penyakit diantaranya adalah kanker, diabetes melitus dan aterosklerosis^{12,50}. Peningkatan asam sialat dalam berbagai jaringan tumor mencerminkan reaksi inflamasi terhadap tumor yang mengakibatkan meningkatnya sekresi protein fase akut oleh sel hati. Teori lain yang mendukung tingginya kadar asam sialat pada jaringan tumor adalah bertambahnya jumlah sel-sel baru yang banyak mengandung asam sialat. Selain itu peningkatan ini juga dapat disebabkan oleh peningkatan ekspresi enzim sialiltransferase, yaitu enzim yang dibutuhkan dalam biosintesis sialokonjugat pada

berbagai jaringan tumor. Peningkatan enzim ini akan mengakibatkan peningkatan jumlah asam sialat pada glikoprotein yang terdapat pada membran sel.⁵²

Peningkatan asam sialat pada jaringan tumor akan diikuti oleh peningkatan kadarnya di dalam plasma. Hal ini disebabkan oleh adanya proses pengelupasan membran pada keganasan sehingga asam sialat yang terikat pada glikoprotein dan glikolipid membran akan turut dilepaskan ke dalam plasma. Peristiwa ini disebut dengan *shedding*.¹³ Peningkatan kadar asam sialat plasma pada keadaan prakanker memungkinkan asam sialat digunakan sebagai penanda dini tumor.

Pada penelitian ini didapatkan bahwa pada minggu ke 8, kadar asam sialat pada sampel hati tikus yang mengalami induksi karsinogenesis (kelompok FAA) lebih tinggi secara bermakna dibandingkan kelompok kontrol. Sementara itu kadar asam sialat plasma antar semua kelompok perlakuan tidak menunjukkan perbedaan bermakna. Tidak berbedanya kadar asam sialat di plasma ini mungkin disebabkan belum terjadinya proses *shedding* pada induksi karsinogenesis selama 8 minggu. Pada penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Sukmarini (2004)⁶¹ dan Novrida (2005)¹⁸ yang juga menggunakan senyawa karsinogen dengan dosis yang sama diperoleh hasil yang menunjukkan peningkatan asam sialat plasma yang lebih awal yaitu pada 4 minggu dan 8 minggu perlakuan. Hasil penelitian diatas menunjukkan bahwa karsinogenesis sudah terjadi pada minggu ke 8 namun belum disertai dengan *shedding* yang cukup untuk meningkatkan kadar asam sialat plasma.

Hasil lain yang ditemukan pada penelitian ini adalah tidak ditemukan perbedaan bermakna antara kelompok tikus yang diinduksi FAA dan tikus yang mendapatkan BM+FAA. Hal ini menunjukkan bahwa belum didapatkan perlindungan buah merah terhadap induksi FAA. Sementara itu apabila kita bandingkan dengan penelitian sejenis yang menggunakan tomat yang kaya akan likopen (Ismawati, 2005) ternyata memberikan perlindungan yang kuat terhadap karsinogenesis.¹⁷ Buah merah dengan kandungan antioksidannya yang tinggi dan beraneka ragam seperti β karoten, α tokoferol seharusnya memberikan efek yang sama atau bahkan lebih kuat dibandingkan tomat. Namun hasil yang tidak diharapkan ini kemungkinan disebabkan oleh adanya interaksi yang saling berlawanan antar senyawa-senyawa yang terdapat di dalam buah merah sehingga mengurangi efek perlindungan karsinogenesisnya. Hal ini terungkap pada penelitian yang dilakukan oleh Handayani (2006) yang meneliti pengaruh buah merah terhadap kerusakan oksidatif pada tikus dengan perlakuan yang sama ternyata buah merah hanya dapat melindungi kerusakan oksidatif pada membran sel,

sedangkan untuk kerusakan yang terjadi di dalam sel belum ditemukan perlindungan yang cukup.⁷⁰ Dari penelitian tersebut juga ada dugaan bahwa minyak buah merah berpotensi menimbulkan stres oksidatif. Berdasarkan hasil ini dapat diajukan beberapa dugaan diantaranya adalah: adanya senyawa oksidan yang terkandung di dalam buah merah atau yang terbentuk selama proses pengolahan. Kemungkinan lain adalah terbentuknya senyawa prooksidan dari antioksidan yang terkandung di dalam minyak buah merah.

5.1.2 Proteasom

Proteasom merupakan kompleks multiprotein yang berperan dalam degradasi berbagai protein yang terdapat di dalam sel. Melalui mekanisme degradasi tersebut memungkinkan proteasom dapat mengatur ekspresi berbagai protein yang terlibat dalam proses penting di dalam sel antara lain siklus sel dan apoptosis. Berkaitan dengan fungsinya itu maka peningkatan proteasom berkaitan erat dengan terjadinya karsinogenesis, seperti dikemukakan oleh Dutaud dkk (2002) yang menemukan peningkatan kadar proteasom pada beberapa keganasan.¹⁶ Mekanisme yang menyebabkan peningkatan proteasom di dalam sel tumor adalah dilepaskannya sejenis protein tertentu oleh sel tumor yaitu *proteolysis inducing factor* (PIF) yang memacu proteolisis yang antara lain terjadi melalui peningkatan proteasom. Sementara itu peningkatan kadar proteasom di dalam plasma disebabkan oleh adanya nekrosis sel pada jaringan tumor sehingga mengakibatkan tercurahnya proteasom ke dalam plasma.⁷¹

Pada penelitian ini didapatkan hasil bahwa kadar proteasom baik di plasma maupun di dalam jaringan hati tidak berbeda bermakna diantara semua kelompok perlakuan. Hal ini berbeda dengan yang ditemukan oleh Ismawati (2005) yaitu kadar proteasom plasma dan hati pada kelompok FAA meningkat secara bermakna dibandingkan kontrol¹⁷. Kadar proteasom yang tidak berbeda bermakna pada penelitian ini mungkin disebabkan oleh masih dininya tahap karsinogenesis yang terjadi. Hal ini sesuai dengan pemeriksaan kadar asam sialat plasma.

5.1.3 Histopatologis

Pemeriksaan histopatologis merupakan pemeriksaan yang sering dilakukan untuk melihat gambaran kerusakan jaringan yang diakibatkan oleh suatu penyakit. Demikian juga halnya dengan penyakit kanker, meskipun sudah ada pemeriksaan marker biokimia yang dapat mendeteksi kanker secara dini namun untuk melihat jenis

dan perubahan bentuk sel tumor serta perubahan struktur pada jaringan kanker maka pemeriksaan histopatologis sangat diperlukan.

Pada penelitian ini penilaian karsinogenesis akibat karsinogen kimia N,2-fluoroenilasetamida dilakukan dengan mengamati beberapa kriteria yaitu sel dengan inti pleomorfik, jumlah mitosis, nekrosis, proliferasi sel oval, infiltrasi sel radang dan inti hiperkromatik. Hasil yang ditemukan kemudian dikonversikan ke dalam sistem penilaian (*scoring*).

Hasil penelitian menunjukkan peningkatan yang bermakna skor histopatologis pada kelompok yang mendapatkan FAA dibandingkan kelompok kontrol. Pada kelompok FAA terlihat adanya peningkatan pada 2 kriteria penilaian yaitu proliferasi sel oval dan sel radang. Dari skor yang didapatkan maka dapat dikatakan bahwa pemberian FAA selama 8 minggu sudah menyebabkan terjadinya karsinogenesis meskipun baru pada tahap premaligna ringan. Proliferasi sel oval dan infiltrasi sel radang ini sebenarnya bukanlah gambaran spesifik suatu kanker. Menurut kepustakaan sel oval merupakan *local (adult) stem cell* di hati. Sel ini akan berproliferasi apabila proliferasi sel hepatosit dihambat misalnya oleh virus maupun zat kimia. Sell (2003) juga menemukan terjadinya proliferasi cepat sel oval dapat terjadi pada pemberian FAA dan CCL4⁶⁰. Proliferasi sel oval dimasukkan sebagai salah satu kriteria penilaian karena ia memiliki respon yang cepat terhadap induksi FAA sehingga diharapkan peningkatan jumlah sel oval dapat dijadikan pertanda awal proses karsinogenesis.

Pemeriksaan histopatologis pada kelompok yang diberikan buah merah dan FAA tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna dibandingkan kelompok FAA. Hal ini menunjukkan bahwa buah merah belum memberikan perlindungan terhadap karsinogenesis akibat pemberian FAA. Hal ini berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh Naves (2001) yang menemukan hambatan proliferasi sel oval pada pemberian antioksidan murni yaitu beta karoten dan vitamin A.⁷² Perbedaan ini kemungkinan disebabkan karena bahan yang digunakan adalah bahan alam sehingga dapat terjadi interaksi antara senyawa-senyawa yang terkandung di dalamnya yang dapat mengurangi potensi antioksidannya. Kemungkinan lain adalah adanya oksidan di dalam MBM yang digunakan (CV Papua Cendrawasih®) atau oksidan yang terbentuk selama preparasi MBM.

Berdasarkan hasil penelitian terhadap karsinogenesis diatas dapat ditarik suatu kesimpulan bahwa tahap karsinogenesis yang terjadi pada penelitian ini masih sangat dini sehingga perlindungan minyak buah merah terhadap karsinogenesis belum tampak

5.2.3 Gambaran histopatologis kerusakan sel hati

Walaupun pada awalnya pemeriksaan histopatologis ditujukan untuk mengamati derajat karsinogenesis, namun pada pengamatan ditemukan hasil lain yang diluar dugaan pada kelompok yang mendapatkan minyak buah merah. Pada penelitian ini ditemukan perubahan morfologi sel hati pada kelompok yang mendapatkan buah merah (BM) dan kelompok yang mendapatkan buah merah dan FAA (BM+FAA). Pada kedua kelompok ini sitoplasma sel hati menjadi bertambah besar, warnanya lebih pucat dan sinusoid-sinusoid menjadi menyempit. Perubahan ini terjadi karena adanya penumpukan cairan di dalam sel yang diakibatkan gangguan permeabilitas membran. Hal ini cocok dengan gambaran histopatologis pada degenerasi hidropik yang merupakan perubahan yang ditemukan pada keadaan *acute cell injury* yang masih bersifat reversibel.

Dari hasil ini dapat disimpulkan bahwa pemberian buah merah dapat mengganggu integritas membran sel hati. Hal ini mendukung hasil pemeriksaan aktivitas GPT plasma.