

BAB 6 PEMBAHASAN

6.1 Pembahasan Hasil Penelitian

Telomerase merupakan salah satu komponen penting dalam pembelahan sel kanker. Telomerase hanya didapati pada sel kanker dan sel primordial yang masih membelah didalam tubuh. Pada sel kanker, peran dari telomerase sangat vital terutama dalam pembelahan sel kanker. Kanker serviks merupakan salah satu kanker dengan tingkat kematian yang tinggi, selain itu kanker serviks juga memiliki tingkat proliferasi yang sangat cepat. Sampai saat ini, pengobatan pada kanker serviks belum menunjukkan hasil yang maximal, bahkan sering kali pengobatan kanker serviks akan berujung pada penurunan *Quality of life* pasien kanker serviks. Diketahui kanker serviks memiliki kadar telomerase yang sangat tinggi, lebih dari 95% kadar telomerase didapatkan pada kanker serviks. karena perannya yang sangat vital pada kanker serviks, penghambatan telomerase diharapkan dapat digunakan sebagai terpai yang adekuat dalam pengobatan kanker serviks. selain itu, telomerase juga sangat spesifik karena hanya terdapat pada sel kanker, sehingga pengobatan pada telomerase akan mengurangi efek dari eradikasi kanker serviks.

Antibodi diketahui sebagai salah satu molekul yang mampu mengenali antigenya secara spesifik. Antibodi telomerase diharapkan mampu untuk berikatan dengan telomerase dan mengganggu kerja dari telomerase. Antibodi yang dihasilkan pada penelitian ini menggunakan

kelinci jantan berusia 3-6 bulan sebagai vektor. Penggunaan kelinci jantan dimaksudkan untuk mengurangi efek stress pada penghasilan antibodi, umur 3-6 bulan merupakan puncak saat antibodi pada tubuh kelinci diproduksi. Antibodi yang dihasilkan dalam tubuh kelinci merupakan antibodi poliklonal igG. Antibodi yang dihasilkan dalam tubuh kelinci akan bersirkulasi dalam tubuh kelinci, sehingga pengambilan darah dilakukan untuk mendapatkan antibodi yang telah dihasilkan. darah kelinci dipanen setiap minggu sampai minggu ke 5 untuk melihat respon imun kelinci. Darah kelinci yang telah dipanen diambil serumnya karena antibodi terdapat pada serum kelinci. Untuk meningkatkan kepekatan antibodi dilakukan SAS (*Saturated ammonium sulfate*) pada serum kelinci yang didapatkan.

Immunogenitas dari antibodi telomerase diukur menggunakan metode ELISA, hasil dari ELISA menunjukkan terdapat peningkatan kadar antibodi telomerase yang tercermin dalam peningkatan optical density pada minggu ke-1 hingga minggu ke 3 dan penurunan kadar antibodi telomerase pada minggu ke 4 dan 5. Hasil dari ELISA menunjukkan bahwa antibodi telomerase terproduksi dalam tubuh kelinci, hal ini dapat dipastikan dengan adanya kesesuaian antara Grafik hasil ELISA dan Grafik antibodi secara konsep imunologi. Hasil ini menunjukkan bahwa telomerase merupakan suatu protein yang bersifat immunogen pada tubuh kelinci sehingga terdapat potensi untuk menghasilkan antibodi telomerase secara massal yang dapat dikembangkan sebagai bahan untuk penelitian pada laboratorium, sebagai

biomarker dalam pendeteksian kanker serviks, dan memiliki potensi sebagai terapi baru kanker serviks.

Untuk memastikan secara kualitatif ikatan antara antigen dan antibodi telomerase metode western blotting dilakukan. Elektroforesis merupakan metode awal untuk menghitung berat molekul suatu protein. Pada pengukuran berat molekul protein telomerase pada western blotting didapatkan beratnya sekitar 58 kD (kilodalton). Setelah dilakukan elektroforesis pada protein telomerase, selanjutnya dilakukan western blotting pada gel yang telah berisi protein telomerase. antibodi telomerase ditransfer pada membran nitroselulosa, selanjutnya membran yang telah berisi antibodi telomerase direaksikan dengan gel yang telah berisi protein telomerase. hasilnya didapatkan penebalan pita pada berat molekul 58 kD pada membran nitroselulosa yang menunjukkan terdapat kesamaan antara pengenalan antibodi telomerase pada membran nitroselulosa dan hasil dari profiling protein telomerase. hal ini mengindikasikan bahwa antibodi telomerase berhasil berikatan secara spesifik dengan protein telomerase.

Antibodi yang dihasilkan pada penelitian ini telah berhasil mengenali antigen telomerase secara signifikan ditandai dengan adanya penebalan pita pada membran nitroselulosa dan adanya grafik yang sesuai pada ELISA hasil titer antibodi. Untuk melihat seberapa jauh antibodi mampu bekerja secara simultan, dilakukan uji coba pada sel HeLa. Sel HeLa merupakan sel kanker leher rahim yang telah dimurnikan dan dapat digunakan pada laboratorium. Uji coba pada sel HeLa dilakukan menggunakan metode immonositokimia untuk melihat secara

kualitatif bahwa antibodi telomerase mampu mengenali telomerase yang terdapat pada sel kanker leher rahim (serviks). hasil dari immunositokimia menunjukkan adanya peningkatan ikatan antara antibodi dan antigen telomerase pada sel hela sesuai dengan penambahan dosis (Gambar 3). Hal ini mengindikasikan bahwa antibodi telomerase mampu mengenali telomerase yang terletak pada sel HeLa.

Untuk melihat seberapa besar pengaruh ikatan yang ditimbulkan oleh antibodi telomerase pada sel HeLa, dilakukan MTT assay. MTT assay adalah sebuah metode yang mampu untuk melihat seberapa besar sel HeLa melakukan aktifitas melalui penghitungan respirasinya. Sel hela dipaparkan dengan antibodi telomerase pada dosis yang berbeda untuk memastikan seberapa besar pengaruh ikatan antibodi pada telomerase, signifikansinya, dan menentukan dosis yang paling optimal dalam menghambat respirasi sel HeLa. Hasilnya pada sel HeLa didapatkan penurunan respirasi sel yang signifikan seiring dengan adanya penambahan dosis antibodi yang dipaparkan pada sel HeLa. Dosis paling optimal ditemukan sebesar 2 μg antibodi telomerase dengan $p=0.032$ (signifikan). Hal ini mengindikasikan bahwa antibodi telomerase sangat berpengaruh dalam mengurangi proliferasi sel HeLa.

Penelitian ini telah berhasil menciptakan antibodi telomerase poliklonal menggunakan vektor kelinci. Antibodi yang dihasilkan telah dibuktikan secara immunoblotting mampu mengenali antigen telomerase secara spesifik pada berat molekul 58 kDa. Hasil dari immunositokimia juga menunjukkan bahwa antibodi telomerase mampu mengenali

telomerase yang terdapat pada sel HeLa secara *invivo*. Ikatan yang dihasilkan oleh antibodi telomerase pada sel HeLa pada immunositokimia juga meningkat seiring dengan adanya peningkatan dosis antibodi yang dipaparkan pada sel HeLa. MTT assay membuktikan bahwa antibodi telomerase berpengaruh besar dalam mengurangi proliferasi sel HeLa. Didapatkan dosis optimum dalam penghambatan sel HeLa pada MTT assay adalah 2 μ l dengan $p=0.032$. penelitian ini telah membuktikan bahwa antibodi telomerase sangat potensial untuk dijadikan alat pendeteksian pada kanker serviks maupun sebagai agen terapi kanker serviks.

6.2 Implikasi Terhadap Bidang Kedokteran

Penelitian ini bertujuan untuk menemukan suatu pengobatan yang mutakhir dalam menghentikan proliferasi kanker leher rahim. Hingga saat ini belum ditemukan adanya pengobatan yang adekuat dan efektif dalam pengobatan kanker leher rahim. Pengobatan melalui penghambatan protein telomerase diharapkan dapat menjadi salah satu pengobatan yang mampu mengurangi penderitaan pasien dan meningkatkan efektifitas pengobatan kanker leher rahim di bidang kedokteran. Pengobatan menggunakan antibodi juga merupakan pengobatan yang lebih terjangkau sehingga dapat menjadi pengobatan yang massal dan tersedia bagi seluruh masyarakat.

6.3 Keterbatasan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian perintis yang telah berhasil menunjukkan bahwa telomerase merupakan suatu protein yang sangat potensial untuk dikembangkan dalam pengobatan kanker. Sebagai suatu penelitian yang bertujuan sebagai suatu terapi baru, diperlukan suatu uji percobaan yang mendalam pada penelitian ini. Penelitian ini terbatas hanya pada satu jenis kanker karena adanya kekurangan dana dan waktu untuk melakukan ujicoba yang lebih spesifik pada kanker lainnya.

