

**BAB 6****PEMBAHASAN****6.1 Pembahasan Hasil Penelitian**

Telah berkembang luas penelitian herbal dalam terapi kanker. Bagaimanapun, kenyataannya masyarakat Indonesia selalu mengkombinasikan obat herbal tanpa dasar ilmiah yang jelas. Pemahaman metode ekstraksi, administrasi ekstrak tunggal, dan kombinasinya sangat penting pada aplikasi terapi dimasa depan. Kualitas ekstrak dapat ditentukan dengan memilih metode ekstraksi, pelarut, dan beberapa parameter penentu yang tepat, namun sampai saat ini belum ada jaminan bahwa tingginya kandungan fitokimia utama pada ekstrak berbanding lurus dengan optimalisasi terapi. Optimalisasi terapi pada sel HeLa dapat ditentukan melalui beberapa parameter, diantaranya kemampuan penghambatan proliferasi sel dan induksi apoptosis (aktivasi caspase-3). Sementara mekanisme antikanker dapat diidentifikasi melalui peningkatan aktivasi NF- $\kappa$ B.

Pada penelitian ini proliferasi sel HeLa diidentifikasi menggunakan MTT dan jumlah sel HeLa, ekstrak tunggal menunjukkan aktivitas anti-proliferasi yang lebih baik dibandingkan dengan ekstrak kombinasi pada 72 variasi kombinasi dosis, kecuali pada ekstrak sirih merah tidak menunjukkan aktivitas penghambatan proliferasi yang signifikan baik maserasi maupun sokletasi. Jika dibandingkan dengan gold standart cisplatin, potensi penghambatan cisplatin menunjukkan aktivitas penghambatan yang lebih tinggi dibandingkan dengan

ekstrak. Pada penelitian ini belum ditemukan  $IC_{50}$  ekstrak salam maserasi, salam soklet, dan sirih merah maserasi. Penelitian ini menggunakan dosis efektif, yakni dosis salam maserasi, salam soklet, dan sirih merah maserasi yang mampu menurunkan jumlah sel HeLa secara signifikan.

Pada pengujian jalur apoptosis digunakan parameter NF- $\kappa$ B. Berbagai macam studi menyebutkan bahwa Reactive Oxygen Spesies (ROS) memainkan peranan penting pada aktivasi NF- $\kappa$ B. Hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) berfungsi sebagai *second messenger* setelah stimulasi dari TNF- $\alpha$  (Schmidt *et. al.*, 1995). Hasil uji statistik distribusi NF- $\kappa$ B menunjukkan adanya pengaruh pemberian ekstrak pada kelompok perlakuan. Hal ini ditunjukkan dengan adanya rata-rata distribusi NF- $\kappa$ B di inti sel HeLa yang cenderung meningkat pada ekstrak salam maserasi, salam soklet, dan sirih merah maserasi ( $p=0,000$ ) secara signifikan dibandingkan dengan kontrol, begitu juga dengan kombinasi ekstrak ( $p=0,020$ ). Sementara itu untuk mengkonfirmasi aktivasi NF- $\kappa$ B melalui jalur ROS, hasil pada penelitian ini di konfirmasi dengan hasil Sari (2014) dalam pengukuran level ROS pada objek penelitian yang sama. Peningkatan ROS memainkan peranan penting pada fosforilasi I $\kappa$ B, dimana I $\kappa$ B merupakan suatu protein yang mengatur bentuk homo- atau heterodimer bentuk tidak aktif NF- $\kappa$ B di sitoplasma (Pomerantz and Baltimore, 2002; Ghobial *et al.*, 2005). Hasil uji statistik level ROS menunjukkan adanya pengaruh pemberian ekstrak pada kelompok perlakuan. Hal ini ditunjukkan dengan adanya rata-rata level ROS sel HeLa yang cenderung meningkat pada ekstrak salam maserasi, salam soklet, dan sirih merah maserasi ( $p=0,001$ ) dibandingkan dengan kontrol, begitu juga dengan kombinasi ekstrak ( $p=0,001$ ). Sehingga ekstrak salam maserasi, salam soklet,

salam maserasi, serta kombinasi ekstrak dapat menginduksi apoptosis walaupun ekstrak tunggal lebih baik dibandingkan ekstrak kombinasi.

Ekstrak tunggal menunjukkan aktivitas antikanker yang lebih baik dibandingkan dengan kombinasinya mungkin dapat terjadi karena beberapa mekanisme antara lain (1) Ekstrak daun salam dan sirih merah berinteraksi dan menyebabkan reaksi netralisasi pada gugus yang memiliki aktivitas antikanker dan (2) ekstrak daun salam dan sirih merah mempunyai mekanisme yang sama, hal ini mendukung teori sebelumnya bahwa dalam mengkombinasikan obat kanker seharusnya melalui mekanisme yang berbeda untuk meningkatkan efektivitas dan menurunkan toksisitas. Sehingga, diharapkan masyarakat mendapatkan perhatian khusus dalam mengkombinasi obat herbal karena kebanyakan obat herbal menggunakan mekanisme oksidan/prooksidan. Namun diperlukan penelitian lebih lanjut dalam menjelaskan mekanisme bagaimana kombinasi ekstrak tanaman dapat menurunkan aktivitas antikanker. Sementara itu, ekstrak daun salam menunjukkan aktivitas antikanker yang lebih baik dibandingkan dengan ekstrak daun sirih merah, walaupun kandungan asam galat dan flavonoid lebih tinggi pada ekstrak daun sirih merah. Hal ini dapat terjadi karena ekstrak daun salam dan sirih merah mungkin mengandung ratusan komponen fitokimia, dimana komponen-komponen tersebut mempunyai aktivitas antikanker yang berbeda-beda, sehingga mengapa memilih metode ekstraksi yang tepat perlu diperhatikan. Ketika komponen utama terekstraksi, komponen lainnya mungkin juga ikut terekstraksi dalam etanol 96%. Komponen lain tersebut dapat meningkatkan atau menurunkan aktivitas antikanker, sebagai pelengkap atau sebaliknya menetralkan komponen utama. Selain itu pada ekstraksi soklet adanya pemberian panas mungkin menyebabkan hilangnya beberapa komponen

penting yang mendukung aktivitas antikanker. Diperlukan penelitian lanjutan dalam menganalisis komponen lengkap dalam masing-masing ekstrak, sehingga dapat menjawab dengan jelas bagaimana mekanisme tersebut dapat terjadi.

### 6.2 Implikasi Terhadap Bidang Farmasi

Dalam melakukan penelitian-penelitian berbasis fitoterapi farmasis harus lebih memperhatikan metode ekstraksi, tidak hanya terfokus pada kadar kandungan zat aktif utama, tetapi semua komponen perlu diperhatikan. Selain itu farmasis harus mulai berkembang ke arah biomolekular agar mekanisme terapi dapat ditentukan secara jelas.

### 6.3 Keterbatasan Penelitian

Keterbatasan pada penelitian ini optimalisasi dosis pada MTT karena banyaknya sampel sehingga keterbatasan dalam pengulangan disamping belum adanya  $IC_{50}$  antikanker ekstrak ethanol daun salam dan daun sirih merah pada penelitian sebelumnya. Selain itu pada penelitian ini tidak dilakukan analisis secara LC ataupun HPLC untuk mengetahui zat yang hilang secara spesifik pada metode maserasi dan soklet sehingga efektivitas terapinya berbeda.