

BAB 6

PEMBAHASAN

6.1 Analisa Hasil

6.1.1 Analisa Uji Fitokimia

Genus *Aaptos* merupakan golongan spons laut yang kaya akan alkaloid. Kandungan alkaloid yang dipercaya dapat menunjukkan aktivitas sitotoksik adalah senyawa aaptamin dan derivatnya (Putra dan Jaswir, 2014). Isolasi aaptamin dari *Aaptos suberitoides* menunjukkan bahwa senyawa tersebut merupakan metabolit aktif sebagai antikanker (Mayer and Gustafson, 2008). Maka dari itu uji fitokimia yang dilakukan pada penelitian ini adalah untuk memastikan bahwa kandungan alkaloid di dalamnya tetap ada dan tidak hilang seiring beberapa perlakuan dan proses yang telah dilakukan sebelumnya. Dari pemberian reagen Dragendorf, Wagner, dan Mayer tersebut dibuktikan bahwa ekstrak tersebut positif mengandung alkaloid. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa ekstrak yang digunakan masih potensial untuk dilakukan uji selanjutnya karena kandungan alkaloid di dalamnya belum mengalami kerusakan atau tidak hilang. Intensitas warna dan endapan yang dihasilkan mempunyai tingkat yang hampir sama dan tidak ada perbedaan yang signifikan apabila dibandingkan dengan kontrol negatif. Hal itu bisa disebabkan karena selain warna dasar ekstrak tersebut coklat pekat, kandungan alkaloid di dalamnya memang sama jumlahnya antara tabung reaksi satu dengan tabung reaksi lainnya.

6.1.2 Pengaruh Ekstrak *Aptos suberitoides* Terhadap Proliferasi Sel

Homeostatis antara proliferasi sel dan apoptosis harus dipertahankan secara normal dengan tujuan untuk menjaga integritas jaringan dan organ tubuh (Robbins, 2003). Proses proliferasi yang abnormal berlangsung terus menerus atau tanpa apoptosis yang menyertai akan mengakibatkan sel terus membelah dan akan terus hidup. Proliferasi tersebut dipengaruhi pro-onkogen yang akan berubah menjadi onkogen oleh karena sebab-sebab tertentu. Pemberian terapi pada sel yang mengalami kanker adalah bertujuan untuk menekan angka proliferasi sel tersebut. Untuk melihat tingkat proliferasi sel yang terjadi pada saat pemberian perlakuan tertentu bisa menggunakan metode MTT.

Metode MTT merupakan metode uji menggunakan reduksi garam kuning tetrazolium MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromida) oleh sistem reduktase. Uji ini dapat digunakan untuk melihat sel hidup, proliferasi, dan sitotoksitas senyawa secara kuantitas. Metode ini dipilih karena cepat melihat respon sel yang berproliferasi, tidak dibutuhkan reagen tambahan, dan memang biasa digunakan untuk melihat aktivitas senyawa antikanker atau senyawa farmasetik lain (Rode, 2008). Hasil dari metode ini dapat dilihat dengan menggunakan mikroskop *inverted* dan absorbansinya dengan menggunakan ELISA.

Suksinat tetrazolium yang terbentuk akan bereaksi dengan mitokondria di dalam sel yang masih hidup sehingga membentuk kristal formazan. Kristal formazan yang berwarna ungu dan tidak larut dalam air ini menandakan bahwa masih ada rantai respirasi yang terjadi di mitokondria sel tersebut sehingga semakin banyak kristal formazan yang terbentuk maka proliferasi sel masih terus terjadi dan sel masih belum mengalami kematian. Namun sebaliknya apabila

kristal formazan yang terbentuk sedikit menandakan bahwa proliferasi sel sudah tidak terjadi dan kemungkinan sel sudah mengalami kematian. Intensitas warna ungu yang terbentuk dapat diukur absorbansinya menggunakan ELISA. Semakin pekat warna ungu maka semakin banyak kristal formazan yang terbentuk dan semakin banyak pula sel yang mengalami proliferasi.

Berdasarkan analisis *One way ANOVA* semua perlakuan dosis menunjukkan hasil yang sangat signifikan dengan $p = 0,000$. Hal itu dapat terjadi karena pada penelitian menggunakan isolat aaptamin yang diperoleh dari *Aptos suberitoides* dapat menginduksi ekspresi protein p21 dan menahan siklus G2/M (Mayer and Gustafson, 2008). Mekanisme tersebut terjadi karena proses interkalasi pada DNA sel. Selain itu aaptamin juga dapat mengubah proteom pada sel tersebut. Pada sebuah studi tahun 2014 menunjukkan bahwa aaptamin juga dapat menginduksi ekspresi dari Ap-1, NF-Kb, dan p53 yang berperan pada proses transkripsi sel sehingga dapat membuktikan bahwa proses penghambatan proliferasi dan peningkatan apoptosis tersebut dapat melalui jalur Ap-1, NF-Kb, dan p53 (Dyshlovoy, 2014).

Apabila semua perlakuan dosis dibandingkan dengan cisplatin, cisplatin masih menunjukkan hambatan proliferasi yang paling tinggi dibandingkan ekstrak spons. Bila ditinjau dari mekanisme kerjanya cisplatin merupakan kemoterapi golongan platinum yang dapat menghambat sintesis DNA, mengganggu perbaikan DNA yang rusak, mengganggu fungsi DNA dengan membentuk ikatan kovalen pada basa purin DNA (Dasari *et al.*, 2014). Oleh karena itu penelitian ekstrak spons *Aptos suberitoides* terhadap DNA juga perlu dilakukan. Namun berdasarkan analisis *Post Hoc* menunjukkan bahwa dosis 33,5 $\mu\text{g/mL}$ dan 67 $\mu\text{g/mL}$ mempunyai proliferasi sel yang signifikan terhadap cisplatin. Sedangkan

dosis 134 $\mu\text{g/mL}$ dan 268 $\mu\text{g/mL}$ tidak signifikan terhadap cisplatin. Hasil yang tidak signifikan tersebut dapat diartikan bahwa dosis 134 $\mu\text{g/mL}$ dan 268 $\mu\text{g/mL}$ mempunyai efektifitas yang ekuivalen dengan cisplatin 16,8 $\mu\text{g/mL}$.

Pada lampiran 5 hasil regresi linier yang telah dihitung menunjukkan bahwa titik-titik variabel tidak terlalu dekat dengan garis linier. Hal itu terjadi karena pada dosis 268 $\mu\text{g/mL}$ proliferasi sel yang dihasilkan hampir sama dengan 134 $\mu\text{g/mL}$. Sehingga dapat diperkirakan bahwa pada dosis 268 $\mu\text{g/mL}$ telah mencapai dosis maksimum antiproliferasi. Apabila dosis tersebut digunakan untuk terapi bisa jadi risiko efek samping yang tidak diinginkan akan muncul. Oleh karena itu untuk membuat titik variabel lebih sejajar pada garis linier maka dosis 268 $\mu\text{g/mL}$ tidak digunakan dalam menentukan IC50 ekstrak spons laut.

Penelitian ini juga membuktikan bahwa pemberian dosis 67 $\mu\text{g/mL}$ dan 134 $\mu\text{g/mL}$ mengalami perbedaan hasil proliferasi. Disebutkan pada penelitian sebelumnya bahwa pemberian dosis 67 $\mu\text{g/mL}$ dan 134 $\mu\text{g/mL}$ menunjukkan tidak ada beda nyata pada hasil sel yang tetap hidup (Puji *et al.*, 2011). Pada penelitian ini dosis ini apabila dosis 67 $\mu\text{g/mL}$ dibandingkan dengan dosis 134 $\mu\text{g/mL}$ memang menghasilkan nilai yang tidak signifikan. Akan tetapi apabila dibandingkan dengan cispatin hasil yang signifikan terjadi pada dosis 67 $\mu\text{g/mL}$ sedangkan hasil yang tidak signifikan ditunjukkan pada dosis 134 $\mu\text{g/mL}$. Hal itu sudah menunjukkan pengaruh proliferasi yang sangat berbeda pada sel HeLa.

Dalam penelitian ini didapatkan dosis IC50 sebesar 57,43 $\mu\text{g/mL}$. Berdasarkan National Cancer Institute 2001 suatu senyawa ekstrak yang mempunyai IC50 antara 30-100 $\mu\text{g/mL}$ tergolong senyawa aktif yang berpotensi untuk dikembangkan menjadi antikanker (*moderate active*) sehingga

pengembangan tentang terapi menggunakan ekstrak *Aptos suberitoides* dengan maserasi selama lima hari ini sangat perlu untuk dilanjutkan.

Maserasi adalah proses pengestrakan simplisia dengan pelarut yang sesuai dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada suhu ruang sehingga kandungan senyawa yang tidak tahan panas tidak akan rusak atau hilang (Depkes, 2000). Proses maserasi ini pada beberapa farmakope menyebutkan bahwa membutuhkan waktu antara 4-10 hari, namun menurut pengamatan hasil yang memadai sudah tercapai pada saat mencapai 5 hari (Voight, 1994). Oleh karena itu pada penelitian ini dilakukan maserasi selama 5 hari sesuai dengan Acuan Sediaan Herbal yang dikeluarkan BPOM pada tahun 2011 bahwa untuk melakukan ekstraksi dengan cara maserasi dibuat dengan merendam bahan dengan pelarut dan dibiarkan selama 5 hari sambil sering diaduk, diperas, disaring dengan pelarut. Persen rendemen yang dihasilkan pada penelitian ini adalah sebanyak 3,96 %. Pada penelitian persen rendemen spons laut yang dilakukan pada tahun 2007 spons laut menghasilkan persen rendemen yang berbeda-beda bergantung dari struktur morfologi dari spons tersebut. Spons laut yang mempunyaitekstru padat, lunak halus, dan lentur seperti karet mempunyai persen rendemen yang lebih besar dibandingkan dengan spons laut yang strukturnya rapuh (Suryaningrum *dkk.*, 2007). Selain itu persen rendemen yang dihasilkan dapat dipengaruhi oleh dua hal yaitu jenis pelarut yang digunakan dan lama waktu dilakukannya maserasi (Wahyuni dan Widjanarko, 2015). Proses maserasi yang dilakukan dengan lebih dari satu kali penyaringan akan mempengaruhi ekstrak tersebut karena volume ekstrak yang dihasilkan akan berpengaruh pada kadar kandungan senyawa aktif di dalamnya (Setyaningsih *dkk.*, 2006).

6.2 Implikasi terhadap Bidang Farmasi

Penelitian yang dilakukan oleh seorang farmasis harus dapat melihat bahwa peluang senyawa untuk menjadi obat tidak hanya berasal dari tanaman, namun bisa digali dengan mencari tahu bioaktivitas senyawa dari bahan laut, mineral, dan lain-lain. Sumber senyawa yang digunakan harus dikelola dengan baik mulai dari memilih sumber spons laut yang diambil, mengawetkan bahan dan senyawa, cara pengekstrakan yang dipilih, sehingga ke depannya menjadi *marine medicine* yang dapat dikembangkan secara efisien. Perbandingan antara aktifitas isolat dan ekstrak juga perlu di uji agar menghasilkan terapi dengan sistem pengelolaan yang tepat. Selain itu pengembangan tentang sistem biomolekuler, stem cell, dan proses lain untuk terapi kanker harus didalami karena dengan mempelajari hal tersebut kelebihan dan kelemahan tentang mekanisme pengobatan dapat dihindari dan diatasi dengan benar.

6.3 Keterbatasan Penelitian

Dalam penelitian ini terdapat beberapa keterbatasan berupa tidak dilihat kandungan apa saja dan berapa kadar bioaktif didalam ekstrak menggunakan HPLC. Penelitian ini juga tidak melakukan optimasi kandungan dengan membandingkan apabila ekstrak dilakukan maserasi kurang atau lebih dari lima kali.