PEMANFAATAN ANTIOKSIDAN (GLUTATHIONE) TERIPANG EMAS LAUT (GOLDEN STICHOUPUS VARIEGATUS) BERBASIS NANOTEKNOLOGI DALAM APOPTOSIS SEL SKUAMOSA KANKER MULUT

Miftakhul Cahyati*, Priska Anindhita A.R, Nabilah Kusuma W.***, Sakinah Azzahra Adam****

*Departemen Penyakit Mulut Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya, Malang

**Program Studi Pendidikan Dokter Gigi Universitas Brawijaya, Malang

Korespondensi: Priska, Email: anindhitaar@gmail.com

ABSTRAK

Kanker mulut adalah penyakit yang jarang diteliti dan kurangnya pendeteksian dini.. Antioksidan terbesar ada pada Teripang Emas Laut (*Golden stichoupus variegatus*) dengan bantuan *Glutathione*, memberikan elektron pada radikal bebas mampu menekan adanya kerusakan sel. **Tujuan:** untuk mengetahui dosis pemberian ekstrak Teripang Emas Laut (*Golden stichoupus variegatus*) yang paling efektif terhadap sel skuamosa kanker mulut. **Metode:** Tikus putih sebanyak 25 ekor: Tikus tanpa perlakuan, Tikus dengan induksi DMBA, Tikus dengan paparan DMBA (*Dimethylbenz 7,12- α anthracene*) 20mg/kg BB diinduksi ekstrak teripang emas laut dosis 0,33 g/kg BB, 0,66 g/kg BB, dan 0,99 g/kg BB dengan analisa data *One Way Anova*. **Hasil:** K1 adalah perlakuan paling efektif. Hasil anova menunjukkan perlakuan K1 tidak berbeda signifikan dengan perlakuan K2, dan K3, maka ketiga perlakuan ini yaitu perlakuan K1, K2, dan K3 adalah perlakuan sama efektif. **Kesimpulan:** Tidak ada perbedaan signifikan diantara ketiga kelompok perlakuan.

Kata kunci: Sel skuamosa, Kanker Mulut, Teripang Emas Laut, Antioksidan.

UTILIZATION OF ANTIOXIDANT (GLUTATHIONE) OF GOLD SEA CUCUMBER (GOLDEN STICHOUPUS VARIEGATUS) BASED ON NANOTECHNOLOGY IN APOPTOSIS OF SQUAMOUS CELL CARCINOMA

ABSTRACT

Oral cancer is a disease that is rarely studied and lacks early detection. The biggest antioxidant is in Sea Gold Sea Cucumber (*Golden stichopus variegatus*) with the help of Glutathione, giving electrons to free radicals to suppress cell damage. **Objective:** to determine the dose of the extract of Sea Gold Sea Cucumber (*Golden stichopus variegatus*) which is the most effective against squamous cell cancer of the mouth. **Methods:** 25 white mice: Untreated rats, DMBA induction, Rats with DMBA (Dimethylbenz 7,12- α anthracene) exposure 20mg / kg BB induced sea cucumber gold sea cucumber dose 0.33 g / kg BW, 0, 66 g / kg BW, and 0.99 g / kg BB with One Way Anova data analysis. **Result:** K1 is the most effective treatment. ANOVA results showed that treatment K1 was not significantly different from treatment K2, and K3, then the three treatments, namely treatments K1, K2, and K3 were the same effective treatments. **Conclusion:** There were no significant differences between the three treatment groups.

PENDAHULUAN

Masalah penyakit kanker di Indonesia hampir 70% ditemukan dalam keadaan stadium yang sudah lanjut bahkan meninggal dunia.¹ Salah satu jenis penyakit kanker adalah kanker mulut sel skuamosa yang paling jarang diteliti dan kurangnya pendeteksian dini dan merupakan masalah serius di bidang kesehatan gigi dan mulut Indonesia selaku negara dengan mayoritas perokok.² Saat ini banyak dilakukan penelitian mengenai manfaat kandungan dari hewan, salah satunya adalah teripang. Teripang adalah hewan laut yang memiliki potensi ekonomi yang cukup besar karena mengandung berbagai bahan yang bermanfaat dan dapat dijadikan sebagai sumber

protein hewani, obat luka dan anti inflamasi bahkan antikanker.³

Indonesia adalah negara pengeksport teripang terbesar di dunia. Tetapi, hanya sedikit masyarakat Indonesia yang mengetahui manfaat dari teripang. Kandungan teripang bermanfaat sebagai obat anti virus, anti mikroba, anti peradangan, kecantikan, meningkatkan imunitas, membantu pertumbuhan sel baru, dan sebagai anti kanker.⁴ Jenis teripang terbanyak adalah genus *Holothuria* diikuti oleh *Stichopus*. Dengan mengkatalis Superoksida dan H_2O_2 , kemudian direduksi menjadi GSH pada tubuh dan mampu menetralkan radikal bebas. Tubuh memerlukan

GSH lebih dari luar tubuh, dari teripang emas laut (*Golden stichopus variegatus*) yang memiliki kandungan asam amino tinggi 126-216 mg/g protein lebih tinggi dari kandungan hewan dan tumbuhan lainnya.⁵

Karena permasalahan tersebut kami berinisiatif untuk memanfaatkan ekstrak pada teripang emas laut terutama karena kandungan antioksidan (*Gluthathione*) yang besar dengan memanfaatkan nanoteknologi yang merupakan teknologi terbaru di bidang pengetahuan yang mengubah ukuran partikel menjadi nanometer sehingga obat atau zat lebih mudah diserap oleh tubuh. Tujuan dari penelitian ini adalah membuktikan keefektifan kandungan ekstrak kasar teripang emas laut (*Golden stichopus variegatus*) berbasis nanoteknologi dalam jumlah penurunan sel skuamosa kanker mulut.

METODE

Penelitian ini menggunakan desain *true experimental design in vivo laboratorium* dan rancangan *randomized post test only controlled group design*. Penelitian dilakukan di Laboratorium Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya.

Sampel menggunakan 25 ekor tikus putih *Rattus norvegicus* galur wistar jantan yang dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan yaitu K(-) dengan tikus tanpa perlakuan, K(+) dengan tikus paparan DMBA (*Dimethylbenz 7,12- α anthracene*) 20mg/kg BB, KE1 dengan tikus dengan paparan DMBA (*Dimethylbenz 7,12- α anthracene*) 20mg/kg BB dan induksi ekstrak teripang emas laut dosis 0,33 g/kg BB, KE2 dengan dengan tikus dengan paparan DMBA

(*Dimethylbenz 7,12- α anthracene*) 20mg/kg BB dan induksi ekstrak teripang emas laut dosis 0,66 g/kg BB, KE3 dengan tikus dengan paparan DMBA (*Dimethylbenz 7,12- α anthracene*) 20mg/kg BB dan induksi ekstrak teripang emas laut dosis 0,99 g/kg BB.

Pengambilan sampel teripang emas laut diperoleh dari UD. Teripang Surabaya sejumlah 8 ekor dalam kondisi kering. Ekstraksi teripang menggunakan metode ekstraksi kering, maserasi. Teripang 4 ekor ditiriskan, ditimbang dengan berat 413 gram lalu dihaluskan dengan *blender* dan dimasukkan ke gelas kimia 1L seperlima bagian. Pelarut methanol ditambahkan hingga volumenya mencapai 1L. Sampel dimasukkan ke dalam sonikator selama 1 jam dan dimaserasi 24 jam. Filtrat disaring dengan kertas saring *Whatman* no. 1. Proses maserasi diulang hingga filtrat yang diperoleh bening. Hasil filtrat diuapkan dengan alat *rotary vacuum evaporator* hingga lebih pekat dengan suhu 40°C dengan rotasi pemutaran *round flask* vol. 5. Hasil akhir adalah ekstrak kasar yang bebas dari pelarut dengan volume 20 ml. Nanopartikel yang dibuat dengan metode sonifikasi menggunakan alat ultrasonik kemudian didapatkan ekstrak kasar teripang emas laut yang telah disonikasi.⁶

Uji antioksidan menggunakan metode DPPH yang akan didapatkan ekstrak teripang yang memiliki kapasitas antioksidan tertinggi melalui penentuan Panjang gelombang maksimum, waktu kestabilan pengukuran antioksidan dan pengukuran mendekati nilai kapasitas antioksidan pembanding maka dapat dikatakan bahwa sampel berpotensi sebagai salah satu alternative antioksidan.

Pembuatan larutan karsinogen yang dilakukan dengan melarutkan sejumlah tertentu serbuk DMBA (*Dimethylbenz 7,12- α anthracene*) ke dalam 1 ml minyak jagung. Selanjutnya dilakukan proses homogenasi diaduk dengan pengaduk *stirer* selama 25 menit sampai larutan larut. Dosis induksi yang diberikan adalah DMBA 20 mg/kg BB pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) berusia 4 minggu 2kali dalam seminggu selama 2 minggu.⁷ Mula mula tikus ditimbang untuk mengetahui volume larutan DMBA. Berat tikus rata-rata yang digunakan adalah 62 gram, sehingga perhitungan dosis yang diberikan pada tikus adalah :

$$\frac{20 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} = \frac{d}{62 \text{ g}}$$

$$\frac{20 \text{ mg} \times 62 \text{ g}}{1000 \text{ g}} = d$$

$$1,24 \text{ mg} = d$$

Kemudian 1,24 mg DMBA ini dilarutkan dalam 1 ml minyak jagung untuk diberikan dengan cara injeksi intra muskular pada daerah mukosa bukal. Setelah diberi perlakuan.

Induksi ekstrak kasar teripang emas laut sebelum diberi perlakuan, tikus putih ditandai dengan spidol untuk membedakan tiap perlakuan. Setiap perlakuan dilakukan dengan cara injeksi intraleksi secara langsung ekstrak kasar dari teripang emas laut dengan dosis yang berbeda sesuai kontrol eksperimen mulai hari pertama hingga hari ketujuh.

Pengamatan sel yang mengalami displasia menggunakan pewarnaan HE dan digunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 4x. Analisa yang dilakukan adalah uji normalitas dan uji varian. Jika sebaran data normal dan

varian data homogen, maka digunakan uji *One Way Anova*.

HASIL PENELITIAN

Gambar 1. Hasil Pengamatan Mikroskopis Sel Epitel dengan Pewarnaan HE

K(-) K(+) KP 1 KP 2 KP 3

Gambar 2. Penampakan Mikroskopis oleh Pewarnaan Imunohistokimia

Tabel 1. Nilai Rata – Rata Apoptosis pada semua kelompok perlakuan

No	Kelompok Perlakuan	Nilai Rata – Rata Apoptosis
1	Kontrol Negatif	0
2	Kontrol Positif	0
3	Kelompok Perlakuan 1	16,8
4	Kelompok Perlakuan 2	31,8
5	Kelompok Perlakuan 3	60,2

PEMBAHASAN

Hasil pengamatan makroskopis adalah pada tikus tanpa diberi perlakuan apapun, penampakan pipi/ bukal secara makroskopis terlihat normal karena tidak terdapat perubahan bentuk, warna dan ukuran.⁸ Pada tikus dengan induksi DMBA/ zat karsinogen, penampakan pipi/ bukal secara makroskopis terlihat tidak normal karena terdapat perubahan ukuran, dan warna menjadi tidak segar. Pada tikus dengan induksi DMBA / zat karsinogen yang kemudian diberi perlakuan ekstrak kasar teripang dengan dosis 0,33 g/kg BB, penampakan pipi/ bukal secara makroskopis terlihat tidak normal, namun kondisinya lebih baik daripada kontrol +. Ukuran sel yang membesar berkurang. Pada tikus dengan induksi DMBA / zat karsinogen yang kemudian diberi perlakuan ekstrak kasar teripang

dengan dosis 0,66 g / kg BB, penampakan pipi/ bukal secara makroskopis terlihat tidak normal, namun kondisinya lebih baik daripada kontrol +. Ukuran sel yang membesar berkurang signifikan. Pada tikus dengan induksi DMBA / zat karsinogen yang kemudian diberi perlakuan ekstrak kasar teripang dengan dosis 0,99 g / kg BB, penampakan pipi/ bukal secara makroskopis terlihat tidak normal, namun kondisinya lebih baik daripada kontrol +. Ukuran sel yang membesar berkurang paling signifikan.

Pada pengamatan mikroskopis, yakni pengamatan pada preparat dengan pewarnaan HE ditemukan perubahan pada epitel pipi tikus. Pada control negatif, epitel normal, tidak terjadi perubahan. Pada kontrol positif, terjadi banyak invasif sel basal di epitelium. Namun jumlah sel basal yang mengalami invasive tersebut mengalami penurunan setelah diberikan ekstrak Teripang Emas Laut. Semakin besar dosis ekstrak Teripang Emas Laut yang diberikan, semakin sedikit pula sel basal yang mengalami invasif seperti yang nampak pada Gambar 1.

Selain dengan pewarnaan HE, dilakukan pewarnaan imunohistokimia untuk melihat apoptosis sel yang tidak normal. Sel yang mengalami apoptosis berwarna coklat dengan inti sel berwarna hitam seperti yang nampak pada Gambar 2⁶. Pada kelompok kontrol negatif tidak terlihat sel yang mengalami apoptosis dan apoptosis terbesar didapat pada kelompok perlakuan 3 dengan dosis 0,99 g / kg BB yakni didapat rata –rata sebesar 60,2 butir pada satu lapang pandang seperti yang dijabarkan pada Tabel 1.

Uji secara statistik didapatkan asumsi uji anova yaitu data normal serta variabel homogen dan dilakukan uji normalitas dan homogenitas varian hasilnya signifikan sehingga asumsi anova terpenuhi. Hasil uji anova menolak H_0 yang artinya perbedaan rata-rata apoptosis pada setiap perlakuan.

KESIMPULAN

Dari data yang diperoleh dapat diambil kesimpulan bahwa ekstrak teripang emas laut (*Golden stichopus variegatus*) berbasis nanoteknologi berpotensi dalam apoptosis sel skuamosa kanker mulut pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) dibuktikan pada tabel nilai rata – rata (Tabel 1.) diatas yaitu rata rata tertinggi didapat dari pemberian ekstrak teripang dosis 0,99 g/kg BB. Semakin besar dosis ekstrak teripang emas laut (*Golden stichopus variegatus*) berbasis nanoteknologi maka semakin besar apoptosis sel kanker mulut pada tikus putih (*Rattus norvegicus*).

DAFTAR PUSTAKA

1. Natan Y, Uneputty PA, Lawerissa YA, Pattikawa JA. 2015. *Species and size composition of sea cucumber in coastal waters of UN bay, Southeast Maluku, Indonesia*. International Journal of Fisheries and Aquatic Studies. 2015; 3(1): 251-6.
2. Sirait AM. *Faktor Resiko Tumor/ Kanker Rongga Mulut dan Tenggorokan di Indonesia (Analisis Riskesdas 2007)*. Media Litbangkes. 2013; 23(3): 122-9.
3. Linardi PJ, Damayanti MN, Cahyadi J. *Perancangan Komunikasi Visual Pengenalan Potensi Teripang*. Jurnal DKV Adiwarna. 2014; 1(4): 1-13
4. Elfidasari D, Noriko N, Wulandari N, Perdan AT. *Identifikasi Jenis Teripang Genus Holothuria Asal Perairan Sekitar Kepulauan Seribu Berdasarkan Perbedaan Morfologi*. Jurnal Al Azhar. 2012; 1(3): 140-6.
5. Wijaya A. *Radikal bebas dan parameter status antioksidan*. Forum Diagnostikum. 1996; 1-12.
6. Kurniasari D, Atun S. *Pembuatan dan Karakterisasi Nanopartikel Ekstrak Etanol Temu Kunci pada Berbagai Variasi Komposisi Kitosan*. Jurnal Sains Dasar. 2017; 6(1): 31-5.
7. Adriansyah H, Kamaludin MT, Theodorus, Sulastri H. *Efek Hepatoprotektif Teripang Emas (Stichopus variegatus) pada Tikus Jantan Dewasa Galur Wistar yang Diinduksi Parasetamol Dosis Toksik*. 2014; 46(2): 136-43.
8. Fajrin M, Destiani D. *Perancangan Sistem Pakar Diagnosis Kanker Mulut*. Jurnal Algoritma. 2015; 12(1): 1-7.