

ARTIKEL

**POTENSI PRODUK ALAMI LAUT DARI EKSTRAK ETANOL *Sargassum duplicatum* DAN *Padina australis* SECARA SITOTOKSIK TERHADAP SEL *HeLa***

[*Marine Drugs Potential of Ethanolic Extraction of Sargassum duplicatum and Padina australis In Cytotoxic Activity Against HeLa Cell Lines*]

Yosi Dwi Saputra<sup>1</sup>, Endang L. Widiastuti<sup>2\*</sup>, Melisa Intan Barliana<sup>3</sup>, Nuning Nurcahyani<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Magister Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung

<sup>2</sup>Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung, Jl. Soemantri Brodjonegoro No 1, Bandar Lampung, 35145, Lampung, Indonesia

<sup>3</sup>Departemen Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran, Jl. Raya Bandung-Sumedang km 21, Sumedang, 45363, Jawa Barat, Indonesia

**ABSTRAK**

Salah satu penyebab utama kematian wanita Indonesia adalah kanker serviks. Pertumbuhan sel jaringan tubuh yang tidak terkontrol yang berubah menjadi tumor adalah akar penyebab penyakit ini. Banyak peneliti sedang menyelidiki beragam bahan kimia alami dari habitat laut sebagai pilihan pengobatan antikanker karena pengobatan kanker serviks memiliki efek samping yang besar dan durasi pengobatan yang panjang. Makroalga merupakan salah satu organisme laut yang dapat berpotensi sebagai sumber obat alami untuk terapi kanker. Bahan aktif seperti flavonoid, alkaloid, saponin dan steroid berpotensi sebagai agen anti kanker yang diduga dapat mempengaruhi siklus sel dalam pertumbuhan kanker melalui mekanisme apoptosis. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh senyawa bioaktif yang terkandung didalam ekstrak *Sargassum duplicatum* dan *Padina australis* terhadap sitotoksitas sel kanker serviks, *HeLa*. Aktivitas sitotoksik terhadap sel *HeLa* dievaluasi dengan menggunakan metode WST-8 dengan variasi konsentrasi ekstrak etanol 62,5; 125; 250; 500; 1.000; dan 2.000 ppm. Hasil uji sitotoksik memperlihatkan bahwa ekstrak *S. duplicatum* dan *P. australis* memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel *HeLa*. Nilai IC<sub>50</sub> *Sargassum duplicatum* dan *Padina australis* terhadap sel *HeLa* masing-masing sebesar 1.108,7 dan 681,1 µg/ml. Hasil penelitian mengindikasikan bahwa *S. duplicatum* dan *P. australis* mempunyai aktivitas sitotoksik melawan sel *HeLa*, sehingga dapat dijadikan sumber obat antikanker serviks.

**Kata kunci:** *Sargassum duplicatum*, *Padina australis*, Sitotoksitas, Sel *HeLa*.

## ABSTRACT

One of the main causes of death for Indonesian women is cervical cancer. The uncontrolled growth of body tissue cells that turn into tumors is the root cause of this disease. Many researchers are investigating various natural chemicals from marine habitats as an anticancer treatment option because cervical cancer treatment has large side effects and long duration of treatment. Macroalgae is one of marine organisms as a source of natural medicine to treat cancer. Active compounds such as flavonoids, alkaloids, saponins and steroids can act as anti-cancer agents which might affect the cell cycle in cancer growth and induce the mechanism of apoptosis. This study aims to analyze the effect of the bioactive compounds from the extracts of *Sargassum duplicatum* and *Padina australis* on the cytotoxicity of cervical cancer cells, HeLa. Cytotoxic activity against HeLa was assessed using the WST-8 method with various concentrations of ethanol extract: 62.5; 125; 250; 500; 1,000; and 2,000 ppm. The results of the cytotoxic test showed that the extracts of *Sargassum duplicatum* and *P. australis* had cytotoxic activity against HeLa cells. The  $IC_{50}$  values of *S. duplicatum* and *Padina australis* against HeLa cells were 1,108.7 and 681.1  $\mu\text{g/ml}$ , respectively. It can be concluded that *S. duplicatum* and *P. australis* have cytotoxic activity against HeLa cells, suggesting their potential as sources of cervical anticancer drugs.

**Keywords:** *Sargassum duplicatum*, *Padina australis*, cytotoxicity, HeLa cells

## PENDAHULUAN

Penyakit kanker merupakan penyebab kematian di dunia. Keadaan ini disebabkan oleh perkembangan berlebih dari sel jaringan tubuh yang menjadi tumor (Hoadley *et al.*, 2018). Menurut (American Cancer Society, 2019) kanker adalah penyebab kematian yang cukup tinggi, dengan 9,5 juta orang di dunia meninggal karena kanker pada tahun 2018. Kemajuan strategi pengobatan dalam bidang kesehatan seperti kemoterapi, terapi radiasi, proses pembedahan, hingga kombinasinya banyak digunakan dalam proses pengobatan berbagai macam kanker (American Cancer Society, 2019). Aktivitas melawan kanker terkait keanekaragaman hayati alami. Selama bertahun-tahun alga telah membantu mengembangkan generasi baru dalam melawan kanker (Hsu dan Wang, 2019).

Praktik pengobatan tradisional kini berkembang pesat di Indonesia. Obat tradisional saat ini banyak digunakan oleh masyarakat sebagai alternatif pengobatan kanker meskipun obat modern dan sintetik masih tersedia di pasaran (Triyasa *et al.*, 2020). Pengobatan tradisional yang terbuat dari tumbuhan dan komponen alami dapat memiliki efek samping dan bahaya jangka panjang yang lebih rendah dibandingkan dengan pengobatan dari bahan kimia (Triyasa *et al.*, 2020). Makroalga adalah tumbuhan yang terdiri dari banyak genus dan spesies. Makroalga secara tradisional sebagai sumber makanan dan obat-obatan, khususnya di beberapa bagian Asia termasuk Jepang, Korea, dan Cina. Fungsi lain dari makroalga laut adalah sebagai sumber metabolit sekunder yang melimpah dan telah terbukti sebagai agen antikanker yang efektif (Firdaus *et al.*, 2018).

Senyawa aktif seperti flavonoid, polifenol, tanin, senyawa fenolik, klorofil, karotenoid, steroid, terpenoid, dan alkaloid pada *Sargassum duplicatum*, *Padina australis* diketahui bersifat sitotoksik terhadap sel kanker (Arsianti *et al.*, 2020). Martini dan Widiastuti, (2023) menyatakan bahwa *S. duplicatum*, *P. australis* memiliki kemampuan dalam melawan kanker terutama kanker serviks *HeLa* melalui kematian sel atau apoptosis. Dengan adanya suatu senyawa yang terkandung di dalam ekstrak *S. duplicatum* dan *P. australis*, ekstrak dari dua makroalga tersebut memiliki potensi untuk dapat digunakan sebagai obat alternatif. Walaupun demikian, tingkat keamanan dari ekstrak makroalga perlu diteliti lebih jauh. Penelitian ini dilakukan untuk membuktikan aktivitas antikanker dari ekstrak etanol *S. duplicatum* dan *P. australis* terhadap sel kanker secara *in-vitro*. Penelitian ini juga bertujuan untuk mengetahui mekanisme senyawa bioaktif yang terkandung di dalam ekstrak *S. duplicatum* dan *P. australis* terhadap sitotoksitas sel kanker serviks (*HeLa*).

## BAHAN DAN CARA KERJA

### Bahan Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli-September 2022 dengan menggunakan dua species makroalga, *Sargassum duplicatum* dan *Padina australis*. Makroalga tersebut koleksi dari Pantai Dolar Beach Pidada, Kecamatan Ketapang, Lampung Selatan. bahan lain yang digunakan adalah etanol 96% (Merck), kultur sel HeLa, kertas saring, akuades, media kultur sel DMEM (*Dulbecco's Modified Eagles Medium*), penicillin streptomisin 1%, FBS (*Fetal Bovine Serum*), trypsin-EDTA 0,25%, PBS (*Phosphate Buffer Saline*), tripanblue 0,4%, DMSO (*Dimethyl Sulfoxide*), cell counting kit-8, Doxorubicin, asam asetat glacial (CH<sub>3</sub>COOH), asam sulfat (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), besi (III) klorida (FeCl<sub>3</sub>), kloroform, kalium iodide (KI), raksa (II) klorida (HgCl<sub>2</sub>), serbuk Mg, dan asam klorida (HCl) pekat..

### Preparasi Sampel *S. duplicatum* dan *P. australis*

Sampel *S. duplicatum* dan *P. australis* yang didapatkan kemudian dibersihkan dengan air mengalir. Sampel selanjutnya dikeringkandalam oven pada suhu 50° C dan digiling dengan *blender* hingga menjadi bubuk kasar. Bubuk kasar yang didapatkan disaring dengan menggunakan saringan berukuran mesh 60. Sampel bubuk kasar ditimbang dan disimpan pada suhu ruang 30° C. Ekstraksi senyawa bioaktif yang terdapat pada makroalga *S. duplicatum* dan *P. australis* dengan menggunakan metode maserasi. Proses maserasi menggunakan pelarut etanol 96% dengan perbandingan 1:10 (w/v) dengan waktu 3 x 24 jam. Filtrat yang diperoleh dipekatkan dengan menggunakan rotary evaporator dengan suhu 40 °C dan dioven hingga diperoleh pasta kental. Ekstrak etanol *S. duplicatum* dan *P. australis* dalam sediaan pasta selanjutnya dapat digunakan dalam pengujian (Salamah dan Hanifah, 2014). Uji fitokimia dilakukan seperti pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Tahapan Pengujian Fitokimia (*Phytochemical Testing Stages*) (Tasmin *et al.*, 2014).

Jenis Uji ( <i>Test Type</i> )	Perlakuan ( <i>Treatment</i> )	Indikator ( <i>Indicator</i> )
Saponin	Campurkan 0,5 ml Sampel dan 5 ml akuades, lalu dihomogenkan selama 30 detik	Terbentuk busa
Terpenoid	Siapkan 0,5ml sampel uji dan 0,5 ml asam asetat glasial serta ditambahkan 0,5 mL H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Perubahan warna sampel menjadi kuning atau merah
Tanin	Siapkan 1 ml sampel uji dan ditambahkan 3 tetes larutan Fecl <sub>3</sub>	Larutan sampel menjadi berwarna hitam kebiruan
Alkaloid	Sebanyak 0,5 ml sampel uji ditambahkan 5 tetes kloroform serta 5 tetes pereaksi Mayer (1 g KI dilarutkan dalam 20 ml akuades dan ditambahkan 0,271g HgCl <sub>2</sub> hingga larut)	Warna sampel menjadi putih kecokelatan
Flavonoid	0,5 ml sampel uji ditambahkan 0,5 g serbuk Mg dan 5 ml HCL pekat (tetes demi tetes)	Warna sampel menjadi merah atau kuning dan terbentuk busa

### Preparasi Medium dan Sel untuk Uji Sitotoksik

Pembuatan media kultur sel HeLa dengan menyiapkan wadah steril yang berisi 5 mL Fetal Bovine Serum (FBS) 10% dan 0,5 mL Pensterp (penisilin-streptomisin) Tahap selanjutnya ditambahkan 50 mL dan 5 mL DMEM (*Dulbecco's Modified Eagles' Medium*) menurut Cancer Cemoprevention Riset Center (CCRC , 2009). Sebelum dilakukannya perhitungan, media kultur sel HeLa terlebih dahulu dikeluarkan dan dibuang dari cawan petri yang telah di masukkan kedalam incubator CO<sub>2</sub>, selanjutnya dilakukan pembilasan cawan petri satu kali dengan phosphate buffer saline (PBS) sebanyak 10 mL. Cawan yang berisi sel HeLa kemudian diberikan 3 mL tripsin, dan diinkubasi kembali ke dalam incubator CO<sub>2</sub>, selama 5 menit. Tahap berikutnya cawan dikeluarkan dari inkubator CO<sub>2</sub> dan ditambahkan dengan 3 mL media, dimasukkan ke conical tube kemudian disentrifugasi selama 5 menit pada kecepatan 1.500 rpm. Setelah supernatan dibuang, 10 mL media ditambahkan ke dalam pellet sel. Sebanyak 10 µl trypan blue kemudian dipipet ke dalam well plate.

Sel hidup akan transparan atau tidak berwarna. Perhitungan dengan hemocytometer dilakukan dengan memilih 4 kamar hitung menurut Cancer Chemoprevention Riset Center (CCRC, 2009).

Preparasi sampel untuk menyiapkan sampel dalam uji sitotoksitas, dilakukan pembuatan larutan stok 5000 ppm, dari 0,25 g ekstrak dapat dilarutkan dalam 50 mL dimetil sulfoksida (DMSO) 1% kemudian dilakukan pengenceran bertingkat dengan konsentrasi 2000 ppm, 1000 ppm, 500 ppm, 250 ppm, 125 ppm, 62,5 ppm. Sedangkan untuk kontrol obat Doxorubicin menggunakan konsentrasi 20 ppm, 10 ppm, 5 ppm, 2,5 ppm, 1,25 ppm, dan 0,625 ppm. Selanjutnya dapat diujikan pada sel line di dalam Laminar Air Flow Cabinet secara aseptis menurut Cancer Chemoprevention Riset Center (CCRC, 2009).

### **Uji Sitotoksik dengan Metode WST-8 (2-(2-methoxy-4-nitrophenyl)-3-(4-nitrophenyl)-5-(2,4-disulphophenyl)-2H-tetrazolium, monosodium salt).**

Sebelum pengujian sitotoksik, dilakukan proses pembuatan media kultur sel *HeLa* dengan menyiapkan media seperti *Fetal Bovine Serum* (FBS) 10%, *Penisilin Streptomisin*, DMEM (*Dulbecco's Modified Eagles' Medium*) yang telah dipanaskan diatas waterbath selama 5 menit. Proses dilanjutkan kultur sel (*seeding*) menggunakan sel hasil perhitungan yang telah ditentukan. Selanjutnya dilakukan pencampuran media pertumbuhan kedalam *conical tube* dan dilakukan sentrifugasi selama 4 menit. Tahap berikutnya supernatan dibuang dan pellet ditambah dengan media hingga diperoleh volume akhir suspense sel untuk uji. Inkubasi dilakukan selama 24 jam. Hal ini bertujuan supaya sel dapat menempel pada dinding *flask* (CCRC, 2009).

Sel yang sudah dikultur di dalam *flask* selama 24 jam dikeluarkan dari inkubator kemudian dibilas menggunakan *phosphate buffer saline* (PBS) dan ditambahkan tripsin 3 ml kemudian diinkubasi kembali selama 5 menit. Setelah itu sel dimasukkan kedalam *conical tube* untuk di sentrifugasi. Sel diambil sebanyak 10 µl dan ditambahkan *tripan blue solution* sebanyak 10 µl selanjutnya dihitung dengan menggunakan Hymocytometer di bawah mikroskop (sel yang hidup menjadi tidak berwarna). Untuk uji sitotoksik, setiap *well plate* diberikan 100 µl suspense sel, kemudian plate tersebut diberikan media DMSO, dan FBS serta ekstrak. Tiap sumuran kemudian diberi masing-masing ekstrak dengan konsentrasi 62,5 ppm, 125 ppm, 250 ppm, 500 ppm, 1000 ppm, dan 2000 ppm sebanyak 50 µl dan diinkubasi lagi selama 24 jam pada inkubator CO<sub>2</sub> dengan suhu 36°C. Setelah 24 jam di inkubasi, kultur sel dikeluarkan kemudian diamati dibawah mikroskop. Selanjutnya sel yang terdapat pada *well plate* diberikan reagen cell counting kit-8 yang bertujuan agar sel terwarnai pada reagenya. Pemberian sel counting kit-8 berkisar 1.000 µl kedalam plate. Sel kemudian diinkubasi kembali selama 1,5- 2 jam pada suhu 36 °C di inkubator CO<sub>2</sub>. Serapan kemudian dibaca dengan *nano drop reader* pada panjang gelombang 450 nm, yang mengacu pada Cancer Chemoprevention Research Center (CCRC, 2013).

### **Analisis statistika**

Uji sitotoksik didapatkan dengan menghitung persentase viabilitas sel kanker *HeLa*. Data absorbansi yang diperoleh dari uji sitotoksik sel dikonversi ke dalam persen sel hidup dihitung dengan rumus:

$$\text{Persentase Viabilitas Sel} = \frac{(\text{Absorbansi perlakuan} - \text{Absorbansi kontrol media})}{\text{Absorbansi kontrol sel} - \text{Absorbansi kontrol media}} \times 100$$

Sel line yang mati dihitung untuk menentukan nilai IC<sub>50</sub> dengan Analisa probit dan regresi linear menurut *Cancer Chemoprevention Riset Center* (CCRC, 2013).

## HASIL

Skrining Fitokimia Berdasarkan hasil dari skrining fitokimia ekstrak etanol *S. duplicatum* dan *P. australis* dapat dilihat pada Tabel 2.

**Tabel 2.** Hasil Analisis Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol *Sargassum duplicatum* dan *Padina australis* (Results of Phytochemical Screening Analysis of Ethanol Extract of *Sargassum duplicatum* and *Padina australis*).

No	Jenis Uji Kualitatif Fitokimia (Types of Phytochemical Qualitative Tests)	Ekstrak Etanol 96% (Ethanol Extract 96%)	
		Hasil Uji <i>Sargassum duplicatum</i> ( <i>Sargassum duplicatum</i> Test Results)	Hasil Uji <i>Padina australis</i> ( <i>Padina australis</i> Test Results)
1	Tanin	-	-
2	Steroid	+	+
3	Flavonoid	+	+
4	Saponin	+	+
5	Alkaloid	+	+
6	Terpenoid	-	-

Keterangan: Tanda (+) = terdapat senyawa aktif (terdeteksi); Tanda (-) = tidak terdapat senyawa aktif (tidak terdeteksi)

## Perhitungan Sel

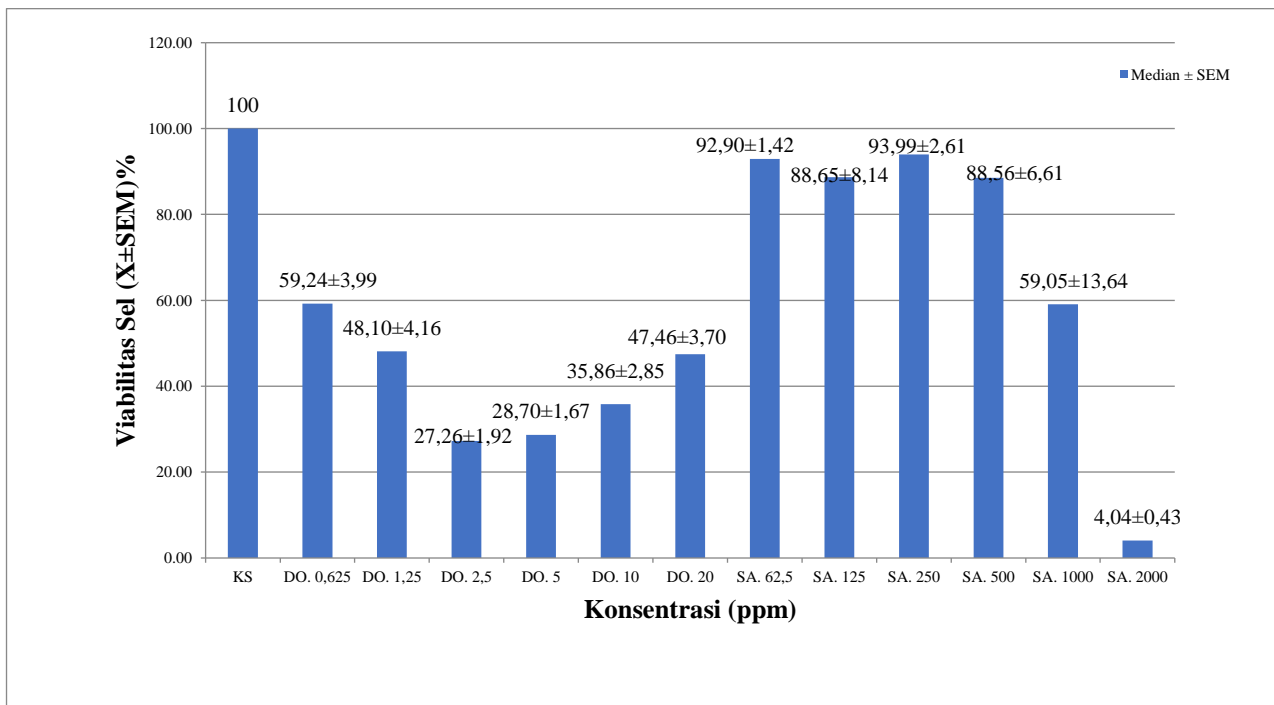
Sel yang digunakan dalam penelitian ini adalah sel kanker serviks *HeLa*. Perhitungan sel saat pemanenan dapat dilakukan dengan *haemocytometer* dan dilihat menggunakan mikroskop fluoresens. Sel *HeLa* hidup dapat diamati morfologinya yang khas seperti bentuk polygonal atau bulat memiliki sitoplasma yang luas dan bersinar dibawah mikroskop. Sedangkan sel yang telah mati akan tampak lebih gelap, bentuknya tampak lebih kecil serta hilangnya cairan intraseluler pada sel *HeLa* yang menyebabkan sel berkontraksi dan kehilangan kontak dengan sel di sekitarnya yang menyebabkan inti sel menurun atau rusak. Jumlah sel yang digunakan adalah  $4 \times 10^3$  sel tiap sumuran.

## Uji Sitotoksik

Hasil uji sitotoksik ini diperoleh dari pembacaan absorbansi pada *nano drop reader*. Berdasarkan uji sitotoksik yang telah dilakukan dengan menggunakan ekstrak etanol *S. duplicatum* dan *P. australis* terhadap sel kanker *HeLa* maka diperoleh presentase viabilitas sel sebagai berikut:

### Uji Sitotoksik Sel HeLa dengan Ekstrak Etanol *S. duplicatum*

Berdasarkan hasil uji sitotoksik terhadap sel kanker *HeLa* yang diberikan ekstrak etanol *S. duplicatum* dengan 3 kali ulangan maka diperoleh rerata persentase viabilitas sel seperti yang terlihat pada Gambar 1.

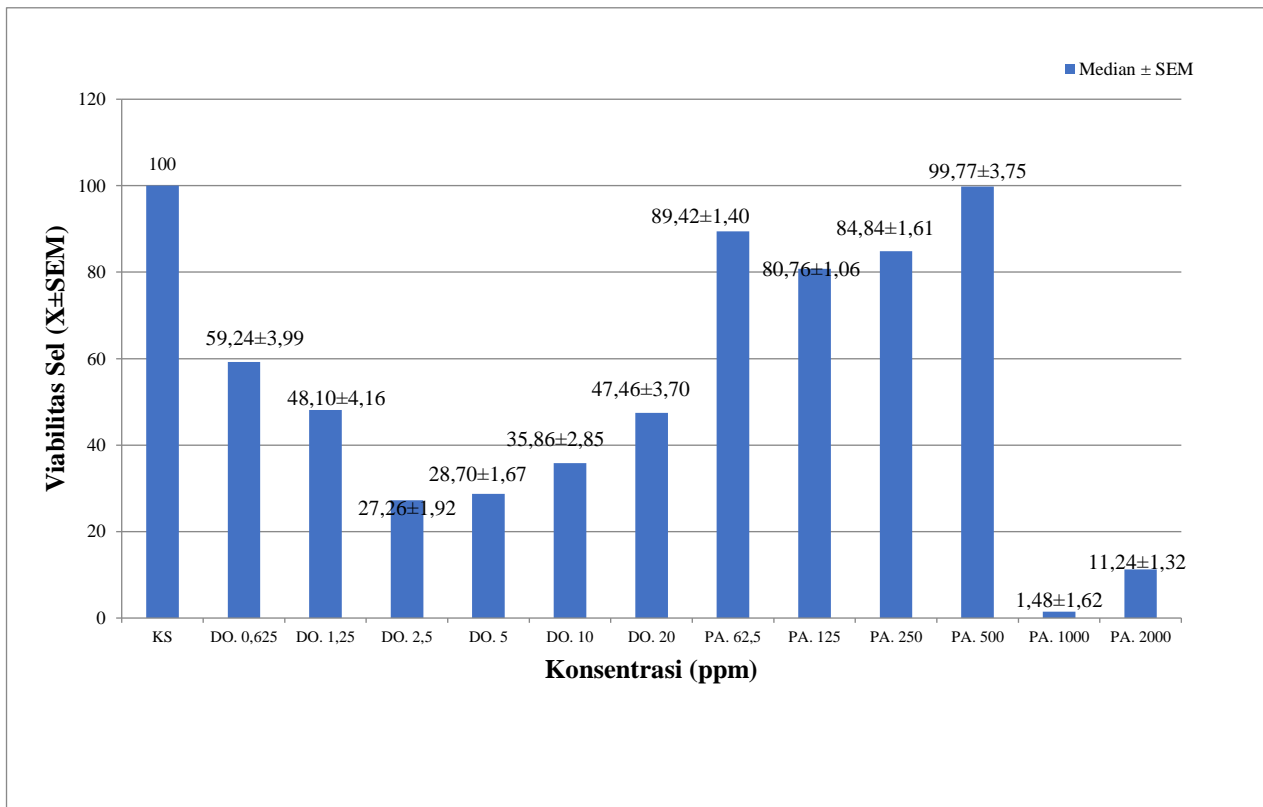


**Gambar 1.** Hasil uji sitotoksik dengan metode WST-8 dengan pemberian beberapa konsentrasi ekstrak etanol *Sargassum duplicatum* pada kultur sel serviks *HeLa*. Keterangan: KS: kontrol sel yang tanpa diberikan perlakuan. DO.0,625-DO.20: Kelompok perlakuan yang diberikan Doxorubicin dengan konsentrasi 0,625 - 20 ppm. SA.62,5-SA.2000: Kelompok perlakuan yang diberikan *S. duplicatum* dengan konsentrasi 62,5 - 2000 ppm. (Cytotoxic test results using the WST-8 method by administering several concentrations of *Sargassum duplicatum* ethanol extract to *HeLa* cervical cell cultures. Notes: KS: control cells without treatment. DO.0.625-DO.20: The treatment group was given Doxorubicin with a concentration of 0.625 - 20 ppm. SA.62.5-SA.2000: Treatment group given *S. duplicatum* with a concentration of 62.5 - 2000 ppm)

Hasil pada penelitian ini didapatkan bahwa pemberian ekstrak etanol *Sargassum duplicatum* cenderung diikuti dengan penurunan persentase viabilitas sel *HeLa* jika dibandingkan dengan sel kontrol. Setelah dilakukan analisis statistic, ditemukan bahwa viabilitas sel kanker serviks *HeLa* mengalami penurunan pada konsentrasi 1.000 dan 2.000 ppm menunjukkan viabilitas sel kanker serviks *HeLa* lebih rendah dengan 59,0% dan 4,04% dibandingkan kontrol sel dan Doxorubicin sebagai kontrol farmakologis.

## Uji Sitotoksik Sel HeLa dengan Ekstrak Etanol *P. australis*

Hasil uji sitotoksik terhadap sel kanker HeLa yang telah diberikan ekstrak etanol *P. australis* dengan 3 kali ulangan maka diperoleh rerata presentase viabilitas sel seperti Gambar 2.



**Gambar 2.** Hasil uji sitotoksik dengan metode WST-8 dengan pemberian beberapa konsentrasi ekstrak etanol *Padina australis* pada kultur sel serviks *HeLa*. Keterangan: KS: kontrol sel yang tanpa diberikan perlakuan. DO.0,625-DO.20: Kelompok perlakuan yang diberikan Doxorubicin dengan konsentrasi 0,625 - 20 ppm. PA.62,5-PA.2000: Kelompok perlakuan yang diberikan *P. australis* dengan konsentrasi 62,5 - 2000 ppm. (Cytotoxic test results using the WST-8 method by administering several concentrations of *Padina australis* ethanol extract to *HeLa* cervical cell cultures. Notes: KS: control cells without treatment. DO.0.625-DO.20: The treatment group was given Doxorubicin with a concentration of 0.625 - 20 ppm. SA.62.5-SA.2000: Treatment group given *P. australis* with a concentration of 62.5 - 2000 ppm)

Berdasarkan gambar 14, didapatkan bahwa pemberian ekstrak etanol *Padina australis* memiliki kemampuan untuk menurunkan persentase viabilitas sel *HeLa* jika dibandingkan dengan sel kontrol. kontrol obat. Berdasarkan analisis statistic, viabilitas sel kanker serviks *HeLa* mengalami penurunan pada dosis 1000 dan 2000 ppm dengan persentase 1,47% dan 11,24% jika dibandingkan dengan Doxorubicin sebagai control farmakologis, Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak *Padina australis* memiliki sifat lebih toksik dibandingkan kontrol sel maupun Doxorubicin.

Rahardian *et al.*, (2018) menyatakan, kriteria dari uji sitotoksik adalah kurva dosis-respon yang berbentuk linier. Kemudian persamaan regresi linier yang diperoleh digunakan untuk menentukan  $IC_{50}$  (*Inhibitory Concentration*). Untuk nilai  $IC_{50}$  ekstrak etanol *S. duplicatum* dan *P. australis* dapat dilihat pada Tabel 3. Kedua sampel tersebut ekstrak etanol *S. duplicatum* dan *P. australis* menurut Lisdawati (2002) memiliki potensi sebagai antikanker jika nilai  $IC_{50}$  kurang dari 1.000 ppm.

**Tabel 3.** Nilai IC<sub>50</sub> Terhadap Aktivitas sitotoksik ekstrak uji pada sel *HeLa* (IC<sub>50</sub> values for the cytotoxic activity of extract test on *HeLa* cells).

Ekstrak Uji (Extract test)	Kosentrasi (Concentration) (ppm)	Viabilitas sel (Cell viability) (%)	IC <sub>50</sub> (ppm)
<i>Sargassum duplicatum</i>	2.000	4,042	1.108
	1.000	59,05	
	500	88,55	
	250	93,98	
	125	88,65	
	62,5	92,89	
<i>Padina australis</i>	2.000	11,24	681
	1.000	1,479	
	500	99,77	
	250	84,83	
	125	80,76	
	62,5	89,42	

Setelah pengamatan morfologis sel maupun menghitung IC<sub>50</sub> analisis tambahan dilakukan dengan menggunakan analisis ANOVA untuk mengetahui efek ekstrak etanol *Sargassum duplicatum* dan *Padina australis* terhadap viabilitas sel. Berdasarkan hasil uji analisis, terdapat perbedaan yang nyata antara masing-masing perlakuan ekstrak dengan nilai sig  $0,03 < 0,05$ .

## PEMBAHASAN

Setelah dilakukannya pengujian skrining fitokimia, penelitian ini didapatkan bahwa ekstrak etanol *S. duplicatum* dan *P. australis* mengandung berbagai senyawa bioaktif seperti flavonoid, alkaloid, saponin, dan steroid. Hasil ini sesuai dengan penelitian Martini, S dan Widiastuti, E.L, (2023) yang menyatakan bahwa pada ekstrak etanol *S. duplicatum* dan *P. australis* mengandung berbagai senyawa metabolit sekunder seperti golongan saponin, flavonoid dan alkaloid.

Hasil dari pengujian sitotoksik dalam penelitian ini dibandingkan dengan sel kontrol dan obat doxorubicin temuan uji sitotoksik pada pemberian ekstrak etanol *S. duplicatum* dan *P. australis* ke sel *HeLa* mampu menurunkan viabilitas sel kanker serviks *HeLa* secara signifikan. *Sargassum duplicatum* memiliki nilai IC<sub>50</sub> sebesar 1.108 µg/mL dan *P. australis* memiliki nilai IC<sub>50</sub> sebesar 681 µg/mL pada uji sitotoksik ini. Hal ini sejalan dengan penelitian Martini, S dan Widiastuti, E.L, (2023) yang menyatakan bahwa aktivitas sitotoksik pada ekstrak etanol *S. duplicatum* dan *P. australis* terhadap sel line *HeLa*, tidak terlepas dari senyawa metabolit sekunder yang terkandung.

Nilai IC<sub>50</sub> (Inhibition Concentration of 50%) merupakan variabel yang digunakan dalam uji sitotoksik. Angka IC<sub>50</sub> mewakili konsentrasi dimana 50% sel kanker terbunuh (Handoko, 2021). Menurut penelitian Gusungi (2020), terdapat empat kategori aktivitas sitotoksik ekstrak terhadap sel kanker berdasarkan nilai IC<sub>50</sub>. Kategori tersebut sangat aktif jika nilai IC<sub>50</sub> kurang dari 10 µg/mL, aktif jika antara 10 dan 100 µg/mL, cukup aktif jika antara 100 dan 500 µg/mL, dan kurang aktif jika lebih besar dari 500 µg/mL. Jumlah tersebut masih agak jauh dari persentase sel hidup yang diperoleh dari ekstrak etanol *S. duplicatum* dan *P. australis* jika dibandingkan dengan kontrol positif yaitu doxorubicin. Telah diketahui bahwa doxorubicin merupakan obat standar yang telah melalui uji klinis dan telah digunakan sebagai terapi tambahan untuk kanker, termasuk kanker serviks, maka kemanjurannya lebih tinggi. Ekstrak etanol *S. duplicatum* dan *P. australis* memiliki sifat sitotoksik terlepas dari metabolit sekunder yang dikandungnya. Ekstrak etanol *S. duplicatum* dan *P. australis* diuji secara fitokimia dan terbukti mengandung metabolit sekunder seperti alkaloid, steroid, flavonoid, dan saponin. Petrosin-A dan Petrosin-B serta menzamine A adalah alkaloid yang



ditemukan di *S. duplicatum* dan *P. australis* Senyawa ini dapat mencegah sel kanker manusia berkembang biak dalam kultur.

Secara sistematis, *Padina australis* dan *S. duplicatum* merupakan anggota keluarga Phaeophyceae, yang mencakup berbagai bahan kimia alkaloid yang memiliki toksisitas tinggi seperti dopamin, tetrasiklik bis-piperidin, karbolin, manzami, dan pirimidin. Alkaloid yang terkandung dalam dua makroalga tersebut memiliki aktivitas dalam perubahan jalur *signal* yang mengontrol metastasis, siklus sel, dan proliferasi. Beberapa senyawa juga dilaporkan dapat menyebabkan mutasi pada struktur DNA. (Habli, 2017). *Sargassum duplicatum* dan *P. australis* sama-sama mengandung flavonoid yang merupakan bahan kimia polifenol, metabolit sekunder dengan sifat antikanker. Quercetin, yang termasuk dalam subkelas flavonol, ditemukan dalam flavonoid. Obat kanker mungkin mengandung quercetin, genistein, atau flavopyridol (Sirait, 2019). Sistem kekebalan tubuh diatur, apoptosis diinduksi, siklus hidup sel dihambat, peradangan dicegah, dan angiogenesis serta proliferasi sel kanker dihambat. Flavonoid juga meningkatkan aktivitas enzim (Ismayarni, 2018). Selain itu, flavonoid melawan kanker dengan mencegah DNA topoisomerase I/II bekerja (Sirait, 2019). Menurut Octavinna (2018), topoisomerase merupakan enzim yang berperan dalam tahap proliferasi pembelahan sel. Dengan mengurangi aktivitas enzim ini, aktivitas proliferasi sel kanker dapat dikurangi.

Berdasarkan nilai  $IC_{50}$  sampel dan konsentrasi metabolit sekunder, *S. duplicatum* dan *P. australis* dapat dikembangkan sebagai kandidat terapi antikanker yang potensial. *Sargassum duplicatum* dan *P. australis* merupakan kelompok alga coklat yang juga menghasilkan beberapa senyawa aktif seperti dictyopterene C, pachydictyol A, fucodiphloethol, epitaondiol, dan phlorotannin yang menunjukkan aktivitas biologisnya seperti sitotoksitas, antioksidan, neuromodulator, NADPH-dependent peroksidasi lipid, antiinflamasi, dan aktivitas antikanker (Jiao *et al.*, 2011). Di antara senyawa yang diisolasi dari alga coklat yang mendapat perhatian besar dari perusahaan farmasi untuk pengembangan obat baru adalah polisakarida sulfat yang digunakan sebagai antikoagulan, dan antikanker. Senyawa ini lebih banyak ditemukan pada alga coklat dibandingkan kelompok alga lainnya. Phlorotannin merupakan senyawa aktif yang terdapat pada alga coklat yang berfungsi sebagai antioksidan dan mencegah pertumbuhan sel kanker (Arafa *et al.*, 2021).

## KESIMPULAN

Ekstrak etanol dari *Sargassum duplicatum* dan *Padina australis* memiliki nilai  $IC_{50}$  berturut-turut sebesar 1.108,7 dan 681,1  $\mu\text{g/ml}$  terhadap sel kanker serviks (*HeLa*) secara *in vitro*. Hal tersebut dapat memberikan informasi bahwa kedua jenis alga coklat tersebut berpotensi dapat dimanfaatkan sebagai sumber obat antikanker serviks. Walaupun demikian, penelitian lanjut yang lebih komprehensif masih dibutuhkan untuk mengetahui lebih detail.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini merupakan penelitian yang didanai oleh Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat (LPPM) Universitas Lampung melalui Hibah BLU Universitas Lampung- Pascasarjana dengan nomor kontrak 818/UN26.21/PN/2022. Penulis mengucapkan terima kasih kepada Laboratorium Kultur Sel dan Sitogenetika Fakultas Farmasi Universitas Padjajaran Bandung yang telah membantu terlaksananya penelitian ini.

## KONTRIBUSI PENULIS

YDS: membuat konsep penelitian, mengumpulkan data penelitian, membuat draft naskah awal, mengedit dan merevisi naskah akhir; E: membuat konsep penelitian, membuat draft naskah awal, merevisi naskah akhir, M, N: mengedit dan merevisi naskah awal, merevisi naskah akhir, N: mengedit dan merevisi naskah awal, merevisi naskah akhir.

## DAFTAR PUSTAKA

- American Cancer Society. 2019. Breast Cancer: *Treating Breast Cancer*, American Cancer Society, pp. 1-120. DOI: 10.52214/vib.v9i.10309.
- Arafah, A.N.S., Rusmidin. 2021. Review: Metabolit Sekunder pada Alga. *BIOMA: Jurnal Biologi Dan Pembelajarannya*, 3(1), pp. 30-35. <https://doi.org/10.31605/bioma.v3i1.999>
- Arsianti, A., Wangsaputra, Bahtiar, A., Fachri, V.K., Azizah N.N., W., Nadapdap, L.D., Ajeng Megawati Fajrin A.M., Tanimoto H., Kakiuchi K. 2020. *Phytochemical Composition and Evaluation of Marine Algal Sargassum polycystum for Antioxidant Activity and In Vitro Cytotoxicity on Hela Cells*. *Pharmacogn J.* 12(1), pp. 88–94. DOI: 10.5530/pj.2020.12.14
- Aslanturk, O. S. 2018. In Vitro Cytotoxicity And Cell Viability Assays: Principles, Advantages, And Disadvantages. *Intechopen*, pp. 1 - 17. DOI: 10.5772/intechopen.71923
- Cancer Cemoprevention Riset Center (CCRC) Farmasi UGM, 2009, *Prosedur Tetap Kerja In vitro*, Fakultas Farmasi UGM. <https://ccrc.farmasi.ugm.ac.id>
- Cancer Cemoprevention Riset Center (CCRC) Farmasi UGM, 2013, *Sel Kanker*, Fakultas Farmasi UGM. <https://ccrc.farmasi.ugm.ac.id>
- CCRC.2009. *Uji Sitotoksik Metode MTT*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada. <https://ccrc.farmasi.ugm.ac.id>
- CCRC.2009. *Perhitungan Sel*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada. *Cancer Cemoprevention Riset Center (CCRC) Farmasi UGM, 2013, Sel Kanker*, Fakultas Farmasi UGM.
- CCRC. 2013. *Prosedur Uji Sitotoksik dengan Metode MTT (3-4,5-dimetiltiazol-2-il)-2-5-difenil tetrazoliumbromida*. Yogyakarta. Universitas Gajah Mada. *Immunositokimia*. Yogyakarta, Universitas Gadjah Mada. DOI: 10.14693/jdi.v7i1.500
- Dewi, I.C., Falaise, C., Hellio, C., Bourgougnon, N., Mouget, J. 2018. Anticancer, Antiviral, Antibacterial, and Antifungal Properties in Microalgae. In *Microalgae in Health and Disease Prevention*, pp. 235–261. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811405-6.00012-8>
- Efendi, H.T. 2019. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Aseton Sponge Petrosia Sp. Asal Perairan Lombok. *Orbital Chemistry Journal*, 1(2), pp. 79-83. DOI: 10.29303/ORBCHEM.V1I2.23
- Fristiohady, A., Wahyuni, W., Malik, F., Leorita, M., Yusuf, M. I., Febriansyah, H., Sahidin, S. 2019. Efek Imunomodulator Ekstrak Etanol Spons Xestospongia Sp. Terhadap Aktivitas Fagositosis Makrofag Pada Mencit Jantan Galur Balb/C. *Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia*, 5(01), pp. 15-30. DOI: 10.35311/jmpi.v5i01.38
- Gusungi, D.E., Maarisit, W., Hariyadi, H., Potalangi, N.O. 2020. Studi Aktivitas Antioksidan Dan Antikanker Payudara (Mcf-7) Ekstrak Etanol Daun Benalu Langsung Dendrophthoe Pentandra. *Biofarmasetikal Tropis*, 3(1), pp. 166-174. DOI: 10.55724/j.biofar.trop.v3i1.274
- Habli, Z., Toumieh, G., Fatfat, M., Rahal, O. N., Gali-Muhtasib, H. 2017. Emerging Cytotoxic Alkaloids In The Battle Against Cancer: Overview Of Molecular Mechanisms. *Molecules*, 22(2), p. 250. DOI: 10.3390/molecules22020250
- Handoko, V.M. 2021. Aktifitas Sitotoksik Ekstrak Buah Jeruk Pamelon (*Citrus Maxima*) Terhadap Sel Kanker Serviks. *Parapemikir: Jurnal Ilmiah Farmasi*, pp. 27-32. DOI: 10.30591/PJIF.V10I1.2245
- Hoadley, K.A., Yau, C., Hinoue, T., Stuart, J.M., Benz, C.C., Laird, P.W., Hoadley, K.A., Yau, C., Hinoue T., Wolf, D.M., Lazar, A.J. 2018. *Cell-of-Origin Patterns Dominate the Molecular Article Cell-of-Origin Patterns Dominate the Molecular Classification of 10,000 Tumors from 33 types of Cancer*. pp. 291-304. DOI: 10.1016/j.cell.2018.03.022
- Hsu, H.Y. Hwang, P.A. 2019. *Clinical applications of fucoïdan in translational medicine for adjuvant cancer therapy*. *Clin. Translational Medicine*, 8, p.15. DOI: 10.1186/s40169-019-0234-9
- Ismaryani, A., Salni, S., Setiawan, A., Triwani, T. 2018. Aktivitas Sitotoksik, Antiproliferasi Dan Penginduksi Apoptosis Daun Salung (*Psychotria Viridiflora* Reinw. Ex. Blume) Terhadap Sel Kanker Serviks Hela. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 16(2), pp. 206-213. DOI:10.35814/jifi.v16i2.528

- Jiao, G., Yu, G., Zhang, J., Ewart, H.E. 2011. Chemical structures and bioactivities of sulfated polysaccharides from marine algae. *Mar Drugs*, 9, pp. 196-223. DOI: 10.3390/md9020196
- Lisdawati, V. 2002. Senyawa Lignan dari Fraksi Etil Acetat Daging Buah Mahkota Dewa *Phaleria macrocarpa* (Scheff). Boerl. Thesis. Universitas Indonesia. Jakarta. DOI: 10.22435, BPK.V35I3
- Martini, S., Widiastuti, E.L. 2023. Determination suppressor gene (P53) on adduction of taurine and ethanol extract from *Padina* sp. And *Sargassum* sp. To *HeLa* cells in-vitro. *Proceedings of Sriwijaya international conference on basic and applied sciences 2021*, Palembang: 28 December 2023. AIP Conf. Proc. 2913, 020013-1-02001213-8; <https://doi.org/10.1063/5.0187413>.
- Octavinna, N., Zuhrotun, A., Chaerunnisa, A. Y., Farmasi, F., Padjadjaran, U., Kuning, C. 2013. *Farmaka*. 16, pp. 1–11. DOI: 10.31603/pharmacy.v7i3.6121
- Pailee, P., Mahidol, C., Ruchirawat, S., Prachyawarakorn, V. 2017. Sterols From Thai Marine Sponge *Petrosia* (Strongylophora) Sp. And Their Cytotoxicity. *Marine Drugs*, 15(3), p. 54. DOI: 10.3390/md15030054
- Safitri, R.A., Saptarini, O., Sunarni, T. 2020. Uji Aktivitas Sitotoksik, Ekspresi P53, Dan Bcl-2 Dari Ekstrak Fraksi Herba Kelakai (*Stenochleana Palustris* (Burm. F.) Bedd.) Terhadap Sel Kanker Payudara T47d. *Jurnal Biotek Medisiana Indonesia*, 9(2), pp. 113-127. DOI: 10.22435/jbmi.v9i2.4415
- Salamah, N., Hanifah, L. 2014. Uji antioksidan ekstrak etanol daun suruhan (*Peperomia pellucida* (L) H. B&K) dengan metode fosforlibdat. *Prosiding SPOA XVI dan Muktamar XII PERHIPBA*, pp. 341-349.
- Syahputra, G. 2016. Resazurin Si Indikator Aktivitas Sel. *Biotrends*, 6(2), pp. 26-28.
- Tasmin, Nur. 2014. Isolasi, Identifikasi Dan Uji Toksisitas Senyawa Flavonoid Fraksi Kloroform Dari Daun Terap (*Artocarpus Odoratissimus Blanco*). *Jurnal Kimia Mulawarman*, 12(1). <http://jurnal.kimia.fmipa.unmul.ac.id/index.php/JKM/article/view/25>
- Triyasa, Komang, S., Ajeng, D., Barliana. M.I. 2020. Aktivitas Sitotoksik Manggu Leweung (*Garcinia celebica* L.) pada Berbagai Lini Sel Kanker. *Medical Sains: Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, 5(1), pp.63-68. DOI: 10.37874/ms. v5i1.143
- Sirait, P.S., Setyaningsih, I., Tarman, K. 2019. Aktivitas Antikanker Ekstrak Spirulina Yang Dikultur Pada Media Walne Dan Media Organik. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 22(1), pp. 50-59. DOI: 10.17844/JPHPI.V22I1.25876