

UJI POTENSI ANTIKANKER EKSTRAK *Turbinaria decurrens* Bory SECARA *IN-VITRO*

Fitriyanti Jumaetri Sami^{1,2}, Nunuk H. Soekamto², Firdaus², Jalifah Latip³

¹Departemen Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Makassar

²Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin Makassar

³School of Chemical Sciences and Food Technology, Universiti Kebangsaan Malaysia

ABSTRAK

Penyakit kanker merupakan salah satu penyakit penyebab kematian terbesar di dunia, tidak terkecuali di Indonesia. Alga coklat (*T. decurrens* Bory) merupakan salah satu organisme laut yang dapat dijadikan sebagai sumber obat bahan alami. Tujuan penelitian ini untuk menguji potensi sitotoksitas ekstrak n-heksan, etil asetat, dan metanol dari *T. decurrens* Bory terhadap sel kanker payudara manusia MCF-7 dan sel kanker paru-paru H460. Sampel dilakukan ekstraksi dengan metode maserasi bertingkat menggunakan pelarut n-heksan, etil asetat, dan metanol. Aktivitas sitotoksitas telah dilakukan dengan metode MTT (3-(4, 5-dimethylthiazolyl-2)-2, 5-diphenyltetrazolium bromide). Hasil penelitian menunjukkan semua ekstrak *T. decurrens* Bory berpotensi sebagai antikanker. Ekstrak etil asetat mampu menghambat sel kanker pada konsentrasi 10 µg/mL dengan persen sitotoksitas lebih dari 50% dibandingkan ekstrak lainnya, baik terhadap sel MCF-7 maupun H460.

Kata Kunci :

T. decurrens Bory, sitotoksitas, MCF-7, H460

PENDAHULUAN

Kanker merupakan salah satu penyakit dengan angka kematian tinggi di Indonesia, hampir setiap tahun diperkirakan terdapat penderita baru penyakit ini (1). Penemuan obat-obatan antikanker dari bahan alam laut sangat diperlukan untuk mengurangi penggunaan obat-obat kimia. Berbagai organisme laut memproduksi senyawa kimia yang bersifat toksik terhadap predator, senyawa ini dapat berasal dari hasil produksi organisme inang, simbiosis ataupun keduanya (2; 3).

Alga coklat secara umum juga mengandung beberapa senyawa metabolit sekunder dan zat warna seperti fukosantin (4), klorofil a dan b (5) yang memiliki efek toksik. *Turbinaria* merupakan salah satu spesies rumput laut yang termasuk dalam kelas Phaeophyceae atau alga coklat. Beberapa perairan Indonesia terdapat alga jenis ini, antara lain *T. ornata*, *T. conoides*, dan *T. decurrens* Bory. Pulau Dutungan Sulawesi Selatan merupakan pulau karang yang banyak ditemukan alga coklat, salah satunya yaitu *T. decurrens* Bory. Ekstrak etil asetat sebelumnya dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak yang lain dalam menangkalkan radikal DPPH, ekstrak ini juga toksik terhadap larva udang *Artemia salina* (6).

Untuk mengetahui besarnya potensi aktivitas bahan alam dapat dilakukan menggunakan metode kolorimetrik Microtetrazolium (MTT) assay dengan membaca absorbansi dari formazan yang dihasilkan dengan menggunakan ELISA reader, dengan hasil digunakan untuk mengukur besarnya nilai IC₅₀. Pada penelitian ini sel target yang digunakan dalam uji sitotoksik dengan metode MTT assay adalah sel kanker payudara MCF-7 dan sel paru-paru H460.

Berdasarkan hal tersebut penelitian ini bertujuan untuk menentukan besarnya persen sitotoksitas dari ekstrak *T. decurrens* Bory melalui uji sitotoksik terhadap sel kanker payudara MCF-7 dan H460 sebagai data awal untuk memberi informasi potensi antikanker ekstrak *T. decurrens* Bory.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain; alat gelas laboratorium, timbangan analitik, rotary evaporator, mikropipet, vortex, laminar air flow, dan ELISA reader. Sedangkan bahan-bahan yang digunakan yaitu alga coklat (*T. decurrens* Bory), metanol, n-heksan, etil asetat, medium Roswell Park Memorial Institut (RPMI 1640), MTT (3-(4, 5-dimethylthiazolyl-2)-2, 5-diphenyltetrazolium bromide), Phosphat Buffer Saline (PBS), fetal bovine serum (FBS), dimethylsulfoxide (DMSO), tripsin EDTA, cisplatin, MCF-7 sel kanker payudara (ECACC), dan H460 sel kanker paru-paru (ATCC HTB-177) yang diperoleh dari Laboratorium Kimia Bahan Alam Laut Universitas Hokkaido Jepang.

Proses Penelitian

Pengumpulan bahan

T. decurrens Bory diambil di pulau Dutungan Kabupaten Barru Prov. Sulawesi Selatan. Alga diambil dengan cara mencabut dari substrat tempat menempel, kemudian dimasukkan ke dalam box. Sampel dicuci dengan air laut sampai bersih dan dicuci kembali dengan air kran untuk membersihkan kotoran yang masih menempel. Selanjutnya dilakukan pengeringan dan penyerbukan dengan mesin penggiling dan dilanjutkan proses ekstraksi.

Masuk 28-01-2020

Revisi 08-05-2020

Diterima 01-06-2020

DOI: 10.20956/mff.v24i1.9229

Korespondensi

Fitriyanti Jumaetri Sami

fitriyantijumaetri_sami@yahoo.com

Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi
Makassar

Jl. Perintis Kemerdekaan Km
13,7 Daya, Makassar, Indonesia

Copyright

© 2020 Majalah Farmasi

Farmakologi Fakultas Farmasi ·
Makassar

Diterbitkan tanggal

01 Juli 2020

Dapat Diakses Daring Pada:

<http://journal.unhas.ac.id/index.php/mff>



Ekstraksi

Sebanyak 1 Kg serbuk *T. decurrens* Bory di maserasi dengan cara meningkatkan kepolarnya menggunakan n-heksan, etil asetat, dan metanol. Ekstrak cair selanjutnya dilakukan penguapan menggunakan rotary evaporator hingga menghasilkan ekstrak kasar.

Skrining fitokimia ekstrak

Ekstrak ditentukan senyawa metabolit sekunder dengan metode kolorimetri menggunakan reagen kimia. Pengujian dilakukan dengan pereaksi spesifik yaitu Mayer, Wagner dan Dragendorff untuk uji alkaloid, pereaksi Liberman Buchard untuk pengujian steroid atau terpenoid, uji sianidin untuk uji flavonoid, uji busa untuk saponin dan uji FeCl₃ untuk fenolik.

Uji aktivitas sampel pada sel kanker

Sel H460 dan MCF-7 dalam media RPMI-1640 dengan FBS 10%, dimasukkan 90 µL ke dalam 96-well plate dengan kepadatan 1 x 10⁴ sel per well, inkubasi 24 jam pada 37°C dengan 5% CO₂. Masukkan 10 µL larutan sampel (10, 100, 1000 µg/mL) dan cisplatin sebagai kontrol positif, inkubasi selama 72 jam dalam kondisi yang sama. Media kemudian dibuang dan diganti dengan 100 µL MTT dalam RPMI-1640 dengan 10% FBS (0.5 mg/mL), sel-sel kemudian diinkubasi selama 3 jam pada 37 °C dengan 5% CO₂. Setelah 3 jam larutan MTT dibuang dan kristal formazan dilarutkan dalam DMSO, dan inkubasi 15 menit. Absorbansi serapan diukur dengan Elisa reader pada panjang gelombang 570 nm.

Perhitungan % sitotoksitas

Aktivitas antikanker ditunjukkan dengan menghitung % sitotoksitas sampel pada rumus di bawah ini :

$$\% \text{ Sitotoksitas} = 1 - \left(\frac{\text{Abs sampel} - \text{Abs blanko}}{\text{Abs kontrol} - \text{Abs blanko}} \right) \times 100\%$$

Keterangan:

Abs sampel : Sampel *T. decurrens* Bory (10, 100, 1000 µg/mL)

Abs blanko : Media

Abs Kontrol : 1% pelarut

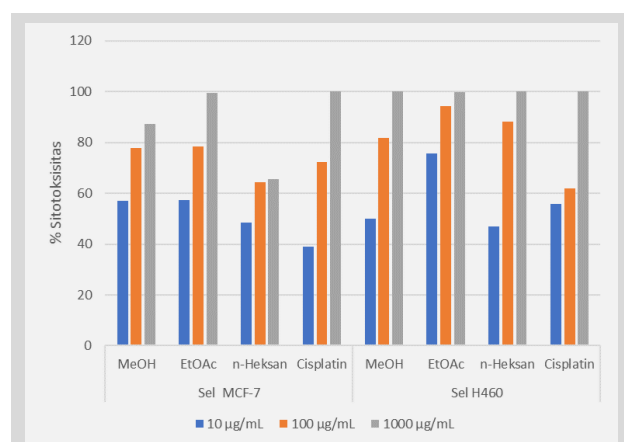
HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi sampel alga coklat (*T. decurrens* Bory) dilakukan menggunakan metode maserasi bertingkat, sebanyak 1 Kg serbuk diperoleh 3 g ekstrak n-heksan, 10 g ekstrak etil asetat, dan 8 g ekstrak metanol. Hasil skrining fitokimia dilakukan dari masing-masing ekstrak hasil maserasi menggunakan berbagai pelarut, n-heksan, etil asetat, dan metanol. Penapisan fitokimia dilakukan menggunakan reagen warna tertentu. **Tabel 1** menunjukkan bahwa ekstrak n-heksan *T. decurrens* Bory mengandung metabolit sekunder golongan terpenoid, steroid, dan flavonoid. Ekstrak etil asetat mengandung golongan senyawa terpenoid, steroid, fenol, dan flavonoid, sedangkan untuk ekstrak metanol mengandung metabolit flavonoid, saponin, terpenoid, dan steroid. Hasil skrining fitokimia menunjukkan golongan senyawa terpenoid dan steroid merupakan senyawa mayor yang ada pada spesies *T. decurrens* Bory.

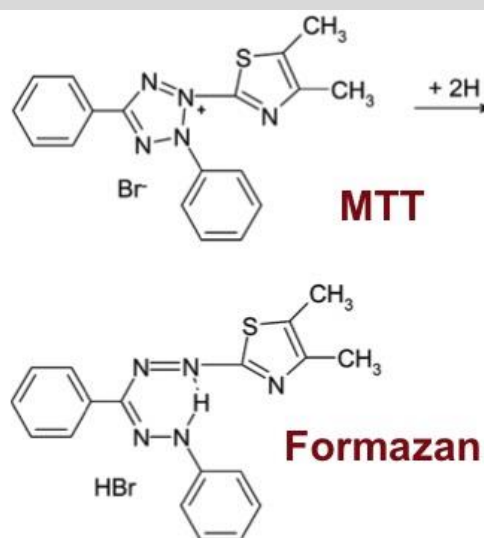
Tabel 1. Hasil Skrining fitokimia ekstrak *T. decurrens* Bory

| Ekstrak Sampel | Alkaloid | Flavonoid | Fenol | Saponin | Terpenoid | Steroid |
|----------------|----------|-----------|-------|---------|-----------|---------|
| Metanol | - | + | - | + | +++ | ++ |
| Etil asetat | - | + | + | - | ++ | +++ |
| n-Heksan | - | + | - | - | +++ | ++ |

Ekstrak ini selanjutnya dilakukan uji sitotoksitas menggunakan metode MTT. Sel kanker payudara manusia MCF-7 dan sel kanker paru-paru H460 diperoleh dari koleksi Laboratorium Kimia Bahan Alam Laut. Uji MTT ini dilakukan untuk menentukan ekstrak yang paling aktif sebagai antikanker, dengan konsentrasi ekstrak 10, 100, dan 1000 µg/mL dan sel kanker MCF-7 dan H460 diinkubasi selama 72 jam. Hasil uji sitotoksitas bervariasi setiap ekstrak pada setiap kenaikan konsentrasinya (**Gambar 1**). MTT termasuk salah satu metode kolorimetri, di mana garam tetrazolium yang ada di pereaksi MTT akan dipecah menjadi kristal formazan (**Gambar 2**) oleh sistem suksinat tetrazolium reduktase yang terdapat dalam jalur respirasi sel di mitokondria yang aktif pada sel hidup. Kristal formazan ini memberikan warna ungu yang dapat dibaca absorbansinya dengan menggunakan ELISA reader (7). Dari ekstrak yang telah diuji ekstrak etil asetat memiliki penghambatan paling tinggi pada konsentrasi 10 µg/mL telah mencapai 50% penghambatan baik sel MCF-7 maupun H460. Akan tetapi bila dibandingkan kedua sel ini ekstrak lebih kuat menghambat sel H460 dibandingkan dengan sel MCF-7, sel-sel divisualisasikan oleh warna ungu karena pembentukan kristal formazan.



Gambar 1. % Sitotoksitas ekstrak *T. decurrens* Bory terhadap sel MCF-7 dan H460



Gambar 2. Reaksi MTT (3-(4, 5-dimethylthiazolyl-2)-2, 5-diphenyltetrazolium bromide)(8)

Pada penelitian ini juga dilakukan uji terhadap kontrol positif cisplatin, cisplatin adalah salah satu agen antikanker sintesis yang efektif digunakan pada pengobatan kanker. Obat ini dianggap sebagai obat sitotoksik yang menghambat sel kanker dengan merusak DNA, namun efek samping dari obat ini dapat menyebabkan resisten terhadap pasiennya (9).

Tabel 2. Perbandingan % Sitotoksitas ekstrak *T. decurrens* Bory terhadap sel MCF-7 dan H460

| Konsentrasi | % Sitotoksitas Sel MCF-7 | | | | % Sitotoksitas Sel H460 | | | |
|-------------|--------------------------|-------|----------|-----------|-------------------------|-------|----------|-----------|
| | MeOH | EtOAc | n-Heksan | Cisplatin | MeOH | EtOAc | n-Heksan | Cisplatin |
| 10 µg/mL | 57 | 57.3 | 48.4 | 38.9 | 50 | 75.6 | 47 | 55.6 |
| 100 µg/mL | 77.9 | 78.4 | 64.2 | 72.1 | 81.6 | 94.4 | 88 | 61.9 |
| 1000 µg/mL | 87.2 | 99.3 | 65.4 | 100 | 100 | 99.9 | 100 | 100 |

Hasil Pengamatan pada Tabel 2 terlihat baik cisplatin maupun ekstrak menghambat sel tergantung pada konsentrasinya. Data ini menarik karena pada konsentrasi 10 µg/mL ekstrak etil asetat dan metanol memiliki penghambatan yang lebih tinggi dibandingkan cisplatin pada sel MCF-7. Sedangkan pada sel H460 ekstrak etil asetat memiliki penghambatan yang lebih tinggi dibandingkan cisplatin pada konsentrasi 10 µg/mL. Sehingga ekstrak etil asetat menunjukkan aktivitas sitotoksik yang kuat dalam menghambat sel MCF-7 dan H460. Berdasarkan hasil skrining fitokimia golongan metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak etil asetat yaitu flavonoid, fenol, terpenoid dan steroid. Suatu zat dapat bersifat sitotoksik salah satunya karena adanya efek sinergis gabungan dari banyak golongan senyawa menghasilkan suatu efek tertentu.

KESIMPULAN

Ekstrak alga coklat (*T. decurrens* Bory) asal pulau Dutungan Sulawesi Selatan memiliki potensi sebagai antikanker. Ekstrak etil asetat memiliki potensi antikanker lebih tinggi dibandingkan ekstrak lainnya baik terhadap sel MCF-7 maupun H460. Skrining fitokimia ekstrak etil asetat mengandung flavonoid, fenol, terpenoid dan steroid yang diduga memberikan efek sebagai antikanker

DAFTAR PUSTAKA

1. Ferlay J, Ervik M, Lam F, Colombet M, Mery L, Piñeros M, et al. Global cancer observatory: cancer today. International Agency for Research on Cancer. 2018.
2. Blunt JW, Copp BR, Munro MHG, Northcote PT, Prinsep MR. Marine natural products. Natural Product Reports. 2011.
3. Simmons TL, Andrianasolo E, McPhail K, Flatt P, Gerwick WH. Marine natural products as anticancer drugs. Molecular Cancer Therapeutics. 2005.
4. Januar HI, T W. Korelasi kandungan fukosantin dari *Turbinaria* sp. terhadap nutrien laut di pantai Binuangeun dan Krakal. Peneliti pada Balai Besar Ris Pengolah Prod dan Bioteknologi Kelaut dan Perikanan. 2011;
5. Istiana R. Identifikasi Komponen Pigmen Alga Coklat *Turbinaria conoides* dengan High Performance Liquid Chromatography (HPLC) [Internet]. Universitas Brawijaya; Available from: <http://repository.ub.ac.id/eprint/134417>. 2015
6. Sami FJ, Soekamto NH, Firdaus, Latip J. Total phenolic, antioxidant activity and toxicity effect of *Turbinaria decurrens* extracts from South Sulawesi. In: Journal of Physics: Conference Series. 2019.
7. Haryoto, Muhtadi, Indrayudha P, Azizah T, Suhendi A, Haryoto, Muhtadi, Peni Indrayudha, Tanti Azizah AS. Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etanol Tumbuhan Sala (*Cynometra ramiflora* Linn) Terhadap Sel HeLa, T47D dan WiDR. J Penelit Sainstek. 2013;
8. Cell Applications, INC. MTT Assay. Available from :<https://www.cellapplications.com/mtt-assay>
9. Florea AM, Büsselberg D. Cisplatin as an anti-tumor drug: Cellular mechanisms of activity, drug resistance and induced side effects. Cancers. 2011.