

UJI POTENSI ANTI KANKER DARI EKSTRAK ALGA HIJAU *Halimeda* sp DAN ALGA COKLAT *Padina* sp DENGAN METODE BRIME SHRIMP LETHALITY TEST TERHADAP LARVA UDANG *Artemia salina* leach

(*The Anticancer Potential Test of Green Algae Halimeda sp and Brown algae Padina sp Extract with the Brime Shrimp Lethality Test Method to Artemia salina Leach shrimp larvae*)

Nickson J. Kawung^{1*}, Rizald M. Rompas¹, Natalie D. Rumampuk¹, Adolfina Sumangando², Nerni O. Potalangi²

1. Program Studi Ilmu Kelautan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, UNSRAT Manado
2. Program Studi Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, UKI Tomohon

*Penulis Korespondensi: Nickson J. Kawung; nicksonkawung@unsrat.ac.id

ABSTRACT

Green Algae *Halimeda* sp. Brown algae *Padina* sp. are two types of marine biota that contain secondary metabolites and are beneficial in the health sector such as anticancer. Bioactive compounds suspected of having anti-cancer activity were tested for activity by means of a toxicity test. The purpose of this study is to test the biotoxicity of Green Algae *Halimeda* sp and Brown Algae *Padina* sp to shrimp larvae (*Artemia salina* Leach). Knowing the toxicity value (LC₅₀) of Green *Halimeda* sp and Brown algae *Padina* sp. The research method used is the Brime Shrimp Lethality Test method. Algae samples were taken in the waters of this study Makupa Village. The activity test was carried out in the laboratory of the Biotechnology and Marine Farmasetical, Faculty of Fisheries and Marine Science Sam Ratulangi University. Probit and regression analysis taken to analyte the data. The results of the probit analysis on the biotoxicity of bioactive compounds from *Halimeda* sp had an LC₅₀ value of 67.87 mg/l and *Padina* sp 12.49 mg/l. These data indicate that the bioactive compounds from *Padina* sp are more toxic than *Halimeda* sp. Bioactive compounds from *Padina* sp algae can be developed as anticancer raw materials.

Keywords: anticancer, *Halimeda*, *Padina*, *Artemia salina* Leach, bioactive compound

ABSTRAK

Alga Hijau *Halimeda* sp dan Alga Coklat *Padina* sp merupakan biota laut yang memiliki metabolit sekunder yang bermanfaat dalam bidang farmasi terutama bahan baku obat anti kanker. Senyawa bioaktif yang diduga memiliki aktivitas anti kanker terlebih dahulu dilakukan pengujian aktivitas dengan cara uji toksisitas. Metode Brine Shrimp Lethality Test. Tujuan penelitian ini yaitu uji aktivitas anti kanker dari ekstrak kasar *Halimeda* sp dan *Padina* sp terhadap larva udang *Artemia salina* L dengan menggunakan metode Metode Brine Shrimp Lethality Test. Sampel alga di ambil di Perairan Desa Makupa. Uji aktivitas dilakukan di Laboratorium Bioteknologi dan Farmasetika Laut Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Unsrat. Konsentrasi uji menggunakan 10, 50, 100, 250 dan 500, ppm, dengan terlebih dahulu membuat larutan induk 1000 ppm. Analisis data menggunakan analisis probit untuk menentukan nilai toksisitas LC₅₀. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa kenaikan konsentrasi diikuti dengan kenaikan jumlah mortalitas hewan uji dimana *Halimeda* sp 56% dan *Padina* sp 65%. Hasil analisis probit diperoleh nilai LC₅₀ 67,87 mg/l untuk *Halimeda* sp dan *Padina* sp 12,45 mg/l. Berdasarkan data tersebut senyawa bioaktif dari *Padina* lebih toksik dibandingkan dengan *Halimeda* sp, sehingga dapat disimpulkan kandungan senyawa bioaktif dari *Padina* sp berpotensi untuk dikembangkan menjadi bahan baku obat anti kanker.

Kata kunci: anti kanker, *Halimeda*, *Padina*, *Artemia salina* Leach, Senyawa bioaktif

PENDAHULUAN

Ketersediaan bahan sediaan farmasi untuk obat anti kanker cenderung meningkat setiap tahun, sebab sampai saat ini penyakit kanker termasuk urutan kedua yang berbahaya dari penyakit lainnya. Menurut Organisasi Kesehatan Dunia (WHO), setiap tahun penderita kanker di dunia bertambah 6,25 juta orang dan 10 tahun akan datang diperkirakan 9 juta meninggal akibat penyakit kanker. Strategi yang dilakukan dalam bidang kedokteran untuk mengobati penyakit kanker dilakukan dengan dua cara yaitu Kemoterapi dan operasi. Kedua cara tersebut belum memberikan dampak positif dalam penyembuhan penyakit kanker. Penggunaan obat kemoterapi yang sekarang ini digunakan memberikan efek negatif bagi pasien karena dapat merusak sel normal sehingga terjadi gangguan fisiologis dan anatomi bagi pasien, hal yang sama juga dengan metode operasi, dikerenakan obat anti kanker tersebut kerja belum spesifik membunuh sel kanker. Sebab itu penelitian senyawa baru untuk bahan baku obat kanker dari organisme hidup yang kerjanya spesifik dengan efek samping yang kecil sangat perlu dilakukan. Keragaman biota laut yang tinggi menjadi sumber untuk mendapatkan bahan baku obat anti kanker. Salah satu biota laut sebagai sumber senyawa bioaktif yang berpotensi dalam bahan baku obat anti kanker adalah makroalga. Beberapa penelitian tentang manfaat senyawa bioaktif dari makroalga antara lain kandungan senyawa aktif makroalga (Malo, *dkk.*, 2018). Potensi Senyawa Bioaktif Makroalga seperti pada alga cokelat *sargassum* sp dapat bersifat sebagai antioksidan (Winowoda, *dkk.*, 2018 dan Gazali, *dkk.*, 2020)

Menurut Hedi *dkk.*, (2010) dan Kawung *dkk.*, (2017), secara kuantitatif penelitian terhadap senyawa bioaktif dari biota laut menemukan adanya keterkaitan antara bioaktivitas dan produksi senyawa bioaktif dengan kondisi kualitas lingkungan tempat biota itu hidup.

Senyawa bioaktif yang diduga memiliki aktivitas anti kanker terlebih dahulu dilakukan pengujian aktivitas

dengan cara uji toksisitas. Tujuan dari pengujian ini adalah untuk mendapatkan data kemampuan aktivitas membunuh sel pada dosis yang kecil sehingga diperoleh data lethal konsentrasi atau lethal dosis. Kedua ukuran ini sering disebut LC_{50} atau LD_{50} , konsentrasi yang dapat membunuh 50% hewan uji. Umum nya uji toksisitas dapat dilakukan pada hewan kecil dan berumur mudah seperti *Artemia*. Pengujian toksisitas dengan menggunakan *Artemia* dikenal dengan metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test) dengan wadah control. Bila hasil pengujian diperoleh dosis yang sangat kecil dengan aktivitas yang tinggi maka dilanjutkan dengan pengujian sitotoksik yang menggunakan sel hidup. Tujuan semua pengujian ini memperoleh senyawa anti kanker, (Setiadi 2012).

Kanker adalah penyakit akibat pertumbuhan tidak normal dari sel-sel jaringan tubuh yang berubah menjadi sel kanker. Dalam perkembangannya, sel-sel kanker ini dapat menyebar ke bagian tubuh lainnya sehingga dapat menyebabkan kematian. Kanker sering dikenal oleh masyarakat sebagai tumor, padahal tidak semua tumor adalah kanker. Tumor adalah segala benjolan tidak normal atau abnormal. Tumor dibagi dalam 2 golongan, yaitu tumor jinak dan tumor ganas. Kanker adalah istilah umum untuk semua jenis tumor ganas.

Pengujian dengan menggunakan metode BSLT merupakan salah satu cara untuk melihat tingkat toksisitas dari senyawa bioaktif. Metode BSLT menggunakan udang *Artemia salina*, L. Penelitian ini melakukan isolasi senyawa bioaktif dari dua kelompok alga yaitu alga hijau *Halimeda* sp dan Alga Coklat *Padina* sp selanjutnya menguji biotoksitas terhadap senyawa bioaktif dengan menggunakan udang *Artemia salina*. Menghitung nilai LC_{50} dari aktivitas toksisitas senyawa.

METODOLOGI PENELITIAN

Tempat dan Waktu Penelitian

Sampel alga di ambil di Perairan Desa Makupa. Analisis dan uji aktivitas dilakukan di laboratorium Bioteknologi dan

Farmasetika Laut Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Unsrat.

Alat dan Bahan

Alat

Alat yang digunakan selama penelitian adalah gelas kimia, Erlenmeyer, autoklaf, mikropipet, rotary evaporator, hot plate, batang pengaduk, timbangan analitik, kertas saring, pinset, aluminium foil, gelas ukur, pipet, hanskun, lampu pijar 25 watt, aerator, alat tulis menulis, dan kamera.

Bahan

Sampel *Halimeda* sp dan *Padina* sp, Etanol, air laut, larva udang, aquades dan tisu.

Metode Penelitian

Penelitian ini bentuk percobaan di laboratorium. Analisis data menggunakan analisis probit untuk menentukan nilai LC_{50} .

Metode BSLT (*Brime Lethality Test*)

BSLT merupakan salah satu uji toksisitas, metode ini dapat digunakan sebagai bioassay guided dari bahan alami karena mudah, cepat, murah dan cukup reproduibel. Metode ini menunjukkan adanya korelasi senyawa bioaktif terhadap suatu uji spesifik anti kanker (Harmita dan Radji 2008).

Pengambilan Sampel

Sampel *Halimeda* sp dan *Padina* sp, di ambil dari Pantai Makupa kemudian dicuci dengan air bersih untuk mengeluarkan kandungan garam, selanjutnya sampel dikeringkan.

Ekstraksi Senyawa Bioaktif

Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan pelarut etanol, sampel di potong-potong lalu dimasukan kedalam toples dan tambahkan etanol dengan perbandingan 1:3 dimana sebanyak 500 gram sampel ditambahkan 3000 ml etanol dan di maserasi selama 24 jam lalu disaring. Larutan ditampung pada gelas erlemeyer dan debris dimaserasi kembali dengan pelarut yang sama, cara ini dilakukan 2-3 kali sampai pelarut berwarna bening. Selanjutnya semua larutan yang diperoleh disatukan dalam gelas erlemeyer dan dievaporasi dengan bouci evaporator. Untuk menghilangkan seluruh pelarut,

ekstrak dikeringkan dengan menggunakan hot plate sampai diperoleh ekstrak kering.

Pembuatan Larutan Uji

Pertama dibuat stok larutan uji 10.000 ppm dengan cara menimbang 50 mg ekstrak sampel *Halimeda* sp dan *Sargassum* sp. Kemudian dilarutkan dengan etanol 2 ml dan aquades 48 ml sehingga mencapai 50 ml. Selanjutnya dibuat pengenceran seri dosis mulai dari 10, 50, 100, 250 dan 500, ppm dengan mengikuti rumus pengenceran $M_1V_1 = M_2V_2$ (Wahit 1992).

Uji Toksisitas

Penyiapan Larva Udang *Artemia salina* Leach

Penetasan telur dilakukan pada wadah bening berupa kotak plastik dengan menggunakan media air laut. Telur larva udang ditimbang sebanyak 50 mg lalu dimasukan kedalam wadah kotak plastik yang telah diberi air laut dan aerator untuk ditetaskan. Proses penetasan dilakukan selama 48 jam dengan diberi penerangan dengan menggunakan lampu pijar 25 watt. Larva udang yang akan diuji diambil dengan menggunakan pipet mikro.

Pelaksanaan Uji Tosisitas

Pengujian dilakukan dengan cara diambil 10 ekor larva udang artemia salina Leach menggunakan pipet mikro lalu dimasukan kedalam media uji dengan 5 kosentrasi larutan uji yang berbeda. Kemudian dibiarkan selama 24 jam dan diamati. Untuk mendapatkan data persen mortalitas hewan uji maka menggunakan rumus :

Persen Mortalitas

$$= \frac{\text{Jumlah rata - rata hewan yang mati}}{\text{Jumlah rata - rata hewan percobaan}} 100\%$$

Analisis Data

Aktivitas toksisitas dianalisis dengan menggunakan analisis probit untuk mendapat nilai LC_{50} , dan disajikan dalam bentuk tabel dan grafik.

HASIL DAN PEMBAHASAN

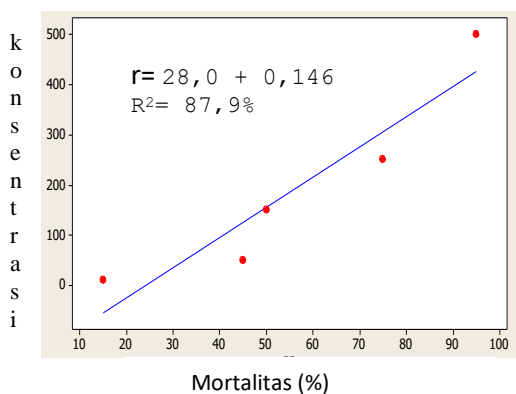
Hasil pengamatan dan perhitungan mortalitas Larva *Artemia salina* dalam dengan perlakuan ekstrak *Halimeda* sp dan *Padina* sp. Menunjukkan pengaruh yang berbeda-beda pada tiap konsentrasi

terhadap kematian Larva *Artemia salina* (Tabel 1 dan 2).

Tabel 1. Hasil Pengamatan Mortalitas Larva Udang *Artemia salina* pada Ekstrak Alga Hijau *Halimeda sp.*

Ulangan	Mortalitas/Konsetrasi (ppm)				
	10	50	100	250	500
1	2	6	5	8	10
2	1	3	5	7	9
Jumlah	3	9	10	15	19
Rata-rata	1.5	4.5	5	7.5	9.5
% Mortalitas	15	45	50	75	95

Kematian Larva *Artemia salina* yang ditunjukkan pada Tabel 1 di atas dipengaruhi oleh konsentrasi, berdasarkan hasil pengujian yang dilakukan di mana mortalitas Larva *Artemia salina* terkecil terdapat pada konsentrasi 10 ppm dan yang terbesar pada konsentrasi 500 ppm, dengan kata lain kenaikan konsettrasi memberikan efek positif terhadap kenaikan mortalitas hewan uji sebagaimana dalam analisis regresi diperoleh $R^2 = 87,9\%$. Kemudian analisis probit dari konsentrasi ekstrak Alga Hijau (*Halimeda sp*) dengan menggunakan prohram minitab diperoleh LC_{50} sebesar 67.87 mg/l. Kurva regresi pengaruh konsentrasi terhadap mortalitas larva *Artemia salina* diperlihatkan pada Gambar 8. Grafik Gambar 8 ini lebih memperjelas bahwa mortalitas larva *Artemia salina* dipengaruhi oleh konsentrasi ekstrak dengan kata lain dapat dikatakan bahwa makin tinggi konsentrasi uji makin besar senyawa aktif dalam ekstrak tersebut.

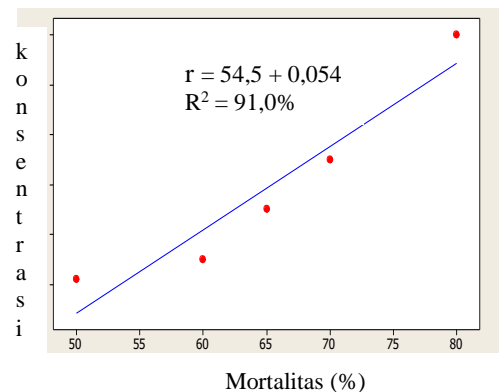


Gambar 8. Grafik Analisis regresi *Halimeda sp* hubungan moratlitas dan konsentrasi

Tabel 2. Hasil Pengamatan Mortalitas Larva Udang *Artemia salina* pada Ekstrak Alga Coklat *Padina sp*

Ulangan	Mortalitas/Konsetrasi (ppm)				
	10	50	100	250	500
1	5	5	7	9	8
2	5	7	6	6	8
Jumlah	10	12	13	15	16
Rata-rata	5	6	6.5	7.5	8
% Mortalitas	50	60	65	70	80

Berdasarkan tabel 2 diatas terlihat kenaikan konsentrasi diikuti dengan mortalitas hewan uji mulai dari 10 ppm sampai 500 ppm. Analisis regresi terhadap pengaruh konsentrasi pada mortalitas hewan uji diperoleh $R^2 = 91,0\%$ nilai ini menunjukkan bahwa setiap kenaikan konsetrasi uji diikuti dengan mortalitas hewan uji. Kemudian hasil analisis probit terhadap daya toksisitas ekstrak Alga Coklat (*Padina sp*) dengan menggunakan progra, minitab diperoleh LC_{50} sebesar 12.45 mg/l. Kurva analisis probit terhadap mortalitas larva *Artemia salina* ditunjukkan pada Gambar 9 berikut ini.



Gambar 9. Grafik Analisis Regresi *Padina sp* hubungan moratlitas dan konsentrasi

Hasil analisis probit dan regresi terhadap aktivitas toksisitas ekstrak senyawa bioaktif *Padinia sp* dan *Halimeda sp* menunjukkan perbedaan dimana senyawa bioaktif dari *Padina sp* lebih toksit dibandingkan dengan *Halimeda sp*. Nilai toksisitas atau LC_{50} untuk *Halimeda sp* 67,87 mg/l dapat membunuh 50% hewan uji sedangkan untuk *Padina sp* 12,45 mg/l dapat membunuh 50% hewan uji. LC_{50} adalah kosentrasi dari suatu senyawa kimia yang dapat menyebabkan 50% kematian pada suatu populasi hewan

uji. Nilai LC_{50} dapat digunakan untuk menentukan tingkat efek toksik suatu senyawa sehingga dapat memprediksi potensinya sebagai anti kanker, (Anonim 2016)

Kemampuan Alga untuk memproduksi metabolit sekunder yang bersifat sebagai senyawa bioaktif dimungkinkan terjadi, karena kondisi lingkungan hidup alga yang ekstrem seperti salinitas yang tinggi atau akan digunakan untuk mempertahankan diri dari ancaman predator.

Suatu zat dinyatakan berpotensi sebagai anti kanker jika aktivitas sitotoksik mempunyai harga LC_{50} pada konsentrasi < 1000 ppm untuk ekstrak dan pada konsentrasi ≤ 30 ppm untuk suatu senyawa (Mayer dan Ferrigni, 1982). Tingkat kematian larva *Artemia salina* Leach tersebut akan memberikan makna terhadap potensi aktivitas sitotoksik. Meskipun uji toksisitas ini belum spesifik untuk anti kanker, namun hasil uji senyawa anti kanker menunjukkan korelasi terhadap kematian larva *Artemia salina* Leach, (Manuputty, 1988). Menurut Nursid dkk., (2009) makin kecil nilai IC_{50} senyawa tersebut makin toksik sebaliknya makin besar nilai IC_{50} senyawa tersebut makin kurang toksisitasnya. Kriteria National Cancer Institut (NCI) suatu ekstrak dikategorikan aktif apabila nilai toksisitasnya (IC_{50}) < 20 $\mu\text{g/ml}$.

KESIMPULAN

Nilai LC_{50} dari ekstrak Alga Hijau (*Halimeda* sp) terhadap mortalitas *Artemia salina* yaitu 67.87 mg/l dan Nilai LC_{50} dari ekstrak Alga Coklat (*Padina* sp) terhadap mortalitas *Artemia salina* yaitu 12.45 mg/l. *Padina* sp lebih toksik dari pada *Halimeda* sp, Tingkat toksisitas dari ekstrak tersebut sangat tinggi karena itu berpotensi sebagai anti kanker. Mortalitas larva *Artemia salina* Leach dipengaruhi oleh konsentrasi ekstrak.

DAFTAR PUSTAKA

Anonim², 2016 Nilai LC_{50} dapat digunakan untuk menentukan tingkat efek toksik.

- Fitton, Helen. 2005. Marine Algae and Health: A Review of The Scientific and Historical Literature.
- Gazali M., Nurjanah, Neviaty P. Zamani. 2020. Eksplorasi Senyawa Bioaktif Alga Cokelat Sargassum Sp. Agardh Sebagai Antioksidan Dari Pesisir Barat Aceh. JPHPI 2018, Vol. 21 No 1
- Harmita, dan Radji, M., 2008. Kepekaan Analisis Hayati, eds.3. Buku Kedokteran
- Hedi I. J., E. Chasanah, A. M. Cherie, M. Dianne. Tapiolas, C. H. Liptrot and A.D. Wright. 2010. Cytotoxic Cembranes from Indonesian Specimens of the Soft Coral *Nephthea* sp. Jurnal. Mar. Drugs 2010, 8(7), 2142-2152;
- Kawung N. J. 2017. Studi Senyawa Antikanker Dari Karang Lunak *Sinularia* sp. Di Perairan Malalayang Dan Pulau Bunaken Sulawesi Utara. Disertasi. Program Doktor Ilmu Kelautan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Unsrat-Manado
- Manuputty. 1998. Beberapa Karang lunak (Alcyonacea) Penghasil Substansi Bioaktif.
- Mayer, Ferrigni ML. 1982. Brine Shrimp, a convenient general bioassay for active plant constituents, J of Plant Medical Research.
- Malo A., Y. Salosso, Sunadji .2018. Kandungan Senyawa Aktif Makroalga Yang Diambil Di Perairan Pantai Arubara Kabupaten Ende. Jurnal Akuatik, Vol. 1 No. 1 ISSN: 2301-5381.
- Murniyanti, 2011. Budidaya Artemia Untuk Pakan Alami Ikan/Perikanan.
- Nursid M, N. Dewi Fajarningsih, Th. Wikanta. 2009. Isolation of Cytotoxic Compound from *Nephthea* sp. Soft Coral Jurnal of Biotechnology Research in Tropical Rdeion, Vol. 2, No. 1, Apr. 2009 (Special Edition) ISSN: 1979-9756. Research Center for Marine and Fisheries Product Processing and Biotechnology, Agency of Marine and Fisheries Research, Jalan KS. Tubun Petamburan VI Jakarta

- Setiadi A. 2012. Analisis Toksisitas dengan Metode Probit: <http://www.2016>. Diakses 18 Agustus 2016.
- Wahit 1992. Analisis Kimia Kualitatif, FMIPA. UNHAS.
- Winowoda S. D., M. F. O. Singkoh, R. Siahaan. 2018. Kekayaan Dan Potensi Senyawa Bioaktif Makroalga Di Pesisir Atep Oki, Kabupaten Minahasa, Sulawesi Utara . Jurnal Pesisir Dan Laut Tropis. Vol. 8 No.