

Uji Toksisitas Anti Kanker Ekstrak Alga Coklat *Padina* sp Terhadap Larva Udang *Artemia salina* Leach., dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test*

(Anti-Cancer Toxicity Test Extracts of Brown Alga *Padina* sp Against *Artemia salina* Leach Shrimp Larvae, Using Method *Brine Shrimp Lethality Test*)

Nickson J. Kawung^{1*}, Adolfina Sumangando², Natalie D. Rumampuk¹, Billy. Th. Wagey¹

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

Brown Algae *Padina* sp are marine biota that have secondary metabolites that are useful in the pharmaceutical field, especially raw materials for anti-cancer drugs. Bioactive compounds suspected of having anti-cancer activity were tested for activity by means of a toxicity test. *Brine Shrimp Lethality Test Method*. The purpose of this study was to test the anticancer activity of the crude extracts of *Padina* sp against *Artemia salina* L shrimp larvae using the *Brine Shrimp Lethality Test* method. Algae samples were taken in the waters of Makupa Village. The activity test was carried out at the Laboratory of Marine Biotechnology and Pharmacy, Faculty of Fisheries and Marine Sciences, Unsrat. The test concentrations used of 10, 50, 100, 250 and 500 ppm, by first making 1000 ppm mother liquor. Data analysis used probit analysis to determine the toxicity value of LC₅₀. The results obtained showed that the increase in concentration was followed by an increase in the number of mortality of the test animals where *Padina* sp 65%. The results of probit analysis obtained LC₅₀ *Padina* sp 12.45 mg/l. Based on these data, bioactive compounds from *Padina* are more toxic, so it can be concluded that the content of bioactive compounds from *Padina* sp has the potential to be developed as raw materials for anticancer drugs.

Keywords: *Anticancer, Padina, Lethality Test*

ABSTRAK

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 antikanker dari ekstrak *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 *Padina* sp 65%. Hasil analisis probit diperoleh nilai Lethal konsentrasi adalah 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 antikanker.

Kata kunci: Antikanker, *Padina*, *Lethality Test*

PENDAHULUAN

Laut memiliki sumber daya alam yang kompleks baik hewan maupun tumbuhan-tumbuhan sehingga laut

disebut dengan *marine megabiodiversity*. Tumbuhan-tumbuhan laut yang berpotensi sebagai sumber senyawa bioaktif yang berperan dalam penyembuhan penyakit antara lain alga. Alga hijau, dan alga

coklat merupakan sumber potensial senyawa bioaktif yang sangat bermanfaat bagi pengembangan industri farmasi misalnya sebagai antibakteri, antitumor, antikanker, antiinflamasi. Kemampuan alga untuk memproduksi metabolit sekunder sebagai senyawa bioaktif dimungkinkan terjadi, karena kondisi lingkungan hidup alga yang ekstrim seperti salinitas yang tinggi atau sebagai upaya untuk mempertahankan diri dari ancaman predator.

Penelitian pemanfaatan sumber bahan bioaktif dari alga terus dilakukan. Gazali dkk (2018) melakukan pengujian antioksidan dari alga coklat *Sargassum*. Rohim dkk (2019) melakukan penelitian terhadap alga coklat jenis *Sargassum sp* dikenal sebagai salah satu alga laut yang mengandung senyawa bioaktif. Farida dan Bahalwan (2022) Melakukan eksplorasi senyawa biaktif dari alga coklat.

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} yang disebut konsentrasi yang dapat membunuh 50% hewan uji. Umum nya uji toksisitas dapat dilakukan pada hewan kecil dan berumur mudah seperti larva udang *Artemia salina*. Pengujian toksisitas dengan menggunakan larva udang *Artemia* dikenal dengan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) pada wadah control. Metode ini dapat digunakan sebagai bioassay guided dari bahan alami karena mudah, cepat, murah dan cukup reproduibel. Beberapa senyawa bioaktif menunjukkan adanya korelasi terhadap suatu uji spesifik anti kanker (Harmita dan Radji, 2008).

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

Dalam penelitian ini akan melakukan isolasi senyawa bioaktif dari Alga Coklat *Padina sp* selanjutnya dilanjutkan uji biopotensi antikanker melalui toksisitas terhadap udang *Artemia salina* dengan metode BSLT. Uji toksisitas merupakan salah satu cara untuk melakukan skrining senyawa bioaktif yang berpotensi sebagai antikanker.

METODOLOGI PENELITIAN

Waktu dan Tempat

Sampel coklat alga di ambil di Perairan Desa Kalasey. Analisis dan uji aktivitas dilakukan di laboratorium Bioteknologi dan Farmasetika Laut Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Unsrat-Manado.

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

Alga coklat *Padina sp*, etanol, air laut, larva udang, aquades dan tisu.

Prosedur Kerja

Padina sp dicuci dengan air mengalir untuk mengeluarkan kandungan garam selanjutnya sampel dikeringkan anginkan untuk menghilangkan kadar air dalam sampel.

Ekstraksi Senyawa Bioaktif

Sampel digerus lalu dimasukkan kedalam toples dan tambahkan etanol dengan perbandingan 1:3 dimana sebanyak 500 gram sampel ditambahkan 1500 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 5000 ppm dengan cara menimbang 25 mg ekstrak sampel *Padina 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 seperti diatas mengikuti persamaan $M1V1 = M2V2$ (Wahit 1992).

$$V1 = \frac{M2V2}{M1}$$

Ket :

V1 = Volume sampel.?

V2 = Volume larutan

M1 = Stok Awal

M2 = Konsentrasi Uji

Konsentrasi 500 ppm dibuat dengan memipet 500 μ l dari larutan stok kemudian ditambahkan air laut sampai 10 ml, konsentrasi 250 ppm dibuat dengan memipet 250 μ l dari larutan stok kemudian ditambahkan air laut sampai 10 ml, konsentrasi 100 ppm dibuat dengan memipet 100 μ l dari larutan stok kemudian ditambah air laut sampai 10 ml, konsentrasi 50 ppm dibuat dengan memipet 50 μ l dari larutan stok kemudian ditambah air laut sampai 10 ml, konsentrasi 10 ppm dibuat dengan memipet 10 μ l dari larutan stok kemudian ditambah air laut sampai 10 ml.

Pengujian Toksisitas

Penyiapan Larva Udang *Artemia salina* Leach

Penetasan telur udang *A. salina*, L. dilakukan pada wadah botol toples dengan media air laut Telur larva udang sebanyak 50 mg. Proses penetasan dilakukan selama 48 jam dengan diberi penerangan dengan menggunakan lampu pijar 25 watt.

Pelaksanaan Uji Tosisitas

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

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

Analisis Data

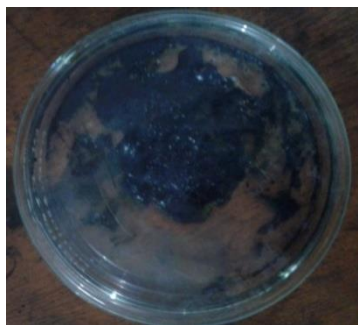
Aktivitas toksisitas dianalisis dengan menggunakan analisis probit untuk mendapat nilai LC_{50} , dan disajikan dalam bentuk tabel dan grafik.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sampel alga coklat *Padina sp* serta hasil ekstraksi kandungan senyawa bioaktif ditunjukkan pada Gambar 1 di bawah ini



Gambar 1. Sampel alga *Padina sp*



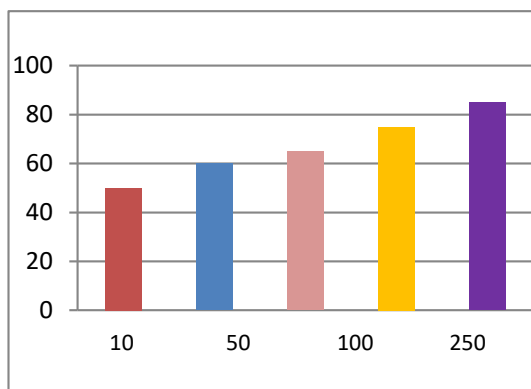
Gambar 2. Ekstrak kasar senyawa bioaktif

Perlakuan konsentrasi uji ekstrak *Padina sp* menunjukkan pengaruh positif terhadap mortalitas Larva udang *A. salina* L. Dimana kenaikan konsentrasi uji diikuti dengan jumlah mortalitas larva udang. Hal ini dapat dilihat pada Tabel 1

Tabel 1. 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

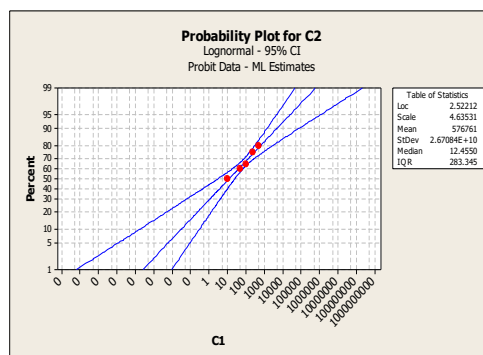
Data Tabel 1 di atas dibuatkan dalam suatu gambar untuk membedakan setiap pengaruh konsentrasi pada mortalitas *Artemia salina* (Gambar 2)



Gambar 2. Grafik Mortalitas Larva *Artemia salina* dengan perlakuan ekstrak Alga *Padina sp*.

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. Jumlah Larva tiap tabung uji dilakukan 2 kali pengulangan.

Kemudian hasil analisis probit dari konsentrasi ekstrak Alga Coklat (*Padina sp*) dengan menggunakan metode BSLT di peroleh LC_{50} sebesar 12.45 mg/l. Kurva analisis probit terhadap mortalitas larva *Artemia salina* ditunjukkan pada Gambar 3 berikut ini.



Gambar 3. Grafik Analisis Probit (*Padina sp*)

Pembahasan

Alga Coklat (*Padina sp*) salah satu makroalga yang banyak terdapat di laut sehingga mudah untuk diperoleh. Alga ini mengandung metabolit sekunder yang dapat bermanfaat dalam pengembangan bahan obat. Senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada alga coklat tersebut yaitu fukoidan juga menunjukkan beberapa aktivitas biologis yang penting bagi dunia kesehatan

Senyawa bioaktif yang berpotensi sebagai anti kanker umumnya diawali dengan uji toksisitas. Metode yang sering digunakan untuk menguji bahan-bahan yang bersifat toksik dan berfungsi sebagai antikkanker adalah menggunakan metode *brine shrimp lethality test* (BSLT). Metode ini menggunakan larva *Artemia salina* Leach sebagai hewan uji. Pengujian ini ditekankan pada uji toksisitas akut dimana efek toksik dari suatu senyawa ditentukan dalam waktu singkat setelah pemberian

perlakuan. Prosedurnya dengan menentukan biotoksisitas Alga dan nilai LC_{50} dari aktivitas komponen aktif tanaman terhadap larva *Artemia salina* Leach. Penggunaan larva *Artemia salina* Leach juga memiliki beberapa keunggulan, diantaranya pada kondisi yang tepat larva *Artemia salina* Leach mudah dibiakkan.

LC_{50} adalah konsentrasi 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 (Anonim², 2016)

Rumput laut diketahui kaya akan nutrisi esensial, seperti enzim, asam nukleat, asam amino, mineral, trace elements, dan vitamin A,B,C,D,E dan K. Karena kandungan gizinya yang tinggi, rumput laut mampu meningkatkan sistem kerja hormonal, limfatik, dan juga saraf. Selain itu, rumput laut juga bisa meningkatkan fungsi pertahanan tubuh, memperbaiki sistem kerja jantung dan peredaran darah, serta sistem pencernaan. Rumput laut dikenal juga sebagai obat tradisional untuk batuk, asma, TBC, rematik, anti bakteri, anti tumor, dan anti kanker.

Polifenol yang terkandung dalam alga memiliki aktivitas antioksidan, sehingga mampu mencegah berbagai penyakit degenerative maupun penyakit karena tekanan oksidatif, diantaranya kanker, penuaan, dan penyempitan pembuluh darah. Selain itu, polifenol juga terbukti memiliki aktivitas antibakteri. Hal ini terbukti bahwa rumput laut mampu melawan bakteri *Helicobacter pylori*, penyebab penyakit kulit (John dan Ashok, 1986).

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.

Berdasarkan data LC_{50} dari ekstrak Alga Coklat (*Padina* sp) yaitu 12.45 mg/l,

dari nilai LC_{50} tersebut dapat dikatakan senyawa bioaktif yang terkandung pada alga *Padina* sp berpotensi untuk dikembangkan sebagai bahan obat antikanker hal ini dapat dilihat dari mortalitas Larva *Artemia salina* mencapai 50%.

Meyer dkk (1982), menyatakan bahwa suatu zat dinyatakan berpotensi sebagai antikanker jika aktivitas sitotoksik mempunyai harga LC_{50} pada konsentrasi < 1000 ppm untuk ekstrak dan pada konsentrasi ≤ 30 ppm untuk suatu senyawa. Tingkat kematian larva *Artemia salina* Leach tersebut akan memberikan makna terhadap potensi aktivitas sitotoksik. Meskipun uji toksisitas ini belum spesifik untuk antikanker, namun hasil uji senyawa antikanker menunjukkan korelasi terhadap kematian larva *Artemia salina* Leach (Manuputty 1998). Nursid M (2009) menyatakan 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 $\mu\text{g/ml}$ (Zhmitz dkk., 2001).

Berdasarkan nilai LC_{50} dari dua jenis alga baik *Halimeda* sp dan *Padina* sp, maka dapat dikatakan bahwa senyawa bioaktif yang terkandung dalam ekstrak kedua jenis alga tersebut sangat potensial untuk bahan baku antikanker.

KESIMPULAN

1. Nilai LC_{50} dari ekstrak Alga Coklat (*Padina* sp) terhadap mortalitas *Artemia salina* yaitu 12.45 mg/l
2. Senyawa bioaktif *Padina* sp bersifat toksik dengan nilai toksisitas 12.45 mg/l, dan dapat dikembangkan sebagai bahan baku obat antiikanker

SARAN

Perlu dilakukan pemisahan senyawa metabolit sekunder terhadap senyawa aktif antikanker, kemudian dilanjutkan dengan pengujian sel kanker.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 2016 gambar Alga. <http://google.com/gambar-Algae>. Diakses tgl 20 Agustus 2016.
- Anonim¹, 2016 Klasifikasi Larva Udang (*Artemia salina* Leach). [http://google.com/artikel_ttg-Klsifikasi_Larva_Udang_\(Artemia_salina_Leach\)](http://google.com/artikel_ttg-Klsifikasi_Larva_Udang_(Artemia_salina_Leach)). Diakses tanggal 21 Agustus 2016.
- Anonim², 2016 Nilai LC₅₀ dapat digunakan untuk menentukan tingkat efek toksik.
- Gazali M., Nurjanah², Neviaty P. Zamani. 2018. Eksplorasi Senyawa Bioaktif Alga Cokelat *Sargassum* Sp. Sebagai Antioksi Dan Dari Pesisir Barat Aceh. *Jphpi* 2018, Volume 21 Nomor 1
- Harmita, dan Radji, M., 2008. Kepekaan Analisis Hayati, eds.3. Buku Kedokteran.
- Manuputty. 1998. Beberapa Karang lunak (*Alcyonacea*) Penghasil Substansi Bioaktif.
- Mayer BNNR, Ferrigni ML. 1982. Brine Shrimp, a convenient general bioassay for active plant constituents, *J of Plant Medical Research*.
- Murniyanti, 2011. Budidaya *Artemia* Untuk Pakan Alami Ikan/Perikanan.
- Nursid Muhammad, Wikanta Thamrin, Susilowati Rini. 2013. Aktivitas Antioksidan, Sitotoksis dan Kandungan Fukosantin Ekstrak Rumput Laut Coklat dari Pantai Binuangeun Banten. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan (KKP).
- Nursid M, N. Dewi Fajarningsih, Th. Wikanta. 2009. Isolation of Cytotoxic Compound from *Nephthea* sp. Soft Coral. *Jurnal of Biotechnology Research in Tropical Rdegiion*, 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*
- Rohim A., Yunianta, T. Estiasih. 2018. Senyawa-Senyawa Bioaktif Pada Rumput Laut Cokelat *Sargassum* Sp. *Jurnal Teknologi Pertanian* Vol. 20 No. 2 [Agustus 2019] 115-126. Fakultas Teknologi Pertanian – Universitas Brawijaya
- Sampulawa S. dan F. Bahalwan. 2022. Identifikasi Senyawa Bioaktif Ekstrak Alga Coklat (*Hormophysa Triquetra*). *Jurnal Ilmiah Biologi* E-ISSN 2654-4571; P-ISSN 2338-5006 Vol. 10, No. 1
- Setiadi A. 2012. Analisis Toksisitas dengan Metode Probit: <http://www.2016>. Diakses 18 Agustus 2016.