

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI SENYAWA ORGANIK DARI KOMBINASI
EKSTRAK ALGA COKLAT (*Padina sp*) DENGAN JERUK NIPIS (*Citrus
aurantifolia*), SERTA UJI BIOAKTIVITASNYA SEBAGAI ANTIOKSIDAN DAN
ANTIKANKER**

*ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF ORGANIC COMPOUNDS FROM
COMBINED EXTRACT BROWN ALGAE (*Padina sp*) AND LIME (*Citrus
aurantifolia*), AND BIOACTIVITY TEST AS ANTIOXIDANT AND ANTICANCER*

NURUL AMALIAH

H012 19 2 003



**PROGRAM STUDI MAGISTER KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

2023

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI SENYAWA ORGANIK DARI KOMBINASI
EKSTRAK ALGA COKLAT (*Padina sp*) DENGAN JERUK NIPIS (*Citrus
aurantifolia*), SERTA UJI BIOAKTIVITASNYA SEBAGAI ANTIOKSIDAN DAN
ANTIKANKER**

Tesis

sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar magister

Program Studi Magister Kimia

Disusun dan diajukan oleh

NURUL AMALIAH

H012 19 2 003

kepada

**PROGRAM MAGISTER KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023**

TESIS

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI SENYAWA ORGANIK DARI
KOMBINASI EKSTRAK ALGA COKLAT (*Padina sp*) DENGAN JERUK
NIPIS (*Citrus aurantifolia*) SERTA BIOAKTIVITASNYA SEBAGAI
ANTIOKSIDAN DAN ANTIKANKER**

NURUL AMALIAH

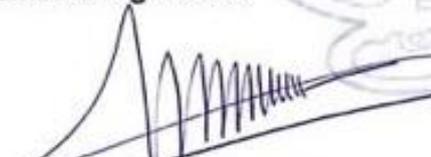
NIM: H012192003

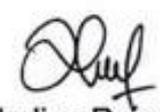
Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam
rangka Penyelesaian Studi Program Magister Kimia Fakultas Matematika
dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin
pada tanggal 7 Juni 2023
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui

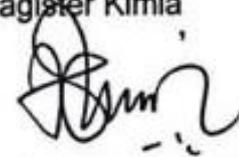
Pembimbing Utama

Pembimbing Pendamping

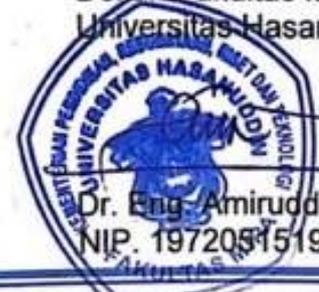

Prof. Dr. Nuruk Hariani Soekamto, M.S
NIP. 196012151987022001


Dr. Herlina Rasyid, S.Si
NIP. 19930414202204001

Ketua Program Studi
Magister Kimia


Prof. Dr. Hasnah Natsir, M.Si
NIP. 196203201987112001

Dekan Fakultas MIPA
Universitas Hasanuddin


Dr. Eng. Amiruddin, M.Si
NIP. 197205151997021002

**PERNYATAAN KEASLIAN TESIS
DAN KELIMPAHAN HAK CIPTA**

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Nurul Amaliah
NIM : H012192003
Program Studi : Magister Kimia

Dengan ini saya menyatakan bahwa, tesis berjudul "Isolasi Dan Karakterisasi Senyawa Organik dari Kombinasi Ekstrak Alga Coklat (*Padina sp*) dengan Jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) serta Uji Bioaktivitas sebagai Antioksidan dan Antikanker" adalah benar karya saya dengan arahan dari komisi pembimbing (Prof. Dr. Nunuk Hariani Soekamto, M.S sebagai Pembimbing Utama dan Dr. Herlina Rasyid, S.Si sebagai Pembimbing Pendamping). Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apapun kepada perguruan tinggi manapun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka tesis ini. Sebagian dari isi tesis ini telah dipublikasikan di *American Institute of Physics (AIP)* sebagai artikel dengan judul "*Phytochemical Screening and Toxicity test of the combined extract of Seaweed (Padina sp) and Lime (Citrus aurantifolia) to Artemia salina larvae*".

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya berupa tesis ini kepada Universitas Hasanuddin.

Makassar, 7 Juni 2023



Nurul Amaliah

NIM: H012191007

PRAKATA

Bismillahirrahmanirrahim.

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT atas limpahan rahmat, hidayah, serta karunian-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini yang berjudul **Isolasi Dan Karakterisasi Senyawa Organik dari Kombinasi Ekstrak Alga Coklat (*Padina sp*) dengan Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*), serta Bioaktivitasnya sebagai Antioksidan dan Antikanker**” sebagai salah satu syarat untuk mendapatkan gelar Magister Sains (M.Si) pada Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin.

Penulis mengucapkan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada Kedua Orang tua, dan kepada **Ibu Prof. Dr.Nunuk Hariani Soekamto, M.S dan Ibu Dr. Herlina Rasyid, S.Si** yang telah memberikan begitu banyak bantuan, masukan dan saran, motivasi untuk penulis mulai dari penyusunan proposal, penelitian, hingga penyusunan tesis ini. Kesempatan ini juga, penulis dengan segala kerendahan hati mengucapkan terima kasih kepada:

1. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Universitas Hasanuddin.
2. Bapak Prof. Dr. Abd Wahid Wahab, M.Sc, Ibu Prof. Dr. Hasnah Natsir, M.Si, dan dan Ibu Dr. St. Fauziah, S.Si, M.Si selaku dosen penguji yang telah memberikan ilmu, saran dan masukan dalam penyusunan proposal hingga tesis penulis.
3. Seluruh analis laboratorium yang senantiasa membantu penulis selama proses penelitian.
4. Seluruh dosen dan staf Departemen Kimia dan Fakultas yang senantiasa membantu dan berkontribusi terhadap penulis selama proses studi.
5. Seluruh pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Penulis sadar bahwa tesis ini masih jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun dari berbagai pihak. Akhir kata, semoga tesis ini dapat bermanfaat bagi diri penulis pribadi maupun pembaca. Aamiin.

Penulis

Nurul Amaliah

ABSTRAK

Nurul Amaliah. Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Organik dari Kombinasi Ekstrak Alga Coklat (*Padina sp*) dengan Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*), serta Bioaktivitasnya sebagai Antioksidan dan Antikanker (dibimbing oleh **Nunuk Hariani Soekamto** dan **Herlina Rasyid**).

Alga coklat (*Padina sp*) merupakan salah satu jenis alga yang mengandung senyawa aktif yang berpotensi sebagai antikanker dan antioksidan. Jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) merupakan salah satu tanaman yang dikenal memiliki banyak khasiat dan manfaat. Jeruk nipis mengandung senyawa aktif seperti asam sitrat, asam amino, minyak atsiri dan flavonoid. Kombinasi antara dua tumbuhan yang memiliki bioaktivitas yang serupa dapat menghasilkan aktivitas yang lebih tinggi. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengelucidasi struktur senyawa kimia yang diperoleh dari kombinasi ekstrak etil asetat alga coklat *Padina sp* dengan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*), serta menguji bioaktivitasnya sebagai antioksidan dan antikanker MCF-7. Metode yang digunakan yaitu maserasi bertingkat, evaporasi, fraksinasi (KKV, KKT dan KR), purifikasi, identifikasi dan karakterisasi senyawa dengan spektroskopi (FT-IR, ¹H-NMR dan ¹³C-NMR), pengujian toksisitas ekstrak dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT), pengujian antioksidan dengan metode DPPH, serta pengujian bioaktivitas antikanker payudara (MCF-7) dengan metode *Prestoblue*. Hasil pengujian BSLT terhadap *Artemia salina* Leach diperoleh bahwa kombinasi ekstrak etil asetat dari *Padina sp* dan *C. aurantifolia* memberikan efek sinergisme satu sama lain dibanding dengan ekstrak lain dengan nilai LC₅₀ sebesar 239,79 ppm dengan kategori sedang. Hasil uji aktivitas antioksidan kombinasi ekstrak etil asetat juga memberikan efek sinergisme dengan nilai IC₅₀ sebesar 128,60 µg/mL dengan kategori sedang. Selanjutnya, hasil isolasi diperoleh isolat murni, yakni isolat FN₁ sebanyak 26,70 mg dan merupakan senyawa asam heksadekanoat yang dikenal sebagai asam palmitat, dengan titik leleh 59,5-60°C. Hasil pengujian antioksidan diperoleh nilai IC₅₀ sebesar 886,76 µg/mL dan pengujian sitotoksik terhadap sel MCF-7 menunjukkan bahwa isolat E memiliki nilai IC₅₀ >1000 µg/mL dan tergolong sebagai aktivitas tidak toksik.

Kata kunci: Asam palmitat, BSLT, *Citrus aurantifolia*, DPPH, *Padina sp*, *Prestoblue*.

ABSTRACT

Nurul Amaliah. Isolation and characterization of Organic Compounds from Combined Extract Brown Algae (*Padina sp*) and Lime (*Citrus aurantifolia*), and Bioactivity Test as Antioxidant and Anticancer (supervised by **Nunuk Hariani Soekamto** and **Herlina Rasyid**).

Brown algae (*Padina sp*) is a type of algae contains active compounds that have potential as anticancer and antioxidants. Lime (*Citrus aurantifolia*) is a plant that is known to have many properties and benefits. Lime contains active compounds such as citric acid, amino acids, essential oils and flavonoids. The combination of two plants that have similar bioactivity can produce higher activity. Therefore, this study aims to isolate and elucidate the structure of the chemical compound obtained from the combination of ethyl acetate extract of brown algae *Padina sp* with lime (*Citrus aurantifolia*), as well as test its bioactivity as an antioxidant and anticancer MCF-7. The method used is stratified maceration evaporation, fractionation (KKV, KKT and KR), purification, identification and characterization of compounds by spectroscopy (FT-IR, ¹H-NMR and ¹³C-NMR) testing for extract toxicity using the *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) method, antioxidant testing using the DPPH method, and anticancer bioactivity testing (MCF-7) using the *Prestoblue* method. The results of the BSLT test on *Artemia salina* Leach found that the combination of ethyl acetate extract from *Padina sp* and *Citrus aurantifolia* gave a synergistic effect with each other compared to the other extracts with an LC₅₀ value of 239,79 ppm in the medium category. The results of the antioxidant activity test of the combination of ethyl acetate extract also gave a synergistic effect with an IC₅₀ value of 128,60 µg/mL in the moderate category. Furthermore, the results obtained pure isolate, namely isolate FN₁ as much as 26,70 mg and identified as hexadecanoic acid compound or as palmitic acid, with a melting point of 59,5-60°C. The antioxidant test results obtained an IC₅₀ value of 886,76 µg/mL and cytotoxic testing on MCF-7 cells showed that E isolate had an IC₅₀ value of >1000 µg/mL and classified as non-toxic activity

Keywords: Palmitic acid, BSLT, *Citrus aurantifolia*, DPPH, *Padina sp*, *Prestoblue*.

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMBUNG.....	i
HALAMAN PENGANTAR.....	ii
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
PERNYATAAN KEASLIAN TESIS DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA	iv
PRAKATA.....	iv
ABSTRAK.....	vi
ABSTRACT	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
DAFTAR SIMBOL/SINGKATAN	xiii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.4 Manfaat Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Tinjauan Umum Alga Coklat (<i>Padina sp</i>).....	6
2.2 Tinjauan Umum Jeruk nipis (<i>Citrus aurantifolia</i>)	11
2.3 Kombinasi Tumbuhan	14
2.4 Penyakit Kanker Payudara	15
2.5 Senyawa Antioksidan	18
2.6 Uji Bioaktivitas	21
2.6.1 Uji BSLT (<i>Brine Shrimp Lethality Test</i>).....	21
2.6.2 Uji Aktivitas Antioksidan	22
2.6.3 Uji antikanker terhadap sel MCF-7 dengan metode <i>Prestoblue</i>	23
2.8 Kerangka konseptual	25
2.9 Hipotesis.....	26
BAB III METODE PENELITIAN	28

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	28
3.2. Alat dan Bahan Penelitian	28
3.2.1. Alat	28
3.2.2. Bahan	28
3.3. Prosedur Penelitian.....	29
3.3.1 Preparasi Sampel	29
3.3.2 Ekstraksi.....	29
3.3.3 Fraksinasi	30
3.3.4 Uji Toksisitas Ekstrak Etil Asetat dengan Metode BSLT	30
3.3.4.1 Penetasan Telur <i>Artemia Salina</i>	30
3.3.4.2 Uji Toksisitas	30
3.3.5 Uji Aktivitas Antioksidan	31
3.3.6 Uji Antikanker Payudara (MCF-7)	32
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	33
4.1 Preparasi dan ekstraksi Sampel.....	33
4.2 Skrining Fitokimia Kombinasi ekstrak <i>Padina sp</i> dan <i>Citrus aurantifolia</i> (KPC)	34
4.3 Uji Toksisitas ekstrak dengan metode <i>Brine Shrimp lethality test</i> (BSLT)	35
4.4 Fraksinasi	36
4.5 Purifikasi.....	41
4.5.1 Rekristalisasi.....	41
4.5.2 Penentuan Titik Leleh	42
4.5.3 Skrining Fitokimia Isolat	42
4.6 Analisis FT-IR dan NMR Isolat	43
4.7 Uji Bioaktivitas Ekstrak dan Isolat	48
4.7.1 Uji Aktivitas antioksidan Ekstrak dan Isolat.....	48
4.7.2 Uji aktivitas antikanker Payudara (MCF-7) terhadap Isolat	49
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	53
5.1 Kesimpulan	53
5.2 Saran.....	53
DAFTAR PUSTAKA	54
LAMPIRAN	64

DAFTAR TABEL

Nomor	Halaman
1. Aktivitas ekstrak alga coklat genus <i>Padina</i>	8
2. Aktivitas alga coklat <i>Padina</i> sebagai antikanker MCF-7.....	17
3. Aktivitas <i>C. aurantifolia</i> sebagai antikanker MCF-7	18
4. Aktivitas antioksidan ekstrak alga coklat <i>Padina</i>	20
5. Aktivitas antioksidan ekstrak jeruk nipis <i>C. aurantifolia</i>	20
6. Tingkat toksisitas berdasarkan nilai LC ₅₀	22
7. Tingkat kekuatan antioksidan berdasarkan nilai IC ₅₀	23
8. Tingkat toksisitas berdasarkan nilai IC ₅₀	24
9. Bobot masing-masing ekstrak hasil maserasi	33
10. Hasil uji Fitokimia kombinasi ekstrak <i>Padina sp</i> dan <i>C. aurantifolia</i>	34
11. Nilai LC ₅₀ masing-masing ekstrak dan ekstrak kombinasi	35
12. Fraksi Gabungan hasil KKV.....	38
13. Data ¹³ C-NMR dan ¹ H-NMR isolat E dengan perbandingan referensi..	47

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Halaman
1. Alga Coklat (<i>Padina sp</i>)	6
2. Struktur Fukosantin	7
3. Senyawa hasil isolasi dari <i>Padina sanctae-crucis</i> Borgensen	10
4. Senyawa hasil isolasi dari <i>Padi tetrastromatica</i> (Hauck)	10
5. Jeruk Nipis (<i>Citrus aurantifolia</i>).....	11
6. Senyawa hasil isolasi dari <i>C. aurantifolia</i>	13
7. Kerangka Konseptual Penelitian.....	27
8. Kromatogram 4 ekstrak	36
9. Kromatogram fraksi hasil KKV	37
10. Kromatogram fraksi gabungan hasil KKV	38
11. Profil noda fraksi gabungan E.....	39
12. Kromatogram fraksi hasil KKT	39
13. Kromatogram fraksi E ₅	40
14. Kromatogram fraksi gabungan KR	40
15. Fraksi E _{5,8} ; Fraksi E _{5,9} dan Fraksi E _{5,10}	40
16. Kromatogram 3 fraksi	41
17. Isolat	41
18. Kromatogram hasil uji KLT sistem tiga eluen isolat	42
19. Spektrum FT-IR isolat	43
20. Spektrum ¹³ C-NMR Isolat	44
21. Perbesaran Spektrum ¹³ C-NMR Isolat	44
22. Spektrum ¹ H-NMR Isolat	45
23. Struktur asam heksadekanoat atau asam palmitat	46
24. Perbandingan nilai IC ₅₀ setiap sampel	48
25. Reaksi isolat E (Asam palmitat) dengan DPPH	49
26. <i>Well plate</i> hasil uji Isolat terhadap sel MCF-7	50
27. Morfologi sel MCF-7 hasil uji isolat E	51
28. Kurva hasil uji isolat E terhadap sel MCF-7	51

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Halaman
1. Bagan kerja isolasi metabolit sekunder dari kombinasi ekstrak etil asetat <i>Padina sp</i> dan <i>Citrus aurantifolia</i>	64
2. Uji Fitokima	68
3. Pengujian toksisitas dengan metode BSLT	70
4. Pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH	71
5. Pengujian sitotoksik terhadap sel MCF-7	73
6. Perhitungan nilai LC ₅₀ dengan metode BSLT	74
7. Perhitungan aktivitas antioksidan dengan metode DPPH	86
8. Spektrum FT-IR Isolat E	90
9. Spektrum ¹ H-NMR dan ¹³ C-NMR Isolat E	91
10. Hasil Pengujian antikanker terhadap sel MCF-7	92
11. Dokumentasi Penelitian	94

DAFTAR ISTILAH DAN SINGKATAN

Istilah/Singkatan	Arti/Keterangan
BHA	Butyated Hydroxy Anisole
BHT	Butylated Hydroxytoluene
BSLT	<i>Brine Shrimp Lethality Test</i>
DMSO	<i>Dimetil sulfoksida</i>
DPPH	2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
ELISA	<i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i>
FBS	Fetal Bovine Serum
IC ₅₀	<i>Inhibition Concentration 50%</i>
KKT	Kromatografi kolom tekan
KKV	Kromatografi kolom vakum
KLT	Kromatografi lapis tipis
LC ₅₀	<i>Lethal Concentration 50%</i>
MCF-7	<i>Human breast cancer cell line</i>
MIC	<i>Minimum inhibitory concentration</i>
MTT	3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromide
P53	<i>suppressor gene product</i>
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i>
RPMI	<i>Roswell Park Memorial Institute</i>
SDS	Sodium dodesil sulfat
WHO	<i>World Health Organization</i>

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan salah satu negara dengan keanekaragaman hayati laut tertinggi di dunia. Salah satu sumber daya laut yang sangat potensial untuk dikembangkan adalah rumput laut. Rumput laut atau yang biasa dikenal dengan alga telah lama dimanfaatkan oleh masyarakat dalam dunia industri dan kesehatan untuk berbagai keperluan. Alga dapat diklasifikasikan ke dalam beberapa kelompok berdasarkan kandungan pigmennya yakni, alga coklat (*Phaeophyta*), alga merah (*Rhodophyta*), dan alga hijau (*Chlorophyta*) dan rumput laut pirang (*Chrysophyta*) (Ferawaty dkk, 2012).

Salah satu kelompok alga yang melimpah di Indonesia adalah alga coklat (*Phaeophyta*). Alga coklat merupakan rumput laut yang menarik untuk diteliti karena mengandung berbagai metabolit sekunder seperti karotenoid, laminarin, alginat, fukoidan, manitol dan florotanin yang berfungsi sebagai bahan antikanker, antioksidan, dan agen kemopreventif berbagai penyakit degeneratif (Diachanty, 2017). Komponen bioaktif utama pada rumput laut coklat adalah turunan polifenol dengan struktur kimia yang unik yaitu florotanin (Balboa, 2013).

Alga coklat genus *Padina sp* diketahui berpotensi sebagai antioksidan alami dengan kandungan senyawa aktif seperti flavonoid, alkaloid, tanin, triterpenoid, saponin, fenolat dan pigmen seperti klorofil a, klorofil c, karotenoid, fukosantin, fukoxantol dan β -karoten (Siddhanta dkk., 2010; Sari, 2016). Ekstrak metanol talus *Padina* juga dilaporkan mengandung senyawa fukosterol dan dua senyawa steroid-triterpenoid (Suganda dkk., 2007). Kandungan fukosantin yang terdapat dalam *Padina sp* menjadi faktor utama yang menentukan warna coklat pada rumput laut tersebut. Fukosantin memiliki potensi yang besar untuk dikembangkan baik sebagai bahan obat antikanker maupun sebagai pangan fungsional karena memiliki khasiat sebagai antikanker, antioksidan, antiobesitas dan antidiabetes (Peng dkk., 2012).

Selain itu, keanekaragaman wilayah Indonesia yang berpotensi untuk dikembangkan tidak hanya pada wilayah perairan, namun wilayah darat juga sangat berpotensi untuk dikembangkan, salah satunya yaitu pada tanaman jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) yang merupakan tanaman darat yang menjadi salah satu tanaman komersial yang paling banyak ditanam di dunia. Jeruk nipis (*C. aurantifolia*) merupakan spesies dari genus *citrus* yang banyak dikonsumsi karena kandungan antioksidannya yang tinggi, bersifat bioaktif diantaranya sebagai antibakteri, antivirus, antikanker, antioksidan, antijamur, analgesik, dan antiinflamasi karena tanaman jeruk kaya akan asam askorbat dan senyawa bioaktif lainnya seperti kumarin, karotenoid, limonoid, dan flavonoid (khususnya polimetoksiflavon dan flavanon) (Pallavi dkk., 2017).

Beberapa penelitian yang telah dikembangkan agar dapat meningkatkan bioaktivitas dari tumbuhan salah satunya dengan melakukan pencampuran atau kombinasi tumbuhan. Penggunaan kombinasi ekstrak bertujuan untuk meningkatkan efek terapeutik yang lebih efektif daripada penggunaan satu komponen tumbuhan saja (Halimatussa'diah., 2014). Beberapa tumbuhan memiliki efek sinergis terhadap tumbuhan lain, dan beberapa memiliki efek pelengkap bagi tumbuhan lain (Badejo dkk., 2014; Wasito dkk., 2011). Interaksi antara senyawa metabolit sekunder dari dua tanaman yang berbeda akan saling memengaruhi aktivitas dari masing-masing tumbuhan tersebut.. Kehadiran kombinasi tumbuhan juga diklaim dapat mengurangi efek samping yang tidak diinginkan. Namun, secara teoritis, kombinasi zat kimia aktif dalam beberapa jenis tumbuhan juga bisa berinteraksi untuk menjadi lebih beracun daripada menggunakan satu jenis tumbuhan sehingga menghasilkan efek antagonis (Halimatussa'diah dkk., 2014).

Kombinasi ekstrak tumbuhan menunjukkan adanya peningkatan bioaktivitas jika dibandingkan dengan hasil pengujian tanpa kombinasi dengan tumbuhan lain. Penelitian yang dilakukan oleh septiawan (2020) yang menggabungkan ekstrak alga hijau (*Ulva lactuca L.*) dan lidah buaya (*Aloe vera L.*) serta melakukan uji aktivitas antioksidan yang menunjukkan bahwa nilai IC_{50} dari kombinasi ekstrak lebih rendah dibandingkan kedua ekstrak tunggal. Hal ini membuktikan bahwa dengan mengombinasikan ekstrak tumbuhan dapat meningkatkan bioaktivitasnya dibandingkan tanpa adanya kombinasi.

Kombinasi dua jenis tumbuhan yang memiliki bioaktivitas yang serupa dapat menghasilkan aktivitas yang lebih tinggi, yang dikenal dengan efek sinergisme. Dari beberapa penelitian sebelumnya dilaporkan bahwa ekstrak metanol dari genus *Padina* bersifat sitotoksik terhadap sel MCF-7 (Nursid M, 2016), selain itu ekstrak *n*-heksana, etil asetat dan metanol dari *Padina sp* memiliki aktivitas antioksidan kategori sedang (Akbar, 2020). Jeruk nipis (*C.aurantifolia*) juga dilaporkan memiliki aktivitas antipoleferatif secara *in vitro* terhadap sel MCF-7 (Elansary H, 2018) dan ekstrak etanol, *n*-heksana, metanol, dan juga air perasan dari jeruk nipis memiliki aktivitas antioksidan kategori sangat kuat (Permata dkk. 2018). Berdasarkan hal tersebut dapat dilihat bahwa telah banyak penelitian yang membuktikan bahwa ekstrak tunggal dari *Padina sp* maupun *C.aurantifolia* mempunyai bioaktivitas sebagai antioksidan dan antikanker. Oleh karena itu, dilakukan pengembangan metode penelitian dengan mengombinasikan kedua tanaman agar dapat meningkatkan aktivitasnya sebagai antioksidan dan antikanker khususnya terhadap sel kanker MCF-7.

Dalam proses isolasi senyawa metabolit sekunder, proses ekstraksi sampel merupakan hal yang sangat berpengaruh dalam penentuan senyawa yang dapat dihasilkan. Proses ekstraksi biasanya menggunakan pelarut yang diharapkan dapat menarik senyawa-senyawa yang terdapat dalam suatu tumbuhan. Salah satu pelarut yang sering digunakan yaitu etil asetat yang merupakan pelarut yang bersifat semi polar. Pelarut etil asetat memiliki toksisitas rendah, dan mudah menguap. Penggunaan pelarut etil asetat dapat melarutkan senyawa-senyawa seperti alkaloid, flavonoid, monoglikosida, dan glikosida (Syahri, 2016). Beberapa penelitian yang telah dilakukan sebelumnya, ekstrak etil asetat dari beberapa sampel mengandung senyawa yang sangat berpotensi sebagai kandidat senyawa antikanker. Penelitian yang telah dilakukan oleh Furqan (2014) melaporkan bahwa kombinasi ekstrak etil asetat daun Pugontano dengan doksorubisin memberikan efek sinergis kuat terhadap sel MCF-7 dan dapat menghambat siklus sel MCF-7 pada fase G₂-M. Penelitian lain yang dilakukan oleh Fitriyanti JM (2020) yang menggunakan 3 ekstrak dari alga coklat (*Turbinaria decurrens borry*) yaitu ekstrak *n*-heksan, etil asetat dan methanol yang diujikan sebagai antikanker dengan metode MTT terhadap sel kanker payudara, dan dilaporkan bahwa ekstrak etil asetat memiliki penghambatan paling tinggi, yaitu

dengan konsentrasi 10 µg/ml dapat menghambat 50% pertumbuhan sel kanker payudara.

Pengobatan kanker payudara saat ini sangat terbatas yang umum dilakukan adalah kemoterapi. Oleh karena itu, dibutuhkan suatu pengembangan obat yang selektif terhadap sel kanker payudara namun tidak menimbulkan kerusakan pada sel normal. Salah satu upaya yang dapat dilakukan yaitu mengembangkan agen antikanker dari tumbuhan obat tradisional yang merupakan bagian dari keanekaragaman hayati Indonesia (Sarasmita, 2015).

Potensi kandungan metabolit sekunder dari *Padina sp*, *Citrus aurantifolia*, dan aktivitas dari kombinasi ekstrak tumbuhan berpotensi untuk dikembangkan. Penelitian awal yang dapat dilakukan untuk mengetahui bioaktivitas suatu tanaman sebagai bahan antikanker yaitu dengan uji toksisitas dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Uji BSLT dapat digunakan sebagai dasar untuk uji sitotoksitas terhadap *cell line*, aktivitas antitumor dan antikanker (Janakiraman, 2016). Semakin tinggi tingkat toksisitas metabolit sekunder tanaman (nilai LC₅₀ semakin rendah), maka semakin potensial tanaman tersebut untuk digunakan dalam pengobatan antikanker (Meyer, 1982).

Berdasarkan latar belakang tersebut maka penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam kombinasi ekstrak etil asetat *Padina sp* dan *Citrus aurantifolia* serta untuk menguji bioaktivitas antioksidan dan antikanker dari kombinasi ekstrak tersebut.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian ini yaitu:

1. Golongan metabolit sekunder apa yang terdapat dalam kombinasi ekstrak alga coklat (*Padina sp*) dan jeruk nipis (*C. aurantifolia*) ?
2. Bagaimana aktivitas antioksidan serta toksisitas pada kombinasi ekstrak dan isolat dari kombinasi ekstrak alga coklat (*Padina sp*) dan jeruk nipis (*C. aurantifolia*) terhadap larva *Artemia salina* L.?
3. Bagaimana aktivitas antikanker dari kombinasi ekstrak dan isolat ekstrak kombinasi alga coklat (*Padina sp*) dan jeruk nipis (*C.aurantifolia*) ?
4. Bagaimana struktur isolat yang berhasil diisolasi dari kombinasi ekstrak alga coklat (*Padina sp*) dan jeruk nipis (*C. aurantifolia*) ?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk:

1. Menganalisis golongan senyawa metabolit sekunder pada kombinasi ekstrak alga coklat (*Padina sp*) dan jeruk nipis (*C. aurantifolia*).
2. Menentukan aktivitas antioksidan serta toksisitas pada kombinasi ekstrak dan isolat ekstrak kombinasi alga coklat (*Padina sp*) dan jeruk nipis (*C. aurantifolia*).
3. Menentukan aktivitas antikanker kombinasi ekstrak dan isolat ekstrak kombinasi alga coklat (*Padina sp*) dan jeruk nipis (*C. aurantifolia*).
4. Menentukan struktur isolat yang berhasil diisolasi pada kombinasi ekstrak alga coklat (*Padina sp*) dan jeruk nipis (*C. aurantifolia*).

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah:

1. Menjadi sumber informasi tentang golongan senyawa metabolit sekunder yang diperoleh dari kombinasi ekstrak alga coklat (*Padina sp*) dan jeruk nipis (*C. aurantifolia*).
2. Memberikan data terkait potensi aktivitas antioksidan dan toksisitas dari kombinasi ekstrak alga coklat (*Padina sp*) dan jeruk nipis (*C. aurantifolia*).
3. Menghasilkan data terkait aktivitas antikanker pada kombinasi ekstrak alga coklat (*Padina sp*) dan jeruk nipis (*C. aurantifolia*).
4. Mengetahui struktur isolat yang berhasil diisolasi dari kombinasi ekstrak alga coklat (*Padina sp*) dan jeruk nipis (*C. aurantifolia*).

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Umum Alga Coklat (*Padina sp*)

Padina sp merupakan alga yang berasal dari kelas *Phaeophyta* (alga coklat) yang terdapat secara melimpah selama musim panas. Menurut Romimohtarto dan Juwana (2007), *Padina sp* memiliki habitatnya di sekitar genangan air di atas batu karang pantai. Morfologinya berbentuk seperti kipas dengan diameter 3-4 cm yang tumbuh dalam lingkaran konsentris. Warnanya coklat kekuning-kuningan atau memutih karena terdapat perkapuran. Ujung talus membulat berwarna coklat dan mengalami penebalan untuk melindungi talus agar tidak mudah robek. Pada bagian talus, terdapat garis-garis konsentris yang berwarna putih yang dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. *Padina sp* (www.algaebase.net)

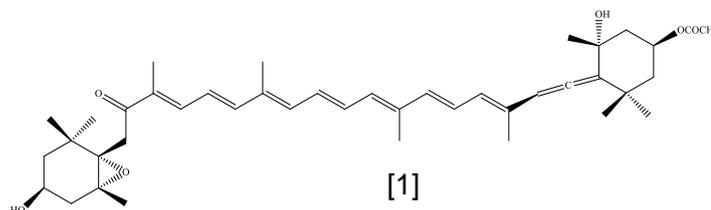
Adapun klasifikasi *Padina sp* adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Phaeophyta
Kelas	: Phaeophyceae
Ordo	: Dictyotales
Famili	: Dictyotaceae
Genus	: <i>Padina</i>
Spesies	: <i>Padina sp</i>

Alga coklat (*Padina sp*) merupakan makroalga yang berfungsi sebagai sumber potensial senyawa bioaktif yang bermanfaat bagi pengembangan industri farmasi sebagai antioksidan, antimikroba, antikoagulan, antikanker, antinflamasi, dan masih banyak lagi (Lin dkk., 2016).

Handayani dan Ade (2018) melaporkan bahwa *Padina australis* memiliki potensi sebagai antikanker dikaitkan dengan adanya fukosantin. Uji sitotoksik dengan metode *methyl thiazolyl tetrazolium* (MTT) terhadap isolat fukosantin dengan kemurnian >98% mampu menghambat pertumbuhan sel H1299 pada seri konsentrasi 2,84; 5,69; 11,37 dan 22,75 mM setelah pemberian selama 48 jam. Nilai IC₅₀ fukosantin yang diperoleh yaitu 2,45 mM. *Padina australis* juga memiliki potensi sebagai antibakteri yang dikaitkan dengan kandungan senyawa flavonoid yang diduga dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan mengganggu fungsi membran sitoplasma.

Fukosantin merupakan salah satu pigmen utama golongan karotenoid yang terdapat di lingkungan laut. Pigmen ini banyak dihasilkan oleh rumput laut coklat (Peng dkk., 2011) sekaligus menjadi faktor utama yang menentukan warna coklat pada rumput laut tersebut. Ikatan *allenic* dengan gugus fungsi epoksi, hidroksi, dan kabil menjadi ciri utama dari fukosantin (D'Orazio dkk., 2012). Fukosantin memiliki potensi yang besar untuk dikembangkan baik sebagai bahan obat antikanker maupun sebagai pangan fungsional karena memiliki khasiat sebagai antikanker, antioksidan, antiobesitas dan antidiabetes (Lin dkk., 2016). Fukosantin telah berhasil diisolasi dari *Padina sp*. dengan berat molekul fukosantin 658,92 g/mol oleh Nursid dkk pada tahun 2016 dengan struktur seperti pada Gambar 2.



Gambar 2. Struktur Fukosantin (Peng dkk., 2012)

Beberapa senyawa kimia yang berhasil diisolasi dari ekstrak talus *padina* diantaranya pada ekstrak *n*-heksana, ditemukan senyawa asam lemak dan senyawa triterpenoid, sedangkan pada ekstrak etil asetat ditemukan senyawa asam lemak dengan ikatan rangkap dua terkonjugasi dan senyawa steroid. Pada

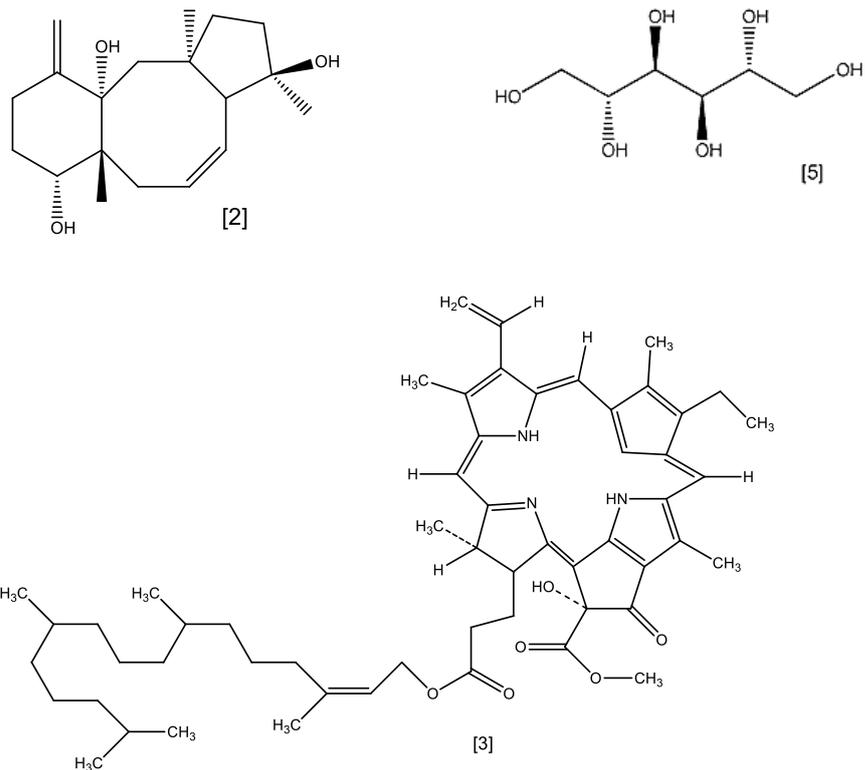
ekstrak metanol talus *padina* diperoleh fukosterol dan dua senyawa steroid-triterpenoid, sedangkan pada ekstrak air telah diisolasi natrium alginat (Suganda dkk., 2007).

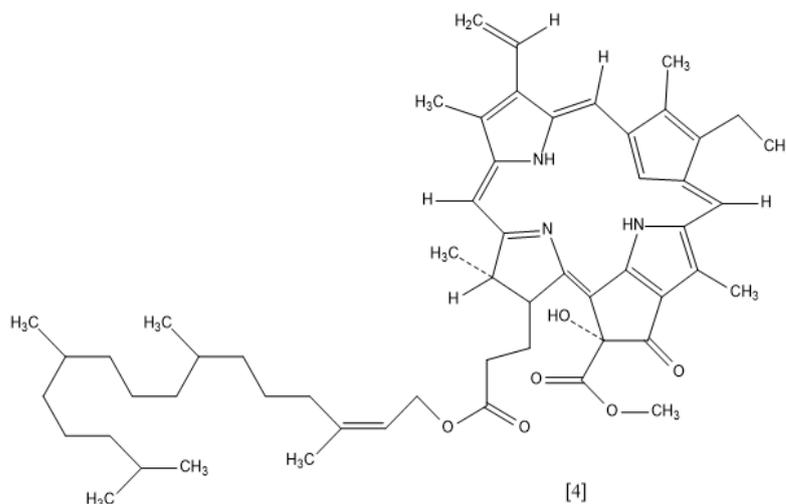
Padina sp merupakan salah satu spesies alga coklat yang dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan (Siddhanta dkk., 2010). Hal tersebut juga dibuktikan oleh Akbar (2020) yang melaporkan bahwa alga coklat *Padina sp.* memiliki aktivitas antioksidan kategori sedang dengan nilai IC₅₀ untuk ekstrak *n*-heksana, etil asetat, dan metanol berturut-turut 117,36; 115,71; dan 116,83 µg/mL. Potensi aktivitas *Padina sp* sebagai antioksidan dikaitkan dengan kandungan senyawa yang mampu menangkap radikal bebas dengan prinsip dari antioksidan yakni mendonorkan hidrogennya kepada senyawa radikal sehingga nantinya terbentuk senyawa yang tidak radikal (Handayani dan Zuhrotun, 2017). Bioaktivitas ekstrak alga coklat genus *Padina* dapat dilihat pada Tabel.1 berikut.

Tabel.1 Aktivitas ekstrak alga coklat genus *Padina*

Ekstrak	Aktivitas	Sumber Pustaka
Etanol <i>P. australis</i>	menghambat bakteri <i>Salmoella paratyphi</i> , <i>Pantoea stewartii</i> dan <i>Yersinia enterocolitica</i> dengan diameter zona hambat berturut-turut yaitu 6,8 mm; 13,5 mm; 23,8 mm	Kurnia dkk. 2015
Metanol <i>P. australis</i>	memiliki nilai <i>minimum inhibitory concentration</i> (MIC) sebesar 0,130±0,40 mg/ml terhadap <i>Bacillus cereus</i> dan mampu menghambat pertumbuhan <i>Salmonella typhi</i> , dengan zona hambat 6,23 mm)	
Diklorometana <i>P. australis</i>	memiliki nilai <i>minimum inhibitory concentration</i> (MIC) sebesar 0,208±0,07 mg/ml	
<i>n</i> -Heksana <i>P. australis</i>	nilai <i>minimum inhibitory concentration</i> (MIC) sebesar 0,365±0,19mg/ml	Wei dkk. 2011., Kartini, 2016
Etil asetat <i>Padina sp</i>	memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC ₅₀ 137,02 ppm dan tergolong antioksidan kategori sedang.	
<i>n</i> -Heksana	memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC ₅₀ 1234,41 ppm.	Hidayati JR, 2017
methanol	memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC ₅₀ 1554,45 ppm.	

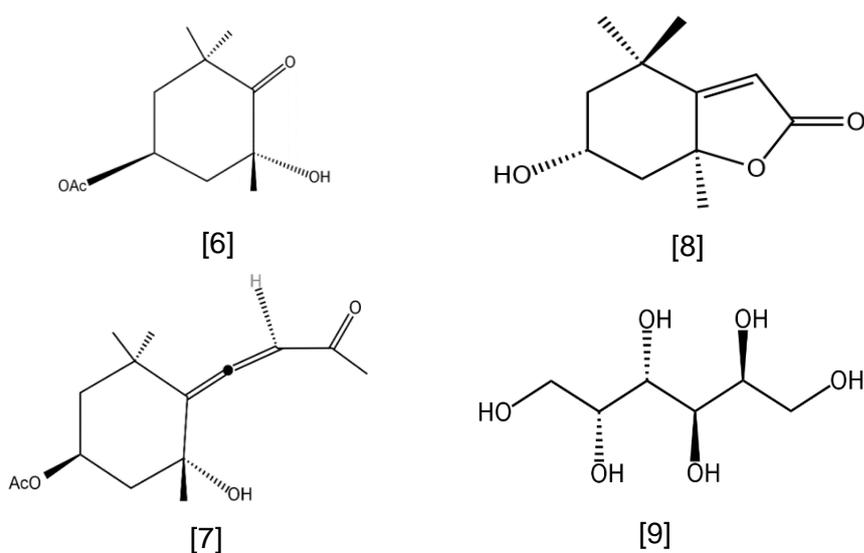
Nogueira R (2017) melaporkan bahwa ada 4 senyawa yang berhasil diisolasi pada ekstrak metanol *Padina sanctae-crucis* yaitu ; Kristal berwarna putih kekuningan dengan titik leleh berada pada kisaran 220-222°C dan dilaporkan bahwa senyawa tersebut adalah dolastane diterpen (4S, 9R, 14S)-4,9,14-trihidroksidolasta-1(15),7-diene. Senyawa ini merupakan senyawa yang pertama kali didapatkan pada genus *Padina*. Selanjutnya senyawa diidentifikasi sebagai senyawa Phaeophytin [3] kemudian senyawa berikutnya diidentifikasi sebagai senyawa 13²-hidroksi-(13²-S)-phaeophytin a [4]. Kedua senyawa ini merupakan senyawa baru dari family dictyotaceae. Senyawa terakhir diidentifikasi sebagai senyawa mannitol [5] dan merupakan senyawa yang pertama kali dilaporkan pada spesies ini. Adapun struktur-struktur senyawa tersebut dapat dilihat pada Gambar 3.





Gambar 3. Senyawa hasil isolasi dari *Padina sanctae-crucis* Borgesen (Nogueira R 2017)

Penelitian lain yang dilakukan oleh Parameswaran P.S (1996) melaporkan bahwa ada tiga senyawa terpenoid yang telah berhasil diisolasi dari fraksi CHCl_3 *Padina tetrastromatica* (Hauck) yaitu (2R, 4S)-4-asetoksi-2-hidroksi-2,6,6-trimetilsikloheksanon [6], (3'R)-4'-[(2R,4S)-2-hidroksi-4-asetoksi-2,6,6-trimetilsikloheksilidin]-but-3'-en-2'-one atau apo-9'-fukosantonin [7] dan loliolide [8]. Sedangkan gula tereduksi, yaitu galaktitol [9] diperoleh dari *n*-BuOH dan fraksi air dari MeOH alga coklat *Padina tetrastromatica* (Hauck). Struktur dari senyawa yang telah disebutkan dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Senyawa hasil isolasi dari *Padina tetrastromatica* (Hauck) (Parameswaran P.S. 1996)

2.2 Tinjauan umum jeruk nipis (*C. aurantifolia*)

Jeruk nipis (*C. aurantifolia*) adalah salah satu tanaman yang banyak digunakan oleh masyarakat sebagai bumbu masakan dan obat-obatan (Razak,2013). Dalam bidang medis, jeruk nipis dimanfaatkan sebagai penambah nafsu makan, diare, antipireutik, antiinflamasi, antibakteri dan diet. *Citrus aurantifolia* adalah tanaman yang berasal dari Asia dan tumbuh subur pada daerah yang beriklim tropis. *C. aurantifolia* merupakan salah satu tanaman yang berasal dari Famili *Rutaceae* dengan genus *Citrus*. Jeruk nipis memiliki tinggi sekitar 150-350 cm dan buah berkulit tipis serta bunga berwarna putih. Tanaman ini memiliki kandungan garam 10% dan dapat tumbuh subur pada tanah yang kemiringannya sekitar 30°(Prastiwi dan Ferdiansyah 2013). Bentuk buah jeruk nipis (*C. aurantifolia*) dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. *C.*

aurantifolia

(bibitbunga.com)

Klasifikasi *Citrus aurantifolia* menurut Ramadhianto (2017) yaitu sebagai berikut :

Kingdom : Plantae
 Divisio : Spermatophyta
 Kelas : Dicotyledonae
 Ordo : Rutales
 Famili : Rutaceae
 Genus : *Citrus*
 Spesies : *Citrus aurantiifolia*

Jeruk nipis memiliki akar tunggang dimana akar lembaga tumbuh terus menjadi akar pokok yang bercabang-cabang menjadi akar-akar yang kecil. Akarnya memiliki cabang dan serabut akar. Ujung akar tanaman jeruk terdiri dari sel-sel muda yang senantiasa membelah dan merupakan titik tumbuh akar jeruk

(Liana 2017). Jeruk nipis memiliki batang yang tergolong dalam batang berkayu (*lignosus*), yaitu batang yang biasanya keras dan kuat, karena sebagian besar tergolong kayu. Berbentuk bulat (teres), berduri (spina) pendek, kaku dan juga tajam. Daunnya berwarna hijau dan jika sudah tua warna kulitnya menjadi kuning. Helaian daun berbentuk jorong, pangkal bulat, ujung tumpul, tepi beringgit, permukaan atas berwarna hijau tua mengkilap, permukaan daun bagian bawah berwarna hijau muda, daging daun seperti kertas, Panjang 2,5 – 9 cm, lebar 2,5 cm (Boekoesoe dan Jusuf 2015). Jeruk nipis juga memiliki bunga yang muncul di ketiak atau pucuk ranting yang masih muda, berwarna agak kemerahan hingga keunguan. Buah jeruk nipis berbentuk bola berwarna kuning setelah tua atau masak dan bewarna hijau ketika masih muda dengan diameter 3,5-5 cm. Kulit buah pada jeruk nipis mengandung semacam minyak atsiri yang pahit rasanya (Liana 2017).

Jeruk nipis (*C. aurantifolia*) merupakan tanaman yang kaya akan manfaat, diantaranya daun *C. aurantifolia* yang secara tradisional digunakan untuk mengobati penyakit kulit dan sebagai antiinflamasi. Kulitnya mengandung berbagai metabolit sekunder yang berperan sebagai antioksidan, antiinflamasi, antikarsinogenik, antidepresan, dan antijamur. Buah *C. aurantifolia* mengandung sejumlah besar asam askorbat, asam fenolat, flavonoid dan minyak atsiri, yang dapat digunakan sebagai antioksidan, mengatur aktivitas enzim, menghambat proliferasi sel, antibiotik, anti-alergi, antidiare, antibakteri, antiviral, antimikroba, antimaag, antijamur, analgesik, anti-inflamasi, dan antivirus (Loizzo dkk., 2012; Pallavi dkk., 2012; Tallei dkk., 2020).

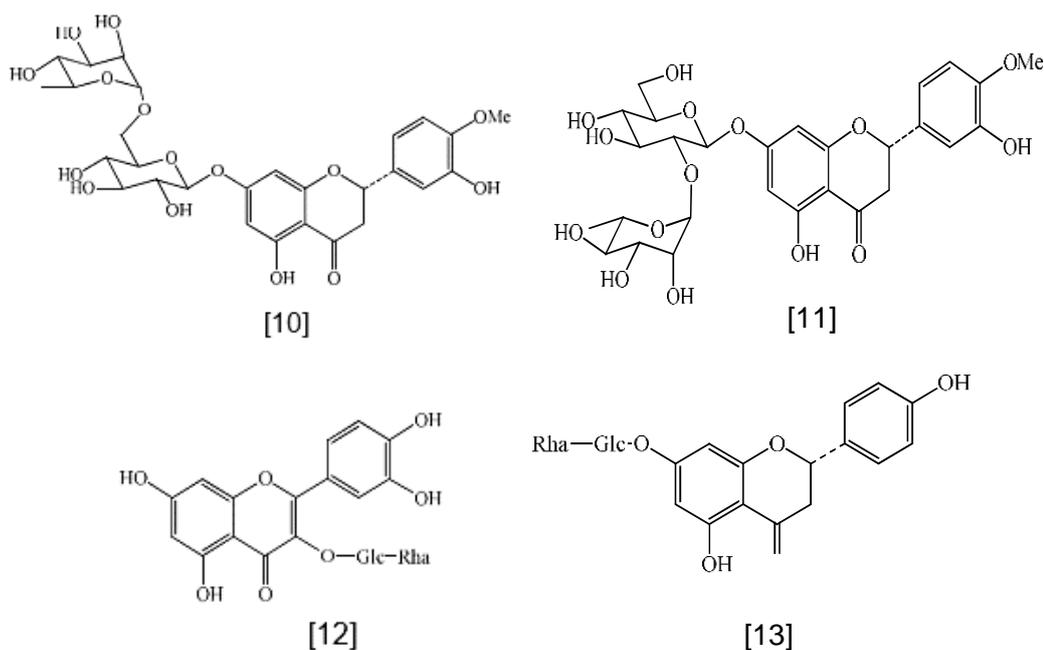
Tanaman *C. aurantifolia* mengandung zat fitokimia aktif sebagai berikut:

- (1) flavonoid termasuk apigenin, hesperetin, kaempferol, nobiletin, quercetin, dan rutin (Berhow MA dkk., 1994; Kawaii dkk., 1999; Caristi C dkk., 2003; Aranganathan S dkk., 2008; Lee YC dkk., 2011; Loizzo MR dkk., 2012),
- (2) flavon (Piccinelli AL dkk., 2008),
- (3) flavanon (Peterson J dkk, 2006) dan naringenin (Arul D 2013),
- (4) triterpenoid (Jayaprakasha GK., 2008) dan
- (5) limonoid (Poulose SM., 2005).

Selain itu, Lota dkk (2002) melaporkan setidaknya 62 senyawa volatil dalam minyak kulit buah dan 59 dalam minyak daun dari beberapa spesies jeruk nipis. Senyawa bioaktif dari jeruk dilaporkan bahwa dalam minyak kulit buah, limonen

merupakan komponen volatil utama, diikuti oleh terpinen, pinen, dan sabinen. Untuk minyak daun, limonen, pinen, dan sabinen adalah komponen utama, diikuti oleh sitronelal, geranial, linalool, dan neral.

Menurut Herlina dkk., (2020) bagian daun dan kulit buah *C. aurantifolia* mengandung metabolit sekunder dengan komponen utama minyak atsiri dan golongan flavonoid. Limonen merupakan komponen utama minyak atsiri *C. aurantifolia* dan golongan flavonoid utama seperti hesperidin [10], neohesperidin [11], rutin [12], nobelitin, narigin [13], naringenin, dan tangeritin merupakan metabolit sekunder yang terdapat di dalam *C. aurantifolia* (Dewick, 2009). Struktur senyawa yang berhasil diisolasi dari *C. aurantifolia* dapat dilihat pada Gambar 6 berikut.



Gambar 6. Senyawa hasil isolasi dari *C. aurantifolia* (Dewick, 2009)

C. aurantifolia telah terbukti dapat menghambat kanker usus besar, kanker payudara, neuroblastoma, kanker pankreas dan sel kanker prostat. D-limonene, D-dihydrocarvone, limonioda dan flavonoid yang paling utama fitokonstituen dalam *C. aurantifolia* bertanggung jawab atas aktivitas antikanker. Minyak esensial dari *C. aurantifolia* memiliki 78% penghambatan sel kanker usus besar manusia, fragmentasi DNA dan induksi apoptosis seperti yang diungkapkan dari sebuah

penelitian dan itu menunjukkan potensi penggunaan tanaman untuk pencegahan kanker terutama kanker usus besar (Rhamadanti, 2021)

Patil dkk (2009) melaporkan bahwa *C. aurantifolia*, terdiri dari setidaknya 22 senyawa volatil, dan senyawa utamanya adalah limonene (30%) dan dihydrocarvone (31%). Sekitar 100µg/ml dari *C. aurantifolia* ekstrak dapat menghambat pertumbuhan sel kanker usus besar SW-480 di 78% setelah 48 jam paparan.

2.3 Kombinasi Tumbuhan

Penggunaan kombinasi herbal (poliherbal) telah digunakan dalam praktek obat-obatan sejak ribuan tahun yang lalu untuk meningkatkan efek terapeutik. Beberapa tumbuhan memiliki efek sinergis terhadap tumbuhan lain, dan beberapa memiliki efek pelengkap bagi tumbuhan lain (Badejo dkk., 2014; Wasito dkk., 2011).

Interaksi antara metabolit sekunder pada dua tumbuhan yang berbeda akan saling memengaruhi aktivitas dari masing-masing tumbuhan tersebut. Kombinasi dari dua jenis tumbuhan yang memiliki bioaktivitas yang serupa dapat menghasilkan aktivitas yang lebih tinggi, yang dikenal dengan efek sinergisme, yang saling melengkapi dan bahkan menambah daya khasiatnya (Lingga, 2012). Kehadiran kombinasi tumbuhan juga diklaim dapat mengurangi efek samping yang tidak diinginkan, seperti mengurangi kejadian keracunan dibandingkan dengan hanya menggunakan satu tumbuhan. Namun, secara teoritis, kombinasi zat kimia aktif dalam beberapa jenis tumbuhan juga bisa berinteraksi untuk menjadi lebih beracun daripada menggunakan satu jenis tumbuhan sehingga menghasilkan efek antagonis (Halimatussa'diah dkk., 2014). Beberapa variasi kombinasi memberikan efek sinergis dan terdapat pula variasi kombinasi yang menghasilkan aktivitas antagonis menengah karena menurunkan aktivitas antioksidan dari salah satu atau kedua ekstrak karena adanya interaksi antara senyawa-senyawa kimia yang terkandung dalam masing-masing ekstrak.

Beberapa penelitian lain juga mengombinasikan simplisia atau serbuk tumbuhan sebelum ekstraksi. Salah satunya adalah penelitian Afifah (2015) yang menggabungkan 3 simplisia tumbuhan (yaitu jeringau, temu mangga dan bawang putih) dengan 3 varian komposisi yang diekstraksi menggunakan etanol serta diuji

aktivitas antioksidannya. Nilai IC_{50} aktivitas antioksidan kombinasi simplisia yang diperoleh yakni 61,75 ppm; 42,76 ppm; dan 47,94 ppm. Hasil nilai IC_{50} kombinasi simplisia tersebut lebih rendah dibandingkan nilai IC_{50} ketiga tumbuhan tersebut tanpa kombinasi yakni jeringau, temu mangga, dan bawang putih berturut-turut 349,24 ppm (Wati, 2019); 99,33 ppm (Mutmainnah, 2015), dan 10,61 mg/mL (Prasanto dkk., 2017) yang menandakan bahwa metabolit sekunder dari kombinasi ketiga tumbuhan tersebut memiliki aktivitas yang sinergis yang membuat bioaktivitasnya semakin baik (Afifah, 2015)

Kombinasi ekstrak juga dapat dilakukan dengan membandingkan aktivitas beberapa varian kombinasi ekstrak, seperti pada penelitian yang dilakukan oleh Sambodo (2019) pada ekstrak alga merah (*Eucheuma cottoni*) dan ekstrak kulit buah lemon (*Citrus limon* L.) dengan perbandingan yaitu 1:1, 2:1, dan 1:2. Kombinasi 1:2 memiliki aktivitas antioksidan paling besar dengan IC_{50} yaitu 345,51 $\mu\text{g/mL}$, disusul kombinasi ekstrak 1:1 sebesar 436,60 $\mu\text{g/mL}$, ekstrak tunggal *Citrus limon* L. sebesar 472,33 $\mu\text{g/mL}$, kombinasi ekstrak 2:1 sebesar 500,09 $\mu\text{g/mL}$, sedangkan yang memiliki aktivitas antioksidan paling rendah adalah ekstrak tunggal *Eucheuma cottoni* sebesar 942,43 $\mu\text{g/mL}$. Penelitian tersebut memberikan data bahwa beberapavariasi kombinasi memberikan efek sinergis yang meningkatkan aktivitas antioksidan kombinasi sampel dan terdapat pula variasi kombinasi yang menghasilkan aktivitas antagonis menengah karena menurunkan aktivitas antioksidan dari salah satu atau kedua ekstrak karena adanya interaksi antara senyawa-senyawa kimia yang terkandung dalam masing-masing ekstrak.

2.4 Penyakit Kanker Payudara

Kanker payudara adalah kanker yang paling sering terjadi pada wanita, berdampak pada 2,1 juta wanita setiap tahun. Diperkirakan 627.000 wanita meninggal karena kanker payudara yaitu sekitar 15% dari semua kematian akibat kanker di kalangan wanita. Kejadian ini cenderung melibatkan jalur yang berhubungan pada hormon. Hormon eksogen memiliki risiko lebih tinggi untuk kanker payudara salah satunya penggunaan kontrasepsi oral (Sari. N & Afni Amran, 2019).

Kanker payudara merupakan pertumbuhan abnormal sel jaringan payudara, ketika sel-sel di dalam kelenjar payudara mulai tumbuh dan

berkembang tidak terkontrol (Haslam & Prasad, 2019). Pertumbuhan secara cepat dari kanker ini disebut tumor ganas. Sel ini juga dapat menginvasi dan menghancurkan jaringan sehat, termasuk organ-organ. Terkadang kanker dimulai dari satu bagian tubuh lalu akan menyebar ke bagian lain, proses ini disebut metastasis (Alam, et al, 2013). Metastasis merupakan hasil akhir dari proses perubahan sel kanker dimana sel kanker tersebar dan terjadi interaksi yang beragam antara sel tersebut dengan lingkungan mikro. Sel-sel kanker tersebut akan memasuki dan berkembang di jaringan baru sehingga menyebabkan disfungsi organ bahkan kematian (Chiang dan Massagué, 2008). Selain itu metastasis secara mekanis didefinisikan sebagai migrasi dari tumor utama yang dibarengi dengan intravasasi, bertahan hidup, ekstrasvasi sistem sirkulasi, dan kolonisasi secara cepat di area jaringan lain, atau akibat ketidakstabilan dari sel tumor mengakibatkan sel tersebut memiliki sifat untuk menyebar ke jaringan lain (Marino, et al, 2013).

Secara umum, pembelahan sel kanker terbagi menjadi 2 tahap, yaitu mitosis (M) yaitu pembelahan 1 sel menjadi 2 sel, Interfase yaitu proses diantara 2 mitosis. Interfase terdiri dari gap 1 (G1), sintesis DNA (S), dan gap-2 (G2). Fase mitosis merupakan fase tersingkat yang didalamnya terjadi pemecahan DNA yang telah berduplikasi secara komplit dan akan menghasilkan dua sel identik. Pada fase sintesis DNA merupakan fase saat terjadinya replikasi DNA kromosom dan pada akhir fase G1 terjadi peningkatan RNA (Masriani, 2014). Pada fase G1 sel mempersiapkan diri untuk membelah dan mempersiapkan dua set kromosom. Fase ini merupakan fase awal *cell cycle progression* yang diatur oleh faktor ekstraseluler seperti mitogen dan molekul adhesi. Penanda fase ini adalah adanya ekspresi dan sintesis protein sebagai persiapan memasuki fase sintesis. Pada fase G2, sel melakukan sintesis lebih lanjut yang menandai untuk proses pembelahan, sehingga sel siap melakukan pembelahan pada fase M (Ruddon, 2007).

Kanker payudara memiliki mekanisme aksi mampu mengaktivasi p53 yang bertindak sebagai gen yang menekan pertumbuhan tumor dengan cara apoptosis (Zhang dkk, 2008). Apoptosis adalah suatu peristiwa kematian sel secara terprogram yang dipicu oleh kerusakan DNA yang gagal diperbaiki. Apoptosis terbagi atas (a) apoptosis fisiologis yang merupakan kematian sel yang deprogram, (b) apoptosis patologis yaitu kematian sel karena rangsangan. Rangsangan ini dapat terjadi karena adanya aktivitas dari p53 (Azhar, 2008).

Adapun penanganan kanker payudara yang umum dilakukan adalah pembedahan yaitu dengan mengangkat jaringan kanker dengan operasi atau dengan mematikan sel kanker, namun cara ini tidak dapat mengatasi kanker yang sudah mengalami metastasis. Jaringan kanker yang tidak terangkat secara sempurna beresiko tumbuh menjadi jaringan kanker baru. Cara penanganan kanker dengan menggunakan bahan kimia yang dikenal sebagai kemoterapi yang bertujuan untuk merusak sel kanker dan menghentikan pertumbuhan sel yang tidak terkontrol. Metode kemoterapi digunakan untuk kanker yang sudah bermetastase (Masriani, 2014). Permasalahan utama dalam cara ini adalah bahan antikanker bekerja tidak selektif, karena selain dapat membunuh sel kanker juga dapat merusak sel normal (King RJB, 2000). Pada Tabel 2 dapat dilihat aktivitas dari alga coklat genus *Padina* yang dimanfaatkan sebagai antikanker MCF-7.

Tabel 2. Aktivitas Alga coklat *Padina* sebagai antikanker MCF-7

Tumbuhan	Bioaktivitas	Pustaka
<i>Padina australis</i>	Senyawa <i>fukosantin</i> dari <i>P. australis</i> bersifat sitotoksik terhadap sel MCF-7 dengan nilai IC ₅₀ sebesar 34,7 µg/ dan relatif tidak toksik terhadap sel normal Vero dengan nilai IC ₅₀ sebesar 1071,6 µg/ml.	Nursid M dkk., 2016
<i>Padina distromatica</i>	<i>Fucoidan</i> yang berhasil di isolasi memperlihatkan efek antikanker terhadap sel MCF-7 pada konsentrasi fukoidan 250 µg/ml, 500 µg/ml, 750 µg/ml, dan 1000 µg/ml memiliki nilai sitotoksisitas berturut-turut sebesar 2,86; 11,33; 17,35 dan 25,72.	Paul J. 2014
<i>Padina tetrastromat ica</i>	Ekstrak metanol <i>P. tetrastromatica</i> memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel MCF-7 dengan nilai IC ₅₀ sebesar 125±2,03 g/ml. Dari hasil yang diperoleh, ekstrak methanol <i>P. tetrastromatica</i> lebih tepat untuk digunakan sebagai agen kemoterapi kanker payudara.	Chia Yhin Y., 2015

Pada Tabel 3 dapat dilihat aktivitas dari jeruk nipis *C. aurantifolia* yang dimanfaatkan sebagai antikanker MCF-7.

Tabel 3. Aktivitas *C. aurantifolia* sebagai antikanker MCF7

Tumbuhan	Bioaktivitas	Pustaka
<i>C. aurantifolia</i>	Senyawa kuersetin dari <i>C. aurantifolia</i> dapat berinteraksi secara hidrofob dengan 7 residu asam amino. Selain itu, terdapat 3 ikatan hidrogen dengan residu asam amino Ser75A, Ser75A dan Arg68A dengan panjang ikatan masing-masing 2,98 Å, 2,99 Å dan 3,27 Å sehingga dapat dikatakan bahwa kuersetin memiliki kemampuan untuk menjadi agen antikanker payudara	Kenyori IK., 2022
<i>C. aurantifolia</i>	Kandungan minyak atsiri dari <i>C. aurantifolia</i> dilaporkan memperlihatkan aktivitas antiproliferatif secara in vitro terhadap sel MCF-7 dengan nilai IC ₅₀ sebesar 11,11 ± 0,3 µg/ml	Elansary H, 2018

2.5 Senyawa Antioksidan

Senyawa antioksidan merupakan suatu senyawa yang mampu menangkal radikal bebas dengan mendonorkan protonnya (Fitriana, 2016). Senyawa antioksidan memiliki peran dalam mencegah kanker dengan cara menghambat oksidasi dan tahap inisiasi guna mencegah aktivasi karsinogen (*blocking agent*) serta menghambat tahap promosi dan progresi dengan cara menekan proliferasi sel (Annabi, 2005).

Antioksidan (AH) berfungsi sebagai pemberi atom hidrogen. Senyawa ini dapat memberikan atom hidrogen secara cepat ke radikal lipida (R•) atau mengubahnya ke bentuk lebih stabil, sementara itu turunan radikal antioksidan (A•) memiliki keadaan lebih stabil dan tidak mempunyai cukup energi untuk dapat bereaksi dengan molekul lipida lain untuk membentuk radikal lipida baru.

Reaksi umum antara radikal bebas dengan senyawa antioksidan dapat dilihat seperti di bawah ini (Asda, 2009):



Berdasarkan mekanisme kerja antioksidan digolongkan menjadi tiga kelompok, yakni (Winarsi, 2007) :

a. Antioksidan primer

Antioksidan primer atau biasa disebut antioksidan enzimatis adalah senyawa yang mampu dengan cepat memberikan atom hidrogen kepada senyawa radikal bebas sehingga berubah menjadi senyawa stabil. Antioksidan primer juga dapat mencegah pembentukan radikal bebas baru dengan memutus reaksi berantai.

b. Antioksidan sekunder

Antioksidan sekunder disebut juga antioksidan eksogen atau non-enzimatis. Mekanisme kerjanya dengan cara memotong reaksi oksidasi berantai radikal bebas atau dengan menangkapnya sehingga efek negatif radikal bebas bisa dicegah.

c. Antioksidan tersier

Enzim DNA repair dan metionin sulfoksida reduktase merupakan kelompok antioksidan tersier. Enzim-enzim ini berfungsi sebagai perbaikan biomolekuler sel yang rusak akibat efek radikal bebas.

Isnindar dkk (2011) juga menggolongkan antioksidan berdasarkan sumbernya yaitu:

a. Antioksidan alami

Antioksidan alami merupakan jenis antioksidan yang berasal dari tumbuhan dan hewan. Antioksidan alami umumnya mempunyai gugus hidroksil dalam struktur molekulnya. Antioksidan alami yang berasal dari tumbuhan adalah senyawa fenolik berupa golongan flavonoid, turunan asam sinamat, kumarin, tokoferol, dan asam organik polifungsional. Senyawa kimia tergolong antioksidan dan dapat ditemukan secara alami diantaranya adalah asam ellagit, proantosianidin, polifenol, karotenoid, tokoferol, dan glutathion.

b. Antioksidan sintetik

Antioksidan sintetik adalah jenis antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesis reaksi kimia dan diproduksi untuk tujuan komersial. Antioksidan sintetik yang

diizinkan dan umum digunakan untuk makanan yaitu BHA (Butylated Hydroxy Anisole), BHT (Butylated Hydroxytoluene), dan propil galat.

Aktivitas antioksidan dari ekstrak alga coklat *Padina sp* dan ekstrak jeruk nipis *C. aurantifolia* dapat dilihat pada Tabel 4 dan 5.

Tabel 4. Aktivitas antioksidan ekstrak alga coklat genus *Padina*

Tumbuhan	Ekstrak	Bioaktivitas	Pustaka
<i>Padina sp</i>	<i>n</i> -heksana etil asetat metanol	aktivitas antioksidan kategori sedang dengan nilai IC ₅₀ berturut-turut sebesar 117,36; 115,71; 116,83 µg/ml	Akbar, 2020
<i>Padina sp</i>	etil asetat <i>n</i> -heksana metanol	Aktivitas antioksidan kategori sedang dengan nilai IC ₅₀ 137,02 ppm. Aktivitas antioksidan kategori sangat lemah dengan nilai IC ₅₀ 1234,41 ppm dan 1554,45 ppm	Hidayati JR, 2017
<i>Padina australis</i>	Metanol	Aktivitas antioksidan kategori sedang dengan nilai IC ₅₀ sebesar 102,590 g/mL dan dapat menghambat radikal bebas DPPH sebesar 70,917%	Junopia AC, 2020
<i>Padina sp</i>	Metanol	Aktivitas antioksidan kategori sangat kuat nilai IC ₅₀ sebesar 37,68 ppm dan dengan perlakuan yaitu pengeringan dengan menggunakan oven bersuhu 50°C selama 4 jam	Husni A, 2014.

Tabel 5. Aktivitas antioksidan ekstrak jeruk nipis *C. aurantifolia*

Tumbuhan	Ekstrak	Bioaktivitas	Pustaka
<i>C. aurantifolia</i>	Air perasan	Aktivitas antioksidan kategori sangat kuat dengan nilai IC ₅₀ sebesar 49,589 µg/ml	Permata AN, 2018
	Etanol (kulit buah)	Aktivitas antioksidan kategori kuat dengan nilai IC ₅₀ ekstrak etanol kulit buah jeruk nipis sebesar 54,458 µg/ml	Khasanah I, 2017
	Etanol (buah)	Aktivitas antioksidan kategori kuat dengan nilai IC ₅₀ sebesar 98,58µg/mL	Yanuary R, 2021
	<i>n</i> -heksan (Daun)	aktivitas antioksidan kategori kuat dengan nilai IC ₅₀ sebesar 76,90 µg/mL	Reddy, 2012
	Etanol (Kulit)	kategori sangat kuat dengan nilai IC ₅₀ sebesar 49,58 µg/mL	Permata, 2018
	Air perasan	Aktivitas antioksidan kategori kuat dengan nilai IC ₅₀ sebesar 55,99 µg/mL	Solichah, 2018
	Metanol		
	Buah utuh (buah dan kulit)	Aktivitas antioksidan kategori lemah dengan nilai IC ₅₀ sebesar 1793,06 µg/mL	Khadijah dkk, 2021

Beberapa senyawa antioksidan sintetik telah menunjukkan sifat toksik ataupun efek mutagenik, hal ini membuat peneliti tertarik untuk mencari antioksidan alami yang aman untuk dikonsumsi. Senyawa antioksidan di dalam tumbuhan bersifat sebagai penerima radikal bebas yang dapat bermanfaat sebagai agen terapi pada beberapa penyakit yang disebabkan karena stres oksidatif (Pallavi dkk., 2017).

2.6 Uji Bioaktivitas

2.6.1 Uji BSLT (*Brine Shrimp Letality Test*)

Uji BSLT merupakan tes umum yang dilakukan untuk menunjukkan adanya kemampuan bioaktivitas dari suatu ekstrak kasar. Keuntungan dari uji ini yaitu cepat, mudah, hasilnya dapat diulang, serta tidak membutuhkan biaya yang mahal. Uji BSLT pertama kali diperkenalkan pada tahun 1982 dan telah digunakan dalam penelitian isolasi senyawa dari tumbuhan yang memiliki aktivitas sebagai agen antitumor dan pestisida. Aktivitas toksik terhadap *brine shrimp* dapat menunjukkan aktivitas sitotoksik dan pestisida (Hamidi, 2014).

Uji BSLT dilakukan dengan membuat larutan ekstrak dengan konsentrasi yang berbeda-beda, kemudian masing-masing ditambahkan air asin berisi 10 larva *A. salina*. Setelah 24 jam, pengamatan dilakukan terhadap jumlah larva yang mati kemudian dibandingkan dengan jumlah larva awal. Perlakuan dilakukan sebanyak tiga kali (Zuraida, 2018). Selanjutnya dihitung persen (%) kematian larva dengan menggunakan rumus:

$$\text{Persen kematian} = \frac{\text{jumlah larva mati}}{\text{jumlah larva mati} + \text{jumlah larva hidup}} \times 100\% \quad (2)$$

Nilai persen kematian larva selanjutnya di plot ke dalam grafik dengan nilai konsentrasi larutan ekstrak untuk menentukan nilai LC_{50} ekstrak tersebut. Tingkat toksisitas ditunjukkan pada Tabel 4 berikut (Meyer, 1982).

Tabel 6. Tingkat toksisitas berdasarkan nilai LC₅₀

Nilai LC ₅₀ (ppm)	Tingkat toksisitas
≤ 30	Sangat toksik
30 – 1000	Toksik
> 1000	Tidak toksik

2.6.2 Uji Aktivitas Antioksidan

Radikal bebas (*free radical*) merupakan salah satu bentuk senyawa yang mempunyai elektron bebas tidak berpasangan sehingga senyawa tersebut sangat reaktif. Reaksi radikal bebas dengan molekul lain di sekitarnya dapat menyebabkan terjadinya reaksi berantai sehingga menghasilkan senyawa radikal baru (Winarsi, 2007). Jenis radikal bebas yang mengandung oksigen secara umum dikenal dengan ROS (*reactive oxygen species*). ROS dapat menyebabkan peroksidasi fosfolipid pada membran sel, kerusakan DNA, dan protein. Kerusakan ini dapat menginduksi terjadinya kerusakan sel dan jaringan pada tubuh (Novo, 2008).

Radikal bebas dapat berasal dari dalam tubuh atau dipengaruhi oleh faktor luar. Radikal bebas dalam tubuh berasal dari produk samping produksi energi oleh mitokondria yang merupakan mesin sel penghasil energi, sedangkan faktor dari luar bisa berasal dari polusi, radiasi sinar UV, pola makan atau pola hidup. Kerusakan sel akibat radikal bebas disebut *oxidative stress*. Bahaya radikal bebas dalam jangka panjang dihubungkan dengan penyakit kronis seperti kanker, diabetes, penyakit neurodegenerative, dan kardiovaskuler (Putri, 2018). Senyawa radikal bebas dapat pula memicu pembentukan sel kanker di dalam tubuh dengan cara merusak membran sel sehingga mengakibatkan dinding sel menjadi rapuh. Senyawa radikal bebas ini berpotensi merusak DNA dan berlanjut pada pembentukan sel kanker (Winarsi, 2007).

Senyawa yang dapat menghambat radikal bebas dan mengurangi *oxidative stress* adalah antioksidan (Dai, 2010). Antioksidan merupakan konstituen kimia yang mampu menangkal radikal bebas dengan mendonorkan protonnya (Fitriana, 2016). Antioksidan dapat berperan dalam menekan proliferasi

(perbanyak) sel kanker, karena antioksidan berfungsi menutup jalur pembentukan sel ganas (*blocking agent*) (Rumagit, 2015).

Pengujian antioksidan yang sering digunakan adalah metode DPPH (1,1-dyphenil-2-picrylhydrazy). Metode ini merupakan metode yang cepat, sederhana, dan murah (Zou, 2004). Senyawa DPPH menghasilkan radikal bebas aktif bila dilarutkan dalam alkohol. Absorbansi berkurang ketika radikal bebas DPPH dihambat oleh antioksidan melalui donor hidrogen untuk membentuk DPPH stabil. Reaksi tersebut menyebabkan terjadinya perubahan warna dari ungu menjadi kuning (Suryowati, 2015). Aktivitas antioksidan diketahui melalui nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} didefinisikan sebagai konsentrasi sampel yang menyebabkan hilangnya 50 % dari aktivitas DPPH (Mulia, 2016). Tingkat kekuatan antioksidan suatu senyawa ditunjukkan pada Tabel 5 berikut (Putri, 2015).

Tabel 7. Tingkat kekuatan antioksidan berdasarkan nilai IC_{50}

Nilai IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	Tingkat Kekuatan Antioksidan
< 50	Sangat kuat
50 - 100	Kuat
101 - 250	Sedang
250 - 500	Lemah

2.6.3 Uji Antikanker terhadap sel MCF-7 dengan metode *Prestoblue*

Pada penelitian ini, sel target yang digunakan adalah sel kanker payudara MCF7 (*Michigan Cancer Foundation 7*). Sel MCF-7 merupakan salah satu model sel kanker payudara yang banyak digunakan dalam penelitian. Sel MCF-7 diperoleh dari jaringan epitel payudara wanita berusia 69 tahun (CCRC, 2008).

Pengujian terhadap sel MCF-7 ini menggunakan metode kalorimetrik atau perubahan warna dengan menggunakan resazurin yang merupakan reagen *Prestoblue* yang ditambahkan pada sel dan hasil akhir berupa pengukuran absorbansi menggunakan *multimode reader*. Resazurin banyak digunakan dalam uji dan metabolisme sel karena bersifat radioaktif, mudah digunakan, murah, tidak diperlukan keahlian khusus, tidak beracun, mudah masuk ke dalam membran sel dan berguna untuk menentukan kecepatan tumbuh suatu sel. Resazurin merupakan senyawa aktif yang digunakan sebagai indikator reaksi reduksi

oksidasi (redoks) (Rampersad, 2012). Resazurin sebagai indikator berwarna biru yang tidak berfluorosensi akan tereduksi menjadi warna merah muda yang berfluorosensi dalam bentuk resorufin. Perubahan warna mengindikasikan adanya aktivitas sel yang menghasilkan NADH dan enzim pereduksi diaforase (Matsumoto *et al.*, 1990).

Pengujian antikanker ini menggunakan cisplatin sebagai kontrol positif dan DMSO sebagai kontrol negatif. Konsentrasi DMSO tidak boleh melebihi 10% karena dapat menyebabkan terjadinya sitotoksik pada sel (Machana, *et al.*, 2011). Cisplatin merupakan obat kemoterapi kanker yang berbasis logam platinum. Platinum merupakan suatu agen alkilasi yang mempunyai aktivitas merusak sel kanker. Cisplatin yang berbasis platinum tersebut berkerja membentuk ikatan kompleks dengan menempelkan diri pada DNA sel kanker kemudian akan mengganggu dan mencegah pertumbuhannya. Cisplatin secara umum bukan senyawa yang mudah bereaksi secara langsung, tetapi bila senyawa ini terlarut dalam air, ligan kloro pada cisplatin akan diganti satu persatu oleh air melalui reaksi hidrolisis (Thomson, 2007).

Data absorbansi yang didapatkan dari pengukuran dengan *multimode reader* kemudian digunakan untuk mencari nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} menunjukkan konsentrasi yang menghasilkan penghambatan poliferasi sel sebesar 50% dan menunjukkan potensi ketoksikan suatu senyawa terhadap sel, serta dapat menunjukkan potensi suatu senyawa sebagai sitotoksik. Semakin besar harga IC_{50} maka senyawa tersebut tidak toksik. Akhir dari uji sitoksisitas dapat memberikan informasi jumlah sel yang mampu bertahan hidup, sedangkan pada organ target memberikan informasi langsung tentang perubahan yang terjadi pada fungsi sel secara spesifik (Doyle dan Graffiths, 2000). Tingkat toksisitas ditunjukkan pada Tabel 6 berikut (Tunjung, 2019).

Tabel 8. Tingkat Toksisitas berdasarkan Nilai IC_{50}

Nilai IC_{50} ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	Kategori
< 10	sangat kuat
10 - 100	kuat
100 - 500	sedang

2.7 Kerangka Konseptual

Potensi keanekaragaman hayati di Indonesia sangat menarik untuk dikembangkan, salah satu keanekaragaman hayati laut Indonesia yang berpotensi untuk dikembangkan yaitu jenis Alga coklat genus *Padina sp.* Alga coklat (Phaeophyta) khususnya *Padina sp.* termasuk salah satu jenis alga yang berfungsi sebagai sumber potensial senyawa bioaktif yang bermanfaat sebagai antioksidan dan antikanker karena kandungan senyawa senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam *Padina sp.* Selain itu, tidak hanya keanekaragaman hayati laut yang berpotensi untuk dikembangkan, keanekaragaman hayati di darat juga tidak kalah menarik untuk ditelusuri. Tumbuhan lain yang juga memiliki manfaat sebagai antioksidan dan antikanker yaitu jeruk nipis (*C. aurantifolia*). Jeruk nipis dilaporkan sebagai tanaman obat tradisional yang dikenal masyarakat umum. Dari beberapa penelitian yang telah dilakukan *C. aurantifolia* memiliki aktivitas antioksidan yang kuat baik itu pada kulit maupun pada air perasannya. *C. aurantifolia* mengandung zat aktif yaitu flavonoid, flavon, flavanon, naringenin, triterpenoid dan limonoid. Salah satunya tanaman komersil yang memiliki begitu banyak khasiat yaitu jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*).

Interaksi antara senyawa metabolit sekunder dari dua tanaman yang berbeda dapat saling memengaruhi aktivitas dari masing-masing tumbuhan tersebut. Pengembangan metode dilakukan dengan menggabungkan dua ekstrak tumbuhan yang diharapkan dapat meningkatkan bioaktivitasnya. Kombinasi dari dua jenis tumbuhan yang memiliki bioaktivitas yang serupa dapat menghasilkan aktivitas yang lebih tinggi, yang dikenal dengan efek sinergisme, yang saling melengkapi dan bahkan menambah daya khasiatnya. Kehadiran kombinasi tumbuhan juga diklaim dapat mengurangi efek samping yang tidak diinginkan, seperti mengurangi kejadian keracunan dibandingkan dengan hanya menggunakan satu tumbuhan.

Dengan meningkatnya bioaktivitas dari kombinasi ekstrak, maka akan dihasilkan senyawa-senyawa baru yang dapat digunakan sebagai agen antikanker payudara. Mengingat bahwa saat ini penyakit kanker payudara merupakan penyakit yang paling sering terjadi pada wanita, dan berdampak pada 2,1 juta wanita setiap tahunnya. Pengobatan kanker payudara yang umum dilakukan adalah kemoterapi. Akan tetapi, penggunaan obat kemoterapi menimbulkan efek

samping bagi pasien karena selain membunuh sel-sel kanker dapat juga membunuh sel-sel normal. Oleh karena itu, dibutuhkan suatu pengembangan obat yang selektif terhadap sel kanker payudara namun tidak menimbulkan kerusakan pada sel normal. Salah satu upaya yang dapat dilakukan adalah mengembangkan agen antikanker dari tumbuhan obat tradisional yang merupakan bagian dari keanekaragaman hayati Indonesia.

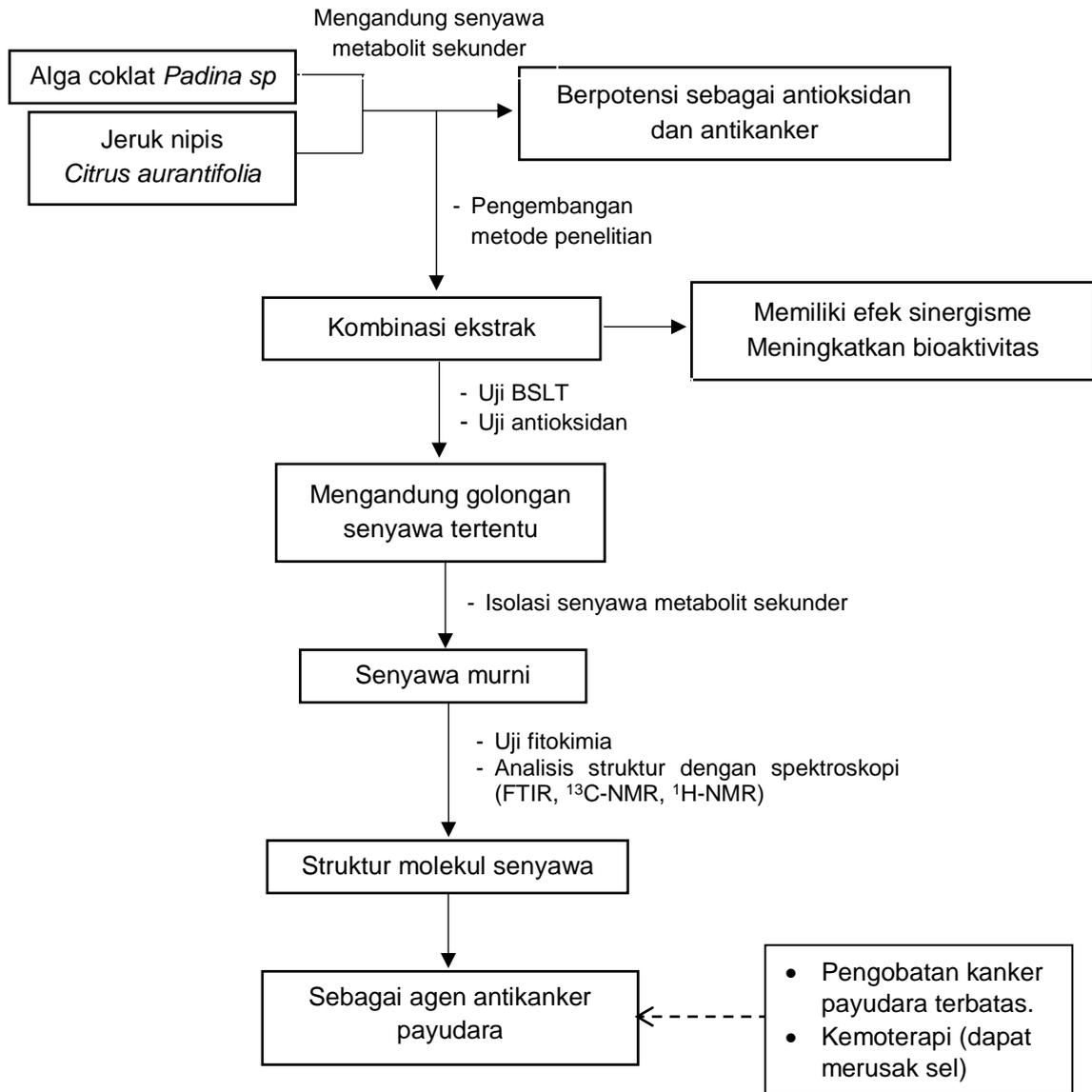
Oleh karena itu, di dalam penelitian ini akan dilakukan eksplorasi terkait metabolit sekunder dari kombinasi ekstrak *Padina sp* serta mengkaji aktivitas antikankernya, khususnya terhadap *cell line* MCF-7. Senyawa yang berhasil diisolasi dari kombinasi ekstrak *Padina sp* diharapkan dapat dikembangkan untuk pengobatan sebagai antikanker payudara.

2.8 Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini adalah:

1. Kombinasi ekstrak alga coklat (*Padina sp*) dan jeruk nipis (*C. aurantifolia*) memiliki kandungan metabolit sekunder golongan steroid, flavonoid, serta alkaloid.
2. Isolat dan ekstrak kombinasi alga coklat (*Padina sp*) dan jeruk nipis (*C. aurantifolia*) memiliki aktivitas antioksidan serta toksisitas terhadap larva *Artemia salina.L.*
3. Isolat dan ekstrak kombinasi ekstrak etil asetat rumput laut (*Padina sp*) dan (*C. aurantifolia*) memiliki aktivitas menghambat sel kanker Payudara.
4. Diperoleh struktur senyawa isolat yang berhasil diisolasi dari kombinasi ekstrak alga coklat (*Padina sp*) dan jeruk nipis (*C. aurantifolia*).

Berdasarkan penjelasan yang telah disebutkan sebelumnya, adapaun kerangka konseptual dalam penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Kerangka Konseptual Penelitian