

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI SENYAWA KIMIA DARI EKSTRAK  
ETIL ASETAT ALGA MERAH (*Kappaphycus alvarezii*), SERTA UJI  
BIOAKTIVITAS SEBAGAI ANTIKANKER PAYUDARA (MCF-7)**

*ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF CHEMICAL COMPOUNDS  
FROM ETHYL ACETATE EXTRACT OF RED ALGAE (*Kappaphycus  
alvarezii*), AS WELL AS BIOACTIVITY TEST AS BREAST ANTICANCER  
(MCF-7)*

**Risma Majdiyah**

**H012 19 1 007**



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

**2023**

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI SENYAWA KIMIA DARI EKSTRAK  
ETIL ASETAT ALGA MERAH (*Kappaphycus alvarezii*), SERTA UJI  
BIOAKTIVITAS SEBAGAI ANTIKANKER PAYUDARA (MCF-7)**

Tesis

sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar magister

Program Studi Magister Kimia

Disusun dan diajukan oleh

RISMA MAJDIYAH

H012 19 1 007

kepada

**PROGRAM MAGISTER KIMIA**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM**

**UNIVERSITAS HASANUDDIN**

**MAKASSAR**

**2023**

## TESIS

ISOLASI DAN KARAKTERISASI SENYAWA KIMIA DARI EKSTRAK ETIL  
ASETAT ALGA MERAH (*Kappaphycus alvarezii*), SERTA UJI  
BIOAKTIVITAS SEBAGAI ANTIKANKER PAYUDARA (MCF-7)

RISMA MAJDIYAH

NIM: H012191007

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 3 MARET 2023  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui

Pembimbing Utama

Pembimbing Pendamping

  
Prof. Dr. Nunuk Hariani Soekamto, MS  
NIP. 196012151987022001

  
Dr. Herlina Rasyid, S.Si  
NIP. 19930414202204001

Ketua Program Studi  
Magister Kimia

Dekan Fakultas MIPA  
Universitas Hasanuddin

  
Dr. Hasnah Natsir, M.Si  
NIP. 196203201987112001

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



**PERNYATAAN KEASLIAN TESIS  
DAN KELIMPAHAN HAK CIPTA**

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Risma Majdiyah  
NIM : H012191007  
Program Studi : Magister Kimia

Dengan ini saya menyatakan bahwa, tesis berjudul "Isolasi Dan Karakterisasi Senyawa Kimia dari Ekstrak Etil Asetat Alga Merah (*Kappaphycus Alvarezii*), serta Uji Bioaktivitas sebagai Antikanker Payudara (MCF-7)" 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 "*Identification of Bioactive Compounds Methanol Extract of Red Algae Kappaphycus alvarezii and Toxicity Test on Artemia salina Leach Larva*".

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

Makassar, 3 Maret 2023



Risma Majdiyah

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 Kimia Dari Ekstrak Etil Asetat Alga Merah (*Kappaphycus alvarezii*), Serta Uji Bioaktivitas Sebagai Antikanker Payudara (MCF-7)**" 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** yang selalu mendukung dan mendoakan sehingga bisa sampai pada tahap ini. Kesempatan ini juga, penulis dengan segala kerendahan hati mengucapkan terima kasih kepada:

1. Ibu Prof. Dr. Nunuk Hariani Soekamto, M.S dan Ibu Dr. Herlina Rasyid, S.Si selaku dosen pembimbing yang telah memberikan begitu banyak bantuan, masukan, saran, dan motivasi untuk penulis mulai dari penyusunan proposal, penelitian, hingga penyusunan tesis ini.
2. Bapak Prof. Dr. Ahyar Ahmad, Ph.D, Ibu Dr. Indah Raya, M.Si, dan Ibu Dr. St. Fauziah, M.Si selaku dosen penguji yang telah memberikan ilmu, saran dan masukan dalam penyusunan proposal hingga tesis penulis.
3. Ibu Dr. Hasnah Natsir, M.Si selaku Ketua Program Studi Magister Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Universitas Hasanuddin.
4. Seluruh analis laboratorium yang senantiasa membantu penulis selama proses penelitian.
5. Seluruh dosen dan staf Departemen Kimia dan Fakultas yang senantiasa membantu dan berkontribusi terhadap penulis selama proses studi.
6. 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

Risma Majdiyah

## ABSTRAK

Risma Majdiyah. Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Kimia dari Ekstrak Etil Asetat Alga Merah (*Kappaphycus alvarezii*), serta Uji Bioaktivitas sebagai Antikanker Payudara (MCF-7) (dibimbing oleh **Nunuk Hariani Soekamto** dan **Herlina Rasyid**).

Alga merah *Kappaphycus alvarezii* merupakan salah satu hasil biota laut yang melimpah di Indonesia yang dikenal memiliki senyawa metabolit primer dan senyawa metabolit sekunder, namun pemanfaatan senyawa bioaktifnya belum optimal. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengelucidasi struktur senyawa kimia yang diperoleh dari ekstrak etil asetat alga merah *K. alvarezii*, menguji toksisitas ekstrak, serta menguji bioaktivitas isolat sebagai antikanker payudara (MCF-7). Metode yang digunakan yaitu maserasi bertingkat dengan pelarut n-heksana kemudian pelarut etil asetat, evaporasi, fraksinasi (KKV dan KR), purifikasi, identifikasi dan karakterisasi senyawa dengan spektroskopi (FTIR, <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR, HSQC, dan HMBC), pengujian toksisitas ekstrak dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT), serta pengujian bioaktivitas antikanker payudara (MCF-7) dengan metode *Prestoblue*. Hasil pengujian BSLT terhadap *Artemia salina* Leach diperoleh nilai LC<sub>50</sub> sebesar 176,35 ppm dengan kategori toksik. Hasil isolasi diperoleh 2 isolat murni, yakni isolat **1** merupakan senyawa *docosanoic acid* yang dikenal sebagai asam behenat, sebanyak 15,2 mg dengan titik leleh 79-81 °C. Isolat **2** merupakan senyawa steroid dengan usulan nama 10,13-*dimethyl-17-(23,23,29,29-tetramethylnonan-2-yl)-2,3,4,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-tetradecahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthrene-3-ol*, sebanyak 9 mg dengan titik leleh 110-112 °C. Hasil pengujian sitotoksik terhadap sel MCF-7 menunjukkan bahwa isolat **1** dengan nilai IC<sub>50</sub> >500 µg/mL sebagai aktivitas tidak toksik, sedangkan isolat **2** memiliki aktivitas kategori toksik moderat dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 128,90 µg/mL.

**Kata kunci:** Asam Behenat, BSLT, *Kappaphycus alvarezii*, MCF-7, *Prestoblue*, dan 10,13-*dimethyl-17-(23,23,29,29-tetramethylnonan-2-yl)-2,3,4,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-tetradecahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthrene-3-ol*

## ABSTRACT

Risma Majdiyah. Isolation and Characterization of Chemical Compounds from Ethyl Acetate Extract of Red Algae (*Kappaphycus alvarezii*), as Well as Bioactivity Test as Breast Anticancer (MCF-7) (supervised by **Nunuk Hariani Soekamto** and **Herlina Rasyid**).

Red algae *Kappaphycus alvarezii* is one of the abundant marine biota products in Indonesia which is known to have primary metabolite compounds and secondary metabolite compounds but the utilization of its bioactive compounds is not been optimal. This study aims to isolate and exclude the structure of chemical compounds obtained from red algae *K. alvarezii* ethyl acetate extract, test the toxicity of the extract, and test the bioactivity of isolates as breast anticancer (MCF-7). The methods used are stratified maceration with n-hexane solvents then ethyl acetate solvents, evaporation, fractionation (KKV and KR), purification, identification and characterization of compounds with spectroscopy (FTIR, <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR, HSQC, and HMBC), extract toxicity testing with the Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) method, and breast anticancer bioactivity testing (MCF-7) with the Prestoblue method. The results of BSLT testing of *Artemia salina* Leach obtained an LC<sub>50</sub> value of 176.35 ppm with a toxic category. The results of isolation obtained 2 pure isolates, namely isolate **1** is a docosanoic acid compound known as behenic acid, as much as 15.2 mg with a melting point of 79-81 °C. Isolate **2** is a steroid compound with the proposed name 10,13-dimethyl-17-(23,23,29,29-tetramethylnonan-2-yl)-2,3,4,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-tetradecahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthrene-3-ol, as much as 9 mg with a melting point of 110-112 °C. Results of cytotoxic testing of MCF-7 cells showed that isolate **1** with an IC<sub>50</sub> value of >500 µg/mL as a non-toxic activity, while isolate **2** had moderate toxic activity with an IC<sub>50</sub> value of 128.90 µg/mL.

**Keywords:** Behenic Acid, BSLT, *Kappaphycus alvarezii*, MCF-7, Prestoblue, and 10,13-dimethyl-17-(23,23,29,29-tetramethylnonan-2-yl)-2,3,4,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-tetradecahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthrene-3-ol

## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
HALAMAN SAMPUL .....	i
HALAMAN PENGANTAR .....	ii
HALAMAN PERSETUJUAN.....	iii
PERNYATAAN KEASLIAN TESIS DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA .....	iv
PRAKATA .....	v
ABSTRAK .....	vi
ABSTRACT .....	vii
DAFTAR ISI .....	viii
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR .....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
DAFTAR SIMBOL/SINGKATAN .....	xiv
<b>BAB I PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat Penelitian .....	4
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>5</b>
2.1 Tinjauan Umum Rumput Laut.....	5
2.2 Rumput Laut <i>Kappaphycus alvarezii</i> ( <i>K. alvarezii</i> ).....	7
2.3 Kandungan Senyawa dalam <i>K. alvarezii</i> .....	10
2.4 Bioaktivitas <i>K. alvarezii</i> .....	14
2.5 Aktivitas Antikanker <i>K. alvarezii</i> .....	14
2.6 Uji <i>Brine Shrimp Lethality Test</i> (BSLT) .....	15



2.7 Uji Antikanker terhadap Sel MCF-7 .....	16
2.8 Kerangka Pikir .....	18
2.9 Hipotesis.....	19
<b>BAB III METODE PENELITIAN .....</b>	<b>21</b>
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	21
3.2. Alat dan Bahan Penelitian .....	21
3.2.1. Alat .....	21
3.2.2. Bahan .....	21
3.3. Prosedur Penelitian .....	22
3.3.1 Preparasi Sampel .....	22
3.3.2 Ekstraksi.....	22
3.3.3 Uji Fitokimia .....	23
3.3.4 Uji Toksisitas Ekstrak Etil Asetat dengan Metode BSLT .....	23
3.3.5 Fraksinasi.....	24
3.3.6 Analisis FT-IR .....	24
3.3.7 Analisis NMR .....	25
3.3.8 Uji Antikanker Payudara (MCF-7) .....	25
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>26</b>
4.1 Ekstraksi.....	26
4.2 Uji Fitokimia Ekstrak Etil Asetat .....	26
4.3 Uji Toksisitas Ekstrak Etil Asetat dengan Metode BSLT.....	27
4.4 Fraksinasi .....	28
4.5 Purifikasi .....	30
4.5.1 Isolat 1 (F6) .....	30
4.5.2 Isolat 2 (F5.4) .....	31
4.6 Analisis FT-IR dan NMR Isolat .....	32
4.6.1 Isolat 1 .....	32

4.6.2 Isolat 2 .....	35
4.7 Uji Antikanker Payudara Isolat terhadap Sel MCF-7 .....	39
4.7.1 Isolat 1 .....	41
4.7.2 Isolat 2 .....	43
<b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>46</b>
5.1 Kesimpulan.....	46
5.2 Saran.....	46
DAFTAR PUSTAKA .....	47
LAMPIRAN.....	55

**DAFTAR TABEL**

<b>Nomor</b>	<b>Halaman</b>
1. Aktivitas antikanker <i>K. alvarezii</i> .....	15
2. Tingkat toksisitas berdasarkan nilai LC <sub>50</sub> .....	16
3. Tingkat toksisitas berdasarkan nilai IC <sub>50</sub> .....	17
4. Hasil uji fitokimia ekstrak etil asetat <i>K. alvarezii</i> .....	27
5. Nilai probit untuk setiap % kematian akhir .....	27
6. Fraksi hasil KKV ekstrak etil asetat.....	28
7. Interpretasi pita serapan spektrum FT-IR isolat 1 .....	33
8. Data <sup>1</sup> H-NMR dan <sup>13</sup> C-NMR Isolat 1 dengan perbandingan literatur....	34
9. Interpretasi pita serapan spektrum FT-IR isolat 2 .....	36
10. Data spektrum <sup>1</sup> H-NMR, <sup>13</sup> C-NMR, dan HMBC isolat 2 .....	37
11. Hasil pengujian antikanker.....	40

## DAFTAR GAMBAR

Nomor	Halaman
1. Struktur senyawa yang terkandung dalam alga merah .....	6
2. <i>Kappaphycus alvarezii</i> .....	7
3. Struktur senyawa family Soliraceae .....	9
4. Struktur senyawa ethyl iso-allocholate, ergosta-5,22-dien-3-ol dst.....	11
5. Struktur senyawa steroid .....	12
6. Struktur senyawa fitosterol (a), indol (b), dan fenol (c).....	13
7. Struktur senyawa 12-trikosanon .....	14
8. Kerangka pikir .....	19
9. Grafik hubungan antara log [sampel] (x) dan nilai probit (y) .....	28
10. Kromatogram ekstrak etil asetat hasil fraksinasi KKV.....	29
11. Kromatogram ekstrak etil asetat hasil fraksinasi KR.....	29
12. Isolat 1.....	30
13. Kromatogram isolat 1 .....	30
14. Isolat 2.....	31
15. Kromatogram isolat 2 .....	31
16. Spektrum FT-IR isolat 1.....	33
17. Struktur senyawa <i>docosanoic acid</i> atau asam behenat.....	35
18. Spektrum FTIR isolat 2.....	35
19. Korelasi jarak jauh spektrum HMBC isolat 2.....	38
20. Struktur senyawa isolat 2 .....	39
21. Mekanisme kerja cisplatin.....	41
22. <i>Well plate</i> hasil uji isolat 1 terhadap sel MCF-7 .....	41
23. Morfologi hasil uji isolat 1 terhadap sel MCF-7 .....	42
24. Kurva hasil uji isolat 1 terhadap sel MCF-7 .....	42
25. <i>Well plate</i> hasil uji isolat 2 terhadap sel MCF-7 .....	43
26. Morfologi hasil uji isolat 2 terhadap sel MCF-7 .....	44
27. Kurva hasil uji isolat 2 terhadap sel MCF-7 .....	44

## DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Halaman
1. Bagan kerja isolasi senyawa dari ekstrak etil asetat rumput laut <i>K. alvarezii</i> .....	55
2. Uji fitokimia ekstrak <i>K. alvarezii</i> .....	57
3. Pengujian toksisitas dengan BSLT.....	59
4. Alur pengujian sitotoksik terhadap MCF-7 .....	60
5. Perhitungan pada pengujian BSLT .....	61
6. Hasil analisis NMR isolat 1.....	64
7. Hasil analisis NMR isolat 2.....	65
8. Hasil identifikasi sampel rumput laut.....	68
9. Spektrum FTIR Isolat 1 .....	69
10. Spektrum FTIR Isolat 2.....	70
11. Hasil pengujian NMR isolat 1 .....	71
12. Hasil pengujian NMR isolat 2 .....	72
13. Data Hasil pengujian BSLT.....	74
14. Hasil pengujian antikanker.....	76
15. Dokumentasi penelitian .....	81
16. Metode <i>software graphpad prism</i> penentuan IC <sub>50</sub> .....	85

## DAFTAR SIMBOL/SINGKATAN

$\delta_H$	Geseran kimia hidrogen
$\delta_C$	Geseran kimia karbon
$\mu\text{g/mL}$	Mikrogram per mililiter
$\beta$	Beta
A549	<i>Adenocarcinomic 549</i>
ATP	Adenosina trifosfat
BSC	<i>Biosafety Cabinet</i>
BSLT	<i>Brine Shrimp Lethality Test</i>
CCRC	<i>Cancer Chemoprevention Research Center</i>
$\text{cm}^{-1}$	Per sentimeter
DMSO	<i>Dimethyl Sulfoxide</i>
DNA	<i>Deoxyribo Nucleic Acid</i>
FBS	<i>Fetal Bovine Serum</i>
FTIR	<i>Fourier Transform Infrared Reflektansi</i>
g	Gram
HeLa	<i>Henrietta Lacks - cervix Cancer Cell Line</i>
HepG2	Hepatitis G2
HCT-116	<i>Human Colon Cancer Cell Line-116</i>
HT-29	<i>Human Colon Cancer Cell Line-29</i>
HMBC	<i>Heteronuclear Multiple Bond Correlation</i>
HSQC	<i>Heteronuclear Single Quantum Coherence</i>
Hz	<i>Hertz</i>
$\text{IC}_{50}$	<i>Inhibition Concentration 50%</i>
$J$	konstanta kopling
Kemenkeu RI	Kementerian Keuangan Republik Indonesia
kg	Kilogram
KKP RI	Kementerian Kelautan dan Perikanan Republik Indonesia
KLT	Kromatografi Lapis Tipis
KR	Kromatografi Radial
KKV	Kromatografi Kolom Vakum
$\text{LC}_{50}$	<i>Lethal Concentration 50%</i>

LC-MS	<i>Liquid Chromatography-Mass Spectrometry</i>
mg	<i>Miligram</i>
MCF-7	<i>Michigan Cancer Foundation-7</i>
MDA-MB-231	<i>M.D.Anderson-Metastatic Breast-231</i>
MHz	<i>Megahertz</i>
NADH	<i>Nikotinamida adenina dinukleotida</i>
NMR	<i>Nuclear Magnetic Resonance</i>
PBS	<i>Phosphate Buffered Saline</i>
ppm	<i>part per million</i>
RPMI	<i>Roswell Park Memorial Institute</i>
SDS	<i>Sodium Dodesil Sulfat</i>
UV-Vis	<i>Ultra Violet Visible</i>
WHO	<i>World Health Organization</i>

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Hasil biota laut yang menempati posisi penting dalam produksi perikanan Indonesia yaitu rumput laut atau alga laut (KKP RI, 2018). Indonesia merupakan produsen rumput laut terbesar kedua setelah Tiongkok, dengan volume ekspor tahun 2020 sebesar 195.574 ton (KKP RI, 2021). Daerah ekspor rumput laut terbesar di Indonesia yaitu Sulawesi Selatan dengan kontribusi sekitar 47,95% dari total ekspor rumput laut Indonesia. Jenis alga merah yang dikenal baik di pasar global adalah *Eucheuma cottonii* atau dengan nama lain *Kappaphycus alvarezii* dengan porsi 71,59% dari total ekspor produk rumput laut tahun 2020 (Kemenkeu RI, 2021). Jenis alga ini tumbuh di permukaan terumbu karang dangkal sampai kedalaman 6 meter, melekat di batu karang, cangkang kerang dan benda keras lainnya (Anggadiredja *et al.*, 2006). Alga merah *K. alvarezii* termasuk dalam famili Soliriaceae dengan ciri-ciri mempunyai *thallus* berbentuk silindris, permukaan licin, warna hijau, kuning, abu-abu atau merah. Penampakan *thallus* bervariasi mulai dari bentuk sederhana sampai kompleks (Atmadja *et al.*, 1996).

*K.alvarezii* berfungsi sebagai stabilisator, gel, pengikat, pengental, dan suplemen dalam industri farmasi dan makanan (Liu *et al.*, 2019). Selain itu, juga dapat menurunkan kolesterol darah, diabetes, penyakit hati, dan kanker (Mohamed *et al.*, 2012), serta sebagai makanan alternatif untuk terapi kanker payudara (Namvar *et al.*, 2012). Secara umum, *K.alvarezii* mengandung protein, serat pangan, antioksidan, vitamin yang tinggi, polifenol, mineral, asam lemak, dan fitokimia yang memiliki banyak kegunaan medis (Noor *et al.*, 2018).

Ekstraksi pada *K.alvarezii* menunjukkan bahwa ekstrak mengandung senyawa metabolit sekunder, diantaranya pada ekstrak n-heksana ditemukan senyawa terpenoid dan alkaloid, pada ekstrak kloroform ditemukan senyawa flavonoid, triterpenoid dan alkaloid (Andriani *et al.*, 2015), pada ekstrak etanol (Prasasty *et al.*, 2019) dan ekstrak metanol juga ditemukan senyawa alkaloid, terpenoid, flavonoid, saponin, steroid, dan tanin (Nagarani dan Kumaraguru,



2013). Pada ekstrak etil asetat juga ditemukan senyawa alkaloid (Muhimmah, 2016), senyawa flavonoid dan saponin (Hudaifah *et al*, 2020), serta senyawa terpenoid, steroid, dan fenol (Kurnia *et al.*, 2022).

Terdapat beberapa senyawa yang telah ditemukan pada *K. Alvarezii*, diantaranya senyawa ethyl iso-allocholate, ergosta-5,22-dien-3-ol (3a, 22E), sesamin, asam tetradekanoat, furfural, dan senyawa asam heksadekanoat (Prasasty *et al.*, 2019), serta ditemukan senyawa-senyawa sterol seperti kolesterol (Tirtawijaya *et al.*, 2019),  $\beta$ -sitosterol, stigmasterol, fukosterol, kampesterol, dan desmosterol (Mardaneni, 2017), serta senyawa fitosterol (Ranganayaki *et al.*, 2014). Terdapat juga kandungan senyawa lainnya yang berhasil diisolasi diantaranya senyawa alkaloid jenis indol (Mufadal, 2015), triterpenoid (Anam, 2015) (Andriani *et al.*, 2015), fenol (Ranganayaki *et al.*, 2014), serta senyawa 12-trikosanon, n-heptanoyl-n-hexanoylheptanamide, dan n-nonanoyl-n-octanoylnonanamide (Muhimmah, 2016).

Beberapa diantara senyawa-senyawa tersebut menunjukkan adanya aktivitas sebagai antikanker, diantaranya senyawa ethyl iso-allocholate terhadap kanker paru-paru A549 dengan nilai  $IC_{50}$  80  $\mu\text{g/mL}$  (Thakur dan Ahirwar, 2019), asam heksadekanoat terhadap sel kanker usus besar HT-29 dengan nilai  $IC_{50}$  36,04  $\mu\text{g/mL}$  (Bharath *et al.*, 2021), serta aktivitas terhadap *cell line* HepG2 dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 0,42  $\mu\text{g/mL}$  (Abdelrheem *et al.*, 2021). Senyawa  $\beta$ -sitosterol dan stigmasterol menunjukkan aktivitas antikanker terhadap sel MCF-7 dengan hasil nilai  $IC_{50}$  yang sama, yaitu sebesar 8,56  $\mu\text{g/mL}$  (Nurcahyani *et al.*, 2015), senyawa  $\beta$ -sitosterol juga memiliki bioaktivitas terhadap *cell line* HepG2 dengan nilai  $IC_{50}$  0,34  $\mu\text{g/mL}$  (Abdelrheem *et al.*, 2020), senyawa indol terhadap *cell line* kanker hati HepG2 dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 24,6  $\mu\text{g/mL}$  (Abdelrheem *et al.*, 2020), senyawa triterpenoid terhadap penghambatan sel kanker MCF-7 dan HepG2 dengan nilai  $IC_{50}$  berturut turut 62,43  $\mu\text{g/mL}$  dan 12,03  $\mu\text{g/mL}$  serta aman terhadap sel normal (Abubakar, 2016), dan juga senyawa fukosterol sebagai antitumor kolon dan payudara dengan nilai  $IC_{50}$  27,9  $\mu\text{g/mL}$  dan  $IC_{50}$  70,41  $\mu\text{g/mL}$ , namun senyawa fukosterol tidak menunjukkan efek toksisitas pada sel normal sampai konsentrasi 70  $\mu\text{g/mL}$  (Ostad, 2012).

Kandungan senyawa metabolit sekunder tersebut menjadikan rumput laut jenis *K.alvarezii* sebagai salah satu sumber bahan kimia alami yang berpotensi sebagai senyawa antikanker. Pengembangan agen antikanker dari tumbuhan tradisional merupakan salah satu upaya komprevensi yang dapat dilakukan

dalam pemanfaatan keanekaragaman hayati (Sarasma dan Laksmiati, 2015). Seperti yang diketahui bahwa, berbagai upaya pengobatan kanker telah dilakukan mulai dari radioterapi, pembedahan, kemoterapi, imunoterapi, dan terapi hormon (Miller *et al.*, 2019), namun masih cukup beresiko disebabkan pada teknik kemoterapi dan radioterapi selain dapat membunuh sel kanker juga dapat merusak sel normal, serta teknik pembedahan dengan pengangkatan sel kanker yang tidak sempurna sehingga mengakibatkan jaringan kanker yang baru dapat tumbuh kembali (Adelina, 2014).

Metode pendahuluan untuk menentukan adanya aktivitas antikanker pada penelitian ini adalah *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Penggunaan *bioassay* dilakukan untuk menentukan residu insektisida, menentukan senyawa anestetik, serta menentukan tingkat toksisitas. Suatu ekstrak tergolong toksik jika dapat menyebabkan kematian 50% hewan uji pada konsentrasi yang kurang dari 1000 ppm (Meyer *et al.*, 1982). Metode uji BSLT dengan hewan uji *Artemia salina* Leach dianggap memiliki korelasi dengan daya sitotoksik senyawa antikanker, sehingga sering dilakukan untuk skrining awal pencarian senyawa antikanker (Meyer *et al.*, 1982). Sedangkan, untuk menentukan aktivitas sitotoksik digunakan metode *Prestoblue* untuk menentukan parameter nilai  $IC_{50}$  yang menunjukkan konsentrasi penghambatan proliferasi sel sebesar 50% dan menunjukkan potensi ketoksikan suatu senyawa terhadap sel, serta dapat menunjukkan potensi suatu senyawa sebagai sitotoksik. Semakin besar nilai  $IC_{50}$  maka senyawa tersebut semakin tidak toksik (Doyle dan Griffiths, 2000).

Adapun penelitian yang telah dilakukan mengenai bioaktivitas alga merah *K. alvarezii* terhadap *A. salina* diantaranya, ekstrak butanol memiliki aktivitas toksik dengan nilai  $LC_{50}$  72,32 ppm (Afif *et al.*, 2015), ekstrak etil asetat dan metanol dengan kategori sangat toksik dengan nilai  $LC_{50}$  14,69 ppm dan 20,00 ppm (Nurrachmi *et al.*, 2018). Nilai  $LC_{50}$  dari ketiga ekstrak tersebut menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat memiliki toksisitas paling besar. Ekstrak etil asetat juga dilaporkan memiliki aktivitas sitotoksik paling kuat terhadap sel HCT-116 dan sel HeLa servik dengan nilai  $IC_{50}$  21,40  $\mu\text{g/mL}$  (Arsianti *et al.*, 2016) dan nilai  $IC_{50}$  4,34  $\mu\text{g/mL}$  (Arsianti *et al.*, 2018).

Berdasarkan uraian tersebut maka, penelitian ini dilakukan untuk mengisolasi, mengkarakterisasi, dan menguji aktivitas antikanker senyawa kimia yang terdapat pada ekstrak etil asetat *K. alvarezii*.

## 1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian ini yaitu:

1. Golongan senyawa kimia apa yang terdapat dalam ekstrak etil asetat *K.alvarezii*?
2. Bagaimana toksisitas ekstrak etil asetat *K.alvarezii* terhadap *A.salina*?
3. Apa nama isolat dari ekstrak etil asetat *K.alvarezii*?
4. Bagaimana kemampuan sitotoksik isolat *K.alvarezii* terhadap kanker payudara (MCF-7)?

## 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk:

1. Menentukan golongan senyawa pada ekstrak dan isolat etil asetat *K.alvarezii*.
2. Menganalisis toksisitas ekstrak etil asetat *K.alvarezii* terhadap larva *A.salina*.
3. Mengisolasi dan menganalisis struktur isolat dari ekstrak etil asetat *K.alvarezii*.
4. Menganalisis kemampuan sitotoksik isolat *K.alvarezii* terhadap kanker payudara (MCF-7).

## 1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah:

1. Menjadi acuan dasar dalam pembuatan obat antikanker payudara (MCF-7) khususnya bidang Farmakologi.
2. Memberikan data terkait dalam bidang Kimia mengenai struktur senyawa yang berpotensi sebagai antikanker.
3. Memberikan informasi kepada masyarakat mengenai manfaat lain *K.alvarezii* yang memiliki potensi antikanker payudara (MCF-7).

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Tinjauan Umum Rumput Laut

Produsen rumput laut terbesar kedua setelah Tiongkok adalah Indonesia, dengan volume ekspor tahun 2020 sebesar 195.574 ton (KKP RI, 2021). Daerah ekspor rumput laut terbesar di Indonesia adalah Sulawesi Selatan dengan kontribusi sebesar 47,95% dari total ekspor rumput laut dan mengalami peningkatan sebesar 8,7 % dari tahun 2014 sebesar 2,8 juta ton menjadi 3,4 juta ton pada tahun 2016. Daerah yang memiliki produksi rumput laut terbanyak di Sulawesi Selatan adalah Kabupaten Takalar dengan produksi sebesar 733.972 ton pada tahun 2014 yang terus meningkat hingga pada tahun 2016 mencapai 923.832 ton. Rumput laut yang dikembangkan di Sulawesi Selatan terdiri atas 2 jenis yaitu (*Eucheuma cottonii* dan *Spinosium sp*) yang dibudidayakan di laut dan (*Gracilaria sp*) yang dibudidayakan di tambak (Dinas KKP RI, 2017). Rumput laut merupakan salah satu tumbuhan laut yang tergolong dalam makroalga yang biasa hidup melekat di dasar perairan dan merupakan ganggang laut yang tergolong dalam divisi *Thallophyta*.

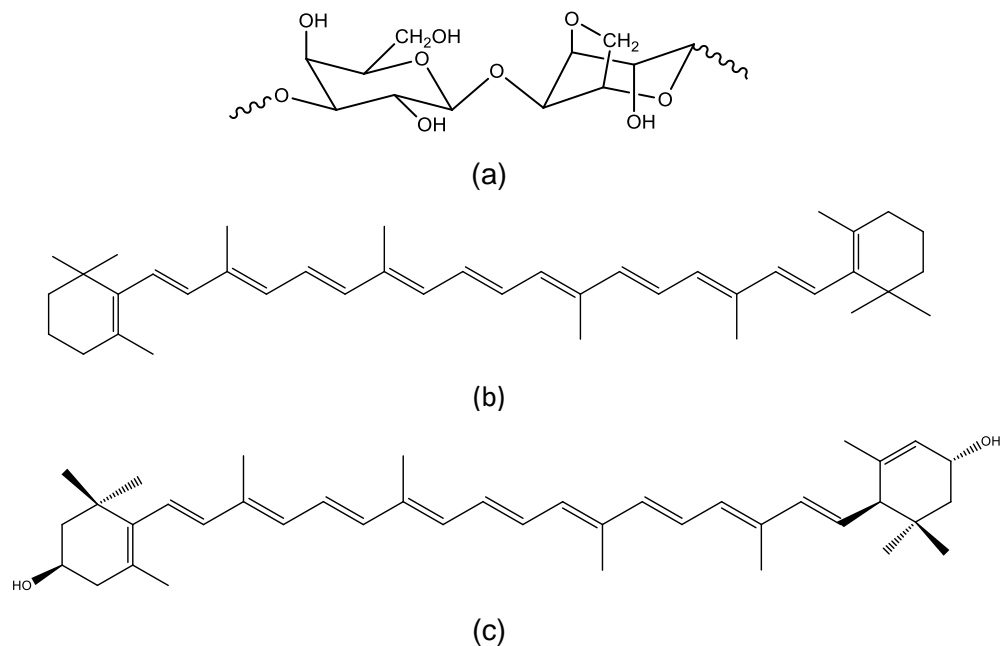
Rohmimohtarto dan Juwana (2005) memaparkan sebagian besar makroalga mempunyai warna indah yang disebabkan pigmen-pigmen dari kromatofor menyerap matahari untuk fotosintesis. KKP RI (2019) melaporkan, secara umum rumput laut digolongkan menjadi 3 kelas yakni sebagai berikut: Alga Merah (*Rhodophyceae*), Alga Cokelat (*Phaeophyceae*), dan Alga Hijau (*Chlorophyceae*).

Alga hijau (*Chlorophyceae*) dapat ditemukan pada kedalaman hingga 10 meter atau lebih dan memiliki penyinaran yang cukup. Rumput laut jenis ini tumbuh melekat pada substrat seperti batuan, karang mati, cangkang moluska, dan ada pula yang tumbuh di atas pasir. Terdapat sekitar 14 jenis telah dimanfaatkan sebagai bahan konsumsi dan obat (Kordi, 2011).

Alga cokelat (*Phaeophyceae*) merupakan jenis rumput laut yang memiliki ukuran besar. Alga cokelat ada yang membentuk padang alga di laut lepas. Tumbuhan jenis ini terdapat sekitar 8 marga dan merupakan kelompok alga laut

penghasil algin (alginofit). Jenis rumput laut cokelat yang berasal dari kelas ini yang terutama sebagai penghasil algin ialah *Sargassum* sp, *Cystoseira* sp, dan *Turbinaria* sp (Kordi, 2011).

Alga merah (*Rhodophyceae*) atau yang biasa disebut rumput laut merah merupakan kelas dengan spesies yang bernilai ekonomis dan paling banyak dimanfaatkan. Tumbuhan ini berada di dasar laut sebagai fitobentos dengan menancapkan dirinya pada substrat lumpur, pasir, karang hidup, karang mati, cangkang moluska, batu vulkanik ataupun kayu. Habitat tumbuhan ini adalah terumbu karang dan dapat hidup pada kedalaman mulai dari garis pasang surut terendah sampai sekitar 40 meter. Alga merah yang terdapat di Indonesia terdiri dari 17 marga dan 34 jenis, serta 31 jenis diantaranya sudah banyak dimanfaatkan dan bernilai ekonomis (Kordi, 2011). Alga merah termasuk kelompok alga yang spesiesnya memiliki berbagai bentuk daun dengan variasi warna. Ukuran *thallus* pada alga merah umumnya tidak begitu besar, bentuk *thallus* silindris, gepeng dan lembaran. Sistem percabangannya ada yang sederhana (berupa filamen) dan ada pula dengan percabangan yang kompleks (Dawes, 1998). Alga merah menurut MacArtain *et al.* (2007), dikenal sebagai penghasil fikokoloid seperti agarosa, dan mengandung pigmen lain seperti  $\beta$ -karoten ( $C_{40}H_{56}$ ) dan xantofil ( $C_{40}H_{56}O_2$ ) yang ditunjukkan pada Gambar 1.



**Gambar 1. Struktur senyawa yang terkandung dalam alga merah (agarosa (a),  $\beta$ -karoten (b), dan xantofil (c))**

Jenis rumput laut yang termasuk dalam kelas alga merah sebagai penghasil karaginan adalah *Kappaphycus* dan *Hypnea*, sedangkan yang mengandung agar-agar (agarofit) adalah *Gracilaria* dan *Gelidium* (Kordi, 2011). Salah satu jenis dari ratusan jenis makroalga yang tumbuh dan berkembang di perairan Indonesia yang dibudidayakan secara komersil adalah *Kappaphycus alvarezii* (Kasim, 2013). Rumput laut ini berasal dari kelompok *Eucheuma* yang mengalami perubahan nama dari *Eucheuma cottonii* Doty dan saat ini dikenal dengan nama *Kappaphycus alvarezii* Doty dengan nama dagang cottonii (Ask dan Azanza, 2002). Jenis rumput laut ini dikenal baik di pasar global dengan nama *Eucheuma cottonii* atau dengan nama lain *Kappaphycus alvarezii* yang termasuk dalam jenis alga merah. Jenis ini memiliki porsi 71,59% dari total ekspor produk rumput laut Indonesia di tahun 2020 (Kemenkeu RI, 2021).

## 2.2 Rumput Laut *Kappaphycus alvarezii* (*K. alvarezii*)

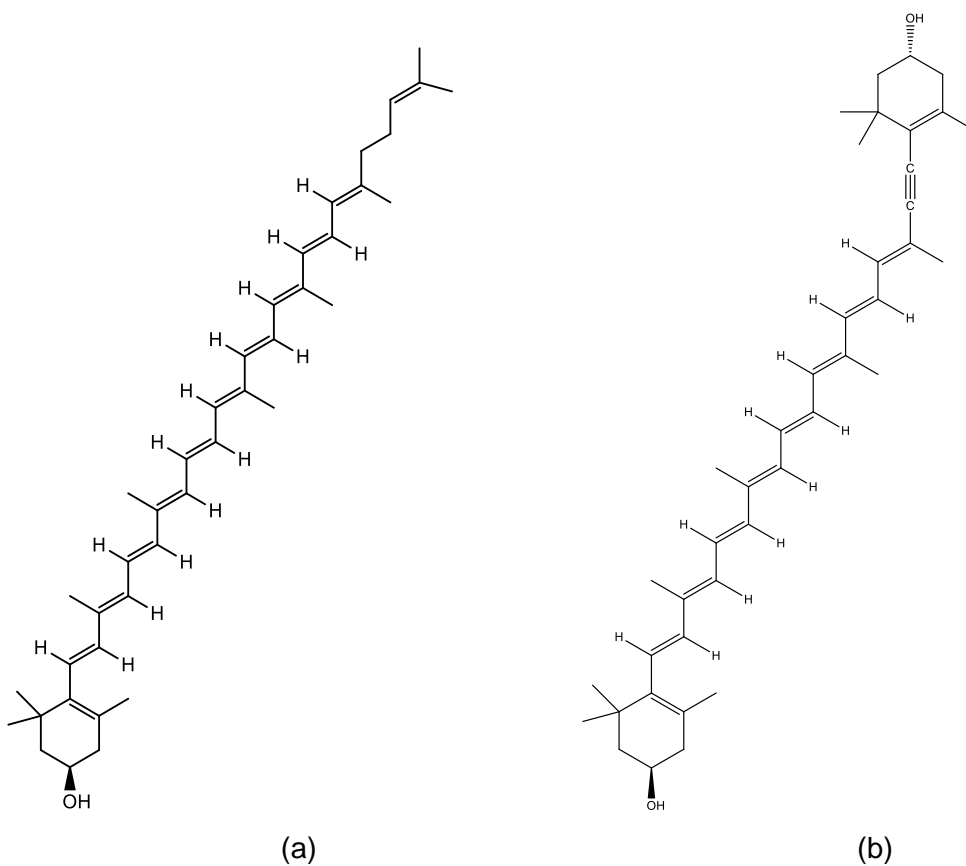
Klasifikasi *K. alvarezii* sebagai berikut (Cholik *et al.*, 2005):

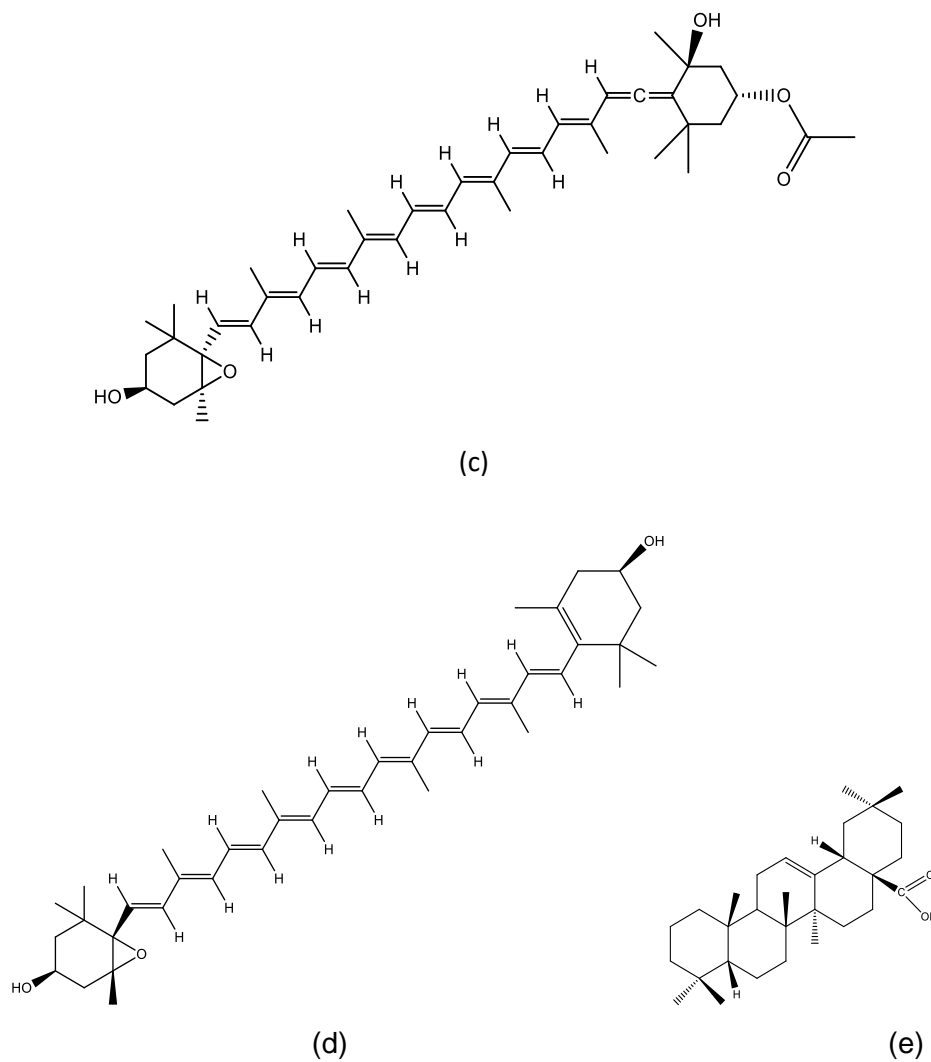
Phylum	: Hallophyta
Kelas	: Rhodophyceae
Ordo	: Gigartinales
Famili	: Solieriaceae
Genus	: <i>Kappaphycus</i>
Spesies	: <i>Kappaphycus alvarezii</i> .



Gambar 2. *Kappaphycus alvarezii*.

Rumput laut famili Solieriaceae mengandung senyawa metabolit sekunder dari berbagai jenis spesies. Adapun spesies yang telah di teliti diantaranya, *E. denticulatum* menurut Balasubramaniam *et al.* (2020), mengandung beberapa karotenoid seperti rubixanthin, diatoxanthin, dinoxanthin, dan antheraxanthin yang ditunjukkan pada Gambar 3. *E. spinosum* menurut Ahmad dan Massi (2013), mengandung triterpenoid asam karboksilat yang ditunjukkan pada Gambar 3, yang di karakterisasi menggunakan spektroskopi IR dan 1D-NMR; menurut Anggraini *et al.* (2021) ekstrak n-heksana menunjukkan hasil positif terhadap alkaloid dan steroid dengan nilai  $LC_{50}$  44,25 ppm terhadap *A. salina*; serta Inayah (2016) berhasil mengisolasi senyawa 3-(17-kloro-16-butenil)-7-(3-metil-butil)-siklo-7-oktenoat ( $C_{16}H_{25}ClO_2$ ) dan 4-propionil-klorida-8-pentil-siklo-6-oktenoat ( $C_{15}H_{23}ClO_3$ ) yang di karakterisasi menggunakan spektroskopi FTIR, UV-Vis, dan NMR.





**Gambar 3. Struktur senyawa dari famili Soliriaceae (rubixanthin (a), diatoxanthin (b), dinoxanthin (c), antheraxanthin (d), dan triterpenoid asam karboksilat (e))**

Rumput laut *K. alvarezii* juga termasuk dalam famili Soliriaceae. Budidaya *K. alvarezii* pertama kali menggunakan bibit yang berasal dari Tambalang-Filipina sebagai negara yang pertama kali mengekspor rumput laut jenis ini, kemudian bibit tersebut dikembangkan diberbagai daerah-daerah di Indonesia (Ask dan Azanza, 2002). Daerah budidaya pertama di Indonesia dilakukan di Kalimantan (Doty, 1970). Budidaya rumput laut jenis tersebut secara komersil baru dilakukan di Indonesia sejak tahun 1985 jauh setelah teknologi budidaya rumput laut diperkenalkan di Filipina sejak tahun 1971 (Ask dan Azanza, 2002).

Ciri-ciri morfologi *K. alvarezii* menurut Atmadja *et al.* (1996) adalah mempunyai *thallus* berbentuk silindris, permukaan licin, warna hijau, kuning, abu-abu atau merah. Penampakan *thallus* bervariasi mulai dari bentuk sederhana



sampai kompleks. Percabangan ke berbagai arah dengan cabang utama keluar saling berdekatan ke daerah basal (pangkal). Cabang-cabang pertama dan kedua tumbuh dengan membentuk rumpun yang rimbun dengan ciri khusus mengarah ke arah datangnya sinar matahari.

*K. alvarezii* tumbuh di permukaan terumbu karang dangkal sampai kedalaman 6 meter, melekat di batu karang, cangkang kerang dan benda keras lainnya. Faktor yang sangat berpengaruh pada pertumbuhan rumput laut yakni arus yang cukup dan salinitas (kadar garam) yang stabil, yaitu berkisar 28 - 34 per mil. Oleh karena itu, *K. alvarezii* akan hidup baik bila jauh dari muara sungai. Jenis ini telah dibudidayakan dengan cara diikat pada tali sehingga tidak perlu melekat pada substrat karang atau benda lainnya (Anggadiredja *et al.*, 2006).

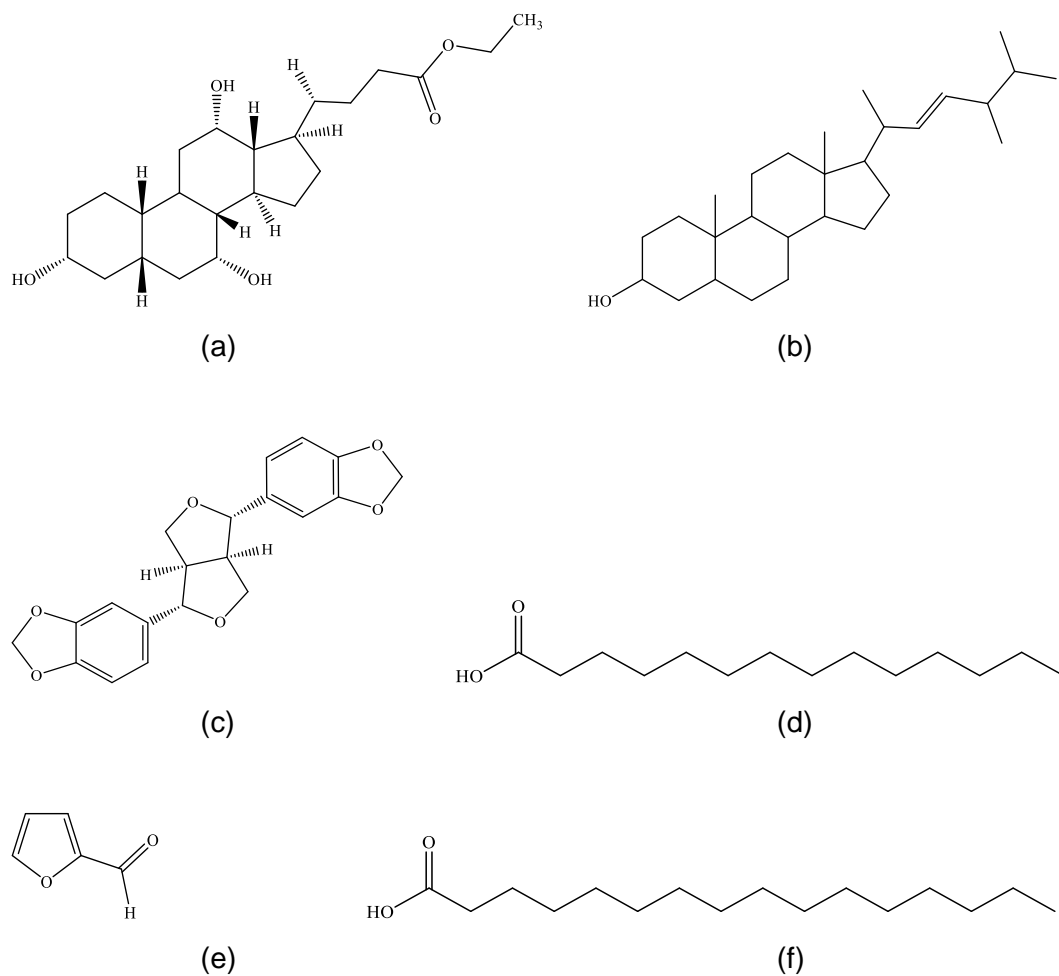
*K. alvarezii* digunakan untuk memproduksi karagenan yang berfungsi sebagai *stabilizer*, gel, pengikat, pengental, dan suplemen dalam industri farmasi dan makanan (Liu *et al.*, 2019). Memiliki protein, serat pangan, antioksidan, vitamin yang tinggi, polifenol, mineral, asam lemak, dan fitokimia yang memiliki banyak kegunaan medis (Noor *et al.*, 2018). *K.alvarezii* juga digunakan sebagai makanan alternatif untuk terapi kanker payudara (Namvar *et al.*, 2012). Serat larut air *K.alvarezii* berperan menurunkan kolesterol darah, diabetes, penyakit hati dan kanker (Mohamed *et al.*, 2012).

### 2.3 Kandungan Senyawa dalam *K. alvarezii*

Ranganayaki *et al.* (2014) melaporkan kandungan metabolit sekunder hasil ekstraksi *K. alvarezii* dengan akuades menunjukkan hasil positif terhadap senyawa alkaloid, saponin, fenolik, steroid, flavonoid, dan tanin. Pada ekstrak n-heksana ditemukan senyawa triterpenoid dan alkaloid, pada ekstrak kloroform ditemukan senyawa flavonoid, triterpenoid dan alkaloid (Andriani *et al.*, 2015), pada ekstrak etil asetat ditemukan senyawa alkaloid (Muhimmah, 2016), flavonoid dan saponin (Hudaifah *et al.*, 2020), serta senyawa terpenoid, steroid, dan fenol (Kurnia *et al.*, 2022). Senyawa alkaloid, terpenoid, flavonoid, saponin, steroid, dan tanin juga ditemukan pada ekstrak etanol (Prasasty *et al.*, 2019) dan ekstrak metanol (Nagarani dan Kumaraguru, 2013).

Prasasty *et al.* (2019) melaporkan bahwa ekstrak yang di karakterisasi dengan menggunakan spektrofotometer GC-MS terdapat beberapa senyawa, diantaranya *ethyl iso-allocholate* (C<sub>23</sub>H<sub>38</sub>O<sub>5</sub>), *ergosta-5,22-dien-3-ol* (3a, 22E)

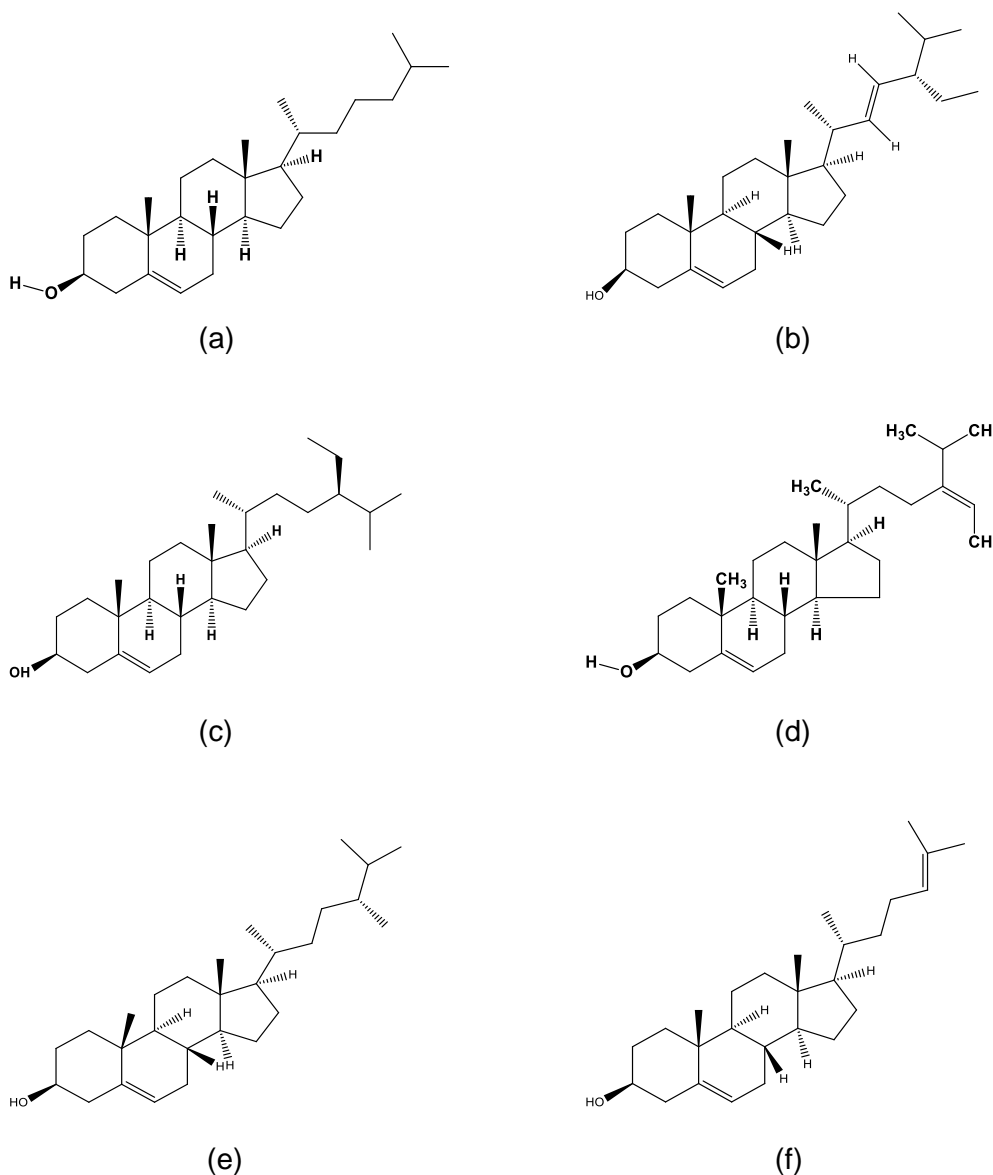
( $C_{28}H_{46}O$ ), sesamin ( $C_{20}H_{18}O_6$ ), asam tetradekanoat ( $C_{18}H_{36}O_2$ ), furfural ( $C_5H_4O_2$ ), dan asam heksadekanoat ( $C_{16}H_{32}O_2$ ) yang ditunjukkan pada Gambar 4. Senyawa *ethyl iso-allocholate* menunjukkan penghambatan terhadap kanker paru-paru A549 dengan nilai  $IC_{50}$  80  $\mu\text{g/mL}$  (Thakur dan Ahirwar, 2019). Asam heksadekanoat berperan sebagai penghambat pertumbuhan sel pada sel kanker usus besar HT-29 dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 36,04  $\mu\text{g/mL}$  (Bharath *et al.*, 2021) serta aktivitas terhadap *cell line* HepG2 dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 0,42  $\mu\text{g/mL}$  (Abdelrheem *et al.*, 2021).



**Gambar 4.** Struktur senyawa *ethyl iso-allocholate* (a), *ergosta-5,22-dien-3-ol* (3a, 22E) (b), *sesamin* (c), *asam tetradekanoat* (d), *furfural* (e), dan *asam heksadekanoat* (f)

Senyawa sterol yang paling melimpah dari *K. alvarezii* adalah senyawa kolesterol yang ditunjukkan pada Gambar 5 (Tirtawijaya *et al.*, 2019). Sterol

menunjukkan efek menurunkan kolesterol dan antikarsinogenik yang dapat melibatkan aksi senyawa tersebut sebagai antikanker (Choi *et al.*, 2007). Mardaneni (2017) juga melaporkan senyawa-senyawa sterol dari *K. alvarezii* yang berhasil diisolasi diantaranya senyawa  $\beta$ -sitosterol, stigmasterol, fukosterol, kampesterol, dan desmosterol yang ditunjukkan pada Gambar 5, yang di karakterisasi dengan menggunakan spektroskopi UV-Vis dan LC-MS/MS.

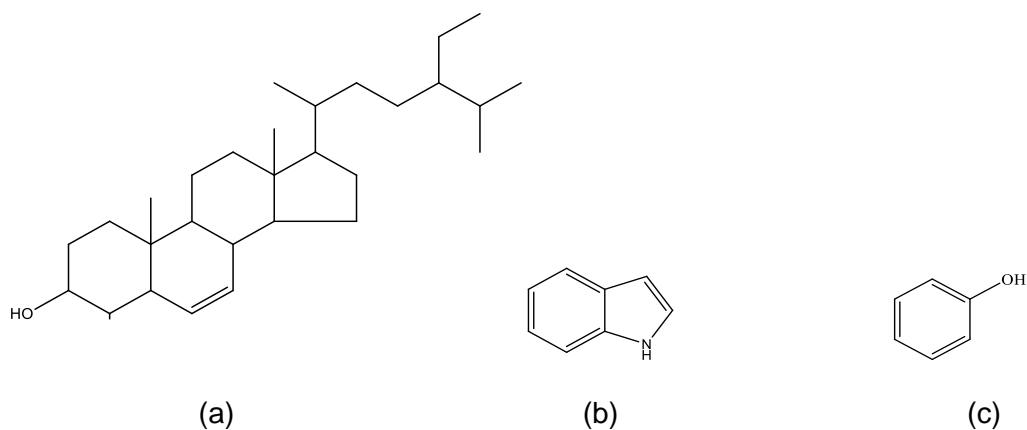


**Gambar 5. Struktur senyawa steroid (kolesterol (a),  $\beta$ -sitosterol (b), stigmasterol (c), fukosterol (d), kampesterol (e), dan desmosterol (f))**

Penelitian isolasi terhadap senyawa  $\beta$ -sitosterol dan stigmasterol menunjukkan adanya aktifitas antikanker terhadap sel MCF-7 dengan hasil nilai

IC<sub>50</sub> yang sama, yaitu sebesar 8,56 µg/mL (Nurchayani *et al.*, 2015). Senyawa β-sitosterol juga memiliki bioaktivitas terhadap *cell line* HepG2 dengan nilai IC<sub>50</sub> 0,34 µg/mL (Abdelrheem *et al.*, 2020). Senyawa fukosterol memiliki efek antitumor kolon dan payudara dengan aktivitas sitotoksik terhadap proliferasi sel tumor karsinoma *breast ductal* dengan nilai IC<sub>50</sub> 27,9 µg/mL dan kolon dengan nilai IC<sub>50</sub> 70,41 µg/mL namun fukosterol tidak menunjukkan efek toksisitas pada sel normal sampai konsentrasi 70 µg/mL (Ostad *et al.*, 2012).

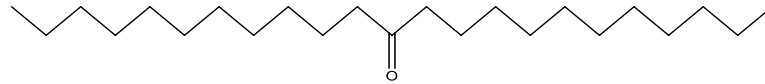
Isolat dari ekstrak *K. alvarezii* yang di karakterisasi dengan menggunakan spektroskopi UV-Vis dan FTIR mengandung senyawa alkaloid jenis indol (C<sub>8</sub>H<sub>7</sub>N) (Mufadal, 2015), dan senyawa triterpenoid (C<sub>30</sub>H<sub>48</sub>) (Anam, 2015). Senyawa indol memiliki bioaktivitas terhadap *cell line* kanker hati HepG2 dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 24,6 µg/mL (Abdelrheem *et al.*, 2020). Senyawa triterpenoid dapat menghambat proliferasi sel kanker MCF-7 dan HepG2 dengan nilai IC<sub>50</sub> berturut turut 62,43 µg/mL dan 12,03 µg/mL serta aman terhadap sel normal (Abubakar, 2016). Andriani *et al.* (2015) juga menemukan senyawa triterpenoid (C<sub>30</sub>H<sub>48</sub>), serta Ranganayaki *et al.* (2014) menemukan senyawa fitosterol (C<sub>29</sub>H<sub>49</sub>O) dan fenol (C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>O). Struktur senyawa-senyawa tersebut dapat dilihat pada Gambar 6.



**Gambar 6. Struktur senyawa fitosterol (a), indol (b), dan fenol (c)**

Muhimmah (2016), mengisolasi 3 senyawa metabolit sekunder yang di karakterisasi dengan menggunakan spektroskopi FTIR, UV-Vis, LC-MS, dan NMR. Isolat pertama diusulkan sebagai 12-trikosanon (C<sub>23</sub>H<sub>46</sub>O) yang ditunjukkan pada Gambar 7. Isolat kedua merupakan senyawa alkaloid dengan nama *n-heptanoyl-n-hexanoylheptanamide* (C<sub>20</sub>H<sub>37</sub>NO<sub>3</sub>). Disamping itu, ada

isolat ketiga dengan usulan nama *n-nonanoyl-n-octanoylnonanamide* ( $C_{26}H_{49}NO_3$ ).



Gambar 7. Struktur senyawa 12-trikosanon

## 2.4 Bioaktivitas *K. alvarezii*

Ekstrak etil asetat dan metanol *K. alvarezii* bersifat toksik terhadap *A. salina* Leach dengan nilai  $LC_{50}$  14,69 ppm dan 20,00 ppm (Nurrachmi *et al.*, 2018). Fraksi butanol memiliki aktivitas kuat dengan nilai  $LC_{50}$  72,32 ppm terhadap *A. salina* Leach (Afif *et al.*, 2015).

Ekstrak metanol memiliki aktivitas antioksidan kuat dengan nilai  $IC_{50}$  105,04  $\mu\text{g/mL}$  (Nurjanah *et al.*, 2017) dan nilai  $IC_{50}$  23,15  $\mu\text{g/mL}$  (Yuniarti *et al.*, 2017). Ekstrak aquades memiliki aktivitas antioksidan kuat dengan nilai  $IC_{50}$  1,99  $\mu\text{g/mL}$  (Teo *et al.*, 2021). Ekstrak kasar polisakarida memiliki aktivitas antioksidan kuat dengan nilai  $IC_{50}$  72,49  $\mu\text{g/mL}$  dan memiliki aktivitas toksik dengan nilai  $LC_{50}$  165,88 ppm (Muawanah *et al.*, 2016). Ekstrak etanol berpotensi sebagai agen antioksidan dan antidiabetes dengan nilai  $IC_{50}$  dibawah 100  $\mu\text{g/mL}$  (Prasasty *et al.*, 2019).

## 2.5 Aktivitas Antikanker *K. Alvarezii*

Ekstrak *K. alvarezii* memiliki bioaktivitas antikanker seperti yang ditampilkan pada Tabel 1. Berdasarkan data aktivitas antikanker *K. alvarezii* yang ditunjukkan pada Tabel 1, maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak metanol memiliki aktivitas sitotoksik paling kuat terhadap MCF-7 dengan nilai  $IC_{50}$  4,1  $\mu\text{g/mL}$  (Chang *et al.*, 2017); ekstrak polifenol memiliki aktivitas sitotoksik kuat terhadap MB-MDA-231 dengan nilai  $IC_{50}$  42  $\mu\text{g/mL}$  (Namvar *et al.*, 2012); dan ekstrak etil asetat memiliki aktivitas sitotoksik paling kuat terhadap sel HCT-116 dan sel HeLa servik dengan nilai  $IC_{50}$  21,4  $\mu\text{g/mL}$  (Arsianti *et al.*, 2016) dan nilai  $IC_{50}$  4,34  $\mu\text{g/mL}$  (Arsianti *et al.*, 2018). Adanya aktivitas sitotoksik kuat terhadap sel HCT-116 dan sel HeLa servik dari ekstrak etil asetat memungkinkan juga

adanya aktivitas sitotoksik terhadap sel MCF-7. Hal tersebut menjadi rujukan dalam penelitian ini, dikarenakan ekstrak etil asetat belum pernah diujikan aktivitas sitotoksiknya terhadap sel MCF-7.

**Tabel 1.** Aktivitas Antikanker *K. alvarezii*

Ekstrak	Sel uji	Nilai IC <sub>50</sub> (µg/mL)	Referensi
Etanol	HCT-116	75,7	Arsianti <i>et al.</i> (2016)
	Sel HeLa servik	7,54	Arsianti <i>et al.</i> (2018)
Etil asetat	HCT-116	21,4	Arsianti <i>et al.</i> (2016)
	Sel HeLa servik	4,34	Arsianti <i>et al.</i> (2018)
n-heksana	Sel HeLa servik	5,73	Arsianti <i>et al.</i> (2018)
Metanol	MCF-7	4,1	Chang <i>et al.</i> (2017)
Kloroform	Sel HeLa servik	4,82	Arsianti <i>et al.</i> (2018)
Polifenol	MCF-7	20	Namvar <i>et al.</i> (2012)
	MB-MDA-231	42	Namvar <i>et al.</i> (2012)

## 2.6 Uji *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Uji BSLT merupakan tes umum yang dilakukan untuk menunjukkan adanya kemampuan bioaktivitas dari suatu ekstrak kasar. Metode uji BSLT menggunakan *Artemia salina* Leach dianggap memiliki korelasi dengan daya sitotoksik senyawa antikanker, sehingga sering dilakukan untuk skrining awal pencarian senyawa antikanker (Meyer *et al.*, 1982). Larva *A. salina* sangat peka terhadap apapun yang berada dilingkungannya dan berkembang dengan sangat cepat menyerupai pertumbuhan sel kanker. Difusi zat dari lingkungannya dapat mempengaruhi metabolisme yang disebabkan karena keadaan membran kulitnya yang sangat tipis. Oleh karena itu, penambahan senyawa bioaktif yang berpotensi sebagai senyawa obat diharapkan mampu mengganggu metabolisme dan menyebabkan kematian larva udang (Meilani, 2006).

Kematian hewan uji disebabkan karena adanya senyawa uji yang masuk kedalam tubuh hewan uji melalui difusi dan transport aktif. Senyawa tersebut akan menyebabkan kerusakan permeabilitas membran sehingga dapat mengacaukan transport ion dan menyebabkan penurunan produksi ATP (Connel dan Miller, 1995). Senyawa tersebut menghambat daya makan dengan bertindak sebagai racun perut atau stomach poisoning yaitu sebuah interaksi penyerangan yang dapat membunuh suatu hewan uji dengan menyerang sistem pencernaan

yang dapat mempengaruhi metabolisme larva yang mengganggu reseptor perasa pada mulut *A. salina*. Hal tersebut dapat mengakibatkan *A. salina* kehilangan stimulus rasa sehingga larva tidak mampu mengenali makanannya dan menyebabkan larva mati kelaparan (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995).

Uji BSLT dilakukan dengan membuat larutan ekstrak dengan konsentrasi yang berbeda-beda, kemudian masing-masing ditambahkan air laut 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 (Zuraidah, 2018). Selanjutnya dihitung persen (%) kematian larva dengan persamaan (1)

$$\text{Persen kematian} = \frac{\text{jumlah larva mati}}{\text{jumlah larva mati} + \text{jumlah larva hidup}} \times 100 \% \quad (1)$$

Nilai persen kematian larva selanjutnya diplot ke dalam grafik dengan nilai konsentrasi larutan ekstrak. Sehingga diperoleh persamaan regresi, yang selanjutnya digunakan untuk menentukan nilai LC<sub>50</sub>. Adapun tingkat toksisitas berdasarkan nilai LC<sub>50</sub> ditunjukkan pada Tabel 2 (Meyer *et al.*, 1982).

**Tabel 2.** Tingkat Toksisitas berdasarkan Nilai LC<sub>50</sub>

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

## 2.7 Uji Antikanker terhadap Sel MCF-7

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). Sel MCF-7 dapat melekat dan ditumbuhkan dalam media penumbuh RPMI (*Roswell Park Memorial Institute*) yang mengandung FBS (*Fetal Bovine Serum*) 10% dan antibiotik penisilin 1% (Shekan *et al.*, 1990).

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 kedalam 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  $IC_{50}$ . Tingkat toksisitas nilai  $IC_{50}$  terhadap sel kanker ditunjukkan pada Tabel 3 (Tanjung dan Sayekti, 2019).

**Tabel 3.** Tingkat Toksisitas berdasarkan Nilai  $IC_{50}$  terhadap Sel Kanker

Nilai $IC_{50}$ ( $\mu\text{g/ mL}$ )	Kategori toksisitas
$\leq 20$	Toksik kuat
21-200	Toksik moderat
201 - 500	Kurang toksik
$> 500$	Tidak toksik

Nilai  $IC_{50}$  menunjukkan konsentrasi yang menghasilkan penghambatan proliferasi 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 sitotoksitas 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).

## 2.8 Kerangka Pikir

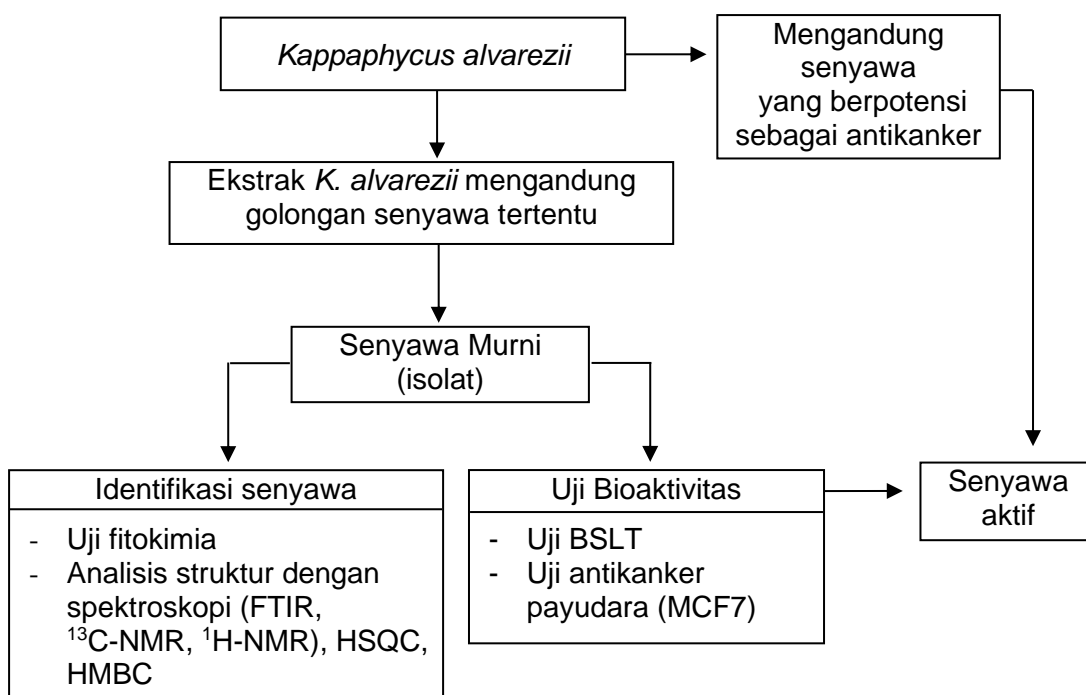
Indonesia merupakan produsen rumput laut terbesar kedua setelah Tiongkok, dengan volume ekspor tahun 2020 sebesar 195.574 ton. Daerah ekspor rumput laut terbesar di Indonesia yaitu Sulawesi Selatan dengan kontribusi sekitar 47,95%. Jenis rumput laut Indonesia yang dikenal baik di pasar global adalah *Eucheuma cottonii* dan saat ini dikenal dengan nama *Kappaphycus alvarezii* yang termasuk dalam jenis alga merah.

Salah satu jenis alga yang mengandung banyak manfaat adalah *K. alvarezii* yang digunakan sebagai makanan alternatif untuk terapi kanker payudara, antitumor dan antimikroba. *K. alvarezii* memiliki banyak manfaat karena mengandung senyawa metabolit sekunder diantaranya alkaloid, steroid dan triterpenoid. Steroid sendiri memiliki banyak manfaat yaitu sebagai penghambat kanker prostat. Triterpenoid digunakan untuk mengobati diabetes, gangguan menstruasi, gangguan kulit, antimalaria dan antitumor. Serat larut air *K. alvarezii* berperan menurunkan kolesterol darah, diabetes, penyakit hati dan kanker.

Kandungan senyawa metabolit sekunder tersebut menjadikan rumput laut jenis *K.alvarezii* sebagai salah satu sumber bahan kimia alami yang berpotensi sebagai senyawa antikanker. Pengembangan agen antikanker dari tumbuhan tradisional merupakan salah satu upaya komprevensi yang dapat dilakukan dalam pemanfaatan keanekaragaman hayati (Sarasmita, dkk, 2015). Metode awal dalam menentukan adanya aktivitas antikanker adalah metode BSLT yang dapat menunjukkan adanya bioaktivitas dari suatu ekstrak kasar. Aktivitas toksik pada BSLT dapat menunjukkan aktivitas toksik dan pestisida, sehingga biasa dijadikan acuan untuk pengujian antikanker. Sedangkan, untuk menentukan aktivitas sitotosik digunakan metode *Prestoblue* untuk menentukan parameter nilai  $IC_{50}$  yang menunjukkan konsentrasi penghambatan proliferasi sel sebesar

50% dan menunjukkan potensi ketoksikan suatu senyawa terhadap sel, serta dapat menunjukkan potensi suatu senyawa sebagai sitotoksik.

Penelitian ini bertujuan untuk menelusuri senyawa baru yang berpotensi sebagai bahan dasar obat antikanker payudara serta eksplorasi struktur senyawa metabolit sekunder ekstrak etil asetat *K. alvarezii*. Ekstrak etil asetat diperoleh dari proses ekstraksi bertingkat dengan metode maserasi untuk memisahkan senyawa dengan tingkat kepolaran yang berbeda. Ekstrak yang diperoleh difraksinasi dengan metode KKC dan KR. Kristal yang terbentuk direkristalisasi sehingga diperoleh isolat murni. Pada ekstrak etil asetat diuji fitokimia dan BSLT, sedangkan pada isolat dilakukan uji fitokimia, analisis FTIR, analisis NMR, dan uji antikanker payudara (MCF-7). Adapun kerangka pikir penelitian dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 8. Kerangka pikir

## 2.9 Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini adalah:

1. Ekstrak etil asetat rumput laut *K. alvarezii* mengandung senyawa metabolit sekunder berupa steroid, terpenoid, flavonoid, dan alkaloid.

2. Ekstrak etil asetat rumput laut memiliki toksisitas terhadap larva *A. salina* Leach.
3. Isolat rumput laut *K. alvarezii* merupakan senyawa semipolar.
4. Isolat rumput laut *K. alvarezii* memiliki efek penghambatan terhadap sel kanker payudara (MCF-7).