

**ISOLASI PROTEIN DAN PEPTIDA SEBAGAI KANDIDAT  
ANTIKANKER DARI BAKTERI SIMBION  
ALGA HIJAU *Caulerpa lentillifera***

*ISOLATION OF PROTEIN AND PEPTIDES AS CANDIDATES FOR  
ANTICANCER FROM SYMBIONT BACTERIA OF GREEN ALGAE  
*Caulerpa lentillifera**

**SITI KHAIRUNNUR**



**PROGRAM STUDI MAGISTER KIMIA  
SEKOLAH PASCASARJANA  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR**

**2022**

**ISOLASI PROTEIN DAN PEPTIDA SEBAGAI KANDIDAT  
ANTIKANKER DARI BAKTERI SIMBION  
ALGA HIJAU *Caulerpa lentillifera***

Tesis

sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar magister

Program Studi Magister Kimia

Disusun dan diajukan oleh

SITI KHAIRUNNUR  
H012 20 1 014

kepada

**PROGRAM MAGISTER KIMIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2022**

**ISOLASI PROTEIN DAN PEPTIDA SEBAGAI KANDIDAT ANTIKANKER  
DARI BAKTERI SIMBION ALGA HIJAU *Caulerpa lentillifera***

Disusun dan diajukan oleh

**SITI KHAIRUNNUR**

**NOMOR POKOK: H012201014**

Telah dipertahankan dihadapan Panitia Ujian Tesis  
pada tanggal 14 September 2022

Dan dinyatakan memenuhi syarat

Menyetujui:

Komisi penasehat

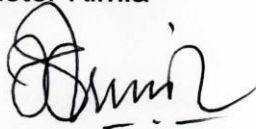


**Prof. Dr. Ahyar Ahmad**



**Dr. Rugaiyah A. Arfah, M.Si**

Ketua Program Studi  
Magister Kimia



**Dr. Hasnah Natsir, M.Si**

Dekan Fakultas MIPA  
Universitas Hasanuddin



**Dr. Eng Amiruddin, M.Si**

## PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Siti Khairunnur  
NIM : H012201014  
Program Studi : Kimia  
Jenjang : S2

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul

**Isolasi Protein dan Peptida sebagai Kandidat Antikanker dari Bakteri Simbion Alga Hijau *Caulerpa lentillifera***

Adalah karya tulisan saya sendiri dan bukan merupakan pengambilan alihan tulisan orang lain, bahwa Tesis yang saya tulis ini benar benar merupakan hasil karya saya sendiri.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan Tesis ini hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 30 September 2022

Yang menyatakan



Siti Khairunnur

## UCAPAN TERIMA KASIH

Bismillahirrahmananirrahim, segala puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT karena berkat rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis dengan judul **“ISOLASI PROTEIN DAN PEPTIDA SEBAGAI KANDIDAT ANTIKANKER DARI BAKTERI SIMBION ALGA HIJAU *Caulerpa lentillifera*”**

Shalawat dan salam tak lupa tercurahkan kepada Baginda Rasulullah SAW, kepada keluarganya, para sahabatnya, dan kepada umatnya hingga akhir zaman. Berhasilnya penulis dalam menyelesaikan penyusunan skripsi ini menandakan berakhirnya salah satu dimensi perjuangan sebagai syarat dalam memperoleh gelar sarjana di Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin.

Kepada kedua orang tua tercinta, ayahanda **H. Amiruddin, S. IP, MM.**, dan ibunda **Hj. Sukriati** terima kasih untuk setiap semangat, bantuan, kasih sayang dan doa yang senantiasa tak henti-hentinya diberikan kepada saya, semoga Allah senantiasa memberikan rahmat berupa kasih sayang, keteguhan hati di atas agama Allah, dan kemuliaan bukan hanya di dunia tapi juga di akhirat Insya Allah. Terima kasih juga kepada saudara-saudara saya **M. Fathurrachman, Siti Khairunnisa, M. Fadhil Ramadhan dan M. Fayyadh Assalam** yang selalu memberikan motivasi untuk saya, serta menjadi penyemangat bagi saya, semoga Allah senantiasa melindungi mereka di jalan kebenaran, Aamiin.

Ucapan terima kasih dan penghargaan penulis sampaikan kepada seluruh pihak yang membantu dalam proses penyelesaian skripsi ini, terutama kepada ayahanda **Prof. Ahyar Ahmad** dan ibunda **Dr. Rugaiyah A. Arfah, M.Si** selaku penasehat yang menjadi orang tua di kampus dan senantiasa meluangkan waktu, tenaga dan pikirannya dalam membimbing dan memberikan arahan yang baik, terutama dalam menyelesaikan penelitian ini.

Penulis juga tak lupa mengucapkan terima kasih dan penghargaan yang sebesar-besarnya kepada:

1. **Dr. Hasnah Natsir, M.Si**, selaku ketua program studi S2 Ilmu Kimia Universitas Hasanuddin, beserta dosen dan staf yang telah membantu penulis dalam perjalanan menyelesaikan pendidikan ini.

2. Dosen penguji ujian, yaitu **Prod. Dr. Nunuk Hariani Soekamto, M.S, Prof. Dr. Abdul Wahid Wahab, M.Sc** dan **Dr. Hasnah Natsir, M.Si**.
3. Seluruh **Analisis Laboratorium** di Departemen Kimia, terkhusus untuk **Kak Mahdalia, S.Si, M.Si** selaku analis Laboratorium Biokimia atas bantuan serta arahnya selama penelitian berlangsung.
4. Rekan partner peneliti biokimia **Besse, Inal, Jumardi, Mira, Ade** dan **Aisyah**. Terima kasih atas semangat, penghibur dikala suka dan duka, serta memberikan warna dalam kehidupan Lab Biokimia.
5. Teman-teman **Angkatan 2020 Ganjil**, terima kasih atas semangat, penghibur dikala suka dan duka.
6. Sahabat-sahabat Detective Conan **Ika, Ani, Devi, Ifah, Bernadet, Dian putri, dan Ardi**. Terima kasih telah hadir sebagai penghibur dan penyemangat dalam kemalasan mengerjakan Tesis ini.
7. Bestie Nano nano ku **Nopi, Nadet, Nabeel** yang selalu menjadi tempat mengeluarkan keluh kesah dan moodbooster dalam melakukan penelitian dan penyusunan Tesis.
8. **Kak Akbar, Kak Rafsan, Kak Asmi, dan Kak Sarni**, yang selalu menjadi tempat bertanya dan berkeluh kesah selama proses penelitian berlangsung sampai terselesaikannya Tesis ini.
9. Teman-teman **Kimia 2014** yang merupakan saudara seperjuangan dalam menimba ilmu di jurusan kimia. Terkhusus saudara-saudariku **PREKURSOR 2014**, terima kasih atas kebersamaan dan pengalaman, suka dan duka yang tak terlupakan "HMK Tempat kita di Bina, HMK Tempat kita di Tempa".
10. Semua pihak yang telah banyak membantu penulis selama menyelesaikan penelitian, terima kasih.

Penulis sadar bahwa laporan tesis ini tidak sempurna dan banyak kekurangan baik materi maupun teknik penulisannya, karena sejatinya kesempurnaan hanyalah milik Allah SWT. Oleh karena itu, penulis berharap saran dan kritikan yang bersifat membangun dari pembaca, dan semoga dapat memberikan manfaat bagi siapa saja dalam pengembangan ilmu pengetahuan kimia khususnya bidang biokimia.

Makassar, Juli 2022

Penulis

## ABSTRAK

Siti Khairunnur. Isolasi Protein dan Peptida Sebagai Kandidat Antikanker dari Bakteri Simbion Alga Hijau *Caulerpa lentillifera* (dibimbing oleh **Ahyar Ahmad** dan **Rugaiyah A. Arfah**)

*Caulerpa lentillifera* merupakan salah satu jenis alga hijau yang memiliki kemampuan bersimbiosis dengan mikroorganisme seperti bakteri. Salah satu pencarian senyawa antikanker telah dikembangkan dengan memanfaatkan bakteri simbion dari biota laut. Tahapan metode penelitian meliputi isolasi dan identifikasi bakteri endofit simbion alga hijau *C. lentillifera*, isolasi protein dari bakteri simbionnya, fraksinasi, hidrolisis dan ultrafiltrasi protein menjadi peptida kemudian dilakukan pengujian aktivitas. Skrining aktivitas yang dilakukan diantaranya uji *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) untuk memperoleh nilai  $LC_{50}$ , dan uji mitotik/mitosis sel zigot landak laut *Tripneustes gratilla* Linn. untuk memperoleh nilai  $IC_{50}$ . Hasil pada penelitian ini menunjukkan bahwa bakteri simbion dari alga *C. lentillifera* teridentifikasi sebagai spesies *Cobetia marina* strain CL<sub>2</sub>-2. Peptida dengan berat molekul < 3 kDa dari bakteri *Cobetia marina* strain CL<sub>2</sub>-2 diketahui aktif. Peptida ini dihasilkan dari protein yang diendapkan dengan ammonium sulfat kejenuhan 40-60 % dan dihidrolisis dengan menggunakan enzim pepsin. Hasil uji aktivitas antikanker memperlihatkan bahwa peptida ukuran molekul <3 kDa memiliki aktivitas paling baik dibandingkan ukuran molekul peptida lainnya dengan nilai  $LC_{50}$  4,061  $\mu\text{g/mL}$  dan nilai  $IC_{50}$  7,236  $\mu\text{g/mL}$ . Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan memperlihatkan peptida bioaktif ukuran molekul < 3 kDa hasil hidrolisis protein yang diisolasi dari bakteri simbion alga hijau *C. lentillifera* berpotensi untuk dikembangkan sebagai agen antikanker.

**Kata kunci:** alga hijau, bakteri simbion, peptida bioaktif, *Cobetia marina*.

## ABSTRACT

Siti Khairunnur. Isolation of Protein and Peptides as Candidates for Anticancer From Symbiont Bacteria of Green Algae *Caulerpa lentillifera* (Supervised by **Ahyar Ahmad** and **Rugaiyah A. Arfah**)

*Caulerpa lentillifera* is a green algae that has the ability to symbiose with microorganisms such as bacteria. One of the search for anticancer compounds has been developed by utilizing symbiont bacteria from marine biota. The stages of the research method included isolation and identification of the endophytic bacteria of the green alga symbiont *C. lentillifera*, isolation of protein from the bacterial symbiont, fractionation, hydrolysis and ultrafiltration of protein into peptides and then tested for activity. Screening activities carried out include the Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) to obtain the value of  $LC_{50}$ , and the mitotic test of the sea urchin zygote cell *Tripneustes gratilla* Linn. to obtain the value of  $IC_{50}$ . The results of this study indicate that the bacterial symbiont of the algae *C. lentillifera* was identified as a species of *Cobetia marina* strain CL<sub>2</sub>-2. Peptides with molecular weight < 3 kDa from *Cobetia marina* strain CL<sub>2</sub>-2 were found to be active. This peptide is produced from protein deposited with 40-60% saturated ammonium sulfate and hydrolyzed using pepsin enzyme. The results of the anticancer activity test showed that the molecular size peptide <3 kDa had the best activity compared to other molecular size peptides with the value of  $LC_{50} = 4.061$  g/mL and value of  $IC_{50} = 7.236$  g/mL. Based on the results of research that has been carried out, it shows that bioactive peptides with molecular size < 3 kDa resulting from protein hydrolysis isolated from the green algae symbiont *C. lentillifera* have the potential to be developed as anticancer agents.

**Keywords:** green algae, symbiont bacteria, bioactive peptides, *Cobetia marina*



# DAFTAR ISI

	<b>halaman</b>
UCAPAN TERIMA KASIH .....	v
ABSTRAK.....	vii
ABSTRACT .....	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL .....	xiii
DAFTAR GAMBAR .....	xiv
DAFTAR SINGKATAN.....	xv
DAFTAR LAMPIRAN .....	xvi
<b>BAB I PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	4
1.3 Tujuan .....	4
1.4 Manfaat Penelitian .....	4
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>5</b>
2.1 <i>Caulerpa lentillifera</i> .....	5
2.2 Asosiasi Alga dengan Bakteri.....	6
2.3 Hidrolisis Protein .....	7
2.4 Peptida Bioaktif .....	8
2.5 Kanker .....	13
2.6 Uji Toksisitas .....	14
2.7 Uji Antimitotik .....	14
2.8 Kerangka Pikir.....	15
2.9 Hipotesis.....	16
<b>BAB III METODE PENELITIAN .....</b>	<b>17</b>

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	17
3.2. Alat dan Bahan Penelitian .....	17
3.2.1 Alat Penelitian .....	17
3.2.2 Bahan Penelitian .....	17
3.3. Prosedur Penelitian.....	18
3.3.1 Pengambilan Sampel.....	18
3.3.2 Pembuatan Medium.....	18
a) Medium Nutrien Agar .....	18
b) Medium Nutrien Broth.....	18
c) Medium Marine Agar.....	18
d) Medium Inokulum.....	19
e) Medium Produksi .....	19
3.3.3 Pembuatan Buffer .....	19
a) Buffer A .....	19
b) Buffer B .....	19
c) Buffer C .....	19
3.3.4 Preparasi Sampel .....	20
3.3.5 Isolasi Bakteri Simbion .....	20
3.3.6 Identifikasi Bakteri Simbion.....	20
a) Uji Morfologi Bakteri.....	20
b) Uji Biokimia .....	21
1) Uji TSIA ( <i>Triple Sugar Iron Agar</i> ) .....	21
2) Uji SIM ( <i>Sulfide Indol Motility</i> ).....	21
3) Uji Fermentasi Karbohidrat.....	21
4) Uji Sitrat.....	21
5) Uji Urea .....	22
6) Uji MR-VP .....	22

3.3.7 Identifikasi Molekuler 16S-rRNA.....	22
3.3.8 Penentuan Waktu Pertumbuhan Optimum Bioaktif .....	22
3.3.9 Produksi Protein Bioaktif dari Isolat Bakteri Simbion .....	23
3.3.10 Pemurnian Protein Bioaktif .....	23
a) Fraksinasi dengan Amonium Sulfat.....	23
b) Dialisis .....	24
3.3.11 Penentuan Kadar Protein .....	24
3.3.12 Hidrolisis Protein Bioaktif .....	25
a) Pengukuran nilai derajat hidrolisis (DH) .....	25
b) Ultrafiltrasi hidrolisat protein bioaktif.....	25
3.3.13 Uji Toksisitas dengan Metode <i>Brine Shrimp Lethality Test</i> (BSLT) .....	26
a) Penyiapan Larva Udang .....	26
b) Pengujian Toksisitas Fraksi Protein dan Peptida dengan Metode BSLT .....	26
3.3.14 Uji aktivitas antimotik .....	27
a) Penyiapan sel telur dan sperma landak laut .....	27
b) Langkah pengujian .....	27
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>29</b>
4.1 Isolasi Bakteri Simbion dari Alga Hijau <i>C. lentillifera</i> .....	29
4.2 Identifikasi Isolat Bakteri Simbion CL <sub>2</sub> -2.....	30
4.3 Penentuan Waktu Pertumbuhan Optimum Protein Bioaktif.....	34
4.4 Isolasi dan Pemurnian Protein Bioaktif dari Isolat <i>C. marina</i> strain CL <sub>2</sub> -2.....	35
4.5 Hidrolisis Protein Secara Enzimatis.....	38
4.6 Ultrafiltrasi Hidrolisat .....	39
4.7 Uji Aktivitas Antikanker Melalui Uji Toksisitas dari Setiap Fraksi Peptida .....	40

4.8 Uji Sitotoksitas Peptida dengan Metode Mitotik Terhadap Sel Zigot Landak Laut <i>Tripneustes gratilla</i> Linn.....	41
<b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN</b> .....	45
5.1 Kesimpulan .....	45
5.2 Saran.....	45
DAFTAR PUSTAKA.....	46
LAMPIRAN .....	56

## DAFTAR TABEL

Nomor	halaman
1. Bakteri penghasil senyawa bioaktif .....	7
2. Asam-asam amino esensial penyusun protein.....	9
3. Asam-asam amino non esensial penyusun protein .....	11
4. Peptida yang beredar di pasaran.....	13
5. Klasifikasi nilai toksisitas LC <sub>50</sub> .....	26
6. Parameter sitotoksitas berdasarkan nilai IC <sub>50</sub> .....	28
7. Hasil skrining toksisitas isolat bakteri simbion dari alga hijau <i>C. lentillifera</i> .....	30
8. Hasil uji biokimia isolat bakteri simbion CL <sub>2</sub> -2.....	32
9. Distribusi kadar protein pada beberapa tingkat kejenuhan amonium sulfat.....	37
10. Kadar Peptida dari masing masing fraksi berdasarkan ukuran molekulnya .....	40
11. Nilai LC <sub>50</sub> peptida dari masing-masing fraksi berdasarkan ukuran molekulnya .....	41
12. Data hasil perhitungan persen inhibisi fraksi peptida terhadap sel zigot landak laut <i>Tripneustes gratilla</i> Linn. ....	42
13. Nilai IC <sub>50</sub> peptida masing-masing fraksi berdasarkan ukuran molekulnya .....	43
14. Protein dan peptida bioaktif dari bakteri simbion dan aktivitasnya .....	44

## DAFTAR GAMBAR

Nomor	halaman
1. <i>Caulerpa lentillifera</i> .....	5
2. Diagram kerangka pikir .....	16
3. Alga hijau <i>Caulerpa lentillifera</i> .....	29
4. Isolat bakteri CL <sub>2</sub> -2 yang diisolasi dari alga hijau <i>C. lentillifera</i> .....	30
5. Hasil pewarnaan Gram isolat bakteri CL <sub>2</sub> -2 .....	31
6. Pohon filogenetik isolat bakteri CL <sub>2</sub> -2 .....	33
7. Pengaruh waktu pertumbuhan terhadap produksi protein dari bakteri simbion <i>C. marina</i> strain CL <sub>2</sub> -2 .....	34
8. Hasil skrining toksisitas terhadap fraksi protein .....	37
9. Data hasil pengukuran konsentrasi protein hidrolisat dan persentase derajat hidrolisis .....	38
10. Hasil skrining toksisitas terhadap variasi waktu inkubasi.....	39
11. Hasil visualisasi pengamatan pembelahan sel zigot landak laut <i>Tripneutes gratina</i> Linn. terhadap fraksi peptida .....	42

## DAFTAR SINGKATAN

<b>Lambang/Singkatan</b>	<b>Arti</b>
BLAST	<i>Basic Local Aligment Search Tool</i>
BSA	<i>Bovine Serum Albumin</i>
BSLT	<i>Brine Shrimp Lethality Test</i>
DH	<i>Derajat Hidrolisis</i>
DNA	<i>Deoxyribonucleid acid</i>
FDA	<i>Food Drug Asociation</i>
IC <sub>50</sub>	<i>Inhibition Concentration 50%</i>
kDa	<i>Kilo dalton</i>
LC <sub>50</sub>	<i>Lethal Concentration 50%</i>
MR-VP	<i>Methyl Red Voges-Proskauer</i>
MWCO	<i>Molecular weight cut-off</i>
OD	<i>Optical Density</i>
pH	<i>Power of Hidrogen</i>
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
SIM	<i>Sulfit Indol Motility</i>
SCA	<i>Simon Citrat Agar</i>
TCA	<i>Trichloroacetic Acid</i>
TSIA	<i>Triple Sugar Iron Agar</i>

## DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	halaman
1. Lokasi pengambilan sampel alga hijau <i>C. lentillifera</i> .....	56
2. Diagram Alur Penelitian.....	57
3. Skema kerja pengambilan sampel.....	58
4. Hasil uji identifikasi spesies alga hijau <i>C. lentillifera</i> .....	59
5. Skema kerja isolasi bakteri simbion alga hijau <i>C. lentillifera</i> .....	60
6. Skema kerja purifikasi bakteri.....	61
7. Skema kerja identifikasi bakteri.....	62
8. Hasil Pewarnaan Gram dan Uji Biokimia Sederhana.....	63
9. Hasil analisis sekuensing nukleotida 16s rRNA.....	64
10. Klasifikasi Bakteri <i>Cobetia marina</i> strain CL <sub>2</sub> -2.....	65
11. Skema kerja isolasi protein.....	66
12. Skema kerja penentuan kadar protein.....	67
13. Kurva Standar <i>Bovine Serum Albumin</i> .....	68
14. Data hasil penentuan waktu produksi optimum protein.....	69
15. Skema kerja fraksinasi protein dengan ammonium sulfat.....	70
16. Tabel kejenuhan amonium sulfat.....	71
17. Jumlah Amonium Sulfat yang Ditambahkan pada Fraksinasi.....	72
18. Skema kerja dialisis protein.....	73
19. Pengukuran Kadar Protein pada Fraksi Protein.....	74
20. Skema kerja hidrolisis protein.....	75
21. Skema kerja ultrafiltrasi hidrolisat protein.....	75
22. Skema kerja uji toksisitas BSLT.....	76
23. Tabel Nilai Probit.....	77



24. Data Toksisitas Isolat Bakteri Simbion .....	78
25. Data Toksisitas Fraksi Protein .....	83
26. Penentuan Nilai LC <sub>50</sub> Fraksi Hidrolisat Protein.....	87
27. Penentuan Nilai LC <sub>50</sub> Fraksi Peptida .....	93
28. Skema kerja uji antimitosis sel landak laut.....	97
29. Penentuan Nilai IC <sub>50</sub> Fraksi Peptida .....	98
30. Dokumentasi .....	102

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Kanker merupakan salah satu penyakit yang dapat menyerang bagian tubuh mana pun. Istilah lain yang digunakan adalah tumor ganas dan neoplasma. Salah satu ciri khas kanker adalah penyebaran sel-sel abnormal yang tumbuh melampaui batas biasanya dan dapat menyerang bagian tubuh kemudian menyebar ke organ lain (Hanahan dan Weinbergm, 2000). Penyebaran sel-sel abnormal inilah yang menjadi penyebab utama kematian akibat kanker. Terhitung hampir 10 juta kasus kematian pada tahun 2020 atau satu dari enam orang meninggal akibat kanker di seluruh dunia (WHO, 2022). Data GLOBOCAN di tahun 2018 juga menyatakan 1 dari 8 laki-laki dan 1 dari 11 perempuan meninggal akibat kanker (Bray dkk., 2018). Jenis-jenis kanker yang sering menyerang pria diantaranya kanker paru-paru, prostat, kolorektal, lambung, dan hati, sedangkan pada wanita diantaranya kanker serviks, payudara, paru-paru, kolorektal, dan tiroid (Sung dkk., 2021). Berbagai metode telah dikembangkan untuk mengobati kanker agar dapat mengurangi prevalensi penyakit kanker.

Saat ini, sekitar 30 - 50% kanker dapat dicegah dengan menghindari faktor risiko dan menerapkan strategi pencegahan dan pengendalian penyakit kanker juga melalui deteksi dini kanker dan pengobatan serta perawatan yang tepat bagi pasien yang mengidap kanker (WHO, 2022). Umumnya pengobatan kanker dapat ditangani dengan pembedahan, kemoterapi dan radioterapi. Akan tetapi, penanganan seperti kemoterapi dapat menimbulkan beberapa efek samping seperti rambut rontok, diare, gangguan daya ingat, dan mati rasa (Aslam dkk., 2014). Begitu juga dengan penanganan dari radioterapi yang dapat memberikan efek samping berupa toksisitas kulit akut (Hoppe dkk., 2008), komplikasi sistem saraf pusat (Soussain dkk., 2009), dan efek samping pada jantung (Madan dkk., 2015). Berbagai efek samping yang timbul dari metode pengobatan kanker saat ini menjadi tantangan bagi peneliti untuk menemukan agen obat baru yang mampu mengobati kanker tanpa menimbulkan efek

samping yang berat. Salah satu alternatif dari pencarian agen obat baru yaitu dengan melakukan eksplorasi komponen aktif pada biota laut seperti alga.

Alga termasuk tanaman non-vaskular yang mengandung klorofil dan dapat ditemukan di berbagai sistem perairan (López-Gómez dan Pérez-Rivero, 2019). Alga tergolong dalam tiga kelas yakni *Chlorophyceae* (alga hijau), *Phaeophyceae* (alga coklat) dan *Rhodophyceae* (alga merah). Tiap kelas mempunyai ciri kandungan jenis pigmen yang tertentu. Di Indonesia ditemukan 782 jenis alga yang terdiri atas 179 jenis alga hijau, 134 jenis alga coklat dan 452 alga merah (Nontji, 2002). Sekitar 70 spesies alga hijau kaya akan senyawa bioaktif (Guiry dkk., 2014), sehingga ideal digunakan sebagai suplemen makanan dan terapi alami untuk pengobatan penyakit (Stabili dkk., 2019).

Pemanfaatan alga dalam bidang kesehatan telah banyak dilakukan. Alga sering dijadikan sebagai sumber dalam pembuatan bahan baku obat antibakteri, antibiotik, antikanker, dan memiliki aktivitas antioksidan tinggi sehingga mampu mengurangi resiko penyakit jantung, stroke, kanker, dan semua penyakit kardiovaskular (Trianto dkk., 2004; Fretes dkk., 2012). Pada penelitian alga sebagai antikanker, beberapa diantaranya menunjukkan sitotoksitas terhadap pertumbuhan sel kanker (Martins dkk., 2018). Beberapa peneliti mengungkapkan bahwa alga hijau berpotensi sebagai antikanker (Haq dkk., 2019) dan sebagai antioksidan (Yap dkk., 2019). Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, eksplorasi terhadap jenis alga masih diperlukan untuk mengkaji potensi alga dalam pemanfaatannya sebagai antikanker.

Pemanfaatan senyawa bioaktif semakin baik jika diperoleh dari sumber bahan baku yang melimpah. Alga hijau *Caulerpa lentillifera* merupakan salah satu jenis alga yang melimpah di perairan Indonesia, khususnya di Sulawesi Selatan. Akan tetapi, pemanfaatan *C. lentillifera* sebagai bahan baku obat secara masif dapat menyebabkan eksploitasi dan berdampak pada kepunahan. Salah satu cara alternatif untuk menghindari kepunahan yaitu dengan pemanfaatan bakteri simbiosis dari *C. lentillifera*. Bakteri simbiosis mudah dikultur dan dikembangkan dalam waktu yang cepat serta hanya menggunakan sedikit sampel (Widyaningsih dan Sa'adah, 2018). Bakteri simbiosis tersebut akan mensintesis metabolit sekunder atau metabolit primer seperti organisme inangnya (Pringgones, 2010), sehingga sangat memungkinkan bakteri simbiosis menghasilkan protein yang sama dengan inangnya. Protein yang dihasilkan berpotensi untuk dikembangkan dan salah satunya ialah peptida bioaktif.

Peptida bioaktif adalah senyawa rantai pendek tersusun dari 2-50 asam amino yang mempunyai dampak positif terhadap fungsional dan kondisi tubuh (Nelson dan Cox, 2005). Peptida bioaktif dapat diperoleh melalui reaksi enzimatik dengan cara protein diekstrak dari alga laut atau dari bakteri simbiotiknya kemudian hasil ekstraksi tersebut dihidrolisis menggunakan enzim proteolitik yang mampu menghidrolisis protein menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana seperti peptida dan asam amino (Wang dan Zhang, 2016). Peptida bioaktif telah banyak diteliti dan dimanfaatkan dalam bidang kesehatan sebagai antikanker. Adcetris<sup>®</sup> merupakan jenis peptida yang berpotensi sebagai peptida antikanker (Cheung dkk., 2015).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan Prasetyaningsih dan Rahardjo (2018), peptida bioaktif hexapeptida yang diisolasi dari *Ulva lactuca* memiliki aktivitas sebagai antimikroba dan antifungi. Menurut Haq dkk. (2019), alga hijau banyak digunakan sebagai suplemen makanan dan antioksidan karena memiliki beberapa senyawa aktif antitumor sehingga bahan yang ideal untuk dijadikan sebagai agen terapi dan suplemen nutrisi. Tanna dkk. (2020), mengatakan bahwa alga hijau jenis *Caulerpa* sp. mengandung senyawa fenolik dan flavonoid yang tinggi sehingga berpotensi sebagai antikanker. Chen dkk. (2019), menemukan senyawa bioaktif seperti senyawa fenolik, polisakarida dan sponaxantin dari ekstrak *Caulerpa lentillifera* yang telah diuji potensi bioaktifnya dan menunjukkan antioksidan tinggi, antikoagulan dan imunostimulan, pencegah kanker, dan penghambatan liogenesis.

Berdasarkan hal-hal yang telah diuraikan pada beberapa paragraf sebelumnya, maka telah dilakukan penelitian isolasi peptida antikanker dari hidrolisat protein bakteri simbiotik alga hijau *Caulerpa lentillifera*. Isolat yang memiliki aktivitas tertinggi, telah dikultur dalam medium fermentasi untuk produksi protein aktif. Serangkaian proses pemurnian seperti fraksinasi dan dialisis juga telah dilakukan. Fraksi protein yang diperoleh kemudian dihidrolisis secara enzimatik serta dilakukan uji skrining toksisitas menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dan uji pembelahan sel telur landak laut. Sehingga, penentuan aktivitas antikanker peptida bioaktif dari hidrolisat protein bakteri simbiotik alga hijau telah diketahui dengan melihat kemampuan toksisitas fraksi peptida bioaktif terhadap larva udang *Artemia salina* Leach dan zigot landak laut *Tripneustes gratilla* Linn.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian pada latar belakang maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. spesies bakteri simbion apa yang dapat teridentifikasi dari alga hijau *C.lentillifera*?
2. bagaimana memproduksi peptida yang berpotensi sebagai antikanker dari bakteri simbion alga hijau *C.lentillifera*?
3. bagaimana aktivitas antikanker peptida dari hidrolisat protein bakteri simbion alga hijau *C.lentillifera*?

## 1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah maka tujuan yang ingin dicapai dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. mengisolasi dan mengidentifikasi jenis spesies dari bakteri simbion yang diisolasi dari alga hijau *C.lentillifera*,
2. memproduksi peptida yang berpotensi sebagai antikanker dari bakteri simbion alga hijau *C.lentillifera*,
3. menguji aktivitas antikanker peptida dari hidrolisat protein bakteri simbion alga hijau *C.lentillifera*.

## 1.4 Manfaat Penelitian

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat sebagai berikut :

1. memberikan pengetahuan bagi masyarakat mengenai potensi alga laut sebagai penghasil bakteri simbion dan memberikan informasi mengenai jenis-jenis bakteri simbion yang dapat menghasilkan protein dan peptida bioaktif sebagai salah satu agen antikanker.
2. memperoleh senyawa peptida yang berpotensi sebagai antikanker dan memberikan informasi aktivitas antikanker peptida dari bakteri simbion alga hijau *C. lentillifera*.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 *Caulerpa lentilifera*

Indonesia merupakan negara kepulauan yang di dalam lautnya terdapat berbagai macam biota laut, salah satunya adalah alga. Alga merupakan kelompok tumbuhan berklorofil yang terdiri atas satu atau banyak sel dan berbentuk koloni apabila ditinjau secara biologi (López-Gómez dan Pérez-Rivero, 2019). Alga mengandung bahan-bahan organik seperti polisakarida, vitamin, mineral dan juga senyawa bioaktif (Pakidi dan Hidayat, 2016). Alga yang berukuran besar tergolong dalam tiga kelas yakni alga hijau (*Chlorophyceae*), alga coklat (*Phaeophyceae*) dan alga merah (*Rhodophyceae*). Tiap kelas mempunyai ciri kandungan jenis pigmen tertentu. Ketiga golongan alga ini termasuk jenis alga yang mempunyai nilai ekonomis (Nontji, 2002).



**Gambar 1.** *Caulerpa lentillifera* (Chen dkk., 2019)

Alga hijau ditemui hidup dalam perairan dengan berbagai ragam kondisi mulai dari perairan tawar hingga perairan laut. Alga hijau merupakan salah satu kelompok alga terbesar dengan keanekaragaman jenis yang tinggi. Bentuk hidup alga ini bervariasi mulai dari bentuk yang uniseluler, berkoloni, berfilamen, berbentuk lembaran ataupun berupa tabung. Sel-sel alga hijau mempunyai kloroplas yang berwarna hijau, mengandung klorofil a dan b serta karotenoid

(Widiana dkk., 2011). Alga hijau memiliki beberapa jenis yang dapat ditemui di perairan Indonesia, salah satunya yaitu *Caulerpa* sp. yang juga dikenal sebagai anggur laut atau kaviar hijau. Pada beberapa negara khususnya di Asia, *Caulerpa* sp. sudah dikonsumsi sejak abad ke-4 (Lako, 2012). Salah satu jenis *Caulerpa* sp. yang banyak diperjualbelikan yaitu *Caulerpa lentillifera* (Gambar 1) yang dikenal oleh masyarakat lokal sebagai “lawi-lawi” biasanya dimakan mentah sebagai sayuran segar atau salad (Chen dkk., 2019). Selain itu, *Caulerpa* sp. tidak hanya digunakan sebagai makanan tetapi juga memiliki manfaat kesehatan bagi manusia karena kaya akan protein, mineral, serat, vitamin, asam lemak jenuh, dan asam lemak tak jenuh (Zhang dkk., 2020). Klasifikasi dari rumput laut *C.lentillifera* menurut Dawson (1946) dalam Soegiarto dkk. (1978), adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Chlorophyta
Kelas	: Chlorophyceae
Ordo	: Caulerpales
Family	: Caulerpaceae
Genus	: <i>Caulerpa</i>
Spesies	: <i>Caulerpa lentillifera</i> J.Agardh (1873)

## 2.2 Asosiasi Alga dengan Bakteri

Organisme yang hidup di laut pada umumnya bersimbion atau berasosiasi dengan bakteri (Rahmayanti dkk., 2019). Alga termasuk organisme laut yang kaya akan bakteri simbion (Chakraborty dkk., 2017). Banyak dari bakteri ini berasal dari genus yang sama dengan yang ditemukan di lingkungan alami alga (Baggesen dkk., 2014). Alga dan bakteri secara sinergis mempengaruhi fisiologi dan metabolisme masing-masing, meskipun bakteri sering dianggap sebagai kontaminasi dalam kultur alga (Fuentes dkk., 2016), tetapi dalam beberapa tahun terakhir persepsi telah berubah dan interaksi alga dengan bakteri dianggap memberikan efek yang positif pada beberapa penelitian khususnya di bidang bioteknologi (Yao dkk., 2019).

Interaksi alga dengan bakteri mencakup seluruh rentang hubungan simbiosis, diantaranya simbiosis mutualisme, komensalisme dan parasitisme (Ramanan dkk., 2015). Ada banyak contoh interaksi antara alga dan bakteri

yang menunjukkan peran simbiosis mutualisme, dalam beberapa kasus menjelaskan hubungan untuk subsistensi masing-masing (Long dan Azam, 2001). Alga dan organisme laut lainnya berasosiasi dan bergantung pada bakteri untuk pertumbuhan, perkembangan, pasokan nutrisi, dan sebagai pelindung dari serangan predator (Egan dkk., 2013). Hasil eksplorasi metabolit bioaktif pada bakteri laut dapat menjadi salah satu sumber potensial untuk bahan baku obat, seperti hasil dari penelitian Asmi (2021), menunjukkan bakteri simbiosis dari alga coklat menghasilkan peptida yang memiliki aktivitas bioaktif sebagai antibakteri dan antikanker. Tabel 1 memperlihatkan beberapa bakteri penghasil senyawa bioaktif yang memiliki aktivitas antikanker.

**Tabel 1. Bakteri simbiosis penghasil senyawa bioaktif**

Bakteri Simbiosis	Sumber	Bioaktivitas	Peneliti
<i>Neisseria</i> sp.	Alga Hijau	Antibakteri	Sujuliyani dkk. (2019)
<i>Vibrio</i> sp. strain ES25	Alga Merah	Antibakteri dan Antikanker	Sugrani (2020)
<i>Enterobacter agglomerans</i> SB 5 (1)	Alga Coklat	Antidengue	Ahmad dkk. (2021)
<i>Enterobacter</i> sp. SG-A1	Alga Coklat	Antibakteri dan Antikanker	Asmi dkk.(2021)

### 2.3 Hidrolisis Protein

Hidrolisis protein adalah pemecahan ikatan peptida dalam makromolekul protein menjadi peptida dengan berbagai ukuran dan asam amino bebas. Peptida dan asam amino diproduksi untuk berbagai kegunaan, diantaranya sebagai pupuk, akuakultur dan suplemen gizi dalam industri makanan (Kristinsson dan Rasco, 2000). Sebagian besar protein dihidrolisis dengan metode kimia atau biologi. Namun, produk yang diperoleh dari kedua metode tersebut menghasilkan kualitas dan kuantitas yang berbeda (Wisuthiphaet dkk., 2015). Baru-baru ini, hidrolisis protein enzimatis telah menjadi metode yang umum digunakan untuk mendapatkan protein nabati dan hidrolisat protein komersial dengan sifat fungsional yang lebih baik (Ahmadifard dkk., 2016).

Hidrolisis enzimatis adalah metode yang efisien dan dapat diandalkan untuk menghasilkan peptida dengan aktivitas antihipertensi (Daud dkk., 2015),



antioksidan (Najafian dan Babji, 2014), antikanker, imunomodulator, dan antiinflamasi (Luo dkk., 2014). Enzim pencernaan (pepsin, tripsin dan kemotripsin) dan enzim hewan, mikroba, atau tumbuhan (papain, bromelin, flavorzyme, thermolysin, dan neutrase) digunakan untuk memecah polipeptida besar menjadi peptida kecil tertentu yang mengandung 2-20 unit asam amino dengan berat molekul berkisar dari 500 hingga 1800 Da (Karami dan Akbari-Adergani, 2019), tetapi dalam beberapa kasus peptida dapat tersusun lebih dari 20 asam amino dengan berat molekul kurang dari 6000 Da (Sarmadi dan Ismail, 2010).

Hidrolisis protein enzimatik digunakan untuk modifikasi protein agar meningkatkan sifat kimia, fisik serta fungsional (Demirhan dkk., 2011). Produk hidrolisis protein enzimatik banyak dipelajari karena sifat fungsionalnya. Sifat fungsional ini telah dikaitkan dengan peptida dan asam amino yang diproduksi selama hidrolisis protein (Sinha dkk., 2007). Terdapat dua cara enzim dalam mengkatalisis hidrolisis protein, yaitu dengan memutuskan ikatan internal atau ikatan eksternal (Valencia dkk., 2015). Menurut Martínez-Araiza dkk. (2012), hidrolisis protein enzimatik merupakan reaksi yang kompleks karena faktor-faktor berikut :

1. Sifat substrat yang tidak terdefinisi akibat keragaman asam amino dalam protein.
2. Banyaknya reaksi, yaitu beberapa ikatan peptida diputus secara paralel dan seri secara bersamaan.
3. Kemungkinan penghambatan substrat, penghambatan produk dan inaktivasi enzim selama hidrolisis protein.
4. Beberapa kondisi operasi termasuk suhu, pH, kekuatan ion, dan konsentrasi substrat pada laju reaksi.

## **2.4 Peptida Bioaktif**

Peptida bioaktif merupakan peptida yang tersusun dari gabungan asam amino yang dihubungkan melalui ikatan kovalen khususnya ikatan amida atau yang dikenal dengan ikatan peptida (Sánchez dan Vázquez, 2017). Peptida bioaktif dapat diperoleh melalui reaksi enzimatik, salah satunya dengan cara protein diekstrak dari alga laut atau dari bakteri simbiotiknya pada suhu dan tekanan yang tinggi. Hasil ekstraksi protein selanjutnya dihidrolisis menggunakan

enzim proteolitik dengan kondisi optimum (Wang dan Zhang, 2016). Peptida yang telah dihidrolisis mungkin saja sebelumnya tidak aktif pada protein induknya, tetapi setelah dihidrolisis akan membentuk peptida yang bersifat aktif (Cruz-Casas, 2021).

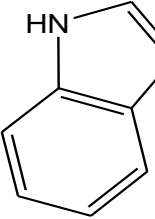
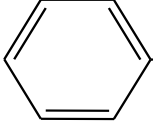
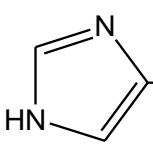
Peptida bioaktif telah banyak dikembangkan sebagai bahan baku serbaguna untuk memproduksi nutrasetikal. Beberapa penelitian telah mengkonfirmasi bahwa peptida dengan berat molekul rendah menunjukkan bioaktivitas yang kuat (Wang dan Zhang, 2016). Beberapa peptida memiliki aktivitas biologis sebagai antihipertensi, antioksidan, antiinflamasi, Anti-HIV, anti-aging, antivirus, antijamur, antidiabetes, imunomodulator, dan lain-lain (Xu dkk., 2019).

Peptida bioaktif telah diusulkan menjadi agen untuk terapi antitumor karena merupakan penetrasi tumor tinggi, mudah disintesis dan dimodifikasi, biaya produksi yang rendah (Tyagi dkk., 2013), strukturnya yang sederhana, tersusun atas 2-50 asam amino (Teerasak dkk., 2016), massa molekulnya rendah, sitotoksisitas khusus (spesifik) terhadap sel kanker sehingga efek samping yang ditimbulkan lebih sedikit dan penyerapannya mudah (Wang dan Zhang, 2015).

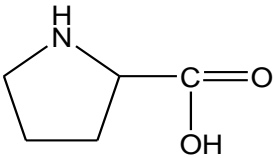
**Tabel 2. Asam-asam amino esensial menyusun protein**

Nama Asam Amino	Struktur Kimia	Kode Tiga Huruf	Kode Satu Huruf
Valin	$  \begin{array}{c}  \text{NH}_2 \\    \\  \text{H}_3\text{C}-\text{CH}-\text{CH} \\    \quad   \\  \text{CH}_3 \quad \text{C}=\text{O} \\    \\  \text{OH}  \end{array}  $	Val	V
Lisin	$  \begin{array}{c}  \text{NH}_2 \\    \\  \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{C}-\text{C}-\text{C}-\text{C}-\text{CH} \\    \quad   \quad   \quad   \quad   \\  \text{H}_2 \quad \text{H}_2 \quad \text{H}_2 \quad \text{H}_2 \quad \text{H}_2 \\    \\  \text{C}=\text{O} \\    \\  \text{OH}  \end{array}  $	Lys	K
Leusin	$  \begin{array}{c}  \text{NH}_2 \\    \\  \text{H}_3\text{C}-\text{CH}-\text{C}-\text{CH} \\    \quad   \quad   \\  \text{CH}_3 \quad \text{H}_2 \quad \text{H}_2 \\    \\  \text{C}=\text{O} \\    \\  \text{OH}  \end{array}  $	Leu	L

Lanjutan Tabel 2

Isoleusin	$  \begin{array}{c}  \text{NH}_2 \\    \\  \text{H}_3\text{C}-\text{C}-\text{H}_2-\text{CH}-\text{CH} \\    \quad   \\  \text{CH}_3 \quad \text{C}=\text{O} \\    \\  \text{OH}  \end{array}  $	Ile	I
Treonin	$  \begin{array}{c}  \text{NH}_2 \\    \\  \text{H}_3\text{C}-\text{CH}-\text{CH} \\    \quad   \\  \text{OH} \quad \text{C}=\text{O} \\    \\  \text{OH}  \end{array}  $	Thr	T
Triptofan	$  \begin{array}{c}  \text{NH}_2 \\    \\  \text{H}_2\text{C}-\text{CH} \\    \quad   \\  \text{C} \quad \text{C}=\text{O} \\    \\  \text{OH}  \end{array}  $ 	Trp	W
Fenil Alanin	$  \begin{array}{c}  \text{NH}_2 \\    \\  \text{H}_2\text{C}-\text{CH} \\    \quad   \\  \text{C} \quad \text{C}=\text{O} \\    \\  \text{OH}  \end{array}  $ 	Phe	F
Metionin	$  \begin{array}{c}  \text{NH}_2 \\    \\  \text{H}_3\text{C}-\text{S}-\text{C}-\text{H}_2-\text{C}-\text{H}_2-\text{CH} \\    \quad   \quad   \\  \text{C} \quad \text{C}=\text{O} \\    \\  \text{OH}  \end{array}  $	Met	M
Arginin	$  \begin{array}{c}  \text{NH}_2 \\    \\  \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{H}-\text{H}_2-\text{H}_2-\text{H}_2-\text{CH} \\     \quad   \quad   \quad   \quad   \\  \text{NH} \quad \text{C} \quad \text{C} \quad \text{C} \quad \text{C}=\text{O} \\    \\  \text{OH}  \end{array}  $	Arg	R
Histidin	$  \begin{array}{c}  \text{NH}_2 \\    \\  \text{H}_2\text{C}-\text{CH} \\    \quad   \\  \text{C} \quad \text{C}=\text{O} \\    \\  \text{OH}  \end{array}  $ 	His	H

Tabel 3. Asam-asam amino non esensial penyusun protein

Nama Asam Amino	Struktur Kimia	Kode Tiga Huruf	Kode Satu Huruf
Glisin	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\   \\ \text{H} \end{array}$	Gly	G
Alanin	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\   \\ \text{CH}_3 \end{array}$	Ala	A
Sistein	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{SH} \end{array}$	Cys	C
Serin	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{OH} \end{array}$	Ser	S
Prolin		Pro	P
Asparagin	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{C}=\text{O} \\   \\ \text{NH}_2 \end{array}$	Asn	N
Glutamin	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{C}=\text{O} \\   \\ \text{NH}_2 \end{array}$	Gln	Q

Lanjutan Tabel 3

Glutamin	$  \begin{array}{c}  \text{O} \\  \parallel \\  \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\    \\  \text{CH}_2 \\    \\  \text{CH}_2 \\    \\  \text{C}=\text{O} \\    \\  \text{NH}_2  \end{array}  $	Gln	Q
Tirosin	$  \begin{array}{c}  \text{O} \\  \parallel \\  \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{C}-\text{OH} \\    \\  \text{H}_2\text{C} \\    \\  \text{C}_6\text{H}_4 \\    \\  \text{OH}  \end{array}  $	Tyr	Y
Asam Aspartat	$  \begin{array}{c}  \text{NH}_2 \\    \\  \text{H}_2\text{C}-\text{CH} \\    \\  \text{C}=\text{O} \\    \\  \text{OH}  \end{array}  $	Asp	D
Asam Glutamat	$  \begin{array}{c}  \text{NH}_2 \\    \\  \text{H}_2\text{C}-\text{H}_2-\text{CH} \\    \\  \text{C}=\text{O} \\    \\  \text{OH}  \end{array}  $	Glu	E

Peptida kecil yang memiliki aktivitas antikanker merupakan alternatif yang potensial untuk pendekatan terapi kanker. Peptida antikanker mampu menyerang secara selektif membran sel kanker dalam waktu yang sangat singkat menghambat perkembangan resistensi sel (Ningsih, 2012). Proses selektif ini terjadi jika asam amino kationik dari peptida antikanker mengikat membran anionik sel kanker sehingga stabilitas membran dan fluiditas sel kanker

terganggu (Teerasak dkk., 2016). Saat ini banyak terapi berbasis peptida untuk mengobati berbagai jenis kanker sedang dievaluasi dalam berbagai tahapan praklinis dan klinis (Tyagi dkk., 2013).

**Tabel 4. Peptida Antikanker yang beredar di pasaran** (Cheung dkk.,2015)

Peptida	Status
Brentuximab vedotin	Disetujui FDA
Glembatumumab vedotin	Disetujui FDA
Plitidepsin	Studi Klinis
HTI-286	Studi Praklinis

## 2.5 Kanker

Kanker merupakan golongan penyakit yang dikarakterisasi oleh pertumbuhan dan penyebaran sel yang abnormal yang dapat menimbulkan kematian bila penyebarannya tidak terkendali (Eccles dkk., 2013). Pertumbuhan yang tidak terkendali tersebut disebabkan oleh kerusakan DNA dan menyebabkan mutasi di gen vital yang mengontrol pembelahan sel pada jaringan dan organ (Lodish dkk., 2004). Kanker ini disebabkan oleh faktor eksternal seperti tembakau, bahan kimia, radiasi dan organisme menular dan faktor internal seperti mutasi genetik, hormon, kondisi kekebalan tubuh, dan mutasi-mutasi yang terjadi dari metabolisme (ACS, 2015). Transformasi sel itu terjadi karena mutasi gen yang mengatur pertumbuhan dan diferensiasi sel, yaitu proto-onkogen atau *suppressor gene* (antionkogen). Paparan karsinogen antara lain berfungsi berbagai jenis virus, bahan kimia dan radiasi ultraviolet (Frank dan Teich, 1998). Penyakit kanker ini disebabkan karena kebiasaan merokok, radiasi, polusi udara, dan faktor lainnya (ACS, 2019).

Saat ini kanker merupakan salah satu penyakit yang mengancam sebagian besar kehidupan dengan lebih dari 100 jenis yang berbeda. Penderita kanker di Indonesia diperkirakan terdapat sebanyak 100 per 100.000 penduduk. Berdasarkan GLOBOCAN tahun 2018, jumlah kasus kematian kanker paru-paru sekitar 11,6 %, kasus kematian kanker kolorektal 9,2 %, kasus kematian kanker lambung dan hati 8,2 % dan kasus kematian kanker payudara sekitar 6,6 %

menyerang manusia pada semua umur dan jenis kelamin di seluruh dunia (Bray dkk., 2018). Menurut WHO (2020), satu dari enam orang meninggal akibat kanker tiap tahun dan hampir 10 juta orang meninggal dunia akibat kanker. Kanker yang umum menyerang pria diantaranya kanker paru-paru, prostat, kolorektal, lambung, dan hati. Sedangkan pada wanita kanker yang umum diantaranya kanker serviks, payudara, paru-paru, kolorektal, dan tiroid (Sung dkk., 2021).

## 2.6 Uji Toksisitas

Salah satu pengujian toksisitas secara sederhana yaitu dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dengan menggunakan *Artemia salina*. Larva udang *Artemia salina* dianggap sebagai salah satu spesies uji oleh *United States Environmental Protection Agency* (US-EPA) untuk pengujian toksisitas (Shokry dkk., 2021). Uji BSLT sering digunakan dalam bioassay karena murah, waktupengujian yang cepat, aksesibilitas mudah, dan memiliki kepekaan terhadap zat yang beracun (Lu dan Yu, 2020).

Menurut Meyer dkk. (1982), tingkat toksisitas dari ekstrak tanaman dapat ditentukan dengan melihat nilai  $LC_{50}$ . Ekstrak dianggap sangat toksik jika nilai  $LC_{50} < 30 \mu\text{g/mL}$ , dianggap toksik bila memiliki nilai  $LC_{50}$  30-1000  $\mu\text{g/mL}$  dan dianggap tidak toksik bila nilai  $LC_{50} > 1000 \mu\text{g/mL}$ . Tingkat toksisitas tersebut memberi makna terhadap potensi aktivitasnya sebagai antikanker. Semakin kecil nilai  $LC_{50}$  maka semakin toksik suatu senyawa dan semakin berpotensi sebagai senyawa antikanker. Berdasarkan hasil penelitian Okumu dkk. (2021), menunjukkan hasil yang relevan antara uji toksisitas menggunakan *Artemia salina* dengan uji in-vivo pada tikus. Carballo dkk. (2002), meneliti kelayakan penggunaan metode BSLT untuk pengujian aktivitas farmakologi produk bahan alam. Hasil penelitian menunjukkan adanya korelasi positif antara BSLT dan uji sitotoksik.

## 2.7 Uji Antimitotik

Berdasarkan pengetahuan fisiologi dan embriologi, landak laut telah terbukti menjadi model bioassay yang sangat baik sejak tahun 1970-an dalam mengevaluasi dampak pada tahap kehidupan awal dan fungsi seluler setelah

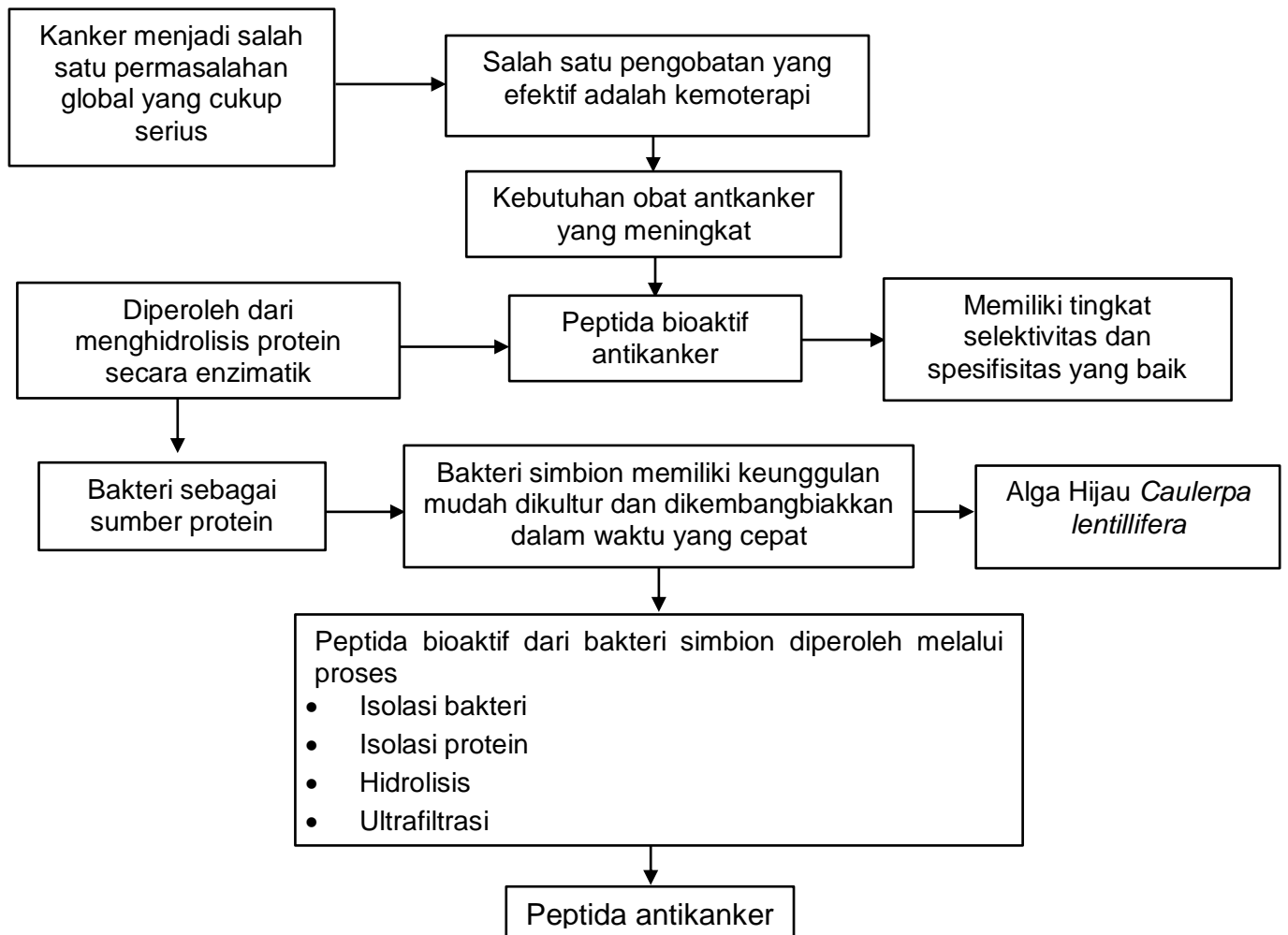
terpapar xenobiotik (Pagano dkk., 2017). Landak laut adalah organisme model laut yang sudah mapan untuk studi perkembangan biologi, sebagian besar digunakan dalam penelitian penemuan obat untuk memahami proses proliferasi sel yang disebabkan oleh senyawa alami dengan aktivitas antimitotik (Leite dkk., 2012; Gutierrez, 2016). Beberapa tahun terakhir ini embrio dan telur landak laut telah digunakan sebagai model untuk mempelajari pembelahan sel dan perkembangan embrio dan juga dimanfaatkan untuk mendeteksi aktivitas sitotoksik dan teratogenik suatu senyawa baru (Sousa dkk., 2009). Studi-studi ini telah memungkinkan identifikasi target molekuler potensial untuk kemoprevensi dan kemoterapi (Galasso dkk., 2019).

Sel zigot landak laut memiliki sensitivitas selektif terhadap obat dan mengalami tahapan pembelahan seperti halnya sel kanker, sehingga banyak digunakan dalam penelitian antikanker (Johannes dkk., 2013). Misalnya, untuk melihat pengaruh suatu senyawa dalam menghambat laju pembelahan dan pertumbuhan sel atau yang sering disebut sebagai sifat antimitotik. Mekanisme ini juga merupakan indikator yang dapat digunakan dalam menemukan senyawa-senyawa yang dapat dijadikan bahan dalam pembuatan obat antikanker (Sjafaraenan dan Johannes, 2017). Menurut Galasso dkk. (2020), sel landak laut dan sel manusia memiliki respons kematian sel yang sama terhadap sel kanker.

## 2.8 Kerangka Pikir

Penyakit kanker merupakan salah satu masalah kesehatan yang tersebar di seluruh dunia. Beberapa pengobatan telah dilakukan untuk mengatasi penyakit tersebut, diantaranya melalui jalur operasi, kemoterapi, dan radioterapi, namun beberapa pengobatan tersebut belum memberikan hasil yang maksimal bahkan dapat memberikan dampak negatif. Pengembangan obat antikanker gencar dilakukan. Peptida bioaktif merupakan salah satu agen antikanker yang berpotensi untuk dikembangkan lebih lanjut. Peptida bioaktif dapat diperoleh dari bakteri yang bersimbion dengan tumbuhan laut alga hijau *Caulerpa lentillifera*, untuk mendapatkan peptida bioaktif dapat dilakukan dengan beberapa tahapan diantaranya peremajaan bakteri, produksi bakteri, isolasi protein, pemurnian protein, hidrolisis protein, dan ultrafiltrasi protein. Peptida bioaktif yang diperoleh diuji aktivitasnya untuk melihat potensi antikanker.





Gambar 2. Diagram kerangka pikir

## 2.9 Hipotesis

Berdasarkan kerangka pikir yang telah diuraikan, maka dapat dirumuskan beberapa hipotesis penelitian

1. bakteri simbiosis yang diisolasi dari alga hijau *C. lentillifera* dapat diidentifikasi spesiesnya.
2. peptida yang aktif sebagai antikanker dapat diproduksi dari bakteri simbiosis alga hijau *C. lentillifera*
3. aktivitas antikanker peptida dari bakteri simbiosis alga hijau *C. lentillifera* dapat ditentukan.