

**POTENSI ANTIKANKER EKSTRAK METANOL *Laminaria* sp. SECARA
IN SILICO DAN ISOLASI METABOLIT SEKUNDER EKSTRAK
N-HEKSAN *Laminaria* sp.**

ANTICANCER POTENTIAL OF METHANOL EXTRACT OF *Laminaria* sp.
USING IN SILICO METHOD AND ISOLATION OF SECONDARY
METABOLITES OF N-HEXANE EXTRACT *Laminaria* sp.

Musniati Azis

H012 19 1 011



**PROGRAM STUDI MAGISTER KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

**POTENSI ANTIKANKER EKSTRAK METANOL *Laminaria* sp. SECARA
IN SILICO DAN ISOLASI METABOLIT SEKUNDER EKSTRAK
N-HEKSAN *Laminaria* sp.**

Tesis

sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar magister

Program Studi Magister Kimia

Disusun dan diajukan oleh

MUSNIATI AZIS

H012 19 1 011

kepada

PROGRAM MAGISTER KIMIA

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2024

TESIS

**POTENSI ANTIKANKER EKSTRAK METANOL *Laminaria* sp. SECARA
IN SILICO DAN ISOLASI METABOLIT SEKUNDER EKSTRAK
N-HEKSAN *Laminaria* sp.**

Disusun dan diajukan oleh:

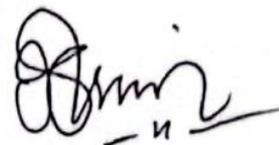
**MUSNIATI AZIS
NIM: H012191011**

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 2 Februari 2024
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui,

Pembimbing Utama

Pembimbing Pendamping


Prof. Dr. Nunuk Hariani Soekamto, M. S
NIP. 196012151987022001
Dr. Herlina Rasyid, S. Si
NIP. 19930414202204001Ketua Program Studi
Magister Kimia
Prof. Dr. Hasnah Natsir, M. Si
NIP. 196203201987112001Dekan Fakultas MIPA
Universitas Hasanuddin
Dr. Eng. Amiruddin, M. Si
NIP. 197205151997021002

PERNYATAAN KEASLIAN TESIS DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Musniati Azis
NIM : H012191011
Program Studi : Magister Kimia

Dengan ini saya menyatakan bahwa, tesis berjudul "Potensi Antikanker Ekstrak Metanol *Laminaria* sp. secara *In Silico* dan Isolasi Metabolit Sekunder Ekstrak N-Heksan *Laminaria* sp." adalah benar karya saya dengan arahan komisi pembimbing (Prof. Dr. Nunuk Hariani Soekamto, M.S dan Dr. Herlina Rasyid, S.Si). Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. 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 tesis ini telah dipublikasikan di *American Institute of Physics (AIP)* sebagai artikel dengan judul "*Identification of Components and Toxicity Assessment of Seaweed Methanol Extract Laminaria sp Against Larva Artemia salina*".

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

Makassar, 2 Februari 2024



Musniati Azis
NIM. H012191011

PRAKATA

Bismillahirrahmanirrahim.

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT atas limpahan rahmat, hidayah, serta karunian-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini yang berjudul “**Potensi Antikanker Ekstrak Metanol *Laminaria* sp. secara *In Silico* dan Isolasi Metabolit Sekunder Ekstrak N-Heksan *Laminaria* sp.**” 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 **Ibu Prof. Dr.Nunuk Hariani Soekamto, M.S dan Ibu Dr. Herlina Rasyid, S.Si** yang telah memberikan begitu banyak bantuan, masukan dan saran, motivasi untuk penulis mulai dari penyusunan proposal, penelitian, hingga penyusunan tesis ini. Kesempatan ini juga, penulis dengan segala kerendahan hati mengucapkan terima kasih kepada:

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

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

Penulis

Musniati Azis

ABSTRAK

Musniati Azis. Potensi Antikanker Ekstrak Metanol *Laminaria* sp secara *In Silico* dan Isolasi Metabolit Sekunder Ekstrak n-Heksan *Laminaria* sp. dibimbing oleh **Nunuk Hariani Soekamto** dan **Herlina Rasyid**).

Laminaria sp merupakan salah satu jenis rumput laut di Indonesia yang mengandung senyawa metabolit sekunder dan berpotensi sebagai antikanker, namun pemanfaatan senyawa bioaktifnya belum optimal. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengeksplorasi metabolit sekunder yang terkandung dalam rumput laut *Laminaria* sp, menguji toksisitas ekstrak, mengidentifikasi komponen senyawa pada ekstrak menggunakan GC-MS dan menganalisis aktivitas antikanker senyawa yang terdapat pada ekstrak metanol rumput laut *Laminaria* sp secara *in silico*. Metode yang digunakan yaitu maserasi, evaporasi, fraksinasi (KKV dan KR), identifikasi senyawa menggunakan spektroskopi GC-MS dan karakterisasi senyawa dengan spektroskopi FTIR. Pengujian toksisitas ekstrak dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT), identifikasi komponen senyawa menggunakan GC-MS serta pengujian aktivitas antikanker dilakukan dengan metode komputasi (*molecular docking*). Ekstrak metanol total *Laminaria* sp mengandung senyawa metabolit sekunder berupa alkaloid sedangkan ekstrak n-heksan *Laminaria* sp mengandung senyawa metabolit sekunder berupa alkaloid dan steroid. Hasil pengujian toksisitas ekstrak n-heksan terhadap *Artemia salina* Leach diperoleh nilai LC₅₀ sebesar 201,37 ppm. Komponen senyawa yang terdapat pada ekstrak metanol total yaitu 8-heptadecene, Hexadecanoic acid; methyl ester, Hexadecanoic acid; palmitic acid, 10-Octadecenoic acid; methyl ester, pytol, Eicosane, Docosane, Heneicosane, 1,2-Benzenedicarboxylic acid dan (3beta)-3-hydroxypregna-5,16-dien-20-one. Hasil *molecular docking* menunjukkan interaksi antara reseptor EGFR dengan senyawa (3beta)-3-hydroxypregna-5,16-dien-20-one merupakan yang paling stabil dari keseluruhan ligan uji dan native ligan karena memiliki energi ikat yang paling rendah yaitu -8,51 kkal/mol. Berdasarkan hasil yang diperoleh maka dapat disimpulkan bahwa senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam rumput laut *Laminaria* sp secara *in silico* memiliki potensi sebagai antikanker.

Kata kunci: BSLT, EGFR, Erlotinib, *Laminaria* sp, *Molecular docking*

ABSTRACT

Musniati Azis. Anticancer Potential of Methanol Extract of *Laminaria* sp. Using *In Silico* Method and Isolation of Secondary Metabolites of n-Hexane Extract of *Laminaria* sp. (supervised by **Nunuk Hariani Soekamto** and **Herlina Rasyid**).

Laminaria sp. is one type of seaweed in Indonesia that contains secondary metabolite compounds and has the potential as an anticancer, but the utilization of its bioactive compounds has not been optimal. Therefore, this study aims to explore the secondary metabolites contained in *Laminaria* sp seaweed, test the toxicity of the extract, identify the compound components in the extract using GC-MS and analyze the anticancer activity of the compounds contained in the extract. GC-MS and analyze the anticancer activity of compounds contained in the methanol extract of *Laminaria* sp seaweed in silico. The methods used were maceration, evaporation, fractionation (KKV and KR), compound identification using GC-MS spectroscopy and compound characterization with FTIR spectroscopy. Toxicity testing of extracts using the Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) method, identification of compound components using GC-MS and testing of anticancer activity was carried out by computational methods (molecular docking). The total methanol extract of *Laminaria* sp. contains secondary metabolite compounds in the form of alkaloids while the n-hexane extract of *Laminaria* sp contains secondary metabolite compounds in the form of alkaloids and steroids. The results of toxicity testing of n-hexane extract against *Artemia salina* Leach obtained LC₅₀ values of 201.37 ppm. The compound components contained in the total methanol extract are 8-heptadecene, Hexadecanoic acid; methyl ester, Hexadecanoic acid; palmitic acid, 10-Octadecenoic acid; methyl ester, pytol, Eicosane, Docosane, Heneicosane, 1,2-Benzenedicarboxylic acid and (3beta)-3-hydroxypregna-5,16-dien-20-one. The molecular docking results showed that the interaction between EGFR receptor and compound (3beta)-3-hydroxypregna-5,16-dien-20-one is the most stable of all test ligands and native ligands because it has the lowest binding energy of - 8.51 kcal/mol. Based on the results obtained, it can be concluded that the secondary metabolite compounds contained in *Laminaria* sp. seaweed in silico have potential as anticancer.

Keywords: BSLT, EGFR, Erlotinib, *Laminaria* sp, Molecular docking

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN PENGAJUAN	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
PERNYATAAN KEASLIAN TESIS DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA	iii
PRAKATA.....	iv
ABSTRAK.....	v
ABSTRACT	vi
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR LAMPIRAN.....	xi
DAFTAR SIMBOL/SINGKATAN.....	xii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Penyakit Kanker.....	6
2.2 In Silico.....	9
2.3 Tinjauan Umum Phaeopyta	11
2.4 Rumput Laut Famili Laminariaceae	13
2.5 Rumput Laut Laminaria sp.....	14
2.6 Metabolit Sekunder dan Bioaktivitas Rumput Laut Genus <i>Laminaria</i>	15
2.7 Aktivitas Antikanker Rumput Laut Genus <i>Laminaria</i>	19
2.8 Kerangka Konseptual	20
2.9 Hipotesis.....	22
BAB III METODE PENELITIAN.....	23
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	23
3.2. Alat dan Bahan Penelitian.....	23
3.2.1. Alat.....	23
3.2.2. Bahan	23

3.3. Prosedur Penelitian	24
3.3.1 Identifikasi Komponen dan Uji Aktivitas Antikanker Ekstrak Metanol <i>Laminari sp</i> secara <i>in silico</i>	24
3.3.1.1 Preparasi sampel	24
3.3.1.2 Ekstraksi	24
3.3.1.3 Uji fitokimia	25
3.3.1.4 Uji GCMS.....	25
3.3.1.6 Uji <i>In Silico</i>	25
3.3.2 Isolasi Senyawa dari Ekstrak n-Heksan <i>Laminaria sp</i>	26
3.3.2.1 Preparasi Sampel	26
3.3.2.2 Ekstraksi	26
3.3.2.3 Uji fitokimia	27
3.3.2.4 Uji toksisitas ekstrak n-Heksan dengan metode BSLT	27
3.3.2.5 Fraksinasi	28
3.3.2.6 Penentuan struktur molekul senyawa isolat	29
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	30
4.1 Identifikasi Komponen dan Uji Aktivitas Antikanker Ekstrak Metanol <i>Laminaria sp</i> secara <i>in Silico</i>	30
4.1.1 Uji Kandungan Senyawa Metabolit Sekunder.....	30
4.1.2 Uji Aktivitas Antikanker Ekstrak secara <i>in silico</i>	32
4.2 Isolasi Senyawa dari Ekstrak n-Heksan <i>Laminaria sp</i>	35
4.2.1 Ekstraksi dan Uji Fitokimia	35
4.2.2 Uji Toksisitas Ekstrak n-heksan dengan Metode BSLT.....	36
4.2.3 Fraksinasi	37
4.2.4 Uji Kemurnian Isolat 1'E _{3c}	40
4.2.5 Identifikasi Isolat 1'E _{3c}	41
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	44
5.1 Kesimpulan.....	44
5.2 Saran.....	44
DAFTAR PUSTAKA	45
LAMPIRAN	56

DAFTAR TABEL

Nomor	Halaman
1. Parameter docking.....	10
2. Aktivitas Antikanker Rumput Laut Genus <i>Laminaria</i>	19
3. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Metanol <i>Laminaria sp</i>	30
4. Hasil Analisis GC-MS Komponen Kimia Ekstrak Metanol <i>Laminaria sp</i>	31
5. Hasil Docking Senyawa dengan Reseptor EGFR.....	33
6. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak n-heksan <i>Laminaria sp</i>	36
7. Nilai Probit Untuk Setiap % Kematian Akhir	37
8. Fraksi Gabungan Hasil KKV Ekstrak n-Heksan	39

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Halaman
1. Mekanisme Kerja EGFR	8
2. Senyawa Antioksidan dan Antikanker pada Phaeophyta	13
3. Senyawa Sterol pada Rumput Laut <i>Saccharina</i>	14
4. <i>Laminaria sp.</i>	14
5. <i>Essential Oil</i> pada <i>L. japonica</i>	15
6. Struktur Beberapa Senyawa Florotanin.....	16
7. Struktur Senyawa Fukosantin.....	17
8. Senyawa Antioksidan dan Antikanker Golongan Alkaloid	18
9. Kerangka pikir	22
10. Superimpose ligand native sebelum (abu-abu) dan sesudah (biru) <i>redocking</i> (RMSD 1.22Å).....	33
11. Visualisasi Interaksi senyawa dan Reseptor EGFR dalam dua dimensi 34	
12. Maserat n-heksan (a) dan ekstrak hasil (b) evaporasi.....	35
13. Grafik hubungan antara log [sampel] (x) dan nilai probit (y).....	37
14. Kromatogram ekstrak n-heksan hasil fraksinasi KKV.....	38
15. Kromatogram ekstrak n-heksan hasil fraksinasi KKV.....	39
16. Fraksi F1'	39
17. Kromatogram ekstrak n-heksan hasil fraksinasi KR.....	40
18. Isolat F1'E _{3c}	40
19. Kromatogram Isolat F1'E _{3c}	41
20. Spektrum FTIR Isolat F1'E _{3c}	42

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Halaman
1. Bagan kerja penelitian.....	56
2. Uji fitokimia ekstrak metanol dan n-heksan <i>Laminaria sp</i>	59
3. Pengujian toksisitas dengan BSLT.....	61
4. Perhitungan nilai LC ₅₀ dengan metode BSLT.....	62
5. Spektrum FTIR	63
6. Dokumentasi penelitian	64

DAFTAR SIMBOL/SINGKATAN

ATP	Adenosin Trifosfat
BSLT	<i>Brine Shrimp Lethality Test</i>
CADD	<i>Computer Aided Drug Design</i>
DNA	<i>Deoxyribo Nucleic Acid</i>
EGFR	<i>Epidermal Growth Factor Receptor</i>
FTIR	<i>Fourier Transform Infrared Reflektansi</i>
HeLa	<i>Henrietta Lacks - cervix Cancer Cell Line</i>
HCT-116	<i>Human Colon Cancer Cell Line</i>
IC ₅₀	<i>Inhibition Concentration 50%</i>
KLT	Kromatografi Lapis Tipis
KR	Kromatografi Radial
KKV	Kromatografi Kolom Vakum
LC ₅₀	<i>Lethal Concentration 50%</i>
MCF-7	<i>Michigan Cancer Foundation-7</i>
MDA-MB-231	<i>M.D.Anderson-Metastatic Breast-231</i>
RMSD	<i>Rate Mean Square Deviation</i>
UV	<i>Ultra Violet</i>
WHO	<i>World Health Organization</i>

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kanker merupakan penyakit yang disebabkan oleh adanya gen-gen abnormal. Hal ini ditandai dengan adanya sinyal proliferasi secara terus-menerus, rusaknya gen penekan pertumbuhan, dan tidak adanya proses kematian sel (Hanahan, 2011). Proses terjadinya kanker dapat berlangsung sampai puluhan tahun. Karsinogenesis atau proses terjadinya kanker dari sel normal terbagi dalam beberapa tahap yaitu inisiasi, promosi, konversi, dan progresi. Tiga tahap pertama terjadi dari sel normal yang berubah menjadi sel kanker, dan tahap terakhir terjadi setelah sel kanker terbentuk (Sarkar, 2013). Sel kanker bersifat agresif dan memiliki kemampuan invasif (menyusup dan merusak jaringan di dekatnya) dan metastasis (menyebarkan ke jaringan lainnya melalui sistem pembuluh darah dan limpa) (Schneider, 2011).

Prevalensi penyakit kanker di dunia cenderung semakin meningkat. Berdasarkan data *Global Burden of Cancer, International Agency for Research on Cancer (IARC)* diketahui bahwa pada tahun 2020 terdapat 19,29 juta kasus baru kanker di seluruh dunia. Sedangkan kasus kanker di Indonesia pada tahun 2020 berjumlah 396.914 kasus dengan jumlah kematian mencapai 234.511. Hal ini berarti persentase kematian pasien kanker di Indonesia tahun 2020 ialah 59,08 persen (WHO, 2020).

Terapi kanker pada umumnya melibatkan tindakan pembedahan dan radiasi yang biasanya diikuti dengan kemoterapi sistemik menggunakan zat sitotoksik (Rayan dkk., 2017). Akan tetapi, zat sitotoksik yang digunakan, bekerja tidak selektif sehingga sering menimbulkan efek samping. Oleh karena itu, hingga saat ini terus dikembangkan jenis terapi bertarget dengan selektivitas yang lebih baik dibandingkan kemoterapi sitotoksik (Bagnyukova dkk., 2010). Zat sitotoksik adalah suatu zat yang dapat menghancurkan sel normal dan sel kanker, serta dapat menghambat pertumbuhan sel tumor malignan (Marliza, 2021).

Terapi bertarget bekerja dengan memblokir penyebaran dan pertumbuhan sel kanker dengan mempengaruhi molekul spesifik atau jalur penting yang

terlibat dalam pertumbuhan dan perkembangan sel kanker (Carrington, 2015), salah satunya adalah jalur transduksi sinyal intraseluler yang dimediasi oleh kelompok enzim tirosin kinase (Bagnyukova dkk., 2010).

Epidermal growth factor receptor (EGFR) merupakan sub kelompok reseptor tirosin kinase yang sering diekspresikan pada beberapa jenis kanker (Harari, 2004). Penghambatan aktivitas EGFR merupakan salah satu strategi rasional dalam terapi kanker (Seshacharyulu dkk., 2012). Inhibitor tirosin kinase EGFR generasi pertama salah satunya yaitu erlotinib. Obat ini merupakan kelompok *small molecule tyrosine kinase inhibitor* (TKI) yang bekerja sebagai antagonis adenosin trifosfat (ATP) di daerah intraseluler (Yewale dkk., 2013). Penggunaan inhibitor ini memiliki keterbatasan terkait dengan masalah resistensi atau berkurangnya respon tumor. Oleh karena itu, diperlukan upaya mengembangkan inhibitor baru dengan meningkatkan efikasi untuk mengatasi masalah tersebut (Huang, 2015).

Salah satu upaya penemuan dan pengembangan obat baru yang dapat dilakukan adalah dengan memanfaatkan tumbuhan obat tradisional yang merupakan bagian dari keanekaragaman hayati Indonesia yaitu biota laut maupun biota darat (Sarasmita, 2015). Kekayaan alam biota laut Indonesia terkenal sebagai salah satu *megacenter* utama keanekaragaman hayati dunia dengan sekitar 40.000 jenis tumbuhan sebagai unsur floranya (Kelman, 2012). Salah satu potensi biota laut perairan Indonesia adalah makro alga atau dikenal dalam perdagangan sebagai rumput laut. Rumput laut mengandung senyawa aktif dengan berbagai bioaktivitas sehingga memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai bahan nutraseutikal (Kelman, 2012).

Salah satu golongan rumput laut yang menarik untuk diteliti adalah rumput laut coklat atau Phaeophyta (Blunt, 2012). Rumput laut coklat mengandung berbagai metabolit seperti karotenoid, laminarin, alginat, fukoidan, manitol, dan florotanin yang berfungsi sebagai bahan antikanker, antioksidan, dan agen kemopreventif berbagai penyakit degenerative (Diachanty, 2017). Ekstrak metanol dan ekstrak n-heksan pada rumput laut coklat memiliki aktivitas sebagai antikanker. Penelitian yang dilakukan Khanavi (2010) menunjukkan bahwa ekstrak metanol *S. swartzii* memiliki sitotoksitas *in vitro* terhadap sel Caco-2 dan T47D serta meningkatkan persentase sel apoptosis pada sel-sel tersebut. Selain itu, ekstrak metanol *S. muticum* menunjukkan aktivitas anti proliferasi terhadap sel kanker payudara MCF-7 dan MDA-MB-231 dengan nilai

IC₅₀ sebesar 22 dan 55 µg / mL (Hashdy, 2022). Sedangkan ekstrak n-heksan *S. serratifolium* menunjukkan efek sitotoksik pada sel U87MG pada konsentrasi 14-16 µg/mL. Ekstrak n-heksana dari *S. aquifolium* merupakan agen sitotoksik yang mengandung alkaloid, terpenoid, tanin, saponin dan steroid. Senyawa ekstrak n-heksana dari rumput laut ini adalah 1- heksadekanoat, 1-Nonadekanoat, asam heksadekanoat, asam benzena propanoat, asam arakidonat, Octacosanol dan berpotensi sebagai zat antikanker (Kang, 2015; Firdaus, 2016).

Salah satu famili yang berasal dari rumput laut coklat yaitu famili Laminariaceae. Rumput laut famili Laminariacea mengandung metabolit sekunder sterol seperti fucosterol, 24-methylene cholesterol, kolesterol, 24-ketocholesterol, dan saringosterol (Kim, 2011). Senyawa sterol bersifat antioksidan, hipoglikemik, dan mampu menghambat tiroid, serta memiliki bioaktivitas untuk mencegah penyakit kanker tertentu, misalnya kanker ovarium, prostat, payudara, dan kanker usus besar (Nasrudin, 2017).

Rumput laut *Laminaria sp* berasal dari family Laminariaceae dan genus Laminaria. Beberapa senyawa metabolit sekunder telah diisolasi dari rumput laut genus *Laminaria* seperti *Laminaria japonica* mengandung *essential oil* dengan komponen utama yaitu tetradekanoat, heksadekanoat, (9Z,12Z)- asam 9,12-oktadekadienoat, dan (9Z)-heksadek-9-enoat (Patra, 2015), fukosantin (Das, 2010), florotanin (Huicheng, 2009) dan asam amino tipe alkaloid baru laminin (trimetil-(5-amino-5-karboksil)-amoniumdioksalat (Bokov, 2020).

Penelitian yang dilakukan Kim (2011) melaporkan bahwa ekstrak air dari *L. japonica* memiliki aktivitas penangkal radikal DPPH dengan nilai IC₅₀ 28,93 mg/mL, sedangkan ekstrak asam sitratnya memiliki aktivitas penangkal radikal DPPH dengan nilai IC₅₀ 0,98 mg/mL. Penelitian yang dilakukan Das (2008) menunjukkan bahwa fukosantin yang diisolasi dari *L. Japonica* Areschoug pada konsentrasi 25 µM dapat menghambat proliferasi sebesar 29,5% dari *cell line* HepG2 (*Human liver hepatocarcinoma*). Selain itu, *L. Japonica* Aresch mengandung senyawa florotanin yang menunjukkan penghambatan terhadap proliferasi sel BEL-7402 dan P388 dengan nilai IC₅₀ masing-masing sebesar 120 dan >200 µg/mL (Huicheng, 2009).

Berdasarkan pengetahuan berbagai potensi kandungan metabolit sekunder dalam rumput laut genus *Laminaria*, maka rumput laut *Laminaria sp* berpotensi dikembangkan untuk pengobatan sebagai antikanker. Bioaktivitas suatu tanaman sebagai bahan antikanker dapat diketahui dengan melakukan

penelitian awal yaitu uji toksisitas dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Uji BSLT berguna untuk menentukan berbagai aktivitas biologis pada tanaman seperti aktivitas sitotoksik, fototoksik, pestisida, dan inhibisi enzim (Veni, 2014). Uji BSLT dapat digunakan sebagai dasar untuk uji sitotoksitas terhadap *cell line*, aktivitas antitumor dan antikanker (Janakiraman, 2016). Semakin tinggi tingkat toksisitas metabolit sekunder tanaman secara BSLT, yang mana diwakili dengan nilai LC_{50} yang semakin kecil, maka semakin potensial tanaman tersebut untuk digunakan dalam pengobatan antikanker (Meyer, 1982). Untuk mengetahui aktivitas ekstrak/senyawa dapat dilakukan melalui uji *in vitro* dan uji *in silico*.

Istilah *in silico* digunakan untuk menggambarkan eksperimen yang dilakukan dengan bantuan komputer. Uji *in silico* dapat digunakan untuk mengetahui interaksi antara suatu senyawa dengan molekul target, salah satunya reseptor. Interaksi senyawa dengan reseptor dapat divisualisasikan dengan metode komputasi dan dapat digunakan untuk mengetahui *pharmacophore* dari suatu senyawa (Ekins dkk., 2007). Uji *in silico* menghasilkan nilai energi ikatan atau *Rerank Score* (RS). Energi ikatan menunjukkan jumlah energi yang dibutuhkan untuk membentuk ikatan antara ligan dengan reseptor. Semakin kecil energi ikatan berarti semakin stabil ikatan tersebut. Semakin stabil ikatan ligan dengan reseptor maka dapat diprediksikan bahwa aktivitasnya juga semakin besar (Hardjono, 2012). Cara melakukan uji *in silico* adalah dengan *docking* molekul yang akan diprediksi aktivitasnya pada sel target yang dipilih. *Docking* adalah suatu upaya untuk menselaraskan antara ligan yang merupakan molekul kecil ke dalam sel target yang merupakan molekul protein yang besar (Jensen, 2007). Metode ini memiliki keunggulan dari segi waktu yang lebih singkat dan biaya yang lebih murah dibandingkan melakukan uji secara *in vitro* (Cosconati dkk., 2010).

Berdasarkan latar belakang tersebut maka penelitian ini dilakukan untuk mengeksplorasi metabolit sekunder yang terkandung dalam rumput laut *Laminaria sp* dan menganalisis *molecular docking* senyawa metabolit sekunder pada rumput laut *Laminaria sp* terhadap *Epidermal Growth Factor Receptor* (EGFR).

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian ini yaitu:

1. Golongan senyawa metabolit sekunder apa yang terdapat dalam ekstrak

metanol total dan n-heksan rumput laut *Laminaria* sp?

2. Senyawa apa saja yang terdapat pada ekstrak metanol total rumput laut *Laminaria* sp?
3. Bagaimana aktivitas antikanker senyawa yang terdapat pada ekstrak metanol total rumput laut *Laminaria* sp secara *in silico*?
4. Bagaimana toksisitas ekstrak n-heksan rumput laut *Laminaria* sp terhadap larva *Artemia salina* L.?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk:

1. Menganalisis golongan senyawa pada ekstrak metanol total dan n-heksan rumput laut *Laminaria* sp.
2. Menganalisis senyawa yang terdapat pada ekstrak metanol total rumput laut *Laminaria* sp.
3. Menganalisis aktivitas antikanker senyawa yang terdapat pada ekstrak metanol total rumput laut *Laminaria* sp secara *in silico*.
4. Menganalisis toksisitas ekstrak n-heksan rumput laut *Laminaria* sp terhadap larva *Artemia salina* L.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah:

1. Menjadi sumber informasi tentang aktivitas ekstrak metanol total dan n-heksan rumput laut *Laminaria* sp.
2. Memberikan data terkait kandungan metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak ekstrak metanol total dan n-heksan rumput laut *Laminaria* sp.
3. Menghasilkan data terkait potensi aktivitas antikanker ekstrak metanol total rumput laut *Laminaria* sp secara *in silico*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Penyakit Kanker

Kanker berasal dari bahasa Latin *Carcinamon*. *Carci* artinya kepiting dan *Oma* artinya pembesaran. Kanker melekat erat ke semua permukaan yang dipijaknya seperti seekor kepiting. Kanker tumbuh dengan cara infiltrasi, invasi, destruksi, dan penetrasi progresif ke jaringan sekitar (Kumar dkk., 2007). Kanker terjadi karena perubahan atau mutasi pada gen di dalam sebuah sel yang menyebabkan pertumbuhan sel tersebut di luar kendali sinyal dari bagian tubuh lainnya dan akhirnya sel kanker dapat menyebar ke bagian tubuh yang jauh dari tempat asal sel tersebut (Chang dkk., 2010).

Kanker sel timbul akibat adanya kerusakan sel yang menyebabkan perubahan bagian pada genetik atau epigenetik. Kerusakan dapat dikarenakan agen karsinogen fisik, kimia atau biologis. Proses terjadinya kanker merupakan proses bertahap yang diawali dengan fase inisiasi di mana sel terpapar karsinogen sehingga terjadi perubahan susunan genetik sel. Fase selanjutnya adalah promosi, di mana terjadi perubahan lingkungan yang mendukung pertumbuhan sel “rusak” dibanding sel normal. Fase berikutnya adalah konversi atau transformasi di mana sel berubah menjadi sel kanker. Fase terakhir adalah progression di mana terjadi perubahan genetik lebih lanjut yang semakin meningkatkan kemampuan sel untuk berproliferasi dan kemampuan untuk menginvasi dan bermetastasis ke jaringan lainnya (Hanahan, 2011).

Salah satu penyebab paling utama dari terjadinya kanker adalah adanya mutasi pada gen-gen tertentu. Mutasi tersebut dapat mengakibatkan perubahan fungsi protein yang di ekspresikan sehingga akan menyebabkan transformasi sel normal menjadi sel kanker (Harris, 1996). Beberapa gen yang mengalami mutasi akan memunculkan suatu sinyal yang menyebabkan terjadinya peningkatan aktivitas proliferasi dan penurunan apoptosis secara terus menerus atau tidak terkendali pada suatu jaringan, sehingga lama kelamaan akan menyebabkan terbentuknya massa tumor (Lewandowska, 2019). Ketika tumor semakin berkembang dan terjadi mutasi sekunder, maka kebutuhan nutrisi pada sel-sel tumor akan semakin besar. Hal tersebut akan menyebabkan sel tumor menjadi

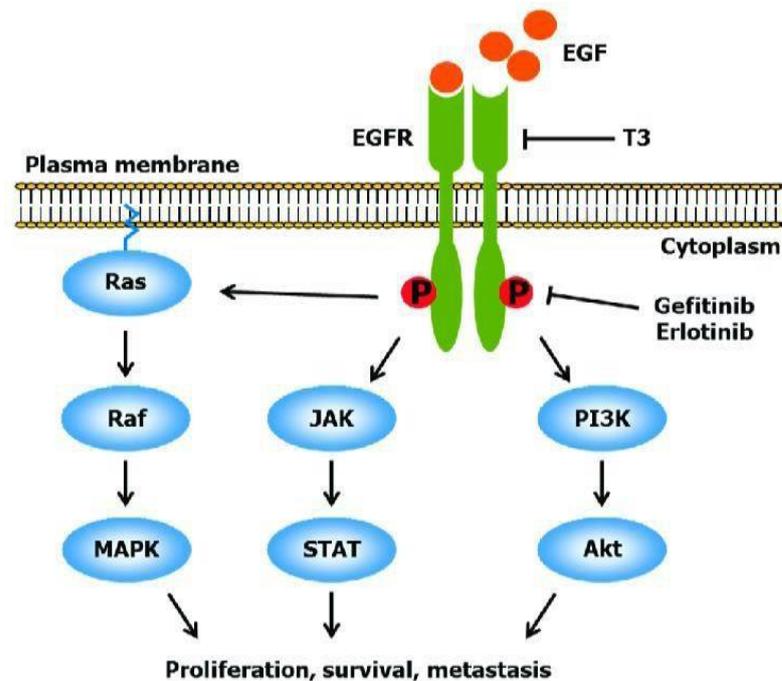
bersifat semakin agresif yang salah satunya ditandai dengan migrasi dan invasi sel-sel tumor ke organ lainnya (metastasis). Sel tumor yang mengalami metastasis kemudian disebut sebagai sel kanker ganas. Umumnya, sel kanker yang bermetastasis akan mengarah pada prognosis buruk yang dapat menyebabkan kematian (Haeno, 2007).

Terapi kanker umumnya melibatkan tindakan pembedahan dan radiasi yang biasanya diikuti dengan kemoterapi sistemik menggunakan zat sitotoksik (Rayan dkk., 2017). Dalam penggunaannya, zat sitotoksik bekerja tidak selektif sehingga sering menimbulkan efek samping. Oleh karena itu, hingga saat ini terus dikembangkan jenis terapi bertarget dengan selektivitas yang lebih baik dibandingkan kemoterapi sitotoksik (Bagnyukova dkk., 2010). Terapi bertarget bekerja dengan memblok penyebaran dan pertumbuhan sel kanker dengan mempengaruhi molekul spesifik atau jalur penting yang terlibat dalam pertumbuhan dan perkembangan sel kanker (Carrington, 2015), salah satunya adalah jalur transduksi sinyal intraseluler yang dimediasi oleh kelompok enzim tirosin kinase (Bagnyukova dkk., 2010).

Reseptor tirosin kinase adalah suatu protein transmembran yang memiliki tempat ikatan ligan pada sisi luar membran plasma dan hanya memiliki satu segmen transmembran atau dikatakan berbentuk monomer. Kelompok reseptor tirosin kinase yaitu EGFR dapat mentrigger jalur molekuler yang mendorong pertumbuhan sel, proliferasi dan survival sel. Komponen ekstraseluler EGFR akan berikatan dengan ligannya, dimana komponen intraseluler terdiri dari tirosin kinase yang berperan sebagai sinyal transduksi. Setelah ligan berikatan dengan reseptor ekstraseluler akan maka reseptor akan teraktivasi. Sinyal ini akan diteruskan pada beberapa jalur selanjutnya terutama jalur RAS-RAF-MEK-ERK atau MAPK, PI3K-AKT-mTOR atau JAK-STAT. Jalur ini mendorong transkripsi gen dan gangguan siklus sel mengakibatkan peningkatan proliferasi sel dan angiogenesis, menghambat apoptosis dan perubahan kapasitas migrasi, adesi dan invasi (Kusumawardhani dkk., 2022).

Mekanisme kerja EGFR dimulai dari aktivasi oleh ligan sehingga EGFR mengalami transisi monomer tidak aktif menjadi homodimer aktif. Dimerisasi EGFR ini merangsang aktivitas intrinsik protein tirosin kinase intrinsiknya dan terjadi autofosforilasi tirosin. Hal ini mengakibatkan muncul aktivasi dan pensinyalan oleh beberapa protein lain yang berasosiasi dengan tirosin yang telah mengalami fosforilasi. Jalur yang diaktifkan oleh reseptor tirosin protein

kinase mencangkup jalur PI3- AKT dan jalur MAPK. Melalui jalur ini, sistem EGFR inilah yg akan mengaktifkan proliferasi (fase sel saat mengalami pengulangan siklus sel tanpa hambatan), pertumbuhan, diferensiasi, migrasi, serta kelangsungan hidup sel (Kusumawardhani dkk., 2022).



Gambar 1. Mekanisme Kerja EGFR

EGFR memainkan peran penting dalam regulasi proses selular normal dan patofisiologi penyakit hiperproliferatif seperti kanker. Transaktivasi signal EGFR berikatan dengan proses biologi pada sel kanker manusia, seperti proliferasi sel, migrasi dan anti apoptosis. Apabila EGFR ini diinduksi, maka aktivasi proliferasi dan migrasi sel terutama kanker juga terpacu (Fischer, 2003).

Penghambatan aktivitas EGFR merupakan salah satu strategi rasional dalam terapi antikanker (Seshacharyulu dkk., 2012). Inhibitor tirosin kinase EGFR generasi pertama salah satunya yaitu erlotinib. Obat ini merupakan kelompok *small molecule tyrosine kinase inhibitor* (TKI) yang bekerja sebagai antagonis ATP di daerah intraseluler (Yewale dkk., 2013). Pada penggunaannya, inhibitor ini memiliki keterbatasan terkait dengan masalah resistensi atau berkurangnya respon tumor. Oleh karena itu, diperlukan upaya mengembangkan inhibitor baru dengan peningkatan efikasi untuk mengatasi masalah tersebut (Huang, 2015).

2.2 *In silico*

Salah satu metode pengembangan obat paling mutakhir berdasarkan pendekatan adalah secara komputasi (*in silico*). Metode komputasi memberikan hasil pengujian yang jauh lebih memadai dari prediksi teoritis, mudah untuk digunakan, tidak mahal dan aman (Hamzah, 2015). Uji *in silico* adalah metode yang dapat membantu dalam mengidentifikasi target obat, mengetahui kemiripan obat dan menganalisis struktur target untuk kemungkinan dapat mengikat sisi yang aktif lalu menghasilkan molekul yang diinginkan. Selain itu juga mampu memprediksi interaksi antar molekul, mengurutkan molekul senyawa berdasarkan nilai afinitas pengikat (Shoichet, 2004). Metode yang digunakan dalam mempelajari interaksi tersebut yakni *molecular docking*.

Secara bahasa, '*molecular*' berarti molekuler, dan '*docking*' berarti penambatan, sehingga dapat diartikan 'penambatan molekuler'. Dalam hal ini, yang ditambatkan adalah molekul obat (ligan) pada reseptornya (target obat). *Molecular docking* digunakan untuk mengetahui bagaimana ligan berinteraksi dengan situs tambat reseptornya sehingga dapat diprediksi aktifitasnya. Ligan biasanya berupa molekul kecil, atau dapat pula berupa protein. Sedangkan reseptor berupa rangkaian susunan asam amino protein, atau dapat pula berupa DNA atau RNA yang terdapat dalam sel tubuh. *Docking* dilakukan untuk mensimulasikan secara komputasi proses pengenalan molekul. Tujuan dari *docking* adalah untuk mencapai konformasi protein dan ligan yang optimal sehingga energi bebas dari sistem secara keseluruhan diminimalkan. *Docking* membantu dalam mempelajari obat / ligan atau interaksi reseptor / protein dengan mengidentifikasi situs aktif yang cocok pada protein, mendapatkan geometri terbaik dari kompleks ligan – reseptor, dan menghitung energi interaksi dari ligan yang berbeda untuk merancang ligan yang lebih efektif (Setiawan, 2017).

Prinsip dari *docking* meliputi dua tahap yang saling berhubungan, yaitu memprediksikan semua konformasi yang mungkin dari ligan pada sisi aktif dari protein dan mengurutkan skor konformasi tersebut berdasarkan afinitasnya. Prediksi konformasi dari ligan menggunakan suatu algoritma sampling, sedangkan proses pengurutan konformasi menggunakan suatu fungsi skoring (Meng dkk., 2011). Parameter *Docking* menurut Dai (2010) dapat dilihat pada tabel 1.

Proses *docking* memerlukan validasi data agar hasil *docking* yang diperoleh dapat dipercaya sebagai proses yang mendekati interaksi sebenarnya dan bisa digunakan untuk penelitian lanjutan. Data yang dianalisa berupa perbandingan nilai ikatan antara ligan pembanding-*ligand binding site receptor* dengan ikatan *ligandcopy-ligand binding site receptor*. Perbandingan nilai tersebut dinyatakan dengan *rate mean square deviation* (RMSD). Metode *docking* dikatakan baik apabila nilai RMSD-nya lebih kecil atau sama dengan 2 dan jika tidak memenuhi nilai tersebut (lebih dari 2) metode yang digunakan tidak dapat dipercaya (Rollando, 2018).

Tabel 1. Parameter Docking

No.	Parameter	Keterangan	Standar
1	RMSD	Menunjukkan kesesuaian koordinat ligan dari hasil kristalografi dibandingkan dengan koordinat ligan yang ditambahkan.	Nilai RMSD $\leq 2\text{\AA}$
2	<i>Rerank Score</i>	Digambarkan sebagai prediksi interaksi ikatan antara obat dan reseptor.	Nilai harus $< \textit{native ligand}$. semakin kecil menunjukkan besar tingkat keserasian antara ligan dan reseptor berinteraksi.
3	Ikatan Sterik	Ikatan sterik dapat memberikan tempat bagi ikatan hidrogen dengan asam amino yang aktif sehingga akan menstabilkan suatu ikatan	Lebih banyak ikatan yang terjadi dari pembanding, maka lebih bagus
4	Ikatan Hidrogen	Ikatan hidrogen adalah ikatan yang terjadi antara hidrogen dengan atom O, N, F.).	Lebih banyak ikatan yang terjadi dari pembanding maka lebih baik.
5	Jarak Ikatan	Jarak antara atom ligan dan atom pada reseptor	Nilai jarak ikatan lebih

2.3 Tinjauan Umum Phaeophyta

Makro alga atau yang lebih dikenal di masyarakat dengan nama rumput laut (*seaweed*) merupakan kelompok tumbuhan berklorofil yang terdiri atas satu atau banyak sel dan berbentuk koloni. Rumput laut mengandung sejumlah komponen bioaktif seperti senyawa fenolik, pigmen alami, polisakarida sulfat, serat, dan komponen bioaktif lainnya yang berkhasiat untuk kesehatan. Berdasarkan kandungan pigmen yang dominan pada rumput laut, rumput laut dibedakan dalam tiga divisi utama yaitu Rhodophyta (alga merah), Chlorophyta (alga hijau), dan Phaeophyta (alga coklat) (Erniati, 2016).

Alga merah meliputi 6000 jenis spesies alga dengan karakteristik warna merah atau merah muda dari pigmen fikosianin dan fikoeritrin. Alga merah juga mengandung beberapa pigmen lain seperti fikobilin, klorofil a, β -karoten, dan xantofil. Alga ini biasanya hidup di daerah intertidal dan subtidal dengan kedalaman sekitar 40 m sampai 250 m. Alga merah dikenal sebagai penghasil fikokoloid seperti agarosa, agar, dan karagenan. Salah satu jenis alga merah yang cukup terkenal adalah *Eucheuma cottonii* (MacArtain, 2007).

Alga hijau diperkirakan memiliki anggota spesies sekitar 1500, yang mana hanya 15% yang hidup di laut dan sisanya di daerah air tawar. Oleh karena kebutuhan akan cahaya matahari, alga jenis ini biasanya hidup di perairan yang dangkal. Pigmen utama pada alga hijau adalah klorofil sedangkan pada alga coklat adalah fukosantin. Alga coklat merupakan multiseluler alga yang memiliki jenis sekitar 1800. Karakteristik dari jenis ini adalah warna dari hijau zaitun sampai warna coklat gelap akibat melimpahnya pigmen fukosantin. Contoh genus dari kelompok ini adalah *Laminaria* dan *Sargassum* (MacArtain, 2007).

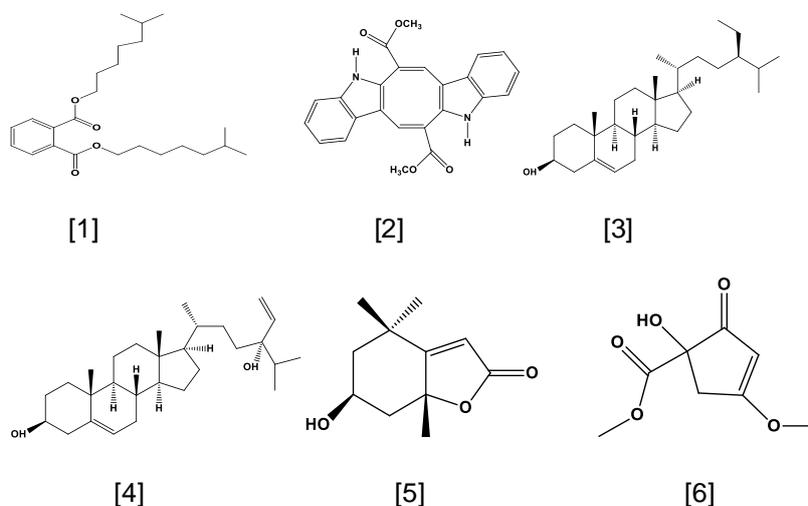
Alga coklat berbentuk benang atau lembaran, bahkan ada yang menyerupai tumbuhan tingkat tinggi dengan bagian-bagian serupa akar, batang, dan daun. Alga coklat tumbuh di perairan pada kedalaman 0.5–10 m. Alga coklat hidup di daerah perairan jernih yang mempunyai substrat dasar batu karang dan dapat tumbuh subur pada daerah tropis. Phaeophyta merupakan tumbuhan bercabang berbentuk benang kecil yang halus (*Ectocarpus*), bertangkai pendek dan bertalus lebar seperti *Copstaria*, *Alaria*, dan *Laminaria*. Dinding sel alga coklat terdiri dari fukoidan, alginat, laminarin, dan turunannya (Atmadja, 1996).

Alga coklat memiliki bioaktivitas sebagai antioksidan dan antikanker. Kandungan antioksidan pada rumput laut terutama senyawa antioksidatif

polifenol. Penelitian isolasi senyawa polifenol dari alga coklat memperoleh bermacam-macam senyawa antara lain catechin, epicatechin, epigallocatechin, catechin gallate, epicatechin gallate, epigallocatechin gallate, rutin, quercitrin, hesperidin, myricetin, morin, luteolin, quercetin, apigeini, kaempferol, dan baicalein (Siriwardhana, 2003).

Rumput laut genus *Sargassum* tergolong dalam alga coklat. Senyawa bioaktif yang dominan dalam *Sargassum* sp yaitu florotanin, fukoidan, fukosterol alginat, meroditerpenoid, dan asam-asam fenolat. Jenis florotanin yang paling banyak ditemukan pada *Sargassum fusiforme* yaitu fuhalol, floretol, dan fukofloretol (Li, 2017). Syad (2013) melaporkan bahwa alga coklat *sargassum wightii* mengandung senyawa triterpenoid berupa 1,2-benzenedicarboxylic acid [1] yang mampu meredam radikal DPPH. Menurut Heo (2008), fukosantin yang diisolasi dari *Sargassum siliquastrum* memiliki efek sitoprotektif pada kerusakan DNA yang diinduksi oleh stres oksidatif. Fukosantin mampu mengurangi produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) intraseluler dan kuat dalam meningkatkan viabilitas sel vero yang diinduksi oleh H₂O₂.

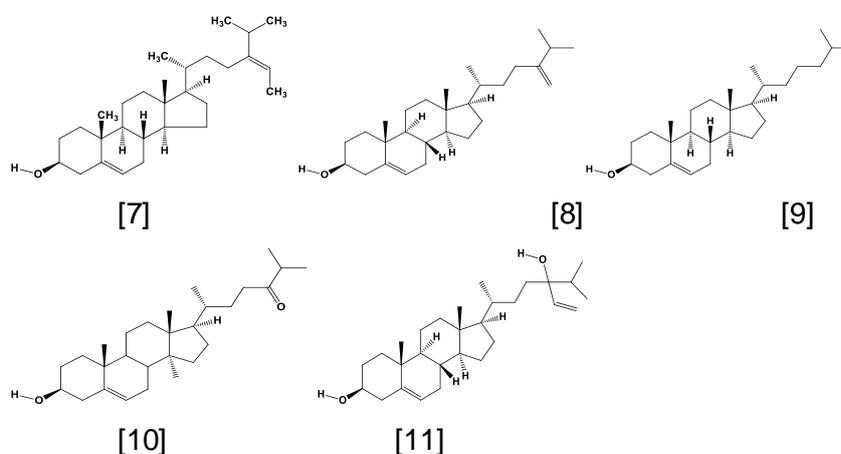
Penelitian yang dilakukan Abdelrheem (2020) menunjukkan bahwa senyawa caulerpin [2] yang diisolasi dari *Sargassum platycarpum* merupakan alkaloid bis-indole, senyawa ini memiliki bioaktivitas terhadap *cell line* kanker hati HepG2 dengan nilai IC₅₀ sebesar 24,6 ± 2,1 mg/mL. Selain itu, Abdelrheem (2021) juga berhasil mengisolasi beta sitosterol [3], (24S)-saringosterol [4], Loliolide [5], dan Kjellmanianone [6] dari *S. platycarpum*. Keempat senyawa ini memiliki bioaktivitas terhadap *cell line* HepG2 dengan nilai IC₅₀ masing-masing sebesar 0.34 ± 0.01 µM, 0.10 ± 0.00 µM, 0.61 ± 0.01 µM dan 0.29 ± 0.00 µM.



Gambar 2. Senyawa Antioksidan dan Antikanker pada Phaeophyta

2.4 Rumpuk Laut Famili Laminariaceae

Senyawa metabolit sekunder yang telah berhasil diisolasi dari rumput laut famili Laminariacea adalah golongan sterol. Sterol adalah senyawa amfipatik berasal dari biosintesis isoprenoid, yang membentuk gugus triterpena dengan struktur *tetracyclic cyclopenta(α)phenanthrene* dan rantai samping pada C-17. Sterol alga laut secara struktural dan fungsional mirip dengan kolesterol. Akan tetapi, pada sterol alga laut terdapat substitusi alkil di C-24 yang tidak terdapat pada kolesterol (Barbosa, 2014). Berbagai sterol telah diidentifikasi pada rumput laut dari genus *Saccharina* yaitu fucosterol [7], 24-methylene cholesterol [8], kolesterol [9], 24-ketokolesterol [10], dan saringosterol [11] (Kim, 2011).



Gambar 3. Senyawa Sterol pada Rumpuk Laut *Saccharina*

Senyawa sterol memiliki bioaktivitas sebagai antioksidan dan antikanker, sebagai contoh fukosterol. Fukosterol merupakan jenis steroid yang paling melimpah dalam Phaeophyta (Payghami, 2015). Fukosterol memiliki efek antitumor kolon dan payudara. Fukosterol memperlihatkan aktivitas sitotoksik terhadap proliferasi sel tumor karsinoma *breast ductal* ($IC_{50} = 27,94 \pm 9.3 \mu\text{g/ml}$) dan kolon ($IC_{50} = 70,41 \pm 7,5 \mu\text{g/ml}$). Akan tetapi, fukosterol tidak menunjukkan efek toksisitas pada sel normal (*Swiss mouse embryo fibroblast*) sampai konsentrasi $70 \mu\text{g/mL}$. Oleh karena itu, fukosterol dapat membunuh sel tumor kolon dan payudara pada konsentrasi yang masih aman terhadap sel normal (Ostad, 2012). Efek antitumor fukosterol diduga karena adanya kontribusi dari aktivitas antioksidan senyawa tersebut (Ham, 2010).

Rumput laut famili Laminariaceae dari genus *Saccharina* mengandung senyawa yang memiliki beberapa aktivitas biologis sebagai contoh polisakarida

sulfat dari *Saccharina japonica* berpotensi menghambat pembentukan koloni kanker payudara manusia T-47D, melanoma RPMI-7951, dan *cell line* SK-MEL-28 (Vishchuk, 2011). Selain itu, Anastyuk (2016) melaporkan bahwa fraksi fukoidan dari *Saccharina cichorioides* memiliki aktivitas antikanker secara *in vitro* terhadap sel kanker usus besar manusia HT-29 dan DLD-1.

2.5 Rumput Laut *Laminaria* sp

Laminaria sp berasal dari famili Laminariaceae. Spesies dari famili Laminariaceae adalah alga dengan talus yang mirip seperti pita. Panjangnya 1 sampai 12 m dan lebar 10 sampai 35 cm. Talus di dekat pangkal meruncing menjadi batang dan bagian bawah bercabang menjadi rhizoid, membentuk formasi akar. Rhizoid membantu alga menempel pada tanah berbatu. Setiap tahun, di akhir musim gugur alga ini mati, dan tumbuh lagi pada musim dingin. *Laminaria* membentuk semak di atas batu dan bebatuan di zona pesisir laut dan samudera pada kedalaman 2 hingga 25 meter di tempat-tempat dengan pergerakan air yang konstan. *Laminaria* banyak dibudidayakan di perkebunan bawah air di Cina dan Jepang (Kim, 2011).

Klasifikasi dari rumput laut *Laminaria* sp dapat dilihat pada gambar 4.



Gambar 4. *Laminaria* sp

Kingdom	= Plantae
Divisio	= Phaeophyta
Classis	= Phaeophyceae
Ordo	= Laminariales
Familia	= Laminariaceae
Genus	= <i>Laminaria</i>
Species	= <i>Laminaria</i> sp

(Trono, 1988)

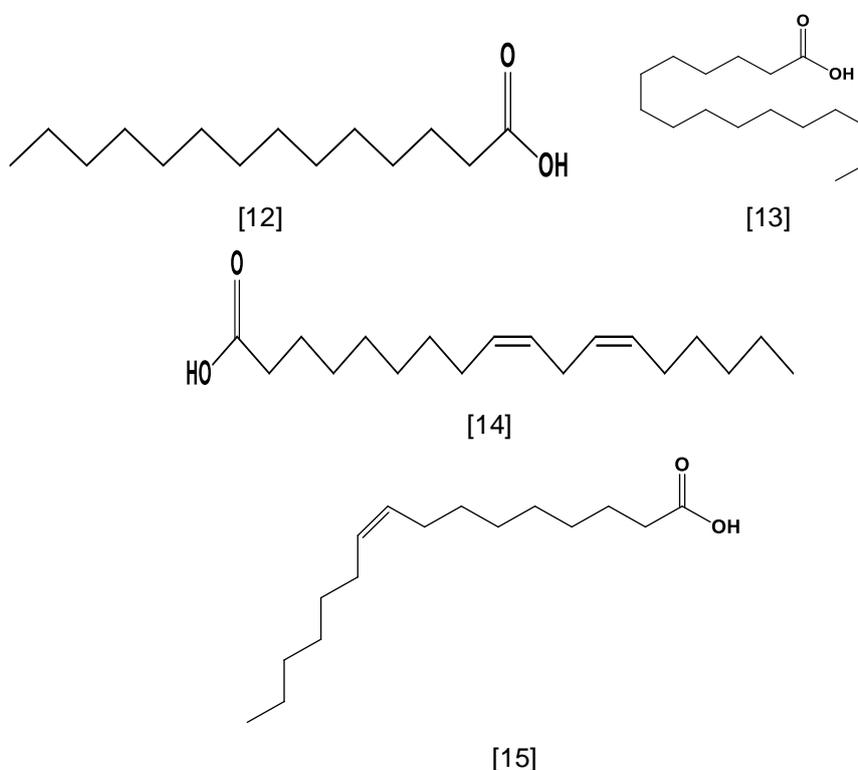
2.6 Metabolit Sekunder dan Bioaktivitas Rumput Laut Genus *Laminaria*

Rumput laut genus *Laminaria* memiliki bioaktivitas sebagai antioksidan dan antikanker. Salah satunya yaitu *Laminaria japonica*. Senyawa fukosantin yang diisolasi dari *L. japonica* Areschoug pada konsentrasi 25 μM dapat menghambat proliferasi sebesar 29,5% dari *cell line* HepG2 (*Human liver hepatocarcinoma*) (Das, 2008). Penelitian yang dilakukan Kim (2011) melaporkan bahwa ekstrak air dari *L. japonica* memiliki aktivitas penangkal radikal DPPH dengan nilai IC_{50} 28,93 mg/mL, sedangkan penelitian yang dilakukan Lu (2013) melaporkan bahwa *L. japonica* yang diekstraksi dengan asam sitrat memiliki aktivitas penangkal radikal DPPH dengan nilai IC_{50} 0,98 mg/mL.

Ada beberapa senyawa metabolit sekunder yang berhasil diisolasi dari rumput laut genus *Laminaria* yaitu:

1. *Essential oil*

Penelitian yang dilakukan oleh Patra (2015) menunjukkan *Laminaria japonica* mengandung *essential oil*. Komponen utamanya yaitu asam tetradekanoat [12], asam heksadekanoat [13], (9Z,12Z)- asam 9,12-oktadekanoat [14] dan (9Z)-heksadek-9-enoat [15].



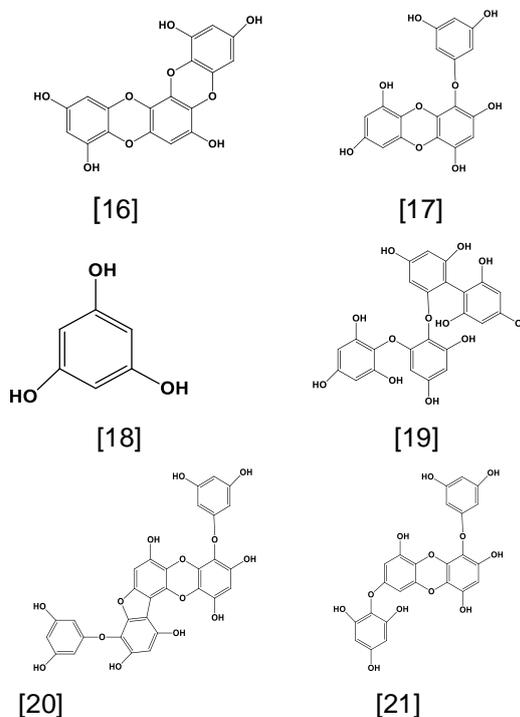
Gambar 5. *Essential Oil* pada *L. japonica*

Penelitian yang dilakukan Bharath (2021), menghasilkan bahwa asam heksadekanat memiliki aktivitas antioksidan terhadap radikal DPPH dan superoksida dengan nilai IC_{50} masing-masing sebesar 70.62 $\mu\text{g/ml}$ dan 71.41 $\mu\text{g/ml}$. Selain itu, asam heksadekanat berperan sebagai penghambat pertumbuhan sel pada sel kanker usus besar HT-29 dengan nilai IC_{50} sebesar 36,04 $\mu\text{g/ml}$.

Panggua (2015) melaporkan bahwa asam heksadekanat bersifat sangat toksik pada pengujian toksisitas dengan metode BSLT dengan nilai LC_{50} pada konsentrasi 100 mg/mL dan dapat berperan sebagai senyawa antikanker dengan menghambat laju pembelahan dan pertumbuhan sel (efek mitosis). Penelitian yang dilakukan Abdelrheem (2021) menghasilkan bahwa asam heksadekanat memiliki bioaktivitas terhadap *cell line* HepG2 dengan nilai IC_{50} sebesar $0.42 \pm 0.02 \mu\text{M}$.

2. Florotanin

Florotanin merupakan senyawa polifenol berupa turunan tanin yang hanya terdapat pada rumput laut coklat dan terbentuk dari polimerisasi phloroglusinol melalui jalur asetat-malonat (Firdaus, 2011). Florotanin yang diisolasi dari *L. Japonica* Aresch menunjukkan penghambatan terhadap proliferasi sel BEL-7402 dan P388 dengan nilai IC_{50} setelah inkubasi selama 48 jam masing-masing sebesar 120 $\mu\text{g/mL}$ dan $>200 \mu\text{g/mL}$ (Huicheng, 2009).

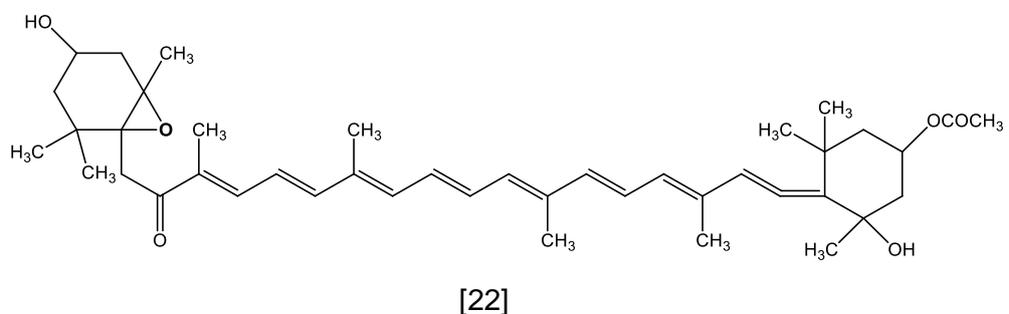


Gambar 6. Struktur Beberapa Senyawa Florotanin

Ada beberapa senyawa florotanin yaitu dioksinodehidroeckol [16], eckol [17], floroglucinol [18], fucodifloroetol G [19], florofucofuroeckol A [20], dan 7-floroeckol [21] (Heo, 2005). Senyawa florotanin memiliki bioaktivitas sebagai antioksidan dan antikanker. Penelitian yang dilakukan oleh Kong (2009) menunjukkan bahwa senyawa dioksinodehidroeckol pada konsentrasi 10 μM mampu menghambat 53% proliferasi sel dari sel kanker payudara MCF-7. Menurut Li (2017), florotanin jenis eckol memiliki aktivitas penghambatan terhadap radikal 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) dengan nilai IC_{50} sebesar 4,61 ppm.

3. Pigmen

Penelitian yang dilakukan oleh Das (2010) menghasilkan bahwa *Laminaria japonica* mengandung fukosantin [22]. Fukosantin adalah pigmen terpenting untuk menghasilkan warna coklat pada rumput laut coklat (Wang, 2014). Fukosantin dapat dimanfaatkan sebagai suplemen antioksidan tambahan untuk penanganan kanker yang dikombinasi dengan obat kanker selama proses kemoterapi. Penambahan fukosantin dengan obat antikanker cisplatin mampu menekan perkembangbiakan sel kanker tanpa memberikan pengaruh pada efektivitas dari obat kanker tersebut (Mise, 2011).



Gambar 7. Struktur Senyawa Fukosantin

Senyawa fukosantin memiliki bioaktivitas sebagai antioksidan dan antikanker. Xia (2013) melaporkan bahwa fukosantin menunjukkan sifat antioksidan yang kuat dari radikal 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) dan radikal 2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) dengan nilai EC_{50} masing-masing sebesar 0,14 mg/mL dan 0,03 mg/mL.

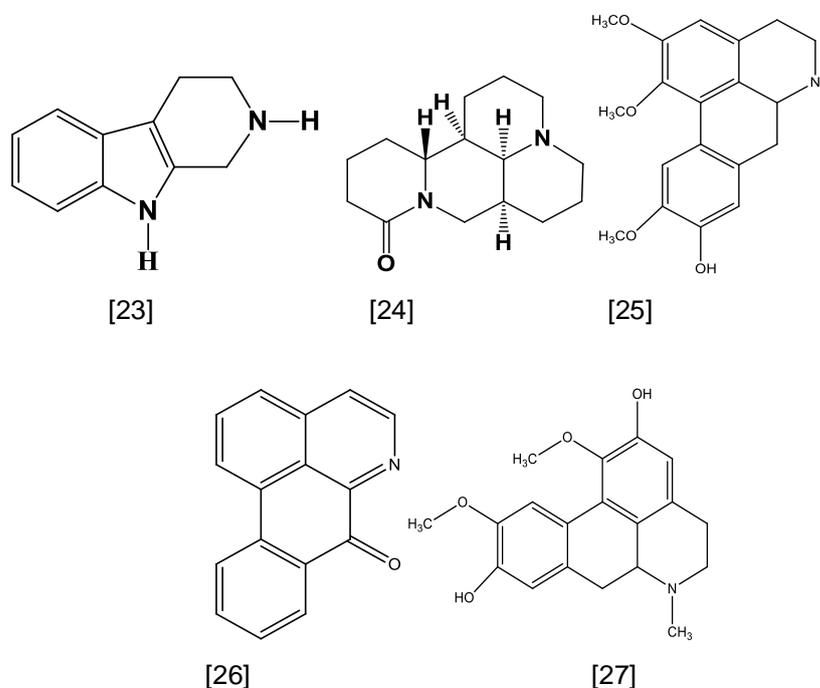
Penelitian yang dilakukan Jaswir (2011), memperlihatkan bahwa fukosantin memiliki sitotoksitas terhadap sel H1299 (*lung cancer*) dengan IC_{50} sebesar 2,45 mM. Selain itu, fukosantin juga memiliki sitotoksitas terhadap sel

MCF-7 dengan nilai IC_{50} sebesar 34,7 $\mu\text{g/ml}$ dan relatif tidak toksik terhadap sel normal Vero dengan nilai IC_{50} sebesar 1071,6 $\mu\text{g/ml}$ (Nursid, 2016).

4. Alkaloid

Penelitian yang dilakukan Burkin (2021) menunjukkan bahwa rumput laut *Laminaria digitata* mengandung senyawa alkaloid, dan menurut Bokov (2020), rumput laut *L. japonica* mengandung asam amino tipe alkaloid baru yaitu laminin (trimetil-(5-amino-5-karboksil)-amoniumdioksalat).

Senyawa alkaloid yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan yaitu matrine [23] (Ao, 2009) dan eleagnine [24] (Idowu, 2006) sedangkan yang memiliki aktivitas sebagai antikanker yaitu sampangine [25] (Arce, 2019). Nishiumi (2014) menunjukkan bahwa komponen senyawa golongan alkaloid seperti piperidinone, piperidine, dan hexadecanenitrile berperan dalam penghambatan kanker. Penelitian yang dilakukan Amna (2016) menunjukkan bahwa senyawa alkaloid yaitu laurotetanine [26] memiliki sifat sitotoksik terhadap sel HeLa (kanker *sekvik*) dengan nilai CD_{50} 2 $\mu\text{g/mL}$. Selain itu, menurut Paydar (2014), senyawa (S)-2,9-dihydroxi-1,10-dimethoxyaporphine [27] yang dikenal sebagai boldine, dapat menginduksi apoptosis melalui siklus sel pada fase G2/M pada *cell line* kanker payudara.



Gambar 8. Senyawa Antioksidan dan Antikanker Golongan Alkaloid

2.7 Aktivitas Antikanker Rumput Laut Genus *Laminaria*

Aktivitas antikanker dari rumput laut genus *Laminaria* dapat dilihat dalam Tabel 2.

Tabel 2. Aktivitas Antikanker Rumput Laut Genus *Laminaria*

Tumbuhan	Bioaktivitas
<i>L. ochroleuca</i>	Polisakarida sulfat yang diisolasi dari <i>L. ochroleuca</i> memperlihatkan aktivitas antikanker terhadap <i>cell line</i> kanker usus besar manusia HTC-116 dengan nilai IC ₅₀ 0.44 mg/mL, melanoma ganas manusia G-361 dengan nilai IC ₅₀ 5,42 mg/mL, adenokarsinoma payudara manusia MCF-7 dengan nilai IC ₅₀ 8,32 mg/mL dan leukemia manusia U-937 dengan nilai IC ₅₀ 3,72 mg/mL (Diaz, 2019).
<i>L. Japonica</i> Areschoug	Fukosantin yang diisolasi dari <i>L. Japonica</i> Areschoug pada konsentrasi 25 µM dapat menghambat proliferasi sel sebesar 29,5% dari Cell Line HepG2 (Human liver hepatocarcinoma) (Das, 2008)
<i>L. japonica</i>	Fukoidan dari <i>L. japonica</i> sebanyak 1 mg/mL dapat menekan migrasi dan invasi cell line kanker payudara manusia MDA-MB-231 dan sel HCC1806 (Hsu, 2020).
<i>L. longipes</i>	Fukoidan yang diisolasi dari <i>L. longipes</i> pada konsentrasi 100, 200, dan 400 µg/mL berpotensi menghambat pembentukan koloni sel melanoma SK-MEL-28 masing-masing sebesar 38%, 43%, dan 45%, sel kanker usus besar HT-29 masing-masing sebesar 14%, 27%, dan 45%, dan sel kanker payudara MDA-MB-231 masing-masing sebesar 9%, 9%, dan 16% (Usoltseva, 2019).

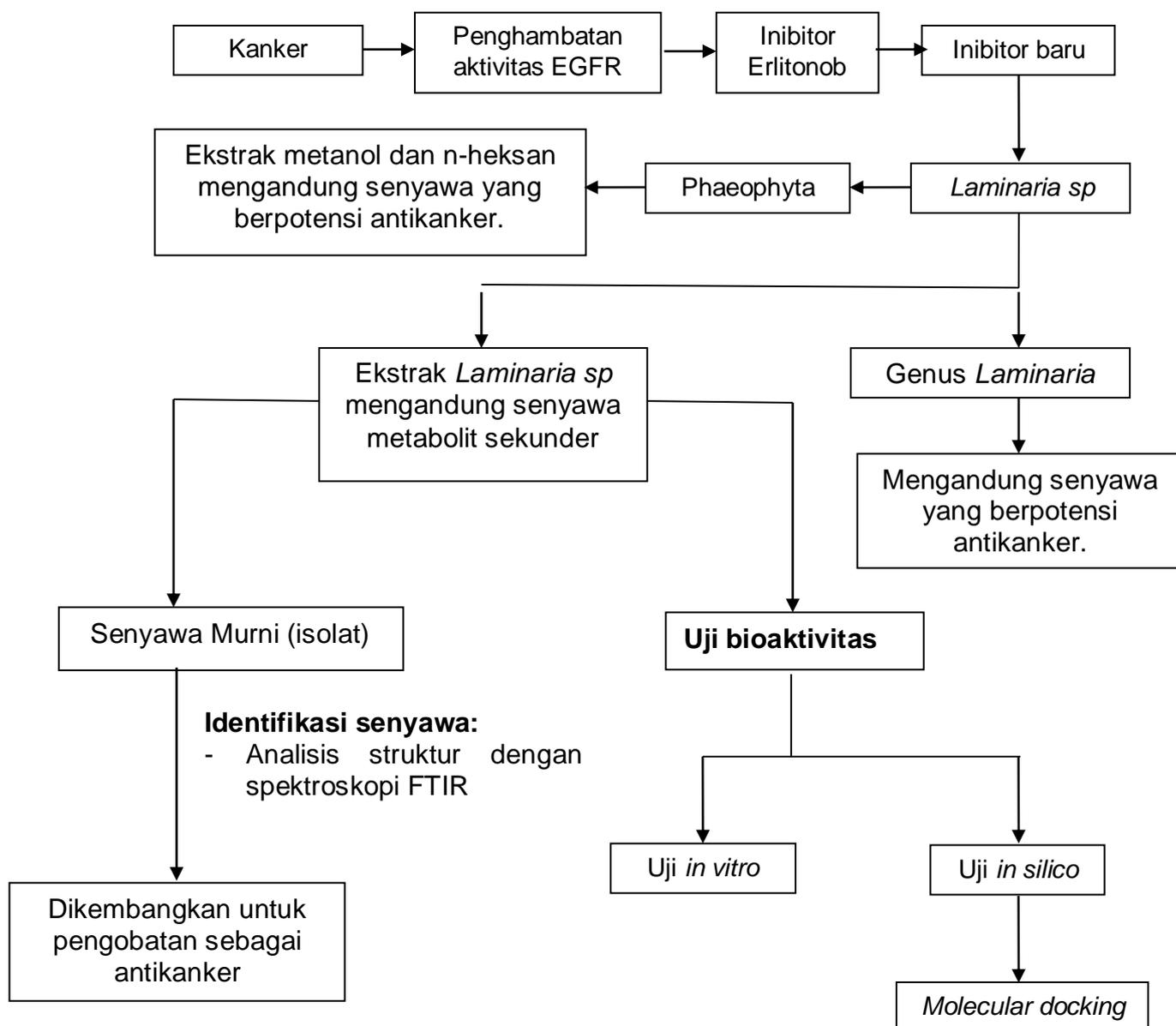
2.8 Kerangka Konseptual

Kanker merupakan penyakit yang disebabkan oleh adanya gen-gen abnormal. Hal ini ditandai dengan adanya sinyal proliferasi secara terus-menerus, rusaknya gen penekan pertumbuhan, dan tidak adanya proses kematian sel. Terapi kanker umumnya melibatkan tindakan pembedahan dan radiasi yang biasanya diikuti dengan kemoterapi sistemik menggunakan zat sitotoksik. Dalam penggunaannya, zat sitotoksik bekerja tidak selektif sehingga sering menimbulkan efek samping. Oleh karena itu, hingga saat ini terus dikembangkan jenis terapi bertarget dengan selektivitas yang lebih baik dibandingkan kemoterapi sitotoksik. Terapi bertarget bekerja dengan memblokir penyebaran dan pertumbuhan sel kanker dengan mempengaruhi molekul spesifik atau jalur penting yang terlibat dalam pertumbuhan dan perkembangan sel kanker, salah satunya adalah jalur transduksi sinyal intraseluler yang dimediasi oleh kelompok enzim tirosin kinase. EGFR merupakan sub kelompok reseptor tirosin kinase yang sering diekspresikan pada beberapa jenis kanker. Adanya overekspresi dari protein ini menyebabkan pertumbuhan dari sel kanker sehingga dalam pengobatan kanker juga diperlukan suatu senyawa yang dapat menghambat EGFR. Salah satu inhibitor yang dapat digunakan yaitu erlotinib. Namun, penggunaan inhibitor ini memiliki keterbatasan terkait dengan masalah resistensi atau berkurangnya respon tumor. Oleh karena itu, diperlukan upaya mengembangkan inhibitor baru dengan meningkatkan efikasi untuk mengatasi masalah tersebut.

Salah satu upaya kemoprevensi yang dapat dilakukan adalah mengembangkan agen antikanker dari tumbuhan obat tradisional yang merupakan bagian dari keanekaragaman hayati Indonesia seperti rumput laut. Rumput laut mengandung senyawa aktif dengan berbagai bioaktivitas sehingga memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai bahan nutrasetikal. Salah satu rumput laut yang menarik untuk diteliti adalah *Laminaria* sp. Rumput laut ini merupakan kelompok rumput laut coklat (Phaeophyta) dan ekstrak metanol dan n-heksannya memiliki aktivitas sebagai antikanker.

Rumput laut *Laminaria* sp berasal dari dari famili Laminariaceae dan genus Laminaria. Beberapa senyawa metabolit sekunder telah diisolasi dari rumput laut genus *Laminaria* seperti *essential oil*, fukosantin, florotanin dan asam amino tipe alkaloid baru yaitu laminin (trimethyl-(5-amino-5-carboxyl)-ammonium dioxalate memiliki bioaktivitas sebagai antioksidan dan antikanker. Untuk

mengetahui aktivitas ekstrak/senyawa dapat dilakukan melalui uji *in vitro* dan uji *in silico*.



Gambar 9. Kerangka Konseptual Penelitian

Uji *in silico* dapat digunakan untuk mengetahui interaksi antara suatu senyawa dengan molekul target, salah satunya reseptor. Interaksi senyawa dengan reseptor dapat divisualisasikan dengan metode komputasi dan dapat digunakan untuk mengetahui *pharmacophore* dari suatu senyawa. Cara melakukan uji *in silico* adalah dengan *docking* molekul yang akan diprediksi aktivitasnya pada sel target yang dipilih. *Docking* adalah suatu upaya untuk

menselaraskan antara ligan yang merupakan molekul kecil ke dalam sel target yang merupakan molekul protein yang besar. Metode ini memiliki keunggulan dari segi waktu yang lebih singkat dan biaya yang lebih murah dibandingkan melakukan uji secara *in vitro*.

Penelitian terkait kandungan senyawa metabolit sekunder dan bioaktivitas antikanker dari rumput laut genus *Laminaria* diketahui masih jarang. Oleh karena itu, di dalam penelitian ini akan dilakukan eksplorasi terkait metabolit sekunder dari *Laminaria sp* serta mengkaji aktivitas antikankernya. Senyawa yang berhasil diisolasi dari *Laminaria sp* diharapkan dapat dikembangkan untuk pengobatan sebagai antikanker. Berdasarkan penjelasan yang telah disebutkan sebelumnya, adapun kerangka konseptual dalam penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 9.

2.9 Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini adalah:

1. Ekstrak metanol total dan n-heksan rumput laut *Laminaria sp* memiliki kandungan metabolit sekunder golongan steroid, flavonoid, serta alkaloid.
2. Diperoleh berbagai senyawa metabolit sekunder pada ekstrak metanol total rumput laut *Laminaria sp*.
3. Senyawa yang terdapat pada ekstrak metanol total rumput laut *Laminaria sp* memiliki aktivitas sebagai antikanker secara *in silico*.
4. Ekstrak n-heksan rumput laut *Laminaria sp* memiliki toksisitas terhadap larva *Artemia salina* L.