

SITOTOKSISITAS EKSTRAK ASETON DAN KANDUNGAN FUKOSANTIN RUMPUT LAUT SARGASSUM

Cytotoxicity of Acetone Extract and Fucoxanthin content of Sargassum Seaweed

Muhammad Nursid^{1*}, Sekar Ayu Dinah Tantri², dan Lestari Rahayu²

¹ Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan, Jl. KS.Tubun Petamburan VI Jakarta Pusat, Indonesia

² Fakultas Farmasi, Universitas Pancasila, Jl. Srengseng Sawah, Pasar Minggu, Jakarta, Indonesia

* Korespondensi Penulis: mnursid@kkp.go.id

Diterima: 10 April 2015; Disetujui: 24 Juni 2015

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas sitotoksik dua jenis algae coklat (*Sargassum cinerum* dan *Sargassum polycystum*) dan kandungan fukosantin kedua jenis rumput laut tersebut. Rumput laut diperoleh dari pantai Binuangun, Lebak, Banten, Indonesia. Ekstrak aseton yang diperoleh dipekatkan dengan menggunakan konsentrator vakum. Aktivitas sitotoksik terhadap sel HeLa dan T47D dievaluasi dengan menggunakan uji MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide). Kandungan fukosantin pada ekstrak aseton *S. cinerum* dan *S. polycystum* dianalisis dengan menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT). Hasil uji sitotoksik memperlihatkan bahwa ekstrak *S. cinerum* dan *S. polycystum* memiliki aktivitas sitotoksik yang lebih tinggi terhadap sel T47D dibanding terhadap sel HeLa. Nilai IC_{50} *S. cinerum* dan *S. polycystum* terhadap sel T47D masing-masing sebesar 79,2 dan 52,2 $\mu\text{g/ml}$. Analisis KCKT memperlihatkan kadar fukosantin pada ekstrak aseton *S. cinerum* dan *S. polycystum* masing-masing sebesar 0,179 dan 0,318 mg/g ekstrak.

KATA KUNCI: *Sargassum cinerum*, *Sargassum polycystum*, sitotoksitas, kandungan fukosantin

ABSTRACT

The objective of this research was to investigate cytotoxic activity of two species brown algae (*Sargassum cinerum* and *Sargassum polycystum*) and to analyze its fucoxanthin content. The seaweeds were collected from Binuangun coast, Lebak, Banten Province, Indonesia. Acetone extract of *S. cinerum* and *S. polycystum* were concentrated by using vacuum concentrator. Cytotoxic activity of these extract against HeLa and T47D cell lines were evaluated by using MTT assay (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide). Fucoxanthin content of the acetone extract of *S. cinerum* and *S. polycystum* were analyzed by using High Performance Liquid Chromatography (HPLC). Cytotoxic assay showed that *S. cinerum* and *S. polycystum* were more active against T47D cells than HeLa cells. The IC_{50} value of *S. cinerum* and *S. polycystum* to T47D cells were 79.2 and 52.2 $\mu\text{g/ml}$ respectively. HPLC analysis revealed that fucoxanthin content of acetone extract of *S. cinerum* and *S. polycystum* were 0.179 and 0.318 mg/g, respectively.

KEYWORDS: *Sargassum cinerum*, *Sargassum polycystum*, cytotoxicity, fucoxanthin content

PENDAHULUAN

Penyakit kanker menunjukkan kecenderungan yang semakin meningkat sebagai penyebab kematian terbesar. Penyakit kanker yang banyak menyerang kaum wanita adalah kanker payudara dan kanker serviks (leher rahim). Kanker payudara dan serviks merupakan kanker yang memiliki keganasan yang

tinggi. Kanker payudara merupakan kanker yang paling sering terjadi pada wanita diikuti oleh kanker serviks (Parkin et al., 2005; Holleczeck et al., 2013).

Banyak usaha yang dilakukan untuk mencari obat-obatan antikanker, salah satunya adalah dengan mengeksplorasi senyawa bioaktif dari bahan alam yang berasal dari lingkungan laut (*marine natural*

product). *Marine natural product* memiliki prospek yang menjanjikan sebagai sumber senyawa bioaktif antikanker karena lingkungan laut memiliki karakteristik yang berbeda dengan lingkungan daratan terutama dalam hal tekanan, salinitas, cahaya dan kompetisi ruang (Simmons *et al.*, 2005; Zandi *et al.*, 2010). Disebabkan oleh karakteristik habitat tersebut, banyak senyawa bioaktif dari laut yang memiliki struktur kimia yang beragam yang dapat dimanfaatkan dalam bidang farmaseutikal, suplemen makanan, kosmetik, agrokimia dan sumber enzim (Mary *et al.*, 2012; Wang *et al.*, 2014). Di antara kekayaan biodiversitas laut, belakangan ini rumput laut menarik perhatian untuk diteliti sebagai sumber senyawa farmaseutikal khususnya sebagai senyawa sitotoksik (Kim *et al.*, 2009).

Salah satu golongan rumput laut yang menarik untuk diteliti adalah rumput laut coklat (Phaeophyta). Terdapat sekitar 1600 jenis rumput coklat yang sebagian besar hidup dalam lingkungan laut. Rumput laut coklat banyak mengandung berbagai macam senyawa dari golongan terpenoid, fenolik dan meroterpenoid. Selain itu, rumput laut ini kaya dengan kandungan senyawa yang memiliki struktur sterol (fukosterol) dan senyawa-senyawa yang mengandung gugus epoksi seperti fukosantin (Blunt *et al.*, 2012). Salah satu kandungan utama dari rumput laut coklat adalah senyawa karotenoid termasuk di dalamnya fukosantin. Fukosantin memiliki bioktivitas sebagai antikanker, antioksidan, dan anti sinar ultraviolet (Nomura *et al.*, 1997; Yoshiko & Hoyoku, 2007; Urikura *et al.*, 2011).

Rumput laut dari genus *Sargassum* merupakan salah satu kelompok rumput laut coklat yang potensial untuk dieksplorasi kandungan senyawa aktifnya khususnya sebagai antikanker (Khanavi *et al.*, 2010; Saengkhae *et al.*, 2015). *Sargassum* banyak ditemukan di wilayah pantai selatan Jawa salah satunya di Pantai Muara Binuangen, Kabupaten Lebak, Banten. Penelitian tentang kandungan fukosantin dari beberapa genus rumput laut coklat (*Turbinaria*, *Sargassum*, *Padina*, *Hormophysa*) dari area ini pernah dilakukan sebelumnya (Nursid *et al.*, 2013), namun belum ditemukan laporan tentang kandungan fukosantin dan sitotoksisitas rumput laut dari jenis *Sargassum cinerum* dan *Sargassum polycystum* dari Pantai Muara Binuangeun. Dengan demikian penelitian untuk mengungkap potensi *S. cinerum* dan *S. polycystum* sebagai sumber bahan alami yang memiliki aktivitas sitotoksik perlu dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui nilai IC₅₀ ekstrak aseton *S. cinerum* dan *S. polycystum* terhadap sel lestari kanker serviks (HeLa) dan sel lestari kanker payudara (T47D) serta kandungan

fukosantin yang terdapat dalam ekstrak aseton kedua jenis rumput laut tersebut.

Proses ekstraksi dalam penelitian ini menggunakan pelarut aseton. Aseton merupakan pelarut yang banyak digunakan untuk mengekstraksi senyawa karotenoid (Rodríguez-Bernaldo de Quirós & Costa, 2006). Pelarut ini memiliki polaritas menengah (semipolar) sehingga dapat melarutkan baik senyawa polar maupun non polar termasuk senyawa karotenoid yang ada pada rumput laut coklat.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah rumput laut *S. polycystum* dan *S. cinereum*. Bahan-bahan lain yang digunakan di antaranya aseton, metanol, dimetil sulfoksida (DMSO), NaHCO₃, fetal bovine serum (FBS) (Gibco), penisilin-streptomisin, media kultur *Roswell Park Memorial Institute* (RPMI) 1640 (Gibco), sel HeLa, sel T47D, fosfat buffer saline (PBS), tripsin-EDTA, 3-(4,5-dimethyliazolil-2,5-difenil tetrazolium bromide (MTT) (Sigma-Aldrich), sodium dodesil sulfat (SDS), fukosantin standar (Sigma-Aldrich) dan doksorubisin (Kalbe).

Beberapa peralatan yang digunakan di antaranya rotavapor (Buchi R25), nitrogen rotavapor, vortex, sonikator, mikropipet, *biosafety cabinet level II* (Faster), sentrifus, inkubator CO₂, *multiwell culture disk* 96 lubang, mikroskop *inverted* (Olympus), hemositometer, spektrofotometer *microplate reader* (Thermo), *flask culture*, dan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi LC-20AD (Shimadzu).

Persiapan Sampel

Sampel diambil dari pantai Muara Binuangeun, Kabupaten Lebak, Banten, Indonesia. Sampel rumput laut coklat *Sargassum* yang diperoleh dicuci dengan air tawar untuk membersihkan kotoran yang menempel, selanjutnya sampel ditiriskan. Determinasi rumput laut dilakukan di Pusat Penelitian Oseanologi LIPI, Ancol, Jakarta.

Pembuatan Ekstrak Aseton *Sargassum*

Sebanyak 100 g sampel *Sargassum* dikering-bekukan dengan menggunakan *freeze dryer*. Sampel yang sudah kering dimaserasi dengan aseton sebanyak 350 ml selama 24 jam, maserat kemudian disaring dengan kertas saring Whatman dan ampas dimaserasi kembali dengan pelarut yang sama sebanyak dua kali masing-masing 24 jam. Filtrat yang diperoleh dievaporasi dalam rotavapor vakum hingga

aseton menguap pada suhu 20 °C dan tekanan 120 mbar, sisa aseton yang terdapat pada ekstrak dikeringkan dengan bantuan gas nitrogen.

Uji Sitotoksik Ekstrak Aseton *Sargassum* dengan Metode MTT

Uji sitotoksik dilakukan dengan metode MTT ((3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) menggunakan 2 jenis sel yaitu sel HeLa (sel lestari kanker dinding rahim) dan sel T47D (sel lestari kanker payudara) menurut Ebada *et al.* (2008) dengan sedikit modifikasi. Kedua sel tersebut dipelihara dalam media RPMI yang dilengkapi dengan FBS 10%, penisilin-streptomisin 2% dan fungison 0,5%. Pemeliharaan sel dilakukan dalam inkubator CO₂ pada suhu 37 °C dengan aliran CO₂ 5 ml/menit.

Ekstrak yang akan diuji dibuat dengan konsentrasi 5, 25, 100, 500, dan 1000 µg/ml. Secara singkat pengujian dilakukan seperti berikut: sel ditumbuhkan di dalam mikrolat 96 sumuran dengan jumlah 1 x 10⁴ sel/sumuran lalu diinkubasi selama 12 jam. Selanjutnya sebanyak 100 µl ekstrak tiap seri konsentrasi dimasukkan ke dalam setiap sumuran mikrolat, mikrolat lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C dalam inkubator CO₂. Setelah 24 jam, media dibuang dari mikrolat, lalu ditambahkan MTT sebanyak 100 µl (konsentrasi MTT 0,5 mg/ml). Mikrolat diinkubasi kembali selama 4 jam di dalam inkubator CO₂. Setelah 4 jam reaksi MTT dihentikan dengan penambahan 100 µl Sodium Dodesil Sulfat (SDS) 10%. Mikrolat lalu ditutup dengan aluminium foil lalu diinkubasi selama 12 jam pada suhu 25–27 °C, absorbansi tiap sumuran dibaca dengan *microplate reader* pada panjang gelombang 570 nm. Data absorbansi setiap sumuran digunakan untuk menghitung jumlah sel yang mati (%). Nilai IC₅₀ dihitung dengan menggunakan analisis probit menggunakan bantuan perangkat lunak Minitab versi 16.0. Doksorubisin dengan seri konsentrasi 0,25; 0,5; 1,0; 2,0; dan 4,0 µg/ml digunakan sebagai pembanding positif.

Analisis Kandungan Fukosantin

Uji Kesesuaian sistem

Analisis fukosantin dilakukan dengan menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT). Sebelum dilakukan identifikasi fukosantin dengan KCKT, terlebih dahulu dilakukan uji kesesuaian sistem untuk melihat akurasi sistem KCKT yang digunakan berdasarkan nilai simpangan baku. Sejumlah 1 mg fukosantin standar dilarutkan dalam 1 ml metanol p.a lalu dihomogenkan. Sebanyak 10 µl larutan fukosantin standar disuntikkan ke dalam

sistem KCKT. Pengerjaan ini diulangi sampai lima kali pengulangan. Dari luas puncak yang diperoleh, dihitung simpangan baku relatifnya. Kondisi KCKT yang digunakan adalah seperti berikut ini: Instrumen Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) Shimadzu, sistem kontrol Shimadzu SPD-20MA/LC-10AD, kolom C₁₈ Xselect CSH™ 5 µm. 2,1 x 100 mm, λ max 447 nm, detektor *diode array detector*, fase gerak asetonitril dan air secara gradien, kecepatan alir 0,15 ml/menit dan volume injeksi sebesar 10 µl.

Uji Linearitas dan Uji Kandungan Fukosantin

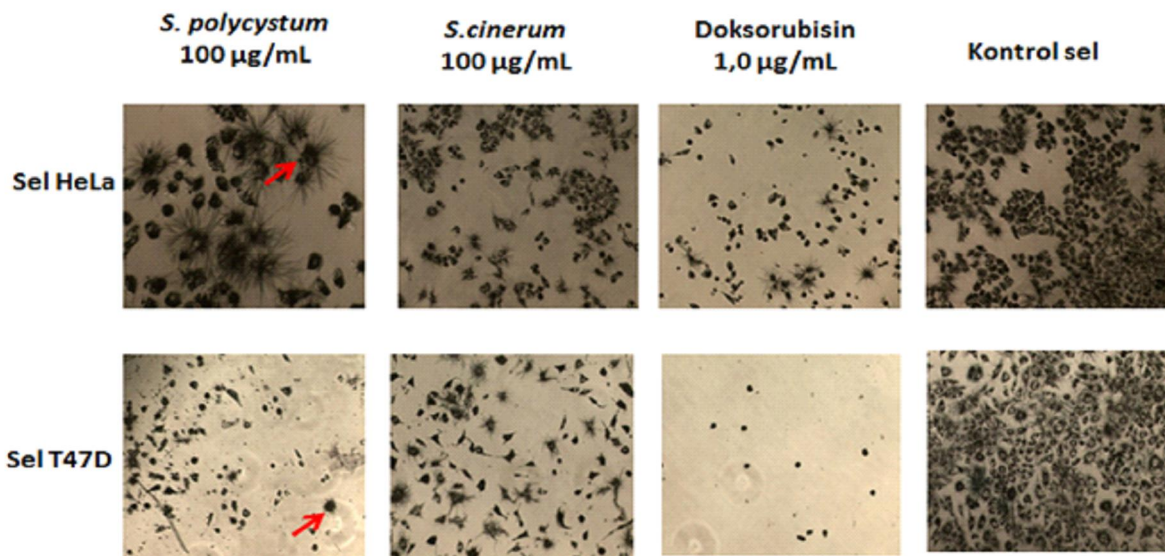
Sebanyak 1,0 mg fukosantin standar dilarutkan dalam 1 ml metanol p.a, lalu dibuat seri konsentrasi 6,25; 12,5; 25; 50; 100; dan 200 ppm. Tiap seri konsentrasi tersebut selanjutnya disuntikkan sebanyak 10 µl ke dalam sistem KCKT. Kurva hubungan antara konsentrasi (x) dan luas puncak (y) dibuat sebagai kurva standar. Analisis kandungan fukosantin dalam ekstrak *Sargassum* dilakukan dengan melarutkan 1 mg ekstrak dalam 1 ml metanol lalu dihomogenkan. Selanjutnya sejumlah 10 µl larutan ekstrak disuntikkan ke dalam sistem KCKT. Deteksi fukosantin dilakukan berdasarkan waktu retensi (Rt) ekstrak dibandingkan dengan Rt fukosantin standar. Deteksi fukosantin juga dilakukan berdasarkan bentuk serapan UV.

HASIL DAN BAHASAN

Uji Sitotoksik

Hasil determinasi rumput laut yang dilakukan di Puslit Oseanologi Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, Jakarta menyatakan bahwa biota laut yang digunakan dalam penelitian ini adalah *S. cinerum* dan *S. polycystum*. Rendemen ekstrak kasar aseton yang dihasilkan dari 100 gram rumput laut *S. cinerum* dan *S. polycystum* yang telah dikeringbekukan masing-masing sebesar 0,135 g (0,134 %) dan 0,308 g (0,305 %).

Ekstrak aseton kedua rumput laut tersebut selanjutnya diuji aktivitas sitotoksiknya dengan menggunakan sel T47D dan sel HeLa. Uji sitotoksik merupakan bagian yang sangat penting dalam penelitian pencarian bahan obat (*drug discovery*) (Vikstrom *et al.*, 2015). Beberapa metode telah dikembangkan untuk mempelajari viabilitas dan proliferasi sel kultur. Metode yang banyak digunakan adalah dengan menggunakan *96-well-format* yang didasarkan pada prinsip kolorimetri. Melalui metode ini dapat dilakukan pengujian dengan jumlah sampel yang banyak secara cepat dan simultan. Uji sitotoksik dengan *platform* tersebut dapat mengukur secara

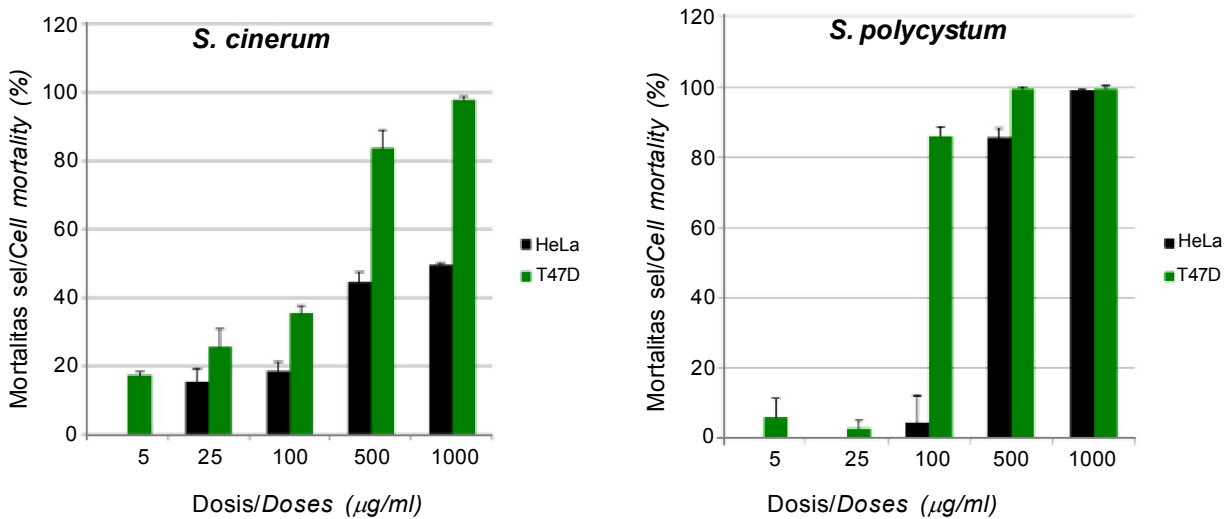


Gambar 1. Kristal formazan (panah merah) yang terbentuk setelah 4 jam perlakuan MTT.
 Figure 1. Formazan crystal formed (red arrow) after 4 hours MTT treatment.

langsung aktivitas enzimatis di dalam mikroplat dengan menggunakan *microplate reader* (Weyermann *et al.*, 2005). Dalam penelitian ini uji sitotoksik yang digunakan adalah uji sitotoksik metode MTT. Reaksi MTT merupakan reaksi reduksi seluler yang didasarkan pada pemecahan garam tetrazolium MTT yang berwarna kuning menjadi kristal formazan yang berwarna biru keunguan. Enzim *mitochondrial reductase* pada sel hidup mampu memecah MTT menjadi kristal formazan. Kristal formazan yang terbentuk dapat dilarutkan dengan pelarut tertentu yang kemudian absorbansinya dapat dibaca dengan *microplate reader* pada panjang gelombang 560–570

nm (Ebada *et al.*, 2008). Absorbansi yang dihasilkan selanjutnya digunakan untuk menghitung secara kuantitatif jumlah sel (dalam %) yang dihambat atau mengalami kematian. Dalam penelitian ini kristal formazan yang terbentuk dapat dilihat secara mikroskopis dengan menggunakan mikroskop inverted (Gambar 1). Semakin banyak kristal formazan yang terbentuk, jumlah sel yang mati semakin sedikit.

Hasil kuantifikasi jumlah sel HeLa dan T47D yang mengalami kematian disajikan pada Gambar 2. Mortalitas sel HeLa dan T47D semakin meningkat dengan bertambahnya dosis ekstrak. Berdasarkan Gambar 2 terlihat juga bahwa persentase kematian



Gambar 2. Mortalitas sel HeLa dan T47D setelah perlakuan ekstrak aseton *S. cinerum* dan *S. polycystum*.
 Figure 2. Mortality of HeLa and T47D cells after treated with acetone extract of *S. cinerum* and *S. polycystum*.

sel T47D lebih besar dibanding dengan sel HeLa setelah diberi perlakuan ekstrak aseton *S.cinerum* dan *S.polycystum*.

Hasil perhitungan nilai IC_{50} memperlihatkan bahwa ekstrak rumput laut *S. cinerum* dan *S. polycystum* memiliki aktivitas sitotoksik yang lebih kuat terhadap sel T47D dibandingkan terhadap sel HeLa (Tabel 1). Nilai IC_{50} kedua jenis ekstrak rumput laut tersebut di atas 100 $\mu\text{g/ml}$ terhadap sel HeLa tetapi nilai IC_{50} terhadap sel T47D di bawah 100 $\mu\text{g/ml}$. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak aseton kedua jenis *Sargassum* tersebut bersifat spesifik terhadap sel lestari tumor T47D. Doksorubisin yang digunakan sebagai pembanding positif memiliki nilai IC_{50} terhadap sel T47D dan HeLa berturut-turut sebesar 0,37 dan 0,54 $\mu\text{g/ml}$. Selektivitas merupakan hal yang penting dalam penentuan aktivitas sitotoksik suatu bahan alam, senyawa murni ataupun ekstrak (Badisa et al., 2009, Awang et al., 2014). Suatu senyawa yang potensial sebagai agen kemoterapi adalah senyawa yang memiliki aktivitas sitotoksik yang kuat tetapi bersifat selektif terhadap jenis sel kanker tertentu.

Beberapa spesies rumput laut *Sargassum* menunjukkan aktivitas sitotoksik terhadap sel lestari tumor. Ekstrak metanol *S. muticum* memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker payudara MCF-7 dan MDA-MB-231 dengan nilai IC_{50} sebesar 22,0 $\mu\text{g/ml}$ dan 55,0 $\mu\text{g/ml}$ (Namvar et al., 2013). Khanavi et al. (2010) memperlihatkan bahwa ekstrak metanol *S.swartzii* memiliki nilai IC_{50} sebesar 205,2 $\mu\text{g/ml}$ terhadap sel T47D sedangkan fraksi n-heksana memiliki nilai IC_{50} sebesar 99,9 $\mu\text{g/ml}$ terhadap sel Caco-2. Aktivitas sitotoksik *Sargassum* diduga berhubungan dengan kandungan senyawa fukosantin, asam-asam lemak dan fukosterol. Bioaktivitas fukosantin sebagai senyawa yang dapat menghambat proliferasi sel kanker telah banyak dilaporkan misalnya oleh Nara et al. (2005), Sugawara et al. (2006), Yoshiko and Hoyoku (2007) serta Wang et al. (2012). Secara garis besar, efek sitotoksik fukosantin pada sel lestari kanker terjadi melalui mekanisme induksi apoptosis, penghambatan pada mesin siklus sel dan

angiogenesis. Selain fukosantin, asam-asam lemak maupun fosfolipid pada *Sargassum* juga menunjukkan aktivitas sitotoksik yang signifikan, seperti hasil penelitian Bhaskar et al. (2004) yang memperlihatkan bahwa ekstrak lemak *S. marginatum* memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel HL-60 dengan nilai $IC_{50} < 20,0 \mu\text{g/ml}$. Senyawa fukosterol dari rumput laut coklat juga memiliki aktivitas sitotoksik yang kuat, contohnya fukosterol yang di isolasi dari *S. angustifolium* memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel T47D dan HT29 dengan nilai IC_{50} masing-masing sebesar 27,94 dan 70,41 $\mu\text{g/ml}$ (Khanavi et al., 2012).

Identifikasi fukosantin pada ekstrak aseton *Sargassum* sp. dengan KCKT

Dalam penelitian ini, salah satu komponen aktif *Sargassum* yang dideteksi adalah fukosantin karena di samping kelimpahan pigmen tersebut tinggi pada rumput laut coklat juga karena peran fukosantin sebagai senyawa sitotoksik sudah banyak diketahui. Sebelum dilakukan uji kandungan fukosantin dalam ekstrak aseton kedua *Sargassum* tersebut, terlebih dahulu dilakukan uji kesesuaian sistem. Data waktu retensi, luas puncak dan simpangan baku relatif standar fukosantin dengan penyuntikan sebanyak 5 kali disajikan pada Tabel 2. Dari hasil uji kesesuaian sistem didapat nilai simpangan baku relatif fukosantin sebesar 0,312% yang memenuhi persyaratan batas nilai simpangan baku relatif $\leq 2\%$. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa kondisi kromatografi cair kinerja tinggi dapat digunakan untuk menentukan kandungan fukosantin dalam ekstrak tersebut.

Penentuan kandungan fukosantin dilakukan dengan menggunakan kurva standar fukosantin. Penetapan kurva standar berdasarkan data kromatogram KCKT yang menggambarkan hubungan antara konsentrasi larutan standar fukosantin dengan luas puncak (area). Dalam penelitian ini, standar fukosantin terdeteksi pada waktu retensi 32,7 menit dalam kromatogram KCKT. Berdasarkan kurva standar fukosantin tersebut, diperoleh persamaan garis regresi

Tabel 1. Nilai IC_{50} ekstrak aseton *S. cinerum* dan *S. polycystum* terhadap sel HeLa dan T47D
Table 1. IC_{50} value acetone extract *S. cinerum* and *S. polycystum* to HeLa and T47D cell

Jenis Sel/ Cell Type	Nilai IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)/ IC_{50} value ($\mu\text{g/ml}$)		
	<i>S. cinerum</i>	<i>S. polycystum</i>	Doksorubisin
HeLa	318.3 \pm 10.8	320.7 \pm 6.9	0.54 \pm 0.148
T47D	79.2 \pm 1.2	52.2 \pm 8.9	0.37 \pm 0.084

$Y = 99679x - 207457$ dengan nilai $R^2 = 0,9984$ (Gambar 3). Jika koefisien korelasi R^2 mendekati 1, berarti terdapat hubungan yang linier antara luas puncak dengan konsentrasi larutan baku fukosantin.

Identifikasi fukosantin dilakukan untuk mengetahui ada atau tidaknya fukosantin pada ekstrak aseton *Sargassum* sp. Analisa kualitatif fukosantin ini dilakukan dengan melihat waktu retensi dan nilai serapan UV maksimum (λ_{max}) yang dimiliki oleh standar fukosantin. Seperti telah disebutkan sebelumnya bahwa standar fukosantin memiliki waktu retensi pada menit ke 32,7 dengan λ_{max} pada 447 nm (Gambar 4).

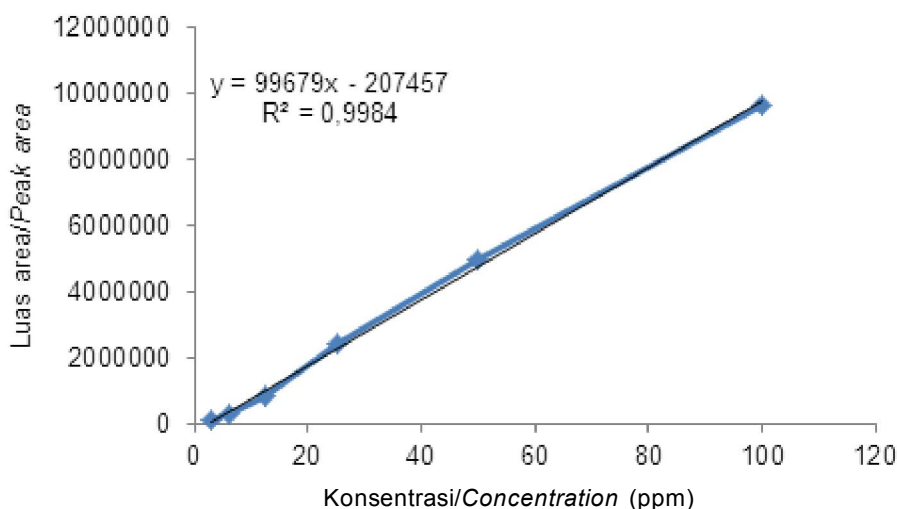
Puncak yang menggambarkan adanya senyawa fukosantin pada *S. cinerum*, *S. polycystum* dalam sistem KCKT terdeteksi pada menit ke 32,7 (Gambar 5). Hal ini dikonfirmasi dengan profil serapan UV yang sama dengan baku fukosantin yang ditandai dengan munculnya serapan maksimum pada UV 447 nm.

Rata-rata luas puncak (*peak area*) fukosantin pada *S. polycystum* lebih besar dari *S. cinerum* (Tabel 3). Dengan menggunakan persamaan dari kurva standar fukosantin, dihasilkan rata-rata kadar fukosantin *S. cinerum* sebesar 0,179 mg/gr ekstrak sedangkan *S. polycystum* sebesar 0,318 mg/gr ekstrak. Kadar fukosantin *S. polycystum* yang lebih tinggi daripada *S. cinerum* barangkali yang menyebabkan aktivitas sitotoksik terhadap sel T47D *S. polycystum* sedikit lebih tinggi dari *S. cinerum*, meskipun ada beberapa kemungkinan lain yang menyebabkan perbedaan aktivitas sitotoksik kedua jenis rumput laut tersebut, misalnya perbedaan kandungan senyawa-senyawa alkaloid dan fenolik.

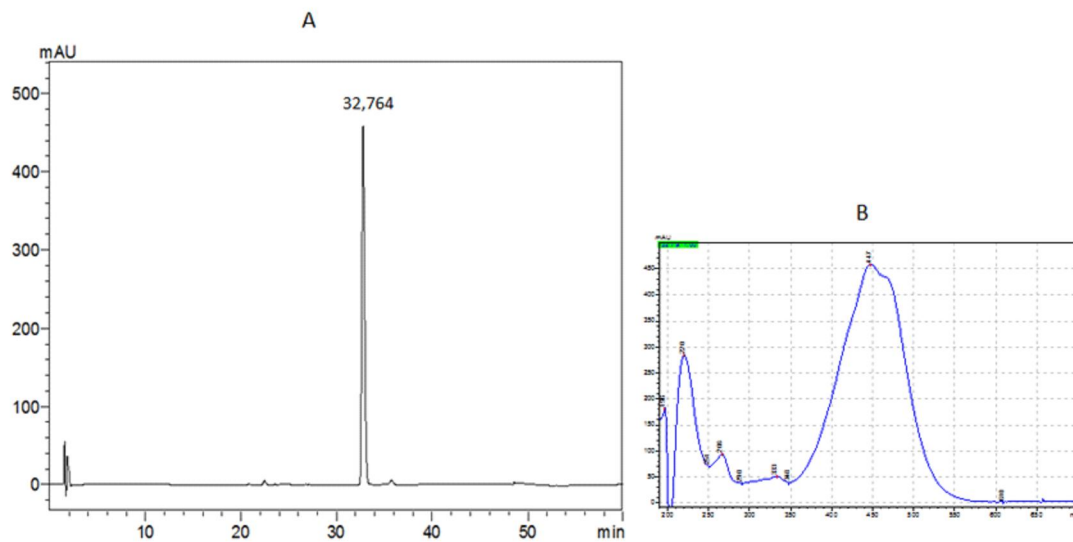
Sekitar 10% total karotenoid yang ada di lautan merupakan pigmen fukosantin terutama yang dihasilkan oleh rumput laut coklat (Phaeophyta). Kandungan fukosantin pada rumput laut coklat sangat dipengaruhi oleh jenis rumput laut, umur, musim, dan

Table 2. Uji kesesuaian sistem KCKT dengan menggunakan standar fukosantin
 Table 2. System conformance test of HPLC with fucoxanthin standard

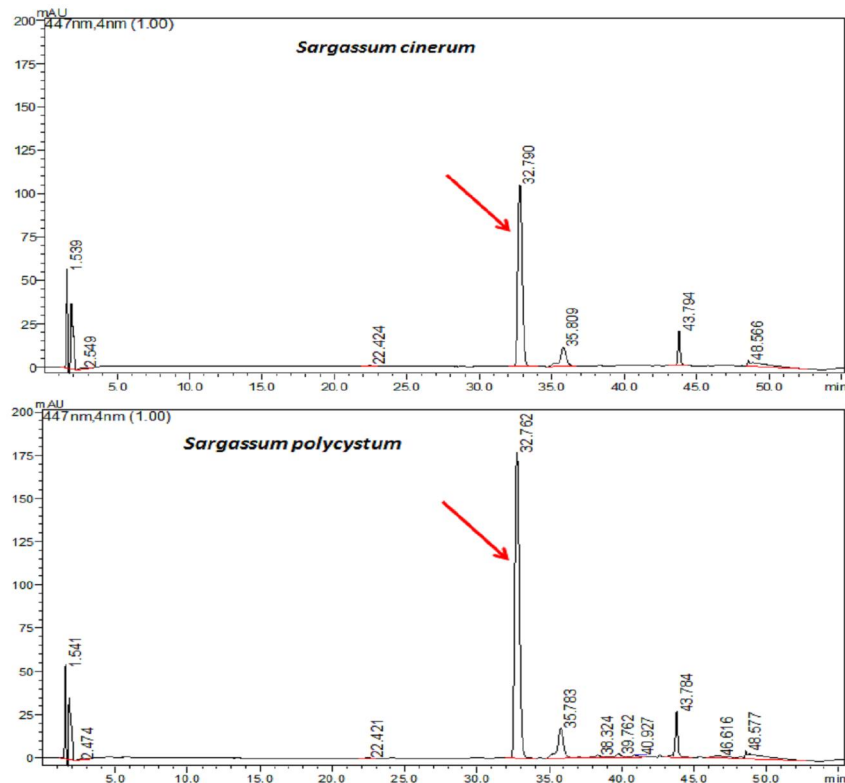
No.	Waktu Retensi (menit)/Retention Time (minute)	Area/Area	Simpangan Baku/Standard Deviation	Simpangan Baku Relatif/Relative Standard Deviation (%)
1	32.770	107004073		
2	32.762	106727789		
3	32.757	107289457	333289.65	0.312
4	32.769	106854991		
5	32.756	106388965		



Gambar 3. Kurva hubungan luas area dengan konsentrasi fukosantin.
 Figure 3. Curve of relation of area with fucoxanthin standard concentration.



Gambar 4. Kromatogram baku fucoxanthin (A) dan profil UV fucoxanthin (B).
 Figure 4. Chromatogram of fucoxanthin standard (A) and UV profile of fucoxanthin (B).



Gambar 5. Puncak fucoxanthin ekstrak aseton *S. cinerum* dan *S. polycystum*
 Figure 5. Fucoxanthin peak of acetone extract of *S. cinerum* and *S. polycystum*

kondisi oseanografi yang melingkupinya sehingga kadarnya sangat bervariasi (Terasaki *et al.*, 2009; Peng *et al.*, 2011). Zaelanie dan Sukoso (2014) melaporkan bahwa kandungan fucoxanthin *S. pilifendula* yang diambil dari perairan Madura, Indonesia sebesar

0,1957 mg/g ekstrak. Selain rumput laut *Sargassum*, rumput laut coklat dari jenis *Padina* sp., *Turbinaria* sp., dan *Hormophysa* sp. juga dilaporkan memiliki kandungan fucoxanthin yang tinggi (Nursid *et al.*, 2013). Sementara itu Fung (2012) melaporkan bahwa

Tabel 3. Kadar fukosantin pada ekstrak aseton *S. cinerum* dan *S. polycystum*
 Table 3. Fucoxanthin concentration of acetone extract of *S. cinerum* and *S. polycystum*

Rumput Laut/Seaweeds	Rataan Luas Puncak/ Average of Peak Area	Kadar Fukosantin (mg/g Ekstrak)/Fucoxanthin Concentration (mg/g Extract)
<i>S. cinerum</i>	1579353	0.179 ± 0.079
<i>S. polycystum</i>	2963383	0.318 ± 0.102

kandungan fukosantin dari *Undaria pinnatifida* yang disampling dari perairan New Zealand berkisar antara 0,4–6,26 mg/g ekstrak.

KESIMPULAN

Ekstrak aseton rumput laut *S. cinerum* dan *S. polycystum* memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel T47D dengan nilai IC₅₀ berturut-turut sebesar 79,2 dan 52,2 µg/ml tetapi kurang begitu aktif terhadap sel HeLa. Nilai IC₅₀ *S. cinerum* dan *S. polycystum* terhadap sel HeLa masing-masing sebesar 318,3 dan 320,7 µg/ml. Hasil analisis KCKT memperlihatkan kadar fukosantin pada ekstrak aseton *S. cinerum* dan *S. polycystum* masing-masing sebesar 0,179 mg/g ekstrak dan 0,318 mg/g ekstrak.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dibiayai oleh APBN Balitbang Kementerian Kelautan dan Perikanan tahun 2014. Penulis mengucapkan terima kasih kepada Sri Iswani, S.Si atas bantuan dalam analisis KCKT.

DAFTAR PUSTAKA

Awang, N., Aziz, Z.A., Kamaludin, N.F., & Chan, K.M. (2014). Cytotoxicity and mode of cell death induced by triphenylin (IV) compounds in vitro. *Online Journal of Biological Sciences*, 14(2), 84–93.

Badisa, R.B., Redd, S.F.D., Joseph, P., Cooperwood, J.S., Latinwo, L.M., & Goodman, C.B. (2009). Selective cytotoxic activities of two novel synthetic drugs on human breast Carcinoma MCF-7 Cells. *Anticancer Research*, 29(8), 2993–2996.

Bhaskar, N., Hosakawa, M., & Miyashita, K. (2004). Growth inhibition of human pro-myelocytic leukemia (HL-60) cells by lipid extract of marine *Sargassum marginatum* (Fucales, Phaeophyta) harvested off Goa (West coast of India) with special reference to fatty acid composition. *Indian Journal of Marine Science*, 33(4), 355–360.

Blunt, J., Buckingham, J., & Munro, M. (2012). Taxonomy and Marine Natural Products Research. *In* Fattorusso,

E., Gerwick, W.H., and Scafati, O.T (eds.). *Handbook of marine natural products*. Springer, Dordrecht.

Ebada, E.S., Edrada, R.U., Lin, W., & Proksch, P. (2008). Methods for isolation, purification and structural elucidation of bioactive secondary metabolites from marine invertebrates. *Nature Protocols*, 3(12), 1820–1831.

Fung, A.Y.C. (2012). *The fucoxanthin content and antioxidant properties of Undaria pinnatifida from Marlborough Sound, New Zealand*. Thesis. Auckland University of Technology University.

Holleczer, B., Jensen, L., & Brenner, H. (2013). Breast Cancer survival in Germany: A population-based high resolution study from Saarland. *PLoS ONE*, 8(7), e70680.

Khanavi, M., Nabavi, M., Sadati, N., Ardekani, M.R.S., Sohrabipour, J., Nabavi, S.M.B., Ghaeli, P., & Ostad, S.N. (2010). Cytotoxic activity of some marine brown algae against cancer cell lines. *Biology Research*, 43, 31–37.

Khanavi, M., Gheidarloo, R., Saddati, N., Ardekani, M.R.S., Nabavi, S.M.B., Tavajohi, S., & Ostad, N. (2012). Cytotoxicity of fucosterol containing fraction of marine algae against breast and colon carcinoma cell line. *Pharmacognosy Magazine*, 8(29), 60–64.

Kim, K.N., Ham, Y.M., Moon, J.Y., Kim, M.J., Kim, D.S., Lee, W.J., Lee, N.H., & Hyun, C.G. (2009). In vitro cytotoxic activity *Sargassum thurbergii* and *Dictyopteris divaricata* (Jeju Seaweeds) on the HL-60 tumor cell line. *International Journal of Pharmacology*, 1–9.

Mary, J.S., Vinotha, P., & Pradeep, M. (2012). Screening for in vitro cytotoxic activity of seaweed, *Sargassum* sp. against Hep-2 and MCF-7 cancer cell lines. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 13, 6073–6076.

Namvar, F., Mohamad, R., Baharara, J., Balanejad, S.Z., & Rahman, H.S. (2013). Antioxidant, antiproliferative, and antiangiogenesis effects of polyphenol-rich seaweed (*Sargassum muticum*). *BioMed Research International*, 1–9.

Nara, K.E., Terasaki, M., & Nagao, A. (2005). Characterization of apoptosis induced by fucoxanthin in human promyelocytic leukemia cells. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 69, 224–227.

Nomura, T., Kikuchi, M., Kubodera, A., & Kawakami, Y. (1997). Proton-donative antioxidant activity of fucoxanthin with 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl

- (DPPH). *Biochemistry and Molecular Biology International*, 42(2), 361–70.
- Nursid, M., Wikanta, T., & Susilowati, R. (2013). Aktivitas antioksidan, sitotoksitas dan kandungan fukosantin ekstrak rumput laut coklat dari Pantai Binuangeun, Banten. *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*, 8(1), 73–84.
- Parkin, D.M., Bray, F., Ferlay, J., & Pisani, P. (2005). Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer Journal for Clinicians*, 55, 74–108.
- Peng, J., Yuan, J.P., Wu, C.F., & Wang, J.H. (2011). Fucoxanthin, a marine carotenoid present in brown seaweeds and diatoms: metabolism and bioactivities relevant to human health. *Marine Drugs*, 9: 1806–1828.
- Rodríguez-Bernaldo de Quirós, A., & Costa, H.S. (2006). Analysis of carotenoids in vegetable and plasma samples: A review. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19, 97–111.
- Saengkhae, C., Premsurriya, Y., Srivibool, R., & Praiboon, J. (2015). Sensitization of human carcinoma of nasopharynx cells to doxorubicin and induction of apoptosis by *Sargassum baccularia* lipophilic fraction. *Walailak Journal Science and Technology*, 12(6), 515–525.
- Simmons, T.L., Andrianasolo, E., McPhail, K., Gerwick, W.H. (2005). Marine natural products as anticancer drugs. *Molecular Cancer Therapeutics*, 4(2), 332–342.
- Sugawara, T., Matsubara, K., Akagi, R., Mori, M., & Hirata, T. (2006). Antiangiogenic activity of brown algae fucoxanthin and its deacetylated product, fucoxanthinol. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54: 9805–9810.
- Terasaki, M., Hirose, A., Narayan, B., Baba, Y., Kawagoe, C., Yasui, H., & Miyashita, K. (2009). Evaluation of recoverable functional lipid components of several brown seaweeds (Phaeophyta) from Japan with special reference to fucoxanthin and fucosterol contents. *Journal of Phycology*, 45(4): 974–980.
- Urikura, I., Sugawara, T., & Hirata, W. (2011). Protective effect of fucoxanthin against UVB-induced skin photoaging in hairless mice. *Bioscience Biotechnology Biochemistry Journal*, 75(4), 757–760
- Vikstrom, S., Lahde, T., & Blomberg, K. (2015). *Technical tips for the cell cytotoxicity assay using the DELFIA® technology*. BATDA Application Note Version 14. Retrieved from http://www.perkinelmer.com/CMSResources/Images/APP_Technical_Tips_for_the_Cell_Cytotoxicity_Assay.pdf.
- Wang, J., Chen, S., Xu, S., Xu, X., Ma, D., Hu, X., & Cao, X. (2012). In Vivo induction of apoptosis by fucoxanthin, a marine carotenoid, associated with down regulating STAT3/EGFR signaling in sarcoma 180 (S180) xenografts-bearing mice. *Marine Drugs*, 10, 2055–2068
- Wang, S.K., Li, Y., White, W.L., & Lu, J. (2014). Extracts from New Zealand *Undaria pinnatifida* containing fucoxanthin as potential functional biomaterials against cancer in vitro. *Journal of Functional Biomaterials*, 5, 29–42.
- Weyermann, J., Lochmann, D., & Zimmer, A. (2005). A practical note on the use of cytotoxicity assays (Note). *International Journal of Pharmaceutics*, 288, 369–376.
- Yoshiko, S. & Hoyoku, N. (2007). Fucoxanthin, a natural carotenoid, induces G1 arrest and GADD45 gene expression in human cancer cells. *In Vivo*, 21, 305–310.
- Zaelanie, K. & Sukoso. (2014). Study on of fucoxanthin content and its identification in brown algae from Padike Village Talango District, Madura Islands. *Journal of Life Sciences and Biomedicine*, 4(1), 01–03.
- Zandi, K., Ahmadzadeh, S., Tajbakhsh, S., Rastian, Z., Yousefi, F., Farshadpour, F., & Sartavi, K. (2010). Anticancer activity of *Sargassum oligocystum* water extract against human cancer cell lines. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 14, 669–673.