

**PENGARUH EKSTRAK ALGA COKELAT (*Sargassum aquifolium*) YANG  
BERBEDA TERHADAP KANKER SERVIKS (Sel HeLa)**

**SKRIPSI  
PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN  
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN**

Oleh:  
**IZZUL ISLAM**  
**0710830002**

**UNIVERSITAS BRAWIJAYA**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**MALANG**

**2014**

**PENGARUH EKSTRAK ALGA COKELAT (*Sargassum aquifolium*) YANG  
BERBEDA TERHADAP KANKER SERVIKS (Sel HeLa)**

**SKRIPSI  
PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN  
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN**

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Meraih Gelar Sarjana Perikanan  
di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan  
Universitas Brawijaya**

Oleh:  
**IZZUL ISLAM**  
0710830002



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**MALANG**

**2014**

SKRIPSI

PENGARUH EKSTRAK ALGA COKELAT (*Sargassum aquifolium*) YANG BERBEDA TERHADAP KANKER SERVIKS (Sel HeLa)

Oleh:

IZZUL ISLAM

0710830002

Telah dipertahankan didepan penguji  
pada tanggal 21 Juli 2014  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat  
SK Dekan No. :

Tanggal :

Menyetujui,

Dosen Penguji I

Dosen Pembimbing I

Dr. Ir. Kartini Zailanie, MS  
NIP. 19550503 198503 2 001  
Tanggal :

Dr. Ir. Muhamad Firdaus, MP  
NIP. 19680919 200501 1 001  
Tanggal :

Dosen Penguji II

Dosen Pembimbing II

Dr. Ir. Hartati Kartikaningsih, MS  
NIP. 19640726 198903 2 004  
Tanggal :

Dr. Ir. Dwi Setijawati, M.Kes  
NIP. 19611022 198802 2 001  
Tanggal :

Mengetahui,  
Ketua Jurusan

Dr. Ir. Arning Wilujeng Ekawati, MS  
NIP. 19620805 198603 2 001  
Tanggal :

## PERNYATAAN ORISINALITAS

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang tertulis dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil penjiplakan (plagiasi), maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut, sesuai hukum yang berlaku di Indonesia.

Malang, 22 Juli 2014

Mahasiswa 

Izzul Islam



## RINGKASAN

**IZZUL ISLAM.** Skripsi. Pengaruh Ekstrak Alga Cokelat (*Sargassum aquifolium*) Yang Berbeda Terhadap Kanker Serviks (Sel HeLa). (Dibawah bimbingan **Dr. Ir. Muhammad Firdaus, MP dan Dr. Ir. Dwi Setijawati, M.Kes**)

---

Kanker serviks adalah kanker terbanyak kedua pada wanita dan menjadi penyebab lebih dari 250.000 kematian di dunia pada tahun 2005. Tanpa penatalaksanaan yang adekuat diperkirakan kematian akibat kanker serviks akan meningkat 25% dalam 10 tahun mendatang. Untuk mengatasi masalah ini, diperlukan suatu penelitian agar mendapatkan obat alami yang memiliki potensi sebagai antikanker yaitu dengan alga cokelat (*S. aquifolium*). Tujuan penelitian ini adalah untuk mendapatkan daya toksisitas ekstrak *S. aquifolium* dalam berbagai pelarut terhadap sel HeLa, komponen bioaktif dari ekstrak terkuat *S. aquifolium* dan identitas senyawa bioaktif antikanker ekstrak *S. aquifolium* terkuat.

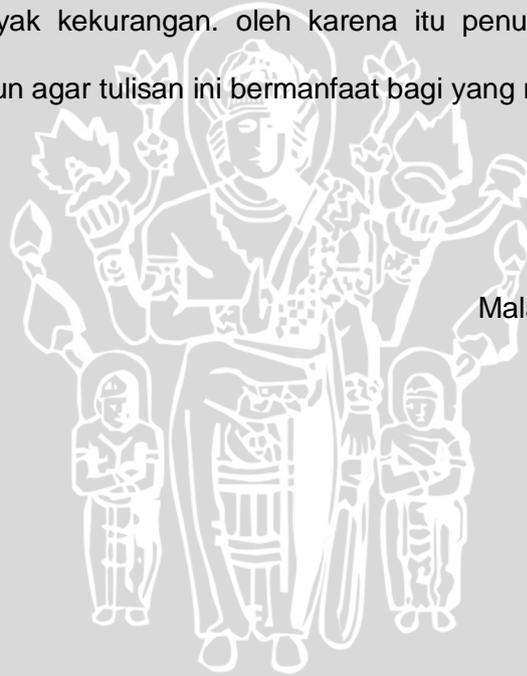
Penelitian ini dilaksanakan selama 3 bulan pada bulan September - November 2013 bertempat di Laboratorium Biomedika Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya dan proses ekstraksi sampel *S. aquifolium* dilakukan di Laboratorium Kimia Jurusan Saintek UIN Maliki Malang. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode kuantitatif secara eksperimental murni dengan desain *true experimental in vitro, post-test only*, dan *control group design* untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak *S. aquifolium* terhadap sitotoksitas sel HeLa.

Hasil pengukuran elisa reader menunjukkan viabilitas sel HeLa dengan menggunakan ekstrak n-heksan *S. aquifolium* sangat rendah yaitu sebesar 12,78%, nilai ini bahkan jauh lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan kontrol obat kanker doxorubicyn yaitu sebesar 57,33%, artinya jumlah kematian sel yang dipengaruhi paparan ekstrak n-heksan *S. aquifolium* sangat besar. Viabilitas ekstrak n-heksan *S. aquifolium* jauh lebih rendah dibandingkan pelarut lain seperti ekstrak etil asetat *S. aquifolium* dan etanol *S. aquifolium* yang masing-masing sebesar 39,89% dan 62,82%. Berdasarkan uji komponen bioaktif dengan metode fitokimia, ekstrak n-heksan *S. aquifolium* mengandung senyawa alkaloid, terpenoid, tanin, saponin dan steroid tetapi tidak mengandung triterpenoid. Berdasarkan deteksi mass spektrofotometri (GC-MS) pada ekstrak n-heksan *S. aquifolium* didapatkan 6 senyawa dominan yang diduga bertindak sebagai antikanker yaitu *1-hexadecene (CAS)*, *1-Nonadecene*, *Hexadecanoid acid*, *Benzenepropanoic acid*, *Arachidonic acid*, dan *Octacosanol*.

## KATA PENGANTAR

Dengan memanjatkan puji syukur saya panjatkan kehadiran Allah SWT yang dengan rahmat dan hidayah-Nya penulisan laporan skripsi yang berjudul **“Pengaruh Ekstrak Alga Cokelat (*Sargassum aquifolium*) Yang Berbeda Terhadap Kanker Serviks (Sel HeLa)”** ini dapat terselesaikan tanpa kendala berarti. Laporan ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang.

Sangat disadari bahwa dengan kekurangan dan keterbatasan yang dimiliki penulis, walaupun telah dikerahkan segala kemampuan untuk lebih teliti, tetapi masih dirasakan banyak kekurangan. oleh karena itu penulis mengharapkan saran yang membangun agar tulisan ini bermanfaat bagi yang membutuhkan.



Malang, 1 Juli 2014

Penulis

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Allah SWT yang senantiasa memberikan rahmat dan ridho-NYA untuk tetap kuat memaksimalkan ikhtiar
2. Bapak Dr. Ir. Muhamad Firdaus, MS dan Ibu Dr. Ir. Dwi Setijawati, M.Kes yang dengan sabar membimbing dan memberikan ilmunya pada saya .
3. Ibu Dr. Ir. Kartini Zailanie, MS dan Ibu Dr. Ir. Hartati Kartikaningsih, MS yang telah bersedia menjadi dosen penguji dan memberikan masukan pada penelitian saya.
4. Umi , Babe, abang Yus, Ela dan Bill yang selalu mendoakan, mengingatkan, memotivasi, dan memberikan dukungan yang tiada henti
5. Mbak Bunga (Laboran Biomedik) ,Mas Abi (Laboran Kimia UIN) dan Bu Fadjar (Forensik POLDA Jatim) yang dengan sabar mengajari dan memberikan masukan untuk penelitian saya
6. Gamal yang terus menularkan semangat positifnya dan sahabat angkatan 007 lainnya : Win, Fadrian, Aulia, Rijal, Andhika, Jarot, Aldila, Awal, Tahega, Rian, Alfa, Udin, Habib, Aris, Kris, Sobirin, Abud, Bachi, Mufid, Faris, Detha, Suhe, tanpa kalian perjuangan ini tidak bisa dikenang.
7. Keluarga besar Tenze Malang, FOKSI FPIK, Eksekutif Mahasiswa Kabinet Pahlawan Brawijaya spesial INFOKOM EM-UB (Nima,Tica,Firly)
8. Komsater : arif, aam, ukasah, tedi, bayu, bahrul,sune dkk

Malang, Agustus 2014

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
<b>PERNYATAAN ORISINALITAS .....</b>	<b>iv</b>
<b>RINGKASAN .....</b>	<b>v</b>
<b>KATA PENGANTAR .....</b>	<b>vi</b>
<b>UCAPAN TERIMA KASIH.....</b>	<b>vii</b>
<b>DAFTAR ISI .....</b>	<b>viii</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>x</b>
<b>DAFTAR GAMBAR .....</b>	<b>xi</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN.....</b>	<b>xii</b>
<b>1. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat Penelitian .....	4
1.5 Tempat dan Waktu.....	5
<b>2. TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>6</b>
2.1 <i>Sargassum aquifolium</i> .....	6
2.1.1 Klasifikasi .....	6
2.1.2 Habitat dan Deskripsi .....	7
2.2 Kanker Serviks.....	9
2.2.1 Epidemiologi .....	9
2.2.2 Etiologi .....	10
2.2.3 Faktor Resiko Kanker Serviks .....	12
2.2.4 Terapi Kanker Serviks .....	13
2.3 Bioaktif Antikanker .....	16
2.4 Mekanisme Aksi Fitokimia Antikanker .....	21
2.5 Antikanker <i>Sargassum</i> .....	27
<b>3. MATERI DAN METODE PENELITIAN .....</b>	<b>29</b>
3.1 Alat dan Bahan Penelitian .....	29
3.1.1 Alat Penelitian .....	29
3.1.2 Bahan Penelitian .....	29

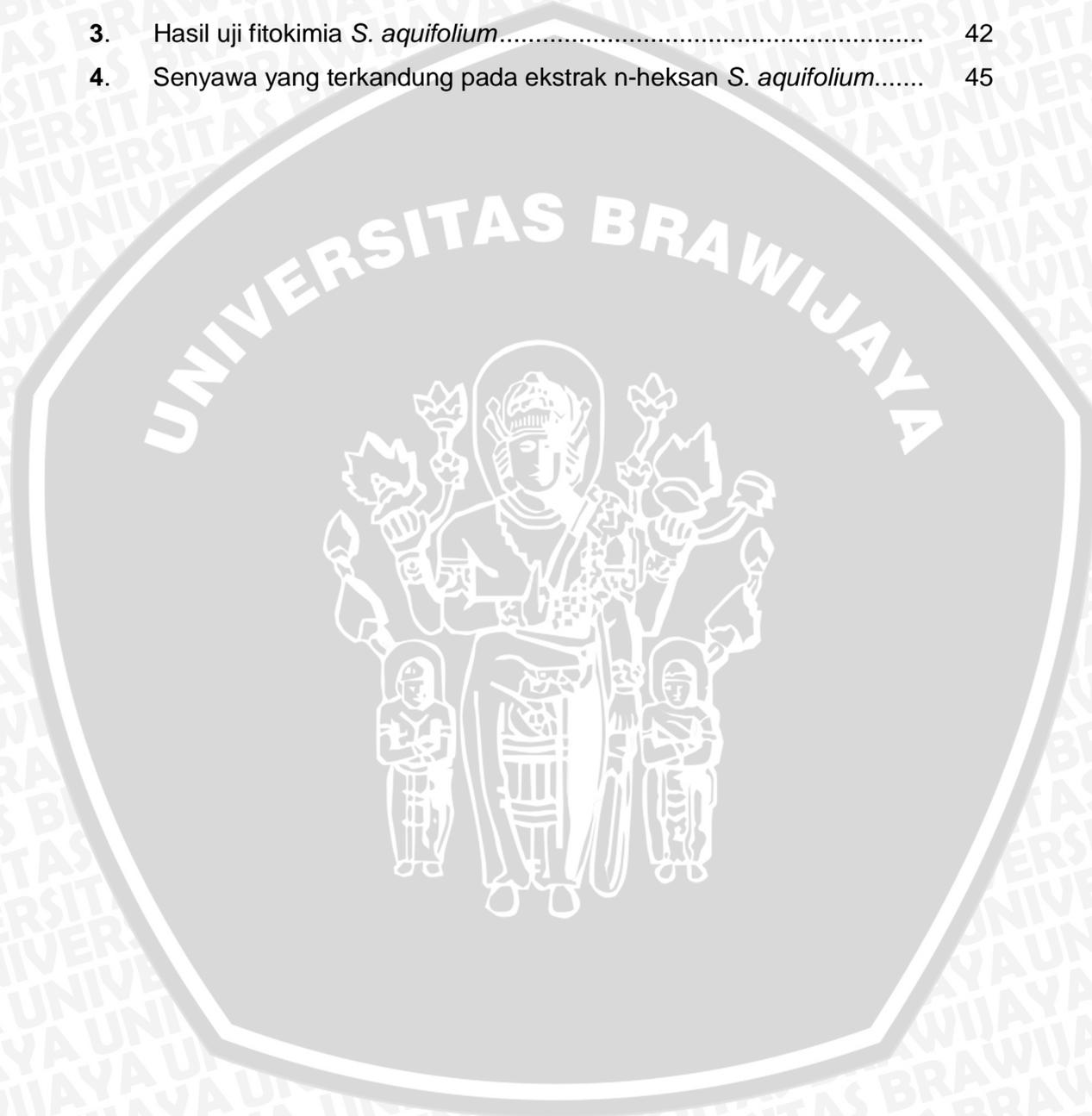


3.2 Metode Pengumpulan Data.....	30
3.3 Metode Penelitian .....	30
3.3.1 Variabel Penelitian .....	30
3.3.2 Definisi Operasional Variabel .....	30
3.4 Pelaksanaan dan Pengamatan .....	31
3.4.1 Ekstraksi <i>S. aquifolium</i> .....	31
3.4.2 Kultur Sel HeLa .....	32
3.4.3 Perlakuan dan Kontrol.....	32
3.4.4 Viabilitas Sel.....	32
3.4.5 Analisis Fitokimia.....	33
3.5 Analisis Data.....	35
3.6 Alur Penelitian.....	35
<b>4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>37</b>
4.1 Hasil Penelitian.....	37
4.1.1 Sel HeLa.....	37
4.1.2 % Sel Hidup .....	37
4.2 Uji Fitokimia Ekstrak N-Heksan <i>S. aquifolium</i> .....	41
4.3 Identitas Ekstrak N-Heksan <i>S. aquifolium</i> Berdasarkan metode GCMS.....	45
<b>5. KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>51</b>
5.1 Kesimpulan .....	51
5.2 Saran .....	51
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>52</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>58</b>

DAFTAR TABEL

Tabel  
Halaman

1.	Komposisi kimia <i>Sargassum sp.</i> .....	9
2.	Antikanker flavonoid.....	19
3.	Hasil uji fitokimia <i>S. aquifolium</i> .....	42
4.	Senyawa yang terkandung pada ekstrak n-heksan <i>S. aquifolium</i> .....	45

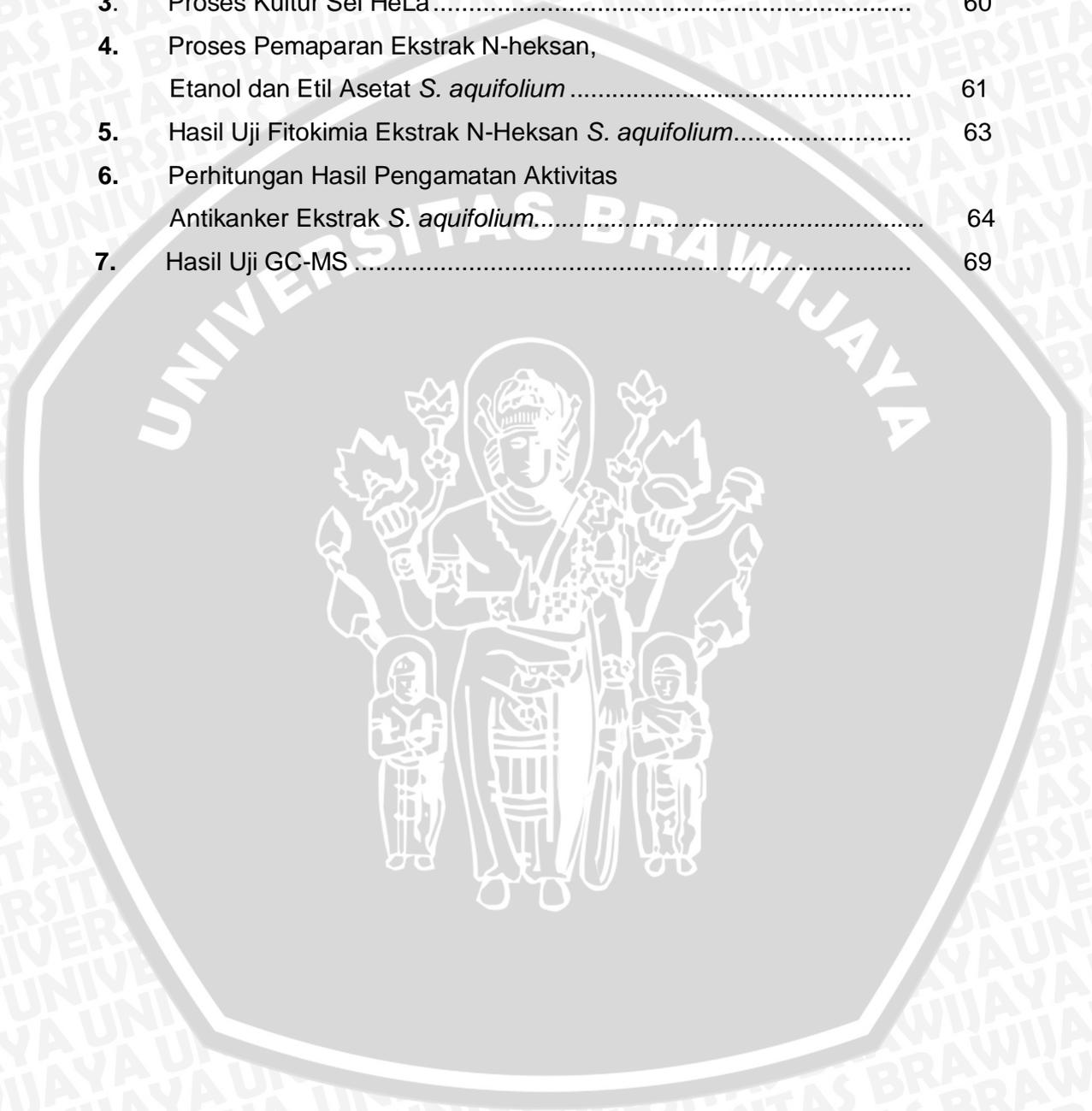


## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. <i>S. aquifolium</i> .....	6
2. Penyebaran kanker serviks di dunia.....	10
3. Sel yang terinfeksi HPV.....	11
4. Rata-rata tingkat kematian penderita kanker serviks .....	14
5. Pengaktifan enzim fase I dan fase II.....	27
6. Proses Ekstraksi .....	38
7. Pengujian sitotoksik dengan metode MTT .....	39
8. Sel HeLa hasil paparan doxorubicyn, ekstrak etanol, etil asetat dan n-heksan <i>S.aquifolium</i> .....	39
9. Sel HeLa hasil paparan doxorubicyn, ekstrak etanol, etil asetat dan n-heksan <i>S.aquifolium</i> dengan metode MTT .....	39
10. Viabilitas sel HeLa dengan perlakuan obat antikanker dan berbagai ekstrak pelarut <i>S. aquifolium</i> .....	40
11. Spektra ekstrak n-heksan <i>S. aquifolium</i> .....	45
12. Struktur molekul 1-Hexadecene .....	46
13. Struktur molekul 1-nonadecene.....	47
14. Struktur molekul Hexadecanoid acid .....	47
15. Struktur Benzenepropanoid.....	48
16. Struktur <i>Arachidonic acid</i> .....	49
17. Struktur <i>1-Octacosanol</i> .....	49

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman	
1.	Proses Penghalusan <i>S. aquifolium</i> .....	58
2.	Proses Ekstraksi Sampel <i>S. aquifolium</i> .....	59
3.	Proses Kultur Sel HeLa.....	60
4.	Proses Pemaparan Ekstrak N-heksan, Etanol dan Etil Asetat <i>S. aquifolium</i> .....	61
5.	Hasil Uji Fitokimia Ekstrak N-Heksan <i>S. aquifolium</i> .....	63
6.	Perhitungan Hasil Pengamatan Aktivitas Antikanker Ekstrak <i>S. aquifolium</i> .....	64
7.	Hasil Uji GC-MS .....	69



## 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Kanker serviks merupakan jenis kanker yang terbanyak kedua pada wanita dan menjadi penyebab lebih dari 250.000 kematian di dunia pada tahun 2005. Kurang lebih 80% kematian tersebut terjadi di negara berkembang. Tanpa penatalaksanaan yang baik, diperkirakan kematian akibat kanker serviks akan meningkat dua puluh lima persen dalam sepuluh tahun mendatang (Rasjidi, 2007).

Pengobatan konvensional yang umum dilakukan pada penyakit kanker antaranya dengan pembedahan, kemoterapi dan radioterapi (Apantaku, 2002). Namun, terapi kanker secara pembedahan tidak dapat dilakukan khususnya pada sel kanker yang telah menyebar (metastasis), sementara pengobatan kemoterapi dan radiasi dapat menimbulkan efek samping meskipun pengobatan kemoterapi mampu mengeluarkan keseluruhan tumor (Hawariah 1998).

Sel HeLa adalah sel yang berasal dari sel-sel kanker serviks yang diambil dari seorang penderita kanker serviks bernama Henrietta Lacks. Sel ini bersifat imortal dan produktif sehingga banyak digunakan dalam penelitian ilmiah. Fukoidan telah dipelajari secara ekstensif karena aktivitas biologis yang terkandung didalamnya seperti : antikoagulan, antitrombotik, dan antitumor (Zyyagintseva *et al.*, 2003).

Besarnya angka kematian akibat kanker disebabkan karena sebagian besar penderita kanker terlambat mendapat pengobatan atau penanganan medis (Sarjadi, 1992). Selain itu, banyak obat kanker yang ada saat ini memiliki therapeutic yang rendah, dan dosis maksimum obat yang diberikan hanya memberikan efektivitas yang minimum. Tidak semua pasien atau jenis kanker menunjukkan respon yang baik terhadap obat yang diberikan. Bahkan, banyak

obat kanker yang menimbulkan efek samping dan efek resisten terhadap pasien (William dan Anderson, 2006). Untuk mengatasi masalah ini, diperlukan suatu penelitian agar mendapatkan obat baru yang lebih potensial sebagai antikanker.

Indonesia sebagai negara kepulauan dengan panjang garis pantai 81.000 km merupakan kawasan pesisir dan lautan yang memiliki berbagai sumberdaya hayati yang sangat besar dan beragam. Berbagai sumberdaya hayati tersebut merupakan potensi pembangunan yang sangat penting sebagai sumber-sumber pertumbuhan ekonomi baru (Dahuri, 2000).

Rumput laut secara ekonomi menjadi penting karena mengandung senyawa polisakarida. Polisakarida rumput laut yang paling komersial hingga saat ini yaitu jenis karaginan, alginat, dan agar agarose yang merupakan fraksi dari agar. ketiga jenis polisakarida alga ini merupakan produk industri (Satari, 1996). Polisakarida dari beberapa alga laut juga telah diketahui memiliki aktivitas biologi potensial yang berhubungan dengan farmakologi (Cristiane *et al.*, 2006). Masing-masing polisakarida alga laut mempunyai aktivitas fisiologis berbeda yang mencakup pencegahan pembekuan darah, antihyperlipidemic, antiviral, dan antitumor (Zhang *et al.*, 2003). Adanya kemampuan yang berhubungan dengan bidang farmakologi pada polisakarida alga laut ini disebabkan adanya kandungan senyawa metabolit sekunder. Metabolit sekunder merupakan *bioactive substances* yang dikembangkan melalui berbagai penelitian untuk dijadikan obat alternatif. Salah satu metabolit adalah fukoidan yaitu suatu komponen biologi aktif yang menarik untuk dikaji (Shevchenko *et al.*, 2007).

Alga *Sargassum sp.* atau alga cokelat merupakan salah satu genus *Sargassum* yang termasuk dalam kelas *Phaeophyceae*. (Kadi, 2008). Dalam pengobatan tradisional rumput laut atau alga telah lama digunakan untuk keperluan pengobatan berbagai jenis penyakit, seperti penurun panas, eksim, batu empedu, gondok, gangguan menstruasi, gangguan ginjal, scabies, dan

scrofula. Tampaknya manfaat yang bervariasi ini telah mendorong para ahli untuk mencari kemungkinan obat anti-tumor dari tanaman laut tersebut (Angka dan Suhartono, 2000). *Sargassum sp.* mengandung bahan alginat dan iodin yang bermanfaat bagi industri makanan, farmasi, kosmetik dan tekstil (Kadi, 2008).

Rumput laut *Sargassum* telah lama dimanfaatkan sebagai bahan makanan dan obat. Sebagai sumber gizi, rumput laut memiliki kandungan karbohidrat (gula atau vegetable-gum), protein, sedikit lemak, dan abu yang sebagian besar merupakan senyawa garam natrium dan kalium. Selain itu, rumput laut juga mengandung vitamin-vitamin, seperti vitamin A, B1, B2, B6, B12, dan C; betakaroten; serta mineral, seperti kalium, kalsium, fosfor, natrium, zat besi, dan yodium (Maharani dan Widyayanti 2010). Senyawa dari ekstrak alga yang memiliki aktivitas anti-tumor, yaitu senyawa lanosol dan derivatnya, senyawa tersebut termasuk golongan fenol terhalogenasi. Namun mekanisme kerja senyawa tersebut terhadap sel HeLa belum diketahui (Shoeib *et al.*, 2004).

Hasil uji farmakologi senyawa anti-tumor dari ekstrak alga yang telah diketahui mekanisme kerjanya antara lain : Curacin D, Dehydrothysiferol, Aquifoliumirulan, Stypodiol, dan Tolyporphin, sedangkan yang belum diketahui mekanisme kerjanya adalah Cryptoxanthin (Meyer,1999). Duarte *et al.* (2001) melaporkan bahwa *Sargassum sp* mengandung fukoida yaitu suatu zat yang dapat menghambat perkembangan sel kanker rahim.

Menurut penelitian Chasanah *et al.* (2007), diduga senyawa yang berperan besar dalam aktivitas antikanker berasal dari golongan pigmen karotenoid yang teroksidasi dalam strukturnya, yaitu fukosantin. Alga coklat secara umum juga mengandung senyawa violaksantin, flavosantin serta neosantin a dan b, sedangkan kelompok karotenoid yang umum ditemukan dalam alga ini adalah  $\beta$ -karoten, yakni karotenoid yang tidak memiliki atom oksigen dalam strukturnya

(Blunt *et al.*, 2006) Golongan senyawa ini sudah dikenal memiliki aktivitas antitumor yang baik (Clevidenced *et al.*, 1997)

Pigmen penyusun pada rumput laut coklat berasal dari golongan klorofil dan turunannya, golongan karotenoid polar (xantofil), serta golongan karotenoid non polar (karoten). Klorofil a, pigmen berwarna hijau kebiruan, merupakan pigmen utama dalam proses fotosintetik dari tumbuhan, termasuk didalamnya rumput laut coklat, sedangkan karotenoid hanya sebagai pigmen pelengkap. Fukosantin merupakan karotenoid utama yang terdapat dalam rumput laut coklat dan warna coklat pada rumput laut ini berasal dari fukosantin (Peng *et al.*, 2011).

## 1.2 Rumusan Masalah

Apakah *Sargassum aquifolium* memiliki zat bioaktif yang berpengaruh terhadap viabilitas sel HeLa?

Apakah ada pengaruh jenis pelarut dari ekstraksi *S. aquifolium* terhadap penghambatan pertumbuhan sel HeLa?

## 1.3 Tujuan Penelitian

1. Mendapatkan daya toksisitas ekstrak *S. aquifolium* dalam berbagai pelarut terhadap sel HeLa
2. Mendapatkan komponen bioaktif dari ekstrak terkuat *S. aquifolium*
3. Mendapatkan identitas senyawa bioaktif anti kanker ekstrak *S. aquifolium* terkuat

## 1.4 Manfaat Penelitian

1. Dapat menjadi referensi obat terutama obat kanker serviks yang berasal dari hasil perikanan.
2. Mengetahui efek ekstrak *S. aquifolium* terhadap induksi sel HeLa.
3. Mengetahui jenis pelarut yang optimal untuk ekstraksi *S. aquifolium*.

### 1.5 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan selama 3 bulan pada bulan September - November 2013 bertempat di Laboratorium Biomedika Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya dan proses ekstraksi sampel *S. aquifolium* dilakukan di Laboratorium Kimia Jurusan Saintek UIN Maliki Malang.



## 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 *Sargassum aquifolium*

#### 2.1.1 Klasifikasi

*Sargassum* adalah salah satu genus dari kelompok rumput laut coklat yang merupakan genera terbesar dari keluarga Sargassaceae. Klasifikasi *S. aquifolium*

(Herbarium Bandungense, 2013) adalah sebagai berikut :

Divisio : Phaeophyta  
Kelas : Phaeophyceae  
Bangsa : Fucales  
Suku : Sargassaceae  
Marga : *Sargassum*  
Jenis : *S. aquifolium*

Ciri-ciri umum dari genus ini menurut Aslan (1999) adalah bentuk thallus umumnya silindris atau gepeng, cabangnya rimbun menyerupai pohon di darat, bentuk daun melebar, lonjong atau seperti pedang, mempunyai gelembung udara (bladder) yang umumnya soliter, warna thallus umumnya coklat. Bentuk *S. aquifolium* dapat dilihat pada Gambar 1



Gambar 1. *S. aquifolium* (Muzaki, 2008)

Dalam pengobatan tradisional rumput laut atau alga telah lama digunakan untuk keperluan pengobatan berbagai jenis penyakit, seperti penurunan panas,

eksim, batu empedu, gondok, gangguan menstruasi, gangguan ginjal, scabies, dan scrofula. Tampaknya manfaat yang bervariasi ini telah mendorong para ahli untuk mencari kemungkinan obat anti tumor dari tanaman laut tersebut (Angka dan Suhartono, 2000).

### 2.1.2 Habitat dan Deskripsi

Di perairan Indonesia diperkirakan terdapat lebih dari 15 jenis alga *Sargassum* dan yang telah dikenal mencapai 12 jenis, sedangkan di perairan Indo-Pasifik tercatat 58 *Sargassum* tumbuh di perairan berarus yang jernih pada kedalaman 0,5 – 10 m, mempunyai substrat dasar batu karang, karang mati, batuan vulkanik dan benda-benda yang bersifat masif di dasar perairan (Sunuddin, 2012).

Alga *Sargassum* tumbuh dari daerah intertidal, subtidal sampai daerah tubir dengan ombak besar dan arus deras. Kedalaman untuk pertumbuhan dari 0,5–10 m. Marga *Sargassum* termasuk dalam kelas Phaeophyceae tumbuh subur pada daerah tropis, suhu perairan 27,25 – 29,30 °C dan salinitas 32 – 33,5 %. Kebutuhan intensitas cahaya matahari marga *Sargassum* lebih tinggi dari pada marga alga merah. Pertumbuhan *Sargassum* membutuhkan intensitas cahaya matahari berkisar 6500–7500 lux. Alga *Sargassum* tumbuh berumpun dengan untaian cabang-cabang. Panjang thalli utama mencapai 1–3 m dan tiap-tiap percabangan terdapat gelembung udara berbentuk bulat yang disebut “Bladder” berguna untuk menopang cabang-cabang thalli terapung ke arah permukaan air untuk mendapatkan intensitas cahaya matahari (Boney, 1965).

*Sargassum sp.* mampu tumbuh pada substrat batu karang di daerah berombak. Habitat yang cocok dan ideal untuk kehidupan biota ini adalah zona pasang surut atau di perairan berarus yang jernih pada kedalaman 0.5-10 meter. Substrat dasar dari *Sargassum sp.* adalah batu karang, karang mati, batuan

vulkanik dan benda-benda yang bersifat *massive* di dasar perairan. *Sargassum* *sp.* tumbuh dari daerah intertidal, subtidal sampai daerah tubir dengan ombak besar dan arus deras (Sunuddin, 2012).

Rumput laut jenis *Sargassum* umumnya merupakan tanaman perairan yang mempunyai warna cokelat, berukuran relatif besar, tumbuh dan berkembang pada substrat dasar yang kuat. Bagian atas tanaman menyerupai semak yang berbentuk simetris bilateral atau radial serta dilengkapi bagian sisi pertumbuhan. Umumnya rumput laut tumbuh secara liar dan masih belum dimanfaatkan secara baik. Rumput laut coklat memiliki pigmen yang memberikan warna coklat dan dapat menghasilkan algin atau alginat, laminarin, selulosa, fikoidin dan manitol yang komposisinya sangat tergantung pada jenis (spesies), masa perkembangan dan kondisi tempat tumbuhnya (Maharani dan Widyayanti, 2010).

Jika kondisi habitat *Sargassum* *sp.* terganggu, maka keberadaan biota ini akan terancam. Pertumbuhan dan penyebaran biota perairan ini (*Sargassum* *sp.*) sangat dipengaruhi oleh toleransi fisiologis dari biota tersebut untuk beradaptasi terhadap faktor-faktor lingkungan. Faktor-faktor lingkungan yang dimaksud disini diantaranya substrat, salinitas, temperatur, intensitas cahaya, tekanan, dan nutrisi (Sunuddin, 2012)

Berdasarkan bentuk thalusnya, *Sargassum* merupakan kelas thallophyta yang menyerupai tumbuhan tingkat tinggi, karena organ thalusnya menyerupai akar, batang dan daun. Sebagai contoh, *Sargassum* yang meliputi *S. polycistum*, *S. aquifolium*, *S. crassifolium* dan *S. cristaefolium*, yang struktur organnya menyerupai akar, batang, dan daun sebagaimana halnya tumbuhan tingkat tinggi (Ghozali, 2007). Pada umumnya *Sargassum* tumbuh di daerah terumbu karang (*coral reef*) seperti di Kepulauan Seribu, terutama di daerah rata-an pasir (*sand flat*). Daerah ini akan kering pada saat surut rendah, mempunyai dasar berpasir

dan terdapat pula pada karang hidup atau mati. Pada batu-batu ini tumbuh dan melekat rumput laut coklat (Atmadja dan Soelistijo,1988).

Sistem reproduksi dari *Sargassum sp* adalah reproduksi vegetatif dilakukan melalui fragmentasi. Cara ini banyak dilakukan untuk usaha budidaya. Reproduksi generatif yaitu perkembangan individu melalui organ jantan (antheridia) dan organ betina (oogenia). Di dalam *Sargassum sp* terdapat banyak kandungannya antara lain kandungan bahan kimia utama yakni alginate dan mengandung protein, vitamin C, tannin, iodine, anti bakteri dan tumor (Trono and Ganzo, 1988).

Duarte *et al.* (2001) melaporkan bahwa *Sargassum sp* mampu mensintesis 2 jenis fukoida yang berbeda strukturnya yaitu fukoida dengan presentasi GlcA (*Glucuronic acid*) yang lebih tinggi dan sulfat yang lebih rendah. Fukoida dengan GlcA dan sulfat dalam jumlah besar terkonsentrasi pada residu fukoida dengan fukosa dan galaktosa sebagai komponen mayor (Subagya, 1987). Menurut Yunizal (2004), komponen utama dari alga adalah karbohidrat sedangkan komponen lainnya yaitu protein, lemak, abu (sodium dan potasium) dan air 80-90%. Komposisi kimia *Sargassum* dapat dilihat pada Tabel 1

Tabel 1. Komposisi Kimia *Sargassum sp*

Komposisi Kimia	Persentase (%)
Karbohidrat	19,06 %
Protein	5,53 %
Lemak	0,74 %
Air	11,71 %
Abu	34,57 %
Serat Kasar	28,39 %

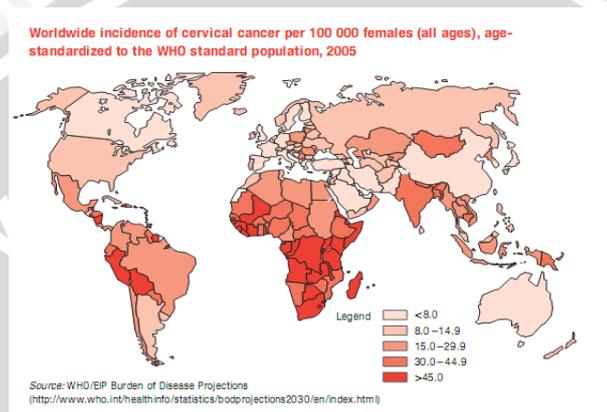
Sumber : Yunizal 2004

## 2.2 Kanker Serviks

### 2.2.1 Epidemiologi

Kanker Serviks memiliki prevalensi tinggi kedua kanker yang diderita perempuan, baik di Indonesia, di Asia Tenggara maupun di Dunia. Kanker

serviks menjadi penyebab lebih dari 250.000 kematian pada tahun 2005. Kurang lebih 80% kematian tersebut terjadi di Negara berkembang. Tanpa penatalaksanaan yang baik, diperkirakan kematian akibat kanker serviks akan meningkat dua puluh lima persen dalam sepuluh tahun mendatang (Rasjidi, 2007). Penyebaran kejadian kanker serviks di seluruh dunia per 100.000 perempuan dapat dilihat pada gambar 2.



Gambar 2. Penyebaran kanker serviks di dunia (WHO, 2007).

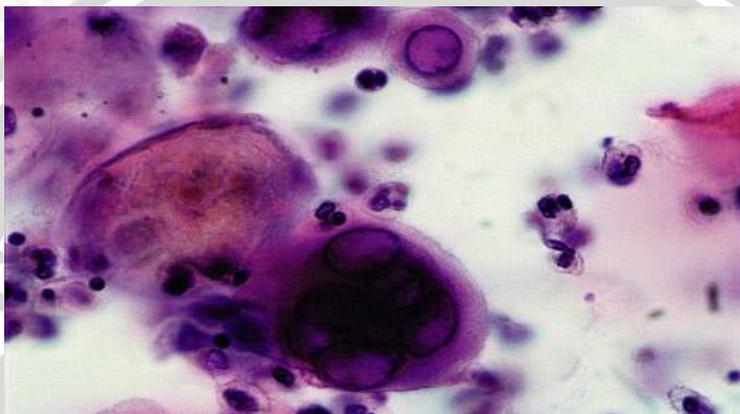
### 2.2.2 Etiologi

Faktor etiologik paling penting pada timbulnya kanker rahim ialah infeksi *Human Papillomavirus* (HPV). HPV adalah DNA virus yang menimbulkan proliferasi pada permukaan epidermal dan mukosa, yang mengarahkan ke keadaan *Cervical Intraepithelial Neoplasia* (CIN) kemudian berlanjut menjadi kanker. HPV ditemukan pada 85-90 % lesi prakanker dan neoplasma invasif dan secara lebih spesifik terdapat beberapa tipe HPV yang berisiko tinggi yaitu tipe 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 52, 56, 58, dan 59 (Robbins *et al.*, 2007).

Penelitian menunjukkan bahwa perempuan dengan infeksi HPV strain 16, 18, dan 31 mempunyai angka CIN (*Cervical Intraepithelial Neoplasia*) yang lebih tinggi. HPV tipe risiko tinggi yaitu 16 dan 18 memiliki gen yang mampu terintegrasi ke genom penjamu. Penelitian lain menunjukkan bahwa perempuan

dengan HPV strain 18 memiliki angka mortalitas yang lebih tinggi dan prognosis yang lebih buruk (Price dan Wilson, 2002).

Diantara berbagai faktor risiko yang sudah dipastikan adalah merokok dan immunodefisiensi eksogen atau endogen. Sebagai contoh, insidensi karsinoma *in situ* meningkat sekitar lima kali lipat pada perempuan yang terinfeksi oleh virus immunodefisiensi manusia jika dibandingkan dengan kontrol (Robbins *et al.*, 2007).



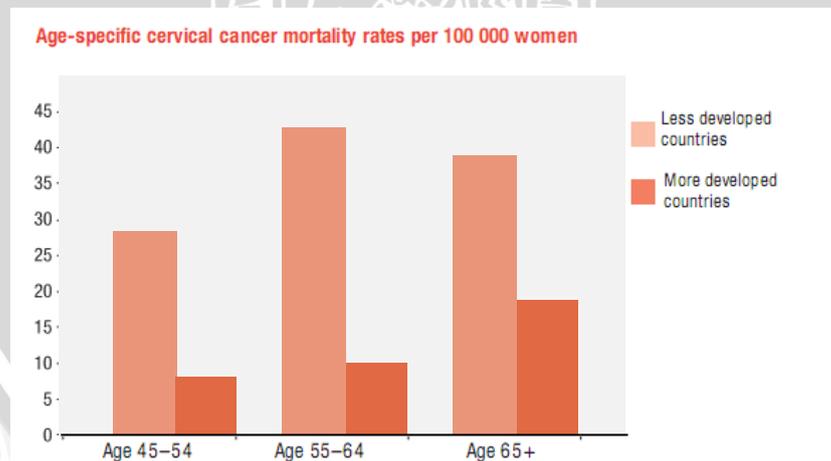
Gambar 3. Sel yang terinfeksi HPV (Robbins *et al.*, 2007).

Gambar 3 menunjukkan sel yang telah terinfeksi HPV didapatkan dari pap smear pada lesi serviks. *Early* dan *late region* memiliki beberapa *Open Reading Frames* (ORF) yang menghasilkan translasi protein fungsional. *Early region* ORF (E1, E2, E4, E5, E6, dan E7) diekspresikan di awal siklus hidup virus. E1 mengkode sebuah protein yang menjaga genom virus, E2 termasuk dalam efek p53, E6 menginduksi aktivitas enzim telomerase, yang mencegah pemendekan telomere kromosom. Oleh karena itu, E6 akan menjaga panjang telomer di atas titik kritis sehingga melindungi sel dari apoptosis. HPV E7 mampu berikatan dengan pRb menghasilkan terbebasnya host transcriptional factor E2F dari kompleks pRb/E2F. E2F menghasilkan banyak gen yang penting untuk mitosis, akan memulai siklus sel, dan menyebabkan hiperproliferasi (Bekkers *et al.*, 2003).

Genotip HPV dibagi menjadi genotip berisiko tinggi dan berisiko rendah berdasarkan potensinya untuk menyebabkan kanker serviks, yang perbedaan utamanya adalah disebabkan oleh variasi kemampuannya untuk berintegrasi dengan genom host dan variasi pada E6 dan E7. HPV E6 dan E7 yang berisiko tinggi mampu menyebabkan instabilitas genetik sedangkan HPV E6 dan E7 yang berisiko rendah tidak mampu menyebabkan hal tersebut. Perbedaan efek E6 dan E7 mungkin disebabkan oleh rangkaian polimorfisme gen yang mengkode E6 dan E7 (Bekkers *et al.*, 2003).

### 2.2.3 Faktor Risiko Kanker Serviks

Ada dua faktor risiko yang menyebabkan kanker serviks, diantaranya faktor internal dan faktor eksternal. Faktor internal mengacu pada kondisi fisik dari penderita, seperti umur dan faktor genetik lain sedangkan faktor eksternal berhubungan dengan respon penderita dengan lingkungan, perubahan sistem imun sehingga risiko terinfeksi HPV meningkat (Rasjidi, 2007) dan status sosio ekonomi yang rendah (Price dan Wilson, 2002).



Gambar 4. Rata-rata tingkat kematian penderita kanker serviks di Indonesia berdasarkan tingkat umur (WHO, 2007).

Gambar 4 menunjukkan tingkat kematian oleh kanker serviks berdasarkan umur penderita dengan jumlah kematian yang tertinggi pada kisaran umur 55-64 tahun. Insiden kanker di Indonesia masih belum dapat diketahui secara pasti,

karena belum dilaksanakan registrasi berbasis populasi. Tetapi dari data Globocan 2002, IARC (International Agency for Research on Cancer) didapatkan estimasi insidens kanker payudara di Indonesia sebesar 26 per 100.000 perempuan, dan kanker leher rahim sebesar 16 per 100.000 perempuan. Sedangkan data dari SIRS (Sistem Informasi Rumah sakit) di Indonesia tahun 2004 diketahui bahwa kanker payudara menempati urutan pertama pasien rawat inap (15,4%) dan pasien rawat jalan (15,78%), sedangkan berdasarkan data dari Badan registrasi Kanker Ikatan Dokter Ahli Patologi Indonesia (IAPI) tahun 1998 di 13 rumah sakit di Indonesia, kanker leher rahim menduduki peringkat pertama dari seluruh kasus kanker sebesar 17,2% diikuti kanker payudara (12,2%) (WHO, 2007).

Jumlah korban meninggal lebih banyak di negara sedang berkembang daripada di negara maju. Salah satu penyebab kematian yang tinggi adalah keterlambatan penanganan, dimana penderita kanker serviks baru saja terdeteksi dalam keadaan lanjut. Hal ini dikarenakan screening kanker serviks yang tidak efektif di negara berkembang (WHO, 2007).

#### **2.2.4 Terapi Kanker Serviks**

Terapi kanker serviks invasif ditentukan oleh pemeriksaan klinis dan bedah. Metode pengobatannya adalah dengan eksisi bedah, terapi radiasi, kemoterapi, atau kombinasi metode-metode tersebut (Price dan Wilson, 2002).

Pada stadium CIN prosedur *cryosurgery* juga cukup efektif dan lebih murah serta mudah. Kemoterapi dapat diberikan pada stadium IIB-IVA atau pada stadium I dan II A (Rahman, 2007).

Terapi karsinoma serviks dilakukan bila mana diagnosis telah dipastikan secara histologik dan sesudah dikerjakan perencanaan yang matang oleh tim yang sanggup melakukan rehabilitasi dan pengamatan lanjutan (tim kanker / tim

onkologi). Pemilihan pengobatan kanker leher rahim tergantung pada lokasi dan ukuran tumor, stadium penyakit, usia, keadaan umum penderita, dan rencana penderita untuk hamil lagi. Lesi tingkat rendah biasanya tidak memerlukan pengobatan lebih lanjut, terutama jika daerah yang abnormal seluruhnya telah diangkat pada waktu pemeriksaan biopsi. Pengobatan pada lesi prekanker bisa berupa kriosurgeri (pembekuan), kauterisasi (pembakaran, juga disebut diatermi), pembedahan laser untuk menghancurkan sel-sel yang abnormal tanpa melukai jaringan yang sehat di sekitarnya dan LEEP (loop electrosurgical excision procedure) atau konisasi (Wiknjosastro, 1997).

#### **2.2.4.1 Pembedahan**

Pembedahan merupakan salah satu terapi yang bersifat kuratif maupun paliatif. Kuratif adalah tindakan yang langsung menghilangkan penyebabnya sehingga manifestasi klinik yang ditimbulkan dapat dihilangkan. Sedangkan tindakan paliatif adalah tindakan yang berarti memperbaiki keadaan penderita. Histerektomi adalah suatu tindakan pembedahan yang bertujuan untuk mengangkat uterus dan serviks (total) ataupun salah satunya (subtotal). Biasanya dilakukan pada stadium klinik IA sampai IIA (klasifikasi FIGO). Umur pasien sebaiknya sebelum menopause, atau bila keadaan umum baik, dapat juga pada pasien yang berumur kurang dari 65 tahun. Pasien juga harus bebas dari penyakit umum (resiko tinggi) seperti penyakit jantung, ginjal dan hepar (Wiknjosastro, 1997).

#### **2.2.3.2 Terapi Penyinaran (Radioterapi)**

Terapi radiasi bertujuan untuk merusak sel tumor pada serviks serta mematikan parametrial dan nodus limpa pada pelvik. Kanker serviks stadium II B, III, IV sebaiknya diobati dengan radiasi. Metoda radioterapi disesuaikan dengan tujuannya yaitu tujuan pengobatan kuratif atau paliatif. Ada dua jenis radioterapi

yaitu radiasi eksternal yaitu sinar berasal dari sebuah mesin besar dan penderita tidak perlu dirawat di rumah sakit, penyinaran biasanya dilakukan sebanyak 5 hari/minggu selama 5-6 minggu. Keduanya adalah melalui radiasi internal yaitu zat radioaktif terdapat di dalam sebuah kapsul dimasukkan langsung ke dalam serviks. Kapsul ini dibiarkan selama 1-3 hari dan selama itu penderita dirawat di rumah sakit. Pengobatan ini bisa diulang beberapa kali selama 1-2 minggu. Efek samping dari terapi penyinaran adalah iritasi rektum dan vagina, kerusakan kandung kemih dan rektum dan ovarium berhenti berfungsi (Gale dan Charette, 2000).

### **2.2.3.3 Kemoterapi**

Kemoterapi adalah penatalaksanaan kanker dengan pemberian obat melalui infus, tablet, atau intramuskuler. Obat kemoterapi digunakan utamanya untuk membunuh sel kanker dan menghambat perkembangannya. Tujuan pengobatan kemoterapi tergantung pada jenis kanker dan fasenya saat didiagnosis. Beberapa kanker mempunyai penyembuhan yang dapat diperkirakan atau dapat sembuh dengan pengobatan kemoterapi. Dalam hal lain, pengobatan mungkin hanya diberikan untuk mencegah kanker yang kambuh, ini disebut pengobatan adjuvant. Dalam beberapa kasus, kemoterapi diberikan untuk mengontrol penyakit dalam periode waktu yang lama walaupun tidak mungkin sembuh. Jika kanker menyebar luas dan dalam fase akhir, kemoterapi digunakan sebagai paliatif untuk memberikan kualitas hidup yang lebih baik. Kemoterapi secara kombinasi telah digunakan untuk penyakit metastase karena terapi dengan agen-agen dosis tunggal belum memberikan keuntungan yang memuaskan. Contoh obat yang digunakan pada kasus kanker serviks antara lain CAP (Cyclophopamide Adremycin Platamin), PVB (Platamin Veble Bleomycin) dan lain-lain (Prayetni, 1997).

Obat kemoterapi atau antikanker sebaiknya memiliki toksisitas yang selektif, namun obat antikanker yang ada saat ini biasanya merusak sel dan menimbulkan toksisitas karena ikut menghambat pertumbuhan sel normal yang proliferasinya cepat seperti sumsum tulang, epitel germinatum, mukosa saluran pencernaan dan jaringan limfosit. Obat antikanker tersebut membunuh sel kanker melalui mekanisme nekrosis yang dapat menimbulkan inflamasi dan melibatkan sekelompok sel yang lain. Obat antikanker yang ideal adalah yang mampu membunuh sel kanker tanpa membahayakan sel normal dan hingga saat ini belum ada obat antikanker yang memenuhi persyaratan tersebut (Coundry, 1995).

WHO sebagai organisasi kesehatan dunia telah menyarankan, mensponsori dan menyetujui penggunaan obat tradisional dari tanaman tropis, karena ketersediaan hayati, biaya produksi dan toksisitas yang rendah serta efek pengenalan metabolisme sekunder dan derivat dari metabolit ini sebagai bahan antikanker yang bermanfaat (Roya and Zoo, 2000).

### **2.3. Bioaktif Antikanker**

#### **2.3.1 Peptida**

Bioaktif peptida adalah suatu jenis peptida yang memiliki urutan komposisi asam amino yang pasti, merupakan fragmen pecahan protein, dengan protein aslinya sendiri tidak memiliki keaktifan biologis. Senyawa peptida tersebut memiliki dan menunjukkan sifat-sifat spesifik, segera setelah lepas dari atau dilepaskan dari molekul protein aslinya oleh kerja enzim. Jenis peptida yang dimaksud biasanya memiliki berat molekul (BM) yang rendah, hanya terdiri atas 3 sampai 10 asam amino saja dan biasanya bersifat hidrofobik (tidak akur dengan air). Senyawa-senyawa peptida bioaktif itu bekerja sangat aktif dan berefek positif bagi kesehatan saluran pencernaan manusia. Senyawa-senyawa bioaktif

itu biasanya terbentuk karena jasa baik dan oleh karya enzim pencernaan. Namun, beberapa enzim yang diproduksi oleh bakteri asam laktat dapat pula membentuk peptida bioaktif, dengan cara memecahkan protein yang terdapat dalam saluran pencernaan saat itu. Sumber lain menyatakan bahwa Peptida bioaktif adalah fragmen protein spesifik yang berdampak positif pada fungsi atau kondisi tubuh dan akhirnya dapat mempengaruhi kesehatan (Kitts dan Weiler 2003).

Selama hidrolisis dalam saluran pencernaan atau selama pengolahan pangan (fermentasi), peptida dapat dilepaskan dari protein di dalam tubuh bekerja sebagai senyawa regulator yang aktifitasnya menyerupai hormon. Peptida dengan berbagai macam fungsi biologis telah berhasil diidentifikasi. Pada pusat data yang diberi nama "Biopep" lebih dari 1500 macam peptida bioaktif telah dipresentasikan. Yang paling umum adalah inhibitor enzim konversi angiotensin (angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitors) dan inhibitor dipeptidil peptidase IV (dipeptidyl peptidase IV inhibitors) menunjukkan aktifitas antihipertensif. Peptida dengan aktifitas biologis lain seperti "opioid" agonistik dan antagonistik, antioksidatif, antikanker, dan imuno-modulator Peptida opioid endogen yang diproduksi secara alami oleh tubuh endorfin, enkefalin, dinorfin dan endomorfina). Peptida bioaktif dari protein pangan mengandung 2 sampai 9 unit asam amino (ada juga yang mengandung 20 unit atau lebih asam amino). Contoh : lunasin mempunyai aktifitas anti-kanker, mengandung 43 unit asam amino dengan berat molekul sebesar 5400 Da ( Meisel, 2003).

### 2.3.2 Polifenol

Fenol, polifenol, indol dan isosianat berfungsi sebagai zat antikanker yang dapat menstimulasi terjadinya perombakan racun tubuh dan menghilangkan zat kimia penyebab kanker. Polifenol mengandung sulfur yang disebut yang disebut

glukosionat (I-3C). Zat inilah yang berfungsi sebagai antioksidan dan menstimulasi pembuangan zat-zat yang bersifat racun dari dalam tubuh (detoksifikan). I-3C juga berperan dalam menjaga keseimbangan estrogen, termasuk mencegah penyakit yang berhubungan dengan kewanitaan, seperti kanker mulut rahim dan kanker payudara (Wirakusumah, 2008).

### 2.3.3 Alkaloid

Alkaloid mencakup senyawa bersifat basa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen, biasanya dalam gabungan sebagai bagian dari sistem siklik. Alkaloid sering kali beracun bagi manusia dan banyak mempunyai kegiatan fisiologis yang menonjol, jadi digunakan secara luas dalam bidang pengobatan (Harborne, 1997). Golongan alkaloid tanaman dapat menyebabkan gangguan pada membran sel sehingga berakibat komponen penyusun membran akan berubah dan proses fisiologi membran akan terganggu dengan terjadi kerusakan dan pengkerutan pada membran tersebut (Gill *et al.*, 2001).

Menurut Adyana (2006) pemberian fraksi alkaloid pada dosis 100 ppm dan 1000 ppm berpengaruh pada siklus sel dengan menghambat pembelahan mitosis sel mieloma pada stadium metafase. Chabner *et al.* (2001) menyatakan bahwa Alkaloid yang berasal dari tanaman vinka bekerja spesifik pada siklus sel dengan menghambat proses mitosis. Alkaloid dari tanaman juga mempunyai kemampuan mengikat tubulin yaitu suatu protein yang menyusun mikrotubulus dengan menghambat atau memblokir polimerisasi protein ke dalam mikrotubulus. Kelompok alkaloid leunca mempunyai efek antikanker. Efek antikanker digunakan pada cervical carcinoma - 14, sarcome - 160, dan Ehrlich ascitic tipe parenchymal (Mangan, 2003).

### 2.3.4 Flavonoid

Flavonoid dan alfatokoferol bersifat multifungsi. Senyawa ini bukan hanya berperan sebagai antioksidan untuk penangkalan radikal bebas (Kemopreventiv). Namun keduanya berfungsi sebagai kemoterapi alias antikanker. Alfatokoferol salah satu dari 8 bentuk vitamin E, merupakan antioksidan larut lemak terkuat. Semula alfatokoferol hanya dikenal berfungsi sebagai penangkal lipida peroksid, khususnya OXDL (oxidized low-density lipoprotein) sehingga sangat baik untuk pencegahan arteriosclerosis. Fungsi flavonoid sebagai antioksidan kuat banyak diketahui sehingga sangat baik untuk pencegahan kanker. Penelitian-penelitian mutakhir mengungkap fungsi-fungsi lain dari flavonoid, bukan saja mencegah, tetapi juga untuk pengobatan kanker. Banyak mekanisme kerja dari flavonoid yang sudah terungkap, misalnya inaktivasi karsinogen, antiproliferasi, penghambatan siklus sel, induksi apoptosis, diferensiasi, inhibisi angiogenesis, dan pembalikan resistensi multiobat atau kombinasi dari mekanisme-mekanisme itu (Rusdi, 2010).

Wirakusumah (2008) melaporkan bahwa alfatokoferol menghambat karsinogenesis dan kerusakan DNA akibat sinar ultraviolet. Senyawa itu juga menunjukkan efek apoptosis yang kuat terhadap sel kanker manusia dan meningkatkan efikasi senyawa kemoterapi pada hewan model. Beberapa peran kelompok flavonoid pada sel kanker dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Antikanker flavonoid

Kanker	Sel	Jenis flavonoid
Kanker mulut	HSC-2, SCC-25	Flavanon, isoflavon, EGC, chalcones SGCG, kurkumin, genistein, ECG, quercetin, cispatin
Kanker payudara	MCF-7	Flavanon, daidzein, genistein, quercetin, luteolin
Kanker tiroid	ARO, NPA, WRO	Genistein, apigenin, kampferol, chrysin, luteolin, biocharin A
Kanker paru-paru	SK-LU1, SW900, H441, H661, haGo-K-1, A549	Flavon, quercetin
Kanker prostat	LNCaP, PC3, DU145	Catechin, apicatechin, quercetin, kaempferol, luteolin, genistein,



Kanker usus	Caco-2, HT-29, IEC-6, HCT-15	apigenin, myricetin, silymarin Flavon, quercetin, genistein, anthocyanin
Leukimia	HL-60, K562, Jurkat	Apigein, quercetin, myreletin
Melanoma mencit	4A5	calcones
B16		

Sumber : Wirakusumah (2008)

### 2.3.5 Karoten

Karoten adalah senyawa larut lemak yang berfungsi melindungi tanaman dari kerusakan selama proses fotosintesis. Karoten berperan aktif sebagai provitamin yang dapat bertindak sebagai antioksidan yang berkorelasi dengan masa hidup manusia, primata lain, dan mamalia. Betakaroten merupakan jenis karoten yang mempunyai keaktifan tertinggi sebagai provitamin A. Salah satu jenis karoten yaitu lycopene yang terdapat pada tomat, semangka, paprika dan cabai. Zat ini berfungsi sebagai gen antikanker, terutama kanker prostat pada pria dan kanker payudara pada wanita. Lycopene juga membuat sayuran berwarna lebih menarik. Karoten pada tanaman berwarna hijau umumnya ditemui dalam kloroplas yang membentuk komponen protein dan lemak (Wirakusumah, 2008)

Adanya hubungan yang kuat antara asupan karoten dan timbulnya berbagai macam penyakit kanker yang terdapat pada jaringan epitel, diantaranya pada saluran pencernaan, saluran pernafasan, dan saluran reproduksi. Semakin tinggi asupan karoten, semakin rendah pula resiko terkena kanker. Selain sebagai antikanker, karoten juga bertindak sebagai antitumor dan meningkatkan kekebalan tubuh (Silalahi, 2000)

### 2.3.6 Isoflavon, Saponin, dan Monoterpen

Isoflavon berfungsi membuat tulang lebih kuat. Isoflavon dalam bahan pangan berbentuk genistein dan daidzen yang berperan sebagai antikanker. Selain itu juga sebagai fitoestrogen (estrogen alami) yang sangat dibutuhkan oleh wanita menopause Saponin bersifat mengikat dan menurunkan kadar

kolesterol, menstimulasi imunitas, mencegah penyakit jantung koroner dan sebagai antikanker. Saponin banyak terdapat pada asparagus, kacang-kacangan (terutama kacang kedelai), kentang, oat, bayam dan tomat. Monoterpen berfungsi sebagai pencegah kanker. Buah-buahan yang mengandung monoterpen antara lain adalah jeruk (Wirakusumah, 2008)

Saponin adalah suatu glikosida alamiah yang terikat dengan steroid atau triterpena. Saponin mempunyai aktifitas farmakologi yang cukup luas diantaranya meliputi: immunomodulator, antitumor, anti inflamasi, antivirus, anti jamur, dapat membunuh kerang-kerangan, hipoglikemik, dan efek hipokolesterol. Saponin juga mempunyai sifat bermacam-macam, misalnya: terasa manis, ada yang pahit, dapat berbentuk buih, dapat menstabilkan emulsi, dapat menyebabkan hemolisis. Dalam pemakaiannya saponin bisa dipakai untuk banyak keperluan, misalnya dipakai untuk membuat minuman beralkohol, dalam industri pakaian, kosmetik, membuat obat-obatan, dan dipakai sebagai obat tradisional (Dalimartha, 1999).

#### **2. 4. Mekanisme Aksi Fitokimia Antikanker**

Para ahli berusaha menyembuhkan pasien kanker dengan berbagai cara yang didasari oleh mekanisme-mekanisme penyembuhan kanker yang telah diketahui. Secara umum mekanisme terapi kanker dapat dilakukan melalui mekanisme-mekanisme di bawah ini yaitu 1). Penghambatan proliferasi sel kanker dengan merangsang fagositosis makrofag dan meningkatkan kemampuan aktivitas *natural killer cell* (NKC), 2). Mengaktifkan apoptosis sel kanker dengan meningkatkan produksi, interferon, interleukin-2, immunoglobulin, dan komplemennya pada serum darah, 3). Mengaktifkan nekrosis pada sel tumor, menghambat translokasi serta penyebaran sel tumor dengan cara menghambat sumber darah pada jaringan yang terinfeksi tumor, 4).

Meningkatkan jumlah leukosit dan platelet dengan merangsang fungsi hemopoietik, 5). Meningkatkan transformasi balik dari sel tumor ke sel normal, 6). Meningkatkan metabolisme dan mencegah karsinogenesis pada sel normal, dan 7). Merangsang selera makan dan memperbaiki kualitas tidur, mengurangi rasa sakit dan nyeri serta beberapa mekanisme yang menunjang kesehatan pasien (Valko *et al.*, 2004)

Terapi dengan menggunakan bahan-bahan aktif yang terdapat dalam tumbuh-tumbuhan yang sejak lama telah diketahui mampu menghambat perkembangan sel kanker dan bahkan sampai saat ini masih banyak dilakukan. Tetapi hampir selama dua dasawarsa terakhir masih belum jelas bagaimana mekanisme bahan-bahan aktif tersebut dalam menghambat pertumbuhan sel kanker. Komponen fitokimia tumbuhan telah banyak dieksplorasi untuk mencegah dan mengobati penyakit kanker. Berbagai tanaman herbal seperti jahe dengan kandungan bioaktif gingerol dan teh hijau dengan kandungan bioaktif katekin mungkin menjadi salah satu contoh nyata bagaimana kandungan bioaktif yang terdapat dalam sel tumbuhan dapat dieksplorasi menjadi obat kanker.

Fitokimia atau metabolit sekunder tumbuh tumbuhan yang disintesis melalui jalur isoprenoid, asam sinamat dan asam sikimat masih belum dieksplorasi secara maksimal untuk keperluan obat-obatan manusia termasuk didalamnya adalah fitokimia tumbuhan bakau. Padahal hasil metabolit dari ketiga jalur tersebut mempunyai aktivitas antikanker melalui berbagai mekanisme penghambatan sel kanker. Berikut ini adalah mekanisme-mekanisme aksi dari metabolit sekunder asal tanaman

#### a. *Aktivitas antioksidan*

Radikal bebas dan ROS adalah dua molekul yang sangat reaktif, oleh karena itu mempunyai aktivitas toksik terhadap sel. ROS mempunyai karakter

dasar elektrofilik. ROS akan menyerang pusat nukleofilik sel dan akan menyebabkan peroksidasi serta oksidasi lemak dan yang paling berbahaya adalah perubahan dan kerusakan gen (Halliwell, 1997).

Proses detoksifikasi ROS melibatkan produksi enzim superoksida dismutase (SOD), katalase (CAT), glutathion peroksidase (GP), dan glutathion reduktase (GR). Sistem pertahanan tersebut juga melibatkan komponen senyawa antioksidan seperti albumin dan antioksidan dengan berat molekul rendah glutathion (GSH). Beberapa antioksidan lain dapat ditemukan dari berbagai buah dan sayuran serta tumbuhan lain seperti bakau (Valko *et al.*, 2004). Kandungan utama antioksidan pada tumbuhan dan buah tersebut adalah polifenol, polifenol dengan gugus hidroksilnya akan berikatan pada cincin aromatik membentuk lingkungan yang mempunyai muatan elektron tinggi yang akan memerangkap ROS dan mencegahnya bereaksi dengan DNA dan protein.

#### *b. Modulasi jalur sinyal protein kinase dan lipid kinase*

Bioaktif tumbuhan/fitokimia mampu memicu antagonisme terhadap kanker melalui penghambatan aktivitas enzim siklooksigenase (COX-2). COX-2 merupakan enzim yang berperan secara dominan pada konversi asam arakidonat (AA) ke prostaglandin (PGs). Produksi COX-2 yang berlebihan akan menghambat apoptosis dan mempercepat terjadinya metastasis kanker tertentu. Eksplorasi bioaktif dengan menargetkan produksi COX-2 sepertinya pilihan yang menjanjikan sebagai dasar dari pencarian komponen obat kanker. Fitokimia tumbuhan dan buah akhirnya difungsikan sebagai COX-2 inhibitor. Semakin banyak COX-2 yang dihentikan atau dikurangi aktivitasnya maka semakin kecil kemungkinan kita untuk mendapatkan penyakit kanker (Tsuji *et al.*, 1997).

#### *c. Efek fitoestrogen*

Ketidakseimbangan hormonal dalam tubuh akan menimbulkan dan memicu pengaktifan sel secara tidak terkontrol. Mengembalikan keseimbangan hormonal merupakan pilihan yang memungkinkan untuk mencegah keaktifan dan keganasan sel. Penyeimbangan hormon estrogen dengan hormon androgen yang dapat dilakukan oleh komponen fitokimia tumbuhan adalah dengan menghambat produksi hormon estrogen yang terlanjur dalam keadaan berlebih. Fitoestrogen seperti ganistein dan daidzein yang terdapat dalam kedelai dapat menghambat kemunculan kanker payudara melalui penghambatan reseptor positif estrogen (ER+) (Hwang *et al.*, 2009) dengan demikian dapat dikatakan bahwa pembentukan kanker atau tumor yang disebabkan oleh ketidakseimbangan hormonal dapat dicegah melalui konsumsi fitoestrogen dalam jumlah yang tepat.

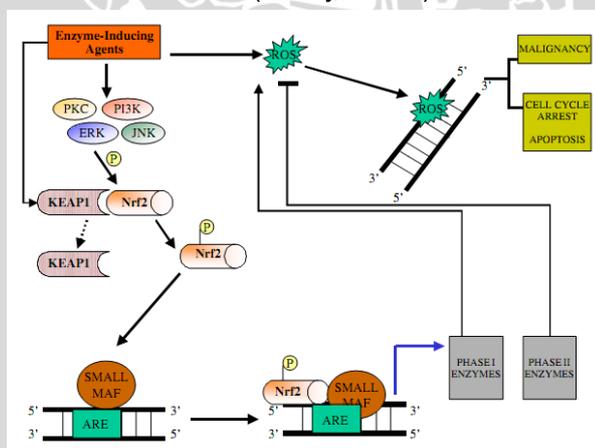
*d. Efek pada faktor transkripsi inti-KB (NF-KB).*

NF-KB terlibat dalam keseimbangan pemeliharaan terhadap respon stres yang berkaitan dengan antara proliferasi dan apoptosis. Contoh bioaktif yang mempunyai mekanisme ini adalah sulforaphane (SNF). Bioaktif ini mampu menghambat proliferasi kanker melalui penekanan kerja tumor nekrosis faktor (TNF- $\alpha$ ) yang akhirnya memicu pengaktifan NF-KB. Mekanisme ini berlaku untuk berbagai sel kanker seperti kanker darah/leukimia, kanker prostat, kanker payudara dan kanker hati (Moon, 2009).

*e. Efek Induksi metabolisme enzim fase I atau Fase II*

Setiap bahan atau senyawa asing (*xenobiotic*) yang masuk ke dalam tubuh. Manusia akan merespon dengan melakukan detoksifikasi. Konsep detoksifikasi senyawa asing ini adalah dengan mempermudah pengeluaran zat asing tersebut atau dengan merubahnya menjadi senyawa baru yang tidak terlalu toksik bagi tubuh. Proses detoksifikasi *xenobiotic*, melibatkan dua tahapan penting yaitu metabolisme fase I dan metabolisme fase II (Hardman *et al.*, 2001).

Proses metabolisme ini terjadi dalam organ hati. Metabolisme fase I adalah metabolisme yang melibatkan serangkaian proses modifikasi struktur zat asing yang umumnya menghasilkan zat yang berkurang ketoksikannya. Fase ini melibatkan proses hidrolisis, oksidasi, reduksi, dan penghilangan gugus amina. Metabolisme fase I dilakukan oleh sistem enzim sitokrom P450 (Cyt-P450). Sedangkan metabolisme fase II, meliputi proses glukoronidasi, sulfasi, asetilasi dan metilasi. Proses penambahan gugus-gugus ini bertujuan untuk meningkatkan polaritas senyawa sehingga mudah dibuang keluar tubuh melalui urin dan keringat. Banyak senyawa fitokimia yang menghambat perkembangan sel kanker melalui mekanisme ini. Pemahaman tentang induksi metabolisme enzim fase I dan fase II ini dapat dijelaskan lebih detail melalui mekanisme induksi *Antioxidant Response Element* (ARE) atau disebut juga *Electrophile Response Element* (EpRE) (Gambar 5). Elemen ini merupakan sekuen DNA pendek yang ditemukan pada daerah promotor beberapa gen termasuk gen yang mengkode enzim di fase I dan fase II (Finley, 2003).



Gambar 5. Pengaktifan enzim fase I dan fase II (dengan mengacu agen penginduksi enzim isotiosianat) (Issa *et al.*, 2006).

Beberapa antioksidan dan elektrofil mengaktifkan penempelan faktor transkripsi pada ARE. yang akhirnya megaktifasi penonaktifan transkripsi gene tersebut. Zat penginduksi enzim seperti isotiosianat mengaktifkan sinyal protein



p38, protein kinase-C (PKC), sinyal ekstraseluler yang mengatur proteinkinase (ERK), c-jun N-terminal kinase (JNK) dan phosphoinositide-3- kinase (PI3K). Semua sinyal protein ini akan merangsang pengeluaran protein seluler yang bernama "nuclear factor erythroid2 p45-related factor (Nrf2 dan Nrf1) dari ikatan protein KEAP1 (Kelch-like ECH-Associating Protein 1). Pelepasan ini di fasilitasi oleh mekanisme fosforilasi Nrf2. Alternatifnya isotiosianat berinteraksi secara langsung dengan KEAP1 dan mengganggu interaksi Nrf2.

Ditemukan juga senyawa fitokimia seperti curcumin yang mempunyai kemampuan yang sama dalam mentidakstabilkan Nrf2 dan KEAP1. Nrf2 bebas, kemudian berpindah lokasi pelekatan ke inti dengan cara menempel ke ARE yang berasosiasi dengan Maf kecil (musculo-aponeurotic fibrosarcoma-avian) protein. Proses ini akhirnya akan memicu peningkatan transkripsi gen daerah ARE. Contoh gen yang mempunyai daerah sekuen ARE pada promotornya adalah GSH transferase, aldo ketoreduktase, dan UDP glucose dehidrogenase (Finley, 2003).

Induksi enzim detoksifikasi fase II oleh isotiosianat dan kemungkinan beberapa bioaktif fitokimia lain, sangat penting peranannya dalam pencegahan penyakit kanker. Isotiosianat terbukti mampu memicu ekspresi CYP1A2, 2B1 dan 2B2 sehingga menjadikan isotiosianat mempunyai mekanisme ganda yang mampu menginduksi enzim fase I dan fase II (Paolini *et al.*, 2004). Mekanisme unik dari zat ini tentu sangat menjanjikan untuk terapi kanker. Oleh karena itu efek antikanker dari zat ini masih dalam kajian yang mendalam untuk mengetahui mekanisme penghambatan senyawa fitokimia ini secara detail sehingga senyawa ini dapat dieksplorasi secara maksimal untuk terapi antikanker.

#### f. *Induksi penghambatan siklus sel*

Perangsangan penghambatan siklus sel untuk mencegah kanker diketahui merupakan mekanisme komponen fitokimia epigallocatechin gallate (EGCG)

yang diisolasi dari teh hijau dan teh hitam (Kuo dan Linn 2003, Thangapazam *et al.*, 2007). Fitokimia ini menghambat dan mengganggu siklus G1, S, S-G2 dan G2 dengan cara menekan ekspresi cyclins dan cyclins-dependent kinase (CDKs). Penghambatan siklus sel akan memicu terjadinya apoptosis pada beberapa sel kanker seperti sel kanker payudara MDA-MB-231 (Thangapazam *et al.*, 2007), kanker usus HT-29 (Liang *et al.*, 2003) dan sel kanker darah/leukemia HL-60 (Madlener *et al.*, 2007).

*g. Penghambatan matrik metalloproteinase (MMP)s*

Sejumlah MMPs (MPP-2 dan MPP-9) terlibat dalam berbagai proses biologi. Seperti penyusunan jaringan, respon inflamasi dan termasuk juga ontogenesis. Fakta tersebut menjadikan MMPs memegang peranan penting dalam proses-proses pertumbuhan dan siklus sel kanker. Seperti angiogenesis, invasi dan metastasis (Roudhoug 2003, Mook *et al.*, 2004). Induksi apoptosis dan anti invasi sel kanker telah banyak ditemukan pada zat-zat fitokimia.

Sebagai contoh adalah bahan aktif teh hijau EGCG, senyawa ini mampu menghambat invasi sel kanker payudara MDA-MB-231 melalui penghambatan ekspresi MPP-9. Mekanisme yang sama ditemukan pada zat proantosianain yang ditemukan pada buah kakao. Senyawa ini mampu menghambat pertumbuhan kanker

## **2.5 Antikanker *Sargassum***

Alga coklat ini adalah anggota Pheophyta, alga khas daerah tropik, mengandung pigmen klorofil a dan c, alfa dan beta karoten, alginat dan lain-lain. Alginat diduga dapat menurunkan kadar gula darah, kolesterol dan dapat mengabsorpsi logam berat dalam tubuh, atau dapat menyembuhkan penyakit degeneratif organ-organ tubuh, misalnya hepar, ren, dan cerebellum. Alga coklat dapat tumbuh subur disebagian besar pantai perairan laut Indonesia.

*Sargassum*, terutama *S. duplicatum* mengandung protein 2,97%, lemak 0,26%, zat anti tumor, algin, mineral (Ca, K, Na, Cu, Zn, Mg, I, S,P, dan Fenol). Alga ini juga mengandung zat anti bakteri dan anti virus. Kandungan nutrisi dan potensi zat-zat yang terdapat dalam alga laut, khususnya *Sargassum* belum banyak diteliti (Mulyo, 2009).

Menurut Atmadja (1988) produk alam makroalga yang telah teruji aktivitas antikankernya yaitu polisakarida alga antara lain : polisakarida sulfat, sodium alginat fraksi G dan fraksi M, karagenan iota, karagenan kappa, karagenan, lambda dan porphyran

Rumput laut tidak mengandung lemak yang bermakna, tetapi kaya selenium yang bersifat antioksidan. Ini artinya rumput laut mampu membantu tubuh mencegah penyerapan zat kimia beracun, termasuk sampah radioaktif dan polusi (Kusmanto, 2011).

Li (1995) menyatakan bahwa fukoidan adalah polisakarida kompleks pada dinding sel rumput laut. Berbagai penelitian modern membuktikan, fukoidan yang merupakan komponen terbesar di dalam tumbuhan laut mampu meningkatkan imunitas dengan merangsang produksi sel-sel imun, dan membantu melawan virus dan bakteri, melawan alergi dan menghambat penggumpalan darah, sehingga memperkecil risiko stroke dan serangan jantung (Kusmanto, 2011).

Menurut Shoeib *et al.*, (2004) telah ditemukan senyawa dari ekstrak alga yang memiliki aktivitas anti-tumor, yaitu senyawa lanosol dan derivatnya, senyawa tersebut termasuk golongan fenol terhalogenasi, fukosantin dengan kadar tinggi, fukoidan, alginat dan iodine dengan kadar rendah (Montano *et al.*, 2011). Mekanisme kerja senyawa tersebut terhadap sel HeLa belum diketahui. Hasil uji farmakologi senyawa anti-tumor dari ekstrak alga yang telah diketahui mekanisme kerjanya antara lain : Curacin D, dehydrothysiferol, spirulan,

stypodiol, dan tolyporphin, sedangkan yang belum diketahui mekanisme kerjanya adalah cryptoxanthin. (Meyer, 1999).



### 3. MATERI DAN METODE PENELITIAN

#### 3.1. Alat dan Bahan Penelitian

##### 3.1.1 Alat Penelitian

Proses ekstraksi menggunakan alat antara lain *Oven*, *Evaporator*, *Timbangan*, *Rotary evaporator*, *Gelas erlenmeyer*, *Selang water pump*, *Corong gelas*, *Water pump*, *Kertas saring*, *Water bath*, *Labu evaporator*, *Vacum pump*. Sub kultur sel HeLa menggunakan alat antara lain *Laminar air-flow*, *Falcon*, *inkubator* dan *tabung gas CO<sub>2</sub>*, *Syringe*, *Inverted microscope*, *Filter 0,2 μm*, *Sumuran*, *Spiritus*, *Cover glass* yang dipatahkan, *Alkohol*, *Sentrifuge*, *Tissue*, *Disposable pippete*. Proses pengecatan menggunakan alat antara lain *Pippete*, *Cover glass*, *Microscope*, *Elisa reader*. Uji fitokimia menggunakan alat antara lain *Tabung reaksi*, *Pipet volume*, *Pipet tetes*, *Beaker glass* dan *Rak tabung reaksi*

##### 3.1.2 Bahan Penelitian

Proses ekstraksi menggunakan bahan antara lain *S. aquifolium*, *Etanol*, *Etil Asetat*, dan *N-Heksan*. Sub kultur Sel HeLa menggunakan bahan antara lain *Sel HeLa* dari *Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI Cibinong*, *RPMI 1640 (1- Glutamine)*, *Penicillin-Streptomycin*, *FBS (Fetal Bovine Serum)*, *PBS (Phosphate Buffer Saline)*, *NaHCO<sub>3</sub>*, *Penicillin*, *Streptomycin*, *DMSO*, *MC (Medium complete)*, *Deionized Water*, dan *Trypsine-EDTA*. Pengujian fitokimia menggunakan bahan antara lain *ekstrak kasar*, *serbuk magnesium*, *HCl 2N*, *FeCl<sub>3</sub> 1%*, *NH<sub>3</sub>*, *Aquades*, *H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>*, *Kloroform*, *Amil Alkohol*, *Alkohol Klorhidrat*, *Pereaksi Meyer*, *Wagner dan Dragendorf*

### 3.2 Metode Pengumpulan Data

Penelitian ini adalah penelitian kuantitatif secara eksperimental murni menggunakan desain *true experimental in vitro, post-test only, control group design* untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak *S. aquifolium* terhadap sitotoksis sel HeLa.

### 3.3 Metodologi Penelitian

#### 3.3.1 Variabel Penelitian

- a. Variabel independen : Ekstrak *S. aquifolium*
- b. Variabel dependen : Sitotoksis sel HeLa.

#### 3.3.2 Definisi Operasional Variabel

1. Proses ekstraksi bertujuan untuk memperoleh ekstrak *S. aquifolium*. proses ekstraksi menggunakan 3 pelarut yang berbeda yaitu etanol, etil asetat dan n-heksan.
2. Kematian sel dalam hal ini adalah penurunan viabilitas sel. Viabilitas sel adalah kemampuan sel bertahan hidup. Pengamatan kematian sel ini menggunakan metode *MTT Assay*. Prinsip dari metode ini adalah mengetahui kerusakan sel secara mikroskopik yang dikombinasikan dengan penghitungan jumlah sel. Sel yang hidup akan tampak berwarna biru dengan nukleus tercat lebih gelap, sedangkan sel yang mati tidak akan tercat.

### 3.4 Pelaksanaan dan Pengamatan

#### 3.4.1 Ekstraksi *S. aquifolium*

##### 1. Proses pengeringan

Proses awal pengeringan yaitu dengan mencuci bersih *S. aquifolium* dengan air bersih kemudian potong kecil-kecil dan oven dengan suhu 80°C atau dengan panas matahari sampai kering.

##### 2. Proses ekstraksi

Proses awal ekstraksi yaitu penghalusan sampel *S. aquifolium* menggunakan blender dan setelah itu timbang sebanyak 200 gram (sampel kering). Masukkan masing-masing 200 gram sampel kering ke dalam 3 gelas erlenmeyer ukuran 1 liter, kemudian rendam dengan pelarut (masing-masing dengan etanol, asetat dan n-heksana) sampai volume 600 mL. Rendaman tadi kemudian kocok sampai benar-benar tercampur selama  $\pm$  30 menit dan diamkan selama 1 malam sampai mengendap.

##### 3. Proses evaporasi

Proses berikutnya yaitu mengambil lapisan atas hasil dari ekstraksi dan memasukkannya dalam labu evaporasi 1 liter. Pasang labu evaporasi pada evaporator dan isi water bath dengan air sampai penuh. pastikan semua rangkaian alat terpasang, *rotary evaporator*, pemanas *water bath* (atur sampai suhu 90 °C), sambungkan dengan aliran listrik dan biarkan larutan pelarut memisah dengan zat aktif yang sudah dalam labu. Tunggu sampai aliran etanol berhenti menetes pada labu penampung ( $\pm$  1,5 sampai 2 jam untuk 1 labu). Hasil yang diperoleh kira-kira  $\frac{1}{3}$  dari bahan alam kering kemudian masukkan hasil ekstraksi dalam botol kaca dan simpan dalam *freezer* atau tempat yang terhindar dari sinar matahari langsung

### 3.4.2 Kultur Sel HeLa

Sentrifuge 1500 rpm Trypsin-EDTA selama delapan menit dan supernatannya dibuang kemudian panen sel HeLa dengan Trypsin-EDTA. Resuspensi pellet dengan medium kultur dan tanam kultur pada sumuran dengan proses inkubasi pada suhu 37°C, udara 95%, CO<sub>2</sub> 5%, dan kelembaban 100%. Proses pemanenan sel HeLa dilakukan jika sel telah 80% konfluen (meratanya sel sebagai sel monolayer sampai menutupi *tissue disk*). Sel. Tiap kelompok uji diisi 100 µL kultur sel HeLa dengan kepadatan 3 x 10<sup>4</sup> tiap sumuran.

### 3.4.3 Perlakuan dan Kontrol

- Satu sumuran berisi kultur sel HeLa tanpa paparan ekstrak *S. aquifolium* sebagai kontrol negatif.
- Enam sumuran berisi kultur sel HeLa dengan paparan Doxorubicyn (obat anti kanker) sebagai kontrol positif sebesar 15 µg/mL
- Enam sumuran yang berisi sel HeLa dengan paparan ekstrak etanol *S.aquifolium* sebesar 125 µg/mL
- Enam sumuran yang berisi sel HeLa dengan paparan ekstrak n-heksan *S. aquifolium* sebesar 125 µg/mL
- Enam sumuran yang berisi sel HeLa dengan paparan ekstrak etil asetat *S. aquifolium* sebesar 125 µg/mL

### 3.4.4 Viabilitas Sel

Penelitian ini menggunakan pereaksi 3-(4,5-dimetilthiazolil-2)-2,5-difenil tetrazolium bromida (MTT). Menurut metode Zachary (2003), Senyawa MTT yang berwarna kuning dan larut air, di dalam sel hidup akan terpecah oleh enzim membentuk formazan berwarna biru yang tidak larut air, selanjutnya larutkan dalam pelarut organik, dan dapat terdeteksi secara spektrofotometri. Hasil

absorbansi berbanding lurus dengan konsentrasi larutan biru formazan yang menggambarkan aktivitas metabolisme sel (Torres *et al.*, 2003; Wikanta *et al.*, 2005)

Uji toksisitas MMT untuk menentukan konsentrasi yang digunakan dalam perlakuan. Proses awal uji MTT yaitu memasukkan Sebanyak 100  $\mu$ L medium RPMI 1640 yang mengandung suspensi sel dengan kerapatan  $2 \times 10^4$  sel/mL ke dalam 96 sumuran mikrokultur, proses ini menggunakan 6 sumuran untuk kontrol positif doksorubisin dengan konsentrasi 15  $\mu$ g/ mL, kontrol media + sel dan kontrol media RPMI 1640, dan 90 sumuran sisanya dengan pemberian ekstrak etanol *S. aquifolium*, ekstrak etil asetat *S. aquifolium* dan ekstrak n-heksan *S. aquifolium* dengan konsentrasi 125  $\mu$ g/ mL. Proses selanjutnya pengukuran kadar absorbansi dan penghitungan persentase kematian sel menggunakan rumus:

$$\% \text{ Sel hidup} = \frac{\text{OD Perlakuan} - \text{OD Medium}}{\text{OD Kontrol} - \text{OD Medium}} \times 100$$

### 3.4.5 Analisis Fitokimia

Pengujian fitokimia bertujuan untuk mengetahui senyawa bioaktif yang berfungsi sebagai antioksidan yang terdapat pada sampel yang digunakan yaitu alga coklat *Sargassum aquifolium*. Uji fitokimia yang dilakukan yaitu uji alkaloid, flavonoid, triterpenoid, steroid, tannin, dan saponin. Metode uji yang dilakukan yaitu sebagai berikut:

#### 1. Uji Alkaloid

Ekstrak etanol, etil asetat dan n-heksan *S. aquifolium* segar berukuran kecil sebanyak 2 g dtambahkan kloroform secukupnya, selanjutnya tambahkan 5 mL amoniak dan 5 mL klorofom. saring larutan ke dalam tabung reaksi dan filtrat degan penambahan 5 tetes  $\text{H}_2\text{SO}_4$  2N. kocok campuran secara teratur dan

biarkan beberapa menit sampai terbentuk 2 lapisan. Lapisan atas dipindahkan pada 3 tabung reaksi masing-masing sebanyak 1 mL. Kemudian pada masing-masing tabung reaksi tersebut ditambahkan beberapa tetes pereaksi Meyer, Wagner dan Dragendorff. Apabila terbentuk endapan menunjukkan sampel tersebut mengandung alkaloid, dengan pereaksi Meyer memberikan endapan putih, dengan pereaksi Wagner memberikan endapan berwarna coklat dan pereaksi dragendorff memberikan endapan berwarna jingga seperti pada Lampiran 9a. (Marlinda *et al.*, 2012)

## 2. Uji Flavonoid

Ekstrak etanol, etil asetat dan n-heksan *S. aquifolium* sebanyak 0,5 gram ditambahkan serbuk magnesium (0,5 g), 1 mL alkohol klorhidrat (campuran HCl 37% dan etanol 96% dengan volume sama), dan amil alkohol, kemudian dikocok kuat-kuat. Terbentuknya warna merah, kuning dan jingga pada lapisan amil alkohol menunjukkan adanya golongan flavonoid (Rahayu, 2006).

## 3. Tanin

Ekstrak n-heksan *S. aquifolium* berukuran kecil sebanyak 20 mg ditambahkan etanol sampai sampel terendam semuanya. Kemudian ditambahkan 2-3 tetes larutan  $\text{FeCl}_3$  1%. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hitam kebiruan atau hijau (Marlinda *et al.*, 2012)

## 4. Saponin

Ekstrak n-heksan *S. aquifolium* berukuran kecil sebanyak 2 g dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan aquades hingga seluruh sampel terendam, didihkan selama 2-3 menit, dan selanjutnya didinginkan, kemudian dikocok kuat-kuat. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya buih yang stabil (Marlinda *et al.*, 2012).

## 5. Uji Triterpenoid dan Steroid

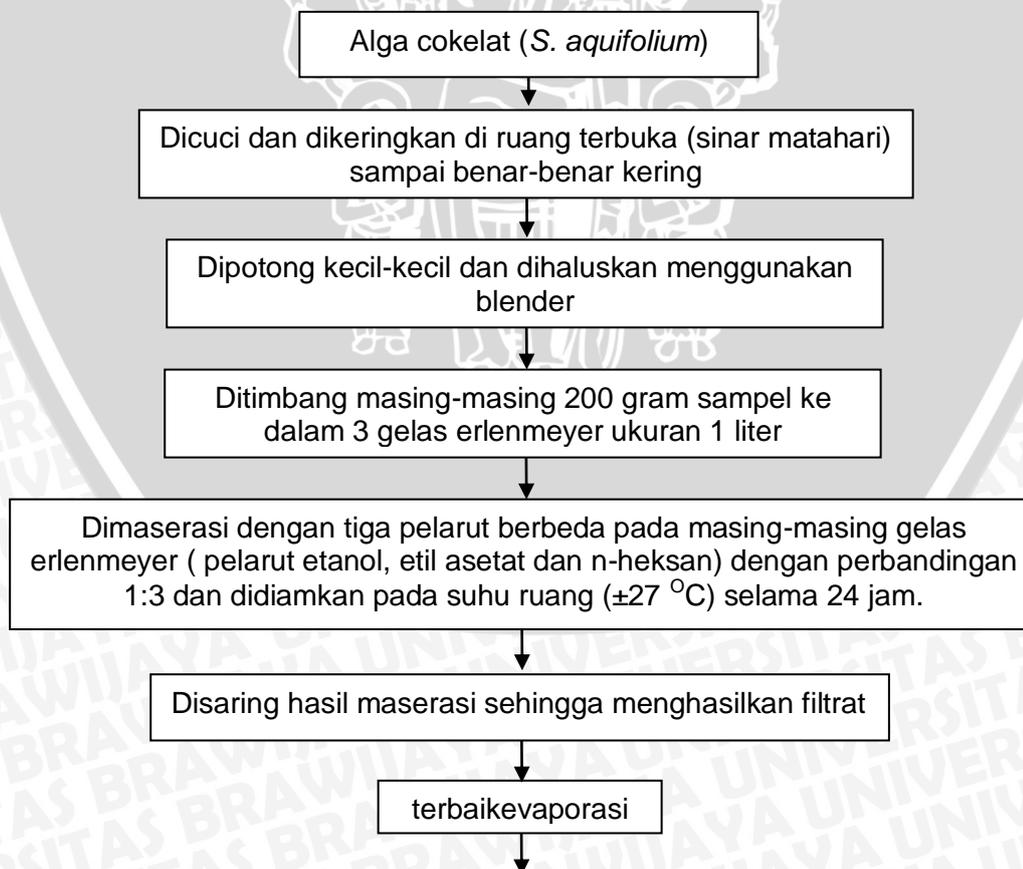
Ekstrak n-heksan *S. aquifolium* yang berukuran kecil sebanyak 50-100 mg ditambahkan asam asetat glasial sampai semua sampel terendam, dibiarkan selama 15 menit kemudian 6 tetes larutan dipindahkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 2-3 tetes asam sulfat pekat. Adanya triterpenoid ditunjukkan dengan terjadinya warna merah, jingga atau ungu, sedangkan steroid ditunjukkan dengan terbentuknya warna biru (Marlinda *et al.*, 2012).

### 3.5 Analisis Data

Data yang didapat dinyatakan sebagai rerata. Data dianalisis dengan menggunakan metode satu arah (One way anova) untuk membedakan perbedaan antar perlakuan. Selang kepercayaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebesar 1 %.

### 3.6 Alur Penelitian

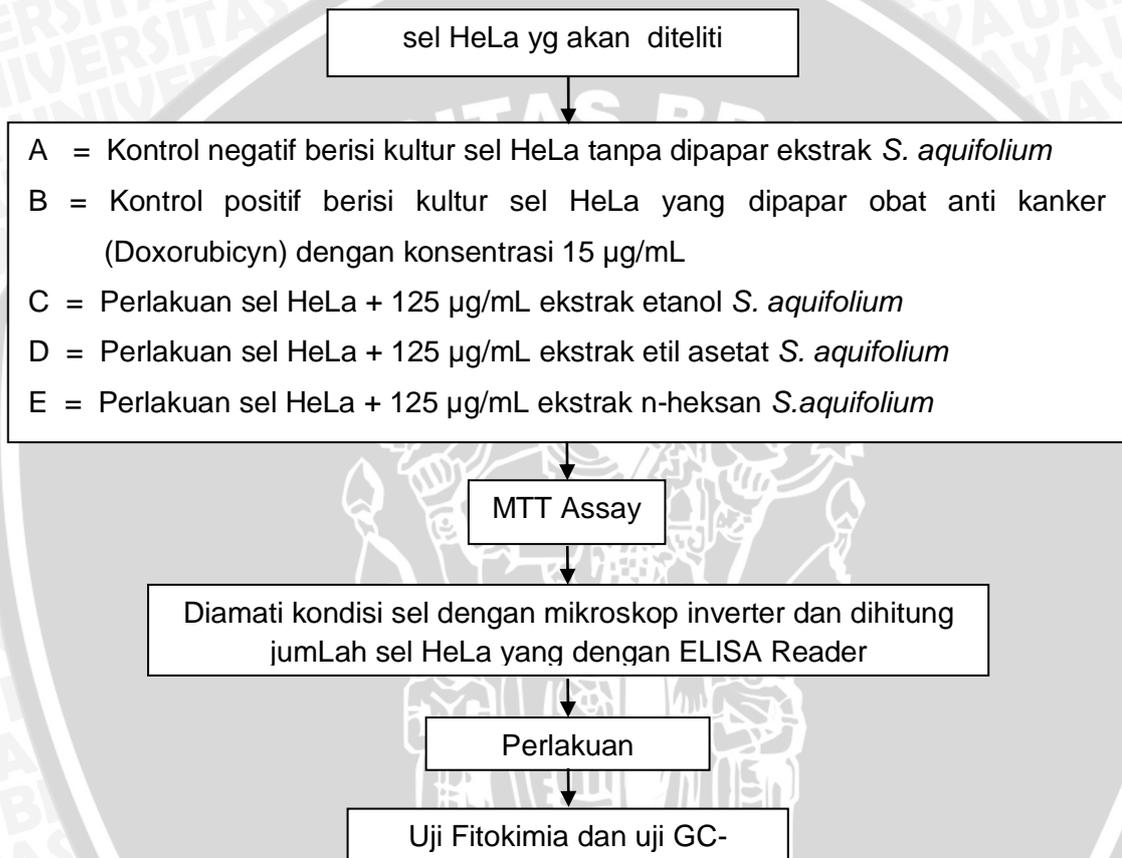
#### 3.6.1 Proses Ekstraksi



MSCrude ekstrak (etanol, etil asetat, dan n-heksan)  
*S.aquifolium*

Gambar 6. Proses ekstraksi

### 3.6.2 Uji Sitotoksik dengan metode MTT



Gambar 7. Pengujian sitotoksik dengan metode MTT

## 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Hasil Penelitian

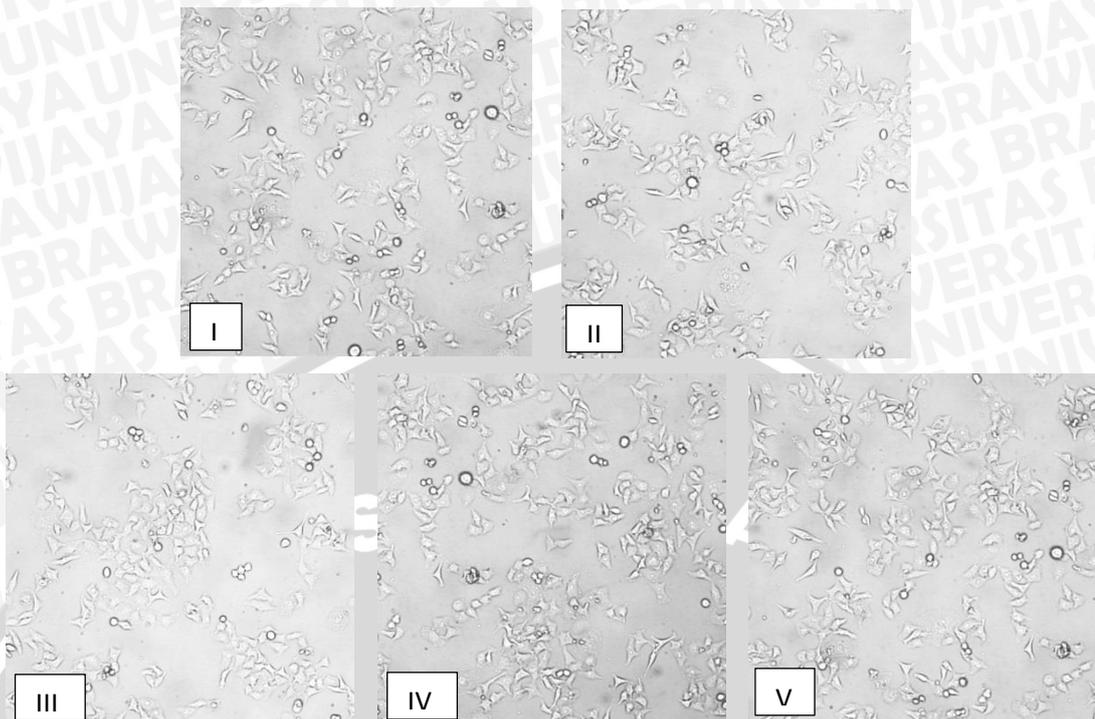
#### 4.1.1 Sel HeLa

Sel line HeLa yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari Puslit Bioteknologi LIPI yang sebelumnya menggunakan sel line Hela dari Laboratorium Farmasi - UGM. Sel hela yang didapat dari Laboratorium Farmasi - UGM tidak bisa digunakan karena membutuhkan waktu kultur relatif lama dan sel line bukan berasal dari kultur sel murni.

Penelitian ini menggunakan dosis kontrol obat antikanker (Doxorubicyn) sebesar 15  $\mu\text{g/mL}$ , dosis yang digunakan berdasarkan penelitian sebelumnya yang menjadi patokan pemberian dosis pada penelitian sitotoksik sel HeLa. Dosis pada perlakuan kontrol pelarut *S. aquifolium* didapatkan dari dosis optimal pada penelitian sebelumnya yaitu sebesar 125  $\mu\text{g/mL}$ .

#### 4.1.2 % Sel Hidup

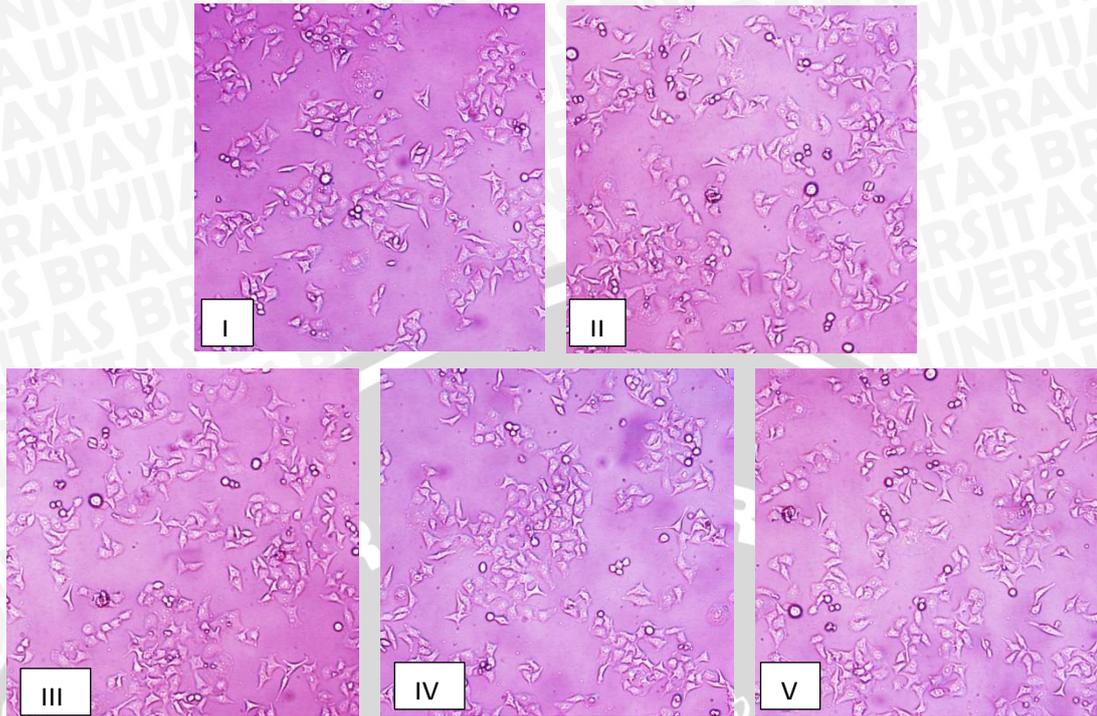
Penelitian ini terdiri dari lima macam perlakuan, yaitu kelompok I adalah sel HeLa tanpa diberi perlakuan ekstrak *S. aquifolium* (kontrol negatif), kelompok II adalah sel HeLa yang dipapar dengan obat anti kanker (Doxorubicyn), kelompok III adalah sel HeLa yang dipapar dengan ekstrak etanol *S. aquifolium*, kelompok IV adalah sel HeLa yang dipapar dengan ekstrak etil asetat *S. aquifolium*, dan kelompok V adalah sel HeLa yang dipapar dengan ekstrak n-heksan *S. aquifolium*. Lima macam perlakuan di papar selama 24 jam dan kemudian diuji viabilitas sel HeLa dengan metode MTT. Hasil paparan obat antikanker doxorubicyn dan ekstrak (etanol, etil asetat, dan n-heksan) *S. aquifolium* dapat dilihat pada gambar 8.



Gambar 8. Sel HeLa hasil paparan Doxorubicyn, ekstrak etanol, etil asetat dan n-heksan *S.aquifolium* dengan pembesaran 400x.

**Keterangan:** Gambar I merupakan kelompok kontrol berisi kultur sel HeLa tanpa dipapar ekstrak *S. aquifolium*, Gambar II adalah perlakuan dengan paparan doxorubicyn dengan konsentrasi 15  $\mu\text{g/mL}$  sebagai kontrol positif. Gambar III, IV dan V adalah perlakuan dengan paparan pelarut yang berbeda dengan konsentrasi yang sama yaitu sebesar 125  $\mu\text{g/mL}$ .

Gambar 8 memperlihatkan lima kelompok perlakuan yang belum diwarnai dengan metode pewarnaan MTT. Gambar I-V secara kasat mata memiliki jumlah sel yang relatif sama karena jumlah sel yang hidup dan mati tampak sama dari segi warna dan kecerahannya. Metode MTT digunakan untuk memberikan perbedaan warna antara sel yang masih hidup dan sel yang telah mengalami sitotoksik. Perbedaan intensitas warna ini diukur dengan alat elisa reader dengan absorbansi pada panjang gelombang 570-600 nm. Hasil pengecatan dengan metode MTT dapat dilihat pada gambar 9

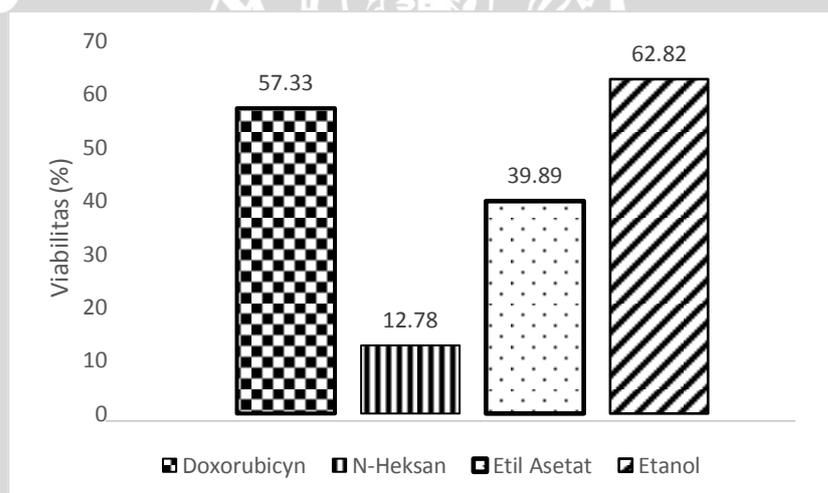


Gambar 9. Sel HeLa hasil paparan Doxorubicyn, ekstrak etanol, etil asetat dan n-heksan *S.aquifolium* dengan metode MTT, pembesaran 400x.

**Keterangan:** Gambar I merupakan kelompok kontrol berisi kultur sel HeLa tanpa dipapar ekstrak *S. aquifolium*, gambar I menunjukkan keseluruhan sel Hela terwarnai oleh MTT, Gambar II adalah perlakuan dengan paparan doxorubicyn dengan konsentrasi 15  $\mu\text{g/mL}$  sebagai kontrol positif. Gambar II menunjukkan sebagian kecil sel Hela yang terwarnai. Gambar III, IV dan V adalah perlakuan dengan paparan pelarut yang berbeda dengan konsentrasi yang sama yaitu sebesar 125  $\mu\text{g/mL}$ . Gambar III adalah perlakuan dengan paparan ekstrak etanol *S. aquifolium*, terlihat jumlah sel yang terwarnai lebih banyak dibandingkan dengan perlakuan paparan pelarut lainnya. Gambar IV adalah perlakuan dengan paparan ekstrak etil asetat *S. aquifolium*, jumlah sel yang terwarnai relatif lebih sedikit dibanding gambar III. Gambar V adalah perlakuan dengan paparan n-heksan *S. aquifolium*, gambar V menunjukkan jumlah sel HeLa yang terwarnai lebih sedikit dibandingkan dengan gambar III, IV dan bahkan gambar II yang merupakan perlakuan kontrol dengan obat kanker.

Gambar 9 memperlihatkan bahwa warna ungu tua adalah jumlah sel HeLa yang masih hidup, hal ini terjadi karena reaksi antara larutan MTT dengan membran sel hidup yang membentuk warna biru formazan. jumlah sel yang mengalami sitotoksik ditunjukkan dengan warna yang lebih cerah. Gambar I adalah kontrol, sedangkan gambar II adalah paparan dengan kontrol doxorubicyn. Gambar V merupakan paparan ekstrak n-heksan *S. aquifolium*

yang menunjukkan tingkat kematian sel (sitotoksik) yang lebih tinggi dibandingkan dengan gambar III dan IV dengan paparan etanol dan etil asetat. Prinsip dasar MTT assay adalah mengukur aktivitas selular berdasarkan aktivitas enzim suksinat dehidrogenase mitokondria sel untuk mereduksi garam metyhtiazol tetrazolium (MTT). Pada proses metabolisme, sel-sel yang hidup akan menghasilkan suksinat dehidrogenase mitokondria. Enzim ini akan bereaksi dengan MTT dan membentuk kristal formazan ungu yang jumlahnya sebanding dengan sel hidup. Jika persentasi viabilitas sel lebih kecil dari 100% maka material yang dipaparkan pada sel tersebut dikatakan bersifat toksik (Burt *et al.*, 1992). Grafik viabilitas sel HeLa dengan perlakuan obat anti kanker dan berbagai ekstrak pelarut *S. aquifolium* dapat di lihat pada gambar 10.



Gambar 10. Viabilitas sel HeLa dengan perlakuan obat anti kanker dan berbagai ekstrak pelarut *S. aquifolium*

Gambar 9 menunjukkan hasil pengukuran dengan menggunakan elisa reader bahwa viabilitas sel HeLa dengan menggunakan ekstrak n-heksan *S. aquifolium* sangat rendah yaitu sebesar 12,78%, nilai ini bahkan jauh lebih rendah dibandingkan perlakuan dengan perlakuan kontrol obat kanker doxorubicyn yaitu sebesar 57,33%, artinya jumlah kematian sel yang dipengaruhi paparan ekstrak n-heksan *S. aquifolium* sangat besar. Viabilitas

ekstrak n-heksan *S. aquifolium* jauh lebih rendah dibandingkan pelarut lain seperti ekstrak etil asetat *S. aquifolium* dan etanol *S. aquifolium* yang masing masing sebesar 39,89% dan 62,82%. Viabilitas sel merupakan pengukuran hidup atau matinya sel. Sitotoksitas yang terjadi pada sel biasanya diindikasikan dengan penurunan proliferasi sel, viabilitas sel, dan sintesis asam nukleat atau protein. Viabilitas sel bersifat segera, seperti perubahan permeabilitas membran atau gangguan pada jalur metabolisme tertentu. Oleh karena itu viabilitas sel dapat menjadi indikator sitotoksitas suatu bahan (Torneck dan Torabinejad, 1997).

Pada proses metabolisme, sel-sel yang hidup akan menghasilkan succinic dehydrogenase mitokondria. Enzim ini akan bereaksi dengan MTT dan membentuk kristal formazan ungu yang jumlahnya sebanding dengan sel hidup, Kristal formazan ungu yang telah dilarutkan diukur dengan spektrofotometer sehingga menghasilkan nilai absorbansi pada panjang gelombang 490 nm. Selanjutnya, viabilitas dinyatakan dengan membandingkan nilai absorbansi kelompok perlakuan dengan perlakuan kontrol (Burt *et al.*, 1992). Perhitungan dan tabel pengamatan aktivitas antikanker *S. aquifolium* dapat dilihat di Lampiran 5.

#### **4.2 Uji Fitokimia Ekstrak N-Heksan *S. aquifolium***

Pengujian komponen bioaktif pada *S. aquifolium* menggunakan metode fitokimia dilakukan untuk mengetahui ada tidaknya komponen bioaktif dalam sampel *S. aquifolium* yang berpotensi sebagai antioksidan. Analisis fitokimia yang dilakukan pada penelitian ini meliputi uji alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, triterpenoid dan steroid. Analisis fitokimia *S. aquifolium* dalam hal ini perlu dilakukan, karena dengan pengujian fitokimia dapat diketahui senyawa bioaktif

yang terdapat pada tanaman tersebut. Senyawa bioaktif yang terdapat pada tanaman tersebut menunjukkan bahwa adanya potensi antioksidan di dalamnya.

Data yang tersaji pada hasil pengamatan aktivitas antikanker ekstrak *S. aquifolium* (Lampiran 5) menunjukkan bahwa perlakuan berpengaruh nyata terhadap efek sitiotoksik. Kandungan fitokimia yang terkandung dalam ekstrak n-heksan *S. aquifolium* diduga memberikan efek sitotoksik terhadap sel HeLa. Hikmah *et al.* (2009) menyatakan bahwa senyawa fitokimia pada dasarnya bekerja dengan dua mekanisme yaitu melalui efek sitotoksik dan melalui efek gangguan terhadap keseimbangan sistem hormonal. Golongan senyawa flavonoid dan alkaloid bekerja dengan menggunakan efek hormonal sedangkan alkaloid, saponin, tanin dan triterpenoid bekerja berdasarkan efek sitotoksik yaitu mengganggu perkembangan sel. Fraksi n-heksana *S. aquifolium* mengandung beberapa golongan senyawa seperti alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin. Hasil pengujian fitokimia *S. aquifolium* dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil uji fitokimia ekstrak n-heksan *S. aquifolium*

No	Uji	Hasil (+/-)	Keterangan
1	Alkaloid:		
	a. Mayer	+	Adanya endapan berwarna putih
	b. Wagner	+	Adanya endapan coklat
	c. Dragendorf	-	Tidak terjadi perubahan
2	Flavonoid	+	Terbentuk warna kuning di lapisan amil
3	Tanin	+	alkohol
4	Saponin	+	Terdapat warna hitam kehijauan
5	Triterpenoid	-	Terdapat busa
6	Steroid	+	Hanya terbentuk warna biru Terbentuk warna biru

**Keterangan :** (+) = mengandung senyawa fitokimia (-) = tidak mengandung senyawa fitokimia

Tabel 3 memperlihatkan bahwa ekstrak n-heksan *S. aquifolium* mengandung 5 senyawa bioaktif. Senyawa bioaktif tersebut antara lain senyawa alkaloid (bernilai positif dengan metode Mayer dan Wagner, sedangkan dengan

metode Dragendorf bernilai negatif), flavonoid, tanin, saponin, steroid dan tidak mengandung triterpenoid.

Tabel 3 memperlihatkan bahwa ekstrak n-heksan *S. aquifolium* mengandung mengandung senyawa alkaloid. Hal tersebut ditunjukkan dengan adanya tanda positif yang ditunjukkan oleh dua dari tiga pereaksi yang digunakan untuk menguji senyawa alkaloid pada sampel, yaitu pereaksi Mayer dan Wagner sedangkan dengan pereaksi Dragendorf menunjukkan hasil yang negatif Hasil positif yang ditunjukkan pada pereaksi Mayer ditunjukkan dengan adanya endapan berwarna putih sedangkan pereaksi Wagner ditunjukkan dengan adanya endapan berwarna coklat (Lampiran 4). Alkaloid yang berpotensi sebagai antikanker yaitu jenis brucamarine dan yatamine, dimana alkaloid jenis ini dapat mengobati kanker saluran pencernaan, kanker payudara, dan kanker leher rahim. Beberapa tumbuhan tertentu mengandung 70 jenis alkaloid, jenis alkaloid yang memiliki peran antikanker adalah vinblastine dan vincristine, jenis alkaloid ini memiliki potensi mengobati leukimia limfostik akut (LLA), leukimia monositik akut (LMA), kanker kelenjar getah bening, dan lainnya (Fowler, 1983).

Tabel 3 memperlihatkan bahwa ekstrak n-heksan *S. aquifolium* mengandung mengandung senyawa flavonoid, karena terbentuk warna kuning pada lapisan amil alkohol (Lampiran 4). Fungsi flavonoid sebagai antioksidan kuat banyak diketahui sehingga sangat baik untuk pencegahan kanker. Beberapa penelitian mengungkap fungsi-fungsi lain dari flavonoid, bukan saja mencegah, tetapi juga untuk pengobatan kanker. Banyak mekanisme kerja dari flavonoid yang sudah terungkap, misalnya inaktivasi karsinogen, antiproliferasi, penghambatan siklus sel, induksi apoptosis, diferensiasi, inhibisi angiogenesis, dan pembalikan resistensi multiobat atau kombinasi dari mekanisme-mekanisme itu (Rusdi, 2010).

Tabel 3 memperlihatkan bahwa ekstrak n-heksan *S. aquifolium* mengandung mengandung senyawa tanin karena terjadi perubahan warna hijau kehitaman setelah sampel ditambah larutan  $\text{FeCl}_3$  1% (Lampiran 4). Tanin merupakan senyawa aktif metabolit sekunder yang diketahui mempunyai beberapa khasiat yaitu sebagai astringen, anti diare, anti bakteri dan antioksidan. Tanin dibagi menjadi dua kelompok yaitu tanin terhidrolisis dan tanin terkondensasi. Tanin memiliki peranan biologis yang kompleks mulai dari pengendap protein hingga pengkhelet logam. Tanin juga dapat berfungsi sebagai antioksidan biologis (Hageman, 2008). Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitas senyawa oksidan tersebut bisa terhambat. Antioksidan menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas, dan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas (Winarsi, 2007)

Tabel 3 memperlihatkan bahwa ekstrak n-heksan *S. aquifolium* mengandung mengandung senyawa saponin. Sampel n-heksan *S. aquifolium* membentuk busa ketika sampel tersebut ditambahkan aquades dan dididihkan selama 2-3 menit yang kemudian dikocok terlihat busa yang stabil (Lampiran 4). Saponin adalah suatu glikosida alamiah yang terikat dengan steroid atau triterpena. Saponin mempunyai aktifitas farmakologi yang cukup luas diantaranya meliputi: immunomodulator, antitumor, anti inflamasi, antivirus, anti jamur, dapat membunuh kerang-kerangan, hipoglikemik, dan efek hipokolesterol. Saponin juga mempunyai sifat bermacam-macam, misalnya: terasa manis, ada yang pahit, dapat berbentuk buih, dapat menstabilkan emulsi, dapat menyebabkan hemolisis (Dalimartha, 2003). Saponin terdiri dari Sapogenin yaitu bagian yang bebas dari Glikosida yang disebut juga Aglycone. Karena Sapogenin yang bersifat lipofilik serta sakarida yang hidrofilik maka Saponin bersifat amfifilik (amphiphilic atau

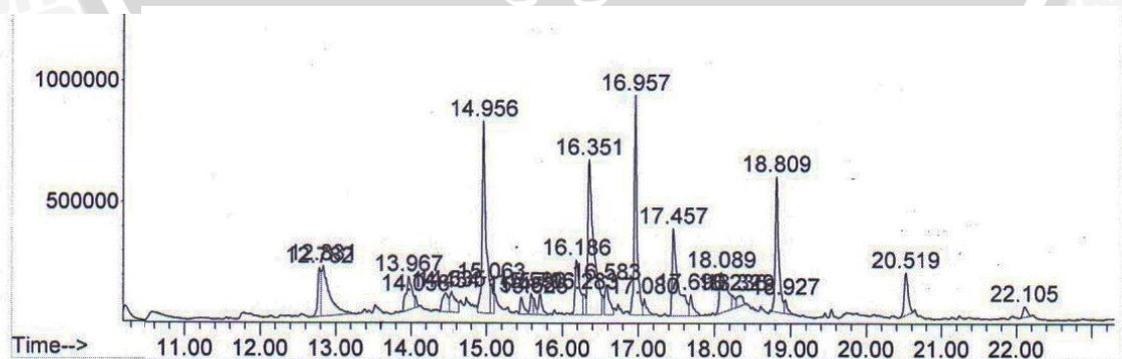
repository.ub.ac.id

surfactant properties). Dengan demikian Saponin dapat membentuk busa dan merusak membran sel karena bisa membentuk ikatan dengan lipida dari membran sel (Gunawan, 2004).

Tabel 3 memperlihatkan bahwa ekstrak n-heksan *S. aquifolium* n-heksan *S. aquifolium* mengandung senyawa steroid karena terbentuk warna biru dan tidak mengandung senyawa triterpenoid karena tidak terbentuk warna jingga atau ungu (Lampiran 4). Uji kandungan triterpenoid dan steroid ini berdasarkan pada adanya senyawa triterpenoid dan steroid yang membentuk warna biru akibat  $H_2SO_4$  yang bercampur dengan pelarut asetat glasialdan. Steroid juga disebut sebagai obat hormonal, Steroid menembus membran plasma dan berikatan dengan reseptor sitoplasma, yang kemudian memasuki nukleus dan berinteraksi dengan kromatin spesifik untuk menginduksi sintesis mRNA khusus. Translasi mRNA ini menyebabkan terbentuknya protein baru yang merubah reaksi fisiologis atau biokimia (Suherman *et al.*, 2007).

#### 4.3 Identitas Estrak N-heksan *S. aquifolium* Berdasarkan Metode GC-MS

Ekstrak n-heksan *S. aquifolium* yang menunjukkan aktifitas sitotoksik paling kuat selanjutnya diidentifikasi bioaktif yang terkandung dengan metode GC-MS. Uji GC-MS dilakukan pada hasil ekstrak terbaik yaitu n-heksan. Hasil identifikasi senyawa bioaktif dapat dilihat pada gambar 10 dan tabel 4



Gambar 11. Spektra ekstrak n-heksan *S. aquifolium*

Tabel 4. Senyawa yang terkandung pada ekstrak n-heksan *S. aquifolium*

Puncak	Senyawa yang diduga
1	1-hexadecene (CAS)
2	1-Nonadecene
3	Hexadecanoic acid
4	Benzenepropanoic acid
5	Arachidonic acid
6	Octacosanol
7	Nonadecyl trifluoroacetate

Tabel 4. memperlihatkan bahwa ekstrak n-heksan *S. aquifolium* mengandung 7 senyawa dominan. Senyawa dominan yang terkandung pada ekstrak n – heksan *S. aquifolium* yaitu 1-hexadecene (CAS), 1-Nonadecene, Hexadecanoic acid, Benzenepropanoic acid, Arachidonic acid, Octacosanol dan Nonadecyl trifluoroacetate yang diduga memiliki potensi sebagai antioksidan dan anti kanker.

Tabel 4. memperlihatkan bahwa ekstrak n-heksan *S. aquifolium* menunjukkan identitas senyawa 1-Hexadecene (CAS), 1-Hexadecene (CAS) merupakan senyawa bioaktif yang terdapat pada jenis alga dan spons yang diduga sebagai senyawa antibakteri. 1-Hexadecene (CAS) dapat menghambat proliferasi sel tumor dan mampu menginduksi apoptosis. Senyawa ini diduga memiliki andil besar dalam proses sitotoksik sel Hela meskipun mekanisme biomolekuler dalam menghambat proliferasi belum diketahui dengan jelas (Syam *et al.*, 2010). Struktur molekul 1-Hexadecene (CAS) dapat dilihat pada gambar

12.



Gambar 12. Struktur molekul 1-Hexadecene

Tabel 4. memperlihatkan bahwa ekstrak n-heksan *S. aquifolium* menunjukkan identitas senyawa 1-nonadecene. Menurut Sukarti (2012), senyawa 1-nonadecene adalah senyawa aktif yang berfungsi menginduksi

apoptosis dan sekaligus menghambat proliferasi kanker kolorektal. Mekanisme biomolekuler senyawa ini dalam menghambat proliferasi yaitu dengan memberi gangguan pada membran sel sehingga berakibat komponen penyusun membran akan berubah dan proses fisiologi membran akan terganggu dengan terjadi kerusakan dan pengkerutan pada membran tersebut (Gill *et al.*, 2001)

Penghambatan siklus sel akan memicu terjadinya apoptosis pada beberapa sel kanker seperti sel kanker payudara MDA-MB-231 (Thangapazam *et al.*, 2007), kanker usus HT-29 (Liang *et al.*, 2003) dan sel kanker darah/leukemia HL-60 (Madlener *et al.*, 2007). Kelimpahan bioaktif *1-nonadecene* pada ekstrak n-heksan *S. aquifolium* relatif besar yaitu sebesar 12,36%, hal ini memberi pengaruh besar terhadap daya toksisitas pada se HeLa. Struktur molekul *1-nonadecene* dapat dilihat pada gambar 13.



Gambar 13. Struktur molekul 1-nonadecene

Tabel 4. memperlihatkan bahwa ekstrak n-heksan *S. aquifolium* menunjukkan identitas senyawa *Hexadecanoid acid*. Silalahi (2002) melaporkan bahwa kemampuan *Hexadecanoid acid* mencegah kanker diduga melalui sifat sebagai antioksidan, penangkap radikal bebas, dan kemampuan menonaktifkan kation polivalen yang dapat memicu proses oksidasi dengan membentuk kelat dengan kation tersebut, ditambahkan dalam Yoo (2007) Komponen *Hexadecanoid acid* dan *9-hexadecenoid*, merupakan kandungan lemak tak jenuh terkonjugasi, yang juga terbukti mampu menginduksi apoptosis melalui aktivitas caspase-3.

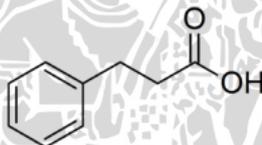
Radikal bebas dan ROS adalah dua molekul yang sangat reaktif, oleh karena itu mempunyai aktivitas toksik terhadap sel. ROS mempunyai karakter dasar elektrofilik. ROS akan menyerang pusat nukleofilik sel dan akan

menyebabkan peroksidasi serta oksidasi lemak dan yang paling berbahaya adalah perubahan dan kerusakan gen (Halliwell, 1997). Struktur molekul *Hexadecanoic acid* dapat dilihat pada gambar 14.



Gambar 14. Struktur molekul Hexadecanoic acid

Tabel 4. memperlihatkan bahwa ekstrak n-heksan *S. aquifolium* menunjukkan identitas senyawa *Benzenepropanoid*. Gorover (2013) menyatakan bahwa *Benzenepropanoid* merupakan bioaktif yang bersifat antioksidan dan bahan pengemulsi pada bahan pangan. Kelimpahan *Benzenepropanoid* dalam ekstrak n-heksan *S. aquifolium* relatif sedikit, tetapi memiliki peran antioksidatif terhadap sitotoksik sel HeLa. Rumus struktur benzenepropanoid dapat dilihat pada gambar 15.

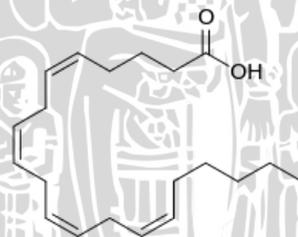


Gambar 15. Struktur benzenepropanoid

Tabel 4. memperlihatkan bahwa ekstrak n-heksan *S. aquifolium* menunjukkan identitas senyawa *Arachidonic acid*. Darwito (2009) menjelaskan bahwa polyunsaturated fatty acids (PUFAs) :  $\gamma$ -linolenic acid GLA, arachidonic acid (AA), eicosapentaenoic acid (EPA), dan docosahexaenoic acid (DHA) dapat membunuh beberapa sel tumor tanpa mengganggu sel normal, hal ini karena sel kanker mempunyai sensitivitas yang tinggi terhadap cytotoxic dari PUFAs, PUFAs dapat memacu apoptosis sel tumor dengan radikal bebas. Efek ini tergantung mekanisme dan index unsaturated, dan tingginya tumoricidal. GLA juga memproduksi perubahan komposisi membrane sel dan ultra struktur mitokondria,

yang akan memacu penurunan aktifitas respirasi mitokondria dan aktifitas caspase dan fragmentasi DNA yang akan memacu apoptosis sel tumor

Menurut Tsujii *et al.* (1997) bioaktif tumbuhan/fitokimia mampu memicu antagonisme terhadap kanker melalui penghambatan aktivitas enzim siklooksigenase (COX-2). COX-2 merupakan enzim yang berperan secara dominan pada konversi asam arakidonat (AA) ke prostaglandin (PGs). Produksi COX-2 yang berlebihan akan menghambat apoptosis dan mempercepat terjadinya metastasis kanker tertentu Eksplorasi bioaktif dengan menargetkan produksi COX-2 seperti pilihan yang menjanjikan sebagai dasar dari pencarian komponen obat kanker. Fitokimia tumbuhan dan buah akhirnya difungsikan sebagai COX-2 inhibitor. Semakin banyak COX-2 yang dihentikan atau dikurangi aktivitasnya maka semakin kecil kemungkinan kita untuk mendapatkan penyakit kanker. Rumus struktur arachidonic acid dapat dilihat pada gambar 16.



Gambar 16. Struktur *Arachidonic acid*

Tabel 4. memperlihatkan bahwa ekstrak n-heksan *S. aquifolium* menunjukkan identitas senyawa *1-octacosanol* yang berfungsi sebagai antioksidan. Kandungan utama antioksidan pada tumbuhan dan buah adalah polifenol, polifenol dengan gugus hidroksilnya akan berikatan pada cincin aromatik membentuk lingkungan yang mempunyai muatan elektron tinggi yang akan memerangkap ROS dan mencegahnya bereaksi dengan DNA dan protein. 1-octacosanol berperan penting dalam pencegahan oksidasi LDL yaitu dengan

repository.ub.ac.id

cara mencegah pembentukan sel-sel busa dan kerusakan lipid (Yoke, 2013). Konsentrasi senyawa ini relatif sedikit pada ekstrak n- heksan *S. aquifolium* tetapi diduga pengaruh sitotoksik terhadap sel Hela sangat besar. Rumus struktur 1-*octacosanol* dapat dilihat pada gambar 17.



Gambar 18. Struktur 1-Octacosanol

Tabel 4. memperlihatkan bahwa ekstrak n-heksan *S. aquifolium* menunjukkan identitas senyawa *Nonadecyl trifluorocetate*. Senyawa ini tidak memiliki fungsi yang jelas dalam proses sitotoksik sel Hela. Dalam beberapa penelitian tidak pernah disebutkan peran aktif senyawa *Nonadecyl trifluorocetate* sebagai antikanker atau antioksidan.



## 5. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan yang telah diuraikan, maka dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

1. Ekstrak terkuat *S. aquifolium* adalah pelarut n-heksan dengan viabilitas sebesar 12,78%.
2. Ekstrak n-heksan *S. aquifolium* mengandung senyawa alkaloid, terpenoid, tanin, saponin dan steroid tetapi tidak mengandung triterpenoid
3. Berdasarkan deteksi mass spektrofotometri (GC-MS) didapatkan 6 senyawa dominan yang diduga bertindak sebagai antikanker yaitu 1-hexadecene (CAS), 1-Nonadecene, Hexadecanoic acid, Benzenepropanoic acid, Arachidonic acid, dan Octacosanol.

### 5.2 Saran

Diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai kuantitas senyawa aktif yang terkandung pada *S. aquifolium* dengan pengaplikasian dan isolasi yang berbeda dari *S. aquifolium* tersebut.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adyana, I.D.P. 2006. Efek Anti Telomerase Fraksi Alkaloid Terhadap Pembelahan dan Mitosis Sel Mieloma Mencit. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.
- Apantaku, L.M. 2002. Breast-conserving Surgery for Breast Cancer. *Am Fam Physician* 66 (12):2271-2278.
- Angka SL, Suhartono TS. 2000. Bioteknologi Hasil Laut. Bogor: Pusat Kajian Sumber Daya Pesisir dan Lautan. Institut Pertanian Bogor. Hlm 49-56.
- Aslan M, Laode. 1999. Budidaya Rumput Laut. Kanisius. Yogyakarta.
- Atmadja WS, Soelistijo. 1988. Beberapa Aspek Vegetasi dan Habitat Tumbuhan Laut Bentik di Pulau-pulau Seribu. Jakarta : Pusat Penelitian dan Pengembangan Oseanologi-LIPI.
- Boney, A. D. 1965. Aspect of The Biology of The Seaweeds of Economic Importance. *Mar Bot.* 3:205-253.
- Burt BA, Eklund SA, Lewis DW. 1992. Dentistry, Dental Practice, and The Community 4th ed. Philadelphia: WB Saunders Company. 205-6
- Chabner, B.A., D.P.Rian, L.Paz-Ares, R.G. Carbonero, and P. Calabresi. 2001. Antineoplastic Agents In Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics 10th. Edition. McGraw-Hill. Medical Publishing Division. P.1417-1421.
- Chasanah, E., Januar, H.I., Irianto, H.E., Bourne, D., Liptrot, C., and Wright, A. 2009. Screening of anticancer activity of fungi derived from Indonesian marine sponges. *Journal Marine and Fisheries Postharvest and Biotechnology Special Edition Ni Conjunction with World Ocean Conference.* 4:1-8.
- Clevidence BA, Brito ES, Arajo MCP, Alves RE, Carkeet C, Novotny JA. 2007. Anthocyanins present in selected tropical fruits: Acerola, jambolao, jussara, and guajiru. *J Agric Food Chem* 55:9389-9394.
- Cotran, R. S., Robbins, S. L., Kumar, V. 2007. *Robbins Basic Pathology* (7<sup>th</sup> Ed). Terjemahan oleh Awal Prasetyo, Brahm U. Pendit, Toni Priliono. Jakarta : EGC.
- Coundry, E.V. 1995. Cancer Cell. W.B. Sounder Company Philadelphia and London. P.136-144.
- Cristiane, M.R., De Souza., C.T. Marques., D.C. M. Guerra., F. R. F. Da Silva., Rocha, And .E. L. Leite. 2006. Antioxidant Activities Of Sulphated Polysaccharides From Brown And Red Seaweeds. Springer Science + Business Media B.

- Dahuri, R. 2000. Pendayagunaan Sumberdaya Kelautan Untuk Kesejahteraan Rakyat (Kumpulan Pemikiran). LISPI. ISBN : 979-96004-0-5.
- Dalimartha, S. 2003. Ramuan Tradisional Untuk Pengobatan Kanker. Penebar Swadaya, Jakarta. 96p.
- Darwito, Dr SH, SpB (K) onk. 2009. omega-3 dan kanker payudara. <http://darwitosuwitosaridinsangpembaharu.blogspot.com/2009/03/penelitian-kanker-payudara-kanker.html>. diakses 11 maret 2014.
- Duarte, C. M., J. Ari´Stegui, N. Gonza´ LEZ, S. Agusti´, and R. Anado´ N. 2001. Evidence For a Heterotrophic Subtropical NE Atlantic. *Limnology Oceanography*. 46: 425–428.
- Finley JW. 2003. The Antioxidant Responsive Element (ARE) May Explain The Protective Effects of Cruciferous Vegetables on Cancer. *Nutrition Reviews* 61: 250–254
- Fowler MW. 1983. Commercial Application and Economic Aspect of Mass Plant Cell Culture. *Plant Biotechnology*. Cambridge University Press. England.
- Gale, Danielle ; Charette, Jane. 2000. Rencana asuhan keperawatan onkologi. Jakarta : EGC
- Ghozali, Imam. 2007. Aplikasi Analisis Multivariat dengan Program SPSS. Badan Penerbit Universitas Diponegoro, Semarang.
- Gill, S.M.K., N. Balasioner, and P. Parte. 2001. Intermittent Treatment With Taxmoxiven on Reproduction in Male Rat. 155-158.
- Grover Neha, Patni Vidya. 2013. Phytochemical Characterization Using Various Solvent Extracts and Gc-Ms Analysis of Methanolic Extract of *Woodfordia Fruticosa* (L.) Kurz. Leaves. Plant Pathology, Tissue Culture and Biotechnology Laboratory, Department of Botany, University of Rajasthan, Jaipur- 302055, India
- Gunawan, D. dan S. Mulyani. 2004. Ilmu Obat Alam (Farmakognosi) Jilid 1. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Hagerman, A. E. 2002. Tannin Handbook. Department of Chemistry and Biochemistry, Miami University. USA
- Halliwell B, Whiteman M. 2004. Measuring reactive species and oxidative damage *in vivo* and in cell culture. 142: 231-255
- Harborne, J.B., 1996. Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. 2<sup>nd</sup> ed. Diterjemahkan oleh : Padmawinata K., Penerbit ITB, Bandung. 379p.
- Hardman JG, Limbird LE, Gilman AG. 2001. Goodman, Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics. 10<sup>th</sup> ed. McGraw-Hill Professional

- Hawariah, A.L.P. 1998. *Memahami kanser*. Serdang: Penerbit Universiti Putra Malaysia.
- Hikmah Rusmiati, Santoso HB. 2009. Gambaran Struktur Mikroanatomi Uterus Mencit (*Mus musculus* L) Setelah Pemberian Fraksi *N*-heksana dan Fraksi Etil Asetat Kulit Batang Durian (*Durio zibethinus* murr). Volume 6;2
- Hwang CS, Kwak HS, Lim HJ, Lee SH, Kang YS, Choe TB. 2006. Isoflavone metabolites and there *in vitro* dual functions: They can act as an estrogenic agonist or antagonist depending on the estrogen concentration. 101: 246–265.
- Issa AY, Volate SR, Wargovich MJ. 2006. The role of phytochemicals in inhibition of cancer and inflammation: New directions and perspectives. 19: 405–419.
- Kadi. 2008. Beberapa Catatan Kehadiran Marga Sargassum Di Perairan Indonesia. www.rumputlaut.org. 19/09/2008.
- Kitts, D. D. and K. Weiler. 2003. Bioactive Proteins and Peptides From Food Sources. Applications of bioprocesses used in isolation and recovery. 9: 1309–1323.
- Kuo P L, Lin CC. 2003. Green tea constituent (-)-epigallocatechin-apoptosis through p53-dependent and Fas-mediated pathways. 10: 219–227.
- Li, F.; Tian, T.C.; Shi, Y.C. Study on anti virus effect of fucoidan in vitro. J. N. 1995. Bethune Medical University. Sci.21, 255-257.
- Madlener S, Illmer C, Horvath Z, Saiko P, Loser A, Herbacek I. 2007. Gallic Acid Inhibits Ribonucleotide Reductase and Cyclooxygenases In Human HL-60 Promyelocytic Leukemia Cells. 245: 156–162.
- Maharani MA, Widyayanti. 2009. Pembuatan alginat dari rumput laut untuk menghasilkan produk dengan rendemen dan viskositas yang tinggi. Universitas Dipenogoro.
- Mangan Y. 2003. Cara Bijak Menaklukkan Kanker. Agromedia, Jakarta.
- Marlinda, M., M. S. Sangi dan A. D. Wuntu. 2012. Analisis Senyawa Metabolit Sekunder dan Uji Toksisitan Ekstrak etanol Biji Buah Alpokat (*Persea Americana* Mill). Jurnal MIPA Unsrat Online 1 (1) 24-28
- Meisel H dan Fitzgerald RJ. 2003. Biofunctional peptides from milk protei: Lactobacillus helveticus CP790. Journal Current Pharmaceutical Design 9: 1289-1295
- Meyer, A.M.S. 1999. Marine Pharmacology In 1998: Antitumor and Cytotoxic Compounds. The Pharmacologist. 11 (4): 159-164.
- Montano JM., Burgos-Moron E., Perez-Guerrero C., Lopez-Lazaro M., 2011. A review on the dietary flavonoid kaempferol. 11 (4): 298–344.

- Mook ORF, Frederiks WM, Van Noorden CJF. 2004. The role of gelatinases in colorectal cancer progression and metastasis. 1705: 69–89.
- Moon DO, Kim MO, Kang SH, Choi YH, Kim GY. 2009. Sulforaphane suppresses TNF- $\alpha$ -mediated activation of NF- $\kappa$ B and induces apoptosis through activation of reactive oxygen species-dependent caspase-3. *Cancer Lett* 274: 132–142.
- Mulyo A.U . 2009. Efek dekstrak alga coklat (*Sargassum hystrix* J. Agardh) terhadap arah dan kadar glukosa darah tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) hiperglikemia. Pangan, gizi dan kesehatan. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta
- Muzaki, Anggi A. 2008. Analisis Spasial Kualitas Ekosistem Terumbu Karang Sebagai Dasar Penentuan Kawasan Konservasi Laut Dengan Metode Cell Based Modelling Di Karang Lebar Dan Karang Congkak Kepulauan Seribu, Dki Jakarta. Program studi ilmu kelautan Fakultas perikanan dan ilmu kelautan – IPB . Bogor
- Partt, D.E. 1992. Natural Antioxidants From Plant Material. Di dalam : M.T. Huang, C.T. Ho, dan C.Y. Lee, editor. Phenolic Compounds in Food and Their Effects on Health H. American Society, Washington DC.
- Peng J, Yuan J. P. Chou-Fei W and Jiang, H.W. 2011. Fucoxanthin, a Marine Carotenoid Present in Brown Seaweeds and Diatoms: Metabolism and Bioactivities Relevant to Human Health. 2011, 9, 1806-1828
- Prayetni, 1997. Majalah Keperawatan Bina Sehat Edisi Sep-Nove 1997. Jakarta: PPNI
- Price, S. A., Wilson, L. M. 2002. *Pathophysiology: Clinical Concepts of Disease Processes* (1<sup>st</sup> Ed). Terjemahan oleh Brahm U. Pendit. Jakarta : EGC.
- Rahayu, T. 2006. Uji Daya Inhibisi Ekstrak Kasar Flavonoid Sambiloto (*Andrographis paniculata* [burm. F] Ness) dan Temu Putih (*Curcuma zedoaria* Roscoe) Terhadap Aktivitas Tirosin Kinase Secara *In Vitro*. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 34 Hlm.
- Rahman P.A. 2007. *Pengaruh Pemberian Imunostimulator (Echinacea) Terhadap Peningkatan Apoptosis dan Penurunan Mitosis Sel HeLa (Kanker Leher Rahim) in Vitro*. Malang : Program Sarjana Universitas Brawijaya.
- Rasjidi I. 2007. *Panduan Penatalaksanaan Kanker Ginekologi*. Jakarta : EGC.
- Robbins, L. Stanley; Cotran, S. Ramzi; Kumar, V., 2007. Buku Ajar Patologi Robbins, Edisi 7 Volume 1. Jakarta : EGC
- Roudhaug JE. 2003. Matrix metalloproteinases, angiogenesis, and cancer: commentary re: A. C. Lockhart *et al.*, Reduction of wound angiogenesis in patients treated with BMS-275291, a broad spectrum matrix metalloproteinase inhibitor. 9: 551–554.

Roya, G. and P.S.R. Zoo. 2000. Anticancer Compount From Tissue Culture of Medicinal Plants of Herbal. Medicinal Plants. Vol 7(2): 71-96.

Rusdi. 2010. my healthy life – sehat dari meja makan. Jakarta: PT Niaga Swadaya

Sarjadi. 1992. Registrasi Kanker Dalam Konteks Penanggulangan Penyakit Kanker. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. Semarang.

Satari, R. 1996. Potensi Pemanfaatan Rumput Laut. Puslitbang oseanografi – LIPI. Jakarta. Hal 152

Shevchenko, N.M., T.A. Kuznetsova., N.N. Besednova., A.N. Mamaev., A.P.Momot., T.N.Zvyagintseva. 2003. Anticoagulant activity of fucoidan from brown algae *Fucus evanescens* of the Okhotsk sea. Bull. Exp. Biol. Med. 136, 471-473.

Shoeib, N.A., Bibby, M.C., Blunden, G., Linley, P.A., Swaine,D.J., Wheelhouse, R.T., and Wright, C.W. 2004. Invitrocytotoxic activities of the mayor bromophenolsof the red alga *Polysiphonia lanosa* and novel syntheticisomers. J. Nat. Prod.. Page Est: 4.7. 5 pp.Web 00/00/0000.

Silalahi, J. (2000). Hypocholesterolemic Factors in Foods. A Review. Indonesian Food Nutrition Progress. 7(1):26-36.

Silalahi, J., dan Tampubolon, S.D.R. (2002). Asam Lemak Trans dalam Makanan dan Pengaruhnya Terhadap Kesehatan. Jurnal Teknloogi dan Industri Pangan. 8(2):184-188.

Subagya, Hari. 1987. Budidaya alga sargassum sp. Ganox: Jakarta

Suherman, Suharti K, Purwastyastuti. 2007. Adrenokortikotropin, Adrenokortikosteroid, Analog-Sintetik dan Atagonisnya. Gaya Baru. Jakarta. h.496-513

Sunuddin A. 2012. Encyclopedia of Life . Revisions. 2012-05-31 07:01:45 UTC

Syam M, Bustamam A, Ibrahim S, Al-Zubairi AS, Aspollah M. Typhonium Flagelliforme Induces Apoptosis in CEMss Cells Via Activation of Caspase-9, PARP Cleavage and Cytochrome c Release. 2010. 131(3):592-600.

Thangapazham RL, Passi N, Maheshwari RK. 2007. Green Tea Polyphenol and Epigallocatechin Gallate Induce Apoptosis and Inhibit Invasion In Human Breast Cancer Cells. 6: 1938–1943.

Tjondronegoro PD, Natasaputra M, Kusumaningrat T, Gunawan AW, Jaelani M,Suwanto A. 1989. Botani Umum II . Bogor: Pusat Antar Universitas IlmuHayat, Institut Pertanian Bogor . Bogor

Torneck CD, Torabinejad M. 1997. Biologi Jaringan Pulpa dan Jaringan Sekitar akar. Jakarta. 1997:11-23 EGC

- Torres, M.R., Sousa, A.P.A., Filho, E.A.T.S., Pessoa, C., Amaral de Moraes, M.E., Odorico de Moraes, M., and Costa-Lotufu, L.V. 2005. Biological Activity of Aqueous and Organic Extracts of Seaweeds from Ceara State, Brazil. 38 : 55-63
- Trono, JR. C.C. and E.T. Ganzon-Fortes. 1988. Philippine Seaweeds. Technology and Livelihood Recourse Centre, Nat. Book Store Inc. Metro Manila, 330 pp.
- Tsujii M, Kawano S, Dubois RN. 1997. Cyclooxygenase-2 expression in human colon cancer cells increases metastatic potential. 94: 3336–3340.
- Valko M, Izakovic M, Mazur CJ, Rhode JT. 2004. Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. 266: 37–56.
- William, D.E and Andersen, R. S, 2006. Coral Reef to Clinical Trial: Bio Prospecting For Drugs From The Sea. Report on International Seminar and Workshop on Marine Biodiversity and Their Potential For developing Bio-Pharmaceutical Industri in Indonesia. Research Center For Marine and Fisheries Product Processing and Biotechnology. Book 2. Jakarta. p. 80-92
- Wikanta, T., Januar, H.I., Nursid, M. 2005. Uji Aktivitas Antioksidan, Toksisitas dan Sitotoksisitas Ekstrak Alga Merah (*Rhodymenia palmata*). Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia. Ed. Pasca Panen Vol. 11 (4): 41-49.
- Wiknjosastro, H,. (1997). Ilmu Kebidanan. Edisi III. Jakarta : Yayasan Bina Pustaka Sasworo Prawiroharjo.
- Winarsi, H. 2007. Antioksidan Alami dan Radikal Bebas. Kanisius. Yogyakarta.
- World Health Organization. 2007. *Cervical Cancer, Human Papillomavirus (HPV) and HPV Vaccines Key Points for Policy-Makers and Health Profesionals*. <http://www.who.com>
- Yoo YC, Shin BH, Hong JH, Lee J, Chee HY, Song KS. Isolation of Fatty Acids with Anticancer Activity from *Protaetia brevitarsis* Larva. 2007.Arch Pharm Res;30:361–5.
- Yunizal .2004. Teknik Pengolahan Alginat. Jakarta : Pusat Riset Pengolahan Produk dan Sosoal Ekonomi Kelautan dan Perikanan.
- Zhang, Q., L. Ning ., L. Xiguang.,Z. Zengqin., L. Zhien And X. Zuhong. 2003. The Structure Of A Sulfated Galactan From Porphyra Haintanensis and Its In Vivo Antioxidant Activity. Institute Of Oceanology, Chinese Academy Of Sciences, Qingdao 266071, China.
- Zvyagintsevaa, T.N., N.M.Shevchenko., A O. Chizhobv, T.N. Krupnovac, E. V. Sundukovaa., and V. V. Isakova. 2003. Water-Soluble Polysaccharides Of Some Far-Eastern Brown Seaweed. Distribution, Structure, And Their Dependence On The Developmental Conditions. Journal Of Experimental Marine Biology And Ecology 294 1-13

Lampiran 1. Proses Penghalusan *S. aquifolium*



1

1. Sampel basah *S. aquifolium*



2

2. *S. aquifolium* setelah proses pengeringan



3

2. Proses penghalusan *S. aquifolium* dengan blender



4

4. Sampel *S. aquifolium* halus

Lampiran 2. Proses Ekstraksi Sampel *S. aquifolium*



1. Proses maserasi dengan menggunakan Shaker



2. Ekstrak *S. aquifolium*



3. Proses evaporasi filtrat dengan rotary vacum evaporator

Lampiran 3. Proses Kultur Sel HeLa



1. Pengamatan sel HeLa dalam flask kultur dengan mikroskop inverter



2. Proses penarikan media dalam flask



3. Proses penambahan tripsin-EDTA dalam flask *tube*



4. Pemandahan larutan dalam *centrifuge*



5. Proses penanaman kultur pada sumuran

Lampiran 4. Proses Pemaparan Ekstrak N-heksan, Etanol dan Etil Asetat *S. aquifolium*



1. Pemaparan ekstrak N-Heksan *S. aquifolium*, etanol *S. aquifolium* dan Etil Asetat *S. aquifolium*



2. Pemberian larutan MTT + larutan detergen SDS (*Sodium Dodecyl Sulfate*)



3. Pelapisan sampel dengan aluminium foil sebelum diinkubasi

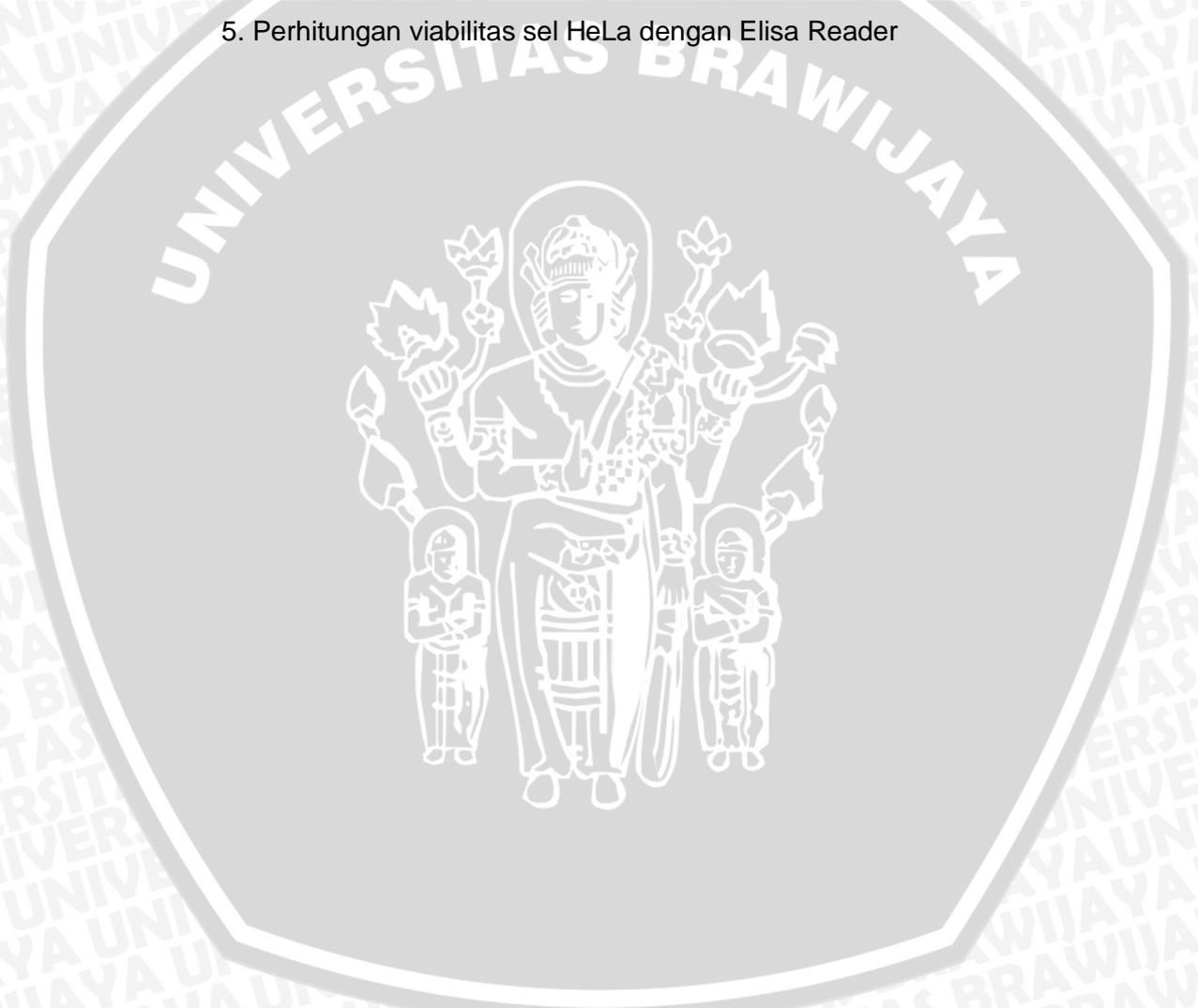


4. Proses inkubasi sampel uji selama 1 jam dalam inkubator



5

5. Perhitungan viabilitas sel HeLa dengan Elisa Reader



Lampiran 5. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak N-Heksan *S. aquifolium*



1. Hasil uji alkaloid metode Dragendorff



2. Hasil uji alkaloid metode Wagner



3. Hasil uji alkaloid metode Meyer



4. Hasil uji flavonoid



5. Hasil uji tanin



6. Hasil uji saponin



7. Uji Triterpenoid dan Steroid

Lampiran 6. Perhitungan Hasil Pengamatan Aktivitas Antikanker Ekstrak *S. aquifolium*

$$\% \text{ Sel hidup} = \frac{\text{OD Perlakuan} - \text{OD Medium}}{\text{OD Kontrol} - \text{OD Medium}} \times 100$$

**Hasil pengamatan aktivitas antikanker ekstrak *S. aquifolium* terhadap sel HeLa dan persentase kematian sel**

Jenis pelarut	pengulangan			Persentasi sel hidup (%)	Persentasi sel mati (%)
	I	II	III		
Kontrol Media	0,140667				
Kontrol Sel	0,3805				
Doxorubicin	0,243			42,67	57,33
Etanol	0,192	0,170	0,152	87,22	12,78
Etil Asetat	0,233	0,251	0,235	60,11	39,89
N- Heksan	0,276	0,310	0,288	37,18	62,82

**Doxorubicyn :**

$$\begin{aligned} \% \text{ Sel hidup} &= \frac{0,243 - 0,140667}{0,3805 - 0,140667} \times 100 \\ &= 21,43 \end{aligned}$$

**N-heksan *S. aquifolium* :**

$$\begin{aligned} \text{I. \% Sel hidup} &= \frac{0,192 - 0,140667}{0,3805 - 0,140667} \times 100 \\ &= 21,40 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{II. \% Sel hidup} &= \frac{0,170 - 0,140667}{0,3805 - 0,140667} \times 100 \\ &= 12,23 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{III. \% Sel hidup} &= \frac{0,152 - 0,140667}{0,3805 - 0,140667} \times 100 \\ &= 4,72 \end{aligned}$$

**Etanol *S. aquifolium* :**

$$\begin{aligned} \text{I. \% Sel hidup} &= \frac{0,276 - 0,140667}{0,3805 - 0,140667} \times 100 \\ &= 56,43 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{II. \% Sel hidup} &= \frac{0,310 - 0,140667}{0,3805 - 0,140667} \times 100 \end{aligned}$$

$$= 70,60$$

$$\text{III. \% Sel hidup} = \frac{0,288 - 0,140667}{0,3805 - 0,140667} \times 100$$

$$= 61,43$$

**Etil Asetat *S. aquifolium* :**

$$\text{I. \% Sel hidup} = \frac{0,233 - 0,140667}{0,3805 - 0,140667} \times 100$$

$$= 34,33$$

$$\text{II. \% Sel hidup} = \frac{0,251 - 0,140667}{0,3805 - 0,140667} \times 100$$

$$= 46$$

$$\text{III. \% Sel hidup} = \frac{0,235 - 0,140667}{0,3805 - 0,140667} \times 100$$

$$= 39,33$$

**Hasil Olah SPSS**

**1. Hasil uji normalitas**

**Tests of Normality**

Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Viabilitas Kontrol Sel	.175	3	.	1.000	3	1.000
Doxorubicyn	.175	3	.	1.000	3	1.000
Ekstrak N-heksan <i>S. aquifolium</i>	.193	3	.	.997	3	.890
Ekstrak Etil Asetat <i>S. aquifolium</i>	.349	3	.	.832	3	.194
Ekstrak Etanol <i>S. aquifolium</i>	.243	3	.	.972	3	.679

a. Lilliefors Significance Correction

**Interpretasi : Untuk sampel < 50 digunakan nilai Sig. Shapiro Wilk.**

Dari tabel didapatkan P > 0,05 untuk semua kelompok, artinya sebaran data normal



## 2. Hasil uji varians

### Test of Homogeneity of Variances

Viabilitas				
Levene Statistic	df1	df2	Sig.	
3.348	4	10	.055	

**Interpretasi : Didapatkan  $P = 0,055$  ( $P > 0,05$ ), artinya varians data normal**

Karena varian dan sebaran data normal, maka syarat uji Anova terpenuhi.

## 3. Hasil Uji Anova

viabilitas

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.072	4	.018	112.747	.000
Within Groups	.002	10	.000		
Total	.073	14			

**Interpretasi : Didapatkan  $P = 0,000$  ( $P < 0,05$ ), artinya terdapat perbedaan nilai viabilitas antar kelompok penelitian.**



4. Untuk mengetahui kelompok mana saja yang memiliki perbedaan secara bermakna dilanjutkan dengan uji post hoc LSD (BNT)

Multiple Comparisons

viabilitas LSD		Multiple Comparisons				
(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Lower Bound
Kontrol Sel	Doxorubicyn	.13750*	.01030	.000	.1145	.1605
	Ekstrak N-heksan <i>S. aquifolium</i>	.20917*	.01030	.000	.1862	.2321
	Ekstrak etil asetat <i>S. aquifolium</i>	.14083*	.01030	.000	.1179	.1638
	Ekstrak etanol <i>S. aquifolium</i>	.08917*	.01030	.000	.0662	.1121
Doxorubicyn	Kontrol Sel	-.13750*	.01030	.000	-.1605	-.1145
	Ekstrak N-heksan <i>S. aquifolium</i>	.07167*	.01030	.000	.0487	.0946
	Ekstrak Etil Asetat <i>S. aquifolium</i>	.00333	.01030	.753	-.0196	.0263
	Ekstrak Etanol <i>S. aquifolium</i>	-.04833*	.01030	.001	-.0713	-.0254
Ekstrak N-heksan <i>S. aquifolium</i>	Kontrol Sel	-.20917*	.01030	.000	-.2321	-.1862
	Doxorubicyn	-.07167*	.01030	.000	-.0946	-.0487
	Ekstrak Etil Asetat <i>S. aquifolium</i>	-.06833*	.01030	.000	-.0913	-.0454
	Ekstrak Etanol <i>S. aquifolium</i>	-.12000*	.01030	.000	-.1430	-.0970
Ekstrak Etil Asetat <i>S. aquifolium</i>	Kontrol SEL	-.14083*	.01030	.000	-.1638	-.1179
	Doxorubicyn	-.00333	.01030	.753	-.0263	.0196
	Ekstrak N-heksan <i>S. aquifolium</i>	.06833*	.01030	.000	.0454	.0913
	Ekstrak etanol <i>S. aquifolium</i>	-.05167*	.01030	.001	-.0746	-.0287
Ekstrak Etanol <i>S. aquifolium</i>	Kontrol Sel	-.08917*	.01030	.000	-.1121	-.0662
	Doxorubicyn	.04833*	.01030	.001	.0254	.0713
	Ekstrak N-heksan <i>S. aquifolium</i>	.12000*	.01030	.000	.0970	.1430
	Ekstrak etil asetat <i>S. aquifolium</i>	.05167*	.01030	.001	.0287	.0746

\* The mean difference is significant at the 0.05 level.

**Interpretasi :**

Kontrol Sel vs Doxorubicyn :  $p = 0,000$  (terdapat perbedaan signifikan)

Kontrol Sel vs N-heksan *S. aquifolium* :  $p = 0,000$  (terdapat perbedaan signifikan)

Kontrol Sel vs Etil Asetat *S. aquifolium* :  $p = 0,000$  (terdapat perbedaan signifikan)

Kontrol Sel vs Etanol *S. aquifolium* :  $p = 0,000$  (terdapat perbedaan signifikan)

Doxorubicyn vs N-heksan *S. aquifolium* :  $p = 0,000$  (terdapat perbedaan signifikan)

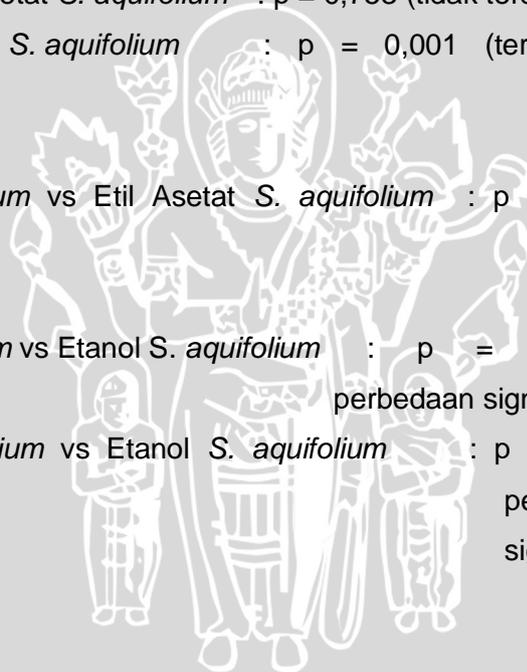
Doxorubicyn vs Etil Asetat *S. aquifolium* :  $p = 0,753$  (tidak terdapat perbedaan)

Doxorubicyn vs Etanol *S. aquifolium* :  $p = 0,001$  (terdapat perbedaan signifikan)

N-heksan *S. aquifolium* vs Etil Asetat *S. aquifolium* :  $p = 0,000$  (terdapat perbedaan signifikan)

N-heksan *S. aquifolium* vs Etanol *S. aquifolium* :  $p = 0,000$  (terdapat perbedaan signifikan)

Etil Asetat *S. aquifolium* vs Etanol *S. aquifolium* :  $p = 0,001$  (terdapat perbedaan signifikan)



Lampiran 7. Hasil Uji GC-MS

Library Search Report

Data Path : D:\Data\2014\  
 Data File : 03219.D  
 Acq On : 9 May 2014 9:25  
 Operator : che2  
 Sample : Sargassum aquifolium ( n-Hexan )  
 Misc : Izzol Islam - Unbra  
 ALS Vial : 1 Sample Multiplier: 1

Search Libraries: C:\Database\W9N11.L Minimum Quality: 0

Unknown Spectrum: Apex  
 Integration Events: ChemStation Integrator - autoint1.e

PK#	RT	Area%	Library/ID	Ref#	CAS#	Qual
1	12.783	2.36	C:\Database\W9N11.L 1-Hexadecene (CAS) \$\$ Cetene \$\$ 1- Cetene \$\$ n-Hexadec-1-ene 1-Hexadecene (CAS) \$\$ Cetene \$\$ 1- Cetene \$\$ n-Hexadec-1-ene 1-Nonadecene \$\$ Nonadec-1-ene	251389 251383 371493	000629-73-2 000629-73-2 018435-45-5	97 96 94
2	12.829	7.32	C:\Database\W9N11.L 7-Hexadecene, (Z)- \$\$ (7Z)-7-Hexad ecene \$\$ cis-7-Hexadecene \$\$ (Z)-7 -Hexadecene 1-Hexadecene (CAS) \$\$ Cetene \$\$ 1- Cetene \$\$ n-Hexadec-1-ene 1-Hexadecene (CAS) \$\$ Cetene \$\$ 1- Cetene \$\$ n-Hexadec-1-ene	251398 251383 251389	035507-09-6 000629-73-2 000629-73-2	98 96 96
3	13.967	3.38	C:\Database\W9N11.L 1-Octadecanesulphonyl chloride Octatetracontane, 1-iodo- \$\$ 1-Iod ooctatetracontane # Heptadecane (CAS) \$\$ n-Heptadecane \$\$ Normal-heptadecane \$\$ n - hept adecane	590842 815541 297247	998590-84-2 040710-70-1 000629-78-7	91 74 64
4	14.059	0.38	C:\Database\W9N11.L Octatetracontane, 1-iodo- \$\$ 1-Iod ooctatetracontane # 1-ETHYL-2-METHYL CYCLODODECANE \$\$ Cyclododecane, 1-ethyl-2-methyl- ( CAS) Eicosane \$\$ n-Eicosane \$\$ Icosane # \$\$ n-Icosane	815541 211159 416885	040710-70-1 022681-52-3 000112-95-8	87 80 62
5	14.454	1.86	C:\Database\W9N11.L Tetradecanoic acid, methyl ester ( CAS) \$\$ Methyl myristate Tridecanoic acid, 12-methyl-, meth yl ester \$\$ Methyl isomyristate Pentadecane \$\$ n-Pentadecane \$\$ CH 3(CH2)13CH3	302065 302104 216734	000124-10-7 005129-58-8 000629-62-9	86 50 47
6	14.534	2.11	C:\Database\W9N11.L Methyl tetradecanoate \$\$ Tetradeca noic acid, methyl ester Tetradecanoic acid, methyl ester ( CAS) \$\$ Methyl myristate Tetradecanoic acid, methyl ester ( CAS) \$\$ Methyl myristate	302061 302065 302071	000124-10-7 000124-10-7 000124-10-7	93 86 83
7	14.957	12.36	C:\Database\W9N11.L 1-Nonadecene \$\$ Nonadec-1-ene 1-Octadecanol (CAS) \$\$ Stenol \$\$ S ipol S \$\$ Stearol \$\$ Lanol S \$\$ Al dol 62 1-Octadecanol (CAS) \$\$ Stenol \$\$ S ipol S \$\$ Stearol \$\$ Lanol S \$\$ Al dol 62	371493 383100 383086	018435-45-5 000112-92-5 000112-92-5	95 91 91

Library Search Report

Data Path : D:\Data\2014\  
 Data File : 03219.D  
 Acq On : 9 May 2014 9:25  
 Operator : che2  
 Sample : Sargassum aquifolium ( n-Hexan )  
 Misc : Izzol Islam - Unbra  
 ALS Vial : 1 Sample Multiplier: 1

Search Libraries: C:\Database\W9N11.L Minimum Quality: 0

Unknown Spectrum: Apex  
 Integration Events: ChemStation Integrator - autoint1.e

Pk#	RT	Area%	Library/ID	Ref#	CAS#	Qual
8	15.066	1.38	C:\Database\W9N11.L 7-Hexadecene, (Z)- \$\$ (7Z)-7-Hexadecene \$\$ cis-7-Hexadecene \$\$ (Z)-7-Hexadecene	251398	035507-09-6	89
			1-Decanol, 2-octyl- \$\$ 2-Octyldecan-1-ol \$\$ Guerbet C18 Alcohol	383129	045235-48-1	83
			1-Dodecanol, 2-hexyl- \$\$ 2-Hexyldodecan-1-ol \$\$ 2-Hexyldodecanol	383130	110225-00-8	74
9	15.455	1.11	C:\Database\W9N11.L BICYCLO[3.1.1]HEPTANE, 2,6,6-TRIMETHYL- \$\$ (-)-TRANS PINANE	48214	000473-55-2	83
			(-)-trans-Pinane \$\$ 2,6,6-Trimethyl-bicyclo[3.1.1]heptane, trans \$\$ E-pinane	48264	033626-25-4	83
			17-Pentatriacontene \$\$ (17E)-17-Pentatriacontene #	764420	006971-40-0	70
10	15.592	0.98	C:\Database\W9N11.L 2-Undecanone, 6,10-dimethyl- \$\$ Hexahydrophthalone	177977	001604-34-8	83
			Oxalic acid, isobutyl tetradecyl ester	570207	998570-20-7	30
			Octatetracontane, 1-iodo- \$\$ 1-Iodooctatetracontane #	815541	040710-70-1	30
11	15.627	0.65	C:\Database\W9N11.L 1-Octadecanesulphonyl chloride	590842	998590-84-2	43
			Hexatriacontane (CAS) \$\$ n-Hexatriacontane \$\$ NOR-HEXATRIACONTANE	772628	000630-06-8	43
			2-methyltetracosane	592478	998592-47-8	43
12	15.707	1.30	C:\Database\W9N11.L 1-Octadecene \$\$ .alpha.-Octadecene \$\$ Octadecene, .alpha.- \$\$ Neododecane 18	331386	000112-88-9	93
			Nonadecyl trifluoroacetate	644404	998644-40-4	90
			Nonadecyl trifluoroacetate \$\$ Nonadecyl 2,2,2-trifluoroacetate	644403	998644-40-3	90
13	16.187	4.24	C:\Database\W9N11.L 11-Hexadecenoic acid, methyl ester (CAS) \$\$ METHYL HEXADEC-11-ENOATE	376645	055000-42-5	99
			9-Hexadecenoic acid, methyl ester, (Z)- \$\$ Methyl palmitoleate	376631	001120-25-8	99
			9-Hexadecenoic acid, methyl ester, (Z)- (CAS) \$\$ Methyl palmitoleate	376634	001120-25-8	99
14	16.285	1.00	C:\Database\W9N11.L (+)-bicyclo[5.1.0]octan-2-one \$\$ (+)-Bicyclo(5,1,0)octan-2-one	29145	110717-01-6	45
			Heptadecyl heptafluorobutyrate \$\$ Heptadecyl 2,2,3,3,4,4,4-heptafluorobutanoate	735767	959085-66-6	45
			Tetradecyl trifluoroacetate \$\$ Tetradecyl 2,2,2-trifluoroacetate	491395	006222-02-2	41
15	16.353	15.71	C:\Database\W9N11.L			



Library Search Report

Data Path : D:\Data\2014\  
 Data File : 03219.D  
 Acq On : 9 May 2014 9:25  
 Operator : che2  
 Sample : Sargassum aquifolium ( n-Hexan )  
 Misc : Izzol Islam - Unbra  
 ALS Vial : 1 Sample Multiplier: 1

Search Libraries: C:\Database\W9N11.L Minimum Quality: 0

Unknown Spectrum: Apex  
 Integration Events: ChemStation Integrator - autoint1.e

Pk#	RT	Area%	Library/ID	Ref#	CAS#	Qual
			Hexadecanoic acid, methyl ester	382746	000112-39-0	98
			Palmitic acid, methyl ester			
			Hexadecanoic acid, methyl ester (C	382604	000112-39-0	98
			AS) \$\$ Methyl palmitate			
			Hexadecanoic acid, methyl ester	382582	000112-39-0	98
			Palmitic acid, methyl ester			
16	16.582	2.37	C:\Database\W9N11.L			
			Benzenepropanoic acid, 3,5-bis(1,1	443876	006386-38-5	91
			-dimethylethyl)-4-hydroxy-, methyl			
			ester			
			Hexadecanoic acid, methyl ester	382580	000112-39-0	89
			Palmitic acid, methyl ester			
			Hexadecanoic acid, methyl ester	382746	000112-39-0	86
			Palmitic acid, methyl ester			
17	16.960	10.60	C:\Database\W9N11.L			
			1-Nonadecene \$\$ Nonadec-1-ene	371493	018435-45-5	94
			9-Eicosene, (E)- \$\$ (9E)-9-Icosene	411102	074685-29-3	91
			#			
			2-Chloropropionic acid, octadecyl	608041	088104-31-8	90
			ester \$\$ Octadecyl 2-chloropropan			
			oate #			
18	17.080	1.02	C:\Database\W9N11.L			
			Octatetracontane, 1-iodo- \$\$ 1-Iod	815541	040710-70-1	72
			ooctatetracontane #			
			Ethanol, 2-(octadecyloxy)- \$\$ 2-Oc	503650	002136-72-3	72
			tadecoxyethanol \$\$ 2-Octadecyloxye			
			thanol			
			Nonadecane \$\$ n-Nonadecane	377286	000629-92-5	50
19	17.458	8.86	C:\Database\W9N11.L			
			Arachidonic acid \$\$ 5,8,11,14-Eico	477344	000506-32-1	95
			satetraenoic acid, (all-Z)- \$\$ Ara			
			chidonate			
			Arachidonic acid \$\$ 5,8,11,14-Eico	477346	000506-32-1	91
			satetraenoic acid, (all-Z)- \$\$ Ara			
			chidonate			
			cis-7,10,13,16-Docosatetraenoic ac	579954	998579-95-4	90
			id, methyl ester			
20	17.692	1.46	C:\Database\W9N11.L			
			1-Octacosanol (CAS) \$\$ n-Octacosan	690657	000557-61-9	87
			ol \$\$ Octacosanol \$\$ Cluytyl alcoh			
			ol			
			Octacosanol \$\$ 1-Octacosanol \$\$ n-	690655	000557-61-9	87
			Octacosanol \$\$ Cluytyl alcohol			
			Heptacosyl acetate \$\$ n-Heptacosyl	723643	998723-64-3	86
			acetate			
21	18.087	5.27	C:\Database\W9N11.L			
			9-Octadecenoic acid, methyl ester,	455269	001937-62-8	99
			(E)- \$\$ Elaidic acid, methyl este			
			10-Octadecenoic acid, methyl ester	455286	013481-95-3	99
			(CAS) \$\$ METHYL OCTADEC-10-ENOATE			
			10-Octadecenoic acid, methyl ester	455284	013481-95-3	99
			(CAS) \$\$ METHYL OCTADEC-10-ENOATE			



Library Search Report

Data Path : D:\Data\2014\  
 Data File : 03219.D  
 Acq On : 9 May 2014 9:25  
 Operator : che2  
 Sample : Sargassum aquifolium ( n-Hexan )  
 Misc : Izzol Islam - Unbra  
 ALS Vial : 1 Sample Multiplier: 1

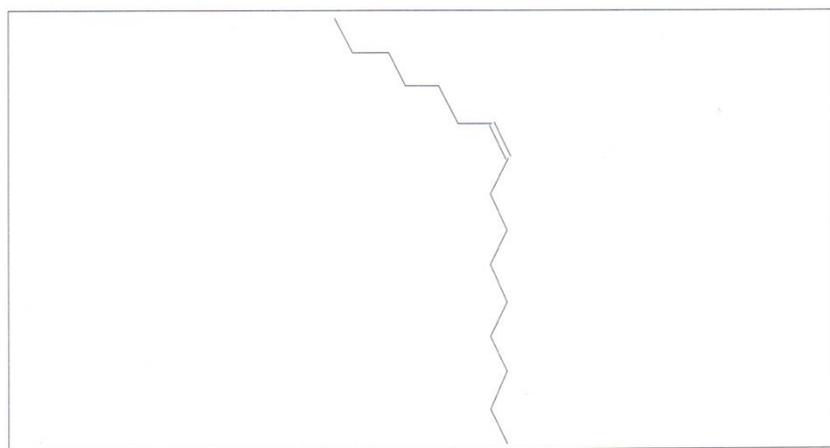
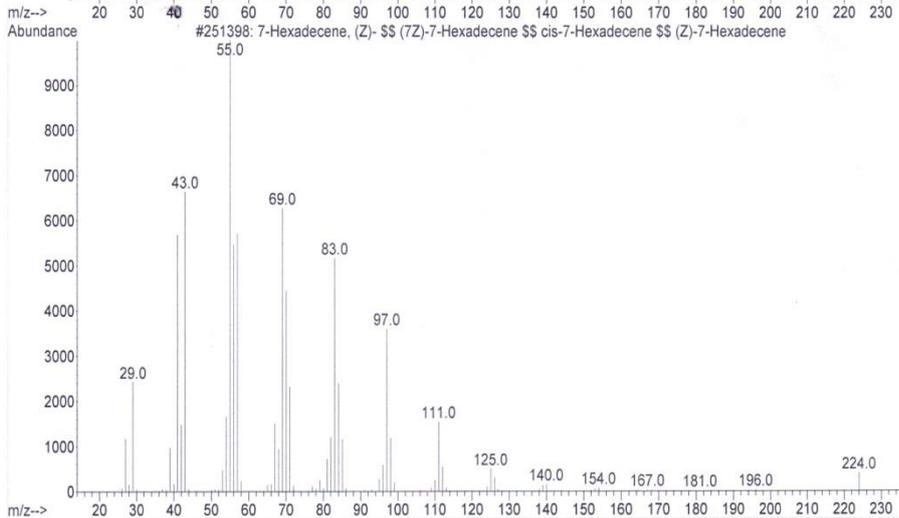
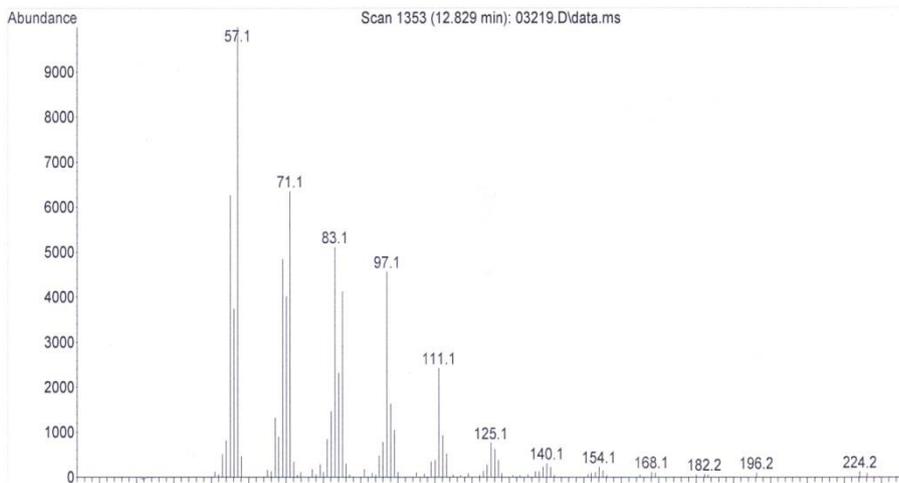
Search Libraries: C:\Database\W9N11.L Minimum Quality: 0

Unknown Spectrum: Apex  
 Integration Events: ChemStation Integrator - autoint1.e

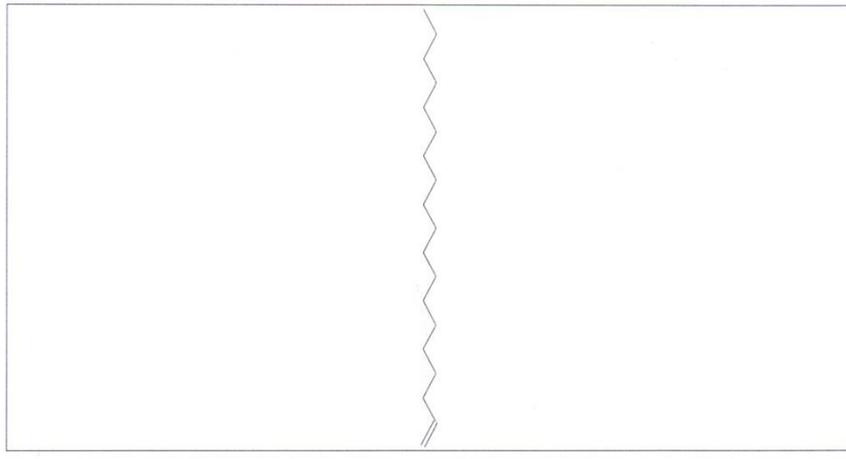
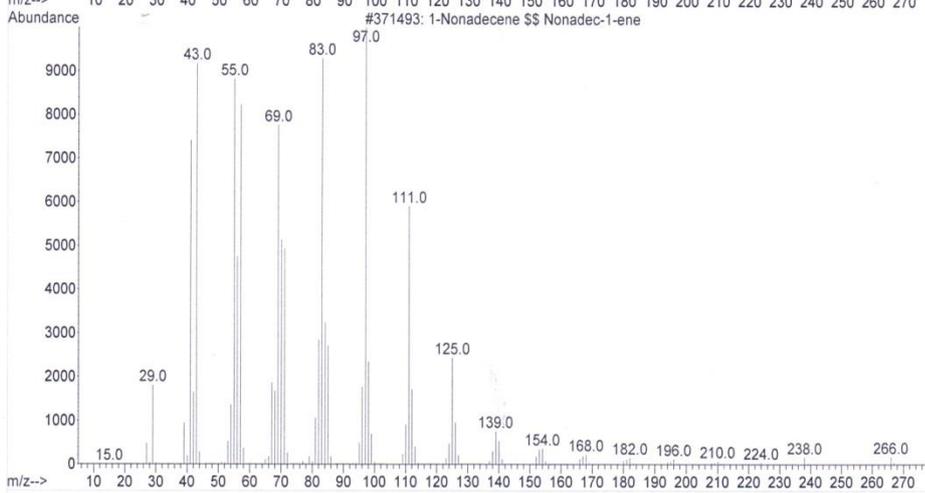
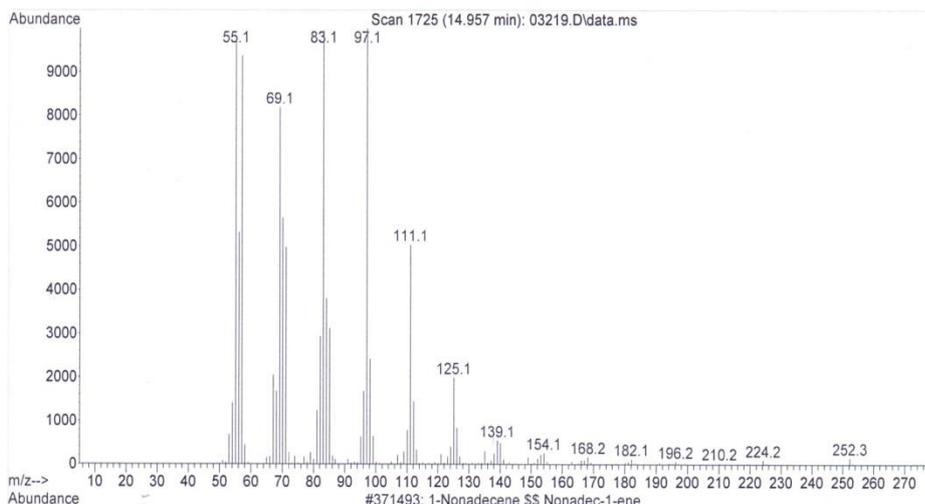
Pk#	RT	Area%	Library/ID	Ref#	CAS#	Qual
22	18.236	0.71	C:\Database\W9N11.L 6-Octadecenoic acid	416493	998416-49-3	89
			Oleic Acid \$\$ 9-Octadecenoic acid	416369	000112-80-1	70
			(Z)- \$\$ .DELTA.9-cis-Oleic acid			
			Oleic Acid \$\$ 9-Octadecenoic acid	416371	000112-80-1	64
			(Z)- \$\$ .DELTA.9-cis-Oleic acid			
23	18.327	1.06	C:\Database\W9N11.L Methyl stearate \$\$ Octadecanoic ac id, methyl ester \$\$ Stearic acid, methyl ester	460907	000112-61-8	83
			ISOPULEGOL 1	76600	998076-60-0	78
			9,17-Octadecadienal, (Z)- \$\$ (9Z)-	365432	056554-35-9	78
			9,17-Octadecadienal #			
24	18.808	8.09	C:\Database\W9N11.L Nonadecyl trifluoroacetate	644404	998644-40-4	94
			1-Heptacosanol (CAS) \$\$ Heptacosan	670856	002004-39-9	94
			ol \$\$ 1 - heptacosanol			
			Nonadecyl trifluoroacetate \$\$ Nona	644403	998644-40-3	94
			decyl 2,2,2-trifluoroacetate			
25	18.928	0.79	C:\Database\W9N11.L Sulfurous acid, octadecyl 2-propyl ester	637929	998637-92-9	74
			7-Heptadecene, 1-chloro- (CAS) \$\$	388254	056554-78-0	70
			1 CHLORO-HEPTADEC-6-ENE			
			Heneicosane (CAS) \$\$ n-Heneicosane	455761	000629-94-7	64
			\$\$ Henicosane \$\$ n - heneicosanen			
26	20.519	2.83	C:\Database\W9N11.L Cyclotetracosane	557512	000297-03-0	95
			Nonadecyl trifluoroacetate	644404	998644-40-4	95
			Nonadecyl trifluoroacetate \$\$ Nona	644403	998644-40-3	95
			decyl 2,2,2-trifluoroacetate			
27	22.104	0.77	C:\Database\W9N11.L Tricosyl pentafluoropropionate	761615	998761-61-5	93
			Tricosyl pentafluoropropionate \$\$	761614	998761-61-4	93
			Tricosyl 2,2,3,3,3-pentafluoroprop anoate			
			Tricosyl trifluoroacetate \$\$ Trico	721266	998721-26-6	93
			syl 2,2,2-trifluoroacetate			



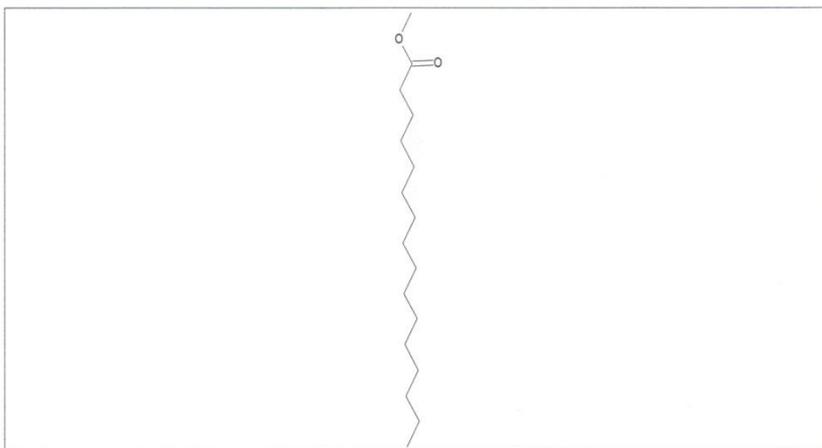
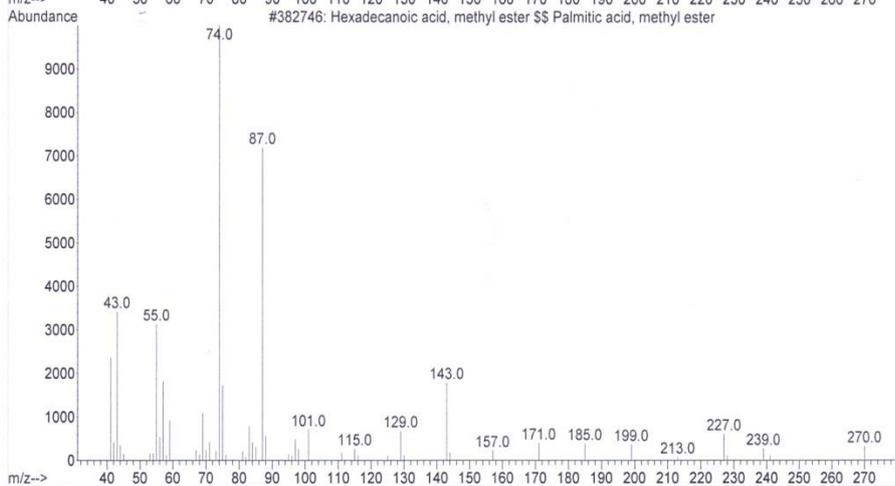
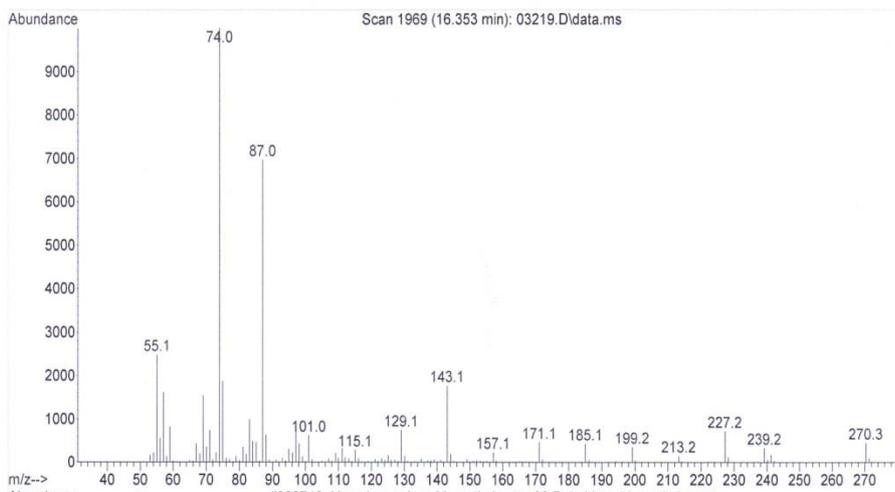
Library Searched : C:\Database\W9N11.L  
 Quality : 98  
 ID : 7-Hexadecene, (Z)- \$\$ (7Z)-7-Hexadecene \$\$ cis-7-Hexadecene \$\$ (Z)-7-Hexadecene



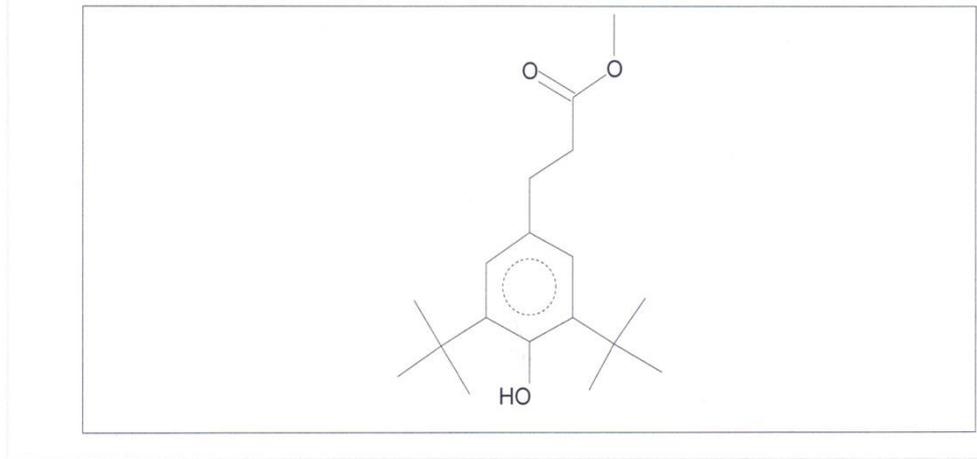
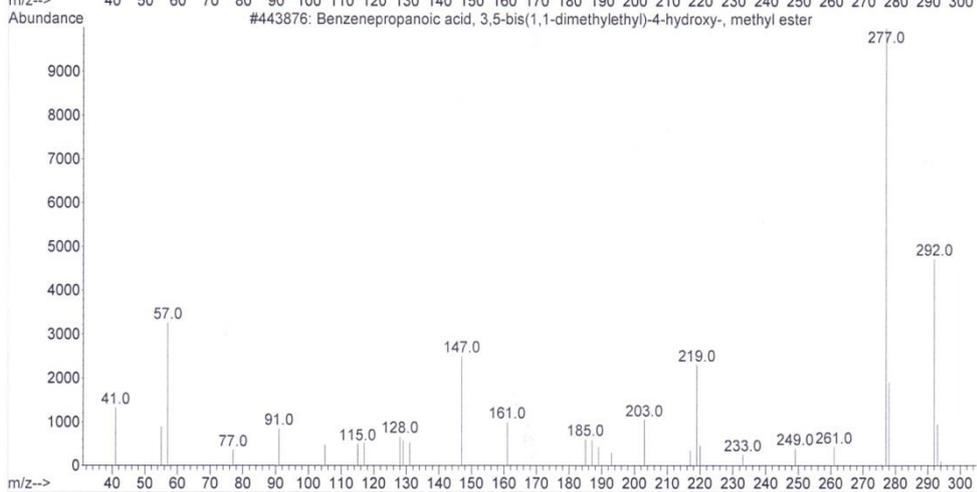
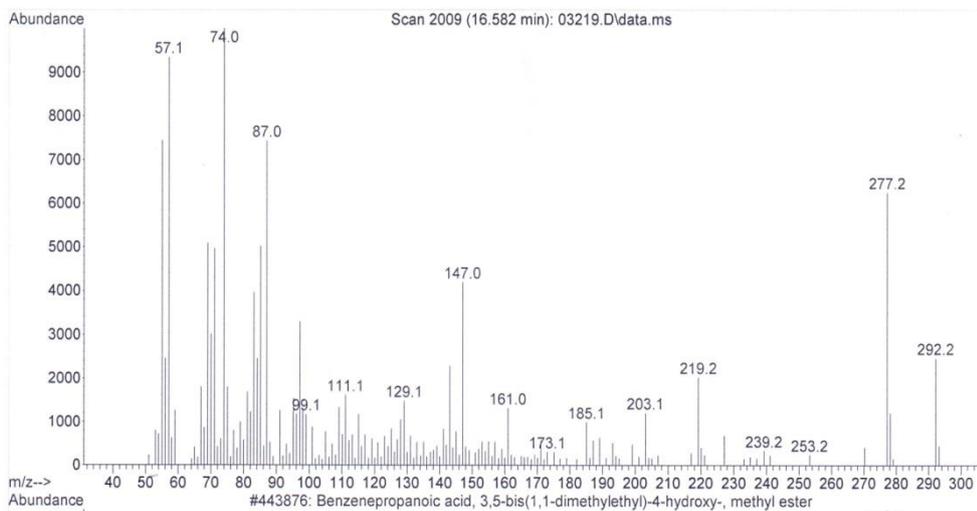
Library Searched : C:\Database\W9N11.L  
Quality : 95  
ID : 1-Nonadecene \$\$ Nonadec-1-ene



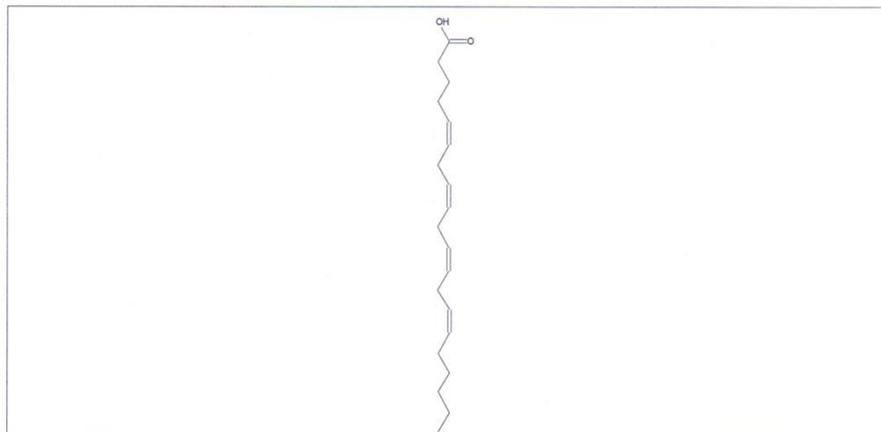
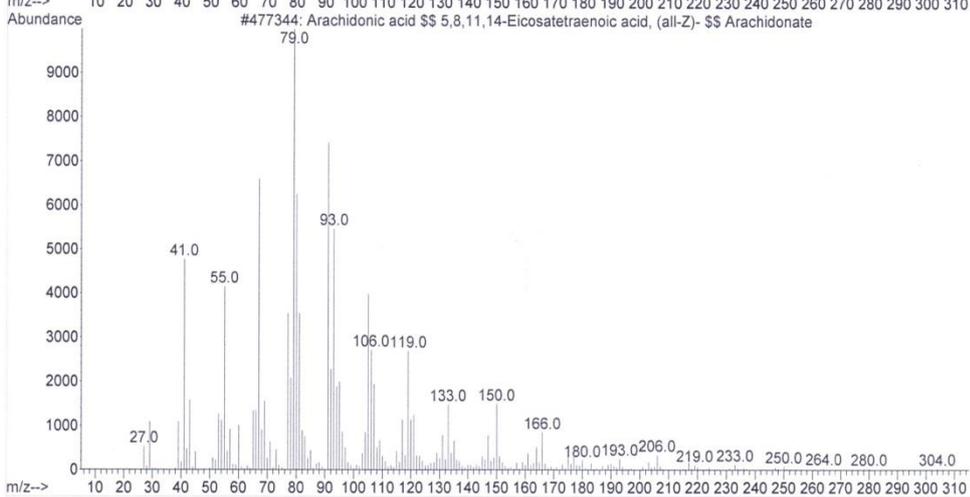
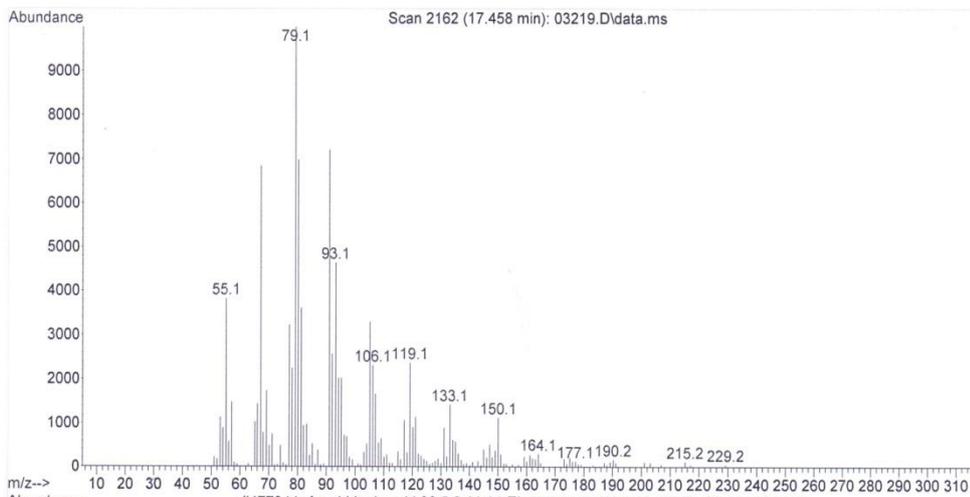
Library Searched : C:\Database\W9N11.L  
 Quality : 98  
 ID : Hexadecanoic acid, methyl ester \$\$ Palmitic acid, methyl ester



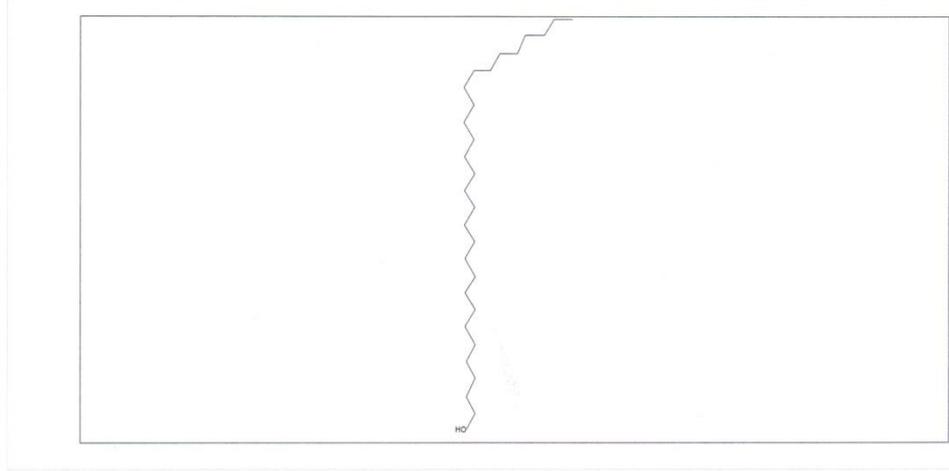
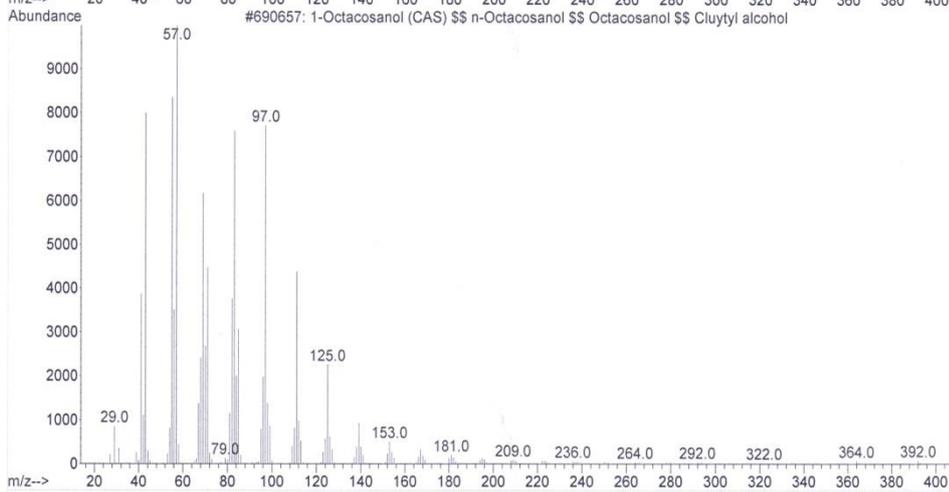
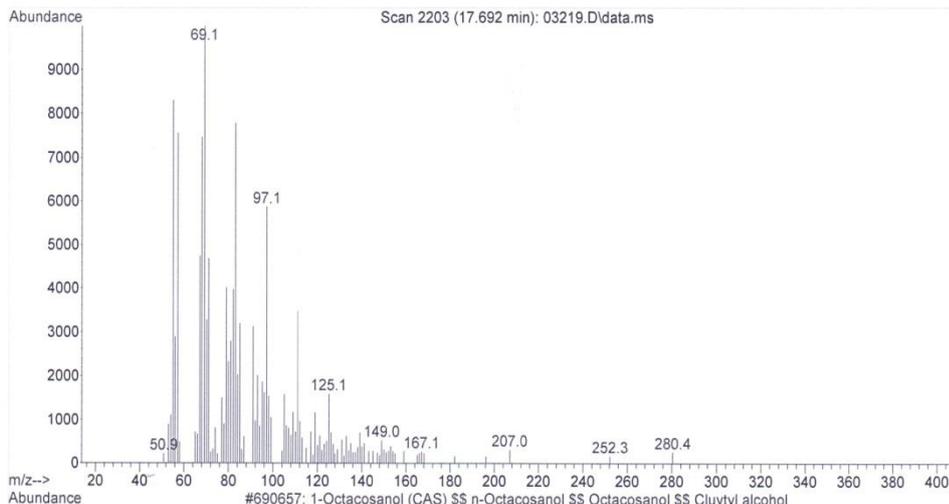
Library Searched : C:\Database\W9N11.L  
 Quality : 91  
 ID : Benzenepropanoic acid, 3,5-bis(1,1-dimethylethyl)-4-hydroxy-, methyl ester



Library Searched : C:\Database\W9N11.L  
 Quality : 95  
 ID : Arachidonic acid \$\$ 5,8,11,14-Eicosatetraenoic acid, (all-Z)- \$\$ A  
 rachidonate



Library Searched : C:\Database\W9N11.L  
 Quality : 87  
 ID : 1-Octacosanol (CAS) \$\$ n-Octacosanol \$\$ Octacosanol \$\$ Cluytyl alc  
 ohol



Library Searched : C:\Database\W9N11.L  
 Quality : 94  
 ID : Nonadecyl trifluoroacetate

