

Efek Ekstrak Alga Coklat (*Sargassum* sp.) sebagai Supresor Protein Bcl-2 *in vitro* pada Sel HeLa

Neshya Ruriana Putri*, Diana Lyrawati**, M. Rasjad Indra*

ABSTRAK

Prevalensi kanker rahim di Indonesia masih tinggi. Protein Bcl-2 salah satu protein yang menghambat apoptosis melalui jalur mitokondria. Pada kanker serviks terjadi mutasi p53 sehingga Bcl-2 mengalami ekspresi berlebihan. Terapi kanker serviks menggunakan bahan kimia dapat menimbulkan banyak efek samping. Senyawa anti kanker dari bahan alam yang sedikit menimbulkan efek samping diharapkan mampu mempengaruhi ekspresi protein Bcl-2. Pada semua jenis *Sargassum* sp. mengandung fukosantin dengan kadar tinggi. Fukosantin dapat menurunkan ekspresi protein Bcl-2 pada sel kanker. Tujuan penelitian ini adalah membuktikan bahwa pemberian ekstrak alga coklat (*Sargassum* sp.) dapat menghambat ekspresi Bcl-2 pada kanker serviks (sel HeLa). Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan rancangan *true experimental*. Sampel yang digunakan adalah sel HeLa yang terbagi atas 1 kontrol dan 3 perlakuan. Kelompok I adalah kontrol sel HeLa. Kelompok II-IV diberi perlakuan ekstrak alga coklat dengan kadar yang berbeda-beda (31,25 µg/ml, 62,5 µg/ml, dan 125 µg/ml). Semua kelompok diinkubasi selama 24 jam. Parameter yang diukur adalah ekspresi Bcl-2 pada sel HeLa yang dideteksi secara imunohistokimia. Hasil analisis statistika menunjukkan bahwa ekstrak alga coklat menurunkan ekspresi Bcl-2 sel HeLa secara signifikan (ANOVA, $p = 0,000$; $R^2 = 0,947$). Penurunan ekspresi Bcl-2 mulai terlihat sejak pemberian ekstrak *Sargassum* dengan kadar 31,25 µg/ml. Pemberian ekstrak alga coklat kadar 31,25 µg/ml, 62,5 µg/ml, dan 125 µg/ml menurunkan ekspresi Bcl-2 sebesar 21 %, 44 %, dan 68 %. Kesimpulan penelitian ini adalah ekstrak alga coklat (*Sargassum* sp.) mampu menurunkan ekspresi Bcl-2 sel HeLa dengan kadar efektif terendah 31,25 µg/ml.

Kata kunci: Bcl-2, Ekstrak alga coklat (*Sargassum* sp.), Sel HeLa.

Effect of Extract Brown Algae (*Sargassum* sp.) as Bcl-2 Protein Suppressor on HeLa Cell

ABSTRACT

The prevalence of cervical cancer in Indonesia is still high. Bcl-2 is protein that prevents apoptosis through mitochondrial pathway. Cervical cancer caused by a mutation of p53 thus Bcl-2 are excessive expressed. Cervical cancer therapy using chemicals can cause many side effect. Anticancer compounds from natural materials that cause less side effect expected to affect the expression of Bcl-2 protein group. In all types of *Sargassum* sp. contains of high fukoxanthin. Fukoxanthin can reduce Bcl-2 expression in cancer cell. The purpose of this study is to find out that the extract of brown algae (*Sargassum* sp.) can inhibit the expression of Bcl-2 in cervical cancer (HeLa cell). This study is experimental laboratory with a true experimental design. The samples used were HeLa cells that assigned into control and 3 treatment groups. Group I is control group. Groups II-IV were treated with brown algae (*Sargassum* sp.) extract with different levels (31.25 µg/ml; 62.5 µg/ml; and 125 µg/ml). All groups are incubated for 24 hours. Measured parameter is Bcl-2 expression on HeLa cell by immunohistochemistry. Results of analysis showed that the extract of brown algae reduced expression of Bcl-2 of HeLa cells significantly (ANOVA, $p = 0.000$; $R^2 = 0.947$). Decreased expression of Bcl-2 already observed since extract of *Sargassum* added at 31.25 µg/ml. Administration of brown algae extract at 31.25 µg/ml, 62.5 µg/ml, and 125 µg/ml can decreased the expression of Bcl-2 by 21 %, 44 %, and 68 %, respectively. It is concluded that extract of brown algae (*Sargassum* sp.) reduce the expression of Bcl-2 of HeLa cells with lowest effective concentration of 31.25 µg/ml.

Keywords : Bcl-2, Extract brown algae (*Sargassum* sp.), HeLa cells.

* Program Studi Pendidikan Dokter, FKUB

** Program Studi Farmasi, FKUB

***Lab Ilmu Faal, FKUB

PENDAHULUAN

Kanker leher rahim atau kanker serviks merupakan kanker kedua terbanyak ditemukan pada wanita setelah kanker payudara dan merupakan penyebab kematian utama pada wanita. Diperkirakan 500.000 kasus baru kanker leher rahim terjadi setiap tahunnya di dunia, 80% dari kasus tersebut terdapat di negara-negara yang sedang berkembang.¹ Data kanker serviks dari 11 pusat di Indonesia pada tahun 2002 menunjukkan kanker serviks menempati urutan pertama dari 10 tumor tersering.² Di Indonesia sendiri diperkirakan ada sekitar 41 kasus baru setiap harinya yang berujung dengan kematian rata-rata 20 orang per hari.³ Insidensi kanker serviks terbanyak pada usia 45-54 tahun baik berdasarkan lokal maupun tumor primer.⁴

Perkembangan sel normal menjadi kanker merupakan proses yang kompleks dan bertahap (*multistep process*). Tahap perkembangan sel kanker tersebut antara lain inisiasi, promosi dan progresi. Sel – sel kanker yang tumbuh berlebihan terjadi akibat proses aktivitas proliferasi sel yang berlebihan. Apoptosis adalah kematian sel yang dipicu oleh sel itu sendiri. Apoptosis dikendalikan oleh 2 perangkat protein dengan fungsi yang antagonistik yaitu memicu dan menghambat. protein tersebut adalah p53 (memicu apoptosis) dan protein Bcl-2 salah satu gen yang menghambat apoptosis. Pada banyak jenis kanker diketahui bahwa terjadi mutasi homozigot dari gen p53 sehingga apoptosis tidak terjadi dan protein Bcl-2, mengalami ekspresi berlebihan, sehingga sel yang seharusnya apoptosis tetap hidup dan menimbulkan kanker.⁵

Kanker serviks secara medis diobati dengan berbagai metode pengobatan, seperti bedah laser, ionisasi, *cryosurgery*, histoerektomi total dan radikal, radiasi, kemoterapi menggunakan sisplatin dan

pengobatan kombinasi.⁶ Efek samping dari kemoterapi dan radiasi diantaranya adalah terjadi penurunan jumlah sel-sel darah, infeksi, anemia, pendarahan seperti mimisan, rambut rontok.⁷

Mekanisme aksi beberapa obat anti-kanker telah diketahui cara kerjanya yaitu dengan menghambat jalannya metabolisme asam folat dan menghambat proses proliferasi sel. Obat-obat ini dapat bekerja sebagai antiproliferatif. Penelusuran mekanisme yang lain yang diharapkan dapat memperbaiki sistem sel kanker yakni dengan pemacuan apoptosis. Senyawa anti kanker dari bahan alam diharapkan mampu mempengaruhi ekspresi protein kelompok Bcl-2 yang merupakan protein dalam pengaturan apoptosis.⁸

Kekayaan alam biota laut Indonesia terkenal sebagai salah satu *megacenter* utama keanekaragaman hayati dunia dengan sekitar 40.000 jenis tumbuhan sebagai unsur floranya. Salah satu potensi biota laut perairan Indonesia adalah alga makro atau dikenal dalam perdagangan sebagai rumput laut (*seaweed*). Empat kelas cukup besar dalam divisio ini adalah Chlorophyceae (alga hijau), Phaeophyceae (alga coklat), Rhodophyceae (alga merah), dan Cyanophyceae (alga biru-hijau).⁹ Di Indonesia diperkirakan terdapat lebih dari 15 jenis alga sargassum yang merupakan salah satu alga coklat. Alga sargassum tumbuh sepanjang tahun dan bersifat parenial.¹⁰

Tujuan dari penelitian ini adalah membuktikan bahwa pemberian ekstrak alga coklat (*Sargassum* sp.) dapat menghambat ekspresi protein Bcl-2 pada sel HeLa. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menambah alternatif pengobatan kanker serviks yang lebih efektif, efisien, dan mempunyai efek samping yang minim sehingga mampu meningkatkan taraf kesehatan masyarakat.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik dengan rancangan *true experimental post test group only design*. Populasi penelitian ini adalah sel HeLa yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Kriteria inklusi penelitian ini adalah sel HeLa yang yang hidup dan *immortal*. Kriteria eksklusi penelitian ini adalah sel HeLa yang mati sebelum dilakukan perlakuan. Perlakuan dalam penelitian ini dibagi menjadi empat kelompok yaitu: Kelompok I (kontrol negatif) adalah sel HeLa tanpa perlakuan ekstrak alga coklat; perlakuan II adalah sel HeLa diberi ekstrak alga coklat dengan konsentrasi 31,2 µg/ml; perlakuan III adalah sel HeLa diberi ekstrak alga coklat dengan konsentrasi 62,5 µg/ml; dan perlakuan IV dan sel HeLa diberi ekstrak alga coklat dengan konsentrasi 125 µg/ml.

Alat-alat ekstraksi alga coklat: 1 set alat evaporasi terdiri dari; labu penampung, pendingin spiral, labu rotasi ekstraksi, waterbath, dan vakum, klem statis, selang plastik, *waterpump*, bak penampungan aquades, tabung penampung hasil ekstraksi, cawan penguap.

Alat-alat untuk kultur sel HeLa: LAF, *blue tip* steril, tabung sentrifus 15 ml, pipet, mikropipet, inkubator CO₂.

Alat-alat untuk uji imunositokimia Bcl-2: miropipet, tabung reaksi, rak tabung kecil, vortex, *cover slip*, *object glass*, *24-well plate*.

Bahan-bahan untuk ekstraksi alga coklat yaitu 496,16 g alga coklat (*Sargassum binderi*) atau (*Sargassum sp.*), metanol 95%, aseton, dietil eter, CaCO₃ 0,5 g, aquades.

Bahan-bahan untuk kultur sel HeLa: PBS 1x, media RPMI-1640 (1-glutamin), foetalbovin serum (FBS), fungison 0,5 %, penisilin streptomisin 2 % (Gibco), Tripsin-EDTA 1x (tripsin 0,25%).

Bahan-bahan untuk uji ekstrak alga coklat terhadap sel HeLa yaitu media kultur DMSO, ekstrak alga coklat.

Bahan-bahan untuk imunositokimia Bcl-2 yaitu antibodi Bcl-2, biotinilate, kit universal streptavidin-biotin, DMSO, larutan hidrogen peroksida, xylol, PBS 1x, serum albumin, methanol.

Pembuatan Ekstrak Alga Coklat

Ekstraksi dan evaporasi alga coklat dilakukan dengan cara alga coklat segar dicuci dengan air untuk menghilangkan kotoran yang menempel, sampel dipotong-potong sebesar 1 cm, ditimbang 496 g, sampel dihaluskan dengan mortar dan ditambahkan CaCO₃ 0,5 g, dan dimaserasi dalam aseton:methanol (7:3) sebanyak 750 ml selama 60 menit, diulang 4 kali perendaman, lalu disaring dengan kertas saring. Filtrat dipartisi dalam dietil eter kemudian ditambah garam grosok dan air ledeng. Kemudian terbentuk 2 fase, fase atas dibuang dan fase bawah digunakan. Sampel diuapkan dengan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 30 °C pada 100 rpm, Sampel dikeringkan dengan gas nitrogen dan siap diencerkan.

Kultur Sel HeLa

Kabinet kultur dibersihkan dengan menggunakan alkohol 70 %. Siapkan media kultur yang sesuai untuk sel, yaitu 3 ml media kultur dalam *conical tube* baru, masukkan *dish* untuk subkultur baru dan beri penandaan, tuang supernatan media kultur ke dalam pembuangan. Tambahkan 4 ml media kultur baru, resuspensi sel hingga homogen. Transfer masing-masing 2 ml suspensi ke dalam 2 dish dengan menggunakan mikropipet dan teteskan sejajar. Tambahkan masing-masing 5 ml media kultur ke dalam dish, homogenkan. Amati kondisi sel dengan mikroskop. Simpan sel ke dalam inkubator CO₂. Penentuan dosis ekstrak *Sargassum sp.* pada penelitian

sebelumnya diketahui bahwa LC 50 = 250 µg/ml. Selanjutnya, pada penelitian ini digunakan 3 konsentrasi di bawah LC 50 yaitu 125 µg/ml, 62,5 µg/ml, dan 31,25 µg/ml.

HASIL

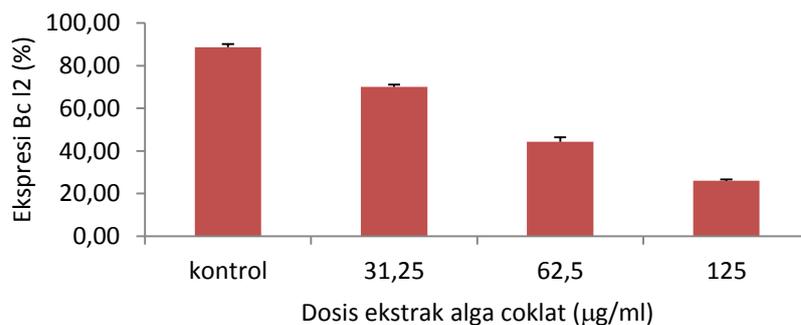
Pada penelitian ini didapatkan data hasil untuk masing-masing kelompok perlakuan. Penelitian ini terdiri dari empat macam perlakuan, yaitu kelompok I adalah sel HeLa tanpa diberi perlakuan ekstrak alga coklat (kontrol). Kelompok II, III dan IV adalah sel HeLa diberi ekstrak alga coklat dengan dosis berbeda (125, 62,5, dan 31,25 µg/ml) dan diinkubasi selama 24 jam.

Deteksi ekspresi Bcl-2 dilakukan terhadap seluruh kelompok dengan menggunakan metode imunositokimia. Gambaran hasil pewarnaan ekspresi Bcl-2 pada sel HeLa ditampilkan pada Gambar 1. dan hasil pengukuran rata-rata persentase ekspresi Bcl-2 sel HeLa pada masing-masing kelompok perlakuan ditampilkan pada Tabel 1. Rata-rata persentase ekspresi Bcl-2 pada masing-masing perlakuan dihitung dengan cara menjumlahkan semua sel HeLa yang mengekspresikan Bcl-2 pada masing-masing kelompok perlakuan dibagi dengan jumlah sel pada masing-masing kelompok perlakuan dan dikalikan seratus persen. Hasilnya kemudian dijumlahkan atau dikurangkan dengan standar deviasi.

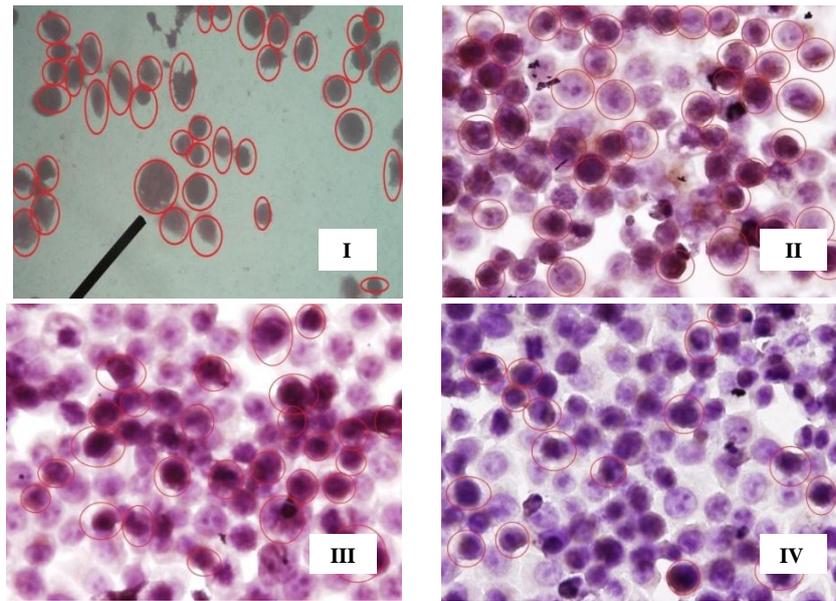
Tabel 1. Rata-rata persentase ekspresi Bcl-2 pada sel HeLa

Dosis (µg/ml)	Rata-rata (%)	SD
kontrol	88,63 a	1,50
31,25	70,03 b	1,14
62,5	44,27 c	2,05
125	26,00 d	0,68

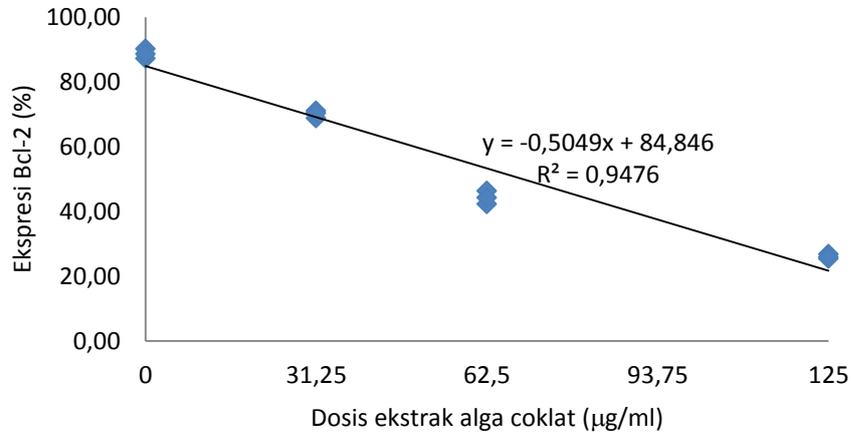
Keterangan : rata-rata dari persentase ekspresi Bcl-2 dengan 3 kali pengulangan, SD : standard deviasi



Gambar 1. Rata-rata persentase ekspresi Bcl-2 pada sel HeLa



Gambar 2. Ekspresi Bcl-2 pada sel HeLa yang berwarna coklat (lingkaran merah) yang dideteksi dengan metode imunohistokimia (1000x). Keterangan: (I) Kontrol; (II) Perlakuan dengan ekstrak alga coklat 31,25 µg/ml; (III) Perlakuan dengan ekstrak alga coklat 62,5 µg/ml; (IV) Perlakuan dengan ekstrak alga coklat 125 µg/ml



Gambar 3 Hubungan dosis ekstrak alga coklat dengan ekspresi Bcl-2 pada sel HeLa

Analisis *one way* ANOVA terhadap ekspresi Bcl-2 pada sel HeLa berdasarkan Gambar 1 menunjukkan bahwa pada kelompok II, III, dan IV yang diberikan ekstrak alga coklat menunjukkan ekspresi Bcl-2 yang lebih rendah dibandingkan dengan ekspresi Bcl-2 kelompok kontrol ($p = 0,000$).

Hasil uji Tukey HSD menunjukkan perbedaan persentase ekspresi Bcl-2 sel HeLa secara nyata antara kelompok I (kontrol) dengan kelompok II (ekstrak alga coklat 31,25 µg/ml) ($p = 0,000$), kelompok III (ekstrak alga coklat 62,5 µg/ml) ($p = 0,000$), dan kelompok IV (ekstrak alga coklat 125 µg/ml) ($p = 0,000$).

Hasil observasi dan analisis statistik menunjukkan bahwa persentase ekspresi Bcl-2 sel HeLa pada kelompok perlakuan (II - IV) cenderung lebih rendah bila dibandingkan dengan ekspresi Bcl-2 pada kelompok I. Oleh karena itu dapat dikatakan bahwa alga coklat memiliki efek menurunkan ekspresi Bcl-2 pada sel HeLa.

PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan adanya potensi alga coklat sebagai substansi yang dapat menghambat dan mengatasi terjadinya kanker lebih lanjut. Hal ini dimungkinkan karena adanya efek antikanker (proapoptosis) dari alga coklat melalui salah satu kandungannya yaitu fukosantin.

Pada penelitian yang telah dilaporkan oleh Dedi *et al* (2011) dengan metode ekstraksi modifikasi menggunakan aseton dan methanol pada *Sargassum binderi* dapat menghasilkan fukosantin murni sebanyak $\pm 0,73$ mg/g berat kering.¹¹ Pada penelitian ini dilakukan metode ekstraksi modifikasi yang sama pada 496 g alga coklat segar dan menghasilkan 2,28 g ekstrak kasar alga coklat, sehingga diperoleh kandungan fukosantin dalam ekstrak kasar alga coklat tersebut adalah $\pm 0,477$ g. Ekstrak alga coklat dengan konsentrasi 31,25 $\mu\text{g/ml}$ mengandung 6,5 $\mu\text{g/ml}$ fukosantin, pada konsentrasi 62,5 $\mu\text{g/ml}$ mengandung 13 $\mu\text{g/ml}$ fukosantin, dan pada konsentrasi 125 $\mu\text{g/ml}$ mengandung 26,1 $\mu\text{g/ml}$ fukosantin.

Fukosantin yang ditemukan dalam alga coklat termasuk ke dalam golongan karotenoid, yang biasa dikonsumsi sebagai sayur dan telah difokuskan pada aktivitas antikanker. Apoptosis yang diinduksi oleh fukosantin pada sel leukemia (HL-60) dihubungkan dengan hilangnya kemampuan mitokondria dalam mengekspresikan Bcl-XI yang diikuti oleh aktivasi caspase-9 dan 3.^{12,13} Kemampuan menginduksi apoptosis berhubungan dengan peningkatan induksi

terhadap protein proapoptosis Bax dan Bak serta regulasi dalam menurunkan jumlah protein antiapoptosis Bcl-2 dan Bcl-xL.^{14,15} Fragmentasi DNA pada sel kanker kolon (CaCo-2) yang diberi fukosantin, menghilang secara signifikan oleh *caspase-inhibitor* Z-VAD-f media kultur. Namun, kemampuan Z-VAD-f media kultur untuk menghilangkan fragmentasi DNA hanya sebesar 40 %. Hal ini menunjukkan bahwa sinyal apoptosis pada sel CaCo-2 yang diinduksi oleh fukosantin dimediasi oleh jalur *caspase-independent* yang diinisiasi oleh kematian reseptor dan *caspase-dependent* (mitokondria). Paparan dari fukosantin secara *in vitro* menurunkan level *apoptosis-suppressing protein* Bcl-2 pada sel CaCo-2 (kanker kolon). Hal ini mengindikasikan bahwa penurunan regulasi dari protein Bcl-2 berkontribusi pada apoptosis yang diinduksi oleh fukosantin pada kanker kolon (CaCo-2).¹⁶

Fukosantin memiliki struktur yang unik termasuk di dalamnya ikatan *allenic* dan 5,6-monoepoxide di dalam molekulnya. Epoxy- β carotene, neoxanthine, halocynthiaxanthine, dan fukosantin termasuk dalam molekul epoxide yang dapat menginduksi tanda-tanda penurunan dalam pertumbuhan leukimia dan kanker prostat.¹⁷ Pada penelitian sebelumnya telah dilaporkan aktivitas antioksidan pada fukosantin.¹⁸ Namun, pro-oksidan dari karoten memperlihatkan induksi apoptosis melalui produksi *reactive oxygen species*.¹⁸ Hal ini menjelaskan bahwa karoten dapat berperan sebagai antioksidan dan prooksidan yang tergantung pada lingkungan sekitarnya.

Pada penelitian sebelumnya, untuk melihat efek *geometrical isomer* fukosantin terhadap regulasi protein apoptosis menunjukkan adanya penurunan dari ekspresi Bcl-2 dengan pemberian fukosantin dalam bentuk *all-trans* dan campuran 13-*cis* dan 13'-*cis* selama 24 jam pada HL-60 (sel leukimia). Perlakuan dengan isomer fuko-

santin tersebut dapat menurunkan ekspresi protein Bcl-2. Efek menurunkan ekspresi Bcl-2 terlihat lebih kuat pada pemberian campuran 13-*cis* dan 13'-*cis*. Hal ini terbukti dengan pemberian isomer fukosantin *all trans* dengan kadar 20 μM selama 24 jam pada sel HL-60 (sel leukimia), sel yang masih mengekspresikan Bcl-2 sebanyak 60 sel. Sementara isomer fukosantin campuran 13-*cis* dan 13'-*cis* dengan kadar 20 μM selama 24 jam, menginduksi ekspresi Bcl-2 hanya pada 40 sel.¹⁹ Hal ini disebabkan karena ikatan *cis* lebih polar dan lebih mudah bergabung dengan lipoprotein maupun struktur lipid seluler, sehingga lebih mudah masuk ke dalam sel. Fukosantin merupakan golongan karoten yang mempunyai interaksi langsung terhadap faktor transkripsi yaitu melalui reseptor *ligand-activity nuclear*.

Pada hasil penelitian ini, pemberian ekstrak alga coklat 31,25 $\mu\text{g/ml}$, 62,5 $\mu\text{g/ml}$, 125 $\mu\text{g/ml}$ dapat berpotensi menurunkan ekspresi Bcl-2 sebesar 21 %, 44 %, dan 68 % pada sel HeLa. Berdasarkan hasil regresi didapatkan bahwa setiap penambahan 1 $\mu\text{g/ml}$ dosis ekstrak alga coklat dapat menurunkan ekspresi Bcl-2 sebesar 0,5 %.

Kanker serviks adalah tumor yang aktivitas vaskulemya cukup tinggi sehingga memungkinkan pembuluh darah sebagai penyalur nutrisi. Strategi untuk mengganggu pembuluh darah sel kanker hingga mati akan membuat sel kanker tidak mendapat asupan nutrisi. Dengan demikian, aksi antitumor yang berasal dari *fucoidan* dikarenakan adanya potensi anti-*angiogenic*.²⁰ Polisakarida yang berasal dari alga coklat (*Sargassum stenophyllum*) menunjukkan *antivascuogenic* yang mungkin mengganggu selama formasi mikrovaskuler terjadi.²¹ Bagaimanapun, kanker merupakan penyakit multifaktorial yang membutuhkan terapan terapi multimodal. Invasi sel kanker dan adhesi pada matriks protein adalah langkah

penting dalam pembentukan metastasis. Maka dari itu, aktivitas alga coklat (*Spatoglossum schroederi*) dalam menghambat adhesi sel terhadap beberapa ekstraseluler matriks protein sehingga dapat mencegah metastasis.²²

Hal yang menarik dari alga coklat adalah variasi aktivitas biologinya khususnya pada potensinya sebagai antikanker. Namun, hal ini perlu diteliti lebih lanjut apakah induksi apoptosis oleh ekstrak alga coklat dikarenakan hanya oleh fukosantin atau merupakan efek gabungan senyawa atau *multiple agent* yang terkandung didalamnya. Ekstrak *Sargassum binderi* menunjukkan efek anti proliferasi pada sel HeLa secara *in vitro* melalui perubahan morfologi di dalam sel, seperti membran plasma *blebbing*, kondensasi kromatin, dan fragmentasi DNA.²³

Ekstrak alga coklat (*Sargassum binderi*) lebih sedikit toksik daripada kemoterapi (doxorubicin) yang digunakan untuk melawan kanker, pada dosis 200 $\mu\text{g/ml}$ ekstrak *Sargassum binderi* dapat menurunkan viabilitas sel HeLa sebanyak 20 %, sedangkan doxorubicin dengan dosis 6 $\mu\text{g/ml}$ menurunkan jumlah sel HeLa kurang dari 10 %.²⁷ Hal ini dapat menjadi potensi obat-obatan alami yang dikombinasikan dengan senyawa kemoterapi yang mungkin dapat meningkatkan kemanjuran dan menurunkan efek samping.^{24,25} Fakta ini dapat meningkatkan kemungkinan bahwa alga coklat memiliki potensi sebagai antikanker.

Dalam penelitian ini dapat diketahui bahwa ekspresi Bcl-2 mulai terlihat menurun sejak pemberian ekstrak alga coklat (*Sargassum sp.*) kadar 31,25 $\mu\text{g/ml}$ pada sel HeLa. Namun demikian, masih belum diperoleh dosis optimal yang bila ditingkatkan tidak memberi efek yang lebih baik dan memiliki efek samping minimal.

KESIMPULAN

Ekstrak alga coklat (*Sargassum* sp.) secara signifikan dapat menurunkan persentase ekspresi Bcl-2 pada sel HeLa sebanyak 62 %. Dosis paling rendah dari ekstrak alga coklat (*Sargassum* sp.) yang dapat menurunkan ekspresi Bcl-2 pada sel HeLa adalah 31,25 µg/ml.

DAFTAR PUSTAKA

- Melva. Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Kejadian Kanker Leher Rahim pada Penderita yang Datang Berobat di RSUP H. Adam Malik Medan Tahun 2008. Tesis. Medan: Program Pasca Sarjana Universitas Sumatera Utara. 2008.
- [PDS PATKLIN] Perhimpunan Dokter Spesialis Patologi Indonesia. *Kanker di Indonesia Tahun 2002 Data Histopatologi*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2002.
- Maulanusantara. Cegah Kanker Serviks Sekarang. 2009. (online). <http://maulanusantara.wordpress.com/2009/08/19/mari-peduli-dengan-bahaya-kanker-serviks/>.
- Clarisa A. Respon Limfosit Lokal pada Kejadian Rekurensi Kanker serviks di Rumah Sakit Dr. Kariadi Semarang. Skripsi tidak diterbitkan. Semarang: Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. 2009.
- Asri A. Pengaruh Pemberian Perasan Seledri Terhadap Aktivitas Proliferasi Sel, Indeks Apoptosis dan Perubahan Histopatologi Mukosa Kolon Tikus Wistar. Tesis tidak diterbitkan.. Semarang: Universitas Diponegoro. 2004.
- Radji M, Aldrat H. Penggunaan Obat Herbal pada Pasien Kanker Serviks. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 2010; 8(1):33-39.
- Rita. Khasiat Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya* Linn.) sebagai Antikanker. Skripsi.Pontianak: Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Tanjungpura. 2010.
- Rumiyanti. Protein Kelompok Bcl-2 sebagai Target Senyawa Antikanker. *Jurnal Kedokteran Yarsi*. 2006; 14(3):238-242.
- Waryono T. Biogeografi Alga Makro (Rumput Laut) di Kawasan Pesisir Indonesia. *Kumpulan Makalah Periode 1987-2008*. 2008.
- Fahri M. Kajian Kandungan Metabolit Sekunder dari Alga Coklat *Sargassum cristaefolium*. Tesis. Malang: Program Pasca Sarjana Universitas Brawijaya. 2009.
- Dedi N, Jaswir I, Salleh HM, Taher M, Miyashita K, Ramli N. Fucoxanthin Extraction and Fatty Acid Analysis of *Sargassum binderi* and *S. Duplicatum*. *Journal of Medicinal Plants Research*. 2011; 5(11): 2405-2412.
- Hosokawa M, Wanezaki S, Miyauchi K, Kurihara H, Kohno H, Kawabata J, Odashima S, Takahashi K. Apoptosis-Inducing Effect of Fucoxanthin on Human Leukemia Cell HL-60. *Food Science and Technology Research*. 1999; 5:243-46.
- Kotake-Nara E, Terasaki M, Nagao A. Characterization of Apoptosis Induced by Fucoxanthin in Human Promyelocytic Leukemia Cells. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*. 2005; 69:224-27.
- Zhang. Benzyl Isothiocyanate Induces DNA-Damage Causes G2/M Cycle Arrest and Apoptosis in Human Pancreatic Cancer Cells (Abstract). 2006.
- Xiao D. Benzyl Isothiocyanate-Induced Apoptosis in Human Breast Cancer Cells is Initiated by Reactive Oxygen

- Species and Regulated by Bax and Bak. 2006.
16. Ketoke-Nara E, Kushito M, Zhang H, Sugawara T, Miyashita K, Nagao A. Carotenoids Affect Proliferation of Human Prostate Cancer Cells. *J Nutr.* 2001; 131 :3303-3306.
 17. Satomi H, Tokuda H, Fujii N, Shimizu Y, Tanaka H, Nishino. Antitumor-Promoting Activity of Fucoxanthine, A Natural Carotenoid. *J Kyoto Prefect Univ Med.* 1997; 105:739-743.
 18. Palozza S, Serini A, Torsello FD, Nicuolo E, Piccioni V, Ubaldi C, Pioli F, Wolf I, Calvieollo G. β Carotene Regulates NF-Kb DNA-Binding Activity by A Redox Mechanism in Human Leukemia and Colon Adenocarcinoma Cells. *J Nutr.* 2003; 133:381-388.
 19. Nakazawa Y, Sashima, Hosokowa M, Miyashita. Comperative Evaluation Stereoisomer of Fucoxanthine in Human Line Cancer. *Journal of foods.* 2009;1(1): 89-97.
 20. Koyanagi S, Tanigawa N, Nakagawa H, Soeda S, Himeno H. Oversulfation of Fucoidan Enhances Its Anti-Angiogenic and Antitumor Activities. *Biochem Pharma.* 2003; 65:173-79.
 21. Dias PF, Siqueira JM, Maraschin M, Ferreira AG, Gagliardi AR, Ribeirooalle RM. A Polysaccharide Isolated from The Brown Seaweed *Sargassum stenophyllum* Exerts Antivasculogenic Effects Evidenced by Modified Morphogenesis. *Microvascular Research.* 2008; 75:34-44.
 22. Rocha HAO, Franco CRC, Trindade ES, Carvalho CM, Veiga SS, Leite EL, Dietrich CP, Nader HB. A Fucan from The Brown Seaweed *Patoglossum schroederi* Inhibits Chinese Hamster Ovary Cell Adhesion to Several Extracellular Matrix Proteins. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research.* 2001; 34:621-26.
 23. Saengkhae C, Jongaramruong J, Noiraksar T, Piekpia J. Antiproliferative and Apoptosis-Inducing Activities of Extracts from *Sargassum binderi* Sonder on Human Cervical Cancer Cells. *Burapha Sci J.* 2010; 1(15):3-12.
 24. Philchenkov A, Zavelevich M, Imbs T, Zvyagintseva T, Zaporozhets T. Sensitization of Human Malignant Lymphoid Cells to Etoposide of Fucoxanthin on Human Leukemia Cell HL-60 by Fucoidan, A Brown Seaweed Polysaccharide. *Food Experimental Oncology.* 2007; 29(3):181-5.
 25. Hur S, Lee H, Kim Y, Lee BH, Shin J, Kim TY. Sargaquinoic Acid & Sargachromeno, Extracts Of *Sargassum Sagamianum*, Induce Apoptosis in HacaT Cells and Mice Skin: Its Potentiation of UVB-Induced Apoptosis. *Journal of Pharmacology.* 2008; 582:1-11.