

ABSTRAK

BIOAKTIVITAS EKSTRAK *Sargassum polycystum* C. AGARDH SEBAGAI ANTIKANKER DAN INHIBITOR DNA METILTRANSFERASE (DNMT1)

Oleh

Windy Widowaty

NIM : 30513009

(Program Studi Doktor Kimia)

Kanker merupakan penyakit yang disebabkan oleh adanya gangguan pada proses pengendalian pertumbuhan. Mutasi pada gen – gen tertentu dapat menginduksi terjadinya instabilitas genetik. Selain itu, faktor epigenetik juga dapat berkontribusi terhadap setiap perkembangan tumor seperti misalnya metilasi pada gen – gen tumor supresor. Epigenetik didefinisikan sebagai penurunan sifat yang diakibatkan oleh ekspresi gen hasil dari perubahan yang terjadi pada struktur kromatin tanpa adanya perubahan urutan DNA. Salah satu mekanisme epigenetik yaitu metilasi DNA yang dikatalisis oleh enzim DNA Metiltransferase (DNMT1). Beberapa bahan alam telah diketahui aktivitasnya sebagai inhibitor DNMT1. Rumput laut atau makroalga merupakan salah satu sumber laut yang melimpah dan sangat beranekaragam. *Sargassum polycystum* C. Agardh adalah salah satu jenis rumput laut coklat (Phaeophyta) yang banyak ditemukan di Indonesia khususnya pantai Sayang Heulang, Kabupaten Garut, Jawa Barat. Eksplorasi *Sargassum polycystum* C. Agardh dalam bidang kesehatan belum banyak dilakukan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan fraksi aktif *Sargassum polycystum* C. Agardh yang memiliki potensi sebagai antikanker dan inhibitor DNA Metiltransferase (DNMT1) dengan menggunakan aktivitas antibakteri dan antioksidan sebagai metode untuk seleksi. Fraksi yang telah berhasil dikarakterisasi selanjutnya dianalisis komponen senyawanya dengan menggunakan GC-MS.

Ekstraksi dilakukan dengan metode Folch yang dimodifikasi dengan menggunakan pelarut kloroform, metanol dan larutan dapar fosfat pH 7,6 dengan perbandingan 2 : 1 : 0,8 v/v. Hasil ekstraksi diperoleh ekstrak kasar metanol-air dan ekstrak kasar kloroform. Ekstrak kasar metanol-air memiliki potensi sebagai antioksidan dengan kemampuan untuk menghambat radikal bebas sebesar $80,25 \pm 1,76$ % sedangkan ekstrak kasar kloroform memiliki potensi sebagai antibakteri dengan nilai rata – rata tertinggi selisih diameter zona bening yang dihasilkan terhadap bakteri *B. cereus* sebesar $5,0 \pm 1,0$ mm. Hasil uji sitotoksitas ekstrak kasar metanol-air dan ekstrak kasar kloroform terhadap sel kanker payudara MCF-7 menunjukkan bahwa ekstrak kasar kloroform mampu menurunkan persentase viabilitas sel sampai $1,22 \pm 0,20$ % sedangkan ekstrak kasar metanol-air mampu menurunkan persentase viabilitas sel sampai $40,32 \pm 4,55$ % pada konsentrasi ekstrak 1000 $\mu\text{g/mL}$. Hasil tersebut menunjukkan bahwa ekstrak kasar kloroform lebih bersifat toksik terhadap sel kanker payudara MCF-7. Selanjutnya dilakukan pemisahan ekstrak kasar dengan metode kromatografi kolom yang diisi silika gel G60 7733 dan

dikelompokkan berdasarkan pola spektrum UV-Vis pada rentang panjang gelombang 200 – 800 nm

Hasil pemisahan dengan menggunakan kromatografi kolom dan pengelompokan berdasarkan pola spektrum UV-Vis diperoleh 8 fraksi ekstrak metanol-air (SF) dan 8 fraksi ekstrak kloroform (SK). Hasil uji fraksi ekstrak metanol-air menunjukkan bahwa fraksi 3 (SF3) memiliki aktivitas sebagai agen pro-oksidan dan dapat menghambat pertumbuhan sel kanker payudara dengan nilai $IC_{50(MTT)}$ yang diperoleh sebesar $162,21 \pm 7,03 \mu\text{g/mL}$. Hasil uji fraksi ekstrak kloroform menunjukkan bahwa fraksi 3 ekstrak kloroform (SK3) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* dengan rata – rata zona bening yang dihasilkan sebesar $8,67 \pm 0,88 \text{ mm}$ dan bakteri *S. aureus* dengan rata – rata zona bening yang dihasilkan sebesar $8,33 \pm 1,67 \text{ mm}$ dan dapat menghambat pertumbuhan sel kanker payudara MCF-7 dengan nilai $IC_{50(MTT)}$ yang dihasilkan sebesar $92,69 \pm 5,68 \mu\text{g/mL}$. Hasil uji fraksi ekstrak *Sargassum polycystum* C. Agardh terhadap aktivitas DNMT1 menunjukkan bahwa SF3 dapat menghambat aktivitas DNMT1 sebanyak 50% ($IC_{50(DNMT1)}$) pada konsentrasi $153 \mu\text{g/mL}$ sedangkan $IC_{50(DNMT1)}$ dari SK3 sebesar $62,1 \mu\text{g/mL}$. Hasil isolasi DNA sel kanker payudara MCF-7 yang diberi perlakuan dengan Decitabine, SF3 dan SK3 dengan masing – masing konsentrasi sebesar $1,14 \mu\text{g/mL}$, $163 \mu\text{g/mL}$ dan $93 \mu\text{g/mL}$, menunjukkan terjadinya fragmentasi DNA yang menunjukkan bahwa dengan pemberian Decitabine dan fraksi aktif *Sargassum polycystum* C. Agardh mampu menurunkan aktivitas DNMT1 dan memicu terjadinya apoptosis dari sel kanker payudara MCF-7.

Hasil – hasil diatas menunjukkan bahwa SK3 memiliki bioaktivitas 2,47 kali lebih tinggi dibandingkan SF3 sebagai inhibitor DNMT1 yang menyumbangkan kemampuannya sebagai anti kanker serta dapat memicu terjadinya apoptosis pada sel kanker payudara MCF-7. Identifikasi komponen senyawa dengan GC-MS menunjukkan fraksi 3 ekstrak kloroform (SK3) terdapat senyawa BHT (*Buthylated hydroxytoluene*), *p*-cresol dan asam ftalat yang diduga saling bersinergi dalam menghambat aktivitas DNMT1. Belum dilaporkan adanya aktivitas senyawa – senyawa tersebut dalam menghambat aktivitas DNMT1 khususnya dari *Sargassum polycystum* C. Agardh.

Kata kunci : *Sargassum polycystum* C. Agardh, antibakteri, antioksidan, aktivitas sitotoksik, aktivitas DNMT1

ABSTRACT

BIOACTIVITY OF *Sargassum polycystum* C. AGARDH EXTRACT AS ANTICANCER AND DNA METHYLTRANSFERASE (DNMT1) INHIBITOR

By

Windy Widowaty

NIM : 30513009

(Doctoral Program in Chemistry)

*Cancer is a disease involving abnormal cell growth that lead to cell death. Certain mutation involving specific genes can led to genetic instability. Epigenetic define as decrease in properties caused by gene expression without any change in DNA sequence. DNA methylation catalized by DNA Methyltransferase is the main mechanism of epigenetic. Several natural plants has been reported as DNMT1 inhibitor. *Sargassum polycystum* C. Agardh is type of brown seaweed (Phaeophyta) which is found in Indonesia, especially the beach of Sayang Heulang, West Java. Bioactivitivy of *Sargassum polycystum* C. Agardh extract from Indonesia, especially from the beach of Sayang Heulang as an antibacterial, antioxidant, anticancer and as an DNMT1 inhibitor has not been known. The aim of this research is to characterized bioactivity of *Sargassum polycystum* C. Agardh fractions as anticancer and as DNMT1 inhibitor selected based on their activity as antibacteria and antioxidant. The fractions that were successfully characterized were analyzed its component compounds using GC-MS.*

*An extraction process using modified Folch method with chloroform : methanol : buffer pH 7.6 (2 : 1 : 0.8 v/v). The crude of each phase was tested as antibacterial, antioxidant and anticancer activity. The result showed that the aqueous-methanol extract has the potency as antioxidant with total percentage of free radical scavenging 80.25 ± 1.76 % while the crude chloroform extract as antibacterial agent with highest zone of inhibition 5.0 ± 1.0 mm (*B. cereus*) and Cytoxtociticy assay against breast cancer cell MCF-7 showed the lowest viability as 1.22 ± 0.20 %. It showed that the crude chloroform extract from *Sargassum polycystum* C. Agardh is more toxic against breast cancer cell MCF-7. Separation of each crude extract was conducted for further study about bioactivity of *Sargassum polycystum* C. Agardh and was grouped based on spectrum UV-Vis similarity from 200 – 800 nm.*

*Eight fractions was obtain from each aqueous-metahol and chloroform extract of *Sargassum polycystum*. Fraction 3 from aqueous-methanol extract (SF3) and fraction 3 from chloroform extract (SK3) has the activity as pro-oxidant and toxic against breast cancer cell with the value of $IC_{50(MTT)}$ 162.21 ± 7.03 $\mu\text{g/mL}$ for SF3 and 92.69 ± 5.68 $\mu\text{g/mL}$ for SK3. SK3 also has antibacterial activity against *E. coli* and *S. aureus* with clear zone inhibiton diameter 8.67 ± 0.88 mm and 8.33 ± 1.67*

*mm. Further study on their ability to inhibit DNMT1 showed that SK3 has $IC_{50(DNMT1)}$ value 62.1 $\mu\text{g/mL}$ while $IC_{50(DNMT1)}$ for SF3 at 153 $\mu\text{g/mL}$. This showed that SK3 is 2,47 times higher to inhibit DNMT1 activity than SF3. DNA isolation from breast cancer cell MCF-7 treated with decitabine (1.14 $\mu\text{g/mL}$), SF3 (163 $\mu\text{g/mL}$) and SK3 (93 $\mu\text{g/mL}$) showed fragmentation of DNA. This indicate that treating breast cancer cell MCF-7 with inhibitors DNMT1 could initiate apoptosis in breast cancer cell MCF-7. Identification of compound component of SK3 with GC-MS showed BHT (Buthylated hydroxytoluene), p-cresol and phatalic acid which never been reported as inhibitors for DNMT1 especially from *Sargassum polycystum* C. Agardh.*

*Keywords : *Sargassum polycystum* C. Agardh, antibacteria, antioxidant, anticancer, DNMT1 inhibitor.*