

Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Keong Laut Matah Merah (*Cerithidea obtusa*) terhadap Sel Kanker Kolon WiDr

Cytotoxic Activity Red Eye Snail (Cerithide obtusa) Extract on Colon Cancer Cell WiDr

Wisnu Jaka Dewa^{1*}, Ekowati Handharyani², Sri Purwaningsih³, Silmi Mariya⁴

¹Program Studi Ilmu Biomedis Hewan, Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor,
Bogor, Jawa Barat, Indonesia

²Sekolah Kedokteran Hewan dan Biomedis, Institut Pertanian Bogor, Bogor, Jawa Barat, Indonesia

³Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor, Bogor, Jawa Barat, Indonesia

⁴Pusat Studi Satwa Primata, Institut Pertanian Bogor, Bogor, Jawa Barat, Indonesia

*Corresponding author, Email: ekowatieko@apps.ipb.ac.id

Naskah diterima: 17 April 2023, direvisi: 25 Juni 2023, disetujui: 31 Maret 2024

Abstract

Based on data released by Globocan in 2020, the incidence of colorectal cancer is the fourth highest in Indonesia (8.6%) and the third in the world (10%). This disease is hard to treat because the available therapy is less effective. Therefore, it is necessary to develop effective alternative therapies, especially those originating from Indonesia's natural resources, easy to obtain and reproduce. This study aims to determine the potential of red eye snail extract as an anticancer through cytotoxicity tests with the MTT Assay method on colon cancer cells WiDr and DNA fragmentation tests with Hoescth staining. In this study, we used various concentrations of the red-eye snail extract to test with 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) and doxorubicin reagents as positive controls. Absorbance values were read using a microplate reader at a wavelength of 595 nm. The cell absorbance data was converted into cell viability and probit analyzed to obtain the IC₅₀ value. The results showed that the higher the concentration of the extract caused a decrease in the number of WiDr cells and an increase in damage to the structure of WiDr cells. Based on the results of probit analysis, it was found that the IC₅₀ value of the extract was 36.28 µg/mL or classified as moderate cytotoxicity. The DNA fragmentation test showed that at concentrations of 125 ppm and 62.5 ppm, it was able to provide an effect similar to doxorubicin, namely triggering apoptosis in WiDr colon cancer cells.

Keywords: colorectal cancer; DNA fragmentation; MTT assay; red eye snail; WiDr cells

Abstrak

Berdasarkan data yang dirilis oleh Globocan pada tahun 2020, kejadian kanker kolorektal tertinggi keempat di Indonesia (8,6%) dan ketiga di seluruh dunia (10%). Penyakit ini sulit diobati karena terapi yang tersedia kurang efektif. Karena itu perlu dikembangkan terapi alternatif yang efektif, terutama berasal dari kekayaan alami Indonesia, mudah didapat dan diperbanyak. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi ekstrak keong laut matah merah sebagai antikanker melalui uji sitotoksitas dengan metode MTT Assay pada sel kanker kolon WiDr dan uji fragmentasi DNA dengan pewarnaan Hoescth. Penelitian ini menggunakan ekstrak etanol keong matah merah dengan konsentrasi 1000 ppm, 500 ppm, 250 ppm, 125 ppm, 62.5 ppm, 31.25 ppm, 15.62 ppm, dan 7.81 ppm untuk diuji dengan reagen 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) dan doksorubisin sebagai kontrol positif. Pembacaan nilai absorbansi dilakukan dengan microplate reader pada panjang gelombang 595 nm. Untuk uji fragmentasi DNA digunakan ekstrak dengan konsentrasi 125 ppm, 62.5 ppm dan 31.25 ppm. Data absorbansi sel dikonversi menjadi viabilitas sel dan

dianalisis probit untuk memperoleh nilai IC_{50} . Hasil penelitian menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak menyebabkan penurunan jumlah sel WiDr dan peningkatan kerusakan struktur sel WiDr. Berdasarkan hasil analisis probit diketahui nilai IC_{50} ekstrak sebesar 36,28 $\mu\text{g/mL}$ atau tergolong sitotoksitas sedang. Uji fragmentasi DNA menunjukkan pada konsentrasi 125 ppm dan 62,5 ppm mampu memberikan efek yang mirip dengan doksorubisin yaitu memicu terjadinya apoptosis pada sel kanker kolon WiDr.

Kata kunci: fragmentasi DNA; kanker kolorektal; keong matah merah; sel WiDr; Uji MTT

Pendahuluan

Kanker merupakan salah satu penyakit penyebab kematian yang angkanya semakin tinggi setiap tahunnya, diantaranya adalah kanker kolorektal. Berdasarkan data yang dirilis oleh Globocan pada tahun 2020 (IARC, 2020), kejadian kanker kolorektal tertinggi keempat di Indonesia (8,6%) dan ketiga di seluruh dunia (10%). Semakin tingginya angka kematian akibat kanker setiap tahun salah satunya disebabkan oleh belum ditemukannya terapi yang efektif. Berbagai macam terapi penyakit kanker telah dikembangkan sampai saat ini seperti operasi, radiasi, kombinasi obat kemoterapi, terapi hormon, dan lain-lain, belum juga berhasil menekan tingkat kematian yang tinggi akibat kanker dan adanya efek samping terapi yang dalam beberapa kasus bersifat fatal, sehingga perlu dicari jenis obat atau terapi dengan bahan baku yang melimpah dan berasal dari keanekaragaman hayati Indonesia, aman, mudah dibuat dan diperbanyak serta bisa dikarakterisasi secara ilmiah (Purwaningsih *et al.*, 2015).

Salah satu jenis bahan obat herbal yang dikembangkan untuk terapi kanker berasal dari gastropoda laut keong matah merah (*Cerithidea obtusa*). Beberapa studi menunjukkan bahwa ekstrak keong laut matah merah memiliki aktivitas penghambatan atau toksisitas terhadap sel kanker secara invitro, diantaranya oleh Purwaningsih *et al.*, (2015), menunjukkan bahwa pada konsentrasi 20 ppm ekstrak etanol keong matah merah menghambat sel MCF7 sebesar 96,34%, konsentrasi 160 ppm mampu menghambat sebesar 97,12%, dan nilai IC_{50} untuk ekstrak etanol adalah 18,32 ppm termasuk sangat kuat sebagai antikanker dan oleh Purwaningsih *et al.*, (2008) dimana ekstrak keong laut matah merah memiliki aktivitas penghambatan proliferasi sel kanker serviks HeLa sebesar 90,62%, sel kanker paru A549

sebesar 79,84% dan sel kanker leukemia K562 sebesar 76,71%. Namun toksisitas ekstrak keong laut matah merah terhadap sel kanker kolon WiDr (*ATCC-CCL 218*) belum pernah diuji sebelumnya.

Penelitian ini bertujuan mengetahui tingkat toksisitas ekstrak keong laut matah merah terhadap sel kanker WiDr. Penelitian ini diharapkan dapat menjadi tambahan data terhadap pengembangan ekstrak keong laut matah merah sebagai antikanker yang efektif, sediaannya murah, mudah didapat, aman dan berasal dari keanekaragaman hayati Indonesia.

Materi dan Metode

Ekstraksi keong laut matah merah

Sampel keong laut matah merah didapat dari habitat aslinya di Kabupaten Ogan Komering Ilir, Sumatera Selatan. Preparasi sampel ekstrak dimulai dengan mengeluarkan daging dan jeroan dari cangkang keong, kemudian daging dan jeroan dipotong dan diblender agar halus untuk diekstraksi. Ekstraksi keong matah merah dilakukan dengan metode maserasi tunggal menggunakan pelarut etanol 70%. Setelah itu dilakukan maserasi menggunakan *shaker* selama 72 jam dengan perbandingan pelarut etanol 1:5 (b/v). Hasil maserasi disaring dengan kertas Whatmann 42 dan filtrat yang dihasilkan disimpan ke dalam botol kaca. Selanjutnya filtrat dievaporasi untuk dihilangkan pelarutnya menggunakan *rotary vacuum evaporator* dengan suhu 40 °C.

Preparasi sel WiDr

Sel kanker kolon WiDr (*ATCC CCL-218*) yang digunakan dalam penelitian ini merupakan koleksi Laboratorium Mikrobiologi dan Imunologi Pusat Studi Satwa Primata LPPM Institut Pertanian Bogor. Kultur sel WiDr ditumbuhkan ke dalam media penumbuh RPMI

1640 (Gibco) yang mengandung *Fetal Bovine Serum* (FBS) 10% v/v (Gibco) dan penisilin-streptomisin 1% v/v (Gibco).

Sel WiDr diambil dari tangki nitrogen cair dan dicairkan dalam penangas air suhu 37 °C. Ampul disemprot menggunakan etanol 70% kemudian di dalam *laminar air flow*, ampul dibuka dan dipindahkan ke tabung colonial steril yang berisi media kultur RPMI 1640 (Gibco). Suspensi sel disentrifugasi 1000 g selama 3 menit. Medium RPMI 1640 yang baru kemudian ditambahkan ke dalam suspensi sel dan disentrifugasi kembali selama 5 menit. Suspensi sel WiDr ditambahkan ke dalam 1 mL medium yang mengandung 10% FBS dan diresuspensi kembali perlahan sampai homogen. Sel WiDr ditambahkan dalam *flask* kultur sel ukuran 25 ml dan diinkubasi dalam inkubator CO₂ 5% bersuhu 37 °C. Media sel WiDr diganti setelah 24 jam dan ditumbuhkan hingga konfluen 80%. Sel WiDr kemudian dicuci dengan 3.5 mL PBS 2 kali dan 300 L Tripsin-EDTA lalu diinkubasi 3 menit dalam inkubator CO₂. Sebanyak 5 mL kultur media ditambahkan dan sel diresuspensikan hingga terlepas dari dinding flask.

Uji aktivitas sitotoksik

Aktivitas sitotoksik ekstrak keong laut matah merah diuji dengan menggunakan metode MTT Assay (3-(4,5-dimethylthiazol2,5-diphenyltetrazolium bromide). Ekstrak keong laut matah merah dibuat sebanyak tujuh konsentrasi yaitu 1000 ppm, 500 ppm, 250 ppm, 125 ppm, 62.5 ppm, 31.25 ppm, 15.62 ppm, 7.81 ppm dan dilakukan tiga kali pengulangan terhadap masing-masing konsentrasi. Untuk kontrol positif digunakan doksorubisin dan dibuat dengan lima konsentrasi yaitu 10 ppm, 5 ppm, 2.5 ppm, 1.25 ppm, 0.62 ppm. Kontrol negatif hanya diisi sel WiDr dan kultur media.

Sel WiDr dengan konsentrasi 5x10³ ditambahkan ke dalam 100 µL media penumbuh di dalam *microplate*. Setelah konfluen lebih dari 50% (24 jam) kemudian ditambahkan 100 µL larutan ekstrak dengan konsentrasi bertingkat 1000-7.81 ppm. Kemudian sel diinkubasi pada suhu 37 °C. Uji MTT dilakukan pada hari ke 3 dengan menambahkan reagen MTT (5mg/ml) sebanyak 10 µl per sumur, inkubasi 4 jam pada

suhu 37 °C. Setelah 4 jam *microplate* diperiksa dengan mikroskop, apabila kristal formazan telah terbentuk kemudian dilarutkan dalam etanol. Pembacaan nilai absorbansi dilakukan dengan *microplate reader* pada panjang gelombang 595 nm.

Deteksi fragmentasi DNA dengan pewarnaan Hoescht

Sel WiDr (1x10⁴) dikulturkan di dalam 8-well slide chamber selama 24 jam. Media dibuang kemudian diganti dengan media serupa yang sudah dicampur dengan supernatan yang mengandung ekstrak matah merah dengan konsentrasi 125 ppm, 62.5 ppm dan 31.25 ppm. Ketiga konsentrasi dipilih berdasarkan uji MTT sebelumnya yang merupakan ambang batas konsentrasi toksik dan non toksik. Kontrol negatif berupa sel WiDr yang dikulturkan dengan media yang tidak berisi supernatan. Kontrol positif berupa sel WiDr yang sudah ditambahkan doksorubisin. Inkubasi dilanjutkan kembali selama 48 jam. Sel kemudian difiksasi dengan 2% larutan glutaraldehida selama 1 jam kemudian diwarnai dengan 10 mg/L Hoechst 33258 selama 30 menit. Sel segera dicuci dengan *phosphate buffer saline* (PBS). Sel diamati dibawah mikroskop fluoresen pada eksitasi 365 nm dan emisi 460 nm. Sel mati apoptosis ditandai oleh fragmentasi DNA dan pendaran cahaya sangat jelas. Sel apoptosis diamati secara semi kuantitatif dengan cara menetapkan skor berikut: 0 (0 fragmentasi DNA/lapang pandang), +1 (10–30% fragmentasi DNA/lapang pandang), +2 (40–60% fragmentasi DNA/lapang pandang) dan +3 (70-100% fragmentasi DNA/lapang pandang). Pengamatan dilakukan sebanyak 5 lapang pandang kemudian dilakukan rata-rata. Data hasil pengamatan diolah secara statistik non parametrik Kruskal-Wallis yang dilanjutkan dengan uji Dunn jika terdapat perbedaan nyata.

Analisis Data

Data yang diperoleh dari uji sitotoksitas dengan MTT berupa nilai absorbansi tiap sumur yang dikonversi menjadi % penghambatan proliferasi sebagai berikut:

$$\% \text{ Penghambatan Proliferasi} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

Selanjutnya dibuat grafik log konsentrasi dengan presentase sel hidup dengan metode analisis probit menggunakan aplikasi GraphPad Prism 9 dengan fungsi persamaan garis lurus $y = ax + b$ Keterangan :

- y = Variabel terikat (nilai probit untuk respon sebesar 50%)
- a = Koefisien arah
- x = Variabel bebas
- b = Konstanta titik potong pada sumbu

Persetujuan Etik

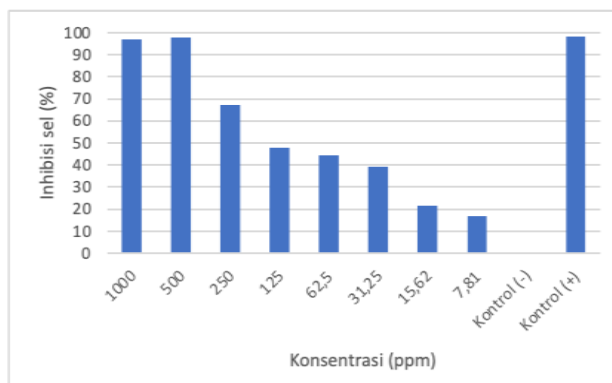
Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan etik (*ethical clearance*) dengan nomor 222-2021 IPB yang dikeluarkan oleh Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat (LPPM) IPB pada tanggal 12 Desember 2021.

Hasil dan Pembahasan

Uji aktifitas sitotoksik dengan MTT assay

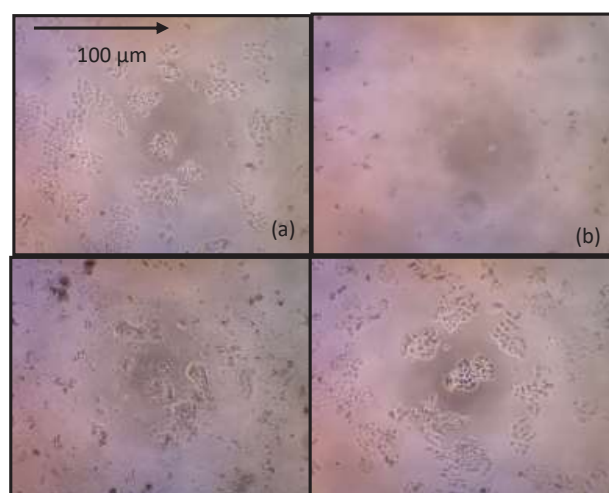
Pengujian dengan MTT assay dilakukan untuk mengetahui potensi antikanker ekstrak keong laut matah merah dengan melihat aktivitas sitotoksik yang dapat menghambat proliferasi sel kanker kolon WiDr. Uji MTT merupakan salah satu metode kolometrik sel kuantitatif yang paling banyak digunakan karena mudah, aman, murah dan cocok digunakan dengan sel lestari (Nga *et al.*, 2020). Selain itu dilakukannya uji sitotoksitas MTT dilakukan untuk menapis senyawa sitotoksik saat pengembangan obat kemoterapi atau melihat efek sitotoksik saat studi preklinis pengembangan obat (Li *et al.*, 2012).

Hasil pengamatan pada uji toksisitas ekstrak terhadap sel WiDr dengan metode MTT ditunjukkan pada Gambar 1. Pengujian toksisitas sel dilakukan berdasarkan penghambatan pertumbuhan atau proliferasi sel WiDr yang diberi perlakuan ekstrak keong laut matah merah dengan konsentrasi bertingkat dengan metode MTT assay. Presentase penghambatan proliferasi sel WiDr semakin tinggi seiring dengan tingginya konsentrasi ekstrak. Perbedaan tingkat toksisitas ekstrak terhadap sel WiDr juga dapat diamati pada jumlah dan tingkat kerusakan sel WiDr dengan menggunakan mikroskop (Gambar 2). Semakin tinggi konsentrasi ekstrak menyebabkan penurunan jumlah sel WiDr dan peningkatan kerusakan struktur sel WiDr.



Gambar 1. Aktivitas antikanker ekstrak keong laut matah merah dengan berbagai konsentrasi terhadap sel kanker kolon WiDr dengan metode MTT assay.

Untuk mengetahui efek toksisitas ekstrak keong laut matah merah terhadap sel kanker kolon WiDr digunakan metode MTT. Metode ini berdasarkan pada perubahan garam tetrazolium 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT) menjadi kristal formazan dalam mitokondria yang aktif pada sel hidup (Ebada *et al.*, 2008). Morfologi sel WiDr diamati dibawah mikroskop dengan pembesaran 1430 X 320. Pengamatan dilakukan sebelum dan sesudah pemberian ekstrak keong laut matah merah. Sel WiDr normal berbentuk bulat, memiliki inti dan dilindungi oleh dinding sel terlihat jelas (Kusuma *et al.*, 2010). Hasil pengamatan menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang digunakan, aktivitas



Gambar 2. Hasil pengamatan sel WiDr setelah diberi perlakuan ekstrak keong laut matah merah konsentrasi bertingkat dengan MTT assay. (a) kontrol negatif, (b) kontrol positif doksorubisin, (c) konsentrasi ekstrak 500 ppm, (d) konsentrasi ekstrak 31,25 ppm. Pembesaran 32X. Panah kuning: Sel WiDr normal. Panah biru: Sel WiDr yang mengalami apoptosis.

penghambatan pertumbuhan sel kanker WiDr juga semakin meningkat. Hal ini ditunjukkan dengan terjadinya perubahan morfologi sel dan tingkat kematian sel yang tinggi (Gambar 2).

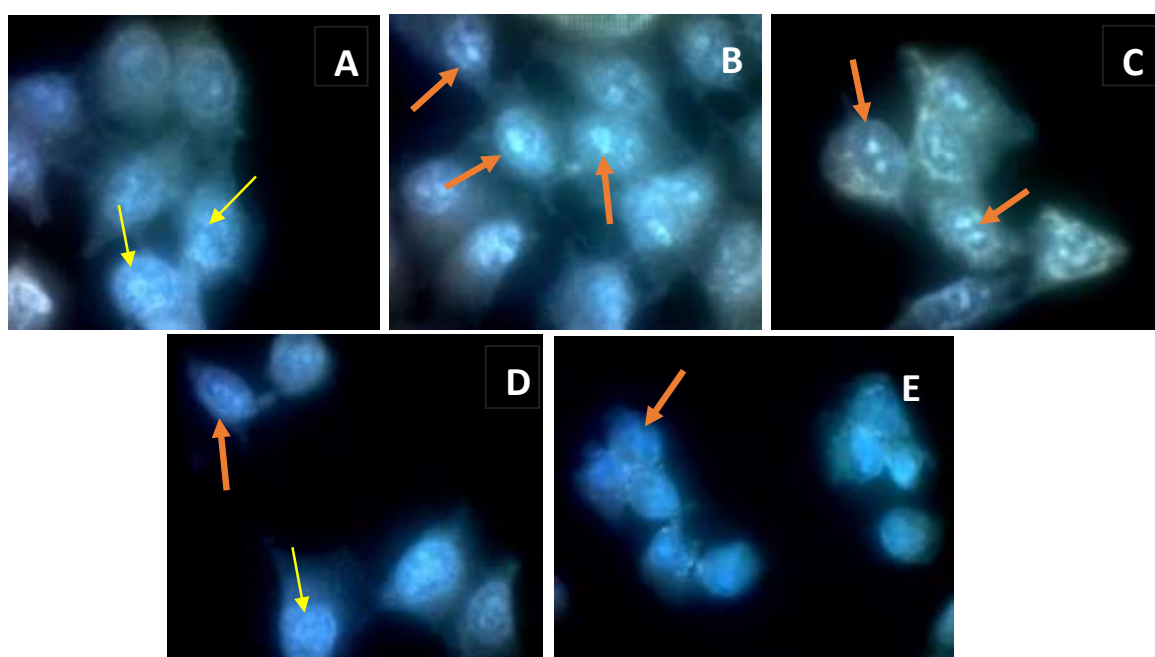
Gambar 2 menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang digunakan maka semakin kuat memicu terjadinya penghambatan proliferasi sel dan laju apoptosis. Apoptosis pada sel kanker WiDr sendiri ditandai oleh perubahan morfologi yang tampak jelas seperti penyusutan sel, lepuh (*blebbing*) pada membran sel, fragmentasi DNA dan pembentukan *apoptotic bodies* (Ekowati *et al.*, 2012).

Nilai IC_{50} (*Inhibitory concentration* 50) adalah konsentrasi sampel yang mampu menghambat 50% pertumbuhan sel (Rekha dan Anila, 2019). The American National Cancer Institute (ANCI) menyatakan bahwa suatu senyawa dikatakan memiliki aktivitas sitotoksik yang kuat sebagai agen anti kanker jika nilai $IC_{50} \leq 30 \mu\text{g/mL}$ dan sitotoksik sedang sebesar 30 - 100 $\mu\text{g/mL}$ (Hidayat dan Dwira, 2018). Dari hasil uji MTT pada penelitian ini, ekstrak keong laut matah merah memiliki nilai IC_{50} sebesar 36,28 $\mu\text{g/mL}$, sehingga berdasarkan ANCI maka dapat dikategorikan sebagai senyawa dengan nilai sitotoksitas sedang terhadap sel kanker kolon WiDr. Ekstrak keong laut matah

merah diketahui memiliki efek toksik terhadap sel kanker lain seperti sel kanker serviks HeLa dan sel kanker payudara MCF-7 (Triono, 2020; Putra, 2019), sel kanker paru-paru A549 dan sel leukemia K562 (Purwaningsih *et al.*, 2008).

Uji Fragmentasi DNA dengan Pewarnaan Hoescht

Apoptosis adalah suatu mekanisme homeostasis seluler yang melibatkan sejumlah besar gen pengatur dimana terjadi regulasi mitosis, deteksi kelainan seluler dan memicu kejadian kematian sel terprogram (D'Arcy, 2019). Kegagalan terjadinya apoptosis akan membuat sel yang rusak terus berakumulasi di dalam tubuh sehingga akan berkembang menjadi berbagai macam kanker (Akcapinar *et al.*, 2021). Pada saat ini tersedia banyak senyawa elektroaktif untuk pewarnaan DNA seperti etidium bromida, *methylene blue*, *tetramethylbenzidine*, *bisbenzimidazole*, senyawa metalik dan lainnya (Oliveira *et al.*, 2018). Pewarna Hoescht 33258 adalah termasuk kedalam golongan bisbenzimidazole yang paling umum digunakan untuk pewarnaan berfluoresensi asam nukleat. Sel WiDr yang diberi paparan supernatan yang mengandung ekstrak keong laut matah merah dan diwarnai dengan pewarna



Gambar 3. Hasil pengamatan sel WiDr yang diberi ekstrak keong laut matah merah dengan pewarna Hoescht 33258 pada 5 kelompok perlakuan : A = Kontrol negatif; B = Kontrol positif doksorubisin; C = Keong matah merah konsentrasi 125 ppm; D = Keong matah merah konsentrasi 62,5 ppm; E = Keong matah merah konsentrasi 31,25 ppm. Fragmentasi DNA dari sel yang mengalami apoptosis ditunjukkan oleh tanda panah berwarna merah, sedangkan sel normal ditunjukkan dengan warna kuning. Perbesaran 40 X.

Hoescht 33258 memiliki ciri-ciri sel apoptosis yang meliputi pengerutan sel, kondensasi bahkan fragmentasi DNA. Dibawah mikroskop fluoresen, sel tersebut tampak berpendar dan organel sel tampak menggumpal. (Gambar 3).

Deteksi fragmentasi DNA merupakan indikasi terjadinya proses apoptosis. Dengan menggunakan mikroskop floresen, sel WiDr yang telah diwarnai dengan pewarna Hoescht 33258 akan terlihat jelas struktur asam nukleatnya karena pewarna Hoescht akan menembus membran plasma dan inti sel. Sel yang mengalami apoptosis terlihat mengambil warna biru berpendar yang kuat dengan bentuk seperti bulan sabit di sekitar pinggiran inti, sedangkan sel normal menunjukkan inti sel yang besar dan organel sel yang masih terlihat jelas.

Pengaruh pemberian supernatan yang mengandung ekstrak keong laut matah merah dengan konsentrasi yang berbeda terhadap apoptosis pada sel kanker kolon WiDr yang diukur secara semikuantitatif dicantumkan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Pengaruh pemberian ekstrak keong laut matah merah dengan konsentrasi berbeda terhadap apoptosis sel kanker kolon WiDr

Kelompok	Skor
Kontrol negatif	19,0 ± 3,8 ^a
Kontrol positif doksorubisin	105,0 ± 21 ^c
Konsentrasi 125 ppm	89,0 ± 17,8 ^{bc}
Konsentrasi 62,5 ppm	66,5 ± 13,3 ^{bc}
Konsentrasi 31,25 ppm	45,5 ± 9,1 ^{ab}

Keterangan: Huruf superscript pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan nyata ($p \leq 0,05$).

Tabel 1 memperlihatkan bahwa apoptosis terjadi pada sel kanker yang diberikan perlakuan dengan ekstrak keong laut matah merah dengan konsentrasi 125 ppm, 62,5 ppm dan 31,25 ppm. Jumlah sel WiDr yang mengalami apoptosis berbeda-beda tergantung dari konsentrasi keong matah merah yang digunakan. Kelompok konsentrasi 125 ppm dan 62,5 ppm menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata terhadap kelompok kontrol positif doksorubisin. Hal ini menunjukkan bahwa pada konsentrasi 125 ppm dan 62,5 ppm mampu memberikan efek yang mirip dengan doksorubisin yaitu memicu terjadinya apoptosis pada sel kanker kolon WiDr.

Jalur terjadinya proses apoptosis tebagi atas jalur endogen dan eksogen. Pada jalur endogen, ekspresi berlebihan gen Bak dapat menjadi antagonis dari efek protektif gen Bcl-2 dan dapat menyebabkan terjadinya gangguan fungsi dari mitokondria dan akan melepaskan sitokrom C (Wang *et al.*, 2015). Pelepasan sitokrom C akan menginduksi Caspase-3 yang menyebabkan terjadinya apoptosis (Gao *et al.*, 2016). Dalam studi kali ini ekstrak keong laut matah merah konsentrasi 125 ppm dan 62,5 ppm mampu memicu terjadinya apoptosis pada sel kanker WiDr, namun perlu studi lebih lanjut untuk mengetahui jalur apoptosis yang terlibat dan juga untuk mengidentifikasi gen-gen yang terlibat dalam proses apoptosis.

Kesimpulan

Hasil uji sitotoksisitas ekstrak keong laut matah merah terhadap sel kanker kolon WiDr dengan menggunakan metode MTT assay menunjukkan bahwa ekstrak keong laut matah merah memiliki efek toksik dan mampu menghambat proliferasi sel WiDr dengan nilai IC50 36,28 µg/mL. uji fragmentasi DNA dengan pewarnaan Hoescht menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak 125 ppm dan 62,5 ppm mampu memicu terjadinya apoptosis pada sel kanker WiDr.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Penelitian Terapan Unggulan Perguruan Tinggi (PTUPT) Kemendikbud Tahun 2021 yang telah memberikan pendanaan penelitian ini dan Badan Penyuluhan dan Pengembangan Sumber Daya Manusia Pertanian, Kementerian Pertanian.

Daftar Pustaka

- Akcapinar, R., Garipcan, B., Goodarzi, V., Uzun, L. (2021). Designing of various biosensor devices for determination of apoptosis: A comprehensive review. *Biochemical and Biophysical Research Communication*. 578 (2021): 42-62.
- D'Arcy, M.S. (2019). Cell death: a review of the major forms of apoptosis, necrosis, and autophagy. *Cell Biology International*. 43 (2019): 582-592.

- Ebada, S.S., Edrada, R.A., Lin, W., Proksch, P. (2008). Methods for isolation, purification, and structural elucidation of bioactive secondary metabolites from marine invertebrates. *Nature Protocols*, 3(12), 19-23.
- Ekowati, H., Achmad, A., Prasasti, E., Wasito, H., Sri, K., Hidayati, Z., Ekasari, T. (2012). *Zingiber officinale*, *Piper retrofractum* and Combination Induced Apoptosis and p53 Expression in Myeloma and WiDr Cell Lines. *Hayati Journal of Biosciences*. 19 (3): 137-140.
- Gao, C.K., Liu, H., Cui, C.J., Liang, Z.G., Yao, H., Tian, Y. (2016). Roles of MicroRNA-195 in cardiomyocyte apoptosis induce by myocardial ischemia-reperfusion injury. *Journal of Genetics*. 95 (1): 99-108.
- Hidayat, D.A., Dwira, S. (2018). Phytochemical analysis and in vitro cytotoxicity test of black soybean (*Glycine soja L.*) ethanolic extract as a growth inhibitor of the HCT-116 colon carcinoma cell line. *Journal of Physics: Conference Series*. 1073 032041.
- International Agency for Research on Cancer. (2020). Global Cancer Observatory: Indonesia. Retrieved August 1, 2022. <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/360-indonesia-fact-sheets.pdf>.
- Kusuma A.W., Nurulita, N.A., Hartanti, D. (2010). Efek Sitotoksik dan Antiproliferatif Kuersetin pada Sel Kanker Kolon WiDr. *Pharmacy*. 07 (03): 107-122.
- Li, Y., Huang, W., Huang, S., Du, J., Huang, C. (2012). Screening of anti-cancer agent using zebrafish: Comparison with the MTT assay. *Biochemical and Biophysical Research Communication*. 422 (2012): 85-90.
- Nga, N.T.H., Ngoc, T.T.B., Trinh, N.T.M., Thuoc, T.L., Thao, D.T.P. (2020). Optimization and application of MTT assay in determining density of suspension cells. *Analytical Biochemistry*. 610 (2020): 113937.
- Oliveira, D.A., Silva, J.V., Flauzino, J.M.R., Castro, A.C.H., Moço, A.C.R., Soares, M.M.C.N., Madurro, J.M., Brito-Madurro, A.G. (2018). Application of nanomaterials for the electrical and optical detection of the hepatitis B virus. *Analytical Biochemistry*. 549 (2018): 157-163
- Purwaningsih, S., Rimbawan, Priosoeryanto, B.P. (2008). Ekstraksi Komponen Aktif sebagai Antikanker pada Sel Lestari Keong Matah Merah. *Jurnal Ilmu-ilmu Perairan dan Perikanan Indonesia*. 15 (2) : 103-108.
- Purwaningsih, S., Sajuthi, D., Iskandriati, D., and Deskawati, E. (2015). Pengembangan antikanker dari keong laut matah merah (*Cerithidea obtusa*): Tahap uji mekanisme antikanker secara in vitro dan in vivo. *Laporan Penelitian Program Penelitian Strategi Unggulan*.
- Putra, R.M. (2019). Aktifitas Penghambatan Ekstrak Keong Matah Merah (*Cerithidea obtusa*) terhadap *Artemia salina* dan Sel MCF-7. *Skripsi*. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor.
- Rekha, S., Anila, E.I. (2019). In vitro cytotoxicity studies of surface modified CaS nanoparticles on L929 cell lines using MTT assay. *Material Letters*. 236 (2019): 637-639.
- Rozali, Z. F. (2018). Pengembangan Tepung Beras Tinggi Pati Resisten dan Potensinya dalam Menghambat Proliferasi Sel Kanker Kolon HCT-116. *Disertasi*. Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Triono, R. (2020). Aktifitas antikanker dari ekstrak keong laut matah merah (*Cerithidea obtusa*) dengan metode maserasi yang berbeda. *Skripsi*. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor.
- Wang, Y., Yin, R.F., Teng, J.S. (2015). Wogonoside induces cell cycle arrest and mitochondrial mediated apoptosis by modulation of Bcl-2 and Bax in osteosarcoma cancer cells. *International Journal of Clinical Experimental Pathology*. 8 (1): 63-72.