

Pengaruh *Crude* Fukoidan dari Ekstrak *Sargassum Crassifolium* Terhadap Kadar Icam-1 Dan Vcam-1 Pada Sel Raw 264.7 yang Diinduksi Lipopolisakarida

Anti-Inflammatory Activity of Crude Fucoidan From *Sargassum Crassifolium* Through Inhibition of Icam-1 and Vcam-1 in Lipopolysaccharide-Induced Raw 264.7 Cell

AYU WERAWATI^{1*}, ESTI MUMPUNI¹, KUSMARDI², DIAN RATIH LAKSMITAWATI¹,
SYAMSUDIN ABDILLAH¹

¹Fakultas Farmasi, Universitas Pancasila, Jakarta 12630

²Bagian Patologi Klinik, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta

Diterima 8 Februari 2019, Disetujui 4 April 2019

Abstrak: Inflamasi adalah respon jaringan pembuluh darah terhadap infeksi dan jaringan yang rusak untuk menghilangkan penyebab inflamasi. Tapi dalam beberapa kondisi, inflamasi dapat menyebabkan timbulnya penyakit kronis, seperti aterosklerosis. Adesi leukosit ke endotelium vaskular merupakan ciri proses inflamasi. Adanya molekul adesi, seperti ICAM-1 dan VCAM-1 yang meningkat dapat menyebabkan adesi monosit dan limfosit pada sel endotel melalui ikatan molekul adesi pada sel endotel. *Crude* fukoidan berasal dari *Sargassum crassifolium* yang diambil dari perairan Garut dan diekstraksi dengan HCl encer, diuji aktivitas antiinflamasi melalui penghambatan kadar ICAM-1 dan VCAM-1 menggunakan model sel RAW 264.7 yang diinduksi inflamasi dengan lipopolisakarida. Uji viabilitas dilakukan dengan metode MTT pada rentang konsentrasi 0,49-1000 µg/mL. Pola penghambatan proliferasi sel dipengaruhi oleh konsentrasi. Dari uji viabilitas didapat konsentrasi tertinggi yang menyebabkan viabilitas sel sebesar 80% adalah konsentrasi *crude* fukoidan 86,46 µg/mL. *Crude* fukoidan terbukti dapat menurunkan kadar ICAM-1 dan VCAM-1 pada konsentrasi 50 dan 25 µg/mL. Persen penghambatan kadar ICAM-1 pada konsentrasi 50 µg/mL adalah 61,04% dibanding kontrol inflamasi dan 74,26% pada konsentrasi 25 µg/mL. Sementara persen penghambatan kadar VCAM-1 pada konsentrasi 50 µg/mL adalah 74,76% dibanding kontrol inflamasi dan 79,94% pada konsentrasi 25 µg/mL.

Kata kunci: *crude fukoidan*, *Sargassum crassifolium*, ICAM-1, VCAM-1, sel RAW 264.7.

Abstract: Inflammation is the response of vascular tissue to infection and damaged tissue to remove agents that cause inflammation. Macrophages are the dominant cells in the inflammatory reaction. Adhesion of leukocytes to vascular endothelium is a main feature of the inflammatory process. The presence of adhesion molecules, such as ICAM-1 and VCAM-1, can lead to adhesion of monocytes and lymphocytes to endothelial cells via bonding adhesion molecules to endothelial cells. Crude fucoidan derived from *Sargassum crassifolium* taken from Garut waters and extracted with dilute HCl, tested for anti-inflammatory activity through inhibition of ICAM-1 and VCAM-1 using lipopolysaccharide-induced RAW 264.7 cell models. The viability test was carried out in the concentration range of 0.49-1000 µg / mL. The pattern of inhibition of cell proliferation is influenced by concentration. The highest concentration that caused cell viability of 80% was the concentration of 86.46 µg / ml. Crude fucoidan reduced ICAM-1 and VCAM-1 levels at concentrations of 50 and 25 µg / ml. Percent inhibition of ICAM-1 at 50 µg / mL concentration was 61.04% compared to control and 74.26% at 25 µg / mL concentration. While the percent inhibition of VCAM-1 at 50 µg / mL concentration was 74.76% compared to control and 79.94% at 25 µg / mL concentration.

Keywords: *crude fucoidan*, *Sargassum crassifolium*, ICAM-1, VCAM-1, RAW 264.7 cells.

* Penulis korespondensi, Hp. 08158800410
e-mail: ayuwerawati@gmail.com

PENDAHULUAN

INDONESIA merupakan negara kepulauan dengan perbandingan antara daratan:lautan = 2:3, menjadikan Indonesia salah satu negara yang memiliki pantai terpanjang di dunia dan mendorong diperlukannya penelitian tentang hasil kekayaan laut Indonesia. Terdapat banyak jenis rumput laut yang bernilai ekonomis cukup tinggi di Indonesia, salah satu diantaranya *Sargassum sp* yang mengandung bahan alginat dan iodin yang digunakan pada industri makanan, farmasi, kosmetik dan tekstil. *Sargassum sp.* mengandung senyawa-senyawa aktif steroida, alkaloida, fenol, dan triterpenoid⁽¹⁾. Kalium alginat, produk sampingan dari pengolahan rumput laut coklat, digunakan dalam kosmetik dan industri farmasi selama beberapa tahun terakhir sebagai eksipien atau pengental⁽²⁾.

Penelitian yang dilakukan oleh Asih et al pada tahun 2018 diketahui bahwa rumput laut coklat dari perairan Garut mengandung senyawa fukoidan. Fukoidan adalah polisakarida yang mengandung gugus sulfat berasal dari rumput laut coklat⁽³⁾. Fukoidan dilaporkan memiliki beragam aktivitas biologis, seperti antioksidan, antikoagulan, antitumor, antiviral dan antiinflamasi^(4,5).

Penelitian terhadap fukoidan yang berasal dari *Undaria pinnatifida* (Harvey) Suringar pada model tikus radang yang diinduksi karagenan secara *in vivo* menunjukkan penghambatan inflamasi sebesar 68,19%⁽⁶⁾. Ekstrak metanol *Sargassum ilicifolium* dengan dosis 50-100 mg/kg secara *in vivo* memiliki aktivitas antiinflamasi melalui mekanisme menghambat pembentukan edema pada tikus yang diinduksi karagenan⁽⁷⁾.

Penelitian yang dilakukan oleh Purukan et al pada tahun 2018 menunjukkan bahwa pemberian *crude* fukoidan dari *Sargassum polycistum* pada dosis 200 mg dapat menurunkan kadar kolesterol total, LDL, Trigliserida dan meningkatkan kadar HDL serum tikus putih jantan yang diberi pakan diet tinggi lemak selama 35 hari⁽⁸⁾.

Penelitian lain menunjukkan fukoidan dari *Laminaria japonica* secara signifikan dapat mengurangi pembentukan plak aterosklerotik dengan menurunkan lipid serum dan menghambat infiltrasi makrofag, serta menghambat pembentukan spesies oksigen reaktif/*reactive oxygen species* (ROS). Pemberian fukoidan secara signifikan dapat menurunkan ekspresi LOX-1 dan mediator proinflamasi *in vivo*. Secara *in vitro*, fukoidan menurunkan LOX-1, mediator proinflamasi serta molekul adhesi seperti *intercellular adhesion molecules* (ICAM-1) dan *vascular cell adhesion molecule-1* (VCAM-1). Penelitian terhadap

Sargassum serratifolium menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol *Sargassum serratifolium* pada makrofag RAW 264.7 yang distimulasi lipopolisakarida dapat menghambat produksi mediator inflamasi dan sitokin proinflamasi. Komponen antiinflamasi utama adalah sargahydroquinoic acid, sargachromenol dan *sargaquinoic acid*⁽⁹⁾.

Fukoidan dapat memiliki kesamaan bioaktivitas. Berdasarkan perbedaan varietas spesies kadang-kadang ada perbedaan aktivitas yang besar, contohnya fukoidan dari *Cladosiphon okamuranus* tidak menghambat adesi sel kanker payudara ke trombosit secara *in vitro*, sedangkan fukoidan dari spesies *Fucus vesiculosus* dapat menghambat adesi sel kanker payudara lebih dari 80%. Tikus yang dibuat model kanker usus besar dengan pemberian oral fraksi *Cladosiphon* dapat melemahkan pertumbuhan tumor⁽¹⁰⁾. Penelitian terhadap fukoidan dari tiga spesies alga coklat yang dipanen dalam waktu yang berbeda menunjukkan perbedaan kuantitas dan struktur fukoidan yang diekstraksi, baik di antara spesies maupun dalam musim yang berbeda⁽¹¹⁾. Berdasarkan hal tersebut perlu standardisasi dan validasi senyawa fukoidan dari spesies tertentu untuk setiap pemberian dan dipahami mekanisme aksi utamanya

Inflamasi adalah respon jaringan pembuluh darah terhadap infeksi dan jaringan yang rusak, yang membawa sel dan molekul sistem imun ke tempat-tempat di mana mereka dibutuhkan untuk menghilangkan penyebab peradangan. Adesi leukosit ke endotelium vaskular merupakan ciri proses inflamasi. Mediator inflamasi yang dilepaskan akan meningkatkan permeabilitas vaskuler sehingga dapat membuat pelebaran pada endotel vaskuler. Melebarnya endotel akan menyebabkan ekstravasasi leukosit atau keluarnya leukosit dari pembuluh darah. Proses ekstravasasi sendiri meliputi marginasi yaitu menempelnya leukosit pada tepi pembuluh darah, kemudian leukosit berguling pada permukaan endotel (*rolling*) dan leukosit menempel kuat (adesi) pada permukaan endotel karena adanya molekul adhesi (ICAM-1 dan VCAM-1) yang diaktifkan oleh *Tumor necrosis factor* (TNF) dan Interleukin-1 (IL-1). Leukosit berpindah menembus membran basal sel endotel, dan bermigrasi sehingga leukosit menuju ke arah sumber inflamasi^(12,13).

Migrasi leukosit merupakan kunci penting dalam reaksi inflamasi, dimana migrasi ini dimungkinkan terjadi dengan adanya perlekatan leukosit dengan molekul adhesi ICAM-1 dan VCAM-1 pada permukaan endotel. Sehingga dapat dikatakan salah satu mekanisme antiinflamasi adalah melalui inhibisi molekul adhesi ICAM-1 dan VCAM-1 yang diekspresikan oleh sel RAW 264.7.

Berdasarkan uraian di atas, perlu dilakukan penelitian mengenai crude fukoidan dari *Sargassum crassifolium* yang diperoleh dari perairan Garut, dengan melihat pengaruhnya terhadap kadar ICAM-1 dan VCAM-1. Penelitian dilakukan secara *in vitro* menggunakan sel RAW 264.7 yang diinduksi lipopolisakarida.

BAHAN DAN METODE

BAHAN. Sediaan uji yang digunakan adalah *crude* fukoidan dari ekstrak *Sargassum crassifolium* yang diperoleh dari penelitian Suryani Asih. *Sargassum crassifolium* diperoleh dari Pantai Cicalobak, Desa Karang Wangi, Kecamatan Mekar Mukti, Kabupaten Garut, Jawa Barat. Pengambilan *Sargassum crassifolium* dilakukan pada bulan Oktober 2017.

Telah dilakukan determinasi tanaman di laboratorium Biologi Kelautan, Universitas Indonesia. Pembuatan ekstrak menggunakan HCL encer dengan cara maserasi kinetik pada suhu 80°C selama 6 jam. Ekstrak dikeringkan dengan *freeze drying*, sel RAW 264,7, RPMI, MTT, Lipopolisakarida, Mouse VCAM-1/CD106 (*Vascular cell adhesion molecule-1*) ELISA Kit *Elabscience*, Mouse ICAM-1/CD54 (*Intercellular adhesion molecule-1*) ELISA Kit *Elabscience*, bahan pereaksi lain : larutan dapar fosfat/*phosphate buffer saline* (PBS), *fetal bovine serum* (FBS), larutan Penisilin-Streptomisin Sigma-Aldrich, tripsin EDTA.

ALAT. Alat-alat gelas, plat 6 sumuran, plat 96 sumuran, inkubator Thermo scientific, sentrifus Sigma, *Universal microplate reader* ELX 800, *deep freezer Blue star*, *water bath*, *biosafety cabinet*, hemositometer.

METODE. Persiapan Kultur Sel. Sel RAW 264,7 ditumbuhkan dalam RPMI dengan suplementasi 10% FBS dan 1% larutan Penisilin-Streptomisin Sigma-Aldrich. Kultur sel diinkubasi pada suhu 37 °C, kondisi *humidified atmosphere* dan 5% CO₂ hingga sel konfluen. Sel RAW 264,7 yang telah konfluen ±70% kemudian dibuang medium lamanya dan dicuci menggunakan 2 mL larutan dapar fosfat/*phosphate buffer saline* (PBS) sebanyak 1x, kemudian sisa PBS dibuang. Medium tumbuh sebanyak 2 mL ditambahkan ke dalam sel, resuspensi sel kemudian dipindahkan ke dalam tabung 15 mL. Sel kemudian di sentrifus dengan kecepatan 2.500 rpm selama 4 menit. Supernatan selanjutnya dibuang dan pelet dire suspensi dengan 1 mL medium tumbuh untuk kemudian dihitung menggunakan hemositometer^(14,15).

Uji Viabilitas dengan menggunakan MTT. Sel RAW 264,7 sebanyak 100 µL ditanam dengan kepadatan 5.000 sel/sumuran dalam plat 96 sumuran kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C,

5% CO₂. Medium lama selanjutnya dibuang, dan sebanyak 90 µL medium kultur baru dan sebanyak 10 µL larutan crude fukoidan dengan konsentrasi 0,49; 0,98; 1,95; 3,91; 7,81; 15,63; 31,25; 62,50; 125; 250; 500 dan 1000 µg/ml, masing – masing 3 replikasi ditambahkan pada setiap sumuran. Sel tanpa penambahan senyawa uji (0 µg/mL) digunakan sebagai kontrol. Sel diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C, 5% CO₂. Setelah 24 jam sebanyak 10 µL MTT 5 mg/mL ditambahkan pada setiap sumuran, selanjutnya diinkubasi selama 4 jam pada suhu 37°C, 5% CO₂. DMSO ditambahkan sebanyak 100 µL untuk melarutkan kristal formazan yang terbentuk. Absorbansi sampel kemudian dibaca menggunakan microplate reader pada panjang gelombang 570 nm. Persentase viabilitas sel RAW 264.7 dihitung terhadap kontrol menggunakan rumus :

$$\% \text{ Viabilitas} = \frac{\text{Absorbansi (A) sampel}}{\text{Absorbansi (A) kontrol sel}} \times 100 \%$$

Pada uji viabilitas digunakan blangko yaitu medium pertumbuhan sel ditambahkan dengan *crude* fukoidan dan kontrol sel yaitu sel RAW 264,7 dalam medium pertumbuhan saja. Hasil uji viabilitas dengan metode MTT ini akan dipilih konsentrasi yang aman (konsentrasi ekstrak yang masih menyebabkan viabilitas sel RAW 264,7 ≥ 80%) untuk pengujian aktivitas antiinflamasi^(14,15).

Uji Aktivitas Antiinflamasi Crude Fukoidan dari Ekstrak *Sargassum Crassifolium*⁽¹⁴⁻¹⁶⁾. Kelompok kontrol normal: Sel RAW 264,7 ditempatkan dalam plat 6 sumuran sebanyak 5 x 10⁵ sel/sumuran dan diinkubasi pada suhu 37 °C dan 5% CO₂. Medium kultur kemudian dibuang dan pada sel ditambahkan 2000 µL medium tumbuh baru lalu inkubasi selama 24 jam pada 37°C dan 5% CO₂. Medium diambil dan disentrifus 2000 xg selama 20 menit. Supernatan diambil dan disimpan pada suhu -80° untuk selanjutnya digunakan pada pengukuran kadar ICAM-1 dan VCAM-1 menggunakan ELISA kit *Elabscience*.

Kelompok kontrol inflamasi: Sel RAW 264,7 ditempatkan dalam plat 6 sumuran sebanyak 5 x 10⁵ sel/sumuran dan diinkubasi pada suhu 37 °C dan 5% CO₂. Medium kultur kemudian dibuang dan pada sel ditambahkan 1800 µL medium tumbuh baru lalu inkubasi selama 2 jam. Sebanyak 200 µL lipopolisakarida ditambahkan ke dalam masing-masing sumuran dan inkubasi selama 24 jam pada 37 °C dan 5% CO₂. Medium diambil dan disentrifus 2000 xg selama 20 menit. Supernatan diambil dan disimpan pada suhu -80° untuk selanjutnya digunakan pada pengukuran kadar ICAM-1 dan VCAM-1 menggunakan ELISA kit *Elabscience*.

Kelompok uji: Sel RAW 264,7 ditempatkan

dalam plat 6 sumuran sebanyak 5×10^5 sel/sumuran dan di inkubasi pada suhu 37°C dan $5\% \text{CO}_2$. Medium kultur kemudian dibuang dan ditambahkan 1600 μL medium tumbuh baru dan 200 μL larutan senyawa uji masing-masing dengan konsentrasi senyawa uji 25 dan 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ medium kemudian inkubasi selama 2 jam. Sebanyak 200 μL lipopolisakarida ditambahkan ke dalam masing-masing sumuran dan inkubasi selama 24 jam pada 37°C dan $5\% \text{CO}_2$. Medium diambil dan disentrifus 2000 xg selama 20 menit. Supernatan diambil dan disimpan pada suhu -79° untuk selanjutnya digunakan pada pengukuran kadar ICAM-1 dan VCAM-1 menggunakan ELISA kit *Elabscience*.

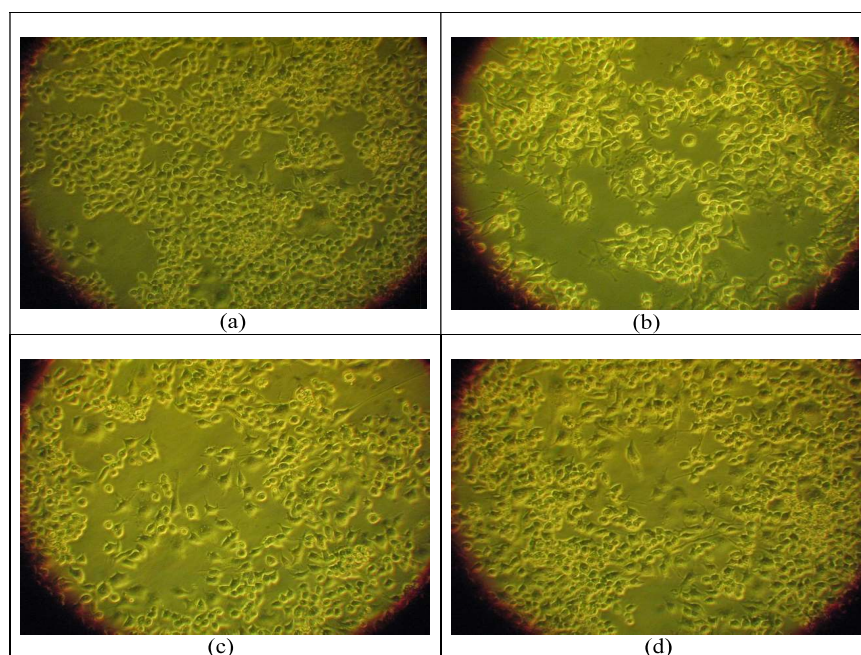
HASIL DAN PEMBAHASAN

Sebelum dilakukan uji aktivitas antiinflamasi, terlebih dahulu perlu dilakukan uji viabilitas terhadap sel RAW 264,7. Pengujian viabilitas dilakukan dengan metode MTT. Prinsip metode MTT adalah pewarnaan, yaitu mereduksi garam monotetrazolium yang berwarna kuning dan larut dalam air oleh enzim *suksinat dehidrogenase* yang diproduksi oleh sel hidup menjadi menjadi produk akhir kristal biru formazan yang tidak larut air. Warna biru yang terbentuk diukur kepekatannya dengan ELISA reader. Uji viabilitas perlu dilakukan untuk mengetahui pengaruh *crude* fukoidan dari ekstrak *Sargassum crassifolium*

terhadap viabilitas sel RAW 264,7 dan untuk menentukan konsentrasi *crude* fukoidan yang aman dan tidak toksik untuk digunakan pada saat pengujian aktivitas antiinflamasi

Konsentrasi *crude* fukoidan yang diberikan pada pengujian ini terdiri dari 12 rentang konsentrasi yaitu dari 0,49 hingga 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Mulai dari perlakuan *crude* fukoidan konsentrasi 7,81 $\mu\text{g}/\text{mL}$ pola penghambatan dipengaruhi oleh konsentrasi atau *dose dependent manner*, sehingga semakin tinggi konsentrasi *crude* fukoidan yang diberikan viabilitas sel semakin menurun.

Untuk menentukan dosis yang aman untuk pengujian aktivitas antiinflamasi dibuat persamaan garis regresi antara log dosis sebagai x dan persentase viabilitas sebagai y. Persamaan garis yang diperoleh dari uji viabilitas adalah $y = -8,2195x + 95,935$, sehingga untuk mendapatkan viabilitas di bawah 80% maka konsentrasi tertinggi yang digunakan pada pengujian antiinflamasi adalah 86,4661 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Pada pengujian ini, *crude* fukoidan dari ekstrak *Sargassum crassifolium* yang digunakan adalah konsentrasi 50 dan 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Konsentrasi ini sesuai dengan penelitian terhadap fukoidan yang dilakukan oleh Wang *et al*. Fukoidan yang diisolasi dari *Laminaria japonica* dengan ekstraksi asam, pada uji antiinflamasi dengan model sel RAW 264,7 yang diinduksi LPS, fukoidan pada dosis 50 dan 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$



Gambar 1. Kultur sel RAW 264,7 (a) Kelompok sel normal (b) Kelompok kontrol inflamasi (c) Kelompok perlakuan pemberian fukoidan konsentrasi 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (d) Kelompok perlakuan pemberian fukoidan konsentrasi 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

Tabel 1. Hasil uji viabilitas *crude* fukoidan dari ekstrak *Sargassum crassifolium*.

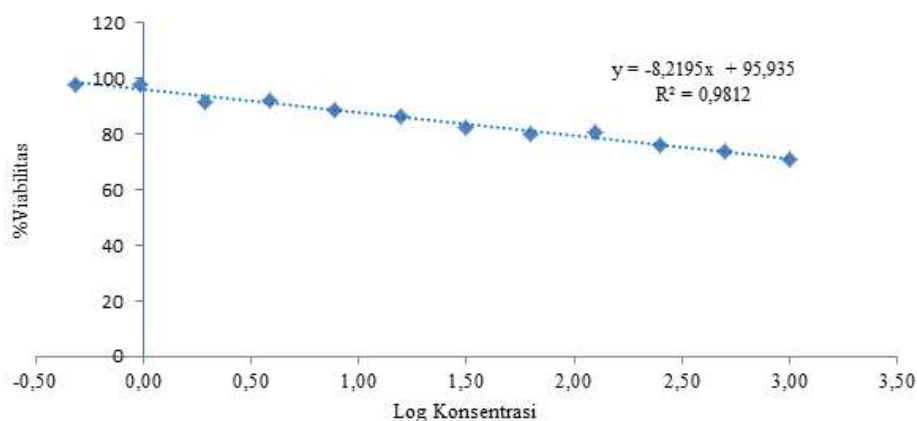
Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Log konsentrasi	Penghambatan proliferasi (%)	Viabilitas sel (%)
Kontrol Normal			100
0,49	-0,31	2,21	97,790
0,98	-0,01	1,97	98,027
1,95	0,29	8,37	91,634
3,91	0,59	7,97	92,028
7,81	0,89	11,21	88,792
15,63	1,19	13,58	86,425
31,25	1,49	17,84	82,163
62,50	1,80	19,89	80,110
125,00	2,10	19,26	80,742
250,00	2,40	23,99	76,006
500,00	2,70	26,20	73,796
1000,00	3,00	28,89	71,113

dapat menekan ekspresi gen IL-1 β , IL-6, dan TNF- α dan juga menekan ekspresi gen LOX-1, ICAM-1, dan VCAM-1⁽¹⁷⁾.

Pada penelitian ini aktivitas antiinflamasi *crude* fukoidan dari ekstrak *Sargassum crassifolium* diamati melalui pengukuran kadar ICAM-1 dan VCAM-1 yang disekresikan oleh sel RAW 264,7. Sel RAW 264,7 merupakan sel makrofag, dan sel makrofag merupakan sel yang berperan penting dalam proses inflamasi. Mediator inflamasi yang dilepaskan akan meningkatkan permeabilitas vaskuler sehingga dapat membuat pelebaran pada endotel vaskuler. Melebarnya endotel akan menyebabkan ekstrasvasi leukosit dan melekatnya leukosit (adesi) pada permukaan endotel

karena adanya molekul adhesi (ICAM-1 dan VCAM-1). Oleh karena itu profil inflamasi dapat dilihat melalui pengukuran kadar ICAM-1 dan VCAM-1 pada sel RAW 264,7. Lipopolisakarida secara teoritis dapat menginduksi terjadinya inflamasi sehingga lipopolisakarida pada penelitian ini digunakan untuk menginduksi terjadinya inflamasi pada sel RAW 264,7.

Pengukuran absorbansi larutan standar dilakkan untuk menentukan kurva baku ICAM-1 dan VCAM-1. Dari hasil kurva baku tersebut dibuat persamaan regresi linier untuk menentukan kadar ICAM-1 dan VCAM berdasarkan nilai absorbansi pada masing-masing perlakuan. Kemudian data kadar

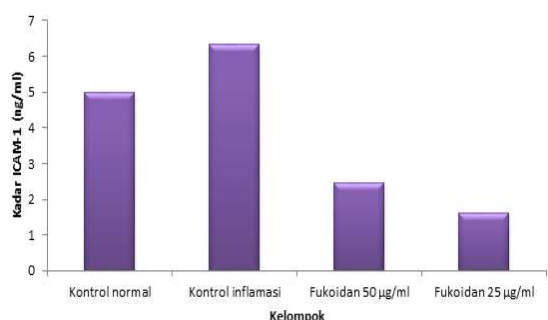
Gambar 2. Kurva hasil uji viabilitas *crude* fukoidan dari ekstrak *Sargassum crassifolium*.

Tabel 2. Kadar dan persen inhibisi ICAM-1.

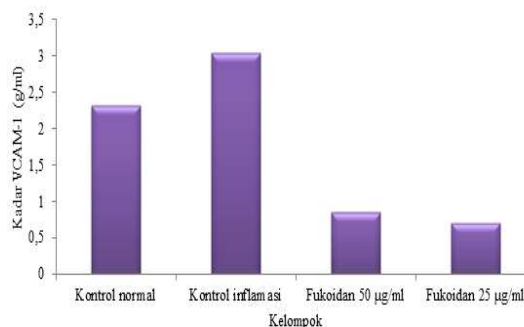
Perlakuan	Kadar ICAM-1 (ng/mL)	Inhibisi kadar ICAM-1 (%)
Kontrol normal	4,97 ± 0,66 ^a	21,36 ± 10,42
Kontrol inflamasi	46,32 ± 0,49 ^b	
Crude fukoidan konsentrasi 50 µg/mL	2,46 ± 0,56 ^c	21,36 ± 10,42
Crude fukoidan konsentrasi 25 µg/mL	1,63 ± 0,23 ^c	74,26 ± 19,40

Data berupa kadar rata-rata±SD

Perbedaan huruf a,b,c menunjukkan perbedaan signifikan antar kelompok berdasarkan uji post hoc Duncan



Gambar 3. Grafik kadar ICAM-1



Gambar 4. Grafik kadar VCAM-1

ICAM-1 dan VCAM-1 digunakan untuk menentukan persentase inhibisi ICAM-1 dan VCAM-1 pada kelompok perlakuan dengan sediaan uji dibandingkan dengan kelompok kontrol inflamasi.

Setelah pemberian *crude* fukoidan dari ekstrak *Sargassum crassifolium* terdapat perbedaan signifikan antar kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan, menunjukkan *crude* fukoidan dari ekstrak *Sargassum crassifolium* mampu menurunkan kadar ICAM-1 dan VCAM-1 sehingga dapat dinyatakan *crude* fukoidan dari ekstrak *Sargassum crassifolium* memiliki aktivitas antiinflamasi berdasarkan penurunan kadar ICAM-1 dan VCAM-1 dibandingkan dengan kelompok kontrol.

Uji secara statistik menyebutkan bahwa terdapat perbedaan bermakna kadar ICAM-1 antara kelompok yang diberi perlakuan *crude* fukoidan dari ekstrak *Sargassum crassifolium* konsentrasi 50 µg/mL (kadar 2,46 ng/mL) dan konsentrasai 25 µg/mL (kadar 1,63

ng/mL) bila dibandingkan dengan kelompok kontrol normal (kadar 4,97 ng/mL) dan kelompok kontrol inflamasi (kadar 6,32 ng/mL). Hasil yang sama juga ditunjukkan pada kadar VCAM-1, pada kelompok yang diberi perlakuan *crude* fukoidan dari ekstrak *Sargassum crassifolium* konsentrasi 50 µg/mL (kadar 0,75 ng/mL) dan konsentrasai 25 µg/mL (kadar 0,60 ng/mL) bila dibandingkan dengan kelompok kontrol normal (kadar 2,24 ng/mL) dan kelompok kontrol inflamasi (kadar 2,98 ng/mL).

Setelah pemberian *crude* fukoidan dari ekstrak *Sargassum crassifolium* terdapat perbedaan signifikan antara kelompok yang diberi sediaan uji dan kelompok yang tidak diberi sediaan uji sehingga dapat dinyatakan *crude* fukoidan dari ekstrak *Sargassum crassifolium* memiliki efek antiinflamasi melalui penurunan kadar ICAM-1 dan VCAM-1. Namun penghambatan kadar ICAM-1 dan VCAM-1 pada konsentrasi 50 µg/mL tidak lebih tinggi dari konsentrasi 25 µg/mL. Hal ini

Tabel 3. Kadar dan persen inhibisi VCAM-1

Perlakuan	Kadar VCAM-1 (ng/mL)	Inhibisi kadar VCAM-1 (%)
Kontrol normal	2,24 ± 0,54 ^a	24,73 ± 18,06
Kontrol inflamasi	2,98 ± 0,42 ^b	
Crude fukoidan konsentrasi 50 µg/mL	0,75 ± 0,20 ^c	74,76 ± 6,87
Crude fukoidan konsentrasi 25 µg/mL	0,60 ± 0,37 ^c	79,94 ± 12,53

Data berupa kadar rata-rata±SD

Perbedaan huruf a,b,c menunjukkan perbedaan signifikan antar kelompok berdasarkan uji *post hoc* Duncan

dimungkin karena *crude* fukoidan memiliki aktivitas ganda. Fukoidan juga memiliki aktivitas sebagai imunomodulator yang dapat menstimulasi perbaikan imunitas pada tubuh.

Fucoidan dapat memicu THP-1 dengan meningkatnya kadar TNF α , IL-12. Fukoidan juga menginduksi produksi dari interleukin-1 (IL-1) dan IFN- γ secara *in vitro*, peningkatan fungsi dari Limfosit T, sel B, makrofag dan sel NK serta memberikan respon antibodi utama di *Sheep Red Blood Cells* (SRBC) secara *in vivo*⁽¹⁸⁾. Berdasarkan hasil penelitian tersebut fucoidan dapat berfungsi efektif sebagai imunomodulasi dan imunoprevensi terhadap kanker payudara. Beberapa penelitian lainnya menyebutkan bahwa ekstrak ganggang cokelat memiliki aktivitas imunostimulan yang ditandai dengan meningkatnya kadar mediator proinflamasi seperti NO, TNF- α , IL-1 β , dan IL-6⁽¹⁹⁾.

Berdasarkan hasil penelitian tersebut maka diduga *crude* fukoidan yang diujikan pada penelitian ini memiliki aktivitas ganda. *Crude* fukoidan pada konsentrasi rendah menunjukkan aktivitas antiinflamasi melalui penghambatan molekul adesi ICAM-1 dan VCAM-1. Sementara pada konsentrasi tinggi menunjukkan aktivitas imunomodulator melalui peningkatan kadar TNF dan IL yang secara tidak langsung menyebabkan tidak terjadi inhibisi pada molekul adesi ICAM-1 dan VCAM-1.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa *crude* fukoidan dari ekstrak *Sargassum crassifolium* mempunyai aktivitas antiinflamasi pada konsentrasi rendah. Hal ini sejalan dengan penelitian yang menunjukkan fukoidan dari *Laminaria japonica* secara signifikan dapat menurunkan ekspresi LOX-1 dan mediator proinflamasi *in vivo*. Secara *in vitro*, fukoidan menurunkan LOX-1, mediator proinflamasi serta molekul adhesi seperti *intercellular adhesion molecules* (ICAM-1) dan *vascular cell adhesion molecule-1* (VCAM-1) (3). Serta penelitian lain terhadap *Sargassum serratifolium* yang menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol *Sargassum serratifolium* pada makrofag RAW 264,7 yang distimulasi lipopolisakarida dapat menghambat produksi mediator inflamasi dan sitokin proinflamasi.

SIMPULAN

Crude fukoidan dari ekstrak *Sargassum crassifolium* yang dikumpulkan pada bulan Oktober 2017 dari Pantai Cicalobak, Kabupaten garut, Jawa Barat, memiliki aktivitas antiinflamasi melalui penghambatan kadar ICAM-1 dan VCAM-1 pada sel RAW 264.7 yang diinduksi inflamasi dengan lipopolisakarida.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Simlitabmas Kemenristek Dikti melalui Hibah Tim Pascasarjana yang telah membiayai penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Pakidi CS, Suwoyo HS. Potensi dan pemanfaatan bahan aktif alga cokelat *Sargassum sp.* Octopus. 2016;5(2):488–98.
2. Nurul Falah R. Preparasi dan karakterisasi nanopartikel *crude* fukoidan ekstrak rumput laut coklat (*Sargassum polycystum*) dan uji aktivitas antiplatelet secara *in vitro*. Prep dan karakterisasi nanopartikel *crude* fukoidan ekstrak rumput laut coklat (*Sargassum polycystum*) dan uji Akt antiplatelet secara Vitro. 2017.
3. Asih S. Uji aktivitas antiplatelet fukoidan dari rumput laut coklat (*Sargassum crassifolium*) yang diperoleh dari perairan Garut dengan waktu panen yang berbeda. 2018.
4. Udani J. The potential use of fucoidans from brown seaweed as a dietary supplement. J Nutr Food Sci [Internet]. 2012;02(10):1–6. Available from: <https://www.omicsonline.org/2155-9600/2155-9600-2-171.digital/2155-9600-2-171.html>
5. Cumashi A, Ushakova NA, Preobrazhenskaya ME, D’Incecco A, Piccoli A, Totani L, et al. A comparative study of the anti-inflammatory, anticoagulant, antiangiogenic, and antiadhesive activities of nine different fucoidans from brown seaweeds. Glycobiology. 2007;17(5):541–52.
6. Phull A, Majid M, Haq I, Rashid M, Ja S. International Journal of Biological Macromolecules In vitro and in vivo evaluation of anti-arthritis, antioxidant efficacy of fucoidan from *Undaria pinnatifida* (Harvey) Suringar. Int J Biol Macromol [Internet]. 2017;97:468–80. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.01.051>
7. Simpi CC, Nagathan C V, Karajgi SR, Kalyane N V. Evaluation of marine brown algae *Sargassum ilicifolium* extract for analgesic and anti-inflammatory activity. 2013;5(3).
8. Juliana A Purukan, Kusmardi, Bambang Ponco Priosoeryanto, Dian Ratik Laksmiawati S. Perbandingan profil lipid pada tikus putih jantan yang diberi *crude* fucoidan yang diinduksi diet tinggi lemak. 2019.
9. Joung EJ, Gwon WG, Shin T, Jung BM, Choi JS, Kim HR. Anti-inflammatory action of the ethanolic extract from *Sargassum serratifolium* on lipopolysaccharide-stimulated mouse peritoneal macrophages and identification of active components. J Appl Phycol. 2017;29(1):563–73.
10. Fitton JH, Stringer DN, Karpinić SS. Therapies from fucoidan: An update. Mar Drugs. 2015;13(9):5920–46.
11. Fletcher HR, Biller P, Ross AB, Adams JMM. The seasonal variation of fucoidan within three species of

- brown macroalgae. *Algal Res* [Internet]. 2017;22:79–86. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.algal.2016.10.015>
12. Klingenberg R, Hansson GK. Treating inflammation in atherosclerotic cardiovascular disease: Emerging therapies. *Eur Heart J*. 2009;30(23):2838–44.
 13. Jones DP, True HD, Patel J. Leukocyte trafficking in cardiovascular disease: insights from experimental models. *Mediators of Inflammation*. 2017.
 14. Laksmiawati DR, Prasanti AP, Larasinta N, Syauta GA, Hilda R, Ramadaniati HU, et al. Anti-inflammatory potential of gandarusa (<i>Gendarussa vulgaris</i> Nees) and Soursoop (<i>Annona muricata</i> L) Extracts in LPS Stimulated-Macrophage Cell (RAW264.7). *J Nat Remedies* [Internet]. 2016;16(2):73. Available from: <http://www.informaticsjournals.com/index.php/jnr/article/view/5367>
 15. Sandhiutami NMD, Moordiani M, Laksmiawati DR, Fauziah N, Maesaroh M, Widowati W. In vitro assesment of anti-inflammatory activities of coumarin and indonesian cassia extract in RAW264.7 murine macrophage cell line. *Iran J Basic Med Sci*. 2017;20(1):99–106.
 16. Aydin S. A short history, principles, and types of ELISA, and our laboratory experience with peptide/protein analyses using ELISA. *Peptides* [Internet]. 2015;72:4–15. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.peptides.2015.04.012>
 17. Wang X, Pei L, Liu H, Qv K, Xian W, Liu J, et al. Fucoidan attenuates atherosclerosis in LDLR^{-/-} Mice Through Inhibition of Inflammation and Oxidative Stress. *Int J Clin Exp Pathol*. 2016;9(7):6896–904.
 18. Satyarsa ABS, Education M, Program S. Potential of Fucoidan from Brown Seaweeds (*Sargassum* sp.) as innovation therapy on breast cancer studi pustaka: potensi fucoidan dari rumput laut coklat (*Sargassum* sp.) sebagai inovasi terapi pada kanker payudara. 2019;2(3):909–19.
 19. Yang JW, Yoon SY, Oh SJ, Kim SK, Kang KW. Bifunctional effects of fucoidan on the expression of inducible nitric oxide synthase. *Biochem Biophys Res Commun*. 2006;346(1):345–50.