

**POTENSI EKSTRAK ETANOL *Sargassum duplicatum*
DAN TAURIN SEBAGAI SENYAWA SITOTOKSIK
TERHADAP *Artemia salina* DAN SEL MCF-7**

Skripsi

Oleh

**AINUN JARIYA
1917021020**



**PROGRAM STUDI S1 BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
2023**

ABSTRAK

POTENSI EKSTRAK ETANOL *Sargassum duplicatum* DAN TAURIN SEBAGAI SENYAWA SITOTOKSIK TERHADAP *Artemia salina* DAN SEL MCF-7

Oleh

Ainun Jariya

Kanker masih menjadi salah satu penyebab kematian tertinggi di dunia membutuhkan inovasi pengobatan kanker yang lebih selektif dan memiliki risiko efek samping yang lebih rendah. Upaya penemuan pengobatan tersebut dapat dilakukan dengan mengeksplorasi bahan alam sebagai senyawa sitotoksik. *Sargassum duplicatum* merupakan salah satu jenis makroalga coklat yang banyak tersebar di Perairan Pantai Lampung diketahui mengandung metabolit sekunder yang berpotensi sebagai senyawa sitotoksik. Di samping itu, taurin yang merupakan salah satu asam amino diduga juga dapat berpotensi sebagai senyawa sitotoksik dengan menginduksi apoptosis pada sel kanker. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui potensi antikanker dari ekstrak etanol *Sargassum duplicatum* dan taurin terhadap *Artemia salina* dan sel MCF-7. Pengujian sitotoksik dilakukan dengan metode BSLT dan WST-8. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan faktorial 6x2 yang terdiri dari 6 seri konsentrasi yaitu 62,5 ppm, 125 ppm, 250 ppm, 500 ppm, 1000 ppm, dan 2000 ppm, dengan 2 jenis bahan uji yaitu ekstrak etanol *Sargassum duplicatum* dan taurin disertai 3 kali ulangan. Hasil uji fitokimia ekstrak etanol *Sargassum duplicatum* mengandung saponin, terpenoid, tanin, alkaloid, dan flavonoid. Hasil pengujian aktivitas sitotoksik pada uji BSLT terhadap *Artemia salina* diperoleh nilai LC₅₀ ekstrak etanol *Sargassum duplicatum* sebesar 116 ppm dan pada taurin sebesar 201 ppm. Uji sitotoksik terhadap sel MCF-7 diperoleh hasil bahwa ekstrak etanol *Sargassum duplicatum* mampu menurunkan persentase viabilitas sel MCF-7 lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol sel dan kontrol positif doxorubicin sebesar 45,87% pada konsentrasi 2000 ppm.

Kata kunci: *Sargassum duplicatum*, taurin, sitotoksik, *Artemia salina*, BSLT, sel MCF-7, WST-8

ABSTRACT

POTENTIAL OF ETHANOL EXTRACT OF *Sargassum duplicatum* AND TAURINE AS CYTOTOXIC COMPOUNDS AGAINST *Artemia salina* AND MCF-7 CELLS

By

Ainun Jariya

Cancer is still one of the highest causes of death in the world requiring innovative cancer treatments that are more selective and have a lower risk of side effects. Efforts to find these treatments can be done by exploring natural materials as cytotoxic compounds. *Sargassum duplicatum* is a type of brown macroalgae which is widely distributed in Lampung sea waters, known to contain secondary metabolites which have the potential as cytotoxic compounds. In addition, taurine is an amino acid is also thought to have potential as a cytotoxic compound by inducing apoptosis in cancer cells. This study was conducted to determine the anticancer potential of the ethanol extract of *Sargassum duplicatum* and taurine against *Artemia salina* and MCF-7 cells. Cytotoxic testing was carried out using the BSLT and WST-8 methods. This study used a completely randomized design with a 6x2 factorial consisting of 6 concentration series namely 62.5 ppm, 125 ppm, 250 ppm, 500 ppm, 1000 ppm and 2000 ppm, with 2 types of test material, namely the ethanol extract of *Sargassum duplicatum* and taurine followed by 3 repetitions. The results of the phytochemical test of the ethanol extract of *Sargassum duplicatum* contained saponins, terpenoids, tannins, alkaloids and flavonoids. The results of the cytotoxic activity test in the BSLT test on *Artemia salina* obtained the LC₅₀ value of the ethanol extract of *Sargassum duplicatum* of 116 ppm and in taurine of 201 ppm. The cytotoxic test on MCF-7 cells showed that the ethanol extract of *Sargassum duplicatum* was able to reduce the percentage of viability of MCF-7 cells higher than control cells and doxorubicin as positive control by 45.87% at a concentration of 2000 ppm.

Keywords: *Sargassum duplicatum*, taurine, cytotoxic, *Artemia salina*, BSLT, MCF-7 Cells, WST-8

**POTENSI EKSTRAK ETANOL *Sargassum duplicatum*
DAN TAURIN SEBAGAI SENYAWA SITOTOKSIK
TERHADAP *Artemia salina* DAN SEL MCF-7**

Oleh

Ainun Jariya

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA SAINS**

Pada

**Jurusan Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDARLAMPUNG
2023**

Judul Penelitian : POTENSI EKSTRAK ETANOL *Sargassum duplicatum* DAN TAURIN SEBAGAI SENYAWA SITOTOKSIK TERHADAP *Artemia salina* DAN SEL MCF-7

Nama Mahasiswa : *Ainun Jariya*

NPM : 1917021020

Jurusan : Biologi

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Menyetujui,

1. Komisi Pembimbing

Pembimbing I

Pembimbing II

Endang Linirin Widiastuti, Ph.D.
NIP. 196106111986032001

Gina Dania Pratami, M.Si
NIP. 198804222015042001

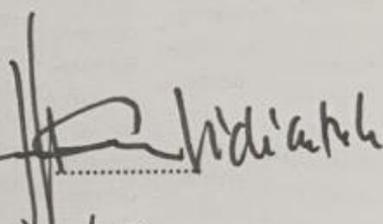
2. Ketua Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung

Dr. Jani Master, M.Si.
NIP. 198301312008121001

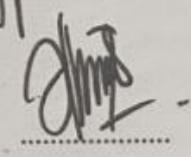
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

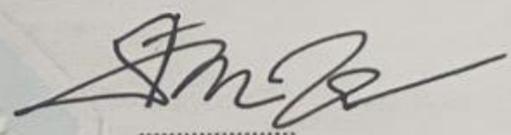
Ketua : Dra. Endang L. Widiastuti, M.Sc., Ph.D.



Sekretaris : Gina Dania Pratami, S.Si., M.Si

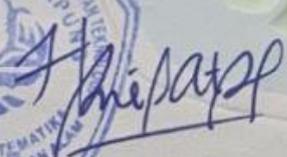


Anggota : Prof. Dr. Sutyarso, M.Biomed.



2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam




Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si.
NIP. 197110012005011002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 14 Juni 2023

LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Ainun Jariya
NPM : 1917021020
Program studi : S1 Biologi

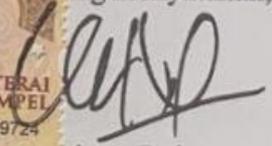
Menyatakan bahwa skripsi dengan judul "**Potensi Ekstrak Etanol *Sargassum duplicatum* dan Taurin Sebagai Senyawa Sitotoksik Terhadap *Artemia salina* dan Sel MCF-7**" merupakan karya tulis ilmiah hasil pemikiran sendiri berdasarkan pengetahuan serta informasi yang telah saya dapatkan dan bukan plagiat karya orang lain.

Demikian pernyataan ini saya buat. Apabila pada kemudian hari ditemukan kecurangan dalam karya tulis ilmiah ini, saya siap mempertanggungjawabkannya.

Bandarlampung, 19 Juni 2023

yang menyatakan,




Ainun Jariya
NPM. 1917021020

RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di Pringsewu, 14 Januari 2001 sebagai anak kedua dari tiga bersaudara dari pasangan Bapak Fadly Anas dan Ibu Umi Hany. Penulis menyelesaikan pendidikan pertamanya di TK Aisyiyah Pringsewu pada tahun 2007, lalu melanjutkan sekolah di SDN 1 Pardasuka dan lulus pada tahun 2013. Penulis menempuh pendidikan tingkat pertama di SMPN 1 Pardasuka dan menyelesaikannya pada tahun 2016. Penulis menempuh pendidikan selanjutnya di SMAN 1 Ambarawa dan lulus pada tahun 2019.

Penulis diterima sebagai mahasiswi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung melalui jalur SNMPTN pada tahun 2019. Selama menempuh pendidikan di kampus, Penulis pernah menjadi asisten praktikum mata kuliah Praktik Keterampilan Dasar Laboratorium, Zoologi Invertebrata dan Zoologi Vertebrata serta Perilaku Hewan. Selain itu, Penulis juga aktif mengikuti organisasi Himpunan Mahasiswa Biologi (HIMBIO) sebagai anggota bidang Ekspedisi pada tahun 2021, menjabat sebagai Bendahara Pelaksana PKSDA XXV, dan menjadi Ketua *Biology English Club* (BEC) pada tahun 2022.

Penulis telah menyelesaikan Praktik Kerja Lapangan (PKL) di Balai Karantina Pertanian Kelas 1 Bandar Lampung dengan judul “Deteksi *Brucella* sp. dengan Metode ELISA pada Pemasukan Sapi Asal Australia di Pelabuhan Panjang Lampung” dan melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Simpang Kanan, Kecamatan Sumberejo, Kabupaten Tanggamus.

MOTTO

Allah knows you are tired. Allah knows you are upset. And also you should know that Allah will never put you in a situation you cant handle. "Allah does not burden a soul beyond it can bear" (Al-Baqarah 2:286)

*So, surely with hardship comes ease
surely with that hardship, comes more ease (Al-Inshirah 94:5-6)*

*carpe diem, live your life to the fullest and let your emotions remind
your mind that you are alive.*

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk kedua orang tua, Alm. Abah dan Ibu, Abang, Adik dan keluarga besar yang sangat saya cintai dan sayangi. Terima kasih untuk doa, semangat, dukungan, dan motivasi yang diberikan hingga saya dapat menyelesaikan studi hingga akhir.

UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah *robbilalamin*. Segala puji bagi Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis mampu menyusun dan menyelesaikan skripsi dengan judul **“Potensi Ekstrak Etanol *Sargassum duplicatum* dan Taurin Sebagai Senyawa Sitotoksik Terhadap *Artemia salina* dan Sel MCF-7”** sebagai syarat memperoleh gelar Sarjana Sains Universitas Lampung. Penelitian ini didanai oleh Hibah BLU Universitas Lampung Skema *Professorship* dengan Nomor kontrak 861/UN26.21/PN/2023 Tanggal 10 April 2023.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini dapat disusun dengan baik atas dukungan, arahan, dan motivasi dari berbagai pihak. Oleh sebab itu, Penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada:

1. Allah SWT, atas kuasa dan Karunia-Nya kepada Penulis hingga dapat terselesaikannya skripsi ini.
2. Kedua orang tua, Alm. Abah dan Ibu, terima kasih atas segala hal yang telah kalian berikan baik secara moril dan materil, kalian yang selalu memberikan doa dan dukungan kepada Penulis. Terima kasih karena kalian penulis ada di Fase ini. Terkhususnya untuk Alm. Abah semoga surga menjadi tempat terbaik dan ternyaman untukmu.
3. Ibu Endang L. Widiastuti, Ph.D, selaku Dosen Pembimbing I yang selalu mendukung, memberi arahan, dan memotivasi sejak pelaksanaan kerja praktik hingga penyusunan skripsi ini selesai.
4. Ibu Gina Dania Pratami, M.Si., selaku Dosen Pembimbing II yang selalu membimbing, mendukung, dan memberi arahan dalam penyusunan skripsi.

5. Bapak Prof. Dr. Sutyarso, M.Biomed., selaku Dosen Pembahas yang memberikan kritik dan saran untuk penyempurnaan skripsi.
6. Bapak Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si., selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
7. Bapak Dr. Jani Master, M.Si., selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
8. Ibu Dr. Kusuma Handayani, M.Si., selaku Ketua Program Studi S1 Biologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
9. Ibu Prof. Dr. Emantis Rosa, M.Biomed., selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah memberikan arahan kepada Penulis selama menempuh pendidikan di Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
10. Rekan seperjuangan penelitian tim *anticancer* Daffara Rifqia Putri, Kezia Anynda, dan Nadia Nurizza yang saling membantu dalam pelaksanaan penelitian serta mendukung satu sama lain serta kakak tingkat Yosi Dwi Saputra, Ainun Bareta Rohmawati, dan Eka Ayu Lailatul Istikhomah yang telah memberikan bantuan dan dukungan dalam penyusunan skripsi.
11. Teman-teman seperjuangan Syakila Hasanudin, Annisa Zahwa, Jihan Wardani, Asty Awalliyah, M. Ade Nugraha, Adib Daffa, dan David Asadudin, terima kasih atas kebersamaan dan dukungannya selama masa perkuliahan.
12. Teruntuk Alma Rashifah Agustin, sahabat yang telah kebersamai penulis dari awal masuk perkuliahan dan masih akan terus berlanjut sampai kapanpun, terima kasih karena selalu ada dan senantiasa mendengarkan keluh kesah penulis, memberikan saran dan dukungan kepada penulis.
13. Seluruh rekan-rekan Jurusan Biologi angkatan 2019
14. *Last but not least, I wanna thank me for doing all of this hard work and not give up even in the lowest moment. I wanna thank me for never quitting. You've worked hard and you did it well. You'll always do well.*

Semoga Allah SWT membalas semua kebaikan yang telah diberikan. Akhir kata dengan mengucapkan banyak syukur, Penulis berharap skripsi ini dapat bermanfaat bagi kita semua. Atas perhatiannya, Penulis ucapkan Terima kasih.

Bandarlampung, 19 Juni 2023
Penulis,

Ainun Jariya

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL DALAM	ii
ABSTRAK	iii
ABSTRACT	iv
HALAMAN PERSETUJUAN	
HALAMAN PENGESAHAN	vi
PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI.....	vii
RIWAYAT HIDUP	viii
MOTTO	ix
HALAMAN PERSEMBAHAN	x
UCAPAN TERIMA KASIH	xi
DAFTAR ISI.....	xiv
DAFTAR GAMBAR.....	xvi
DAFTAR TABEL	xvii
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
I. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian.....	4
1.3 Manfaat Penelitian.....	4
1.4 Hipotesis.....	4
1.5 Kerangka Pikir.....	5
II. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 <i>Sargassum duplicatum</i>	6
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi <i>Sargassum duplicatum</i>	6
2.1.2 Kandungan Bahan Aktif <i>Sargassum duplicatum</i>	7
2.2 Taurin	9
2.3 Kanker	10
2.3.1 Kanker Payudara	13
2.4 Senyawa Antikanker	15
2.5 Uji Sitotoksik Metode <i>Brine Shrimp Lethality Test</i>	16
2.6 <i>Artemia salina</i>	17
2.6.1. Klasifikasi dan Morfologi <i>Artemia salina</i>	17
2.6.2. Siklus Hidup <i>Artemia salina</i>	19
2.6.3. <i>Artemia salina</i> Sebagai Hewan Uji	21
2.7 Uji sitotoksik Metode <i>Water Soluble Tetrazolium-8</i>	22
III.METODE PENELITIAN	24

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	24
3.2 Alat dan Bahan	24
3.3 Jenis dan Rancangan Penelitian	25
3.4 Diagram Alir Penelitian.....	26
3.5 Prosedur Penelitian.....	27
3.5.1 Pembuatan Ekstrak Etanol <i>Sargassum duplicatum</i>	27
3.5.2 Uji Fitokimia	28
3.5.3 Penetasan Telur <i>Artemia salina</i>	29
3.5.4 Penyiapan Larutan Stok.....	30
3.5.5 Uji Sitotoksik dengan Metode <i>Brine Shrimp Lethality Test</i> (BSLT).....	30
3.5.6 Pengambilan Koleksi Sel MCF-7	31
3.5.7 <i>Thawing Cell</i> dan Pembuatan Media Kultur	31
3.5.8 Uji Viabilitas sel dan Perhitungan Sel.....	31
3.5.9 Preparasi Sampel	32
3.5.10 Uji Sitotoksik dengan Metode WST-8 (<i>2-(2-methoxy-4-nitrophenyl)-3-(4-nitrophenyl)-5-(2,4-disulphophenyl)-2H-tetrazolium, monosodium salt</i>)	32
3.6 Analisis Data	33
3.6.1 Uji Fitokimia	33
3.6.2 Uji Sitotoksik dengan Metode BSLT	34
3.6.3 Uji Sitotoksik dengan Metode WST-8	34
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	35
4.1 Determinasi Tumbuhan	35
4.2 Ekstraksi <i>Sargassum duplicatum</i>	35
4.3 Uji Fitokimia	36
4.4 Uji Sitotoksik dengan Metode BSLT	36
4.5 Uji Sitotoksik dengan Metode WST-8	40
V. KESIMPULAN DAN SARAN	48
5.1 Kesimpulan	48
5.2 Saran	48
DAFTAR PUSTAKA	49
LAMPIRAN.....	56

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Kerangka Pikir Penelitian	5
Gambar 2. <i>Sargassum duplicatum</i>	7
Gambar 3. Proses pembentukan sel kanker (Wirtz <i>et al.</i> , 2011)	12
Gambar 4. Proses karsinogenesis (Kaur, 2014).....	13
Gambar 5. <i>A. salina</i> dewasa: (A) jantan; (B) betina (Zubairi <i>et al.</i> , 2014)..	19
Gambar 6. Siklus hidup <i>Artemia salina</i> (Sorgeloos, 1973).....	20
Gambar 7. Diagram Alir Penelitian.....	26
Gambar 8. Ekstrak Etanol <i>Sargassum duplicatum</i>	35
Gambar 9. <i>Artemia salina</i> (A) hidup; (B) mati	39
Gambar 10. Hasil uji sitotoksik ekstrak etanol <i>Sargassum duplicatum</i> dengan berbagai seri konsentrasi terhadap sel MCF-7	41
Gambar 11. Hasil uji sitotoksik taurin dengan berbagai seri konsentrasi terhadap sel MCF-7	42
Gambar 12. Morfologi sel MCF-7 (A) tanpa penambahan ekstrak dan (B) setelah penambahan ekstrak.....	43
Gambar 13. Lokasi Pengambilan <i>Sargassum duplicatum</i>	70
Gambar 14. Proses Penjemuran <i>Sargassum duplicatum</i>	70
Gambar 15. Maserasi <i>Sargassum duplicatum</i>	70
Gambar 16. Penyaringan Ekstrak etanol <i>Sargassum duplicatum</i>	70
Gambar 17. Hasil uji fitokimia.....	70
Gambar 18. Proses Penetasan <i>A. salina</i>	70
Gambar 19. Penimbangan ekstrak etanol <i>S. duplicatum</i> dan taurin	71
Gambar 20. Larutan stok ekstrak <i>S. duplicatum</i> dan taurin	71
Gambar 21. Uji sitotoksik dengan metode WST-8 (A) dan (B).....	71

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Prosedur uji fitokimia.....	28
Tabel 2. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Etanol <i>Sargassum duplicatum</i>	36
Tabel 3. Hasil Uji Mortalitas <i>Artemia salina</i> terhadap ekstrak etanol <i>Sargassum duplicatum</i> dan Taurin.....	37
Tabel 4. Hasil Uji Aktivitas Sitotoksik ekstrak etanol <i>Sargassum duplicatum</i> dan Taurin	38
Tabel 5. Data uji sitotoksik sel MCF-7	44
Tabel 6. Absorbansi Ekstrak Etanol <i>Sargassum duplicatum</i> terhadap sel MCF-7	57
Tabel 7. Absorbansi taurin terhadap sel MCF-7	57
Tabel 8. Absorbansi doxorubicin terhadap sel MCF-7	58
Tabel 9. Uji <i>Two Way</i> ANOVA Ekstrak Etanol <i>Sargassum duplicatum</i> dan Taurin terhadap <i>Artemia salina</i>	58
Tabel 10. Uji Lanjut (LSD) Ekstrak Etanol <i>Sargassum duplicatum</i> dan Taurin terhadap <i>Artemia salina</i>	59
Tabel 11. Uji <i>Two Way</i> ANOVA Ekstrak Etanol <i>Sargassum duplicatum</i> dan Taurin terhadap sel MCF-7.....	60
Tabel 12. Uji Lanjut (LSD) Ekstrak Etanol <i>Sargassum duplicatum</i> dan Taurin terhadap sel MCF-7	61

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Data Uji Sitotoksik.....	57
Lampiran 2. Dokumentasi Penelitian	70
Lampiran 3. Hasil Determinasi	72

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kesadaran dan pengetahuan masyarakat yang masih kurang terkait faktor penyebab kanker membuat tingginya penderita kanker di Indonesia. Kanker termasuk salah satu penyakit mematikan karena pada umumnya penyakit ini tidak menimbulkan gejala pada awal perkembangannya dan baru terdeteksi setelah mencapai stadium lanjut. Kanker masih menjadi penyebab kematian tertinggi di dunia dari sekian jenis penyakit. Salah satu penyakit kanker yang umum diderita dan memiliki prevalensi yang tinggi yaitu kanker payudara. Berdasarkan data dari *Global Burden Cancer* (GLOBOCAN) pada tahun 2020 menunjukkan bahwa terdapat 65.858 kasus kanker payudara (16,6%) dari total 396.914 kasus baru kanker di Indonesia dengan jumlah kematian sebesar 22.430 kasus. Hal tersebut menjadikan kanker payudara sebagai penyakit kanker yang diderita terbanyak di Indonesia serta penyebab jumlah terbesar kematian akibat kanker pada wanita.

Kanker payudara terbentuk dari sel-sel normal jaringan payudara yang mengalami mutasi atau perubahan genetik akibat dari kerusakan DNA pada sel normal. Sel-sel kanker tersebut akan tumbuh dan berkembang tanpa terkendali dan dapat menyebar di jaringan atau organ tubuh lain. Pada sel normal, sel akan mengalami apoptosis yang merupakan proses penting dalam pengaturan keseimbangan sel. Sementara pada sel kanker, proses apoptosis tidak berlangsung dengan baik. Penderita kanker seringkali tidak menyadari gejala awal yang muncul dari kanker. Keberadaan kanker membuat penderita mengalami penurunan kualitas hidup, baik penurunan dalam kondisi fisik maupun psikologis (Jayasima & Deliana, 2013).

Dalam proses pengobatan kanker terdapat beberapa teknik pengobatan salah satunya yaitu kemoterapi. Namun umumnya, pada pengobatan kemoterapi dapat menimbulkan efek samping yang disebabkan oleh obat-obatan kemoterapi tidak hanya menyerang sel kanker tetapi juga menyerang sel-sel normal lain dalam tubuh (Nursafitri, *et al.*, 2013). Di samping hal itu, pengobatan kemoterapi membutuhkan biaya yang besar. Dalam upaya mengatasi hal tersebut, telah banyak dilakukan penelitian terkait pengobatan kanker dengan menggunakan bahan alami terutama yang bersumber dari tumbuhan sebagai senyawa antikanker. Senyawa antikanker dapat memicu proses anti proliferasi serta apoptosis sel sehingga pertumbuhan dan perkembangan sel kanker dapat dihentikan. Penggunaan bahan alami sebagai agen antikanker diketahui mempunyai efek samping dan risiko penggunaan jangka panjang yang lebih rendah. Salah satu bahan alami yang berpotensi sebagai senyawa antikanker adalah makroalga. Indonesia disebut pula sebagai negara maritim dikarenakan sebagian besar wilayahnya didominasi oleh perairan. Kelimpahan makroalga sangat berpeluang untuk dimanfaatkan dalam bidang kesehatan.

Potensi makroalga sebagai senyawa antikanker diketahui karena makroalga memiliki kemampuan untuk menghasilkan senyawa metabolit sekunder. Metabolit sekunder yang dihasilkan oleh makroalga merupakan senyawa *bioactive substances* seperti terpenoid, steroid, kumarin, flavonoid, dan alkaloid yang berfungsi untuk mempertahankan diri dari kondisi lingkungan makroalga yang kurang menguntungkan dan mempertahankan diri dari ancaman predator. Kemampuan makroalga memproduksi senyawa tersebut berkaitan dengan kondisi lingkungan hidup makroalga yang ekstrim seperti salinitas yang tinggi (Malo *et al.*, 2018).

Penelitian terkait pengujian potensi makroalga sebagai senyawa antikanker telah dilakukan. Meylen (2019) menyatakan bahwa ekstrak metanol *Sargassum duplicatum* memiliki nilai LC_{50} sebesar 261.35 ppm, sementara pada pelarut etil asetat memiliki nilai LC_{50} sebesar 165.95 ppm. Pada makroalga coklat terkandung senyawa murni yang umumnya memiliki

kemampuan sitotoksik pada *cell line*. Senyawa murni tersebut adalah fukoidan yang berperan penting dalam sel tubuh hewan maupun manusia terkait dalam merangsang sistem kekebalan tubuh dan kemampuannya dalam memodifikasi sifat sel. Selain itu fukoidan juga memiliki sifat anti proliferasi, antitumor dan antikanker dengan menginduksi apoptosis, menghambat invasi, metastasis, dan angiogenesis sel kanker. Zat tersebut diketahui mampu menghambat pertumbuhan beberapa jenis kanker (Firdaus *et al.*, 2018).

Sifat antikanker pun diketahui dimiliki oleh taurin. Taurin (*2-aminoethanesulfonic acid*) termasuk golongan asam amino bebas yang melimpah yang terkandung pula pada biota laut. Taurin berperan dalam konjugasi asam empedu, detoksifikasi, stabilisasi membran, osmoregulasi, dan modulasi kadar kalsium pada sel. Selain itu juga berperan sebagai antikarsinogenik karena dapat melindungi tubuh dari kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas. Selaras dalam penelitian (Hervidea *et al.*, 2018) tentang pemberian ekstrak metanol *Sargassum* sp., *Gracilaria* sp. dan taurin menunjukkan mampu memperbaiki kerusakan histologi hepar mencit Jantan (*Mus musculus*) yang diinduksi benzo(α)Piren.

Pengujian kandungan pada suatu biota yang diduga mempunyai sifat sebagai senyawa antikanker dapat dilakukan pengujian toksisitas dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) sebagai uji skirning. Metode BSLT menjadi uji pendahuluan untuk mengetahui toksisitas dari suatu sampel dengan menggunakan *Artemia salina* sebagai hewan uji. Uji toksisitas menjadi suatu uji untuk menentukan potensi suatu senyawa sebagai racun, mengenali kondisi biologis atau lingkungan munculnya efek toksik dan mengkarakterisasi aksi atau efek yang diitimbulkan (Wirasuta dan Niruri, 2006). Aktivitas toksisitas ditentukan dari jumlah kematian *Artemia salina* yang dinyatakan dalam nilai *Lethal Concentration* atau LC₅₀ (Sartinah *et al.*, 2020). Metode ini cocok dipakai sebagai uji awal karena waktu pengujiannya relatif praktis dan cepat, biaya lebih terjangkau, dan hasil yang cukup akurat. Jika diketahui terdapat indikasi aktivitas antikanker pada makroalga tersebut

dapat dilakukan uji praklinik selanjutnya sehingga potensinya sebagai senyawa antikanker dapat dikembangkan.

Berdasarkan latar belakang di atas, penelitian ini dilakukan untuk menguji potensi makroalga coklat *Sargassum duplicatum* dan taurin sebagai senyawa sitotoksik. Pengujian toksisitas ekstrak etanol *Sargassum duplicatum* dan taurin dilakukan menggunakan metode BSLT terhadap *Artemia salina* dan metode *Water Soluble Tetrazolium* (WST-8) terhadap sel MCF-7. Penelitian ini dilakukan sebagai upaya eksplorasi potensi senyawa dari bahan alam yang dapat dimanfaatkan dan dikembangkan sebagai agen pengobatan kanker.

1.2 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui nilai LC_{50} dan IC_{50} dari ekstrak etanol *Sargassum duplicatum* dan taurin terhadap *Artemia salina* dan sel MCF-7.

1.3 Manfaat Penelitian

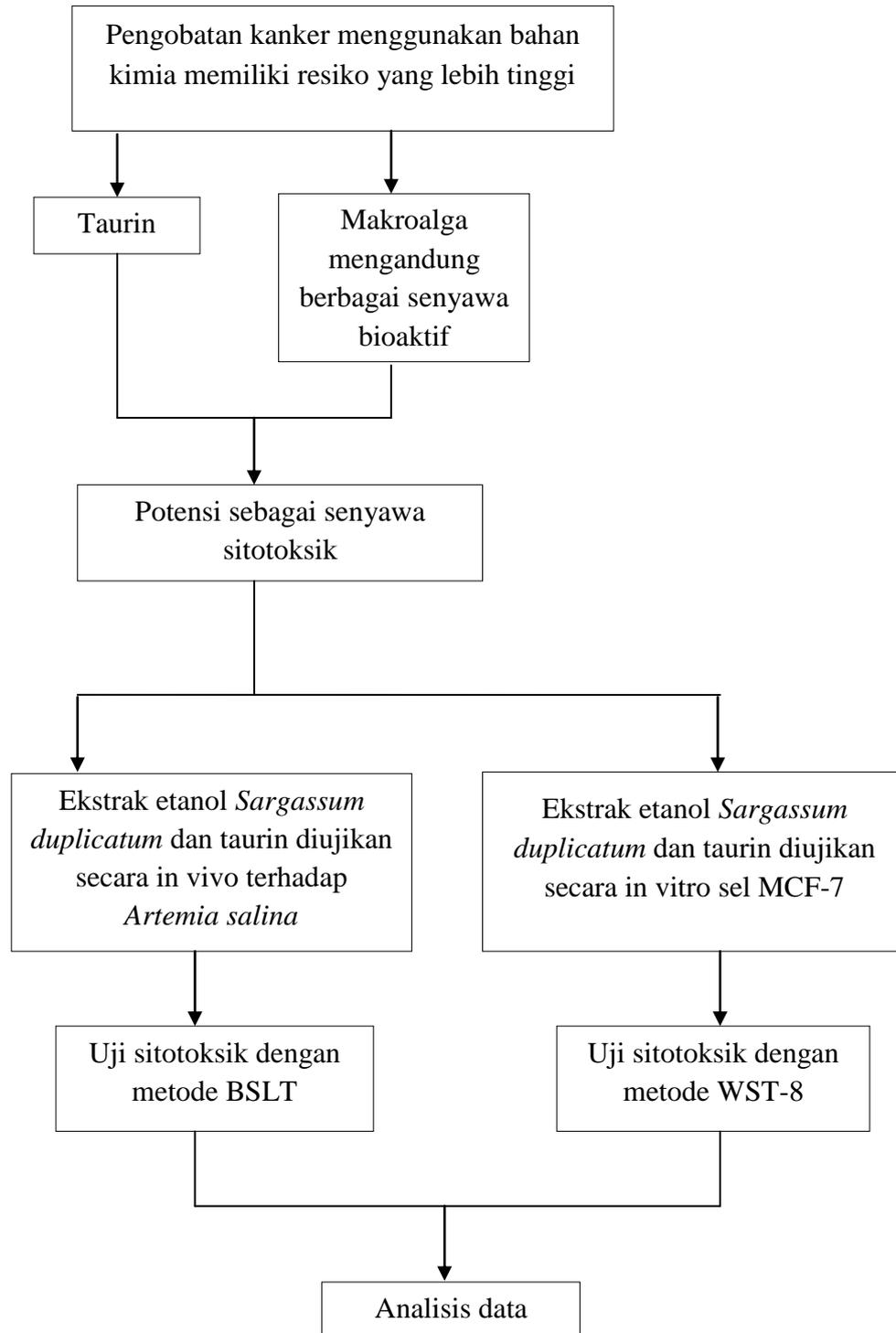
Adapun manfaat dari penelitian ini yaitu dapat diketahui nilai LC_{50} dan IC_{50} dari ekstrak etanol *Sargassum duplicatum* dan taurin untuk menilai keamanan secara akut dari kedua bahan tersebut, sehingga potensi *Sargassum duplicatum* dan taurin sebagai senyawa sitotoksik dapat dikembangkan menjadi agen obat antikanker.

1.4 Hipotesis

Adapun hipotesis dalam penelitian ini sebagai berikut

1. Ekstrak Etanol *Sargassum duplicatum* dan taurin dapat menurunkan tingkat kelangsungan hidup *Artemia salina*
2. Ekstrak Etanol *Sargassum duplicatum* dan taurin dapat menurunkan tingkat viabilitas sel MCF-7

1.5 Kerangka Pikir



Gambar 1. Kerangka Pikir Penelitian

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Sargassum duplicatum*

2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi *Sargassum duplicatum*

Sargassum duplicatum merupakan golongan makroalga coklat kelompok Phaeophyceae yang banyak ditemukan di Indonesia. Klasifikasi *Sargassum duplicatum* sebagai berikut (Dawes, 1981).

Divisi	: Thallophyta
Kelas	: Phaeophyceae
Ordo	: Fucales
Famili	: Sargassaceae
Genus	: <i>Sargassum</i>
Spesies	: <i>Sargassum duplicatum</i>

Habitat tumbuhan ini di perairan pada kedalaman 0,5 - 10 m yang terdapat arus dan ombak. Tumbuh membentuk rumpun besar, panjang thallus utama mencapai 0,5 - 3 m dengan cabang thalli terdapat gelembung udara (*vesicle*) yang selalu muncul di permukaan air (Kadi, 2005). Pertumbuhan alga ini sebagai makroalga bentik melekat pada substrat dasar perairan.

Sargassum biasanya dicirikan oleh tiga sifat yaitu adanya pigmen coklat yang menutupi warna hijau, hasil fotosintesis disimpan dalam bentuk laminaran dan algin serta terdapat flagel (Gambar 2). *Sargassum duplicatum* memiliki variasi morfologi di antaranya bentuk *cauloid* yang silindris, tipe percabangan *dichotomous*, filoidnya berbentuk oval dengan pinggir bergerigi dan ujung membulat disertai duplikasi, cryptostomata dan midribnya tidak terlihat jelas, bentuk vesicle val, ujung runcing dan bersayap serta receptaclenya membentuk rangkaian

atau pengelompokkan yang rimbun merapat dekat filoid (Triastinurmiatiningsih *et al.*, 2011).



Gambar 2. *Sargassum duplicatum*

2.1.2 Kandungan Bahan Aktif *Sargassum duplicatum*

Sargassum duplicatum mempunyai metabolit primer dan metabolit sekunder. Metabolit primer dalam makroalga tersebut berupa senyawa polisakarida hidrokoloid termasuk alginat, agar, dan karagenan (Bhat *et al.*, 2009; Chapman, 1970). Metabolit primer berfungsi untuk pertumbuhan dan kehidupan suatu organisme (Nofiani, 2008). Metabolit sekunder digunakan sebagai proteksi terhadap keadaan lingkungan yang cenderung rentan terhadap organisme parasit. Metabolit sekunder terbentuk dari metabolit primer yang berada pada kondisi stres (Bhat *et al.*, 2009; Nofiani, 2008). Umumnya di dalam metabolit sekunder terdapat senyawa bioaktif yang berfungsi sebagai antibakteri, antivirus, antitumor, antikoagulan dan antifouling (Santi *et al.*, 2014). *Sargassum duplicatum* yang diekstrak menggunakan etil asetat diketahui mengandung senyawa alkaloid, saponin, steroid, dan flavonoid. Sedangkan yang diekstrak menggunakan metanol mengandung senyawa alkaloid, saponin, quinon, fenolik, steroid, dan flavonoid. Adanya perbedaan jenis pelarut yang digunakan dalam ekstraksi memberikan pengaruh terhadap senyawa bioaktif yang dikandung pada masing-masing ekstrak (Santi *et al.*, 2014).

Senyawa bioaktif dalam *Sargassum* sp. di antaranya yaitu florotanin, terpenoid, chromene, derivat tetraprenyltoluquinol, fukosantin,

fukoidan, alginat, asam-asam fenolat, katekin, kuersetin, fukosterol, stigmasterol, β -sitosterol, feofitin A, sulfoquinovo-syldiacly-glycerol, florotanin, fukosantin, fukoidan, alginat, fukosterol, meroditerpenoid dan *gentisic acid*. Meroditerpenoid merupakan senyawa bioaktif khas dalam *Sargassum* sp. yang tidak diproduksi oleh genus rumput laut lainnya. Aktivitas biologis dari senyawa bioaktif yang terkandung dalam *Sargassum* sp. dapat berperan sebagai antioksidan, antikanker, antitumor, antiinflamasi, antihipertensi, antiobesitas, antidiabetes, antibakteri, antifungi, antivirus, antialergi, hipokolesterolemia, neuroprotektif, pencerah kulit serta proteksi ROS intraseluler (Rohim *et al.*, 2019)

Alga cokelat mengandung metabolit sekunder seperti senyawa alkaloid, glikosida, tanin dan steroid yang banyak digunakan dalam pengobatan dan industri farmasi (Jeeva *et al.*, 2012) serta senyawa fenolik dan flavonoid yang memiliki aktivitas penghambatan oksidasi LDL, *Angiotensin Converting Enzyme* (ACE), α -amilase, α glukosidase (Nagappan *et al.*, 2017) dan berpotensi memberikan efek terapeutik serta perlindungan terhadap beberapa penyakit degeneratif terutama kanker (Padua *et al.*, 2015).

Senyawa fenol dapat mengurangi risiko beberapa penyakit kronis karena bersifat inflamatori, detoksifikasi karsinogenik dan antikolesterol (Chen and Blumberg, 2007). Senyawa fenol juga berpotensi sebagai antioksidan yang didefinisikan sebagai zat yang dapat mencegah terjadinya reaksi autooksidasi radikal bebas dalam oksidasi lipid (Septiana dan Asnani, 2013). Fenol berpotensi sebagai antioksidan disebabkan oleh keberadaan gugus hidroksil dalam senyawa fenol. Gugus hidroksil dapat berfungsi sebagai penyumbang atom hidrogen ketika bereaksi dengan senyawa radikal melalui mekanisme transfer elektron sehingga proses oksidasi dapat dihambat. Molyneux (2004) menyatakan apabila di dalam suatu bahan memiliki kandungan senyawa fenol maka aktivitas antioksidan dalam bahan tersebut juga tinggi.

Selaras dalam hal tersebut, penelitian Gazali, M *et al* (2010) pun menyatakan bahwa aktivitas antioksidan disebabkan karena kandungan total fenol dari alga cokelat *Sargassum* sp.

Katekin dan kuersetin adalah senyawa golongan flavonoid yang teridentifikasi pada *Sargassum* sp. Katekin dan kuersetin diketahui dapat berfungsi sebagai antikanker melalui induksi efek apoptosis, antioksidatif, dan antiangiogenesis. Efek apoptosis terbukti pada sitotoksitas flavonoid (tergantung dosis) terhadap proliferasi *cell line* kanker payudara (MCF-7 dan MDA-MB-231). Senyawa golongan flavonoid juga mampu mereduksi ion ferri (antioksidan) (Namvar *et al.*, 2013).

Fukoidan diketahui memiliki aktivitas penghambatan sel kanker kolon pada manusia melalui mekanisme apoptosis, fragmentasi DNA, dan antioksidatif (Wang *et al.*, 2015). Potensi penghambatan enzim *cyclooxygenase* 1 dan 2 oleh fukoidan diketahui lebih baik dibandingkan aspirin dan alginat, sehingga lebih potensial sebagai antiinflamasi (Dewi, 2016).

2.2 Taurin

Taurin merupakan asam amino mengandung belerang yang secara kimia dikenal sebagai asam sulfonat 2-Aminoetan. Taurin ditemukan melimpah di sitosol leukosit (Learn *et al.*, 1990). Taurin dianggap sebagai asam amino esensial bersyarat namun bukan sebagai pembentuk protein. Taurin ada di mana-mana dan merupakan asam amino bebas paling banyak di dalam jantung, retina, otot lurik, otak, dan leukosit. Taurin merupakan pelindung jaringan dalam beberapa model cedera akibat *oxidant induced injury* (Schuller-Levis and Park, 2003).

Taurin diduga memiliki kemampuan untuk stabilitas membran, antioksidan, keseimbangan homeostatis dari kalsium, memacu pertumbuhan, osmoregulasi dan penglihatan. Taurin memiliki peran protektif di hampir setiap jaringan vital, dari sistem saraf pusat (SSP). Selain tindakan tersebut juga

berpartisipasi dalam sejumlah proses metabolisme seperti diabetes dan metabolisme tulang. Taurin melindungi sel dari efek mengganggu perubahan eksterior yang ditransmisikan ke dalam sel (Morales-Borges RH *et al.*, 2020).

Sejak sintesis endogen taurin pada manusia terbatas, manusia bisa menderita kekurangan taurin. Taurin merupakan nutrisi penting bagi manusia. Penelitian terkini menunjukkan bahwa perubahan tingkat taurin dapat digunakan untuk memprediksi pembentukan dan transformasi ganas dari beberapa tumor (El Agouza *et al.*, 2011; Srivastava *et al.*, 2010). Sebagai contoh, taurin ditemukan jauh lebih rendah pada pasien dengan karsinoma dibandingkan pada pasien dalam kluster manajemen yang sehat. Dengan demikian, taurin dianggap sebagai biomarker unik untuk penunjukan atau identifikasi awal karsinoma (El Agouza *et al.*, 2011).

Sebuah studi menyelidiki efek antineoplastik dari campuran taurin saja dan campuran cisplatin dengan taurin dalam sel kanker serviks manusia (Kim T and Kim AK, 2013). Pengobatan taurin dalam proliferasi sel menyusut dalam waktu yang bervariasi tergantung dosis. Dalam pengobatan bersama cisplatin dengan taurin, proliferasi sel lebih menyusut daripada pengobatan tunggal cisplatin. Pengurangan proliferasi sel tersebut disebabkan oleh induksi kematian sel terprogram. Dalam penelitian lain (He *et al.*, 2019) menemukan hasil taurin yang menginduksi apoptosis terhadap kanker nasofaring (sel NPC) (HK1 dan HK1-EBV) untuk memperjelas mekanisme efek anti tumor taurin dengan strategi imunositokimia. Mereka memastikan bahwa taurin menimbulkan pembelahan caspase-9/3 dengan cara yang sangat bergantung pada konsentrasi, menunjukkan keterlibatan sinyal apoptosis mitokondria.

2.3 Kanker

Kanker merupakan penyakit tidak menular yang memiliki ciri berupa benjolan yang semakin membesar dikarenakan pertumbuhan sel secara tidak normal dan tidak terkendali sehingga dapat merusak jaringan di sekitarnya dan menyebar ke bagian tubuh. Kanker bisa tumbuh dan berkembang di berbagai bagian tubuh kecuali pada rambut, gigi, dan kuku (Hendry, 2007). Dalam keadaan normal, sel hanya akan membelah diri apabila terdapat sel

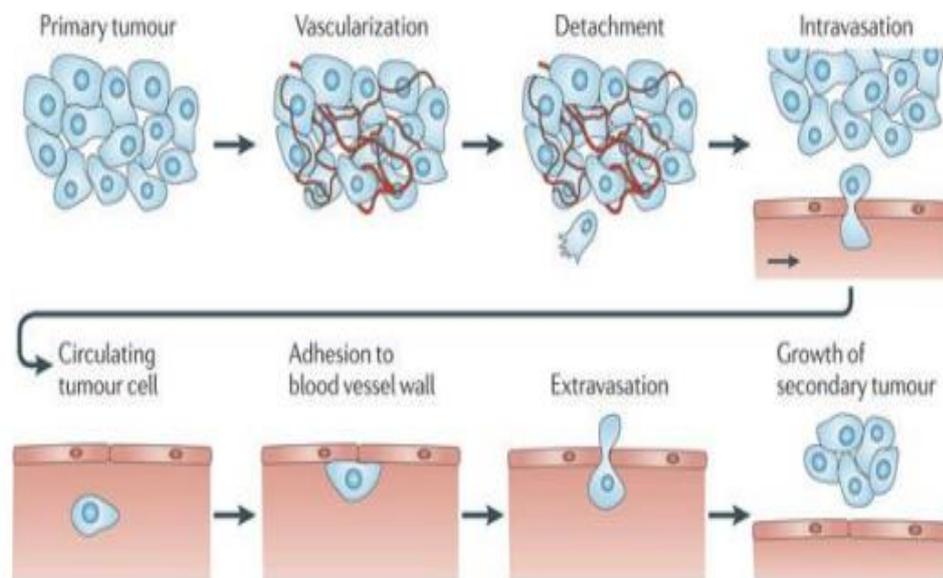
yang rusak atau mati. Namun pada sel kanker, sel akan terus membelah diri meskipun tidak dibutuhkan. Jika pertumbuhan sel tersebut tidak cepat dihentikan dan diobati maka sel kanker dapat terus berkembang lalu tumbuh menyusup ke jaringan sekitarnya (invasif) dan menyebar (metastasis) ke tempat yang lebih (Dalimartha, 2002). Keabnormalitas sel kanker tersebut disebabkan oleh mutasi gen yang mengatur pembelahan sel. Apabila benjolan kanker terjadi di bagian permukaan tubuh, maka dapat diketahui lebih dini dan segera diobati. Namun, terdapat beberapa kanker yang terjadi di dalam tubuh dan tidak memiliki gejala sehingga lebih sulit diketahui dan jika sudah timbul gejala, umumnya sudah masuk stadium lanjut sehingga lebih sulit untuk diobati (Iskandar, 2007).

Menurut *Cancer Research UK (2020)* Terdapat lima kelompok besar untuk mengklasifikasikan kanker berdasarkan tempat kanker tersebut berasal yaitu:

1. Karsinoma, yakni kanker yang berasal dari jaringan epitel seperti kulit atau jaringan yang menutupi organ internal.
2. Sarkoma, yakni kanker yang berasal dari jaringan penyokong seperti tulang, tulang rawan, lemak, otot, pembuluh darah, atau jaringan ikat.
3. Limfoma, yakni kanker yang berasal dari kelenjar getah bening dan jaringan sistem kekebalan tubuh.
4. Leukemia, yakni kanker yang berasal dari jaringan pembentuk darah seperti sumsum tulang belakang.
5. Kanker otak dan sumsum tulang belakang, dikenal sebagai kanker sistem saraf pusat.

Penyakit kanker dapat disebabkan oleh faktor internal, yakni faktor genetik atau keturunan dan faktor eksternal. Faktor eksternal ini meliputi pola hidup yang tidak sehat di antaranya sering terpapar atau mengonsumsi makanan yang mengandung zat karsinogen, minum minuman beralkohol, kebiasaan merokok, terpapar sinar ultraviolet atau radioaktif, konsumsi obat yang dapat mempengaruhi hormon, dan *sexually active* dengan berganti-ganti pasangan (Sunaryati, 2011).

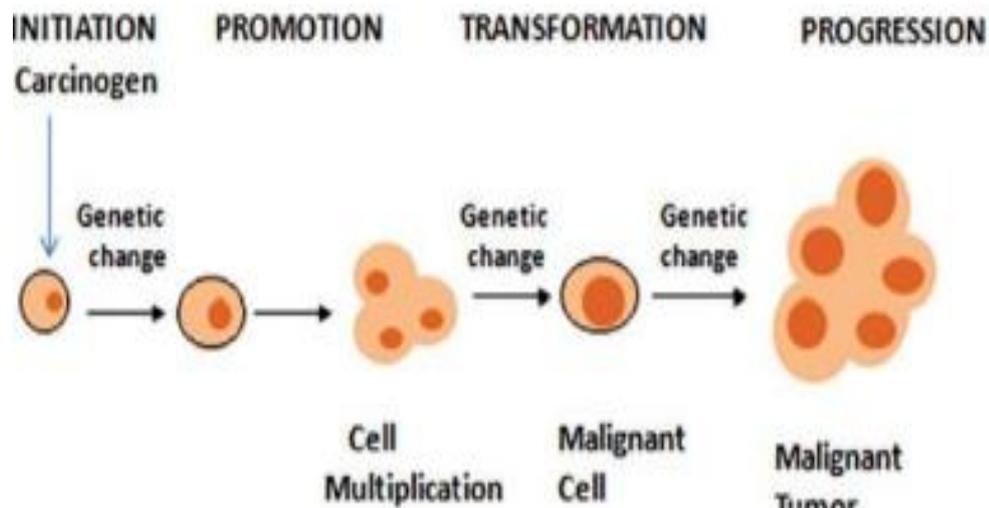
Mekanisme pembentukan sel kanker (Karsinogenesis) merupakan proses dengan berbagai tahapan (*multistage process*). Karsinogenesis disebabkan oleh adanya mutasi atau perubahan basa DNA dalam sel target. Menurut Sukowati (2011), kanker terjadi karena terdapat transformasi proto-onkogen menjadi onkogen dan inaktivasi *tumor suppressor gene* (TSG) yang mengakibatkan berubahnya cetakan protein. Perubahan tersebut memicu kekeliruan transkripsi dan translasi gen sehingga terbentuk protein abnormal yang terlepas dari kendali pengaturan dan koordinasi pertumbuhan diferensiasi sel yang normal. Hal ini yang akan menginduksi perubahan sel normal menjadi sel kanker. Proses karsinogenesis merupakan suatu proses yang sangat kompleks. Sel kanker harus memisahkan diri dari kelompoknya (*primary tumor*), melakukan invasi ke daerah lain dengan cara menelusuri pembuluh limfe dan pembuluh darah serta melawan sistem imun tubuh kemudian berkembang biak di lingkungan barunya (*secondary tumor*) (Gambar 3).



Gambar 3. Proses pembentukan sel kanker (Wirtz *et al.*, 2011)

Proses karsinogenesis berlangsung melalui beberapa tahap (Gambar 4). Tahap awal adalah proses inisiasi, yaitu terjadi mutasi sel normal yang dapat menjadi sekumpulan sel abnormal akibat dari reaksi antara DNA sel target dengan zat karsinogen. Pada tahap promosi, sel melakukan kolonisasi dan berusaha merusak sistem kekebalan tubuh sehingga menjadikan tubuh lebih

rentan terhadap kanker. tahap progresi merupakan perkembangan pre-malignan menjadi malignan. Perubahan tersebut disertai dengan pertumbuhan yang cepat, invasi, metastatis, dan peningkatan ketidakstabilan genetik (Simanjuntak, K., 2012).



Gambar 4. Proses karsinogenesis (Kaur, 2014)

2.3.1 Kanker Payudara

Kanker payudara atau *Carcinoma mammae* merupakan kanker yang menyerang payudara atau salah satu payudara. Kanker ini termasuk neoplasma ganas yang berasal dari *parenchyma* (bagian organ yang produktif). Kanker bisa mulai tumbuh di dalam kelenjar susu, saluran susu, jaringan lemak maupun di jaringan ikat payudara. Normalnya sel payudara yang tua akan mati lalu digantikan oleh sel yang baru. Regenerasi sel tersebut berfungsi untuk mempertahankan fungsi payudara. Namun pada kanker payudara terjadi perubahan materi genetik sel yang bertanggung jawab terhadap pengaturan pertumbuhan sel (Mardiana, 2004).

Faktor yang dapat meningkatkan risiko kanker payudara di antaranya faktor genetik atau riwayat keluarga terkait positif kanker payudara, usia yang lebih tua, paparan radiasi, pola makan, tingkat hormon estrogen yang tinggi, kurang melahirkan dan kurang menyusui serta obesitas (Falco, 2019). Pola hidup yang tidak sehat seperti termasuk perokok jangka panjang diketahui dapat meningkatkan resiko terkena

kanker payudara sekitar 35%-50% (Kabel and Baali, 2015). Selain itu, riwayat menderita lesi atau penyakit tertentu pada payudara seperti *hiperplasia duktus atipikal* dan *karsinoma lobular in situ*, berkorelasi dengan peningkatan risiko terkena kanker payudara. Kehamilan yang terjadi di atas usia 35 tahun pun dapat meningkatkan resiko kanker payudara (Polyak, 2006). Pada penelitian (Rianti, M., 2012) wanita yang mengalami *menarche* dini dibawah usia 12 tahun dan wanita yang menopause diatas usia 55 tahun diketahui lebih berisiko untuk menderita kanker payudara. Hal tersebut dapat disebabkan karena terpapar hormon estrogen yang lebih lama.

Kanker payudara umumnya disebabkan adanya interaksi antara faktor lingkungan dan genetik. Jalur PI3K/AKT dan jalur RAS/MEK/ERK melindungi sel normal dari sel yang mengalami apoptosis. Ketika gen yang mengodekan jalur pelindung tersebut mengalami mutasi, maka sel tidak mampu melakukan apoptosis, sehingga akan berkembang menjadi sel kanker. Ketidaknormalan sinyal faktor pertumbuhan akan berkembang menjadi sel malignan. Selain itu, leptin yang berlebih pada jaringan adiposa payudara juga akan meningkatkan proliferasi sel kanker. Leptin mendukung sintesis dari estrogen yang mana menyebabkan peningkatan resiko kanker payudara. Mutasi yang berkaitan dengan kanker yaitu p53, BRCA1, dan BRCA2. Mutasi pada gen BRCA1 atau BRCA2 dapat mengganggu perbaikan ikatan silang DNA dan pemecahan DNA untai ganda (Kabel and Baali, 2015).

Kanker payudara terjadi ketika beberapa sel payudara mulai tumbuh secara abnormal. Sel-sel tersebut membelah lebih cepat daripada sel-sel normal dan terus menumpuk kemudian membentuk benjolan. Sel-sel dapat menyebar melalui payudara ke kelenjar getah bening atau ke bagian lain dari tubuh. Keganasan paling sering dimulai dari sel-sel di saluran penghasil air susu (*invasive ductal carcinoma*). Kanker payudara juga dapat bermula di jaringan kelenjar yang disebut lobulus (*invasive lobular carcinoma*) (Jezdic, 2018).

Stadium paling awal kanker payudara disebut *in situ*. *In situ* berarti tumor yang berpotensi menjadi kanker telah berada di dalam tempat ia muncul pertama kali terbentuk dan belum menyebar ke jaringan terdekat. Bentuk paling umum dari stadium ini disebut *ductal carcinoma in situ* atau DCIS. DCIS terbentuk di dalam saluran payudara yakni di bagian yang membawa susu ke puting susu. *Lobular carcinoma in situ* atau LCIS mengacu pada sel-sel abnormal di lobulus payudara. Ketika kanker payudara menyebar di luar saluran atau lobulus payudara ke jaringan terdekat maka disebut kanker invasif lokal, sedangkan yang menyebar ke area di luar payudara melalui pembuluh darah dan getah bening, disebut kanker metastatik.

Saluran payudara normal terdiri dari membran basal dan lapisan sel epitel luminal dan sel mioepitel. Sel penyusun stroma di antaranya berbagai leukosit, fibroblas, miofibroblas, dan sel endotel. Pada tahap *carcinoma in situ*, sel-sel mioepitel berubah disertai dengan jumlahnya yang menurun karena degradasi membran basal. Pada saat yang sama, jumlah fibroblas stroma, miofibroblas, limfosit, dan sel endotel meningkat jumlahnya. Hilangnya sel mioepitel dan membran basal menyebabkan karsinoma invasif, dimana sel tumor dapat menyerang jaringan di sekitarnya dan dapat bermetastatis ke bagian tubuh lainnya (Polyak, 2007).

2.4 Senyawa Antikanker

Antikanker atau disebut juga agen kemoterapeutik atau antineoplastik merupakan zat kimia yang dapat menghambat atau mengganggu pertumbuhan sel tumor ganas. Antikanker dapat dibagi menjadi dua golongan sederhana yakni golongan sitotoksik dan hormon. Golongan sitotoksik bertujuan untuk menghambat pertumbuhan sel, terutama sel-sel yang membelah. Contoh dari obat golongan ini adalah senyawa pengalkil, antibiotik, antimetabolit, serta berbagai obat lain. Sedangkan senyawa golongan hormonal bertujuan untuk mengurangi kadar hormon yang merangsang pertumbuhan tumor atau memblokir reseptor untuk hormon. Misalnya penghambat aromatase yang

dapat memblok pembentukan estrogen dan digunakan untuk mengobati tumor-tumor yang bergantung pada estrogen (Stringer, 2008).

Senyawa sitotoksik yakni suatu senyawa yang bersifat toksik untuk menghambat dan menghentikan pertumbuhan sel kanker. Senyawa sitotoksik juga merupakan senyawa atau zat yang dapat merusak sel normal atau sel kanker serta digunakan untuk menghambat pertumbuhan dari sel tumor malignan (Purwanto *et al.*, 2015). Senyawa sitotoksik tersebut berpotensi sebagai obat antikanker dengan cara menghambat pertumbuhan sel kanker (Lindholm, 2005).

Pengujian Aktivitas Antikanker dapat diperiksa secara *in vitro* maupun *in vivo*. Uji *In vitro* adalah uji aktivitas yang dilakukan di luar sel seperti misalnya membuat atau menghidupkan *cell line* dalam kultur jaringan. Uji *in vivo* adalah uji aktivitas yang dilakukan di dalam sel seperti misalnya membuat kanker dengan menginduksi zat-zat karsinogenik ke dalam hewan uji coba. Perlu dilakukan skrining terhadap suatu bahan yang diduga berpotensi menjadi senyawa antikanker dengan menguji toksisitasnya.

2.5 Uji Sitotoksik Metode *Brine Shrimp Lethality Test*

Kemampuan sel untuk bertahan hidup dapat diartikan sebagai tidak hilangnya metabolik atau proliferasi dan dapat diukur dari bertambahnya jumlah sel, naiknya jumlah protein, atau DNA yang disintesis. Dalam pengembangan obat-obatan, kosmetik, zat tambahan makanan, pestisida, dan obat antikanker, sangat perlu dilakukan evaluasi praklinik untuk mengetahui potensi aktivitas neoplastiknya. Evaluasi yang telah terstandarisasi untuk menentukan apakah suatu material mengandung bahan yang berbahaya (toksik) secara biologis disebut uji sitotoksik. Dasar dari uji sitotoksik adalah kemampuan sel untuk bertahan hidup karena adanya senyawa toksik. Uji sitotoksik merupakan uji toksisitas yang digunakan untuk mendeteksi adanya aktivitas antikanker dari suatu senyawa (Freshney, 1987).

Metode BSLT merupakan uji pendahuluan untuk menguji toksisitas suatu senyawa dari tanaman yang diduga berpotensi sebagai antikanker. Uji ini

menjadi salah satu pengujian *biological* dan *toxicological* untuk penelitian, khususnya yang berkaitan dengan skrining senyawa aktif ekstrak tanaman (Kanwar, 2007). Metode BSLT dapat menentukan suatu ekstrak memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan sel dan menjalani prosedur lebih lanjut dalam proses penemuan obat antikanker. Metode ini umum digunakan sebagai uji pendahuluan karena metode pengerjanya sederhana, tidak memakan waktu yang lama, biaya lebih efisien, dan hasil uji cukup akurat (Meyer *et al*, 1982). Uji BSLT ditentukan dalam waktu singkat, yakni antara rentang waktu sekitar 24 jam setelah diberikan perlakuan (Suherman *et al.*, 2006). Prosedur uji BSLT dengan menentukan nilai LC_{50} dari ekstrak atau senyawa bahan alam. LC_{50} merupakan konsentrasi suatu ekstrak yang dapat menyebabkan kematian 50% dari hewan uji yang diperoleh dengan menggunakan persamaan regresi linier. Kematian hewan uji akibat ekstrak atau senyawa dianalogikan sebagai kematian sel kanker (Prawirodiharjo, 2014). Menurut Wagner (1993) suatu senyawa dikatakan bersifat sangat toksik jika nilai $LC_{50} < 30$ ppm, toksik jika nilai LC_{50} 30-1000 ppm, dan tidak toksik jika nilai $LC_{50} > 1000$ ppm.

2.6 *Artemia Salina*

2.6.1 Klasifikasi dan Morfologi *Artemia salina*

Artemia Salina adalah sejenis udang-udangan primitif yang hidup planktonik di perairan berkadar garam tinggi. Klasifikasi *Artemia salina* sebagai berikut (Priyambodo dan Triwahyuningsih, 2003).

Kingdom :Animalia

Phylum :Anthropoda

Class :Crustacea

Ordo :Anostraca

Family :Artemidae

Genus : *Artemia*

Species :*Artemia salina*

Artemia Salina tidak memiliki alat atau mekanisme pertahanan diri terhadap pemangsanya, oleh karena itu mereka memanfaatkan kondisi

lingkungan hidupnya yang berkadar garam tinggi, karena pada kondisi tersebut pada umumnya pemangsa mereka sudah tidak dapat hidup lagi (Mudjiman, 1995). Hewan ini memiliki sistem osmoregulasi sehingga mampu beradaptasi dengan kisaran salinitas yang tinggi serta mampu mensintesis hemoglobin untuk mengatasi kandungan oksigen yang rendah pada salinitas tinggi. Adapun kisaran parameter kualitas air untuk pertumbuhan *Artemia salina* yang optimal yaitu suhu 25-30°C, pH 7.5-8.5, DO 4.0-6.5 ppm (Suriawaria, 1985).

Artemia salina dewasa memiliki morfologi yaitu panjang tubuh sekitar 8-15mm. Tubuhnya memanjang terdiri dari segmen-segmen dan dilengkapi sekitar 10 pasang phyllopodia pipih, yakni bagian tubuh menyerupai daun yang bergerak dengan ritme teratur. Hewan ini umumnya berwarna putih pucat, merah muda, hijau, atau transparan dan hanya hidup beberapa bulan (Kanwar, 2007). *Artemia salina* dewasa ditandai dengan tangkai mata yang terlihat jelas pada kedua sisi bagian kepala, terdapat antena sebagai alat sensori, saluran pencernaan yang terlihat jelas, dan 11 pasang thoracopoda. Terdapat perbedaan karakteristik morfologi antara *Artemia salina* jantan dan betina (Gambar 5). Pada *Artemia salina* jantan, antena berubah menjadi alat penjepit (*mascular grasper*) dan sepasang penis di bagian belakang tubuh. Pada *Artemia salina* betina, antena mengalami penyusutan dengan sepasang indung telur atau ovari terdapat di kedua sisi saluran pencernaan di belakang thoracopoda. Telur yang sudah matang akan disalurkan ke sepasang kantong telur atau uterus (Sorgeloos, 1980).



(A)

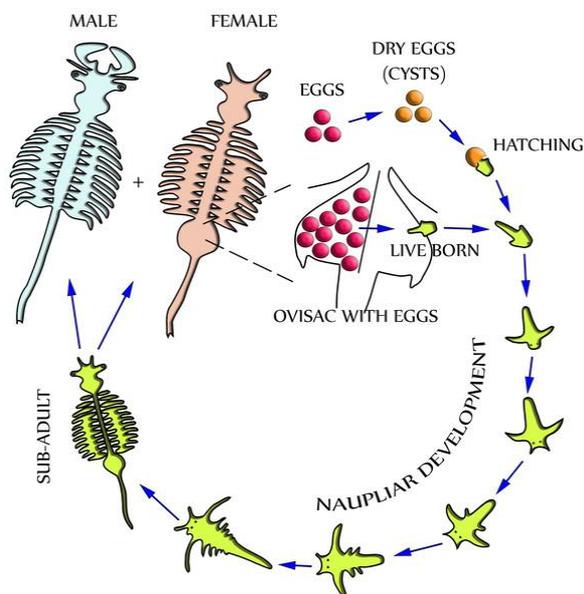


(B)

Gambar 5. *A. salina* dewasa: (A) jantan; (B) betina (Zubairi *et al.*, 2014).

2.6.2 Siklus Hidup *Artemia salina*

Berdasarkan cara berkembang biaknya, *Artemia salina* dibedakan menjadi dua golongan, yaitu perkembangbiakan secara biseksual dan perkembangbiakan secara partenogenetik. Keduanya dapat terjadi secara ovipar maupun ovovivipar. Pada cara ovovivipar, anakan yang keluar dari induk *Artemia salina* sudah berupa arak atau burayak disebut nauplis, yang mana harus melalui proses penetasan terlebih dahulu. Sedangkan pada cara ovipar, anakan yang keluar dari induknya berupa telur bercangkang tebal yang dinamakan siste. Kondisi ovovivipar umumnya terjadi jika keadaan lingkungan cukup baik, dengan kadar garam kurang dari 150 per ml dan kandungan oksigennya cukup. Sedangkan kondisi ovipar terjadi apabila keadaan lingkungan memburuk, dengan kadar garam lebih dari 150 per mil dan kandungan oksigennya kurang. Telur berwarna coklat dan diselubungi oleh cangkang yang tebal dan kuat yang berfungsi sebagai pelindung embrio terhadap kekeringan, benturan keras, sinar ultraviolet dan mempermudah pengapungan. Siklus hidup *Artemia salina* dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Siklus hidup *Artemia salina* (Sorgeloos, 1973)

Proses penetasan telur *Artemia salina* terdiri dari tahap hidrasi, tahap pecah cangkang, dan tahap payung/tahap pengeluaran. Pada tahap

hidrasi terjadi penyerapan air sehingga siste yang diawetkan dalam bentuk kering tersebut akan menjadi bulat dan aktif melakukan metabolisme. Tahap selanjutnya adalah tahap pecah cangkang, dilanjutkan dengan tahap payung atau tahap pengeluaran yang terjadi beberapa saat sebelum nauplius keluar dari cangkang (Sorgeloos, 1980). Nauplius berwarna oranye, berbentuk bulat lonjong dengan panjang sekitar 400 mikron, lebar 170 mikron, dan berat 0,002 mg. Ukuran nauplius tersebut bervariasi tergantung pada galur. Nauplius mempunyai sepasang antenulla dan sepasang antenna. Antenulla memiliki ukuran lebih kecil dan lebih pendek dibandingkan dengan antenna. Di samping itu, di antara antenulla terdapat bintik mata yang disebut dengan ocellus. Sepasang mandibulla 4 rudimenter terdapat di belakang antenna. Labrum (semacam mulut) terdapat di bagian ventral (Sorgeloos, 1980).

Nauplius mengalami 15 kali pergantian kulit sampai menjadi dewasa. Setiap tingkatan pergantian kulit tersebut disebut dengan instar, yang mana terdapat instar I sampai dengan instar XV. Saat cadangan makanan habis dan saluran pencernaan sudah berfungsi, nauplius akan mengambil makanan ke dalam mulutnya menggunakan setae pada antenna. *Artemia salina* mulai mengambil makanan setelah mencapai instar II (Sorgeloos, 1980). Sekitar 24 jam setelah menetas, nauplius instar I akan berubah menjadi instar II (Mudjiman, 1989). Pada saat instar kedua, di bagian pangkal antenanya tumbuh gnatobasen setae, yaitu suatu struktur yang menyerupai duri menghadap ke belakang (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995). Perubahan morfologis mencolok terjadi setelah masuk instar X, dimana antenna mengalami perubahan sesuai dengan jenis kelaminnya. Thoracopoda mengalami diferensiasi menjadi tiga bagian, yaitu telopodite dan endopodite yang berfungsi sebagai alat gerak dan penyaring makanan, serta eksopodite berfungsi sebagai alat pernafasan (Lavens and Sorgeloos, 1996). *Artemia salina* yang sudah dewasa dapat hidup sampai enam bulan. Sementara induk-induk betinanya akan beranak atau bertelur setiap 4-5 hari sekali,

dihasilkan 50-300 telur atau nauplius. Nauplis akan dewasa setelah berumur 14 hari, dan siap untuk berkembang biak (Mudjiman, 1995).

Artemia salina umumnya diperjualbelikan dalam bentuk telur istirahat yang disebut kista. Kista ini berbentuk bulatan-bulatan kecil berwarna kecoklatan dengan diameter berkisar 200-300 mikron. Kista yang berkualitas baik akan menetas sekitar 18-24 jam apabila diinkubasi air yang bersalinitas 5-70 permil. Telur atau kista tersebut berbentuk bulat berlekuk dalam keadaan kering dan bulat penuh dalam keadaan basah..

Menurut Soundarapandian dan Saravanakumar (2009), salinitas air laut (35- 55‰) menunjukkan kelangsungan hidup *Artemia salina* yang lebih baik, menghasilkan ukuran yang lebih besar dan durasi yang lebih pendek untuk mencapai tingkat dewasa. Semakin tinggi salinitas maka clasper pada *Artemia* jantan akan semakin kecil. Pada salinitas tinggi juga, tubuh menjadi lebih panjang dan lebih kurus.

2.6.3 *Artemia salina* Sebagai Hewan Uji

Metode BSLT umum digunakan sebagai uji pendahuluan untuk menguji toksisitas suatu ekstrak tumbuhan karena sederhana, cepat, ekonomis, dan hasilnya *representative* (Made *et al.*, 2013). Pengujian sitotoksik suatu senyawa dilakukan melalui *metode* BSLT dengan penggunaan larva udang *Artemia salina* sebagai hewan uji. *Artemia salina* merupakan organisme sederhana yang memiliki sifat kepekaan cukup tinggi terhadap bahan uji, waktu siklus hidup yang lebih cepat, dan mudah dibiakkan. Sifat peka organisme tersebut dapat disebabkan karena kondisi membran kulitnya yang sangat tipis sehingga memungkinkan terjadinya difusi zat dan lingkungan yang dapat mempengaruhi metabolisme dalam tubuhnya (Mudjiman, 1988). Kematian *Artemia salina* akibat sitotoksik dari senyawa bioaktif dianalogikan dengan kematian sel dalam organisme (Fenton, 2001). Di samping itu, *Artemia salina* memiliki kesamaan tanggapan atau respon stress yang sama dengan manusia, yaitu respon perilaku dan fisiologis terhadap stressor lingkungan (Ajrina, 2013)

2.7 Uji Sitotoksik Metode *Water Soluble Tetrazolium- 8*

Uji sitotoksik dapat dilakukan dengan metode reduksi garam tetrazolium menjadi senyawa formazan berwarna atau bioreduksi resazurin yang hanya terjadi pada sel yang aktif secara metabolik. Penggunaan garam tetrazolium kerap digunakan sebagai indikator metabolisme suatu sel dikarenakan metode ini tidak menggunakan biaya yang cukup banyak. *Water Soluble Tetrazolium* (WST-8) (2-(2-metoksi-4-nitrofenil)-3-(4-nitrofenil)-5-(2,4-disulfofenil)-2H-tetrazolium, garam monosodium) termasuk ke dalam uji kolorimetri yakni uji dengan menggunakan perbandingan perbedaan warna. Pengujian menggunakan WST-8 menghasilkan pewarna formazan oranye yang larut dalam air pada bioreduksi dengan adanya pembawa elektron, 1-Methoxy PMS. WST-8 direduksi oleh dehidrogenase seluler menjadi produk formazan oranye yang larut dalam media kultur jaringan. Jumlah formazan yang dihasilkan berbanding lurus dengan jumlah sel hidup. Karena larutan WST-8 sangat stabil dan memiliki sitotoksitas lebih rendah, inkubasi yang lebih lama hingga 24-48 jam, memungkinkan uji kolorimetri sensitif untuk penentuan jumlah sel yang layak dalam uji proliferasi dan sitotoksitas. Sensitivitas deteksi metode ini lebih tinggi daripada garam tetrazolium lainnya (Hadisaputri *et al.*, 2020).

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2022 – Februari 2023. Determinasi *Sargassum duplicatum* dilakukan di Laboratorium Botani Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung. Pembuatan ekstrak etanol *Sargassum duplicatum*, uji fitokimia, dan uji BSLT dilakukan di Laboratorium Biomolekuler Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung. Pengujian sitotoksik ekstrak etanol *Sargassum duplicatum* dan taurin terhadap sel MCF-7 dilakukan di Laboratorium kultur sel Sitogenetika dan Genetika Molekuler, Fakultas Farmasi, Universitas Padjajaran.

3.2 Alat dan Bahan

Adapun alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain *beaker glass*, labu erlenmeyer, oven, gelas corong, blender, ayakan, *rotary evaporato*, neraca analitik, tabung reaksi, rak tabung reaksi, pipet tetes, mikropipet, mikrotip, lampu, aerator, wadah kaca, vortex, kaca pembesar, inkubator CO₂, *waterbath*, *sentrifuge*, *conical tube*, *flask*, *microtube* 1,5 ml, *96 well plate*, *laminar air flow cabinet*, *hemocytometer*, *serological pipet*, *pipet gun*, cawan petri, *inverted microscope*, dan Nanodrop 2000 (*Thermoscientific*).

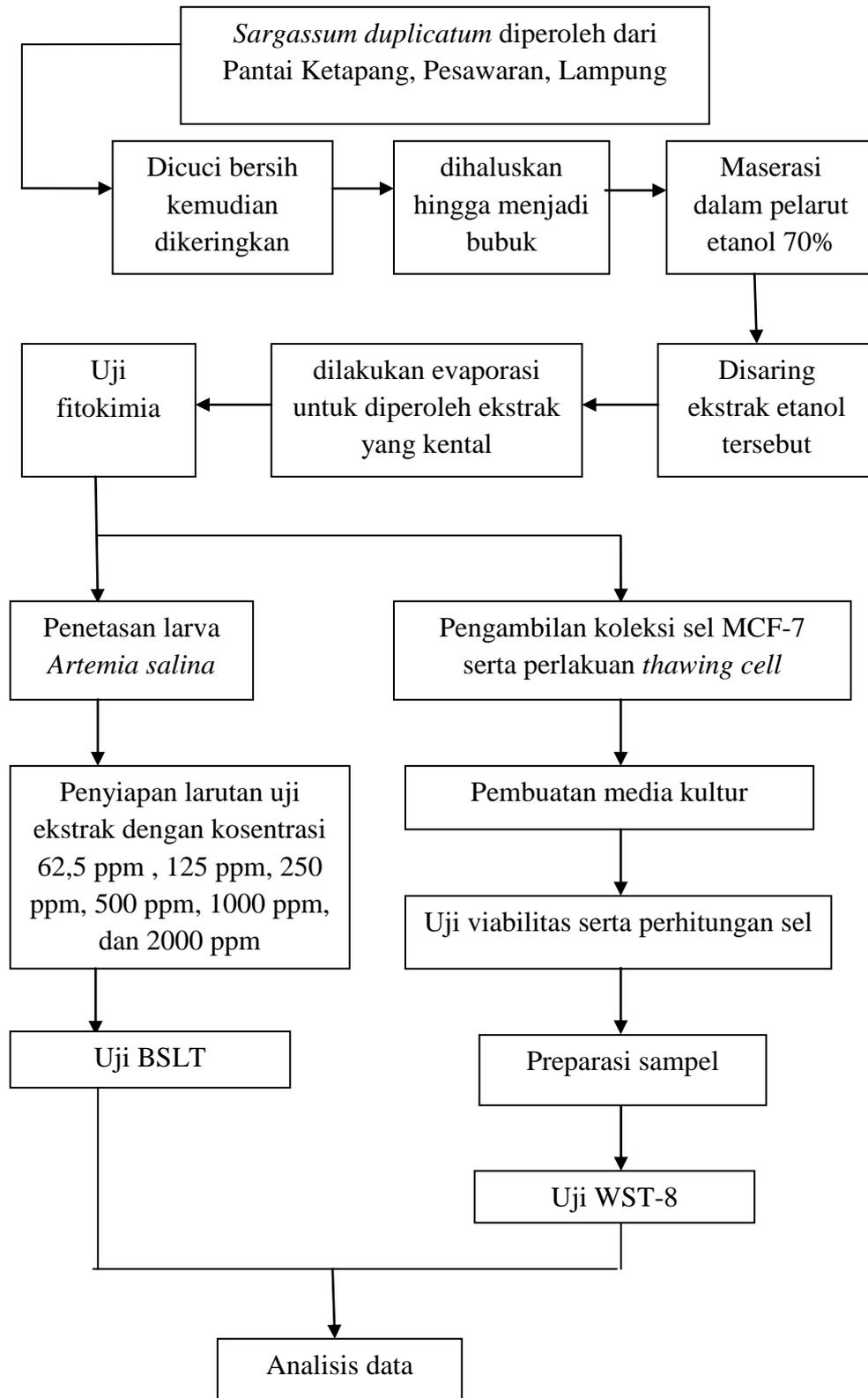
Adapun bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain *Sargassum duplicatum* dari perairan Pantai Ketapang, taurin NOW yang diperoleh dari toko bahan kimia, telur *Artemia salina*, air laut yang diperoleh dari Balai Besar Perikanan Budidaya Laut (BBPBL) Lampung, akuades, etanol 70%, *styrofoam*, lakban hitam, asam klorida (HCl), asam sulfat (H₂SO₄), besi(III)

klorida (FeCl_3), asam asetat glacial (CH_3COOH), kalium iodida (KI), Raksa(II) klorida (HgCl_2), serbuk Mg, ragi, sel MCF-7, kertas saring, *plastic wrap*, aluminium foil, media kultur DMEM (*Dulbecco's Modified Eagles' Medium*), klorofom (CHCl_3), penisillin-streptomisin 1% , *fetal bovine serum* (FBS), *trypsin* 0,25%, *phosphate buffersaline* (PBS), tripanblue 0,4% , DMSO, dan doxorubicin.

3.3 Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian dilakukan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan faktorial 2×6 yang terdiri dari 2 jenis bahan uji yaitu ekstrak etanol *Sargassum duplicatum* dan taurin dengan 6 seri konsentrasi yaitu 62,5 ppm, 125 ppm, 250 ppm, 500 ppm, 1000 ppm, dan 2000 ppm dan disertai 3 kali ulangan. Untuk uji sitotoksik dengan metode BSLT terhadap *Artemia salina* dilengkapi dengan kontrol yang tidak diberi perlakuan apapun. Untuk uji sitotoksik dengan metode WST-8 terhadap sel MCF-7 dilengkapi dengan kontrol positif yang diberi doxorubicin, kontrol media serta kontrol pelarut.

3.4 Diagram Alir Penelitian



Gambar 7. Diagram Alir Penelitian

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Pembuatan Ekstrak Etanol *Sargassum duplicatum*

Sargassum duplicatum diperoleh dari Pantai Ketapang, Kabupaten Pesawaran, Provinsi Lampung. Pengambilannya dilakukan pada saat permukaan air laut surut. *Sargassum duplicatum* dibersihkan terlebih dahulu dengan air laut dan air kran mengalir, kemudian direndam dalam air bersih selama 24 jam untuk menghilangkan residu yang melekat. Proses pembuatan ekstrak etanol *Sargassum duplicatum* dilakukan menggunakan metode maserasi, yakni dengan cara merendam bahan dengan pelarut yang sesuai dengan senyawa aktif yang terkandung di dalamnya selama beberapa waktu. Dalam proses perendaman tersebut, pelarut akan menembus dinding sel tumbuhan dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung senyawa aktif. Senyawa aktif akan larut dikarenakan adanya perbedaan konsentrasi antara di dalam sel dan di luar sel yang mengakibatkan pecahnya dinding sel sehingga senyawa aktif akan keluar. Metode maserasi memiliki keunggulan di antaranya mudah dilakukan karena menggunakan alat-alat yang sederhana serta tidak memerlukan pemanas sehingga mengurangi kemungkinan senyawa aktif yang terkandung dalam bahan dapat rusak. Proses pembuatan ekstrak etanol *Sargassum duplicatum* sebagai berikut.

1. Dikering anginkan *Sargassum duplicatum* yang telah dibersihkan. Pengeringan tidak dilakukan di bawah sinar matahari langsung dikarenakan sinar ultraviolet dapat menyebabkan kerusakan pada kandungan kimia yang terdapat di bahan (Winangsih *et al.*, 2013).
2. Dihaluskan simplisia menggunakan blender hingga menjadi bubuk halus. Hal tersebut dilakukan agar saat proses maserasi berlangsung dapat memperbesar luas permukaan sampel sehingga kontak antara pelarut dan sampel lebih besar dan efektif. Selanjutnya dilakukan pengayakan lalu dihitung beratnya dan disimpan dalam suhu kamar.
3. Dimaserasi bubuk *Sargassum duplicatum* dalam pelarut etanol 70% dengan perbandingan 1:10 selama 3x24 jam dengan sesekali dilakukan pengadukan. Digunakan Etanol 70% dikarenakan etanol

merupakan pelarut yang aman, bersifat *inert* serta bersifat semipolar sehingga dapat menarik senyawa polar maupun senyawa non polar. Etanol memiliki gugus hidroksil –OH yang bersifat polar dan gugus alkil (CH₃-CH₂) yang bersifat non polar menyebabkan senyawa aktif yang mempunyai tingkat kepolaran berbeda dapat terekstrak oleh etanol. Diketahui bahwa etanol 70% merupakan pelarut yang lebih polar dibandingkan etanol 96% dan lebih non polar dari etanol 50% sehingga diharapkan dapat lebih banyak menarik senyawa aktif pada bahan yang diekstraksi. Polaritas etanol semakin meningkat seiring dengan penurunan konsentrasinya dalam air (Riwanti et al., 2020). Selain itu, ekstraksi bahan yang berpotensi sebagai obat menggunakan pelarut etanol menjadi ekstrak cair maupun ekstrak kental banyak dilakukan dengan tujuan standarisasi obat herbal.

4. Disaring hasil maserasi menggunakan kertas saring dan gelas corong untuk memisahkan filtrat dari ampasnya.
5. Diuapkan ekstrak etanol *Sargassum duplicatum* menggunakan *rotary evaporator*. Proses ini bertujuan untuk menguapkan pelarut etanol sehingga hanya menyisakan senyawa hasil ekstraksi yang pekat
6. Dimasukkan ke dalam oven untuk menguapkan sisa pelarut sehingga diperoleh ekstrak etanol *Sargassum duplicatum* berwarna coklat kehitaman.

3.5.2 Uji Fitokimia

Uji fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder dari suatu bahan alam. Pengujiannya dilakukan dengan pereaksi kimia untuk mengidentifikasi golongan saponin, steroid, terpenoid, tanin, alkaloid, dan flavonoid mengacu pada Tasmin *et al.*, (2014) yang ditunjukkan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Prosedur uji fitokimia

Jenis Uji	Perlakuan	Indikator
Saponin	0,5 ml sampel + 5 ml akuades, lalu dikocok selama 30 Detik	Terdapat busa

Jenis Uji	Perlakuan	Indikator
Stereoid	0,5 ml sampel + 0,5 ml asam asetat glacial + 0,5 ml H ₂ SO ₄	Warna sampel berubah menjadi biru atau ungu
Terpenoid	0,5 ml sampel + 0,5 ml asam asetat glacial + 0,5 ml H ₂ SO ₄	Warna sampel berubah menjadi merah atau kuning
Tanin	1 ml sampel + 3 tetes larutan FeCl ₃	Warna larutan menjadi hitam kebiruan
Alkaloid	0,5 ml sampel + 5 tetes kloroform + 5 tetes pereaksi mayer (1 g KI dilarutkan dalam 20 ml akuades + 0,271 g HgCl ₂ hingga larut)	Warna larutan putih kecoklatan
Flavonoid	0,5 ml sampel + 0,5 gr serbuk mg + 5 ml HCl pekat (ditambahkan tetes demi tetes)	Warna larutan merah atau kuning, terbentuk busa

3.5.3 Penetasan *Artemia salina*

Penetasan *Artemia salina* dilakukan di dalam akuarium yang terbagi menjadi bagian gelap dan bagian terang. Bagian gelap dan terang pada akuarium tersebut dipisahkan dengan dipasangnya pembatas dari *styrofoam* yang bagian bawahnya dilubangi supaya telur *Artemia salina* yang telah menetas bisa keluar dari lubang tersebut. Bagian gelap akuarium dibuat dengan cara dibalut dengan lakban hitam sedangkan bagian terang diberi penerangan berupa cahaya lampu dan dilengkapi dengan aerator sebagai penyedia oksigen. Proses penetasan telur *Artemia salina* membutuhkan lampu agar larva bergerak ke tempat yang terang sebab larva bersifat fototaksis. Akuarium diisi air laut dengan kadar salinitas sebesar 35 ppt. Pada bagian gelap, diletakkan telur *Artemia salina* lalu ditutup dengan penutup yang telah dilapisi lakban hitam

Setelah telur menetas, larva *Artemia salina* akan berpindah ke bagian terang akuarium yang dilengkapi dengan aerator. Saat *Artemia salina* sudah menetas menjadi larva berusia 48 jam, larva tersebut dapat digunakan sebagai hewan uji dalam uji BSLT.

3.5.4 Penyiapan Larutan Stok

Larutan stok dibuat dengan cara mengambil 2,5 g ekstrak etanol *Sargassum duplicatum* dan taurin dan dilarutkan dalam 100 ml etanol 70%. Dari larutan stok tersebut diencerkan kembali hingga konsentrasi 62,5 ppm, 125 ppm, 250 ppm, 500 ppm, 1000 ppm, dan 2000 ppm.

3.5.5 Uji Sitotoksik dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Uji sitotoksik ekstrak etanol *Sargassum duplicatum* dan taurin dilakukan terhadap larva *Artemia salina* berusia 48 jam. Dimasukkan ke dalam tabung uji ekstrak etanol *Sargassum duplicatum* dan taurin secara terpisah dengan konsentrasi 62,5 ppm, 125 ppm, 250 ppm, 500 ppm, 1000 ppm, dan 2000 ppm ke dalam masing-masing tabung uji. Lalu ditambahkan air laut dan dimasukkan 10 larva *Artemia salina* berusia 48 jam ke dalam masing-masing tabung uji. Selanjutnya ditambahkan 1 tetes ragi ke dalam tabung uji, yang dibuat dengan cara melarutkan 3 mg ragi dalam 5 ml air laut sebagai makanan bagi *Artemia salina*. Masing-masing konsentrasi dari setiap sampel dilakukan tiga kali pengulangan serta dilengkapi dengan kontrol yang tidak beri perlakuan apapun. Tabung uji berisi larva *Artemia salina* yang telah diberi perlakuan dibiarkan selama 24 jam. Setelah dibiarkan selama 24 jam, dilakukan perhitungan kematian larva secara langsung dengan bantuan kaca pembesar yang disinari cahaya dan juga diamati melalui mikroskop. Kematian larva *Artemia salina* dapat dilihat dari larva yang tidak bergerak. Jika tidak ada pergerakan pada larva tersebut, maka dihitung kematian larva pada masing-masing konsentrasi.

3.5.6 Pengambilan Koleksi Sel MCF-7

Sel MCF-7 yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Laboratorium kultur sel Sitogenetika dan Genetika Molekuler, Fakultas Farmasi, Universitas Padjajaran, Bandung. Sampel yang digunakan diperoleh dari induk yang sama dan dapat tumbuh mencapai konfluen 80%-90% serta tidak terkontaminasi selama penelitian.

3.5.7 *Thawing Cell* dan Pembuatan Media Kultur

Sebelum dilakukan pembuatan media kultur, dilakukan proses *thawing cell*, yakni penggunaan sel kembali dengan cara memasukkan *cryovial tube* berisi sel MCF-7 ke dalam *waterbath* bersuhu 37°C sampai mencair. Media kultur sel MCF-7 dibuat dengan cara mempersiapkan 5 ml larutan *Fetal Bovine Serum* (FBS) 10%, 0,5 ml *Penisilin Streptomisin* yang dimasukkan ke dalam botol steril dan ditambahkan DMEM (*Dulbecco's Modified Eagles' Medium*) hingga 50 ml kemudian dipanaskan di atas *waterbath* selama 5 menit. Setelah itu dilakukan proses pencampuran media kultur dan sel yang dilakukan dalam *laminar air flow*, selanjutnya disentrifugasi selama 4 menit. Supernatan dibuang sedangkan natan ditambahkan media pertumbuhan. Sel yang telah dicampurkan dengan media pertumbuhan dipindahkan ke dalam cawan petri dan diinkubasi selama 24 jam.

3.5.8 Uji Viabilitas Sel dan Perhitungan Sel

Sel yang telah diinkubasi selama 24 jam dikeluarkan dari inkubator kemudian sel dibilas menggunakan *phosphate buffer saline* (PBS) dan ditambahkan tripsin 3 ml dan diinkubasi kembali selama 5 menit. Selanjutnya sel dimasukkan ke dalam *conical tube* ditambahkan dengan 3 ml media pertumbuhan dan dilakukan *sentrifuge* selama 5 menit. Supernatan hasil *sentrifuge* dibuang dan natan ditambahkan media pertumbuhan. Kemudian dilakukan uji viabilitas sel dengan *trypan blue*. Diambil 10 µl sel dan ditambahkan 10 µl *trypan blue solution*. Sel yang hidup akan tidak berwarna atau berwarna jernih sedangkan sel yang tidak hidup akan berwarna biru.

Selanjutnya dilakukan perhitungan sel dengan menggunakan *hemocytometer* yang dilakukan dengan memilih 4 kamar hitung.

$$\text{Rataan sel} = \frac{\text{Jumlah sel semua kamar hitung}}{4}$$

$$\text{Jumlah sel hitung/ml} = \text{Rataan sel} \times \text{faktor pengenceran} \times 10^4$$

$$\text{Jumlah total sel yang diperlukan} = \text{Jumlah sumuran} \times \text{jumlah sel per sumuran}$$

$$\text{Volume transfer panen sel} = \frac{\text{Jumlah total sel yang diperlukan}}{\text{Jumlah sel hitung/ml}}$$

3.5.9 Penyiapan Larutan Stok

Larutan stok dibuat dengan cara melarutkan ekstrak etanol *Sargassum duplicatum* dan taurin masing-masing sebanyak 10 mg dengan 1 ml DMSO 1%. Larutan stok dari masing-masing ekstrak kemudian diencerkan kembali hingga konsentrasi 62,5 ppm, 125 ppm, 250 ppm, 500 ppm, 1000 ppm, dan 2000 ppm.

3.5.10. Uji Sitotoksik dengan Metode *Water Soluble Tetrazolium-8*

Uji sitotoksik dengan metode WST-8 dilakukan dengan cara menambahkan 100 μl sel yang dipipet ke dalam *well plate* atau sumuran, ditambahkan media kultur dan FBS. Selanjutnya ditambahkan 50 μl ekstrak etanol *Sargassum duplicatum* dan taurin secara terpisah ke dalam masing-masing sumuran dengan konsentrasi 62,5 ppm, 125 ppm, 250 ppm, 500 ppm, 1000 ppm, dan 2000 ppm dan diinkubasi kembali selama 24 jam pada inkubator CO_2 dengan suhu 36°C . Setelah diinkubasi, sel diamati di bawah mikroskop. Selanjutnya sel yang terdapat pada *well plate* diberikan reagen *cell counting kit-8* sebanyak 1000 μl ke masing-masing sumuran. Pemberian reagen ini bertujuan agar sel terwarnai pada reagenya. Diinkubasi kembali hingga 1,5- 2 jam pada suhu 36°C di inkubator

CO₂. Sel yang hidup akan bermetabolisme. Serapan dibaca menggunakan Nanodrop *reader* pada panjang gelombang 450 nm.

3.6 Analisis Data

3.6.1 Uji Fitokimia

Uji fitokimia dilakukan secara kualitatif menggunakan larutan pereaksi yang disesuaikan. Hasil positif ditunjukkan dengan adanya indikator berupa terbentuknya busa, endapan, dan perubahan warna pada ekstrak etanol *Sargassum duplicatum*. Hasil uji fitokimia kemudian dianalisis secara deskriptif.

3.6.2 Uji Sitotoksik dengan Metode BSLT

Hasil uji sitotoksik dengan metode BSLT diolah menggunakan metode analisis probit untuk menentukan nilai LC₅₀ (Rachutami *et al.*, 2022). Dilakukan perhitungan larva *Artemia salina* yang mati dari total larva uji pada setiap tabung uji. Perhitungan presentase kematian *Artemia salina* dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ kematian larva} = \frac{\text{Jumlah larva mati}}{\text{Jumlah larva total}} \times 100\%$$

Data tersebut dianalisis dengan metode analisis probit dengan persamaan regresi linear menggunakan *Microsoft Excel*. Nilai LC₅₀ dihitung dari persamaan garis lurus $y = ax + b$ dengan memasukkan nilai 5 sebagai nilai y . Nilai 5 diperoleh berdasarkan nilai probit 50% kematian hewan uji. kemudian dihasilkan nilai x sebagai log konsentrasi dan antilog dari nilai x tersebut merupakan nilai LC₅₀.

Selanjutnya untuk mengetahui pengaruh sampel dan konsentrasi terhadap kematian larva dilakukan analisis statistik uji *Two Way ANOVA* menggunakan *spss 25.0*. Jika terdapat perbedaan maka diuji lanjut dengan uji *Least Significant Difference (LSD)*.

3.6.3 Uji Sitotoksik dengan Metode WST-8

Nilai absorbansi yang diperoleh dikonversi menjadi persentase viabilitas sel dihitung menggunakan rumus menurut CCRC, (2010):

$$\text{Persentase viabilitas sel} = \frac{(\text{Absorbansi sel perlakuan} - \text{Absorbansi kontrol media})}{(\text{Absorbansi kontrol sel} - \text{Absorbansi kontrol media})} \times 100$$

Data kemudian dianalisis probit untuk menentukan nilai IC_{50} . Aktivitas sitotoksik dinyatakan dalam IC_{50} , yaitu konsentrasi yang menyebabkan kematian 50% populasi sel. Selanjutnya dilakukan analisis statistik uji *Two Way* ANOVA menggunakan spss 25.0 untuk mengetahui pengaruh sampel dan konsentrasi terhadap viabilitas sel. Jika terdapat perbedaan maka diuji lanjut dengan uji *Least Significant Difference* (LSD).

V. KESIMPULAN DAN SARAN

3.6 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan sebagai berikut.

1. Pada uji fitokimia, ekstrak etanol *Sargassum duplicatum* yang diperoleh dari Pantai Ketapang mengandung senyawa metabolit sekunder saponin, terpenoid, tanin, alkaloid, dan flavonoid.
2. Pada uji sitotoksik terhadap *Artemia salina* diperoleh nilai LC₅₀ ekstrak etanol *Sargassum duplicatum* sebesar 116 ppm dan pada taurin sebesar 201 ppm. Hal tersebut menunjukkan bahwa ekstrak etanol *Sargassum duplicatum* dan taurin termasuk ke dalam kategori toksik.
3. Pada uji sitotoksik terhadap sel MCF-7 diperoleh nilai IC₅₀ ekstrak etanol *Sargassum duplicatum* sebesar 2717 ppm dan pada taurin nilai IC₅₀ sebesar 83350 ppm.

3.7 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui senyawa yang berperan dalam aktivitas sitotoksik pada *Sargassum duplicatum* dan taurin. Di samping itu pengujian efek sitotoksik ekstrak *Sargassum duplicatum* dan taurin sebaiknya juga dilakukan terhadap jenis *cell line* lainnya disertai juga dengan pengujian terhadap sel normal (sel vero) sehingga dapat diketahui indeks selektivitasnya dan dapat dikembangkan menjadi agen kemopreventif yang selektif dan efektif terhadap sel kanker.

DAFTAR PUSTAKA

- Andriani, S., Widiastuti, E.L., Nurcahyani, N. Rosa, E. Busman, H. 2021. Cytotoxic Activity of Methanol Extraction of *Avicennia marina* and Taurine in the Hela Cancer Cells. *Journal of Physics*. 1751 012045
- Ajrina, A. 2013. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Metanol Daun *Garcinia benthami* Pierre Terhadap Larva *Artemia salina* Leach Dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). [Skripsi]. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah.
- Bhat, S. V., B. A. Nagasampagi dan S. Meenakshi. 2009. *Natural Products: Chemistry and Application*. Narosa Publishing House New Delhi. India
- Cancer Research UK. 2020. Types of Cancer. <https://www.cancerresearchuk.org/what-is-cancer/how-cancer-starts/types-of-cancer#lymphomas>. Diakses pada 30 Oktober 2022 pukul 19.53 WIB.
- Chapman, V. J. 1970. *Seaweed and Their Uses*. Methuen and Co. Ltd. London. Inggris.
- Chen CYO, Blumberg JB. 2007. Phytochemical composition of nuts. *Asia Pasific Journal of Clinical Nutrition*. 17(1): 329-332
- CCRC. 2010. *Standard Operating Procedure*. Cancer Chemoprevention Research Cancer Fakultas Farmasi Universitas Gadjah mada. Yogyakarta
- Dalimartha, S. 2002. *Ramuan Tradisional Untuk Pengobatan Kanker*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Dawes, C. 1981. *Marine Botany*. John Wiley and Sons Inc. Canada.
- Dewi, L. 2016. In silico analysis of the potential of the active compounds fucoidan and alginate derived from *Sargassum* Sp. as inhibitors of COX-1 and COX-2. *Med. Arch*. 70, 172–17
- Dona, R., Frimayanti, N., Ikhtiarudin, I., Iskandar, B., Maulana, f., Silalahi, NT. 2019. Studi In Silico dan Uji Sitotoksik Senyawa P-Metoksi Kalkon Terhadap Sel Kanker Payudara MCF-7. *JSFK*. 6(3): 243-249
- El Agouza IM, Eissa SS, El Houseini MM, El-Nashar DE, Abd El Hameed OM. 2011. Taurine: A novel tumor marker for enhanced detection of breast cancer among female patients. *Angiogenesis*; 14: 321-33

- Elekofehinti, OO., Iwaloye. O., Olawale, F., Ariyo EO. 2021. Saponins in Cancer Treatment: Current Progress and Future Prospects. *ISP Pathophysiology*. 28:250-272.
- El-Sayed, A.F.M. 2013. Is dietary taurine supplementation beneficial for farmed fish and shrimp? a comprehensive review. *Reviews in Aquaculture*. 5: 1-15.
- Falco, M. 2019. *Breast Cancer Basics*. American Cancer Society Inc.
- Fenton JJ. 2001. *Toxicology: A case-oriented approach*. Taylor and Francis.
- Firdaus, M., Setijawati, D., Islam, I., Nursyam, H., Kartikaningsih, H., Yufidasari, H. S., Jaziri, A. A. 2018. The reducibility of HeLa cell viability by *Sargassum polycystum* extracts. IOP Conference Series: *Earth and Environmental Science*. 137, 012064. doi:10.1088/1755-1315/137/1/012064
- Freshney, R.I. 1987. *Culture of Animal Cells : A Manual of Basic Technique, Fourth Ed. A John Wiley and Sons*. Inc.Publication New York. USA.
- Gazali M, Nurjanah, Zamani NP. 2018. Eksplorasi senyawa bioaktif alga cokelat *Sargassum* sp. Agardh sebagai antioksidan dari Pesisir Barat Aceh. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 21(1): 167-178.
- Hadisaputri, Yuni, Elsa., Abdulah, Rizky. 2020. *Sel Kultur Edisi Uji Perkembangbiakan Sel*. Deepublish. Yogyakarta.
- He F, Ma N, Midorikawa K, Hiraku Y, Oikawa S, Mo Y, Zhang Z, Takeuchi K, Murata M. 2019. Anti-Cancer Mechanisms of Taurine in Human Nasopharyngeal Carcinoma Cells. *Adv Exp Med Biol*; 1155: 533–541.
- Hendry. N, 2007, *Pencegahan dan terapi kanker*. Penerbit: Balai. Jakarta.
- Hervidea, R., Widiastuti, E.L., Nurcahyani, E., Sutyarso, Susanto, GN. 2018. Efek Ekstrak Metanol Makroalga Cokelat (*Sargassum* sp.), Merah (*Gracilaria* sp.) dan Taurin Terhadap Gambaran Histopatologi Hepar Mencit Jantan (*Mus musculus*) yang Diinduksi Benzo(α)Piren. *Jurnal Biologi Indonesia* 14(1): 123-131
- Ibrahim, MA., Eraqi, MM., Alfaiz, FA. 2020. Therapeutic role of taurine as antioxidant in reducing hypertension risks in rats. *Heliyon*. 6
- Iskandar, J. 2007. *Kanker – Pengenalan, Pencegahan, dan Pengobatannya*. PT. Bhuana Ilmu Populer. Jakarta
- Isnansetyo, A., dan Kurniastuty. 1995. *Teknik Kultur Phytoplankton dan Zooplankton: Pakan Alami untuk Pembenihan Organisme Laut*. Cetakan I. Penerbit Kanisius, Yogyakarta
- I. W. Santi, O. K. Radjasa, dan I. Widowati. 2014. Potensi Rumput Laut *Sargassum duplicatum* sebagai Sumber Senyawa Antifouling. *Journal of Marine Research*. 3(3):274-284.

- Jayasima, A.M. & Deliana, S. M. 2013. Developmental and Clinical Psychology. *Journal Psychology*. 1(1): 21–27.
- Jeeva S, Marimuthu J, Domettilla C, Anantham, Mahesh M. 2012. Preliminary phytochemical studies on some selected seaweeds from Gulf of Mannar, India. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. S30-S33.
- Ježdic, S. 2018. *Breast Cancer: An ESMO Guide for Patients*. European Society for Medical Oncology
- Kabel, A. M., & Baali, F. H. 2015. Breast Cancer: Insights into Risk Factors, 110 Pathogenesis, Diagnosis and Management. *Journal of Cancer Research and Treatment*, 3(2): 28-33.
- Kadi, A. 2005. Beberapa Catatan Kehadiran Marga Sargassum di Perairan Indonesia. *Oseana*. 30 (4) : 19-20.
- Kanwar, A.S. 2007. Brine Shrimp (*Artemia salina*) Marine Animal for Simple and Rapid Biological Assays. *Journal of Chinese Clinical Medicine* 2(4): 35-42
- Kaur. 2014. Cancer stem cells: An insight and future Perspective. *Journal of Cancer Research and Therapeutics*. 10 (04): 846-852.
- Khasanah, N.W., Karyadi, B., Sundaryono, A. 2020. Uji Fitokimia dan Toksisitas Ekstrak Umbi *Hydnophytum* sp. terhadap *Artemia salina* Leach. *journal of Science Education*. 4(1): 47-53
- Kim T and Kim AK. 2013 Taurine enhances anticancer activity of cisplatin in human cervical cancer cells. *Adv Exp Med Biol* 776: 189-198.
- Lavens, P. and P. Sorgeloos. 1996. Manual on the Production and Use of Live Food For Aquaculture. Food And Agricultural Organization of United Nation, Italy, Rome. Pp: 79-250.
- Learn D. B., V. A. Fried, E. L. Thomas. 1990. Taurine and hypotaurine content of human leukocytes. *J Leukoc Biol*. 48:174-182.
- Lindholm, P. 2005. *Cytotoxic Compounds Of Plant Origin-Biological and Chemical Diversity*. Uppsala University. Sweden
- Made, R., R., James, S., I., Made, D., S., 2013, Uji Toksisitas Dan Identifikasi Ekstrak Etanol Spons Callyspongia aerizusa Terhadap Larva *Artemia salina* L. Cakra Kimia (*Indonesian E-Journal of Applied Chemistry*). 1(1).
- Malo, A., Yuliana S., Sunadji. 2018. Kandungan Senyawa Aktif Makroalga yang diambil di Perairan Pantai Arubara Kabupaten Ende. *Jurnal Akuatik*. 1(1):91-97.
- Mardany, M. P., Chrystomo, L. Y., & Karim, A. K. 2016. Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Sitotoksik dari Tumbuhan Sarang Semut (*Myrmecodia beccarii* Hook . f .) Asal Kabupaten Merauke. *Jurnal Biologi Papua*. 8(1): 13–22.

- Mardiana, L. 2004. *Kanker Pada Wanita, Pencegahan dan Pengobatan dengan Tanaman Obat*. Kawan Pustaka. Jakarta
- Martini, S. 2022. Penentuan Gen Supresor (P53) pada Pemberian Taurin dan Ekstrak Etanol *Sargassum duplicatum* Serta *Padina australis* Terhadap Sel Hela secara In-Vitro. [Tesis]. Lampung: Universitas Lampung.
- Meyer, B.N., Ferrigni, N.R., Putnam, J.E., Jacobsen, L.B., Nicholas, D.E., & Mc Laughlin., J.L., 1982, Brine Shrimp: a convenient general bioessay for active plant constituent. *Planta Medica*. 45: 31-4
- Meylen, Widia. 2019. Uji Toksisitas Menggunakan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) pada Ekstrak Rumput Laut Cokelat (*Sargassum duplicatum*, *Padina australis*, dan *Turbinaria ornata*) dari Teluk Lampung. (Skripsi Sarjana, Universitas Sriwijaya).
- Molyneux P. 2004. The Use of Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarinn Journal of Science and Technology*. 26: 211-219.
- Morales-Borges RH., González, MJ., Gupta, RM., Ayeotan, O. 2020. Taurine as Anticancer and Antiviral: Case Report and Prospective Update. *Global Journal of Cancer Case Report*. 1(2):1-14.
- Mudjiman, A. 1988. *Udang Renik Air Asin (Artemia salina)*. Bhatara Karya Aksara. Jakarta.
- Mudjiman, A. 1989 *Udang Renik Air asin (Artemia salina)*. PT Bhatara Niaga Media. Jakarta.
- Mudjiman, A. 1995. *Makanan Ikan*. PT Penerbit Swadaya. Jakarta
- Nagappan H, Pee PP, Kee SHY, Ow JT, Yan SW, Chew LY, Kong KW. 2017. Malaysian brown seaweeds *Sargassum siliquosum* and *Sargassum polycystum*: low density lipoprotein (LDL) oxidation, angiotensin converting enzyme (ACE), α -amylase and α -glucosidase inhibition activities. *Food Research International*. 1-9. antioxidant activity. *Journal Science Technology*. 26(2): 211-219
- Namvar, F., Mohamad, R., Baharara, J., Zafar, S., Fargahi, F., Rahman, H. 2013. Antioxidant, anti-proliferative, and antiangiogenesis effects of polyphenol-rich seaweed (*Sargassum muticum*). *BioMed Research International*. 1-9
- Nofiani, R. 2008. Urgensi dan Mekanisme Biosintesis Metabolit Sekunder Mikroba Laut. *Jurnal Natur Indonesia*. 10(2): 120-125.
- Nursafitri, E., Sari, R., dan Harti, A.S. 2013. Kegunaan Daun Sirsak (*Annona muricata* L) Untuk Membunuh Sel Kanker dan Pengganti Kemoterapi. *Jurnal Kesmadaska*. 4(2): 110-115.

- Padua D, Rocha E, Gargiulo D, Ramos AA. 2015. Bioactive compounds from brown seaweeds: phloroglucinol, fucoxanthin and fucoidan as promising therapeutic agents against breast cancer. *Phytochemistry Letters*. 14: 91-98.
- Polyak K. 2006. Pregnancy and breast cancer: the other side of the coin. *Cancer Cell* 9:151–153.
- Polyak, K. 2007. Breast cancer: origins and evolution. *J Clin Invest* 117(11): 3155-3163
- Prawirodiharjo, E. 2014. *Uji Aktivitas Antioksidan dan Uji Toksisitas Ekstrak Etanol 70% dan Ekstrak Air Kulit Batang Kayu Jawa (Lannea coromandelica)*. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Syarif Hidayatulloh, Jakarta.
- Priyambodo dan T. Wahyuningsih. 2003. *Budidaya Pakan Alami Untuk Ikan*. Penebar Swadaya Sumeru. Jakarta
- Purwanto, I., Ali K., dan Sutaryo. 2015. *Internasional Collaborative Project Of University Gadjah Mada*. ETD UGM. Yogyakarta
- Rachutami, I., Diyan, R.M., Muadifah, A., Bakti A.M. 2022. Anti-cancer Activity Testing of Cumin (*Plectranthus amboinicus*) Ethanol Extract Against *Artemia salina* Leach by using *Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)* Method. *Walisongo Journal of Chemistry*. 5(1): 19-28.
- Rasyid, M.I., Yuliani H., Triandita N., Angareni L., Anggriawin M. 2022. Toxicity Test of Laban Fruits (*Vitex pinnata* Linn) by Using Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) Method. *IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sc* .1059 012051
- Rianti, Emy. 2012. Faktor-faktor yang Berhubungan dengan Risiko Kanker Payudara. *Jurnal Health Quality* 3(1): 10.
- Riwanti P., Izazih F., Amaliyah. 2020. Pengaruh Perbedaan Konsentrasi Etanol pada Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol 50,70 dan 96% *Sargassum polycystum* dari Madura. *J-Pham*. 2(2): 1-14.
- Rohim, A., Yunianta, Estiasih, T. 2019. Senyawa-Senyawa Bioaktif pada Rumput Laut Cokelat *Sargassum* sp.:Ulasan Ilmiah. *Jurnal Teknologi Pertanian* 20(2):115-126.
- Sartinah, A., Yamin, Y., Arba, M., Akib, N.I., Adjeng, A.N.T., Nurhasana, N., & Pascayantri, A. 2020. Uji toksisitas akut ekstrak dan fraksi kulit batang ketapang laut (*Terminalia catappa* L.) menggunakan metode BSLT. *Pharmauho: Jurnal Farmasi, Sains, dan Kesehatan*, 6(1), 42-47.
- Schuller-Levis GB and Park E. 2003. Taurine: new implications for an old amino acid. *FEMS Microbiology Letters* 226: 195–202.

- Septiana AT, Asnani A. 2013. Aktivitas antioksidan ekstrak rumput laut *Sargassum duplicatum*. *Jurnal Teknologi Pertanian*. 14(2): 79-86
- Simanjuntak, K. 2012. Mekanisme Radikal Bebas Terhadap Induksi Karsinogenesis. *Bina Widya*: 23(5):256-263.
- Sorgeloos. 1973. First report on the triggering effect of light on the hatching mechanism of *Artemia* dry cysts. *Marine Biology* 22:75-76
- Sorgeloos. 1980. Improvement on Availability and Use of *Artemia* as Food Source for *Macrobrachium*. *Paper Presented at the International Conference "Giant Prawn"*. Bangkok.1-10 pp.
- Soundarapandian, P. and G. Saravanakumar. 2009. Effect of Different Salinities on the Survival and Growth of *Artemia* Spp. *Current Research Journal of Biological Sciences*. 1(2): 20-22
- Srivastava S, Roy R, Singh S, Kumar P, Dalela D, Sankhwar SN, Goel A, Sonkar AA. 2010. Taurine-a possible fingerprint biomarker in non-muscle invasive bladder cancer: A pilot study by ¹H NMR spectroscopy. *Cancer Biomark*. 6: 11-20.
- Stringer, J.L. 2008. *Konsep Dasar Farmakologi : Panduan untuk Mahasiswa Edisi 3*. Penerbit Buku Kedokteran. Jakarta.
- Suherman, S., Hernani & Syukur. 2006. Uji Toksisitas Ekstrak Lempayung Gajah (*Zingiber zerumbet*) Terhadap Larva Udang (*Artemia salina* Leach). *BulLittro*. 17: 30-38.
- Sukowati, EG. 2011. Pengaruh Pemberian Eicosapentaenoic Acid (Epa) Terhadap Jumlah Sel T Cd4 Pada Pasien Karsinoma Mammae Stadium III yang Mendapatkan Kemoterapi. Diss. Diponegoro University.
- Sunaryati, S., 2011. *Penyakit Paling Sering Menyerang dan Mematikan*. Flash books. Yogyakarta.
- Suriawaria, U. 1985. *Pengantar Mikrobiologi Umum*. Angkasa. Bandung.
- Tasmin, Erwin, Irawan W. 2014. Identifikasi dan Uji Toksisitas Senyawa Flavonoid Fraksi Kloroform dari Daun Terap (*A. odoratissimus* Blanco). *Jurnal Kimia Mulawarman*. 12(1). 45-47.
- Triastinurmiatiningsih, Ismanto dan Ertina. 2011. Variasi Morfologi dan Anatomi *Sargassum* spp. di Pantai Bayah Banten. *Ekologia*. 11(2):1-10

- Tu, S., Zhang, XL., Wan, HF., Xia, YQ., Liu, ZQ., Yang, XH., Wan, FS. 2018. Effect of taurine on cell proliferation and apoptosis human lung cancer A549 cells. *Oncology Letters*. 15: 5473-5480
- Wagner, J.G. 1993. *Pharmacokinetics for the pharmaceutical scientist*. Technomic Pub. Lancarter-Basel.
- Wang, C, -Y., Wu, T, -C., Hsieh, S, -L., Tsai, Y, -H., Yeh, C, -W., Huang, C, -Y., 2015. Antioxidant activity and growth inhibition of human colon cancer cells by crude and purified fucoidan preparations extracted from *Sargassum cristaefolium*. *Journal of Food and Drug Analysis*. 23: 766–777
- Widiastuti, E.L., Kanedi, M., & Nurcahyani, N. 2015. Early study: the effect of taurine on growth of gourami *Osprhonemus goramy* dan tilapia *Oreochromis niloticus* juveniles. *KnE life sciences*, 2, 336-341.
- Winangsih, E. Prihastanti dan S. Parman. 2013. Pengaruh Metode Pengeringan Terhadap Kualitas Simplisia Lempuyang Wangi (*Zingiber aromaticum* L.). *Buletin Anatomi dan Fisiologi*. 21(1): 19-25.
- Wirasuta dan Niruri. 2006. *Toksikologi Umum*. Universitas Udayana. Bali
- Wirtz, D., Konstantopoulos, K. & Searson, P., 2011. The physics of cancer: the role of physical interactions and mechanical forces in metastasis. *Nat Rev Cancer*, 11(7), pp.512–522
- Zubairi, S.I., Sarmidi, M.R., Aziz, R.A. 2014. Biological Activity on the Extract of *Derris elliptica*: An Optimization Approach to Investigate the Effect of Processing Parameters on Mortality of *Artemia salina*. *AENSI Journals*. 8(10): 918-924.