

**POTENSI EKSTRAK ETANOL *Halimeda opuntia* DAN TAURIN SEBAGAI
SENYAWA SITOTOKSIK TERHADAP *Artemia salina* DENGAN
METODE *BRINE SHRIMP LETHALITY TEST* (BSLT)**

Skripsi

Oleh

Kezia Anynda

1917021043



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

ABSTRAK

POTENSI EKSTRAK ETANOL *Halimeda opuntia* DAN TAURIN SEBAGAI SENYAWA SITOTOKSIK TERHADAP *Artemia salina* DENGAN METODE *BRINE SHRIMP LETHALITY TEST* (BSLT)

Oleh
Kezia Anynda

Kanker merupakan salah satu penyebab kematian yang banyak terjadi di Indonesia. Beberapa pengobatan yang dilakukan untuk menyembuhkan kanker seperti operasi, kemoterapi, terapi radiasi, imunoterapi, dan terapi hormon membutuhkan biaya yang cukup tinggi. Sehingga diperlukan pengobatan lain dengan biaya yang lebih murah, salah satunya dengan menggunakan taurin dan pemanfaatan sumber daya alam laut yaitu makroalga *Halimeda opuntia*. Taurin dan *Halimeda opuntia* diketahui memiliki kandungan senyawa yang berperan dalam memberikan aktivitas antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk menguji potensi taurin dan senyawa bioaktif pada ekstrak etanol *Halimeda opuntia* sebagai senyawa sitotoksik terhadap larva *Artemia salina* menggunakan *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Pada penelitian ini digunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan faktorial 2x4. Penelitian dilakukan dengan menguji dua faktor yaitu taurin dan ekstrak etanol *Halimeda opuntia*. Konsentrasi uji yang digunakan pada penelitian ini yaitu 100 ppm, 250 ppm, 500 ppm, dan 1000 ppm. Masing-masing konsentrasi uji dilakukan pengulangan sebanyak lima kali. Nilai LC₅₀ ditentukan dengan analisis probit pada aplikasi SPSS. Selanjutnya dilakukan pengujian kembali terhadap larutan uji taurin dan ekstrak etanol *Halimeda opuntia* dengan mencampur kedua larutan uji tersebut menggunakan konsentrasi berdasarkan nilai LC₅₀ yang telah dianalisis pada uji sebelumnya. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol *Halimeda opuntia* positif mengandung senyawa bioaktif saponin, terpenoid, tanin, alkaloid dan flavonoid. Nilai LC₅₀ dari taurin yaitu sebesar 311 ppm dan ekstrak etanol *Halimeda opuntia* yaitu sebesar 260 ppm yang berarti kedua larutan uji memiliki sifat toksik serta berpotensi sebagai antikanker. Selanjutnya terdapat perbedaan yang signifikan terhadap rata-rata kematian larva *Artemia salina* antara larutan campuran dengan larutan taurin konsentrasi 311 ppm dan antara larutan campuran dengan ekstrak etanol *Halimeda opuntia* konsentrasi 260 ppm.

Kata kunci: antikanker, antioksidan, *H. opuntia*, *A. salina*, *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

ABSTRACT

POTENTIAL OF ETHANOL EXTRACT OF *Halimeda opuntia* AND TAURINE AS CYTOTOXIC COMPOUNDS AGAINST *Artemia salina* USING THE BRINE SHRIMP LETHALITY TEST (BSLT) METHOD

**By
Kezia Anynda**

Cancer is one of the most common causes of death in Indonesia. Some of the treatments used to cure cancer, such as surgery, chemotherapy, radiation therapy, immunotherapy, and hormone therapy, have quite high costs. So that other treatments are needed at a lower cost, such as using taurine and the utilization of marine natural resources, namely macroalgae *Halimeda opuntia*. Taurine and *Halimeda opuntia* are known to contain compounds that play a role in providing antioxidant activity. This study aims to examine the potential of taurine and bioactive compounds in the ethanol extract of *Halimeda opuntia* as cytotoxic compounds against *Artemia salina* larvae using the Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). In this study, a completely randomized design with a 2x4 factorial was used. The study was conducted by testing two factors, namely taurine and the ethanol extract of *Halimeda opuntia*. The concentrations used in this study were 100 ppm, 250 ppm, 500 ppm, and 1000 ppm. Each concentration was repeated five times. The LC₅₀ value was determined by probit analysis in the SPSS application. Furthermore, the Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) was repeated on the taurine and the ethanol extract of *Halimeda opuntia* by combining the two test materials at a concentration based on the LC₅₀ value determined in the previous test. The results showed that the ethanol extract of *Halimeda opuntia* positively contained saponins, terpenoids, tannins, alkaloids, and flavonoids. The LC₅₀ value of taurine is 311 ppm, while the ethanol extract of *Halimeda opuntia* is 260 ppm, indicating that both test materials are toxic and have the potential to be anticancer. There was a significant difference in the average mortality of *Artemia salina* larvae between the combined test material and a taurine concentration of 311 ppm, as well as between the combined test material and a *Halimeda opuntia* ethanol extract concentration of 260 ppm.

Keywords: anticancer, antioxidant, *H. opuntia*, *A. salina*, Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)

**POTENSI EKSTRAK ETANOL *Halimeda opuntia* DAN TAURIN SEBAGAI
SENYAWA SITOTOKSIK TERHADAP *Artemia salina* DENGAN
METODE *BRINE SHRIMP LETHALITY TEST* (BSLT)**

Oleh

Kezia Anynda

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
BANDAR LAMPUNG
2023**

Judul Penelitian : **Potensi Ekstrak Etanol *Halimeda opuntia* dan Taurin sebagai Senyawa Sitotoksik terhadap *Artemia salina* dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)**

Nama Mahasiswa : **Kezia Anynda**

NPM : 1917021043

Jurusan : S1-Biologi

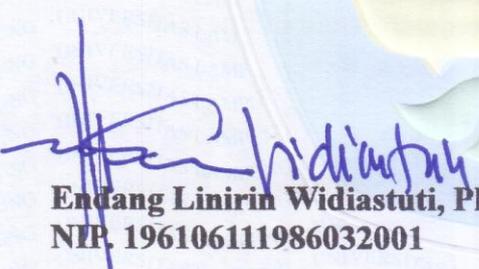
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

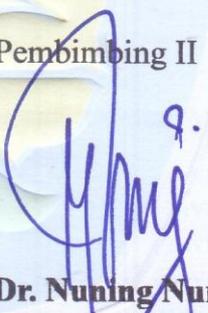
MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing

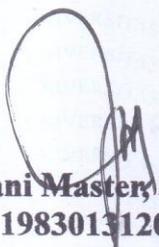
Pembimbing I

Pembimbing II


Endang Linirin Widiastuti, Ph.D.
NIP. 196106111986032001


Dr. Nuning Nurcahyani, M.Sc.
NIP. 196603051991032001

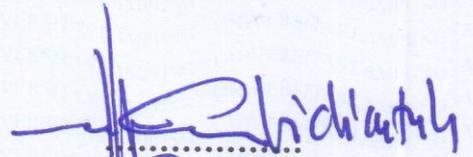
2. Ketua Jurusan Biologi
FMIPA Universitas Lampung


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

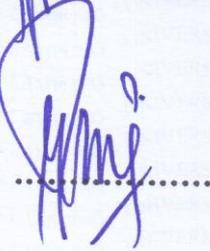
MENGESAHKAN

1. Tim penguji

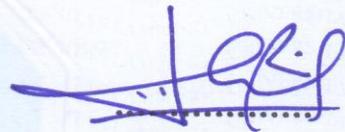
Ketua : **Endang Linirin Widiastuti, Ph.D.**



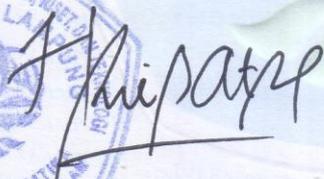
Sekretaris : **Dr. Nuning Nurcahyani, M.Sc.**



Anggota : **Drs. Tugiyono, M.Si., Ph.D.**



2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



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

Tanggal Lulus Ujian Skripsi: 14 Agustus 2023

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Kezia Anynda
NPM : 1917021043
Jurusan : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

menyatakan dengan sebenar-benarnya dan sesungguhnya bahwa skripsi saya yang berjudul:

“Potensi Ekstrak Etanol *Halimeda opuntia* dan Taurin sebagai Senyawa Sitotoksik terhadap *Artemia salina* dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)*”

adalah benar karya saya sendiri yang saya susun dengan mengikuti norma dan etika akademik yang berlaku. Kemudian, saya juga tidak keberatan apabila sebagian atau seluruh data pada skripsi ini digunakan oleh dosen dan/atau program studi untuk kepentingan publikasi, sepanjang nama saya disebutkan.

Jika kemudian hari terbukti pernyataan saya tidak benar, saya bersedia menerima sanksi akademik berupa pencabutan gelar sarjana maupun tuntutan hukum.

Bandarlampung, 15 Agustus 2023

Yang menyatakan,



Kezia Anynda

NPM. 1917021043

RIWAYAT HIDUP



Penulis bernama lengkap Kezia Anynda, lahir di Jakarta pada tanggal 12 Desember 2001, merupakan anak pertama dari pasangan Bapak Tonny Zon J Gultom, S.E. dan Ibu Ns. Linda L. Gaol, S.Kep. Penulis memiliki satu adik laki-laki bernama Daniel Linton Friendel. Penulis menempuh pendidikan pertama di TK ANANDA pada tahun 2006 dan pendidikan sekolah dasar di SD ANANDA pada tahun 2007.

Pada tahun 2013, penulis melanjutkan pendidikannya di SMP Permata Sakti dan menyelesaikannya di tahun 2016. Pada tahun yang sama, penulis melanjutkan pendidikan di SMA Negeri 11 Bekasi. Penulis melanjutkan pendidikan tingkat perguruan tinggi di Universitas Lampung sebagai mahasiswa Jurusan Biologi pada tahun 2019.

Penulis ikut serta dalam kepengurusan Himpunan Mahasiswa Biologi (HIMBIO) Unila sebagai anggota bidang Sains dan Teknologi pada tahun 2020 dan anggota bidang Komunikasi, Informasi dan Humas pada tahun 2021. Penulis pernah menjadi asisten praktikum mata kuliah Praktik Keterampilan Dasar Laboratorium, Zoologi Vertebrata, Genetika, dan Parasitologi. Penulis telah menjalankan Praktik Kerja Lapangan (PKL) di Balai Uji Standar Karantina Ikan, Pengendalian Mutu, dan Keamanan Hasil Perikanan (BUSKIPM) Jakarta pada bulan Januari 2022 dan menyelesaikan laporan Praktik Kerja Lapangan (PKL) berjudul “Identifikasi Bakteri pada Ikan Nila dengan Metode Konvensional Biokimia di Balai Uji Standar Karantina Ikan, Pengendalian Mutu, dan Keamanan Hasil Perikanan” pada bulan Februari 2022. Penulis telah melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Tebing, Kec. Melinting, Kab. Lampung Timur pada bulan Juni 2022 – Agustus 2022.

MOTTO

Tetaplah berdoa
(1 Tesalonika 5:17)

God's timing is always perfect

Bila ingin hidup damai di dunia, bahagialah dengan apa yang kau punya. Walau hatimu merasa semua belum sempurna, sebenarnya kita sudah cukup semuanya
(Adera - Catatan Kecil)

Segala perkara dapat kutanggung di dalam Dia yang memberi kekuatan kepadaku
(Filipi 4:13)

Good things take time

PERSEMBAHAN

*Untuk Bapak dan Mama yang
penulis sayangi*

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur ke hadirat Tuhan Yesus Kristus, atas berkat dan kasih-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Potensi Ekstrak Etanol *Halimeda opuntia* dan Taurin sebagai Senyawa Sitotoksik terhadap *Artemia salina* dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)*”** sebagai salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana Sains di Universitas Lampung. Penelitian ini didanai oleh Hibah BLU Universitas Lampung Skema *Profesorship* dengan Nomor Kontrak 861/UN26.21/PN/2023 tanggal 10 April 2023. Penulisan skripsi ini tidak akan berjalan lancar tanpa bantuan dan dukungan, baik moril maupun materil, yang selalu penulis dapatkan. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada:

1. Tuhan Yesus Kristus atas segala berkat dan karunia-Nya yang tak pernah habis dalam hidup penulis.
2. Kedua orang tua penulis, Bapak Tonny Zon Jamila Gultom, S.E. dan Ibu Ns. Linda L. Gaol, S.Kep. yang selalu mendoakan dan mendukung penulis. Terima kasih atas segala kasih sayang, kerja keras dan pengorbanan yang Bapak dan Mama berikan sejak penulis lahir hingga penulis bisa berada pada tahap ini.
3. Ibu Endang Linirin Widiastuti, Ph.D. selaku Dosen Pembimbing I yang telah memberikan ilmu baru dan membimbing penulis dalam menyelesaikan skripsi dari awal hingga akhir.
4. Ibu Dr. Nuning Nurcahyani, M.Sc. selaku Dosen Pembimbing II yang telah membimbing dan memberikan dukungan selama penulis menyelesaikan skripsi.

5. Bapak Drs. Tugiyono, Ph.D. selaku Dosen Pembahas yang telah memberikan kritik dan saran sehingga penulisan skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.
6. Bapak Dr. Jani Master, M.Si. selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
7. Ibu Dr. Kusuma Handayani, M.Si. selaku Ketua Program Studi S1 Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
8. Ibu Gina Dania Pratami, S.Si., M.Si. selaku Pembimbing Akademik.
9. Bapak Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
10. Teman seperjuangan penelitian Daffara Rifqia Putri, Ainun Jariya dan Nadia Nurizza, yang selalu membantu penulis dalam menyelesaikan penelitian.
11. Erdia Girls dan kelompok komedi Tamasya (Annisa, Syakila, Alma, Asty, Jihan), serta Ade (seksi perlengkapan) yang selalu menemani penulis dalam suka maupun duka.
12. Angel dan Naomi yang telah menemani penulis setiap menjalani libur kuliah.
13. Grecia Lusiana yang menemani penulis sejak penulis menjalani hari sebagai mahasiswa baru hingga saat ini.
14. Mutiara selaku sahabat yang tak henti-hentinya memberi semangat serta dukungan kepada penulis. Terima kasih telah menemani dalam suka maupun duka, mendengar keluh kesah, dan memberi saran dalam setiap masalah yang penulis alami.
15. Teman-teman KKN Desa Tebing yang masih menjalin komunikasi dengan penulis hingga saat ini dan selalu memberi semangat kepada penulis.
16. Kakak tingkat Yosi Dwi Saputra, Ainun Bareta Rohmawati, dan Eka Ayu Lailatul Istikhomah yang telah membantu penulis dalam penelitian.
17. Seluruh teman seperjuangan Biologi Angkatan 2019.
18. Seluruh pihak yang telah membantu dan memberi dukungan yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu.

19. Newjeans, IVE, IU, Taylor Swift, Kimajo, Tanghoso, Kicikimi, dan Jukok yang selalu menemani penulis selama menyusun skripsi ini melalui karyanya.

20. *Last but not least, I wanna thank me for never quitting. Thank you for doing your best until the end. You're amazing and I'm so proud of you!*

Bandarlampung, 15 Agustus 2023

Penulis

Kezia Anynda

DAFTAR ISI

ABSTRAK	ii
ABSTRACT	iii
HALAMAN JUDUL DALAM	iv
HALAMAN PERSETUJUAN	v
HALAMAN PENGESAHAN	vi
PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI	vii
RIWAYAT HIDUP	vii
MOTTO	ix
PERSEMBAHAN	x
UCAPAN TERIMA KASIH	xi
DAFTAR ISI	xvi
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR TABEL	xvii
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
1.5 Hipotesis	4
1.6 Kerangka Pikir.....	6
II. TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 <i>Halimeda opuntia</i>	7
2.1.1 Klasifikasi <i>Halimeda opuntia</i>	7
2.1.2 Morfologi <i>Halimeda opuntia</i>	7

2.1.3	Habitat dan Penyebaran <i>Halimeda opuntia</i>	9
2.1.4	Kandungan Bioaktif pada <i>Halimeda opuntia</i>	9
2.2	<i>Artemia salina</i>	10
2.2.1	Klasifikasi <i>Artemia salina</i>	10
2.2.2	Morfologi <i>Artemia salina</i>	11
2.2.3	Habitat dan Penyebaran <i>A. salina</i>	12
2.2.4	Siklus Hidup <i>Artemia salina</i>	13
2.2.5	Penggunaan <i>Artemia salina</i> sebagai Hewan Uji	13
2.3	Taurin.....	14
2.4	Kanker	16
2.5	Toksisitas	16
2.6	<i>Brine Shrimp Lethality Test</i> (BSLT).....	17
2.7	LC ₅₀	18
III.	METODE PENELITIAN	20
3.1	Waktu dan Tempat	20
3.2	Alat dan Bahan	20
3.3	Prosedur Penelitian.....	21
3.3.1	Pembuatan simplisia dan ekstraksi <i>Halimeda opuntia</i>	21
3.3.2	Uji Fitokimia	22
3.3.3	Penetasan Larva <i>Artemia salina</i>	23
3.3.4	Uji Toksisitas dengan Metode BSLT.....	24
3.4	Rancangan Percobaan.....	26
3.5	Analisis Data	27
3.5.1	Uji Fitokimia	27
3.5.2	Uji toksisitas dengan metode BSLT	27
3.6	Diagram Alir.....	29
IV.	HASIL DAN PEMBAHASAN	30
4.1	Uji Fitokimia Ekstrak Etanol <i>Halimeda opuntia</i>	30
4.2	Uji Toksisitas dengan Metode BSLT	31
V.	KESIMPULAN DAN SARAN.....	37
5.1	Kesimpulan.....	37
5.2	Saran	37

DAFTAR PUSTAKA.....	38
LAMPIRAN.....	45

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Kerangka pikir	6
Gambar 2. <i>Halimeda opuntia</i>	8
Gambar 3. Morfologi <i>A. salina</i> betina dan jantan dewasa.....	12
Gambar 4. Diagram alir	29
Gambar 5. Larva <i>Artemia salina</i> hidup	36
Gambar 6. Larva <i>Artemia salina</i> mati	36
Gambar 7. Hasil uji fitokimia ekstrak etanol <i>Halimeda opuntia</i>	48

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Prosedur uji fitokimia	23
Tabel 2. Hasil uji fitokimia ekstrak <i>Halimeda opuntia</i>	30
Tabel 3. Rerata Kematian Larva <i>Artemia salina</i> Berdasarkan Jenis Larutan dan Konsentrasi Uji	32
Tabel 4. Uji Toksisitas Ekstrak Etanol <i>Halimeda opuntia</i> dan Taurin terhadap Kematian Larva <i>Artemia salina</i>	33
Tabel 5. Pengaruh Larutan Uji dengan Kematian Larva <i>Artemia salina</i>	34
Tabel 6. Uji <i>Two Way</i> ANOVA hubungan jenis larutan uji dan konsentrasi uji terhadap kematian larva <i>Artemia salina</i>	46
Tabel 7. Uji <i>Least Significant Difference</i> (LSD) pengaruh jenis dan konsentrasi larutan uji terhadap kematian larva <i>Artemia salina</i>	46
Tabel 8. Hasil analisis pengaruh larutan uji dengan kematian larva <i>Artemia salina</i>	47
Tabel 9. Uji <i>One Way</i> ANOVA hubungan jenis larutan uji terhadap kematian larva <i>Artemia salina</i>	47
Tabel 10. Uji <i>Least Significant Difference</i> (LSD) pengaruh jenis larutan uji terhadap kematian larva <i>Artemia salina</i>	47

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kanker merupakan salah satu penyakit penyebab kematian yang banyak terjadi di Indonesia, sebagaimana tercatat pada laporan *Global Burden of Cancer Study* (Globocan) dari *World Health Organization* (WHO), terdapat sebanyak 396.914 kasus akibat kanker di Indonesia pada tahun 2020, 234.511 jiwa diantaranya mengalami kematian akibat penyakit tersebut. Pertumbuhan sel kanker berawal dari satu bagian tubuh, namun hal tersebut tidak menunjukkan gejala pada tahap awal perkembangannya. Gejala mulai timbul ketika sel kanker menyebar ke berbagai jaringan dalam tubuh, sehingga penyakit ini dapat dikatakan sebagai salah satu penyakit yang sangat berbahaya dikarenakan sulit untuk dideteksi. Selain itu, hal lain yang membuat kanker menjadi penyakit yang berbahaya ialah karena belum ditemukannya pengobatan yang dapat menyembuhkan kanker secara menyeluruh. Beberapa pengobatan yang dilakukan untuk menghambat pertumbuhan sel kanker diantaranya ialah operasi, radioterapi dan kemoterapi, sedangkan bahan senyawa dari alam masih dijadikan sebagai pengobatan tambahan (Golbeck dkk., 2011).

Meskipun masih dijadikan sebagai pengobatan tambahan, sejatinya sangat banyak sumber daya alam di Indonesia yang dapat dijadikan sebagai bahan untuk pembuatan obat, salah satunya ialah sumber daya alam yang berasal dari laut seperti makroalga. Menurut Puji (2017), makroalga memiliki kandungan senyawa bioaktif yang meliputi alkaloid, flavonoid, triterpenoid, steroid, tanin, dan saponin. Kandungan senyawa bioaktif

tersebut berpotensi sebagai antikanker, sebagaimana tertulis dalam penelitian Hudaifah, dkk. (2020) bahwa alkaloid, flavonoid, triterpenoid, steroid, tanin, dan saponin yang menyebabkan kuatnya aktivitas antioksidan.

Terdapat banyak penelitian yang telah dilakukan untuk mengkaji senyawa bioaktif berbagai jenis alga, salah satunya alga hijau yang diketahui memiliki aktivitas antimikroba (Mishra dkk., 2016). Hal ini disebabkan karena menurut Perez, dkk. (2016), terdapat komponen bioaktif yang terdiri dari fenol, alkaloid dan terpen dalam alga hijau yang mempunyai aktivitas antimikroba dan antioksidan. Salah satu alga hijau tersebut ialah *Halimeda opuntia*. Menurut Romimohtarto dan Juwana (2001), *H. opuntia* merupakan jenis alga berkapur (Calcareous) dari divisi Chlorophyta dan termasuk ke dalam bangsa Briopsidales. Makroalga ini sering ditemui pada daerah terumbu karang dengan kondisi pantai yang tenang, cukup terlindung, dan hidup berkoloni. Berdasarkan hasil uji fitokimia yang dilakukan oleh Gazali, dkk. (2019), *H. opuntia* memiliki kandungan alkaloid, steroid, saponin, flavonoid, fenol, dan tanin. Senyawa aktif ini diduga berperan memberikan aktivitas antioksidan pada *H. opuntia*. Menurut Sumiarsa, dkk. (2018), antioksidan memiliki peran penting dalam meningkatkan kesehatan manusia melalui pencegahan ataupun pengobatan terhadap penyakit kronis, seperti penyakit kardiovaskular, diabetes, atau kanker. Oleh sebab itu, kandungan senyawa yang terkandung dalam *H. opuntia* dimungkinkan dapat menjadi senyawa sitotoksik.

Selain kandungan senyawa bioaktif yang ada dalam *H. opuntia*, terdapat pula senyawa lain yang memiliki aktivitas antikanker yaitu taurin. Taurin diketahui mampu mengikat radikal bebas yang masuk ke dalam tubuh sebelum bereaksi dengan komponen molekul dari sel (Roselyn dkk., 2016). Pada penelitian Agata, dkk. (2016) menjelaskan bahwa penggunaan taurin efektif dalam memperbaiki sel hepar yang rusak akibat pemberian benzo(α)piren dengan efek pemulihan 1–25%. Hal tersebut dikarenakan

taurin dengan dosis yang tinggi berfungsi sebagai antioksidan atau radikal bebas seperti kanker.

Berdasarkan hal tersebut, penelitian ini dilakukan untuk melihat potensi senyawa bioaktif yang terdapat pada taurin dan alga hijau *H. opuntia* sebagai senyawa sitotoksik menggunakan metode uji *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Digunakannya metode tersebut berdasar dengan pernyataan Meyer, dkk. (1982) yang menjelaskan bahwa BSLT merupakan salah satu metode uji yang banyak digunakan untuk mencari senyawa antikanker baru. Selain itu, metode uji BSLT juga mudah dikerjakan, cepat, tidak membutuhkan biaya yang besar, dan cukup akurat. Metode ini menggunakan *Artemia salina* sebagai hewan uji. *A. salina* diketahui mempunyai sifat peka yang cukup tinggi terhadap toksik (Hikmah, 2018). Hal ini dikarenakan larva *A. salina* memiliki kulit yang tipis sehingga peka terhadap lingkungan. Oleh karena itu, senyawa asing yang ada di lingkungan hidup larva *A. salina* dapat berdifusi ke dalam tubuh larva tersebut dan langsung memengaruhi sel-selnya. Jika senyawa yang masuk ke dalam sel memiliki sifat toksik, maka akan menyebabkan kematian pada larva *A. salina* (Potu dkk, 2021). Penggunaan larva *A. salina* pada metode BSLT ini juga disebabkan karena struktur tubuh pada tahap naupli (larva) masih sangat sederhana, terdiri atas lapisan kulit, mulut, antena, saluran pencernaan yang masih sederhana, serta calon thoracopoda (Raineri, 1981). Larva *A. salina* yang digunakan pada penelitian ini yaitu larva berumur 48 jam karena pada umur tersebut larva sangat peka terhadap lingkungan sebab dinding selnya masih lunak (Purwantini dkk, 2002).

1.2 Rumusan Masalah

Terdapat banyak sekali sumber daya alam yang dapat dijadikan sebagai bahan pembuatan obat, salah satunya sumber daya alam laut, yaitu makroalga. Alga hijau *Halimeda opuntia* diketahui mengandung senyawa bioaktif alkaloid, steroid, saponin, flavonoid, fenol, dan tanin yang diperkirakan memiliki peran dalam memberikan aktivitas antioksidan pada

H. opuntia. Berdasarkan uraian tersebut, masalah yang dapat diidentifikasi ialah seperti apa potensi taurin dan senyawa bioaktif pada *H. opuntia* sebagai senyawa sitotoksik terhadap larva *Artemia salina*.

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini sebagai berikut.

1. Menguji potensi taurin sebagai senyawa sitotoksik terhadap larva *Artemia salina*.
2. Menguji potensi senyawa bioaktif yang terkandung dalam ekstrak etanol *Halimeda opuntia* sebagai senyawa sitotoksik terhadap larva *Artemia salina*.
3. Menganalisis perbedaan rata-rata kematian larva *Artemia salina* pada larutan uji taurin, ekstrak etanol *Halimeda opuntia*, serta campuran antara taurin dan ekstrak etanol *Halimeda opuntia*.

1.4 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat dari penelitian ini sebagai berikut.

1. Memberikan informasi kepada mahasiswa/i maupun masyarakat umum mengenai potensi taurin sebagai senyawa sitotoksik terhadap larva *Artemia salina*.
2. Memberikan informasi kepada mahasiswa/i maupun masyarakat umum mengenai potensi senyawa bioaktif yang terkandung dalam ekstrak etanol *Halimeda opuntia* sebagai senyawa sitotoksik terhadap larva *Artemia salina*.
3. Memberikan informasi kepada mahasiswa/i maupun masyarakat umum mengenai pengaruh campuran antara taurin dan ekstrak etanol *Halimeda opuntia* sebagai senyawa sitotoksik terhadap larva *Artemia salina*.

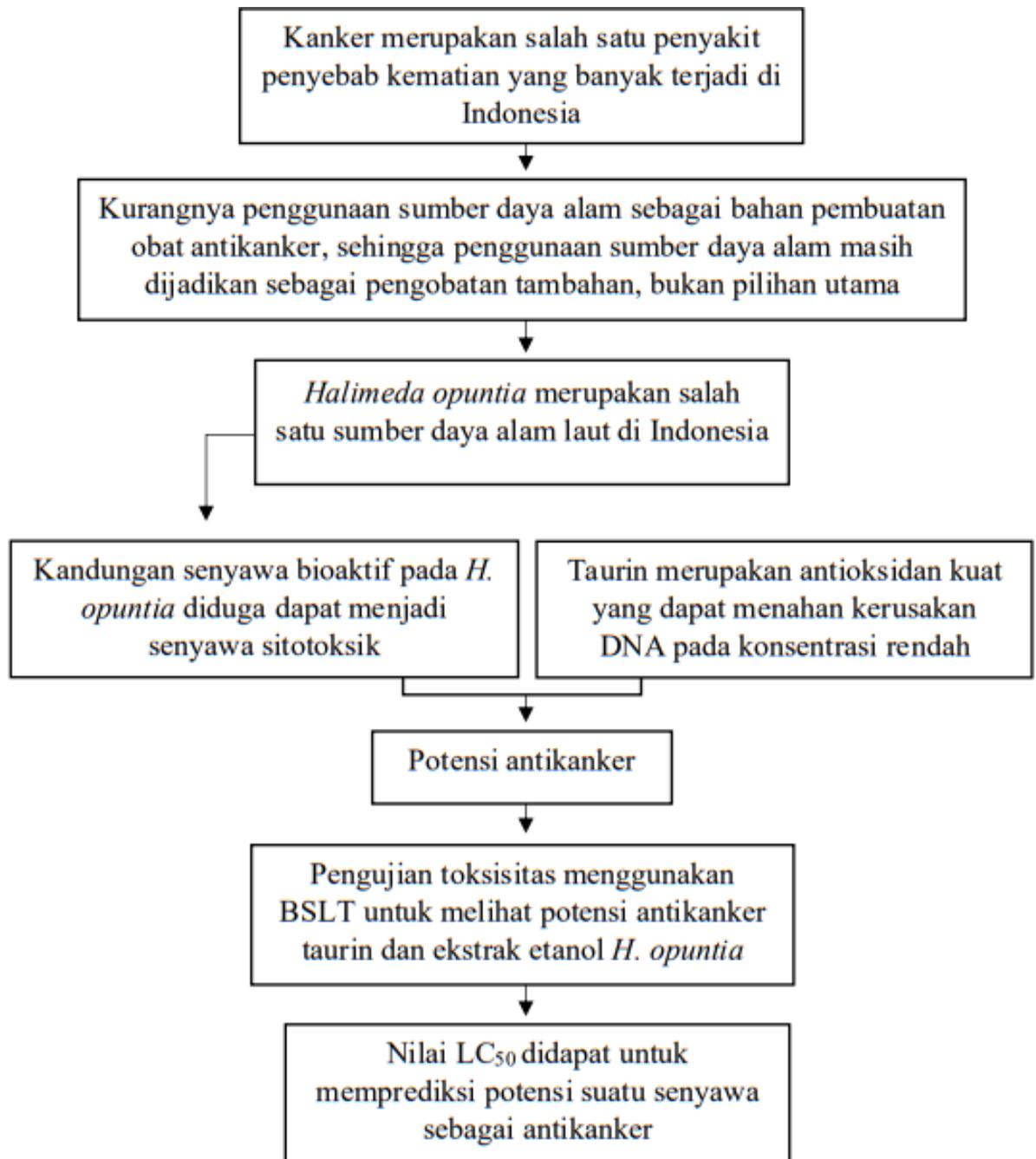
1.5 Hipotesis

Hipotesis pada penelitian ini sebagai berikut.

1. Taurin memiliki sifat sitotoksik terhadap larva *Artemia salina*.

2. Senyawa bioaktif pada ekstrak etanol *Halimeda opuntia* memiliki sifat sitotoksik terhadap larva *Artemia salina*.
3. Larutan uji taurin, ekstrak etanol *Halimeda opuntia*, serta campuran antara taurin dan ekstrak etanol *Halimeda opuntia* menunjukkan perbedaan pada rata-rata kematian larva *Artemia salina*.

1.6 Kerangka Pikir



Gambar 1. Kerangka pikir

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Halimeda opuntia*

2.1.1 Klasifikasi *Halimeda opuntia*

Halimeda opuntia merupakan makroalga berkapur (Calcareous) yang berasal dari divisi Chlorophyta dan ordo Briopsidales. Rumput laut ini banyak dijumpai pada daerah terumbu karang yang kondisi pantainya tenang, agak terlindung, dan hidup berkoloni (Romimohtarto & Juwana, 2001).

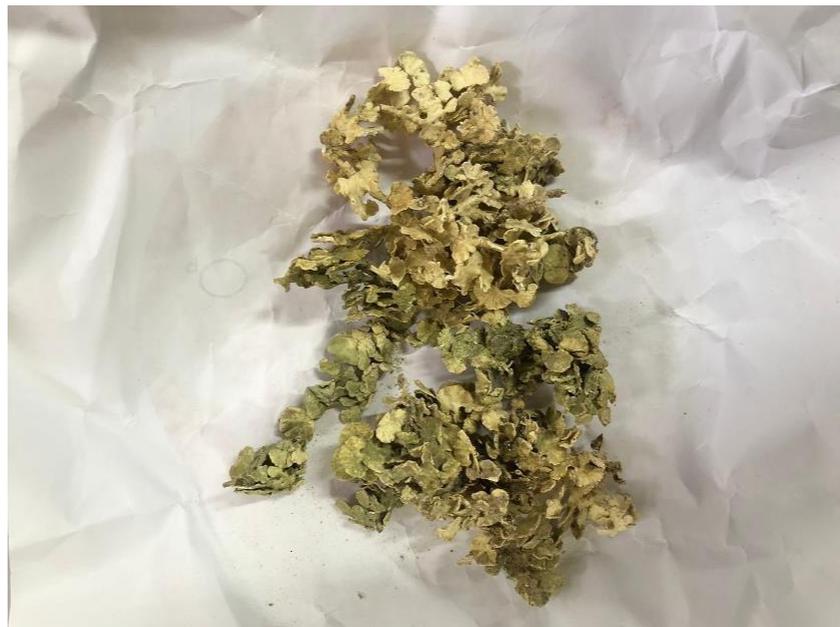
Menurut Lamouroux dalam Darfiah (2022), *Halimeda opuntia* diklasifikasikan sebagai berikut:

Kerajaan	: Plantae
Divisi	: Chlorophyta
Kelas	: Ulvophyceae
Bangsa	: Bryopsidales
Suku	: Halimedaceae
Marga	: <i>Halimeda</i>
Jenis	: <i>Halimeda opuntia</i>

2.1.2 Morfologi *Halimeda opuntia*

Halimeda opuntia merupakan makroalga hijau yang memiliki ciri yaitu thallus tegak dan mempunyai segmen yang bercabang. Segmen tersebut membentuk segitiga yang muncul pada bagian basal makroalga. Tinggi thallus *H. opuntia* berkisar antara 6-10 cm serta memiliki alat perekat yang berfungsi untuk menempel pada substrat. Alat perekat tersebut berupa filamen yang berasal dari segmen basal, di mana filamen tersebut akan mencengkram

substrat sehingga makroalga dapat menempel dan tumbuh di perairan. Filamen pada *H. opuntia* mengandung kapur, sangat kaku dan bentuknya bertekuk tiga dengan susunan saling tumpang tindih serta tidak teratur (Meriam, dkk., 2016). Menurut Langoy, dkk. (2011), makroalga ini memiliki bentuk thalli kompak, terdapat *blade* dengan bentuk seperti lembaran-lembaran kecil dengan permukaan yang kasar. Segmen memiliki percabangan yang bertumpuk menjalar dan membentuk pertumbuhan baru. Segmen berukuran kecil dengan bentuk pipih, bulat, dan bergelombang. Bagian bawah yang menyerupai *blade* biasanya berwarna putih, sedangkan bagian atas permukaan berwarna hijau tua atau hijau muda. Tunas segmen baru terletak pada segmen utama pada bagian yang berlekuk. Morfologi *H. opuntia* dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. *Halimeda opuntia*
(Dokumentasi pribadi, 2023)

2.1.3 Habitat dan Penyebaran *Halimeda opuntia*

Halimeda opuntia banyak ditemukan pada daerah terumbu karang dengan kondisi pantai yang tenang dan agak terlindung. *Halimeda opuntia* hidup dengan cara menempel pada substrat yang berpasir dan berkarang di daerah intertidal hingga subtidal. (Meriam, dkk., 2016). Alga hijau dari marga *Halimeda* banyak dijumpai di perairan tropis (Mayakun, dkk., 2012). Pada penelitian yang dilakukan oleh Meriam, dkk. (2016), menjelaskan bahwa *H. opuntia* tersebar luas di Indonesia, antara lain terdapat di Pulau Banda, Birakeke, Elat (Kei), Jedar, Lombok, Sulawesi, Sumbawa, Likupang, Pulau Kei Maluku Tenggara, Teluk Manado, dan Teluk Luwuk. Selain itu, *H. opuntia* juga tersebar di negara-negara Asia antara lain Jepang, Singapura, Malaysia, Thailand, India, Sri Lanka, Bangladesh, Burma, dan Filipina.

2.1.4 Kandungan Bioaktif pada *Halimeda opuntia*

Penelitian yang dilakukan oleh Gazali, dkk. (2019) menunjukkan hasil uji fitokimia yang menjelaskan bahwa pada *Halimeda opuntia* terdapat kandungan senyawa bioaktif berupa alkaloid, steroid, saponin, flavonoid, fenol, dan tanin. Kandungan bioaktif tersebut diperkirakan memiliki aktivitas antioksidan dalam menangkal terjadinya stres oksidatif. Selain itu, golongan senyawa flavonoid, asam fenolik, tanin, dan lignan termasuk golongan antioksidan alami (Shahidi dan Nacz, 1995).

Flavonoid merupakan senyawa metabolit sekunder yang berasal dari tanaman dan asupan flavonoid tidak menimbulkan efek samping serta bermanfaat bagi kesehatan (Meiyanto, dkk., 2012). Pada penelitian-penelitian terdahulu telah membuktikan bahwa progresivitas beraneka ragam penyakit, salah satunya kanker dapat dikendalikan oleh asupan flavonoid (Jenie, dkk., 2019). Sitotoksitas yang terjadi terhadap sel kanker disebabkan oleh

senyawa flavonoid yang bersifat spesifik hanya memengaruhi sel kanker dan tidak memengaruhi sel normal. Hal ini terbukti pada uji sitotoksitas senyawa apigenin dan luteolin (flavonoid yaitu flavon) yang memiliki kemampuan dalam mengatur fungsi makrofag dalam pelenyapan sel kanker, serta berperan dalam menahan proliferasi sel (Feng, dkk., 2016; Zhou, dkk., 2019).

Menurut Amna dan Halimatussakdiah (2016), sebagai senyawa aktif yang memiliki aktivitas antikanker, jenis alkaloid sangat berpotensi untuk dikembangkan sebagai bahan alami obat anti kanker (Amna, 2016). Alkaloid, flavonoid dan triterpenoid dikatakan sebagai antikanker karena dapat menghambat pembelahan serta pengaktifan jalur apoptosis pada sel kanker (Gusungi, dkk., 2020). Selain flavonoid dan alkaloid, senyawa steroid dan triterpenoid juga memiliki manfaat salah satunya sebagai (Doughari, 2012). Pada penelitian yang dilakukan oleh Suryaningrum (2008) menunjukkan senyawa aktif teripang golongan steroid ataupun triterpenoid memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan tumor pada sel tumor paru manusia serta sel tumor serviks dengan nilai IC₅₀ 2,38 dan 2,46 µg/mL.

2.2 *Artemia salina*

2.2.1 Klasifikasi *Artemia salina*

Artemia salina merupakan salah satu komponen penyusun ekosistem laut yang keberadaannya sangat penting untuk perputaran energi dalam rantai makanan, selain itu *A. salina* juga dapat digunakan dalam uji laboratorium untuk mendeteksi toksisitas suatu senyawa dari ekstrak tumbuhan (Hikmah, 2018).

Adapun klasifikasi *Artemia salina* menurut Linnaeus (1758) dalam Wasonga (2018) ialah sebagai berikut.

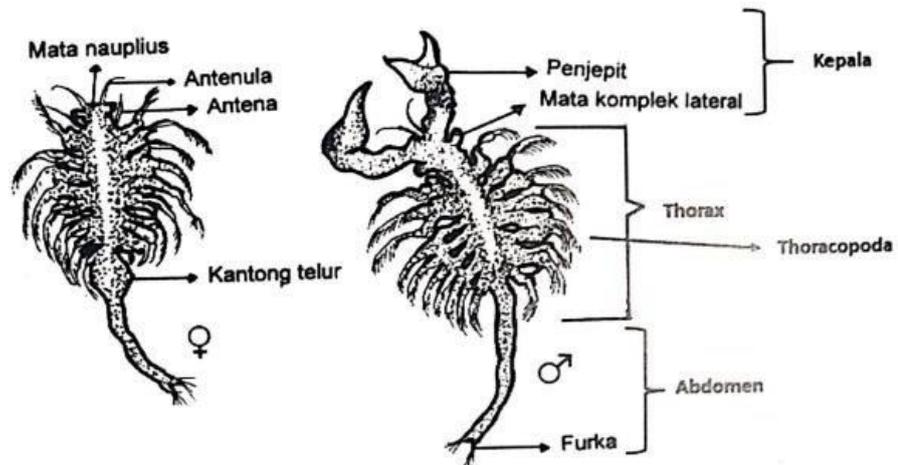
Kerajaan : Animalia

Divisi	: Anthropoda
Kelas	: Crustacea
Bangsa	: Anostraca
Suku	: Artemiidae
Marga	: <i>Artemia</i>
Jenis	: <i>Artemia salina</i>

2.2.2 Morfologi *Artemia salina*

Artemia salina dewasa ukuran panjang tubuhnya sekitar 8-10 mm, dapat pula mencapai 15 mm tergantung pada lingkungan hidupnya. Tubuhnya berbentuk memanjang serta terdiri dari paling sedikit 20 segmen dan dilengkapi kira-kira 10 pasang phyllopodia pipih, yaitu bagian tubuh yang menyerupai daun yang bergerak dengan ritme teratur. *Artemia salina* dewasa berwarna putih pucat, merah muda, hijau, atau transparan dan biasanya hanya hidup beberapa bulan. Memiliki mulut dan sepasang mata pada antenanya (Kanwar, 2007).

Artemia salina dewasa ukurannya mencapai panjang antara 1- 2 cm dengan berat badan kira-kira 10 mg. Nauplius instar I memiliki panjang sekitar 0,4 mm dengan berat badan sekitar 15 mikrogram. Nauplius instar II memiliki panjang sekitar 0,6 mm, dan nauplius instar III panjangnya 0,7 mm. Telur yang masih berada dalam cangkang bergaris tengah sekitar 300 mikron dan beratnya sekitar 3,65 mikrogram, sedangkan telur yang telah mengalami dekapulasi, garis tengahnya sekitar 210 mikron. Pada *A. salina* dewasa, umumnya ditandai dengan adanya tangkai mata yang terlihat jelas pada kedua sisi di bagian kepala, antenna berfungsi sebagai alat sensori (Mudjiman, 1995). Morfologi *A. salina* dewasa dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Morfologi *A. salina* betina dan jantan dewasa
(Sumber: KKP, 2016)

2.2.3 Habitat dan Penyebaran *A. salina*

Artemia salina hidup di perairan dengan kadar garam yang tinggi (antara 15 - 300 permil). Suhu untuk hidup berkisar antara 25-30°C, oksigen terlarut sekitar 3 mg/L serta pH berada pada rentang 7,5 - 8,5. Sebagai plankton, *A. salina* tidak dapat mempertahankan diri terhadap pemangsaan musuh-musuhnya sebab tidak mempunyai alat ataupun cara untuk membela diri. Satu-satunya cara untuk bertahan dari pemangsaan ialah dengan lingkungan hidupnya yang berkadar garam tinggi, hal ini dikarenakan pada kadar garam yang tinggi, spesies pemangsa tersebut pada umumnya sudah tidak dapat hidup lagi (Kartikasari, 2008).

Beberapa *Artemia salina* ditemukan di rawa asin hanya pada pedalaman bukit pasir pantai, dan tidak pernah ditemui di lautan itu sendiri karena terdapat banyak predator pada laut tersebut. *Artemia salina* juga mendiami kolom-kolom evaporasi buatan manusia yang biasa digunakan untuk mendapatkan garam dari lautan. Insang membantu *A. salina* agar cocok dengan kadar garam tinggi dengan absorpsi dan ekskresi ion-ion yang dibutuhkan dan menghasilkan urin pekat dari glandula maxillaris (Rizki, 2010).

2.2.4 Siklus Hidup *Artemia salina*

Artemia salina dibedakan menjadi dua kelompok berdasarkan cara berkembangbiaknya, antara lain perkembangbiakan secara biseksual dan partenogenetik. Keduanya dapat terjadi secara ovipar maupun ovovivipar. Pada jenis *A. salina* ovovivipar, anakan yang keluar dari induknya telah berupa arak atau burayak yang disebut juga dengan nauplis, sehingga sudah langsung dapat hidup sebagai *A. salina* muda. Sedangkan pada cara ovipar, yang keluar dari induknya berupa telur bercangkang tebal yang dinamakan siste. Proses untuk menjadi nauplis masih harus melewati proses penetasan terlebih dahulu. Kondisi ovovivipar umumnya terjadi jika keadaan lingkungan cukup baik dan dengan kadar garam yang kurang dari 150 per mil, serta kandungan oksigennya cukup. Oviparitas akan terjadi apabila keadaan lingkungan memburuk, dengan kadar garam lebih dari 150 per mil dan kandungan oksigennya kurang. Telur ini memang disiapkan untuk menghadapi keadaan lingkungan yang buruk, bahkan kering. Bila keadaan lingkungan Kembali membaik, telur akan menetas dalam waktu 24 - 36 jam (Mudjiman, 1995; Kanwar, 2007).

Artemia salina dewasa dapat hidup hingga enam bulan. Sementara induk- induk betinanya akan melahirkan atau bertelur setiap 4-5 hari sekali dan menghasilkan 50-300 nauplius. Nauplis tersebut akan menjadi dewasa setelah berusia 14 hari, dan siap untuk berkembang biak (Mudjiman, 1995).

2.2.5 Penggunaan *Artemia salina* sebagai Hewan Uji

Artemia salina digunakan pada metode BSLT sebagai hewan uji dengan alasan spesies ini memiliki kesamaan dengan mamalia. Kesamaan tersebut yaitu tipe DNA-dependent RNA polimerase yang dimiliki oleh *A. salina* sama dengan mamalia. Sebagaimana fungsi DNA- dependent RNA polimerase yaitu untuk pembentukan

protein dan protein merupakan komponen utama semua sel. Sehingga ketika DNA-dependent RNA polimerase dihambat maka tidak akan terjadi pembukaan pilinan DNA menjadi RNA, hal itu menyebabkan tidak terjadi juga penerjemahan kodon pada tiap-tiap kodon yang ada pada RNA tersebut sehingga tidak dapat terbentuk protein baru. Penghentian pembentukan protein ini akan menyebabkan gangguan metabolisme dan pada akhirnya menyebabkan kematian sel (Panjaitan, 2011). Seperti manusia, *A. salina* juga berespon terhadap stresor di lingkungan (Gajardo, 2012).

2.3 Taurin

Taurin merupakan asam amino bebas yang sangat banyak terdapat dalam jaringan, seperti otot jantung dan otak. Pada manusia, taurin berfungsi mempertahankan keseimbangan sel membran pada jaringan yang aktif (Patel, 2006). Menurut Marsh dan May (2009), taurin merupakan senyawa non- esensial bagi nutrisi manusia karena secara internal dapat disintesis dari asam amino metionin atau sistein serta piridoksin (Vitamin B6). Senyawa ini sangat diperlukan saat masa pertumbuhan. Taurin sering dijumpai dalam susu murni, telur, daging dan ikan. Selain itu, taurin juga banyak ditemukan pada produk-produk suplemen makanan dan minuman. Tubuh membentuk taurin di dalam hati yang diikuti dengan reaksi oksidasi dari dekarboksilasi asam amino sistein. Taurin berperan sebagai salah satu zat stimulan yang dapat memicu stamina tubuh. Oleh karena itu, penggunaan taurin dalam suplemen energi sering kali ditemukan. Taurin adalah suatu antioksidan yang sangat kuat sehingga dapat menahan kerusakan DNA pada konsentrasi yang rendah (Putri, dkk., 2013).

Menurut Eilertsen, dkk. (2012), taurin memiliki peran dalam banyak fungsi fisiologis seperti neuromodulasi terhadap sistem saraf pusat, produksi energi, perlindungan pada oksidasi, dan immunomodulasi. Taurin juga diketahui mampu menetralkan asam hipoklorus, yang merupakan

substansi oksidasi, sehingga taurin dapat mengurangi kerusakan DNA yang disebabkan oleh senyawa amino aromatik. Selain itu, Ripps dan Shen (2012) menjelaskan bahwa taurin dikabarkan dapat melindungi tubuh dari toksisitas yang diakibatkan oleh induksi karbon tetraklorida serta memiliki kemampuan dalam memodifikasi komponen-komponen penyebab kerentanan terhadap bahan kimia beracun.

Berdasarkan penelitian Agata, dkk. (2016), penggunaan taurin diketahui dapat memperbaiki sel hepar mencit yang rusak akibat induksi benzo(α)piren dengan efek pemulihan 1–25%. Benzo(α)piren mampu membentuk radikal bebas di dalam tubuh dan dapat menurunkan kemampuan antioksidan sehingga hal tersebut akan menyebabkan terjadinya stres oksidatif. Benzo(α)piren yang diinduksi pada mencit menyebabkan pembengkakan sel hepar. Pemberian taurin pada penelitian ini terbukti dapat mengurangi lipid peroksida pada hepar. Selain itu, pada penelitian tersebut juga menunjukkan bahwa taurin berpengaruh pada penurunan berat badan mencit dikarenakan taurin mampu meregenerasi sel hepatosit yang rusak dengan cepat sehingga sel tersebut dapat diganti dengan sel yang baru dan menyebabkan proses metabolisme oleh hepar tetap berjalan dengan normal.

Taurin diketahui berpengaruh pada jumlah sel darah mencit yang diinduksi benzo(α)piren. Hal ini berdasarkan penelitian Maysa, dkk. (2016), yang menunjukkan bahwa pemberian taurin berdampak pada pemulihan jumlah sel darah, baik jumlah leukosit maupun eritrosit ke jumlah normal ataupun mendekati normal, yang sebelumnya mencit mengalami kanker darah. Mencit dikatakan mengalami kanker darah karena jumlah leukosit pada mencit terbilang tinggi dan lebih dari jumlah normal, sedangkan jumlah eritrosit yang rendah dan kurang dari jumlah normal setelah diinduksi benzo(α)piren. Oleh karena itu, penggunaan taurin tersebut dikatakan mampu menghambat ataupun mengurangi kondisi kanker darah pada mencit.

2.4 Kanker

Kanker merupakan penyakit yang ditimbulkan oleh pertumbuhan sel-sel jaringan tubuh yang tidak normal. Sel-sel kanker bertumbuh dengan cepat, tak terkendali, dan terus membelah diri, lalu menembus jaringan di sekitarnya dan terus menyebar lewat jaringan ikat, darah, serta menyerang organ-organ penting dan saraf tulang belakang. Pada keadaan normal, sel kanker hanya akan berkembang biak jika terdapat pergantian sel-sel yang telah mati ataupun rusak. Sebaliknya, sel kanker akan berkembang biak secara terus menerus meskipun tubuh tidak memerlukannya, sehingga hal tersebut menyebabkan terjadinya penumpukan sel baru. Penumpukan sel ini merusak jaringan normal dan akhirnya akan mengganggu organ yang ditempati sel tersebut (Mangan, 2009).

Kanker tidak menunjukkan adanya gejala pada stadium awal. Gejala kanker akan muncul setelah berkembang menjadi besar dan menekan organ-organ disekitarnya. Selain itu, terdapat beberapa gejala yang umumnya jika dibiarkan dalam waktu yang lama akan semakin buruk, antara lain sebagai berikut.

1. Adanya tonjolan yang tumbuh dan membesar pada permukaan kulit
2. Seringnya terjadi pendarahan yang tidak normal seperti flek atau pendarahan di luar siklus menstruasi, batuk berdarah, ataupun mimisan
3. Sering merasa nyeri yang semakin memburuk dan sulit untuk diobati
4. Mengalami demam secara terus menerus
5. Terjadi perubahan pada kebiasaan buang air kecil ataupun buang air besar
6. Terjadi perubahan pada warna kulit tubuh maupun wajah yang menetap, seperti warna kuning, merah, dan cokelat)
7. Berat badan turun secara signifikan di atas 10 kg dalam waktu yang singkat dengan alasan yang tidak jelas (Tim CancerHelps, 2010).

2.5 Toksisitas

Toksisitas adalah kemampuan yang dimiliki oleh bahan pangan atau zat kimia dalam memberikan efek toksik pada jangka waktu tertentu karena

adanya interaksi kimia dalam tubuh secara fisiologis. Menurut ilmu kedokteran, pengujian toksisitas perlu dilakukan pada bahan obat, baik pada bahan yang sifatnya spesifik maupun alternatif seperti obat herbal dalam single dose. Pengujian toksisitas merupakan pengujian suatu bahan pangan untuk menentukan faktor resiko dan ambang batas konsumsi yang hasilnya akan dijadikan acuan ketika diuji pada manusia. Penentuan ambang toksisitas tersebut sangat penting dilakukan guna memberikan informasi acuan dalam penentuan dosis bahan pangan atau suatu obat tertentu (Niruri dan Wirasuta, 2006).

Zat kimia yang memiliki sifat beracun (toksik) diartikan sebagai zat yang memiliki potensi dalam memberikan efek bahaya terhadap mekanisme biologi tertentu terhadap suatu organisme. Sifat toksik tersebut dapat ditentukan oleh dosis, konsentrasi racun pada reseptor “tempat kerja”, sifat zat tersebut, kondisi bioorganisme, paparan terhadap organisme ataupun bentuk efek yang ditimbulkan. Sehingga jika terdapat penggunaan istilah toksik atau toksisitas, maka perlu untuk mengidentifikasi mekanisme biologi di mana efek berbahaya itu timbul. Toksisitas merupakan keadaan suatu zat kimia yang bersifat relatif dalam kemampuannya menghadirkan efek berbahaya atau penyimpangan mekanisme biologi pada suatu organisme (Niruri & Wirasuta, 2006).

2.6 Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)

Metode BSLT merupakan salah satu metode yang telah banyak digunakan untuk skrining senyawa antikanker baru yang asalnya dari tanaman dan telah terbukti memiliki hubungan dengan aktivitas antikanker (Meyer, dkk., 1982). Metode BSLT digunakan sebagai uji pendahuluan dalam penyaringan senyawa antikanker dari bahan alam menggunakan larva udang dari *Artemia salina*. Beberapa senyawa aktif yang berhasil diisolasi dan dikontrol aktivitasnya menggunakan metode ini menunjukkan adanya relasi terhadap suatu uji spesifik antitumor. Jika senyawa tersebut dinyatakan memiliki aktivitas sitotoksik terhadap larva *A. salina* dengan

metode BSLT, maka selanjutnya dapat dilakukan pengujian terhadap sel kanker (Suzery dan Cahyono, 2014; Dirgantara, dkk., 2018). Uji bioaktivitas dengan metode BSLT menggunakan larva udang *A. salina* memiliki beberapa keunggulan, yaitu waktu uji yang cepat, tidak membutuhkan alat-alat khusus, sederhana (tanpa teknik aseptik), tidak membutuhkan biaya yang besar, jumlah organisme yang berlimpah, memenuhi keperluan validasi statistik hanya dengan sampel yang sedikit, hasil yang didapat bersifat representatif dan dapat dipercaya (Meyer, 1982).

Metode BSLT dapat digunakan untuk melihat kemampuan toksik terhadap sel (sitotoksik) dari suatu senyawa yang berasal dari ekstrak tanaman dengan penggunaan larva udang *Artemia salina*. Kelebihan metode ini dari segi hewan uji yaitu larva udang memiliki kulit tipis dan peka terhadap lingkungan sehingga tak jarang digunakan dalam uji toksisitas. Larva udang yang sensitif akan mati jika senyawa tanaman yang digunakan bersifat toksik (Kanwar, 2007). Uji toksisitas dengan menggunakan metode BSLT dimaksudkan untuk menentukan potensial suatu senyawa sebagai racun dengan mengetahui tingkat toksisitas dari suatu ekstrak, seperti ekstrak mangrove (Puspitasari, dkk., 2018).

2.7 LC₅₀

LC₅₀ (*lethal concentration*) merupakan jumlah dosis atau konsentrasi ekstrak uji yang dapat memicu kematian larva udang sebesar 50% setelah masa inkubasi selama 24 jam. Senyawa dengan nilai LC₅₀ < 1000 ppm diduga sebagai suatu senyawa aktif (Meyer, 1982). Menurut Priyanto (2010), LD₅₀ atau LC₅₀ diartikan sebagai dosis atau konsentrasi yang diberikan sekali (tunggal) atau beberapa kali dalam 24 jam dari suatu zat yang secara statistik diharapkan dapat mematikan 50% hewan coba. Nilai LC₅₀ digunakan untuk pengujian ketoksikan dengan perlakuan terhadap hewan uji secara berkelompok yaitu ketika hewan uji terkena suatu bahan kimia lewat udara maka hewan uji tersebut akan menghirupnya atau

percobaan toksisitas dengan media air. Nilai LC_{50} dapat digunakan dalam penentuan tingkat efek toksik suatu senyawa sehingga nilai ini dapat juga digunakan untuk memprediksi potensi suatu senyawa sebagai antikanker (Jelita, dkk., 2020).

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2022 – Maret 2023 yang bertempat di Laboratorim Biomolekuler dan Laboratorium Botani Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung. Determinasi sampel dilakukan di Laboratorium Botani Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung. Pembuatan ekstrak etanol *Halimeda opuntia*, uji fitokimia dan pengujian toksisitas ekstrak etanol *Halimeda opuntia* dilakukan di Laboratorium Biomolekuler Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung.

3.2 Alat dan Bahan

Adapun alat-alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain pada pembuatan ekstrak menggunakan oven untuk pengeringan makroalga, blender untuk menggiling makroalga yang akan diujikan, corong sebagai alat pembantu dalam penyaringan, gelas beaker sebagai wadah penyimpanan ekstrak, rotary evaporator untuk membuat konsentrasi ekstrak menjadi lebih pekat, dan neraca analitik digunakan pada proses penimbangan. Pada uji fitokimia digunakan tabung reaksi sebagai wadah sampel uji, rak tabung reaksi untuk menyimpan tabung reaksi yang digunakan, micropipet sebagai alat pemindah larutan, gelas beaker sebagai wadah penyimpanan sampel, pipet tetes sebagai alat pemindah larutan, dan microtips sebagai wadah larutan yang diambil. Sedangkan pada uji kuantitatif fitokimia digunakan *vortex*, *magnetic stirrer*, labu takar, kuvet, dan autoklaf. Pada penetasan larva *Artemia salina* digunakan beberapa alat

dalam pembuatan akuarium yaitu wadah kaca, lakban, *styrofoam*, aerator, kayu triplek dan lampu. Pada uji BSLT menggunakan neraca analitik untuk menimbang bahan yang diperlukan, spatula untuk mengambil sampel, tabung reaksi dan gelas beaker sebagai wadah larutan, pipet tetes untuk memindahkan larva.

Adapun bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain makroalga *Halimeda opuntia* yang diperoleh dari perairan Pantai Dollar Beach Pidada, Kecamatan Ketapang, Lampung Selatan, Now Foods Taurine Pure Powder yang diperoleh dari toko Treenatural, Kab. Bogor, telur *A. salina*, air laut, akuades, etanol, asam asetat glasial, asam sulfat, kloroform, Kalium Iodida (KI), Raksa(II) klorida ($HgCl_2$), serbuk Mg, Asam Klorida (HCl) pekat, Besi(III) Klorida ($FeCl_3$).

3.3 Prosedur Penelitian

3.3.1 Pembuatan simplisia dan ekstraksi *Halimeda opuntia*

Makroalga *Halimeda opuntia* yang digunakan sebagai bahan penelitian didapat dari Pantai Dollar Beach Pidada, Kecamatan Ketapang, Lampung Selatan. Sebelum dihaluskan menjadi simplisia, makroalga *H. opuntia* dibersihkan terlebih dahulu. Setelah itu, *H. opuntia* yang telah bersih dikeringkan menggunakan oven dengan suhu $50^{\circ}C$ lalu dihaluskan menggunakan blender. Kedua perlakuan tersebut dilakukan di Laboratorium Biomolekuler Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung. *H. opuntia* yang telah menjadi serbuk simplisia tersebut dihitung beratnya dan disimpan pada suhu kamar.

Ekstraksi senyawa bioaktif dari serbuk simplisia *Halimeda opuntia* dilakukan sesuai dengan penelitian Marlis (2008) yang dimodifikasi. Serbuk simplisia *H. opuntia* dan etanol 70% dimasukkan ke dalam gelas beaker sebagai wadah maserasinya dengan perbandingan 1:10. Kemudian didiamkan selama tiga hari

pada suhu ruang dan tempat yang jauh dari cahaya matahari. Dalam waktu tiga hari tersebut, dilakukan pengadukan beberapa kali terhadap campuran serbuk simplisia dengan etanol 70%. Hal ini dimaksudkan agar pelarut etanol tercampur seluruhnya hingga ke permukaan simplisia. Kemudian residu dicuci dengan etanol. Setelah itu, dilakukan pemisahan filtrat beserta ampas simplisia dengan cara diendapkan dan disaring menggunakan kertas saring dan corong yang sudah disterilkan. Filtrat yang didapat kemudian di simpan di dalam labu erlenmeyer dan ditutup menggunakan plastic wrap. Ampas simplisia kemudian dimaserasi kembali hingga mendapat larutan dengan warna agak bening. Filtrat yang didapat selanjutnya dimasukkan ke dalam rotary evaporator pada suhu 40°C agar tekstur filtrat menjadi lebih pekat. Selanjutnya, ekstrak etanol *H. opuntia* disimpan ke dalam oven suhu 40°C agar ekstrak tersebut mengandung pelarut etanol dalam volume yang kecil atau sedikit, hingga ekstrak menjadi pasta dan dapat digunakan untuk pengujian selanjutnya.

3.3.2 Uji Fitokimia

Untuk mengetahui kandungan senyawa bioaktif yang terdapat pada ekstrak etanol *Halimeda opuntia*, dilakukan pengujian fitokimia yang mengacu pada penelitian yang dilakukan oleh Tasmin, dkk. (2014). Uji fitokimia tersebut meliputi pemeriksaan saponin, steroid, terpenoid, tanin, alkaloid, dan flavonoid. Prosedur kerja uji fitokimia ekstrak etanol *H. opuntia* dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Prosedur uji fitokimia

Jenis Uji	Perlakuan	Indikator (+)
Saponin	0,5 mL sampel + 5 mL akuades, kemudian dikocok selama 30 detik	Terbentuk busa
Steroid	0,5 mL sampel + 0,5 mL asam asetat glacial + 0,5 mL H ₂ SO ₄	Warna larutan berubah menjadi biru atau ungu
Terpenoid	0,5 mL sampel + 0,5 mL asam asetat glacial + 0,5 mL H ₂ SO ₄	Warna larutan 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 dan ditambahkan 0,271 g HgCl ₂ hingga larut)	Warna larutan putih kecokelatan
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

3.3.3 Penetasan Larva *Artemia salina*

Untuk menetasakan larva *Artemia salina*, perlakuan dilakukan di dalam akuarium berbahan kaca. Akuarium dibagi menjadi dua bagian, yaitu bagian terang dan bagian gelap yang ditutupi dengan lakban hitam dan dibatasi dengan *styrofoam*. Bagian tepi bawah *styrofoam* diberi lubang sebagai jalan agar telur yang sudah menetas dapat keluar melalui lubang tersebut. Untuk bagian akuarium yang gelap, sisi atas diletakkan *styrofoam* dan diberi lakban hitam seluruh sisinya. Setelah itu, akuarium diisi air laut dengan salinitas 35 ppt yang didapat dari Balai Besar Perikanan Budidaya Laut Lampung. Air laut dituang sebanyak 7 liter.

Pada bagian akuarium yang gelap, ditempatkan sebanyak 700 mg telur *Artemia salina*, lalu ditutup dengan *styrofoam* yang telah dilapisi lakban hitam. Pada bagian akuarium yang terang, diletakkan lampu neon di bagian atas dengan maksud merangsang penetasan larva dan dipasang aerator yang berfungsi untuk memberi oksigen pada larva-larva yang menetas tersebut. Kemudian didiamkan selama 24 jam lalu diamati hasilnya. Larva yang berusia 48 jam kemudian dapat digunakan sebagai hewan uji pada uji BSLT.

3.3.4 Uji Toksisitas dengan Metode BSLT

Menurut Kanwar (2007), metode BSLT digunakan untuk melihat kemampuan toksik terhadap sel (sitotoksik) dari suatu senyawa yang berasal dari ekstrak tanaman dengan penggunaan larva udang *Artemia salina* sebagai hewan uji. Pada penelitian ini, dilakukan uji toksisitas dengan metode BSLT menurut Meyer, dkk. (1982). Uji ini dilakukan untuk melihat kemampuan toksik senyawa yang terdapat pada ekstrak etanol *H. opuntia* dan taurin. Untuk langkah awal pengujian, diambil masing-masing dari ekstrak etanol *H. opuntia* dan taurin sebanyak 0,2 g untuk dilarutkan ke dalam 200 ml etanol 70%. Perlakuan tersebut menghasilkan larutan stok dengan konsentrasi sampel 2000 ppm.

Pada uji toksisitas dengan metode BSLT digunakan satu kontrol dan empat perlakuan untuk masing-masing sampel uji, yaitu ekstrak etanol *H. opuntia* dan taurin. Kontrol berisi air laut dan ragi, tanpa sampel uji. Perlakuan pertama (P1) yaitu tabung uji berisi 0,25 ml sampel uji yang diambil dari larutan stok, air laut, dan ragi. Perlakuan kedua (P2) yaitu tabung uji berisi 0,625 ml sampel uji yang diambil dari larutan stok, air laut, dan ragi. Perlakuan ketiga (P3) yaitu tabung uji berisi 1,25 ml sampel uji

yang diambil dari larutan stok, air laut, dan ragi. Perlakuan keempat (P4) yaitu tabung uji berisi 2,5 ml sampel uji yang diambil dari larutan stok, air laut, dan ragi.

Pengujian dilakukan dengan menambahkan ekstrak etanol *H. opuntia* dan taurin ke dalam tabung uji dengan jumlah yang telah ditentukan. Setelah itu ditambahkan 2,5 ml air laut dan satu tetes ragi (3 mg/5 ml) ke dalam masing-masing tabung uji. Selanjutnya dimasukkan sebanyak 10 larva *A. salina* berumur 48 jam menggunakan pipet tetes. Setiap tabung uji dicukupkan volumenya hingga 5 ml. Berdasarkan perlakuan tersebut, didapat masing-masing perlakuan yang diujikan yaitu P1 dengan konsentrasi 100 ppm, P2 dengan konsentrasi 250 ppm, P3 dengan konsentrasi 500 ppm, dan P4 dengan konsentrasi 1000 ppm. Setiap perlakuan dibuat sebanyak 5 kali pengulangan dan seluruhnya diinkubasi selama 24 jam. Sesudah 24 jam, dapat dihitung kematian larva pada setiap tabung uji menggunakan bantuan kaca pembesar serta bantuan sinar pencahayaan. Kematian larva dapat dilihat berdasarkan bergerak atau tidaknya larva pada tabung uji. Jumlah kematian larva tersebut yang akan digunakan dalam penentuan nilai LC_{50} .

Selanjutnya dilakukan pengujian kembali pada taurin dan ekstrak etanol *Halimeda opuntia* menggunakan konsentrasi dari nilai LC_{50} yang telah diketahui pada uji sebelumnya. Pengujian dilakukan dengan membuat 3 kelompok perlakuan untuk membandingkan pengaruh dari masing-masing larutan uji yang digunakan. Ketiga kelompok perlakuan tersebut ialah sebagai berikut.

1. Taurin; yaitu tabung uji berisi sampel uji yang diambil dari larutan stok taurin, dimasukkan sebanyak 10 larva *Artemia salina* berumur 48 jam, ditambahkan air laut hingga volume tabung uji mencapai 5 ml, dan ditambahkan satu tetes ragi (3 mg/5 ml)

2. Ekstrak etanol *H. opuntia*; yaitu tabung uji berisi sampel uji yang diambil dari larutan stok ekstrak etanol *H. opuntia*, dimasukkan sebanyak 10 larva *Artemia salina* berumur 48 jam, ditambahkan air laut hingga volume tabung uji mencapai 5 ml, dan ditambahkan satu tetes ragi (3 mg/5 ml)
3. Campuran dari taurin ekstrak etanol *H. opuntia*; yaitu tabung uji berisi sampel uji yang diambil dari larutan stok taurin dan larutan stok ekstrak etanol *H. opuntia*, dimasukkan sebanyak 10 larva *Artemia salina* berumur 48 jam, ditambahkan air laut hingga volume tabung uji mencapai 5 ml, dan ditambahkan satu tetes ragi (3 mg/5 ml)

Seluruh perlakuan tersebut dilakukan dengan 5 kali pengulangan dan didiamkan selama 24 jam. Sesudah 24 jam, dihitung kematian larva pada setiap tabung uji dengan bantuan kaca pembesar serta bantuan sinar pencahayaan. Kematian larva dapat dilihat berdasarkan bergerak atau tidaknya larva yang diamati. Jumlah kematian larva tersebut digunakan untuk melihat pengaruh masing-masing larutan uji pada setiap kelompok perlakuan terhadap kematian larva *A. salina*.

3.4 Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan yang digunakan pada penelitian ini ialah rancangan acak lengkap faktorial. Uji toksisitas dengan metode BSLT yang dilakukan terdiri dari kontrol dan 2 faktor yaitu ekstrak etanol *Halimeda opuntia* dan taurin. Pada uji tersebut digunakan faktorial 2x4, yaitu kedua faktor percobaan terdiri atas 4 tingkat konsentrasi uji antara lain 100 ppm, 250 ppm, 500 ppm, 1000 ppm dan dilakukan pengulangan sebanyak 5 kali.

Pada uji lanjutan terhadap taurin dan ekstrak etanol *Halimeda opuntia* menggunakan konsentrasi dari nilai LC_{50} yang telah diketahui pada uji sebelumnya, dibuat sebanyak 3 kelompok perlakuan yaitu sebagai berikut.

1. Taurin dengan konsentrasi dari nilai LC_{50} yang telah diketahui pada uji sebelumnya
2. Ekstrak etanol *H. opuntia* dengan konsentrasi dari nilai LC_{50} yang telah diketahui pada uji sebelumnya
3. Campuran dari taurin dan ekstrak etanol *H. opuntia* dengan konsentrasi dari masing-masing nilai LC_{50} yang telah diketahui pada uji sebelumnya

3.5 Analisis Data

3.5.1 Uji Fitokimia

Uji fitokimia dilakukan secara kualitatif dengan menggunakan larutan pereaksi yang sesuai untuk menunjukkan hasil positif pada setiap sampel beruba ada tidaknya endapan, busa, ataupun perubahan warna larutan. Data yang didapat dianalisis secara deskriptif.

3.5.2 Uji toksisitas dengan metode BSLT

Analisis data hasil uji toksisitas dengan metode BSLT dilakukan menggunakan aplikasi SPSS. Data yang didapat berupa hasil perhitungan persentase mortalitas larva *Artemia salina* pada setiap konsentrasi dengan perhitungan sebagai berikut.

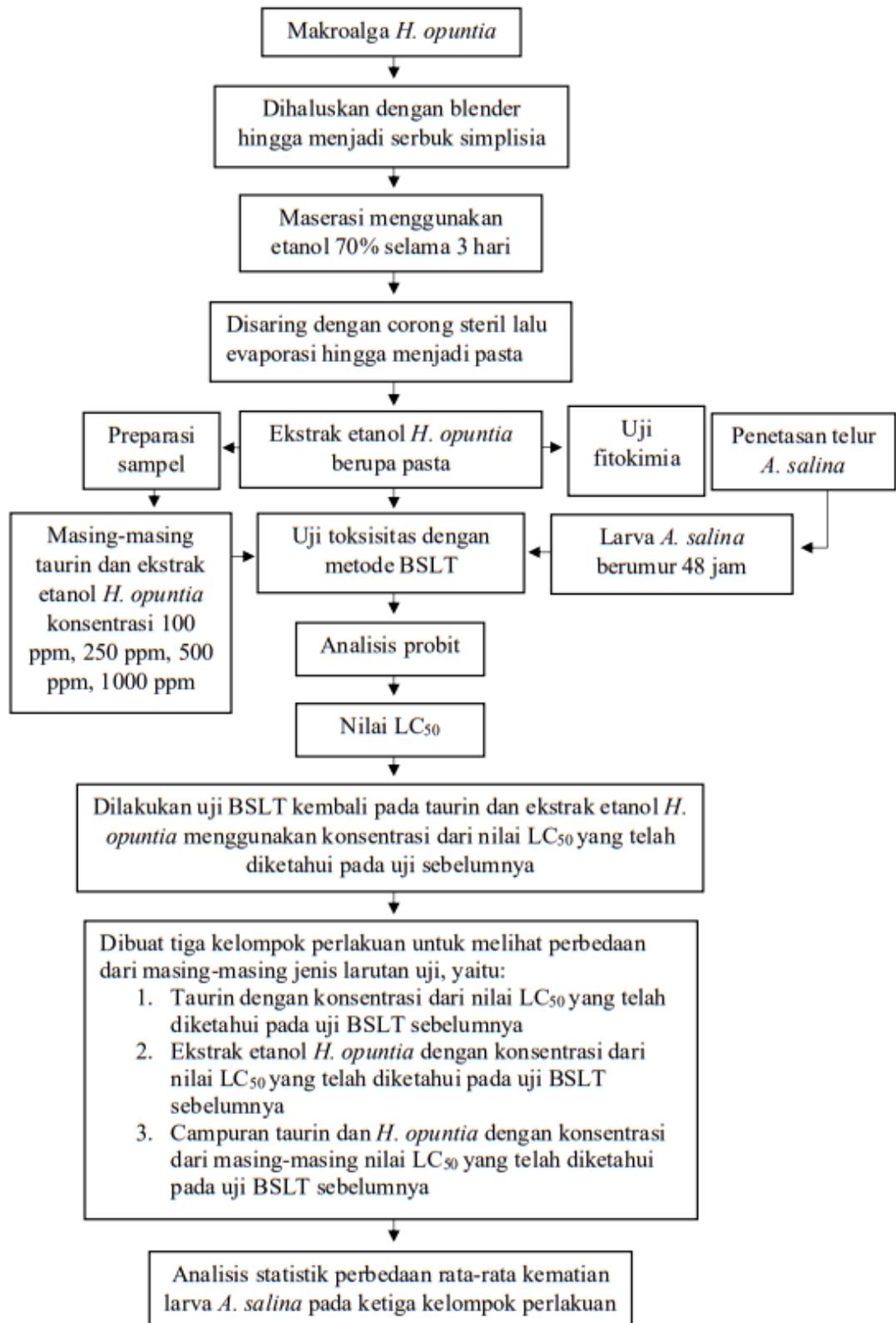
$$\% \text{ kematian larva} = \frac{\text{Jumlah larva mati}}{\text{Jumlah larva total}} \times 100\%$$

Data dianalisis menggunakan analisis probit. Pembuatan grafik berisi persamaan garis lurus antara nilai probit dan log konsentrasi uji. Nilai LC_{50} dihitung dengan memasukkan nilai 5 (probit 50% dari kematian larva *A. salina*) sebagai y. Ketika $y = 5$ maka nilai x akan menjadi log konsentrasi dan nilai LC_{50} yang muncul ialah antilog dari nilai x tersebut. Menurut Meyer, dkk. (1982), suatu ekstrak memiliki aktivitas ketoksikan dalam uji toksisitas jika

ekstrak tersebut mampu menyebabkan kematian 50% hewan uji pada konsentrasi < 1000 ppm.

Data yang didapat pada uji lanjutan terhadap taurin dan ekstrak etanol *Halimeda opuntia* dengan konsentrasi dari nilai LC_{50} yang telah diketahui pada uji sebelumnya, dianalisis menggunakan uji *One Way ANOVA* pada aplikasi SPSS untuk melihat hubungan jenis larutan uji terhadap kematian larva *Artemia salina*. Selanjutnya dianalisis perbedaan antar kelompok perlakuan menggunakan uji *Least Significant Difference (LSD)* untuk melihat pengaruh jenis larutan uji terhadap kematian larva.

3.6 Diagram Alir



Gambar 4. Diagram alir

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil yang diperoleh, dapat diambil kesimpulan sebagai berikut.

1. Taurin memiliki sifat toksik dengan nilai $LC_{50} < 1000$ ppm, yaitu sebesar 311,360 ppm, sehingga dikatakan berpotensi sebagai senyawa sitotoksik terhadap larva *Artemia salina*.
2. Ekstrak etanol *Halimeda opuntia* memiliki sifat toksik dengan nilai $LC_{50} < 1000$ ppm, yaitu sebesar 260,928 ppm, sehingga dikatakan berpotensi sebagai senyawa sitotoksik terhadap larva *Artemia salina*.
3. Terdapat perbedaan yang signifikan terhadap rata-rata kematian larva *Artemia salina* antara larutan campuran dengan larutan taurin 311 ppm dan antara larutan campuran dengan larutan *Halimeda opuntia* 260 ppm. Tidak terdapat perbedaan kematian larva *Artemia salina* antara larutan taurin 311 ppm dengan larutan *Halimeda opuntia* 260 ppm.

5.2 Saran

1. Perlu adanya pengujian lebih lanjut terhadap ekstrak etanol *Halimeda opuntia* dengan mengisolasi senyawa bioaktif yang terkandung di dalamnya untuk mengetahui potensinya sebagai senyawa sitotoksik.
2. Perlu dilakukan uji lanjutan yang bertujuan untuk melihat pengaruh ekstrak etanol *Halimeda opuntia* terhadap sel kanker, baik pada hewan maupun manusia.

DAFTAR PUSTAKA

- Agata, A., Widiastuti, E. L., Susanto, G. N., Sutyarso. 2016. Respon Histopatologis Hepar Mencit (*Mus musculus*) yang Diinduksi Benzo(α)Piren terhadap Pemberian Taurin dan Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata*). *Jurnal Natur Indonesia*. 16(2): 54–6.
- Amna, U., Halimatussakdiah. 2016. Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Alkaloid dari Tumbuhan *Alseodaphne peduncularis* (Wall. Ex. Ness) Meissn (Medang Hitam) serta Uji Sitotoksik terhadap Sel HeLa (Kanker Servik). *Jurnal Ilmiah JURUTERA*. 3(2).
- Cahyadi, R. 2009. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Buah Pare (*Momordica charantia* L.) Terhadap Larva *Artemia salina* Leach Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BST). Skripsi. Semarang: Universitas Diponegoro.
- Darfiah, D. 2022. *Bioaktivitas dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktif Ekstrak Rumput laut Sargassum cinctum, Halimeda opuntia, Halymenia venusta Dari Pulau Lae Lae*. Thesis. Universitas Hasanuddin.
- Dirgantara, S., Rosye, H. R. T., Hendra K. M., Meiyanto. 2018. Cytotoxic Activity and Phytochemical Analysis of *Breynia cernua* from Papua. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*. 1(1).
- Doughari, J. H. 2012. Phytochemicals: extraction methods, basic structures and mode of action as potential chemotherapeutic agents. In: phytochemicals – A global perspective of their role in nutrition and health. Ed ke-5. Kroasia (UK): Rao. InTech.

- Eilertsen, K., R. Larsen., H. K. Maehre., I. Jensen., dan E. O. Elvevoll. 2012. Anticholesterolemic and antiatherogenic effects of taurine supplementation is model dependent. *Lipoproteins – Role in Health and Diseases*. 269-288.
- Feng, X., Weng, D., Zhou, F., Owen, Y. D., Qin, H., Zhao, J., WenYu., Huang, Y., Chen, J., Fu, H., Yang, N., Chen, D., Li, J., Tan, R., Shen, P. 2016. Activation of PPAR γ by a Natural Flavonoid Modulator, Apigenin Ameliorates Obesity-Related Inflammation Via Regulation of Macrophage Polarization. *EBioMedicine*. 9: 61–76.
- Gajardo, G. M., dan Beardmore, J. A. 2012. *The brine shrimp Artemia: adapted to critical life conditions*. Chile: Frontiers in Physiology.
- Gazali, M., Nurjanah, Zamani, N, P. 2019. The Screening of Green Algae *Halimeda opuntia* (Linnaeus) as an Antioxidant from the Coast of West Aceh. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*. 24(3): 267– 272.
- Golbeck, J., Fragoso, G., Hartel, F., Hendler, J., Oberthaler, J., Parsia, B. 2011. The national Cancer institute’s thesaurus and ontology. *Web semantic: Science, Services and Agents on the World Wide Web*. 1(1).
- Gusungi, D. E., Wilmar, M., Hariyadi., Nerni, O, P. 2020. Studi Aktivitas Antioksidan Dan Antikanker Payudara (MCF-7) Ekstrak Etanol Daun Benalu Langsung *Dendrophthoe pentandra*. *Jurnal Biofarmasetikal Tropis*. 3(1): 166-174.
- Harborne, 2000. *Metode Fitokimia, Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, ITB, Bandung.
- Hikmah, N. 2018. Perbedaan pertumbuhan *Artemia salina* akibat pemberian variasi dosis pakan jus pupa ulat sutera (*Samia cynthia*). Diploma thesis. Universitas Negeri Malang.
- Hudaifah, I., Dewi, M., Arfiati, U, U. 2020. Komponen Bioaktif dari *Euchema cottonii*, *Ulva lactuca*, *Halimeda opuntia*, dan *Padina australis*. *Jurnal Ilmu Perikanan dan Kelautan*. 2(2).

- Jelita, S. F., Gita, W. S., Michelle, F., Ade, Z., Sandra, M. 2020. Uji Toksisitas Infusa *Acalypha siamensis* dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *Farmaka*. 18(1).
- Jenie, R. I., Amalina, N. D., Ilmawati, G. P. N., Utomo, R. Y., Ikawati, M., Khumaira, A., Kato, J. Y., Meiyanto, E. 2019. Cell cycle modulation of CHO-K1 cells under genistein treatment correlates with cells senescence, apoptosis and ROS level but in a dose-dependent manner. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*., 9. *Jurnal Oseana*. 29(4) hal: 25-36.
- Kadi, A. 2004. Potensi Rumput Laut di Beberapa Perairan Pantai Indonesia.
- Kanwar, A. S. 2007. Brine Shrimp (*Artemia salina*) a Marine Animal for Simple and Rapid Biological Assays. *Chinese Clinical Medicine*. 2(4): 35-42.
- Kartikasari, N. E. 2008. Uji Toksisitas Ekstrak Daun Awar-awar (*Ficus septica* Burm F) terhadap *Artemia salina* Leach dan Profil Kromatografi Lapis Tipis. Skripsi. Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Kementerian Kelautan dan Perikanan. 2016. Petunjuk Teknis Budidaya *Artemia*. <https://kkp.go.id/djpb/artikel/41671-petunjuk-teknis-budidaya-artemia> (diakses pada 9 Januari 2023)
- Langoy, Marnix L.D., Saroyo, Farha N.J. Dapas. 2011. Deskripsi Alga Makro Di Taman Wisata Alam Batuputih, Kota Bitung. *Jurnal Ilmiah Sains*. 11(2).
- Mangan, Y. 2009. *Solusi sehat mencegah & mengatasi kanker*. Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Marlis, A. 2008. Isolasi Oligosakarida Ubi Jalar (*Ipomoea batatas* (L)) dan Pengaruh Pengolahan terhadap Potensi Prebiotik. Tesis. Bogor: Institusi Pertanian Bogor.
- Mayakun, J., Kim, J. H., Lapointe, B. E., Parthep, A. 2012. Gametangial characteristic in the sexual reproduction of *Halimeda macroloba* Decaisne (Chlorophyta: Halimedaceae). *Songklanakarinn Journal Science Technology*. 34(2): 211-216.

- Maysa, A., Widiastuti, E. L., Nurcahyani, N., Busman, H. 2016. Uji Senyawa Taurin Sebagai Antikanker Terhadap Jumlah Sel-Sel Leukosit Dan Sel-Sel Eritrosit Mencit (*Mus musculus* L.) yang Diinduksi Benzo (A) Pyren Secara In Vivo. *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*. 16(2): 68-75.
- Meiyanto, E., Hermawan, A., Anindyajati. 2012. Natural products for cancer-targeted therapy: Citrus flavonoids as potent chemopreventive agents. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. 13: 427–436.
- Meriam, W. P. M., Kepel, R. C., Lumingas, L. J. 2016. Inventarisasi Makroalga Di Perairan Pesisir Pulau Mantehage Kecamatan Wori, Kabupaten Minahasa Utara, Provinsi Sulawesi Utara. *Jurnal Ilmiah Platax*. 4(2): 2302-3589.
- Meyer, B, N., Ferrigni, N, R., Putnam, J, E., Jacobsen, L, B., Nichols, D, E., dan McLaughin, J, L. 1982. Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituent. *Planta Medica*. 45:31-34.
- Meyer, H.N. 1982. *Brine Shrimp Lethality Test*. *Med. Plant Research*. 45(3).
- Mishra, J, K., Srinivas, T., Madhusudan, T., Sawhney, S. 2016. Antibacterial activity of seaweed *Halimeda opuntia* from the coasts of South Andaman. *Global Journal of Bio-science and Biotechnology*. 5(3): 345–348.
- Mudjiman, A. 1995. *Makanan Ikan*. Jakarta: PT. Penerbit Swadaya.
- Niruri dan Wirasuta. 2006. *Toksikologi Umum*. Bandung: Universitas Udayana.
- Panjaitan, R. B. Uji toksisitas akut ekstrak kulit batang pulasari (*Alyxia cortex*) dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BST). [Skripsi]. Yogyakarta: Universitas Sanata Dharma; 2011.
- Nuraini, N., Ilyas, A., & Novianty, I. 2015. Identifikasi dan Karakterisasi Senyawa Bioaktif Antikanker dari Ekstrak Etanol Kulit Batang Kayu Bitti (*Vitex cofassus*). *Al-Kimia*, 3(2), 15-27.
- Patel, S. 2006. *Taurin and energy drink: meant to be or doomed*. Nashville: Psychology Department, Vanderbilt Universty.

- Perez, M. J., Elena, F., Herminia, D. 2016. Antimicrobial Action of Compounds from Marine Seaweed. *Marine Drugs*. 14(3).
- Potu, Valensia Valeria., Dintje F. Pendong, dan Mokusuli Yermia Samuel. 2021. *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) Ekstrak Sarang Lebah Madu (*Apis dorsata* Binghami). *Jurnal Pendidikan Biologi Undiksha*. 8(3).
- Priyanto. 2010. *Toksikologi Ed:2*. Depok: Leskonfi Lembaga Studi dan Konsultasi Farmakologi.
- Puji L., Lantah., Lita A, D, Y., Montolalu., Albert R., dan Reo. 2017. Kandungan Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Rumpun Laut *Kappaphycus alvarezii*. *Jurnal Media Teknologi Hasil Perikanan*. 5(3).
- Purwantini, Indah., Erna Prawita Setyowati dan Triana Hertiani. 2002. Uji Toksisitas Ekstrak Etanol : Buah, Biji, Daun Makutadewa (*Phaleria macrocarpa* (Scheff.)Boerl.) terhadap *Artemia salina* Leach dan Profil Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Aktif. *Majalah Farmasi Indonesia*. 13(2): 101-106
- Purwanto, N., Rismawati, E., Sadiyah, E. R. 2015. Uji Sitotoksik Ekstrak Biji Salak (*Salacca zalacca* (Gaert) Voss) dengan Menggunakan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *Prosiding Farmasi*. 1(2).
- Puspita, E. V., Susanto, G. N., Sumardi., Widiastuti, E. L. 2016. Pengaruh Taurin Terhadap Aktivitas Enzim Superoksida Dismutase, Malondialdehid dan Histologi pada Hati Mencit (*Mus musculus*) Jantan yang Diberi Herbisida Glifosat. *NATURAL B*. 3(3).
- Puspitasari, E., Rozirwan, Hendri, M. 2018. Uji Toksisitas dengan Menggunakan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) Pada Ekstrak Mangrove (*Avicennia marina*, *Rhizophora mucronata*, *Sonneratia alba* dan *Xylocarpus granatum*) yang Berasal dari Banyuasin, Sumatera Selatan. *Jurnal Biologi Tropis*. 18(1).

- Putri, R. M. S., Nurjanah., Kustiariyah, T. 2013. Sinergis Taurin Lintah Laut (*Discodoris* sp.) dan Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) dalam Serbuk Minuman Fungsional. *JPHPI*. 16(1).
- Raineri, M. 1981. Histochemical Localization of Chitin in Larvae of *Artemia salina* Leach (Phyllopoda). *Italian Journal of Zoology*. 48(2): 139 -141.
- Ripps, H. dan W. Shen. 2012. Taurin: A Very Essential Amino Acid. *Molecular Vision*. 18:2673-2686.
- Rizki, N. R. 2010. Uji Toksisitas terhadap *Artemia salina* Leach. dan Toksisitas Akut Komponen Bioaktif *Pandanus conoideus* Var. *Conoideus* Lam. sebagai Kandidat Antikanker. Skripsi. Universitas Sebelas Maret.
- Rolliana, E. R. 2010. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Kamboja (*Plumeria alba* L) Terhadap Larva *Artemia salina* Leach dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)*. Skripsi. Semarang: Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
- Romimohtarto, K., Juwana, S. 2001. *Biologi Laut Ilmu Pengetahuan Tentang Biota Laut*. Jakarta: Pusat Penelitian dan Pengembangan Oseanologi-LIPI.
- Romimohtarto, K., Juwana, S. 2001. *Biologi Laut Ilmu Pengetahuan Tentang Biota Laut*. Jakarta: Pusat Penelitian dan Pengembangan Oseanologi-LIPI.
- Shahidi, F., Naczk, M. 1995. *Food Phenolics*. Basel (CH): Lancaster.
- Shobir, H., Triastinurmiatiningsih., Ismanto. 2019. Keanekaragaman Jenis Makroalga yang Berpotensi Sebagai Bahan Obat di Perairan Pantai Cidatu Kabupaten Pandeglang. *Ekologia: Jurnal Ilmiah Ilmu Dasar dan Lingkungan Hidup*. 19(2).
- Smayda, R. 2002. Contemporary review of therapeutic benefits of the amino acid taurin. *The Journal of Biological Chemistry*. 257(6): 2802–2805.
- Sumiarsa, D., Rani, M., Achmad, Z. 2018. Penerapan Informasi Mengenai Bumbu Dapur Sebagai Bahan Aktif Antioksidan Pencegah Kanker Di Desa Cileles-Jatinangor. *Jurnal Pengabdian Kepada Masyarakat*. 2(9).

- Suryaningrum TD. 2008. Teripang: potensinya sebagai bahan nutraceutical dan teknologi pengolahannya. *Squalen*. 3(2): 63-69.
- Suzery, M., dan Cahyono, B. 2014. Evaluation of Cytotoxicity Effect of *Hyptis pectinata* Poit (Lamiaceae) extracts using BSLT and MTT methods. *Jurnal Sains Dan Matematika*. 22(3), 84-88.
- Tasmin, N., Erwin., Kusuma, I. W. 2014. Isolasi, Identifikasi dan Uji Toksisitas Senyawa Flavonoid Fraksi Kloroform dari Daun Terap (*Artocarpus odoratissimus* Blanco). *Jurnal Kimia Mulawarman*. 12(1).
- Tim CancerHelps. 2010. *Stop Kanker: Panduan Deteksi Dini & Pengobatan Menyeluruh Berbagai Jenis Kanker*. Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Wasonga, A., and Olendi, R. 2018. Effect of different Salinity levels on the Hatchability and Survival of Brine Shrimp, *Artemia salina* (Linnaeus, 1758) from Malindi, Kenya. *African Journal of Education, Science and Technology* 3(4), PP 1-5. Retrieved from <https://ajest.info/index.php/ajest/article/view/3> (diakses pada 19 Desember 2022).
- Zhou, Q., Xu, H., Yu, W., Li, E., Wang, M. 2019. Anti-inflammatory effect of an apigenin-maillard reaction product in macrophages and macrophage-endothelial cocultures. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*.