UJI POTENSI LAMUN *Cymodocea rotundata* DAN MAKROALGA *Padina australis* SERTA TAURIN SEBAGAI ANTIKANKER SECARA *IN VITRO* MELALUI METODE BSLT (*BRINE SHRIMP LETHALITY TEST*) DAN KULTUR SEL MCF-7 (KANKER PAYUDARA)

(Tesis)

Oleh

FATIMAH ALHAFIZOH
NPM 2220041011

PROGRAM STUDI MAGISTER MANAJEMEN WILAYAH PESISIR DAN LAUT
PASCASARJANA
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2024

ABSTRAK

UJI POTENSI LAMUN *Cymodocea rotundata* DAN MAKROALGA *Padina australis* SERTA TAURIN SEBAGAI ANTIKANKER SECARA *IN VITRO* MELALUI METODE BSLT (*BRINE SHRIMP LETHALITY TEST*) DAN KULTUR SEL MCF-7 (KANKER PAYUDARA)

Oleh

FATIMAH ALHAFIZOH

Prevalensi kanker payudara di Indonesia mengalami peningkatan setiap tahunnya. Terapi pengobatan yang umumnya digunakan seperti kemoterapi dan radioterapi seringkali menimbulkan efek samping yang tidak diinginkan bagi pasien. Oleh karena itu, perlu dilakukan eksplorasi produk alami sebagai alternatif pengobatan yang lebih aman untuk mengatasi kanker payudara. Bahan alam laut seperti lamun *Cymodocea rotundata* dan makroalga *Padina australis* diketahui mengandung senyawa aktif metabolit sekunder yang berpotensi sebagai antikanker dan tersebar luas di perairan pesisir Lampung. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis efek sitotoksik ekstrak etanol *Cymodocea rotundata* dan *Padina australis* terhadap larva *Artemia salina* dan kultur sel kanker payudara MCF-7, serta taurin. Uji toksisitas dilakukan dengan metode *Brine Shrimp Lethality* (BSLT) pada *Artemia salina* dengan konsentrasi ekstrak 62,5; 125; 250; 500; 1000; dan 2000 ppm, dilanjutkan dengan uji pada sel kanker payudara MCF-7 pada konsentrasi yang sama. Uji aktivitas antioksidan juga dilakukan dengan metode DPPH pada konsentrasi 50; 75; 100; 125; dan 150 ppm. Hasil penelitian menunjukkan bahwa *Cymodocea rotundata* dan *Padina australis* mengandung senyawa bioaktif seperti saponin, steroid, tanin, alkaloid, dan flavonoid. Aktivitas sitotoksik menggunakan BSLT menunjukkan bahwa taurin, ekstrak etanol *Cymodocea rotundata* dan *Padina australis* termasuk dalam kategori toksik rendah dengan nilai LC_{50} > 100 ppm. Namun pada penelitian sitotoksik dengan menggunakan MCF-7 ekstrak etanol lamun *Cymodocea rotundata* dan makroalga *Padina australis* tidak menunjukkan efektivitas terhadap *cell line* MCF-7, aktivitas sitotoksik ekstrak tersebut menunjukkan nilai IC_{50} > 1000 ppm yaitu 1219,72 ppm dan 1189,59 sedangkan taurin tidak menunjukkan adanya aktivitas sitotoksik.

Kata Kunci : *Cymodocea rotundata*, *Padina australis*, taurin, sel MCF-7, antikanker.

ABSTRACT

TEST THE POTENTIAL OF SEAGRASS *Cymodocea rotundata* AND MACROALGAE *Padina australis* AND TAURINE AS ANTICANCER IN VITRO THROUGH BSLT METHOD (BRINE SHRIMP LETHALITY TEST) AND MCF-7 CELL CULTURE (BREAST CANCER*)*

By

FATIMAH ALHAFIZOH

The prevalence of breast cancer in Indonesia has increased every year. Commonly used treatment therapies, such as chemotherapy and radiotherapy, often cause unwanted side effects for patients. Therefore, it is necessary to explore natural products as a safer alternative treatment for breast cancer. Marine natural materials such as seagrass *Cymodocea rotundata* and macroalgae *Padina australis* are known to contain active compounds of secondary metabolites that have potential as anticancer agents and are widely distributed in the coastal waters of Lampung. This study aims to analyze the cytotoxic effects of ethanol extracts of *Cymodocea rotundata* and *Padina australis* on *Artemia salina* larvae and MCF-7 breast cancer cell cultures, as well as taurine. Toxicity tests were carried out using the Brine Shrimp Lethality (BSLT) method on *Artemia salina* with extract concentrations of 62.5; 125; 250; 500; 1000; and 2000 ppm, followed by tests on MCF-7 breast cancer cells with the same concentrations. An antioxidant activity test was also conducted with the DPPH method at concentrations of 50; 75; 100; 125; and 150 ppm. The results showed that *Cymodocea rotundata* and *Padina australis* contain bioactive compounds such as saponins, steroids, tannins, alkaloids, and flavonoids. Cytotoxic activity using BSLT shows that taurine, ethanol extracts of *Cymodocea rotundata* and *Padina australis* are included in the low toxic category with LC_{50} values > 100 ppm. However, in cytotoxic research using MCF-7, ethanol extracts of seagrass *Cymodocea rotundata* and macroalgae *Padina australis* did not show effectiveness against the MCF-7 cell line. The cytotoxic activity of these extracts showed IC_{50} values > 1000 ppm, namely 1219.72 ppm and 1189.59 ppm, while taurine did not show any cytotoxic activity.

Keywords: Cymodocea rotundata, Padina australis, taurine, MCF-7 cells, anticancer.

UJI POTENSI LAMUN *Cymodocea rotundata* DAN MAKROALGA *Padina australis* SERTA TAURIN SEBAGAI ANTIKANKER SECARA *IN VITRO* MELALUI METODE BSLT (*BRINE SHRIMP LETHALITY TEST*) DAN KULTUR SEL MCF-7 (KANKER PAYUDARA)

Oleh

FATIMAH ALHAFIZOH

Tesis

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
MAGISTER SAINS

Pada

Program Studi Magister Manajemen Wilayah Pesisir dan Laut
Pascasarjana Universitas Lampung

PROGRAM STUDI MAGISTER MANAJEMEN WILAYAH PESISIR DAN LAUT
PASCASARJANA
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2024

Judul Tesis	: **UJI POTENSI LAMUN *Cymodocea rotundata* DAN MAKROALGA *Padina australis* SERTA TAURIN SEBAGAI ANTIKANKER SECARA *IN VITRO* MELALUI METODE BSLT (*BRINE SHRIMP LETHALITY TEST*) DAN KULTUR SEL MCF-7 (KANKER) PAYUDARA)**
Nama Mahasiswa	: **Fatimah Alhafizoh**
Nomor Pokok Mahasiswa	: 2220041011
Program Studi	: Magister Manajemen Wilayah Pesisir dan Laut
Fakultas	: Pascasarjana Multidisiplin

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing,

Endang Linirin Widiastuti, Ph.D.	Dr. Nunung Nurcahyani, M.Sc.
NIP. 196106111986032001	NIP. 196603051991032001

2. Ketua Program Studi Manajemen Wilayah Pesisir dan Laut
   Universitas Lampung

Dr. Supono, S.Pi., M.Si.
NIP. 197010022005011002

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

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

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

   Penguji
   Bukan Pembimbing : Dr. Eng. Ni Luh Gede Ratna Juliasih, M.Si. .....

   Anggota : Dr. Endah Setyaningrum, M. Biomed. .....

2. Direktur Pascasarjana Universitas Lampung

   Prof. Dr. Ir. Murhadi, M.Si.
   NIP. 196403261989021001

Tanggal Lulus Ujian Tesis: 16 Mei 2024

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan dengan sebenarnya bahwa:

1. Tesis dengan judul: ***"UJI POTENSI LAMUN Cymodocea rotundata DAN MAKROALGA Padina australis SERTA TAURIN SEBAGAI ANTIKANKER SECARA IN VITRO MELALUI METODE BSLT (BRINE SHRIMP LETHALITY TEST) DAN KULTUR SEL MCF-7 (KANKER PAYUDARA)"*** adalah karya saya sendiri dan saya tidak melakukan penjiplakan atau pengutipan atas karya penulis lain dengan cara yang tidak sesuai dengan etika ilmiah yang berlaku dalam masyarakat akademik atau yang disebut plagiarisme.
2. Hak intelektual atas karya ini diserahkan sepenuhnya kepada Universitas Lampung.

Atas pernyataan ini, apabila di kemudian hari ternyata ditemukan adanya ketidakbenaran, saya bersedia menanggung akibat dan sanksi yang diberikan kepada saya, saya bersedia dan sanggup dituntut sesuai dengan hukum yang berlaku.

Bandar Lampung, 7 Juni 2024
Yang membuat pernyataan,

Fatimah Alhafizoh
NPM. 2220041011

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Bandar Lampung pada tanggal 18 April 1999, dari pasangan Bapak Hafizotu Al Huda dan Ibu Yosi Arnita, S.Pd. sebagai anak pertama dari empat bersaudara.

Pendidikan yang ditempuh penulis di awali dari Taman Kanak-kanak Al Kautsar Bandar Lampung tahun 2004 – 2005. Setelah itu penulis melanjutkan pendidikan dasar di SDN 1 Rajabasa Raya Bandar Lampung tahun 2005 – 2011. Penulis melanjutkan pendidikan di SMP Al Kautsar Bandar Lampung pada tahun 2011 – 2014 dan pendidikan di SMA Al Kautsar Bandar Lampung pada tahun 2014 – 2017. Pada tahun 2017 penulis resmi terdaftar sebagai mahasiswa Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung melalui jalur masuk SNMPTN dan meraih gelar Sarjana Sains pada tahun 2021. Selanjutnya penulis melanjutkan studi pada Program Studi Magister Manajemen Wilayah Pesisir dan Laut, Universitas Lampung pada tahun 2022.

MOTTO

"Janganlah kamu bersikap lemah dan janganlah kamu bersedih hati, padahal kamulah orang-orang yang paling tinggi derajatnya jika kamu beriman."

(Q.S. Ali Imran: 139)

"Sesungguhnya Allah tidak akan mengubah keadaan suatu kaum, sebelum mereka mengubah keadaan diri mereka sendiri."

(Q.S. Ar Rad: 11)

"Dan bersabarlah kamu, sesungguhnya janji Allah adalah benar"

(Q.S. Ar Rum: 60)

"Apapun yang menjadi takdirmu akan mencari jalannya menemukanmu."

- Ali bin Abi Thalib

"Hidup ini bagai tesis, banyak bab dan revisi yang harus dilewati. Tapi akan selalu berakhir indah, bagi yang pantang menyerah"

PERSEMBAHAN

Segala puji bagi Allah SWT,
Tuhan Yang Maha Esa
Tiada yang Maha Pengasih dan Maha Penyayang selain Engkau. Limpahan cinta dan kasih sayang-Mu telah memberikan kekuatan. Perjalanan penuh perjuangan serta tantangan berhasil kutempuh atas karunia dan kemudahan dari-Mu, sehingga aku mampu menyelesaikan Tesis yang sederhana ini dengan baik.

Kupersembahkan karya sederhana ini kepada:

Ayah dan Ibunda Tercinta
Karya kecil penuh jerih payah dan perjuanganku ini ku persembahkan kepada ***Ayahanda Hafizotu Al Huda*** *serta* ***Ibunda Yosi Arnita, S.Pd.*** *sebagai tanda bakti, hormat dan terimakasihku yang tiada terhingga. Terimakasih atas cinta dan kasih sayang yang kalian berikan, atas ridho, doa, dukungan, serta motivasi yang tiada terputus. Semoga karyaku ini merupakan salah satu jalan untuk aku membuat Ayah dan Ibu bahagia.*

Para Dosen
Terkhusus kepada Ibu Endang Linirin Widiastuti, Ph.D & Ibu Dr. Nuning Nurcahyani, M.Sc. selaku Pembimbing Tesis saya. Terimakasih atas ilmu pengetahuan, arahan, nasehat, dan dukungan yang telah diberikan selama ini

Para Sahabat dan Teman-teman Seperjuanganku Magister MWPL 2022
Atas tawa, tangis, motivasi, perjuangan serta kenangan manis yang telah kita lalui bersama-sama.

Almamater '"Program Studi Magister Manajemen Wilayah Pesisir dan Laut, Fakultas Pascasarjana, Universitas Lampung"

Tanpa adanya mereka, karya ini tak pernah tercipta

SANWACANA

Puji syukur penulis ucapkan kehadirat Tuhan Yang Maha Esa, karena atas rahmat dan hidayah-Nya tesis ini dapat diselesaikan. Tesis dengan Judul ***"Uji Potensi Lamun Cymodocea rotundata dan Makroalga Padina australis serta Taurin sebagai Antikanker secara In Vitro melalui Metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test) dan Kultur Sel MCF-7 (Kanker Payudara)"*** adalah salah satu syarat untuk memperoleh gelar Magister Sains di Universitas Lampung.
Dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Ayah dan ibu tercinta, Bapak Hafizotu Al Huda dan Ibu Yosi Arnita, S.Pd. yang telah mendidik serta membesarkan penulis dengan penuh kasih sayang, atas segala doa, dukungan, motivasi dan nasehat dari segi moral, spiritual, maupun materi kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini dengan baik.
2. Ibu Prof. Dr. Ir. Lusmeilia Afriani, D.E.A., I.P.M. selaku Rektor Universitas Lampung;
3. Bapak Prof. Dr. Ir. Murhadi, M.Si., selaku Direktur Pascasarjana Universitas Lampung;
4. Bapak Dr. Supono, S.Pi., M.Si., selaku Ketua Prodi Magister Manajemen Wilayah Pesisir dan Laut;
5. Ibu Endang Linirin Widiastuti, Ph.D., selaku pembimbing utama atas kesediaannya untuk meluangkan waktu dan pikiran dalam membimbing, memberikan ide, saran dan kritik pada penulis dari awal perencanaan penelitian sampai penyelesaian penyusunan tesis ini;
6. Ibu Dr. Nuning Nurcahayani, M.Sc. selaku pembimbing kedua atas kesediaannya untuk meluangkan waktu dan pikiran dalam membimbing,

7. memberikan ide, saran dan kritik pada penulis dari awal perencanaan penelitian sampai penyelesaian penyusunan tesis ini;
8. Ibu Dr. Eng. Ni Luh Gede Ratna Juliasih, M.Si. selaku pembahas utama, terimakasih atas masukan, saran, dan nasihat yang membantu penulis dalam penyelesaian tesis ini menjadi lebik baik;
9. Ibu Dr. Endah Setyaningrum, M. Biomed, selaku pembahas kedua, terimakasih atas masukan, saran, dan nasihat yang membantu penulis dalam penyelesaian tesis ini sehingga dapat terselesaikan dengan baik;
10. Seluruh Bapak dan Ibu dosen serta staff administrasi Pascasarjana Universitas Lampung yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu. Tanpa mengurangi rasa hormat penulis, terimakasih atas ilmu pengetahuan dan segala bantuan yang telah diberikan pada penulis selama menempuh pendidikan hingga selesainya tesis ini;
11. Sahabat tersayang Anisa Danyatul Afifa, S.Si. dan Nuri Oktavia, S.Si. yang memberikan tawa, semangat, dan kekuatan serta menjadi tempat penulis berkeluh kesah dan pemberi dukungan terbaik bagi penulis;
12. Muhammad Haris Fadhillah, yang telah menjadi tempat berkeluh kesah, terimakasih atas dukungan, doa, dan kasih sayang serta kesabaran yang telah diberikan sehingga penulis mampu menyelesaikan studi hingga akhir;
13. Keluarga besar Magister Manajemen Wilayah Pesisir dan Laut 2022 atas bantuan dan kerjasama selama perkuliahan, semangat, dukungan serta kenangan indah selama 2 tahun ini.

Semoga Allah SWT senantiasa membalas semua kebaikan yang telah diberikan sehingga besar harapan penulis semoga tesis ini dapat bermanfaat bagi penulis, pembaca, dan bagi pengembangan ilmu pengetahuan, Aamiin.

Bandar Lampung, 7 Juni 2024

Fatimah Alhafizoh

DAFTAR ISI

Halaman

DAFTAR TABEL vi

DAFTAR GAMBAR viii

I. PENDAHULUAN 1
1.1 Latar Belakang 1
1.2 Rumusan Masalah 5
1.3 Tujuan Penelitian 6
1.4 Manfaat Penelitian 6
1.5 Hipotesis 6
1.6 Kerangka Pikir 7

II. TINJAUAN PUSTAKA 8
2.1 Wilayah Pesisir 8
2.2 Bahan Alam Laut 9
2.3 Lamun 10
2.4 *Cymodocea rotundata* 11
2.4.1 Klasifikasi 11
2.4.2 Morfologi dan Anatomi 11
2.4.3 Kandungan Senyawa Aktif *C. rotundata* sebagai Antikanker .. 12
2.5 Makroalga 12
2.6 *Padina australis* 13
2.6.1 Deskripsi dan Klasifikasi 13
2.6.2 Morfologi dan Anatomi 13
2.6.3 Kandungan Senyawa Aktif *P. australis* sebagai Antikanker 15
2.7 Taurin 15
2.8 Kanker 17
2.9 Kanker Payudara 18
2.10 Sel MCF-7 20
2.11 Uji Toksisitas *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) 21
2.12 LC_{50} 22
2.13 Uji Sitotoksik 22
2.14 Hewan Uji *Artemia salina* Leach 24
2.14.1 Deskripsi dan Klasifikasi 24
2.14.2 Morfologi dan Siklus Hidup *Artemia* 25
2.14.3 Alasan Menggunakan *A. salina* 27

III. METODE PENELITIAN..... 29
3.1 Waktu dan Tempat..... 29
3.2 Alat dan Bahan 29
3.3 Jenis dan Rancangan Penelitian..... 30
3.4 Pelaksanaan Penelitian 32
3.4.1 Pembuatan Simplisia dan Ekstraksi Lamun dan Makroalga 32
3.4.2 Uji Fitokimia 32
3.4.3 Identifikasi Senyawa dengan FTIR (*Fourier-Transform Infrared Spectroscopy*)..... 34
3.4.4 Penetasan Larva *A. salina* Leach 34
3.4.5 Uji Toksisitas dengan Metode BSLT 35
3.4.6 Thawing Cell dan Pembuatan Media Kultur Sel MCF-7 35
3.4.7 Uji Viabilitas dan Perhitungan Sel..... 36
3.4.8 Uji Sitotoksik dengan Metode WST-8 (2-(2-methoxy-4-nitrophenyl)-3-(4-nitrophenyl)-5-(2,4-disulphophenyl)- 2H-tetrazolium, monosodium salt) 36
3.4.9 Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH 37
3.4.9.1 Pembuatan Larutan Stok DPPH 0,4 mM 37
3.4.9.2 Pengukuran Serapan Larutan Blanko DPPH Panjang Gelombang Maksimum 38
3.4.9.3 Pembuatan Larutan Stok dan Pengukuran Aktivitas Antioksidan Ekstrak..... 38
3.4.9.4 Pembuatan Larutan Standar dan Pengukuran Aktivitas Antioksidan Vitamin C (Asam Askorbat) sebagai Kontrol Positif……..... 39
3.5 Analisis Data..... 39
3.5.1 Uji Fitokimia 40
3.5.2 Identifikasi Senyawa dengan FTIR (*Fourier-Transform Infrared Spectroscopy*)..... 40
3.5.3 Uji Toksisitas dengan Metode BSLT 40
3.5.4 Uji Sitotoksik Sel MCF-7..... 41
3.5.5 Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH 41
3.6 Diagram Alir Penelitian..... 43

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....44
4.1 Ekstraksi Lamun *C. rotundata* dan Makroalga *P. australis* 44
4.2 Kandungan Fitokimia Ekstrak Etanol Lamun *C. rotundata* dan Makroalga *P. australis* 46
4.3 Analisis Gugus Fungsi Ekstrak Lamun *C. rotundata* dan Makroalga *P. australis* menggunakan FTIR 50
4.4 Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Lamun *C. rotundata*, Makroalga *P. australis*, dan Taurin 55

4.5 Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Lamun *C. rotundata*, Makroalga *P. australis*, dan Taurin dengan Metode BSLT 59
4.5.1 Hubungan Tingkat Kematian Larva *A. salina* dengan Konsentrasi Perlakuan 65
4.6 Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etanol Lamun *C. rotundata*, Makroalga *P. australis*, dan Taurin terhadap Kultur Sel MCF-7 (Kanker Payudara)..... 68
4.6.1 Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etanol *C. rotundata* terhadap Kultur Sel MCF-7 70
4.6.2 Uji Sitotoksik Ekstrak Etanol *P. australis* terhadap Kultur Sel MCF-7..... 73
4.6.3 Uji Sitotoksik Taurin terhadap Kultur Sel MCF-7 75
4.6.4 Uji Sitotoksik Kontrol Obat (Doxorubicin) terhadap Kultur Sel MCF-7..... 78

V. KESIMPULAN DAN SARAN..... 85
5.1 Kesimpulan 85
5.2 Saran 85

DAFTAR PUSTAKA..... 87

LAMPIRAN 101

DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 1. Prosedur Pengujian Fitokimia. 33

Tabel 2. Hasil Ekstraksi Sampel Lamun *C. rotundata* dan Makroalga *P. australis* 47

Tabel 3. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Etanol Lamun *C. rotundata* dan Makroalga *P. australis* secara Kualitatif. 46

Tabel 4. Data FT-IR Ekstrak Etanol Lamun *C. rotundata* dan Makroalga *P. australis* 51

Tabel 5. Hasil Persen Inhibisi Uji terhadap DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). 56

Tabel 6. Data Hasil Uji Toksisitas Ekstrak Lamun *C. rotundata,* Makroalga *P. australis,* dan Taurin 62

Tabel 7. Hasil persentase viabilitas sel MCF-7 69

Tabel 8. Hasil absorbansi dan perhitungan IC_{50} ekstrak etanol *Cymodocea rotundata* terhadap sel MCF-7 110

Tabel 9. Hasil absorbansi dan hasil perhitungan IC_{50} ekstrak etanol *Padina australis* terhadap sel MCF-7 110

Tabel 10. Hasil absorbansi dan hasil perhitungan IC_{50} taurin terhadap sel MCF-7 111

Tabel 11. Hasil absorbansi dan hasil perhitungan IC_{50} Doxorubicin terhadap sel MCF-7 111

Tabel 12. Hasil uji normalitas pada mortalitas larva 112

Tabel 13. Hasil uji Kruskal-Wallis mortalitas larva 112

Tabel 14. Hasil uji lanjut Kruskal-Wallis terhadap mortalitas larva 113

Tabel 15. Hasil uji normalitas viabilitas sel MCF-7 115

Tabel 16. Hasil uji homogenitas viabilitas sel MCF-7 115

Tabel 17. Hasil uji Kruskal-Wallis viabilitas sel MCF-7 116

Tabel 18. Hasil uji lanjut Kruskal-Wallis terhadap viabilitas sel MCF-7 117

Tabel 19. Hasil uji normalitas aktivitas antioksidan 120

Tabel 20. Hasil uji Kruskal-Wallis terhadap inhibisi antioksidan 120

Tabel 21. Hasil uji lanjut Post Hoc Kruskal Wallis aktivitas antioksidan 121

DAFTAR GAMBAR

Halaman

Gambar 1. Kerangka Pikir Penelitian. 7

Gambar 2. Morfologi *C. rotundata* 11

Gambar 3. Morfologi *P. australis* 14

Gambar 4. Struktur Taurin..... 16

Gambar 5. Tahap Perkembangan *A. salina* Leach 26

Gambar 6. Morfologi *A. salina* Leach Dewasa 27

Gambar 7. Diagram Alir Penelitian. 43

Gambar 8. Hasil ekstraksi sampel lamun *C. rotundata* dan makroalga *P. australis* 45

Gambar 9. Spektrum FT-IR Ekstrak Etanol Lamun *C. rotundata* 52

Gambar 10. Spektrum FT-IR Ekstrak Etanol Makroalga *P. australis* 52

Gambar 11. Nilai IC_{50} 57

Gambar 12. Kurva aktivitas antioksidan (a) lamun *C. rotundata*, (b) makroalga *P. australis*, (c) taurin, dan (d) asam askorbat..... 58

Gambar 13. *A. salina* hidup (a) dan mati (b) 64

Gambar 14. Hubungan konsentrasi ekstrak etanol *C. rotundata* dengan mortalitas hewan uji 65

Gambar 15. Hubungan konsentrasi ekstrak etanol *P. australis* dengan mortalitas hewan uji 66

Gambar 16. Hubungan konsentrasi taurin dengan mortalitas hewan uji 66

Gambar 17. Grafik Regresi Hubungan Konsentrasi esktrak lamun *C. rotundata* (a), makroalga *P. australis* (b), dan taurin (c) dengan mortalitas larva *salina* 67

Gambar 18. Uji sitotoksik ekstrak etanol *C. rotundata* terhadap kultur sel MCF-7 70

Gambar 19. Morfologi sel MCF-7 pada kontrol sel dan perlakuan ekstrak etanol *C. rotundata* 72

Gambar 20. Uji sitotoksik ekstrak etanol *P. australis* terhadap kultur sel MCF-7 74

Gambar 21. Morfologi sel MCF-7 perlakuan ekstrak etanol *P. australis* 75

Gambar 22. Uji sitotoksik taurin terhadap kultur sel MCF-7 76

Gambar 23. Morfologi sel MCF-7 pada perlakuan Taurin 77

Gambar 24. Morfologi sel MCF-7 terhadap doxorubicin 78

Gambar 25. Grafik analisis regresi linear aktivitas sitotoksik Sel MCF-7 pada berbagai senyawa uji (A) *C. rotundata*, (B) *P. australis*, (C) Taurin, dan (D) Doxorubicin 80

Gambar 26. Sampel lamun *C. rotundata* (A), makroalga *P. australis* (B) 106

Gambar 27. Proses pengeringan sampel lamun dan makroalga 106

Gambar 28. Serbuk simplisia (A) dan proses maserasi ekstrak (B) 106

Gambar 29. Proses penyaringan ekstrak cari (A) dan ekstrak pasta (B) 106

Gambar 30. Hasil uji fitokimia saponin (A), steroid (B), terpenoid (C), tanin (D), alkaloid (E), flavonoid (F) ekstrak *C. rotundata* dan *P. australis* 107

Gambar 31. Proses penetasan larva *A. salina* (A), larutan sampel uji (B) 107

Gambar 32. Perlakuan hari ke-0 (A) dan perlakuan hari ke-1 (B) 107

Gambar 33. Hasil uji aktivitas antioksidan, kontrol positif (A), lamun *C. rotundata* (B), makroalga *P. australis* (C), dan taurin (D) 108

Gambar 34. Uji sitotoksik ekstrak lamun dan makroalga terhadap sel MCF-7 109

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Secara geografis, Indonesia terletak di kawasan Asia Tenggara dan diapit oleh Samudera Hindia dan Samudera Pasifik dan merupakan negera kepulauan. Jumlah pulau di Indonesia mencapai 17.504 dengan garis pantai yang panjangnya sekitar 108.000 km. Wilayah perairan laut Indonesia memiliki luas yang lebih besar daripada wilayah daratan berdasarkan Badan Informasi Geospasial dan Pusat Hidrologi dan Oseanografi TNI AL (2018). Menurut Peraturan Menteri Dalam Negeri Nomor 72 Tahun 2019, total luas perairan Indonesia adalah 6,4 juta km^2, sementara luas daratan Indonesia sebesar 1.916.906,77 km^2.

Data tersebut menunjukkan bahwa sekitar dua per tiga wilayah Indonesia terdiri dari wilayah lautan. Hal ini menjadikan Indonesia sering disebut sebagai negara *mega biodiversity* atau jantung keanekaragaman hayati dunia. Potensi keanekaragaman hayati pesisir dan laut di Indonesia juga sangat besar dan berperan penting dalam menjaga keberlanjutan ekosistem laut (Wahyudin & Mahipal, 2013). Berdasarkan ketentuan yang terdapat dalam Keputusan Menteri Kelautan dan Perikanan Nomor: KEP.10/MEN/2002, wilayah pesisir adalah area di mana ekosistem darat dan laut bertemu dan saling berinteraksi. Wilayah pesisir ini meliputi jarak sejauh 12 mil dari garis pantai untuk propinsi, serta sepertiga dari wilayah laut tersebut untuk kabupaten/kota, dan ke arah darat hingga batas administrasi kabupaten/kota.

Wilayah pesisir adalah daerah di mana lingkungan laut dan darat bertemu dan masih dipengaruhi oleh karakteristik laut dan proses alami di darat

(Sucahyowati & Hendrawan, 2020). Pesisir dan laut Indonesia memiliki potensi sumber daya alam serta keanekaragaman yang tinggi sehingga berperan penting bagi kehidupan. Pasokan nutrisi dari darat dan laut, serta sinar matahari yang mencukupi hingga ke dasar perairan di lingkungan pesisir, membuat daerah ini kaya akan nutrisi dan memiliki produktivitas primer dan sekunder yang tinggi (Meliala *et al*., 2016).

Daerah pesisir dan laut merupakan tempat yang kaya akan keanekaragaman biota laut dengan manfaat besar yang berguna untuk menopang kehidupan manusia. Ilmuwan telah mulai menjelajahi potensi sumber senyawa aktif yang terdapat pada biota laut, terutama lamun dan makroalga yang sering ditemukan di wilayah pesisir. Lamun dan makroalga mampu bertahan dalam lingkungan di mana berbagai predator dan beragam makhluk hidup yang berasosiasi. Hal ini disebabkan oleh adaptasi biokimia tertentu yang dimiliki oleh lamun dan makroalga tersebut. Adaptasi biokimia yang dilakukan oleh lamun dan alga ialah dengan cara menghasilkan senyawa metabolit sekunder. Meskipun tidak diperlukan untuk pertumbuhan, perkembangan, atau reproduksi secara teratur, zat-zat kimia ini diproduksi melalui jalur metabolisme sekunder dan memainkan peran penting dalam proses beradaptasi dengan lingkungan yang keras. Senyawa bioaktif ini memiliki potensi untuk digunakan dalam bidang farmasi, seperti yang telah disebutkan oleh (Subhashini *et al*., 2013).

Penyakit kanker menjadi masalah utama dalam bidang kesehatan yang prevalensinya terus meningkat setiap tahunnya. Kanker adalah kondisi penyakit dalam tubuh di mana adanya sel tubuh yang tumbuh dan berkembang secara tidak normal atau tidak terkendali (Bray *et al*., 2018). Data statistik Globocan dari tahun 2018 menunjukkan bahwa terdapat 18,1 juta kasus kanker, dengan angka kematian sebesar 9,6 juta. Di Asia Tenggara, Indonesia menduduki peringkat kedelapan (Kemenkes, 2019) dengan kanker payudara sebagai penyebab kematian terbanyak. Berdasarkan data Globocan 2020, Indonesia mencatat 68.858 kasus baru kanker payudara,

yang merupakan 16,6% dari total 396.914 kasus baru kanker. Lebih dari 22.000 orang telah meninggal akibat kanker payudara. Menurut sebuah studi Holleczek *et al*., pada tahun 2013, kanker payudara adalah penyakit yang paling umum di antara wanita Indonesia, dengan kanker serviks berada di urutan kedua. Sebagian besar pasien wanita yang menderita kanker payudara akan menjalani serangkaian prosedur operasi yang meliputi operasi, kemoterapi, dan radioterapi yang umum dilakukan untuk mengatasi kondisi tersebut. Meskipun operasi dapat dilakukan untuk mengangkat sebagian tumor kanker payudara, namun tidak dapat menjamin pengangkatan seluruh kanker secara menyeluruh. Kemoterapi dan radioterapi memiliki efek samping yang merusak jaringan normal selain sel kanker, sehingga perlu dilakukan pengaturan dosis obat dan radiasi agar jaringan sehat tidak terpengaruh secara berlebihan. Selain itu, pasien juga membutuhkan biaya yang besar (Vali *et al*., 2015). Untuk mengatasi masalah ini, diperlukan inovasi dalam pengembangan metode pengobatan kanker. Salah satu alternatif yang menarik adalah dilakukannya penelitian lebih lanjut terhadap bahan-bahan yang berasal dari alam yang memiliki potensi sebagai obat kanker payudara.

Potensi bahan alam laut sebagai sumber senyawa antikanker dapat ditemukan pada lamun dan makroalga. Senyawa antikanker yang diinginkan adalah yang memiliki toksisitas selektif, yang berarti mampu memusnahkan sel kanker tanpa mempengaruhi atau merusak sel normal lainnya (Kurnijasanti *et al*., 2008). Beberapa penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa lamun dan makroalga dapat menjadi sumber bahan baku obat potensial karena memiliki kandungan senyawa bioaktif yang tinggi. Permana *et al*., (2016) dalam hasil penelitiannya menunjukkan bahwa lamun jenis *Cymodocea* sp. mengandung berbagai fitokimia, termasuk senyawa saponin, steroid, flavonoid, dan fenol hidrokuinon, yang pada kadar tertentu dapat berpotensi toksis dan berakibat fatal bagi larva *Artemia salina*. Senyawa steroid atau terpenoid yang terdapat dalam lamun dikenal memiliki aktivitas antikanker dan antioksidan yang berpotensi dalam pengembangan obat-obatan. Penelitian yang dilakukan oleh

Widiastuti *et al*., (2021) menemukan bahwa ekstrak metanol dari lamun jenis *Enhalus acoroides* bersifat sitotoksik terhadap sel HeLa kanker serviks serta mampu menghambat proliferasi sel HeLa kanker serviks. Temuan ini menegaskan bahwa ekstrak metanol lamun *E. acoroides* memiliki potensi sebagai agen anti-kanker yang efektif.

Pada makroalga yaitu salah satunya alga cokelat *Padina australis* memiliki kandungan senyawa aktif yaitu fenol dan flavonoid, fukosantin, diatoksantin, diadinoksantin, klorofil a & c, dan β-karoten (Limantara & Heriyanto, 2010). Senyawa fukosantin diketahui memiliki efek sitotoksik yang dapat digunakan sebagai agen antikanker, sedangkan senyawa fenol dan turunannya diketahui memiliki sifat antibakteri dan antioksidan yang dapat digunakan untuk melawan infeksi dan melindungi tubuh dari kerusakan oksidatif (Kumar *et al*., 2013). Nursid *et al*., (2017) menemukan bahwa makroalga *P. australis* mengandung bahan kimia fucosantin, yang bersifat sitotoksik terhadap sel kanker payudara MCF-7. Selain itu, selain lamun dan makroalga, senyawa taurin juga memiliki sifat antikanker dan antioksidan yang dapat bermanfaat dalam pengobatan kanker. Taurin diindikasikan memiliki kemampuan antioksidan untuk mencegah kerusakan oksidatif pada efek induksi paraquat. Taurin juga dapat banyak ditemukan di hewan laut seperti ikan, cumi-cumi, kerang, siput dan tiram (Arifianti *et al.,* 2018)

Berdasarkan informasi yang telah diuraikan, dapat diketahui bahwa produk alam laut lamun dan makroalga khususnya *C. rotundata* dan *P. australis* memiliki sumber bioaktif dan struktur kimia yang beragam serta memiliki manfaat tidak menimbulkan efek samping dan harga yang lebih terjangkau untuk dijadikan sebagai bahan obat (Nuzaha & Muchtaridi, 2017). Perairan Kecamatan Teluk Pandan, Pulau Tegal Mas, Kabupaten Pesawaran menyediakan lamun dan makroalga yang dimanfaatkan. Uji toksikologi digunakan untuk mengetahui potensi aktivitas antikanker dari zat bioaktif (Setiadi, 2012). Uji toksisitas bertujuan untuk menentukan tingkat keamanan suatu senyawa atau untuk mengungkapkan potensi aktivitas antikanker yang

dimiliki oleh senyawa tersebut. Uji toksisitas akan diawali dengan uji secara *in vitro* terhadap *A. salina* Leach menggunakan metode *Brine Srimp Lethality Test* (BSLT), yaitu uji awal kemampuan sitotoksik dengan melihat daya tahan hewan uji, kemudian dilanjutkan dengan uji sitotoksik secara *in vitro* terhadap kultur sel kanker payudara (MCF-7 *human breast cancer*).

Penelitian ini bertujuan untuk mengeksplorasi potensi antikanker dari bahan bioaktif yang ada di daerah pesisir, khususnya lamun dan makroalga, sebagai sumber fitofarmaka dengan harapan dapat memberikan kontribusi positif dalam upaya pencegahan dan pengobatan kanker dengan mengurangi ketergantungan pada obat-obatan kimia. Selain itu, diharapkan bahwa penelitian ini juga akan memberikan dampak positif dalam meningkatkan kesadaran akan pentingnya menjaga ekosistem pesisir, baik bagi masyarakat pesisir maupun masyarakat umum. Dengan demikian, diharapkan bahwa peningkatan kesadaran ini akan mendorong upaya pelestarian sumber daya alam di wilayah pesisir, serta memperkuat sistem pengelolaan wilayah pesisir dan laut yang berkelanjutan dan berpihak pada kesejahteraan manusia.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian di atas, rumusan masalah dari penelitian ini yaitu:

1. Apa saja kandungan senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak lamun *C. rotundata* dan makroalga *P. australis* yang ditemukan dari perairan Pulau Tegal Mas, Kecamatan Teluk Pandan, Kabupaten Pesawaran?
2. Bagaimana potensi aktivitas toksisitas dari taurin dan ekstrak lamun *C. rotundata* dan makroalga *P. australis* terhadap larva *A. salina* L. melalui metode *Brine ShrimpLethality Test* (BSLT)?
3. Bagaimana efek sitotoksisitas dari pemberian taurin, ekstrak etanol lamun *C. rotundata,* dan makroalga *P. australis* terhadap kultur sel kanker payudara (MCF-7 *human breast cancer*)?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan urairan di atas, maka tujuan penelitian ini antara lain:

1. Menganalisis kandungan senyawa aktif ekstrak lamun *Cymdocea rotundata* dan makroalga *P. australis* di perairan Pulau Tegal Mas, Kecamatan Teluk Pandan, Kabupaten Pesawaran.
2. Menganalisis potensi antikanker dari taurin dan ekstrak lamun *C. rotundata* dan makroalga *P. australis* menggunakan uji pendahuluan dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT).
3. Menganalisis aktivitas sitotoksik taurin, ekstrak lamun *C. rotundata* dan makroalga *P. australis* terhadap kultur sel kanker payudara (*MCF-7 human breast cancer*) sehingga dapat dijadikan sumber *Marine natural product*

1.4 Manfaat Penelitian

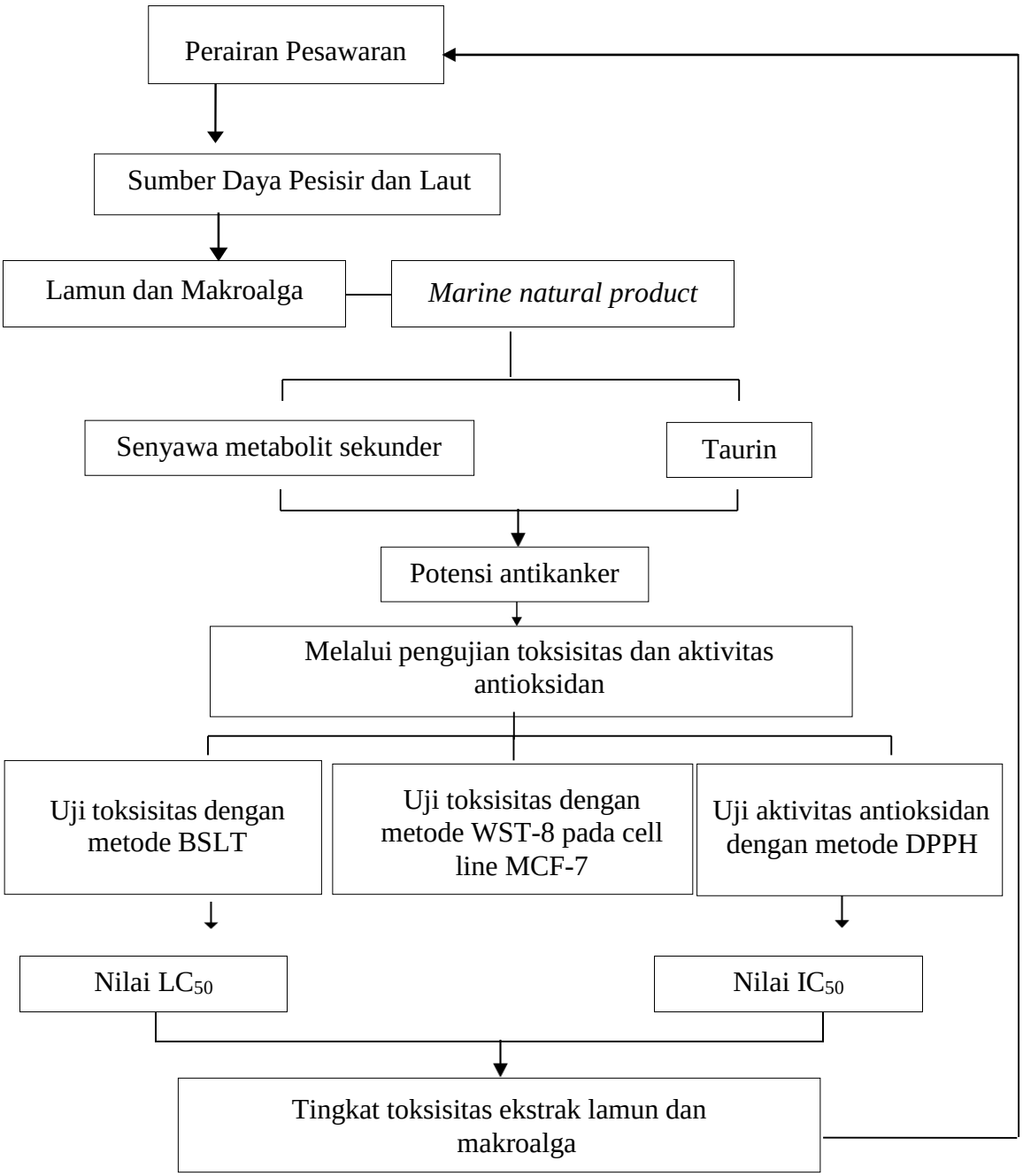
Adapun manfaat dari penelitian ini diharapkan dapat:

1. Menyediakan pengetahuan ilmiah dan informasi terbaru kepada mahasiswa dan masyarakat umum tentang penelitian dan penemuan senyawa aktif dalam *C. rotundata* dan *P. australis* sebagai bahan fitofarmaka untuk pengobatan antikanker yang tidak memiliki efek samping.
2. Meningkatkan kesadaran masyarakat pesisir dan sekitarnya terhadap pentingnya memelihara dan mengelola sumber daya pesisir dan laut, terutama yang terdapat di perairan Pulau Tegal Mas, Kecamatan Teluk Pandan, Kabupaten Pesawaran

1.5 Hipotesis Penelitian

Adapun hipotesis penelitian ini adalah ekstrak etanol lamun *C. rotundata* dan makroalga *P. australis* memiliki efek toksik terhadap larva *A. salina* L. dalam uji BSLT, demikian juga terhadap kultur sel kanker payudara MCF-7 secara *in vitro.*

1.6 Kerangka Pikir



Gambar 1. Kerangka Pikir Penelitian

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Wilayah Pesisir

Menurut UU No. 1 Tahun 2014 yang mengatur tentang perubahan atas UU No. 27 Tahun 2007 mengenai Pengelolaan Wilayah Pesisir dan Pulau-pulau Kecil, definisi dari wilayah pesisir yaitu daerah transisi antara ekosistem darat dan laut, sementara pulau-pulau kecil merujuk pada pulau yang memiliki luas wilayah kurang dari atau sama dengan 2000 km^2 beserta ekosistem yang menyertainya. Perairan pesisir didefinisikan sebagai laut yang berbatasan dengan daratan dan perairan sejauh 12 mil laut dari lepas pantai. Perairan ini mencakup perairan yang menghubungkan pantai dan pulau, muara, teluk, perairan dangkal, rawa-rawa payau, dan laguna (Herawati *et al*., 2019)

Tiga ekosistem penting dapat ditemukan di daerah pesisir yaitu ekosistem mangrove, lamun, dan terumbu karang. Ketiga ekosistem ini memiliki interaksi secara biologis dan fisik satu sama lain. Lingkungan mangrove secara fisik menghalangi aliran material dari daratan, sehingga menjaga kejernihan air saat memasuki ekosistem terumbu karang dan padang lamun. Demikian pula, ekosistem lamun berfungsi menjaga kejernihan air dengan bertindak sebagai perangkap sedimen. Dari segi biologis, ketiga ekosistem ini saling berhubungan karena berfungsi sebagai tempat berkembang biaknya berbagai biota laut. Penelitian Jaxion-Ham *et al*., (2012) menunjukkan bahwa ikan muda sering ditemukan di ekosistem lamun dan mangrove, sementara ikan dewasa lebih sering berada di terumbu karang. Ketiga ekosistem ini penting dalam menjaga keseimbangan ekologis wilayah pesisir.

2.2 Bahan Alam Laut

Indonesia memiliki kekayaan biota laut yang melimpah dan tak ternilai harganya. Dewasa ini banyak dilakukan penelitian tentang penemuan senyawa obat baru dari biota laut yang efektif dan efisien. Sumber daya alam pesisir dan laut dapat digunakan sebagai bahan dasar obat tradisional. Laut telah menyediakan banyak senyawa kimia yang berguna bagi kehidupan manusia, sehingga disebut sebagai sumber bahan alam. Untuk memenuhi tujuan mengeksplorasi bahan alami dan mendapatkan senyawa yang aktif secara biologis perlu dilakukan isolasi senyawa bertanggung jawab atas aktivitas tertentu. Untuk mengidentifikasi dan memisahkan bahan kimia aktif, senyawa pemandu, dan komponen dari bagian tertentu dari bahan alami, analisis senyawa kimia digunakan. Sifat fitokimia dapat digunakan untuk mengidentifikasi aktivitas biologis yang unik (Malau *et al*., 2023). Metabolit primer dan sekunder diproduksi oleh organisme laut di dalam air dan dianggap sebagai sumber daya alam laut. Semua biota laut memiliki metabolit primer yang diperlukan untuk pertumbuhannya, sedangkan metabolit sekunder adalah zat-zat non-esensial yang susunannya berbeda antar spesies (Julianto, 2019).

Sebagian besar organisme laut terorganisir dalam komunitas dengan keanekaragaman hayati tinggi dan produktif di pinggiran laut, seperti terumbu karang atau zona lepas pantai, daripada tersebar di seluruh lautan. Komunitas biologis ini seringkali menghadapi kondisi lingkungan yang keras, seperti radiasi UV, suhu, tekanan, dan salinitas. Organisme bentik yang tidak bergerak seperti makroalga, lamun, sponge, dan karang lunak bersaing ketat untuk mendapatkan sumber daya seperti ruang dan nutrisi. Oleh karena itu, kelangsungan hidup dan reproduksi organisme yang bersaing sangat tergantung pada kemampuan mereka untuk menghasilkan senyawa bioaktif metabolit sekunder. Senyawa bioaktif ini dapat berperan sebagai pertahanan kimia terhadap predator, memiliki efek antimikroba terhadap mikroba patogen, dan memiliki aktivitas antimikroba dan antifouling (Petersen *et al.*, 2020).

2.3 Lamun

Lamun adalah kelompok tumbuhan laut tingkat tinggi berbiji tertutup (Angiospermae) yang memiliki daun, bunga, akar sejati, batang menjalar di bawah permukaan tanah (rhizoma), dan selalu hidup terendam di laut yang memiliki salinitas tinggi. Ekosistem lamun terbentuk melalui interaksi komunitas lamun dengan biota dan lingkungan sekitarnya. Di daerah pesisir yang memiliki hutan bakau, komunitas lamun berperan sebagai penghubung antara terumbu karang dan hutan bakau. Padang lamun ini merupakan ekosistem laut yang sangat produktif dan memiliki dampak yang signifikan terhadap dinamika nutrien di wilayah pesisir (Friedhelm, 2012). Habitat lamun umumnya di perairan tenang dan jernih pada substrat lunak, berpasir dengan sedikit lumpur, dan beberapa mampu hidup di substrat berkarang. Pertumbuhan dan persebaran lamun dipengaruhi oleh cahaya matahari untuk fotosintesis sehingga umumnya lamun hidup di perairan dangkal dengan kedalaman 1-3 m, nutrisi anorganik pada kolom air dan substrat (Jayathilake & Costello, 2018), suhu optimal 28-32 ^{o}C, dan salinitas 35 ppt (Mckenzie & Yoshida, 2019).

Lamun yang ada di seluruh dunia diperkirakan terdapat 60 spesies, yang terdiri atas 3 famili dan 12 genus (Kuo and McComb, 1989). Di perairan Indonesia, terdapat 8 genus dan 13 spesies lamun yang ditemukan. Beberapa jenis lamun tersebut meliputi *Enhalus acoroides, Thalassia hemprichii, Thalassodendron ciliatum, Syringodium isoetifolium, Halophila minor, Halophila decipiens, Halophila spinulosa, Halophila ovalis, Halodule pinifolia, Halodule uninervis, Cymodocea serrulata, C. rotundata,* dan *Ruppia maritima.* Rekaman spesies *R. maritima* didapatkan dari Herbarium Bogoriense yang dikoleksi di Ancol-Jakarta dan Pasir Putih-Jawa Timur (Hernawan *et al.,* 2017).

2.4 *Cymodocea. rotundata*

2.4.1 Klasifikasi

Klasifikasi *C. rotundata* menurut Kuo *et al*., (2018) adalah sebagai berikut :

Kerajaan : Plantae
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Liliopsida
Bangsa : Alismatales
Suku : Cymodoceae
Marga : *Cymodocea*
Jenis : *Cymodocea rotundata*

2.4.2 Morfologi dan Anatomi

C. rotundata memiliki lekukan berbentuk hati atau rotundus, atau daun yang melengkung seperti pita. Selain itu, daunnya memiliki panjang tujuh hingga lima belas sentimeter, diameter dua hingga empat milimeter, dan tujuh hingga lima belas tulang daun. Ujung daunnya juga halus dan tidak bergerigi. Membandingkan rimpang dengan *C. serrulata*, rimpang ini lebih ramping, dengan diameter 1-2 mm dan panjang antar ruas 1-4 cm. Memiliki tunas yang tegak dan pendek, dan setiap ruas memiliki dua hingga lima daun. Buah berbulu dan tidak bertangkai terbungkus selubung daun (Soedharma, 2007). Morfologi *C. rotundata* ditunjukkan seperti Gambar 2.

Gambar 2. Morfologi *C. rotundata* (Dokumentasi Pribadi, 2023).

2.4.3 Kandungan Bioaktif Lamun *C. rotundata* sebagai Antikanker

Secara umum, bahan kimia aktif yang ditemukan di lamun bervariasi berdasarkan bentuk dan jumlah masing-masing jenis lamun (Marhaeni *et al*., 2010). Pradana *et al*., (2018) dalam penelitiannya menyatakan secara kualitatif kandungan fitokimia ekstrak *C. rotundata* diantaranya alkaloid, flavonoid, dan triterpenoid. Selain itu senyawa tanin dan steroid juga terkandung dalam *C. rotundata* berdasarkan penelitian Gustavina *et al*., (2017). Septiani *et al*., (2017) menunjukkan dalam penelitiannya bahwa *C. rotundata* positif mengandung komponen flavonoid, tanin, dan fenolik. Ekstrak pelarut etanol merupakan pelarut terbaik untuk menghasilkan tanin, flavonoid, dan fenol. Ekstrak mengandung 1,225% fenol, 1,306% tanin, dan 0,344% flavonoid sebagai senyawa bioaktif. Bahan aktif dalam lamun (*C. rotundata*), seperti fenol, tanin, dan flavonoid, memiliki kualitas antimikroba. Oleh karena itu, diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui potensi *C. rotundata* sebagai bahan baku obat antikanker.

2.5 Makroalga

Makroalga adalah organisme tingkat rendah mirip tumbuhan termasuk dalam Kingdom Protista yang hidup di perairan baik tawar maupun laut. Makroalga hanya menyerupai batang yang dikenal sebagai thallus; mereka sebenarnya tidak memiliki akar, batang, atau daun, sehingga tergolong dalam tumbuhan *Thallophyta*., selain itu alga juga memiliki zat warna daun yang berfungsi untuk fotosintesis. Secara umum, berdasarkan zat warnanya makroalga dikelompokkan dalam 3 kelas yakni alga hijau (Chlorophyta), alga merah (Rhodophyta), alga cokelat (Phaeophyta) (Kokomaking, 2023). Akar pada alga hidup menempel pada substrat karang atau batu lebih memungkinkan dibandingkan substrat pasir atau lumpur (Srimariana *et al*., 2020).

Jika dibandingkan dengan ganggang merah dan hijau, ganggang cokelat

adalah jenis ganggang yang paling besar. Pigmen pada ganggang coklat berwarna coklat. Pigmen ini berasal dari fikosantin, bahan kimia yang banyak ditemukan dalam alga (Marianingsih *et al*., 2013). Hanya sebagian kecil anggota Phaeophyceae yang hidup di air tawar, kebanyakan hidup dalam air laut. Thallusnya dapat mencapai ukuran yang cukup besar di laut dan samudra dengan iklim dingin, menempel pada kayu, karang, dan sering kali epifit pada thallus lain, serta beberapa endofit. Karena kemampuannya membuat metabolit sekunder dengan berbagai aktivitas biologis, alga cokelat merupakan sumber zat bioaktif selain dapat dimakan (Pádua *et al*., 2015).

2.6 *Padina australis*

2.6.1 Deskripsi dan Klasifikasi

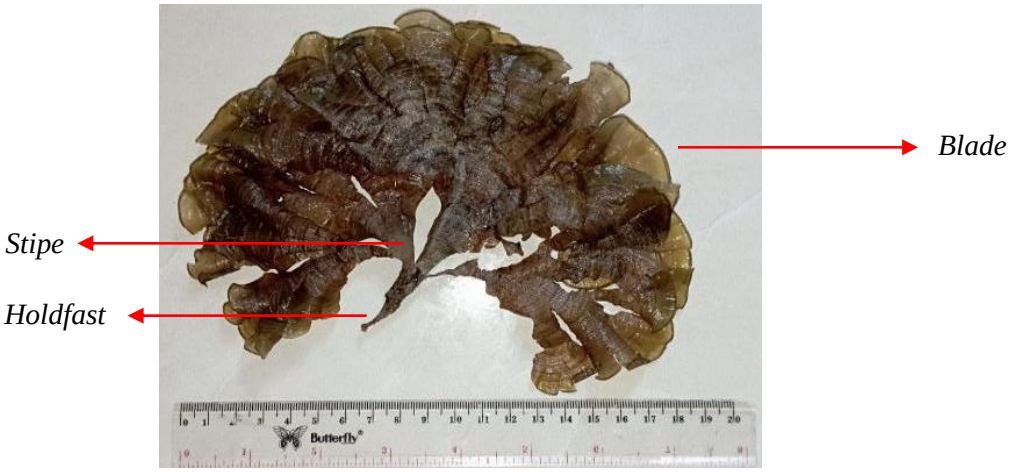
P. australis tersebar di berbagai habitat, mulai dari zona intertidal hingga subtidal. Secara geografis, *Padina* tersebar di seluruh daerah tropis dan mudah dikenali karena memiliki struktur yang mirip dengan ekor merak. *Padina* juga dapat ditemukan di Amerika Selatan, Asia Tenggara, dan daerah tropis hingga perairan beriklim dingin. Klasifikasi *P. australis* adalah sebagai berikut (Ni-Ni-Win *et al*., 2011):

Kerajaan : Chromista
Divisi : Phaeophyta
Kelas : Phaeophyceae
Bangsa : Dictyotales
Suku : Dictyotaceae
Marga : *Padina*
Jenis : *Padina australis*

2.6.2 Morfologi dan Anatomi

P. australis memiliki bentuk seperti kipas dengan diameter antara 3 - 4 cm, terdiri dari lembaran tipis yang tersegmentasi. Karena pengapuran, warna

coklat kekuningan mungkin kadang-kadang berserat dan putih. Alga ini menempel pada substrat dengan holdfast, yang merupakan cakram kecil berserabut dengan tangkai pendek dan pipih. Biasanya ditemukan pada substrat berpasir, dan menempel di bebatuan terumbu karang (Aulia *et al*., 2021). Kepel *et al*., (2018) melaporkan bahwa talus *Padina* sp. menunjukkan garis-garis konsentris ganda pada permukaan bawahnya, masing-masing berjarak sama dari yang lain, dengan jarak antara 2-3 mm. Alga ini hidup pada kedalaman rata-rata 1,5-2 m, dengan keadaan air laut pada suhu 28-30 ^{o}C, pH berkisar 7-8,5, dan mampu tumbuh pada salinitas 30-33 ppt (Safitri *et al*., 2020). Alat pelekatnya (*Holdfast*) berbentuk cakram kecil berserabut, digunakan untuk melekat lebih baik pada substrat kerikil berpasir dibandingkan substrat berpasir karena tidak mudah terlepas karena pengaruh arus dan lebih mudah menyerap nutrien (Kautsari & Yudi Ahdiansyah, 2016). Morfologi *P. australis* ditunjukkan seperti Gambar 3.



Gambar 3. Morfologi *P. australis* (Dokumentasi Pribadi, 2023).

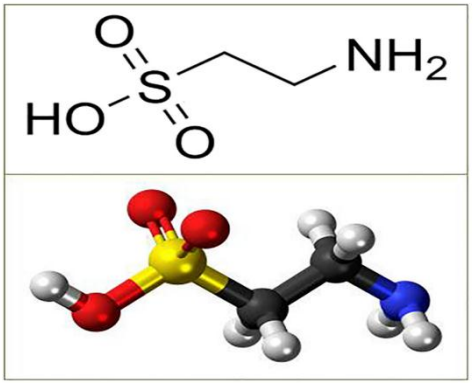
2.6.3 Kandungan Bioaktif *P. australis* sebagai Antikanker

Hasil penelitian yang dilakukan Limantara & Heriyanto, (2010) menyatakan bahwa *P. australis* mengandung pigmen karotenoid yaitu fucosantin, sebesar 0,638 mg/g berat basah dengan nilai absorbansi pada ekstrak etanol sebesar 0,9558. Pigmen karotenoid lain antara lain β-karoten, diatoxantin, diadinoxantin, klorofil a, dan klorofil c. Fucosantin

memiliki efek antikanker, antioksidan, antiobesitas, dan antidiabetes, sehingga memiliki potensi yang signifikan untuk dikembangkan sebagai makanan fungsional dan obat untuk mengobati kanker (Lin *et al*., 2016). Pada hasil penelitian Nursid *et al*., (2017) didapatkan dengan nilai IC_{50} sebesar 34,7 µg/ml, fucosantin dari *P. australis* terbukti bersifat sitotoksik terhadap sel MCF-7. Menurut hasil penelitian *in silico*, gugus karboksil fucosantin membentuk ikatan hidrogen dengan tubulin dalam sel, yang menghambat siklus sel dan menyebabkan depolimerisasi mikrotubulin (Januar *et al*., 2012). Selain senyawa flavonoid, terpenoid, steroid, saponin, tanin, dan alkaloid juga terkandung dalam *P. australis* (Nurrahman *et al*., 2020). Hasil penelitian Maharany *et al*., (2017) diketahui bahwa komponen fitokimia pada ekstrak metanol *P. australis* memiliki nilai IC_{50} sebesar 87,082 ppm antara lain triterpenoid, flavonoid, saponin, fenol hidrokuinon. *P. australis* dapat dimanfaatkan sebagai bahan obat alami yang berkhasiat sebagai antikanker, antibakteri, dan antioksidan berdasarkan kandungan fitokimia yang dimilikinya.

2.7 Taurin

Taurin, juga dikenal sebagai asam 2-aminoetana sulfonat ($C_2H_7NO_3S$), merupakan asam β-amino yang mengandung sulfur nonprotein yang terdapat di berbagai jaringan mamalia dan merupakan biomolekul endogen yang paling melimpah di dalam sel manusia. Taurin sering dianggap sebagai asam amino esensial bersyarat karena merupakan salah satu dari sedikit asam amino yang tidak terlibat dalam sintesis protein (Rais *et al*., 2023), struktur kimia taurin dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Struktur Taurin (Rais *et al*., 2023).

Taurin merupakan osmolit organik yang berperan dalam mengatur volume sel, menyediakan substrat untuk pembentukan garam empedu, mengatur konsentrasi kalsium bebas di dalam sel. Taurin adalah asam amino yang melimpah di otak, retina, jaringan otot, dan organ-organ lain di dalam tubuh. Taurin memiliki berbagai fungsi dalam sistem saraf pusat, mulai dari perkembangan hingga melindungi sel-sel saraf dari kerusakan. Defisiensi taurin dapat menyebabkan kardiomiopati, gangguan fungsi ginjal, kelainan perkembangan, dan kerusakan parah pada neuron retina (Ripps & Shen, 2012).

Taurin dapat diperoleh dari makanan laut (terutama kerang-kerangan seperti kerang, kerang, dan tiram), daging dan organ berotot (terutama jantung dan hati), serta daging ayam dan kalkun yang berwarna gelap. Invertebrata, seperti artropoda laut dan moluska, memiliki kandungan taurin yang tinggi; serangga dan ikan juga memiliki kandungan taurin yang tinggi (Jeong & Choi, 2019). Taurin diasumsikan memainkan peran penting dalam berbagai fungsi fisiologis dalam tubuh, termasuk sistem kardiovaskular, sistem saraf pusat, sistem otot dan sistem endokrin, serta sistem tubuh lainnya. Depresi, hipertensi, diabetes, hipotiroidisme, asam urat, infertilitas, obesitas, gagal ginjal, dan penyakit lainnya telah dikaitkan dengan rendahnya kadar taurin plasma (Rais *et al*., 2023).

2.8 Kanker

Menurut Arafah & Notobroto, (2017) kanker adalah penyakit tidak menular yang muncul secara klinis sebagai benjolan yang tumbuh yang disebabkan oleh sel-sel yang tumbuh secara tidak normal dan tidak terkendali sehingga merusak jaringan di sekitarnya dan menyebar ke lokasi yang jauh yang pada akhirnya dapat merusak organ tubuh. Sel-sel ini dapat menyebar melalui darah atau getah bening ke bagian tubuh lainnya dan membentuk tumor, yang dikenal sebagai Metastasis. Sel kanker tidak memiliki sifat penghambatan kontak, sehingga mereka dapat berkembang biak secara tidak teratur dan membentuk tumor. Transformasi sel normal menjadi sel kanker dapat disebabkan oleh mutasi genetik, sedangkan faktor lingkungan juga dapat memainkan peran dalam menyebabkan mutasi yang mengubah perilaku sel menjadi tidak normal. Paparan terhadap karsinogen juga merupakan faktor penting dalam perkembangan kanker (Hausman, 2019).

Kerusakan pada DNA menyebabkan mutasi pada gen penting yang mengatur pembelahan sel, yang mengarah pada pertumbuhan yang tidak terkendali. Pada organisme multiseluler, sel kanker kehilangan kendali atas regulasi siklus sel dan fungsi homeostasis sel, yang mencegah proliferasi sel normal. Akibatnya, sel yang berkembang biak secara tidak terkendali akan menyebabkan perluasan jaringan yang tidak normal (Diananda, 2009).

Tidak semua pertumbuhan sel yang tidak normal yang membentuk tumor disebut kanker. Ada tumor jinak (benigna) yang tidak menyebar, memiliki pertubuhan lambat dan invasif serta bisa diangkat melalui operasi. Biopsi tumor dapat membantu menentukan apakah tumor tersebut jinak atau ganas. Tumor jinak mungkin disebabkan oleh gaya hidup tidak sehat, stres, atau konsumsi racun. Tumor ganas, atau kanker, sulit dideteksi pada tahap awal karena tidak menunjukkan gejala. Gejala lokal seperti gangguan fungsi organ tertentu bisa menjadi tanda kanker. Gejala umum kanker meliputi keringat malam, penurunan berat badan, demam, pendarahan, kelelahan, perubahan pada pola buang air besar, dan lainnya (Wang *et al*., 2018).

Pada organisme multiseluler, pembelahan, proliferasi, dan kematian sel mengatur homeostasis. Baik nekrosis maupun apoptosis adalah bentuk kematian sel. Tujuan dari kematian sel terprogram, atau apoptosis, adalah untuk menjaga populasi sel tetap stabil. Sel kanker adalah sel yang membelah diri secara tidak terkendali akibat kegagalan dalam mengatur apoptosis. Sel-sel kanker yang resisten terhadap kemoterapi dan pengobatan radiasi terkait dengan penghambatan proses apoptosis (Williamson *et al*., 2007). Suatu upaya telah dilakukan untuk meningkatkan apoptosis sebagai pengobatan kanker.

Pengobatan kanker meliputi pembedahan, radioterapi, kemoterapi, terapi gen, terapi hormon, transplantasi sumsum tulang, cryosurgery, imunoterapi, terapi fotodinamik, dan transplantasi sel punca. Biasanya, semua kasus kanker memerlukan perawatan bedah, kemoterapi, terapi hormon, atau radiasi. Namun, dalam beberapa kasus kanker ginjal atau melanoma yang jarang terjadi, sel kanker dapat menghilang dengan sendirinya. Terapi yang ditargetkan, seperti penghambat molekul kinase kecil dan antibodi monoklonal, juga digunakan. Terapi bertarget sangat membantu karena dapat ditujukan pada kelas target molekuler atau target molekuler tunggal dalam sel kanker (Roy & Saikia, 2016; Wang *et al*., 2018)

2.9 Kanker Payudara

Kanker payudara ditandai dengan kondisi proliferasi yang tidak terkendali dari sel-sel yang membentuk jaringan payudara, yang diakibatkan oleh hilangnya kemampuan dan mekanisme regulasi normal (Sinaga & Ardayani, 2016). Di negara-negara berkembang, kanker payudara tetap menjadi kanker yang sering terjadi pada wanita, dan merupakan penyebab kematian terbesar ke-2 bagi wanita di Amerika Serikat (Avryna *et al*., 2019). Perempuan lebih mungkin terkena kanker payudara dibandingkan laki-laki. Kurang dari 1% pria didiagnosis menderita kanker payudara. Pria yang memiliki hormon tidak seimbang diusia lebih tua, terkena paparan radiasi, atau memiliki riwayat keluarga dengan kanker payudara berisiko tinggi menderita kanker

payudara (Momenimovahed & Salehiniya, 2019).

Kanker payudara, menurut Infodatin (2016) adalah perkembangan sel-sel payudara diluar terkendali sehingga menjadi tumor ganas yang dapat menyebar ke organ atau jaringan lain di sekitar payudara. Meskipun kanker dapat berasal dari semua jenis jaringan di payudara, kanker biasanya dimulai dari kelenjar dan saluran. Ketika kerusakan DNA terjadi pada sel normal, mutasi genetik yang menghasilkan sel kanker dapat berkembang. Kanker payudara tidak memengaruhi kulit payudara; namun, kanker ini muncul dari sel-sel ganas yang berkembang di sel kelenjar, saluran kelenjar, atau jaringan pendukung payudara (Suryani, 2020).

Gen BRCA1 dan BRCA2 merupakan gen penekan tumor dan sangat penting dalam perkembangan kanker payudara. Dua puluh persen insiden kanker payudara pada populasi umum diduga disebabkan oleh mutasi pada kedua gen ini. Lengan panjang kromosom 17q mengandung gen BRCA1, yang mengalami mutasi atau perubahan sehingga meningkatkan risiko kanker prostat, ovarium, dan payudara. Salah satu kromosom akrosentrik pada pria, lengan 13q, memiliki gen BRCA2. Perubahan atau mutasi pada gen ini juga dapat meningkatkan risiko kanker prostat, ovarium, dan payudara. Kedua gen BRCA1 dan BRCA2 berperan sebagai gen penekan pertumbuhan sel dan menghasilkan protein *Tumor Suppressor Gene* (TSG). Terdapat 300 mutasi penyebab penyakit yang diketahui pada gen BRCA1, yang mengkode 1863 asam amino dalam protein. Komposisi asam amino protein BRCA2 adalah 3418. Dikenal dengan nama lain, anti-onkogen, protein ini membantu sel mempertahankan materi genetik dan memperbaiki DNA yang rusak. Akibatnya, kanker diakibatkan oleh perbaikan DNA yang rusak yang tidak tepat yang disebabkan oleh salah satu atau kedua gen ini (Mehrgou & Akouchekian, 2016).

2.10 Sel MCF-7 (*Michigan Cancer Foundation line 7*)

Sel MCF-7 dikenal dengan *cell line* kanker payudara manusia dengan reseptor estrogen, progesteron, glukokortikoid, termasuk dalam subtipe molekuler luminal A (Comşa *et al*., 2015). MCF-7 adalah *cell line* yang kurang agresif dan non-invasif dengan potensi metastasis yang rendah serta sering dipakai untuk penelitian *in vitro* (Gest *et al*., 2013). MCF-7, atau *Michigan Cancer Foundation line 7*, adalah *cell line* adherent (ATCC, 2023) yang mampu tumbuh pada media pertumbuhan DMEM atau RPMI yang mengandung 10% *fetal bovine serum* (FBS) dan 1% antibiotik *Penicilin Streptomisin*. Ini diperoleh dari efusi pleura kanker payudara metastasis (adenokarsinoma) dari pasien wanita Kaukasia dengan golongan darah O, usia 69 tahun, pada tahun 1970 (Comşa *et al*., 2015).

Sel MCF-7 telah menjadi pilihan utama dalam penelitian terkait sel kanker payudara ER-positif, terutama dalam studi resistensi terhadap obat anti-estrogen. Kemudahan dalam pengkulturan dan kemampuan untuk mempertahankan ekspresi ER membuat sel MCF-7 sangat sesuai untuk penelitian resistensi terapi anti-hormon. Untuk menggali lebih dalam sifat-sifat sel kanker payudara yang resisten terhadap antihormon, sel MCF-7 yang telah diadaptasi ke berbagai lingkungan anti-hormon telah diciptakan. Evolusi dari model in vitro MCF-7 ke model in vivo memberikan dimensi baru dalam penilaian interaksi antara sel kanker, angiogenesis, metabolisme seluler, dan respirasi, yang tidak dapat dievaluasi dengan baik dalam kultur sel (Sweeney *et al*., 2012).

Studi sel MCF-7 telah memajukan penelitian kanker payudara selama 45 tahun terakhir, yang mengarah pada terobosan dan hasil yang lebih baik bagi pasien. Salah satu kontribusi penting dari garis sel MCF-7 dalam penelitian kanker payudara adalah kemampuannya untuk mempelajari reseptor estrogen alfa. *Cell line* ini langka karena mengekspresikan tingkat *estrogren receptor* (ER) yang signifikan, mirip dengan kanker payudara invasif

manusia. Sel MCF-7 sensitif terhadap estrogen dan sitokeratin. Dalam kondisi in vitro, sel ini dapat membentuk struktur kubah dan tumbuh seperti sel epitel lapisan tunggal (Lee *et al*., 2015)

2.11 Uji Toksisitas *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Sebelum dijadikan sebagai fitofarmaka, setiap bahan alam harus melalui serangkaian uji yaitu uji eksperimental farmakologi, uji toksisitas, uji klinis, uji mutu, dan uji lainnya guna memastikan keamanan dan menentukan tingkat toksisitas yang terkandung dalam bahan obat tersebut (Jelita *et al*., 2020). Uji toksisitas melibatkan penilaian aktivitas biologis ekstrak atau fraksi tumbuhan yang telah diisolasi, dengan mengamati respon mortalitas pada hewan percobaan seperti larva udang, ikan, dan larva nyamuk. Matinya hewan percobaan ini diyakini disebabkan oleh paparan senyawa tertentu (Pohan *et al*., 2023).

Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) adalah metode yang umum untuk menilai keberadaan zat sitotoksik. Secara khusus pengujian ini menggunakan larva udang dari spesies *A. salina* Leach. BSLT sering digunakan sebagai alat skrining awal untuk mengevaluasi kemanjuran senyawa aktif yang ditemukan dalam ekstrak tumbuhan. Metode ini disukai karena hemat biaya, cepat, sederhana (tidak memerlukan kondisi aseptik), dan dapat diandalkan. Dengan memanfaatkan larva *A. salina* sebagai hewan percobaan, BSLT berfungsi sebagai bioassay untuk menyelidiki toksisitas suatu zat. Uji toksisitas akut ini memungkinkan penentuan efek toksik suatu senyawa dalam jangka waktu singkat, biasanya 24 jam setelah pemberian dosis uji. Melalui prosedur BSLT, nilai LC_{50} dapat diketahui, yang merupakan konsentrasi komponen aktif tanaman yang diperlukan untuk menyebabkan kematian pada 50% populasi larva *A. salina* (Hamrun *et al*., 2020)

Ekstrak dianggap toksik menurut metode BSLT jika nilai $LC_{50} < 1000$ ppm. Penelitian telah menunjukkan adanya korelasi yang konsisten antara

tingkat toksisitas dan kematian udang air asin yang terpapar ekstrak herbal. Metode BSLT dianggap sebagai metode yang dapat diandalkan untuk menguji aktivitas farmakologi dari bahan alami. Apabila bahan alami tersebut tidak menunjukkan sifat beracun, maka tanaman tersebut dapat dianalisis lebih lanjut untuk menganalisis potensi khasiat lainnya dengan hewan percobaan yang lebih besar daripada larva *A. salina,* seperti mencit dan tikus, dalam uji *in vivo* (Bonifácio *et al*., 2019).

2.12 LC_{50}

Lethal Concentration 50 senyawa kimia (LC_{50}) di udara atau air adalah konsentrasi di mana 50% hewan uji atau organisme hidup tertentu akan binasa dalam populasi tersebut. Ketika melakukan uji toksisitas pada hewan uji dalam kelompok, metode LC_{50} diterapkan, dan hewan-hewan tersebut dipaparkan pada media udara atau air. Penentuan nilai LC_{50} sangat penting untuk mengevaluasi tingkat efek berbahaya suatu senyawa dan dapat membantu memperkirakan seberapa efektif senyawa tersebut sebagai agen antikanker (Jelita *et al*., 2020).

Untuk menentukan nilai LC_{50}, jumlah larva mati dibagi dengan jumlah total larva hidup dan mati, kemudian dikalikan dengan 100%. Data tersebut digunakan untuk membuat grafik dengan sumbu x sebagai log konsentrasi dan sumbu y sebagai mortalitas. LC_{50} adalah konsentrasi di mana 50% larva mengalami kematian, yang dapat diperoleh melalui persamaan regresi linier $y = a + bx$. Tingkat toksisitas polutan dapat ditentukan berdasarkan nilai LC_{50}-nya. Jika $LC_{50} \leq 30$ mg/L, polutan sangat toksik. Jika $LC_{50} \leq$ 1000 mg/L, polutan toksik. Jika $LC_{50} > 1000$ mg/L, polutan tidak toksik (Sumihe *et al*., 2014).

2.13 Uji Sitotoksik

Pengujian kimia dan obat telah banyak menggunakan uji sitotoksik *in vitro* dengan menggunakan kultur sel guna menilai toksisitas zat dan penekanan

proliferasi sel tumor selama proses pengembangan obat. Uji ini memiliki keunggulan karena cepat, terjangkau, dan mampu menguji banyak sampel. Pengujian ini tidak dapat secara resmi menggantikan pengujian pada hewan, yang merupakan salah satu kekurangannya (Aslantürk, 2018)

Berdasarkan tujuan apa yang diukur, uji sitotoksik dapat dikategorikan ke dalam berbagai kelompok, termasuk perubahan warna, luminesen, fluoresensi, dan lainnya, sebagai berikut:

1. Uji Luminometrik : *Real-time viability assay* dan Uji ATP
2. *Dye exclusion* : *Trypan blue,* Eosin, *erythrosine B assays, Congo red,*
3. Uji kolorimetrik : Uji WST-1, uji WST-8, uji MTS, uji XTT, Uji MTT Uji LDH, Uji NRU, Uji Trypan blue SRB, dan uji kristal violet.
4. Uji florometrik : Uji CFDA-AM, Uji alamar Blue

Uji sitotoksik pada penelitian ini menggunakan metode *Water Soluble Tetrazolium* (WST-8) 2-(2-metoksi-4-nitrofenil)-3-(4-nitrofenil)-5- (2,4-disulfofenil)-2H-tetrazolium, garam monosodium) merupakan salah satu uji sitotoksik kolorimetrik yang telah digunakan dalam berbagai penelitian terkait kanker. Metode ini tidak beracun, mudah larut dalam air, mudah menembus membran sel, dan memiliki sensitivitas dan selektivitas yang baik dibandingkan dengan metode lainnya. Metode ini juga murah, mudah digunakan, cepat, tidak beracun serta melengkapi kelebihan dan kekurangan metode-metode sebelumnya (Aslantürk, 2018).

WST-8 memberikan cara yang nyaman dan kuat untuk melakukan pengujian viabilitas sel. Kit ini menggunakan garam tetrazolium yang larut dalam air untuk mengukur jumlah sel hidup dengan menghasilkan pewarna formazan oranye pada bio-reduksi dengan adanya pembawa elektron. Larutan WST-8 / CCK8 (*Cell Counting Kit* 8) ditambahkan langsung ke sel uji tanpa perlu pencampuran komponen terlebih dahulu.

Enzim dehidrogenase seluler mengubah garam tetrazolium WST-8/CCK8 menjadi produk formazan berwarna oranye yang larut dalam medium kultur jaringan. Jumlah sel yang hidup berkorelasi langsung dengan jumlah formazan yang dihasilkan dan diukur dengan absorbansi pada 460 nm. Stabilitas yang sangat baik dan sedikit sitotoksisitas dari larutan WST-8 / CCK8 membuat kit ini berguna untuk pengujian yang memerlukan inkubasi lama (seperti 24 hingga 48 jam) (Hadisaputri *et al*., 2020).

2.14 Hewan Uji *Artemia salina* Leach

2.14.1 Deskripsi dan Klasifikasi

Awal mula bernama *Cancer salinus* oleh Linnaeus tahun 1778 dan berubah nama menjadi *Artemia salina* oleh Leach tahun 1919. *Artemia* adalah organisme zooplankton yang termasuk pada kelompok udang tingkat rendah yang hidup dalam perairan dengan kadar garam tinggi 15 hingga 300 part per mil (Mudjiman, 1988). *A. salina* merupakan biota laut yang sering dipakai dalam uji laboratorium untuk mengevaluasi toksisitas senyawa bioaktif dari ekstrak tumbuhan. Selain itu, *A. salina* juga merupakan sumber nutrisi yang kaya akan protein dan asam amino. Keberadaan *A. salina* dalam ekosistem laut sangat penting untuk menjaga keseimbangan rantai makanan dan sirkulasi energi (Kanwar, 2007). Berikut ini klasifikasinya menurut (Wasonga & Olendi, 2017).

Kerajaan : Animalia
Filum : Arthropoda
Kelas : Crustacea
Bangsa : Anostraca
Suku : Artemiidae
Marga : *Artemia*
Jenis : *Artemia salina*

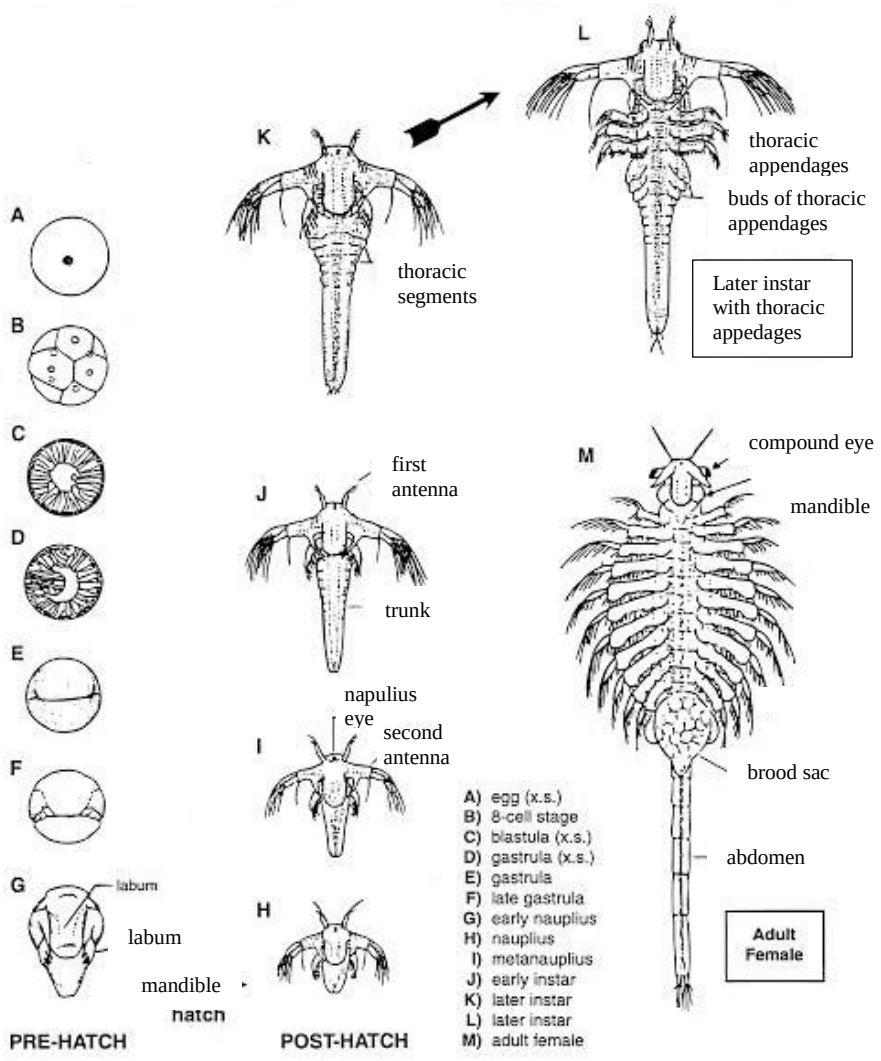
2.14.2 Morfologi dan Siklus Hidup *Artemia*

Artemia memiliki tiga segmen tubuh yaitu kepala, dada, dan perut. Dimorfisme seksual dengan perbedaan mencolok antara jantan dan betina dalam berbagai aspek seperti panjang antena, diameter mata, jarak mata, lebar perut, panjang perut, dan panjang total. Jantan dewasa biasanya memiliki panjang 8-10 mm, sedangkan betina sedikit lebih besar yaitu 10-12 mm. Mata *Artemia* berjumlah tiga serta memiliki 11 pasang kaki. Warna dewasa dapat bervariasi berdasarkan konsentrasi garam, mulai dari hijau hingga merah pada konsentrasi garam tinggi.

Artemia memiliki hemoglobin dalam darah mereka. Pada lingkungan dengan persaingan terbatas, mereka berkembang dan membentuk populasi besar ketika kondisi reproduksi menguntungkan, seperti panas, sinar matahari, dan berbagai konsentrasi garam. Mampu bertahan terhadap kekeringan dengan memasuki tahap kista dan melanjutkan siklus hidupnya ketika kondisi yang sesuai kembali. Individu jantan memiliki dua organ reproduksi. Betina *A. salina* dapat memiliki hingga 200 telur di dalam rahimnya. *Artemia* menunjukkan strategi reproduksi ovipar dan ovovivipar, bergantian tergantung pada kondisi lingkungan. Telur dapat berkembang menjadi larva atau berubah menjadi kista, yang dapat bertahan dalam kekeringan. Jika kondisinya membaik, kista bisa menetas menjadi larva. *Artemia* di habitat aslinya memakan alga, protozoa, dan detritus (Dumitrascu, 2011).

Siklus hidup *A. salina* terdiri dari fase telur, larva, dan *Artemia* dewasa yang membutuhkan waktu sekitar 25 hari. Telur berukuran 0,2-0,3 mm dan menetas menjadi larva berukuran 300 µ. Dalam waktu 2 minggu, larva mengalami 15 kali perubahan bentuk sebelum menjadi *Artemia* dewasa. *Artemia* dewasa berukuran 12-15 mm dan mampu hidup pada suhu 25^{o} - 30^{o} C, pH 8-9, kandungan garam 15-30 permil dan oksigen terlarut 3 mg/L (Panjaitan, 2011).

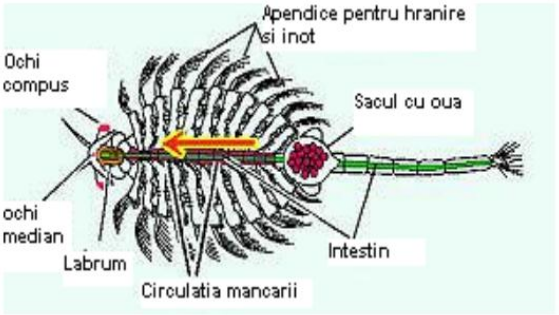
A. salina menetas dalam tiga tahap yaitu hidrasi, pecah cangkang, dan payung atau pengeluaran. Pada tahap hidrasi, kista *Artemia* menyerap air dan aktif dalam metabolisme. Tahap pecah cangkang adalah ketika kista menggelembung dan menetas dengan memecahkan cangkangnya. Tahap terakhir adalah payung atau pengeluaran, di mana nauplius *Artemia* keluar dari cangkangnya dan menjadi *Artemia* dewasa (Drewes, 2006). Perkembangan *Artemia* dari tahap telur sampai tahap dewasa dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Tahap Perkembangan *A. salina* Leach (Drewes, 2006).

Pada tahap larva Nauplia, pertumbuhan maksimal dicapai pada suhu 28^{o} C

dan salinitas 35 ppt. Kisaran suhu untuk bertahan hidup adalah antara 0^{o} dan 37-38^{o} C. Awalnya, larva memiliki satu mata sebagai fotoreseptor. Selanjutnya, mereka mengembangkan dua mata tambahan, sehingga totalnya menjadi tiga mata. Nauplia menunjukkan perilaku fototaktik, sedangkan *Artemia* dewasa tidak. Mereka menavigasi kolom air menggunakan antenanya untuk fototaksis. Mandibula digunakan untuk menyaring air dan fitoplankton. Setelah umur 14 hari, *Artemia* menjadi individu dewasa mendorong dirinya melalui air dengan cara berenang atau menyaring organ makanan. Selain mata median, terdapat dua mata majemuk di lateral. Sistem saraf pusat terdiri dari otak dasar yang mengelilingi mulut, ciri umum di antara banyak invertebrata. Dalam kondisi lingkungan yang optimal, betina menunjukkan percepatan perkembangan telur di dalam kantung telur ventral (Dumitrascu, 2011). *Artemia* mencapai bentuk dewasa yang sempurna dengan ukuran 8-10 mm, menyerupai udang kecil. Ciri-ciri khasnya meliputi tangkai mata di kedua sisi kepala, alat peraba atau sensori yaitu antena, saluran pencernaan terlihat dengan jelas, dan terdapat 11 pasang kaki yang disebut torakopoda Morfologi *Artemia* dewasa dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Morfologi *A. salina* Leach Dewasa (Abatzopoulos *et al*., 2002).

2.14.3 Alasan Menggunakan *A. salina* sebagai Hewan Uji

A. salina sering digunakan dalam uji toksisitas karena kemampuannya menghasilkan telur dorman dalam jumlah besar dan dapat bertahan dalam kondisi kering bertahun-tahun dan mampu menetas dalam waktu 48 jam

(Mayorga *et al*., 2010). *A. salina* dipilih karena merupakan hewan invertebrata yang memiliki sensitivitas terhadap toksisitas, tersedia secara komersial, kemudahan adaptasi, tingkat kelangsungan hidup yang tinggi, kebutuhan sampel yang sedikit, sederhana, cepat, efisien dalam biaya, dan respons stres yang mirip dengan manusia yaitu respons perilaku dan fisiologis terhadap stres lingkungan. Prinsip BSLT fokus pada evaluasi toksisitas terhadap *A. salina* dengan paparan ekstrak uji pada berbagai konsentrasi selama periode waktu tertentu (Fardiaz *et al*., 2023). *A. salina* Leach pada tahap nauplii berumur 48 jam atau tahap larva instar II-III, sering dimanfaatkan sebagai organisme uji aktivitas biologis untuk ekstrak tanaman karena larva lebih responsif terhadap bahan uji. Kepekaan *A. salina* karena membran kulit tipis yang dimilikinya, sehingga memberikan kemudahan difusi zat dan lingkungan yang berpengaruh terhadap metabolisme. Alasan lain untuk memilih usia ini adalah, tidak seperti saat larva menetas, anggota tubuh larva sudah lengkap pada tahap ini (Wibowo *et al*., 2013)

A. salina Leach menunjukkan respons stres seperti manusia. Respons hewan terhadap situasi stres membantu untuk bertahan hidup, berkembang biak, dan perilaku hewan. Jumlah pemicu stres dan pengaruhnya terhadap *Artemia* cukup rendah namun, *Artemia* hidup di berbagai lingkungan. *Artemia*, sama seperti manusia, dimana otak bertanggung jawab dalam merespons rangsangan perilaku dan fisiologis mampu mengenali dan memilih pasangan untuk menjaga adaptasi ekologis (Gajardo & Beardmore, 2012). Selain itu, *A. salina* berbagi kesamaan manusia dalam sirkulasi, perut, mata, dan sistem saraf pusat. Karena membran kulit *Artemia* juga tipis, kematian sitotoksik yang disebabkan oleh bahan kimia bioaktif dapat dibandingkan dengan kematian sel organisme (Fenton, 2001).

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus-Oktober 2023. Pengambilan sampel lamun dan makroalga di Pulau Tegal Mas, Kecamatan Teluk Pandan, Kabupaten Pesawaran, Lampung. Identifikasi tanaman, uji fitokimia dan antioksidan di Laboratorium Botani Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung. Maserasi dan uji toksisitas BSLT *(Brine Shrimp Lethality Test*) ekstrak etanol lamun dan makroalga dilakukan di Laboratorium Biomolekuler Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung. Sedangkan pengujian sitotoksik sel MCF-7 dilakukan di Laboratorium Kultur Sel Sitogenetika dan Genetika Molekuler, Fakultas Farmasi, Universitas Padjajaran Bandung.

3.2 Alat dan Bahan

Alat dalam penelitian ini terdiri dari alat untuk pembuatan ekstrak etanol lamun dan makroalga antara lain oven, saringan 60 *mesh*, *blender*, neraca analitik, gelas beaker, corong, dan *rotary evaporator*. Alat pada pengujian fitokimia menggunakan tabung reaksi, gelas beaker, rak tabung reaksi, pipet tetes, *micro-pipett, micro-tips*. Alat pada penetasan *A. salina* menggunakan wadah kaca, aerator, *pH indicatorpaper*, steorofoam, dan lampu. Uji BSLT dan antioksidan menggunakan, spatula, neraca analitik, spektrofotometer UV-Vis, tabung reaksi, pipet tetes, dan gelas beaker. Pada uji sitotoksik *cell line* MCF-7 menggunakan waterbath, *conical tube*, sentrifuge, incubator, Hymocytmeter, mikroskop, *well plate,* dan *Nanodrop reader*.

Bahan yang digunakan adalah lamun *C. rotundata* dan makroalga *P. australis* dari perairan Pulau Tegal Mas, Kecamatan Teluk Pandan, Kabupaten Pesawaran, taurin, telur *A. salina*, plastik wrap, botol film, alumunium foil, akuades, air laut, kultur sel MCF-7, media kultur sel DMEM (*Dulbecco's Modified Eagles' Medium*), *Fetal Bovine Serum* (FBS) 10%, *phosphate buffer saline* (PBS), *Penisilin Streptomisin* 1%, larutan *dimethyl sulfoxide* (DMSO), tripanblue 0,4%, reagen *cell countingket-8*, *tripsin*, *Doxorubicin*, etanol 70%, metanol pekat, besi(III) klorida ($FeCl_3$), asam asetat glacial (CH_3COOH),asam sulfat (H_2SO_4), kloroform, Raksa(II) klorida ($HgCl_2$), kalium iodida (KI), serbuk Mg, asam klorida (HCl) pekat, asam askorbat, dan DPPH.

3.3 Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial yang bertujuan untuk membandingkan berapa kelompok perlakuan dan menggunakan larva *Artemia* dan sel kanker payudara MCF-7 yang diberi perlakuan dengan beberapa konsentrasi ekstrak etanol lamun *C. rotundata*, makroalga *P. australis,* dan taurin. Pada uji BSLT menggunakan faktorial 3×6 yang terdiri dari 3 bahan uji dan 6 tingkat konsentrasi uji, uji aktivitas antioksidan menggunakan faktorial 3×5 yang terdiri dari 3 bahan uji dan 5 tingkat konsentrasi uji, sedangkan pada uji sitotoksik sel kanker payudara MCF-7 menggunakan faktorial 3×6 yang terdiri dari 3 jenis bahan uji dan 6 tingkat konsentrasi uji dengan kontrol sel dan kontrol media (blanko). Uji toksisitas menggunakan teknik BSLT dengan kontrol negatif yang tidak memiliki perlakuan ekstrak ditambahkan. Uji antioksidan menggunakan DPPH dengan kontrol positif yaitu penggunaan Asam askorbat.

1. Populasi

   Penelitian ini menggunakan suspensi ±20 juta sel MCF-7 yang diperoleh dari Laboratorium Kultur Sel dan Sitogenetika, Fakultas Farmasi,

Universitas Padjajaran Bandung (UNPAD), kultur lebih lanjut dengan media DMEM (*Dulbecco's Modified Eagles' Medium*) yang ditambahkan dengan *Penicillin-Streptomycin, fetal bovine serum* 1% (FBS), *Trypsin-Ethylene Dimamine Tetra Acid* (EDTA) 0,25%, dan *phosphatet buffer saline* (PBS) (CCRC, 2013).

2. Sampel

   Pada penelitian ini untuk uji toksisitas BSLT menggunakan 6 tingkat konsentrasi uji yaitu 62,5 ppm, 125 ppm, 250 ppm, 500 ppm, 1000 ppm, dan 2000 ppm (Saputra., 2023). Uji aktivitas antioksidan menggunakan 5 tingkat konsentrasi yaitu 100 ppm, 200 ppm, 400 ppm, 800 ppm, dan 1000 ppm (Sari *et al.,* 2015). Ketika pengujian sitotoksik sel kanker payudara MCF-7 terdapat Kelompok Kontrol negatif yaitu kontrol sel tanpa adanya perlakuan dan Kontrol positif (K+) pemberian *Doxorubicin* 10 ppm, 5 ppm, 2,5 ppm, 1,25 ppm, 0,625 ppm, dan 0,313 ppm sedangkan ekstrak etanol *C. rotundata*, *P. australis*, serta taurin dengan konsentrasi bertingkat 62,5 ppm, 125 ppm, 250 ppm, 500 ppm, 1000 ppm, dan 2000 ppm adalah kelompok perlakuan dalam penelitian ini (CCRC, 2009).

3. Teknik Pengambilan sampel

   Teknik pengambilan sampel yang digunakan adalah *simple random sampling* karena populasi dianggap homogen. Sumuran yang berisi subkultur sel yang telah kofluen diencerkan menggunakan medium DMEM (*Dulbecco's Modified Eagles' Medium*) sehingga *cell line* MCF-7 pada tiap sumuran / *well* berjumlah sekitar $5x10^4$ sel. Kemudian secaraacak sumuran yang berisi *cell line* MCF-7 dibagi menjadi kelompok kontrol dan kelompok perlakuan (CCRC, 2013). Pengambilan sampel lamun *C. rotundata* dan makroalga *P. australis* dilakukan saat air laut surut dengan jarak 10 meter dari bibir pantai dan kedalaman air maksimal 1 m (Saputra, 2023).

3.4 Pelaksanaan Penelitian

3.4.1 Pembuatan Simplisia dan Ekstraksi Lamun dan Makroalga

Lamun *C. rotundata* dan makroalga *P. australis* yang telah dikumpulkan selanjutnya dicuci pada air mengalir dan dikeringkan menggunakan oven pada suhu 40°C. Setelah kering, sampel kemudian dihaluskan menggunakan blender hingga menjadi bubuk dan disaring secara manual menggunakan saringan 60 *mesh*. Kemudian dilakukan perhitungan berat dari bubuk simplisia yang didapatkan dan disimpan pada suhu kamar sekitar 15-30^{o}C.

Tahapan selanjutnya yaitu ekstraksi senyawa bioaktif dari 300 g bubuk simplisia lamun *C. rotundata* dan makroalga *P. australis*. Proses ekstraksi merujuk pada metode penelitian yang dimodifikasi dari (Marlis, 2008) Pertama bubuk lamun *C. rotundata* dan makroalga *P. australis* dimasukkan dalam gelas beker lalu dimaserasi dalam pelarut etanol 70% dengan rasio 1:10. Proses maserasi berlangsung dalam 3 hari dengan sesekali diaduk agar pelarut etanol dapat meresap ke seluruh permukaan serbuk simplisia. Selanjutnya, ekstrak dibiarkan sampai mengendap kemudian disaring dengan kertas saring, langkah ini bertujuan untuk memisahkan filtrat dengan residu. Residu atau ampas bubuk simplisia lamun *C. rotundata* dan makroalga *P. australis* dimaserasi kembali, hingga larutan menjadi agak bening. Guna mengawetkan ekstrak etanol dari makroalga *P. australis* dan lamun *C. rotundata* serta untuk menghilangkan etanol yang tersisa, maserat yang dihasilkan kemudian dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C. Setelah itu, ekstrak disimpan pada suhu 40°C di dalam oven hingga berbentuk pasta yang digunakan untuk pengujian selanjutnya.

3.4.2 Uji Fitokimia

Uji Fitokimia ini bertujuan untuk mengetahui senyawa bioaktif ekstrak etanol lamun *C. rotundata* dan makroalga *P. australis.* Pada uji fitokimia

ini dilakukan pengujian alkaloid, flavonoid,steroid, terpenoid, tanin, dan saponin (Tasmin *et al*., 2014). Tabel 1 menunjukkan prosedur pengujian fitokimia untuk ekstrak etanol lamun dan makroalga.

Tabel 1. Prosedur Pengujian Fitokimia

Jenis Uji	**Langkah UJi**	**Indikator**
Saponin	0,5 mL sampel + 5 mL akuades, kemudian sampel dikocok selama 30 detik	Terbentuk busa
Steroid	0,5 mL sampel + 0,5 mL asam asetat glacial + 0,5 mL H_2SO_4	Sampel berubah warna menjadi hijau kebiruan/ ungu
Terpenoid	0,5 mL sampel + 0,5 mL asam asetat glacial + 0,5 mL H_2SO_4	Warna sampelberubah 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 yang dibuat dengan melarutkan 1 g KI 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 tetes demi tetes	Warna larutan merah atau kuning, terbentuk busa

3.4.3 Identifikasi Senyawa dengan FTIR *(Fourier-Transform Infrared Spectroscopy)*

Metode analisis yang dapat digunakan untuk menentukan struktur molekul suatu senyawa adalah *Fourier-Transform Infrared Spectroscopy* atau spektroskopi FTIR (Yudhapratama, 2010). Tujuan dari metode ini adalah untuk menganalisis secara kualitatif gugus fungsi yang terdapat dalam ekstrak etanol lamun (*C. rotundata*) dan makroalga (*P. australis*) dengan menggunakan Spektroskopi FTIR (*Fourier-Transform Infrared Spectroscopy*). Sebanyak 2 mg ekstrak etanol lamun dan makroalga dipindahkan ke dalam kuvet. Setelah itu ditambahkan serbuk KBr dan digerus sampai tercampur rata dan halus. Selanjutnya dilakukan identifikasi pada rentang gelombang 4000-400 cm^{-1} dengan menggunakan spektrofotometer FTIR.

3.4.4 Penetasan Larva *A. salina*

Penetasan larva *A. salina* mengacu pada metode penelitian Surya (2018) yang dilakukan di dalam wadah penetas telur berupa akuarium kaca.Wadah kaca dibagi menjadi dua ruangan gelap dan terang dengan sekat dari *styrofoam* yang tepi bawahnya telah dilubangi dengan diameter 2 mm agar larva bisa keluar. Bagian atas pada ruang gelap ditutup dengan *styrofoam* yang telah dibungkus dengan lakban hitam. Selanjutnya, sebanyak 7 liter air laut dengan tingkat salinitas 35 ppt dituangkan ke dalam wadah kaca, untuk memastikan kedua kompartemen terendam seluruhnya. Air laut yang digunakan dalam percobaan ini bersumber dari Balai Besar Perikanan Budidaya Laut Lampung. 700 mg telur *A. salina* ditempatkan di ruangan gelap, yang pada bagian atas ditutup dengan penutup dari *styrofoam.* Untuk mendorong penetasan, lampu neon ditempatkan di ruangan terang yang dibiarkan terbuka. Untuk membantu telur menetas menjadi larva dan masuk ke ruang terang, sebuah aerator dipasang di ruang terang guna memberi pasokan oksigen yang cukup bagi larva yang menetas. Telur akan menetas menjadi larva dalam 24 jam. Studi toksisitas BSLT dapat

dilakukan dengan menggunakan larva berumur 48 jam.

3.4.5 Uji Toksisitas dengan Metode BSLT

Taurin dan sampel lamun *C. rotundata* serta makroalga *P. australis* dari perairan Pulau Tegal Mas, Kecamatan Teluk Pandan, Pesawaran, diuji toksisitasnya menggunakan larva *A. salina* berumur 48 jam. Proses pembuatan konsentrasi uji BSLT didasarkan pada versi modifikasi dari prosedur yang digunakan oleh Bareta *et al*., (2023). Pertama, larutan stok 1000 ppm disiapkan dengan menimbang 100 mg taurin, ekstrak etanol ekstrak lamun *C. rotundata* dan makroalga *P. australis*. Selanjutnya dilarutkan dengan 100 ml etanol 70%, kemudian dibuat pengenceran seri dosis yang mengacu pada penelitian Saputra, (2023) mulai dari konsentrasi 62,5, 125, 250, 500, 1000, dan 2000 ppm. Kontrol negatif tanpa menggunakan sampel dibuat sebagai pembanding. Kemudian, 10 larva *A. salina* usia 48 jam dimasukkan ke setiap tabung uji yang sebelumnya telah dimasukkan 1 ml air laut dan 1 tetes ragi (3 mg ragi/5 ml air laut) sebagai makanan larva. Setiap konsentrasi direplikasi sebanyak tiga kali, setelah itu diinkubasi selama 24 jam. Jumlah kematian larva kemudian segera dihitung di bawah kaca pembesar dan terpapar cahaya. Kematian dari larva *A. salina* selanjutnya dihitung untuk menentukan nilai LC_{50}.

3.4.6 *Thawing Cell* dan Pembuatan Media Kultur Sel MCF-7

Sel MCF-7 pada penelitian ini berasal dari Universitas Padjajaran, Bandung, Fakultas Farmasi, Laboratorium Sitogenetika dan Genetika Molekuler. Sampel berasal dari induk yang sama, tidak terkontaminasi, dan dapat mencapai konfluensi 80%-90%. Tabung kriovial yang berisi sel MCF-7 ditempatkan ke dalam *waterbath* pada suhu 37^{o}C hingga mencair, untuk proses *thawing cell* sebelum media kultur disiapkan. Selain itu, media seperti 10% 5 mL *fetal bovine serum* (FBS), 0,5 mL *Penisilin Streptomis*in, disiapkan sebelum ditambahkan ke dalam *Dulbecco's Modified Eagles' Medium* (DMEM) hingga 50 mL, yang telah dipanaskan

selama 5 menit di *waterbath*. Selanjutnya, media pertumbuhan dan sel digabungkan dalam *conical tube* dan disentrifugasi selama 4 menit. Buang supernatan dan lanjutkan menambahkan media sampai volume akhir suspensi sel uji tercapai. Campuran yang dihasilkan kemudian diinkubasi dalam 24 jam, untuk memfasilitasi perlekatan sel pada dinding *flask*, menurut *Cancer Chemoprevention Research Center* (CCRC, 2009).

3.4.7 Uji Viabilitas dan Perhitungan Sel

Setelah masa inkubasi 24 jam dalam *flask*, sel dikeluarkan dari inkubator dan dibilas dengan *phosphate buffer saline* (PBS), dan ditambahkan dengan 3 ml tripsin. Sel selanjutnya diinkubasi kembali selama 5 menit. Selanjutnya, sel dipindahkan ke *conical tube* untuk disentrifugasi. Sampel sel sebanyak 10 µl dicampur dengan 10 µl larutan *trypan blue.* Perhitungan sel dilakukan di bawah mikroskop menggunakan *Hemocytometer* dengan memilih 4 kamar hitung untuk menentukan viabilitas sel dimana sel hidup akan tampak tidak berwarna.

Rataan sel	$= \frac{\text{Jumlah sel semua kamar hitung}}{4}$
Jumlah sel hitung/ml	= Rataan sel x faktor pengenceran x 10^4
Total sel yang diperlukan	= Jumlah sumuran x jumlah sel per sumuran
Volume transfer panen sel	$= \frac{\text{Jumlah total sel yang diperlukan}}{\text{Jumlah sel hitung/ml}}$

3.4.8 Uji Sitotoksik dengan Metode WST-8 *(2-(2-methoxy-4-nitrophenyl)-3-(4-nitrophenyl)-5-(2,4-disulphophenyl)-2H-tetrazolium, monosodium salt)*.

Uji sitotoksik metode WST-8 dilakukan dengan membuat larutan stok dengan cara melarutkan 10 mg ekstrak etanol *C. rotundata* dan *P. australis* dengan 1 mL DMSO 1%. Sedangkan taurin dengan cara melarutkan 10 mg bubuk taurin dalam 1 mL aquades. Larutan stok yang diperoleh selanjutnya

diencerkan dengan konsentrasi 62,5; 125; 250; 500; 1000; dan 2000 ppm. Untuk uji sitotoksik, dalam setiap sumuran diberikan 100 µl suspensi sel, kemudian plate diberikan media kultur DMSO, FBS, dan ekstrak serta taurin dengan masing-masing konsentrasi yang telah disiapkan sebanyak 50 µl. Plate kemudian diinkubasi lagi selama 24 jam pada suhu 36ºC dalam inkubator CO_2. Setelah masa inkubasi 24 jam, sel yang telah dikultur diambil dan diperiksa di bawah mikroskop. Selain itu, reagen *cell countingket-8* ditambahkan ke sel di dalam *well plate* dengan tujuan mewarnai sel di dalam reagen. Sekitar 1000 µl sel countingket-8 ditambahkan ke dalam plate. Pemberian sel *countingket-8* berkisar 1000 µl ke dalam plate. Plate kemudian ditempatkan dalam inkubator CO_2 pada suhu 36 ºC selama 1,5-2 jam untuk memfasilitasi metabolisme sel. Inkubasi kembali dalam waktu 1,5- 2 jam pada suhu 36ºC di inkubator CO_2. sel yang hidup akan bermetabolime. Selanjutnya, absorbansi sel hidup ditentukan dengan menggunakan *Nano drop reader* pada panjang gelombang 450 nm, sesuai dengan *Cancer Chemoprevention Research Center* (CCRC, 2013)

3.4.9 Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Salampe *et al*., (2019) menguraikan metode untuk menilai aktivitas antioksidan senyawa dengan mengukur kemampuannya dalam meredam radikal bebas yang distabilkan dengan DPPH. Hal ini melibatkan pelaksanaan uji aktivitas antioksidan berdasarkan kapasitas sampel untuk menurunkan kadar DPPH.

3.4.9.1 Pembuatan Larutan Stok DPPH 0,4 mM

Sejumlah 15,8 mg DPPH dilarutkan dalam etanol p.a. hingga tanda kalibrasi labu ukur 100 mL. Selanjutnya untuk mencegah kerusakan akibat paparan cahaya, larutan DPPH harus dilindungi dengan *aluminium foil* atau disimpan dalam botol gelap, seperti yang direkomendasikan oleh Tambunan *et al.,* (2012) dan disimpan dalam lemari es.

3.4.9.2 Pengukuran Serapan Larutan Blanko DPPH Panjang Gelombang Maksimum

Sebanyak 1 mL larutan DPPH 0,4mM ditambahkan metanol absolut. Larutan yang dihasilkan dicampur secara menyeluruh dan dibiarkan diinkubasi selama 30 menit, kemudian serapan diukur pada panjang gelombang 500-600 nm dengan spektrofotometer UV-vis sampai panjang gelombang maksimum 516 nm tercapai.

3.4.9.3 Pembuatan Larutan Stok dan Pengukuran Aktivitas Antioksidan Ekstrak dengan Metode DPPH

Larutan stok dibuat dengan cara melarutkan 50 mg masing-masing taurin dan ekstrak kental *C. rotundata* serta *P. australis* dengan 50 mL etanol sambil dihomogenkan, sehingga diperoleh konsentrasi larutan stok 1000 ppm. Larutan stok 1000 ppm digunakan untuk membuat larutan standar ekstrak dengan konsentrasi 50 ppm, 75 ppm, 100 ppm, 125 ppm, dan 150 ppm. Labu ukur digunakan untuk mencapai volume akhir yang diinginkan yaitu 5 mL, yang kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi.

Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan memipet 1 mL masing-masing konsentrasi ekstrak *C. rotundata, P. australis*, dan taurin (50 ppm, 75 ppm, 100 ppm, 125 ppm, dan 150 ppm). Selanjutnya, ditambahkan 1 mL larutan pereaksi DPPH (0,4 mM), dan tabung reaksi diisi dengan metanol absolut secukupnya hingga menjadi 5 mL kemudian dihomogenkan dan disimpan selama 30 menit dengan menutup seluruh permukaan tabung menggunakan *aluminium foil.* Setelah itu, absorbansi diukur pada panjang gelombang maksimum 516 nm dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

3.4.9.4 Pembuatan Larutan Standar dan Pengukuran Aktivitas Antioksidan Vitamin C (Asam Askorbat) sebagai Kontrol Positif

Pada pengujian ini, asam askorbat, atau vitamin C, berfungsi sebagai pembanding dan kontrol positif untuk mengukur seberapa efektif kapasitas antioksidan dari ekstrak sampel dibandingkan dengan vitamin C. Inggrid & Santoso, (2014) menyatakan bahwa senyawa asam askorbat merupakan salah satu golongan antioksidan alami yang paling banyak terdapat dalam tumbuhan. Proses pembuatan larutan standar asam askorbat dengan menimbang 50 mg asam askorbat dan melarutkannya dalam 50 mL aquades untuk membuat larutan stok 1000 ppm. Setelah memipet 1 mL larutan stok, 10 mL air suling ditambahkan ke volume akhir untuk mencapai konsentrasi 100 ppm. Dengan memipet sebanyak 0,1 mL, 0,2 mL, 0,3 mL, 0,4 mL, dan 0,5 mL dan volumenya dibuat hingga 5 mL, larutan stok diencerkan hingga 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, dan 10 ppm.

Untuk menguji aktivitas antioksidan, 1 mL larutan vitamin C dengan konsentrasi yang berbeda (2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, dan 10 ppm) dipipet ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya, 1 mL DPPH (0,4 mM) ditambahkan, dan campuran dihomogenisasi dengan 5 mL metanol absolut. Aluminium foil digunakan untuk menutupi seluruh tabung reaksi, dan setelah setiap sampel dibuat tiga kali, sampel diinkubasi selama tiga puluh menit sebelum disimpan di tempat yang gelap. Selanjutnya, pada panjang gelombang maksimum 516 nm, absorbansi diukur dengan spektrofotometer UV-Vis.

3.5 Analisis Data

Data yang diperoleh dari berbagai uji terlebih dahulu dianalisis distrubusi normalitasnya menggunakan software SPSS version 26.0. Analisis *Two Way* ANOVA pada selang kepercayaan 5% untuk membandingkan lebih dari 2 perlakuan. Namun, jika data tidak berdistribusi normal maka dilakukan analisis data dengan menggunakan uji *non parametric test* yakni uji *Kruskal*

Wallis. Uji Post Hoc dilakukan jika ada perbedaan yang signifikan ($p<0,05$).

3.5.1 Uji Fitokimia

Analisis kualitatif dilakukan guna menganalisis senyawa bioaktif dengan melibatkan penggunaan berbagai larutan pereaksi untuk mendeteksi keberadaan senyawa tersebut melalui pembentukan endapan, busa, dan perubahan warna. Selanjutnya, sampel-sampel tersebut dianalisis secara deskriptif untuk pemeriksaan lebih lanjut.

3.5.2 Identifikasi Senyawa dengan FTIR *(Fourier-Transform Infrared Spectroscopy)*

Analisis dilakukan dengan mencocokkan pola spektrum bilangan gelombang yang diperoleh dari analisis FTIR (*Fourier-Transform Infrared Spectroscopy*) dan data frekuensi dari literatur yang selanjutnya diperiksa secara deskriptif.

3.5.3 Uji Toksisitas dengan Metode BSLT

Persentase kematian larva *A. salina* pada setiap konsentrasi uji setelah 24 jam dihitung dengan menggunakan rumus yang dikembangkan oleh Meyer *et al*., (1982), untuk menentukan perhitungan toksisitas sebagai berikut:

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

Meyer *et al*., (1982) jika larva *A. salina* ditemukan mati pada kontrol, persentase kematian dihitung dengan menggunakan rumus Abbot:

$$\%\ kematian\ larva = \frac{(larva\ mati\ pada\ uji - larva\ mati\ pada\ kontrol)}{Jumlah\ larva\ total} \text{ x } 100\%$$

Data kemudian diolah untuk mendapatkan persamaan regresi menggunakan *Microsoft Office Excel* dengan membuat grafik persamaan garis lurus yang menggambarkan hubungan antara nilai probit dan log konsentrasi (Meyer

et al., 1982) sebagai berikut:

$$y = a + bx$$

Keterangan:

y = nilai probit

a = konsentrasi regresi

x = log konsentrasi

b = kemiringan regresi

Dengan memasukkan nilai 5 sebagai y, nilai LC_{50} dapat dihitung dari persamaan garis lurus. Berdasarkan nilai probabilitas kematian 50% hewan uji, nilai 5 ditentukan. Konsentrasi log kemudian dihasilkan sebagai nilai x. Antilog dari nilai x adalah nilai LC_{50}. Menurut Wagner, (1993) senyawa dengan LC_{50} < 1 ppm memiliki sifat toksisitas tinggi, LC_{50} 1-100 ppm dikategorikan sedang, dikategorikan rendah jika memiliki nilai LC_{50} >100 ppm, dan LC_{50} >1000 ppm dianggap tidak toksik.

3.5.4 Uji Sitotoksik Sel MCF-7

Hasil uji sitotoksik ditentukan dengan menentukan persentase viabilitas sel kanker MCF-7. Rumus berikut ini digunakan untuk menerjemahkan data absorbansi dari uji sel sitotoksik ke dalam persentase sel yang hidup:

$$\text{Persentase Viabilitas Sel} = \frac{(Absorbansi\ perlakuan - Absorbansi\ kontrol\ media)}{(Absorbansi\ kontrol\ sel - Abrobansi\ kontrol\ media)} \text{ x } 100\%$$

Analisis aktivitas sitotoksik dilakukan dengan menggunakan program *Microsoft Excel* dan dinyatakan sebagai IC_{50} yaitu konsentrasi yang mampu mengakibatkan kematian 50% dari populasi sel. Nilai IC_{50} kemudian ditentukan dengan mengubah data menjadi nilai probit (CCRC, 2013).

3.5.5 Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

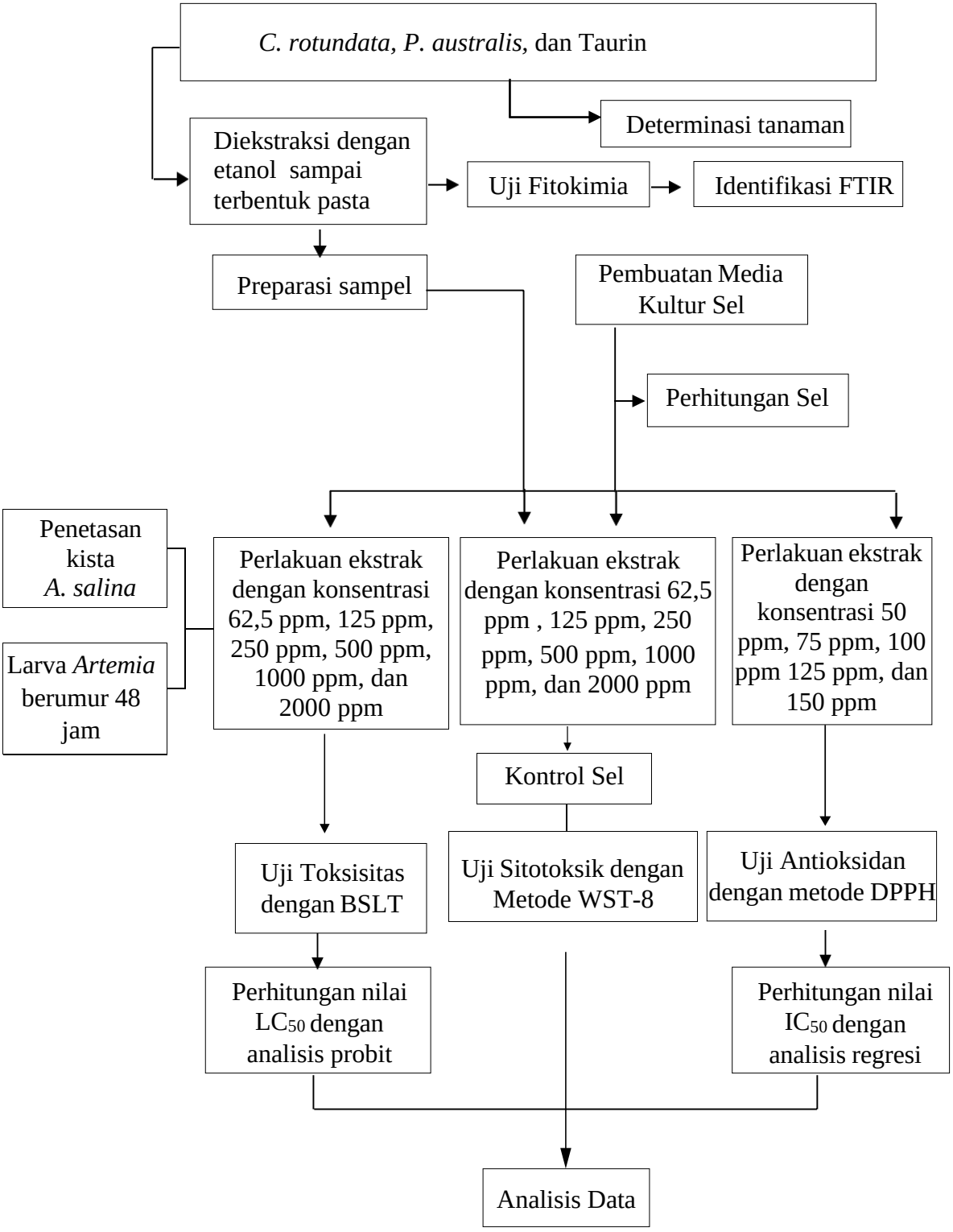
Nilai absorbansi yang diukur pada spektrofotometer UV-Vis memberikan data dari uji aktivitas antioksidan yang dilakukan dengan teknik DPPH.

Nilai absorbansi kontrol (absorbansi larutan DPPH) dibandingkan dengan nilai absorbansi sampel atau standar pembanding asam askorbat. Perhitungan berikut digunakan untuk menentukan persentase aktivitas antioksidan, sesuai dengan (Siesler, 2017):

$$\%\ aktivitas\ antioksidan = \frac{Abs.kontrol - Abs.perlakuan}{Abs.kontrol} \times 100\ \%$$

Analisis regresi kemudian dilakukan dengan membuat grafik yang menunjukkan persen penghambatan (y) dan konsentrasi sampel (x). Persamaan regresi y = ax + b digunakan untuk menghitung IC_{50} ekstrak dan asam askorbat. Karena IC_{50} adalah konsentrasi yang dapat menurunkan 50% radikal bebas DPPH, maka nilai y pada rumus tersebut adalah 50, dan nilai x menunjukkan nilai IC_{50} (Rahmayani *et al*., 2013). Tingkat aktivitas antioksidan meningkat seiring dengan penurunan nilai IC_{50}. Suatu zat dianggap memiliki efek antioksidan yang sangat kuat jika nilai IC_{50} > 50 ppm, kuat jika antara 50-100 ppm, moderat jika antara 100-150 ppm, dan lemah jika nilai IC_{50} 150-200 ppm, menurut Molyneux, (2004).

3.6 Diagram Alir Penelitian



Gambar 7. Diagram Alir Penelitian

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Adapun kesimpulan yang diperoleh dalam penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Ekstrak etanol lamun *C. rotundata* menunjukkan hasil positif mengandung senyawa metabolit sekunder saponin, steroid, tanin dan flavonoid, sedangkan ekstrak etanol makroalga *P. australis* mengandung saponin, steroid, tanin, alkaloid, dan flavonoid.
2. Ekstrak etanol lamun *C. rotundata,* makroalga *P. australis,* dan senyawa taurin berpotensi sebagai antikanker terhadap larva *A. salina* dengan kategori toksik rendah dengan nilai LC_{50} yang diperoleh berkisar antara 100 – 1000 ppm yaitu 109,58 ppm, 105,72 ppm, dan 133,81 ppm.
3. Ekstrak etanol lamun *C. rotundata* dan makroalga *P. australis* pada uji *in vitro* terhadap kultur sel kanker payudara MCF-7 bersifat sitotoksik dengan nilai IC_{50} masing-masing sebesar 1219,72 ppm dan 1189,59 ppm dan termasuk pada kategori kurang aktif, sedangkan taurin tidak menunjukkan adanya aktivitas sitotoksik.

5.2 Saran

1. Untuk mendapatkan pemahaman yang lebih komprehensif mengenai profil senyawa bioaktif sebagai bahan antikanker pada lamun (*C. rotundata*) dan makroalga (*P. australis*), sangat penting untuk mengkarakterisasi dan memurnikan senyawa metabolit sekunder serta melakukan analisis kuantitatif dengan menggunakan teknik pengukuran dan instrumen analisis

yang akurat.

2. Untuk mengetahui tingkat keamanan senyawa uji terhadap sel normal dalam pengujian sitotoksik dan untuk memungkinkan pengembangannya menjadi agen antikanker yang selektif dan efektif terhadap sel kanker, maka perlu dilakukan pengujian efek sitotoksik ekstrak etanol lamun (*C. rotundata*), makroalga (*P. australis*), dan senyawa taurin terhadap kultur sel kanker jenis lain.
3. Perlu dilakukan pengelolaan dan konservasi sumber daya wilayah pesisir secara terpadu pada perairan pulau Tegal Mas, Kecamatan Teluk Pandan, Lampung Selatan sehingga sumber daya yang ada didalamnya tetap terjaga kelestariannya dan dapat dimanfaatkan untuk masyarakat luas.

DAFTAR PUSTAKA

Abasa, S., & Ishak, P. 2023. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Senggani (*Melastoma polyanthum* Bl.) terhadap Larva Udang (*A. salina* Leach) dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Pharmacology And Pharmacy Scientific Journals*, *2*(1), 24–29.

Abatzopoulos, T. J., Beardmore, J. A., Clegg, J. S., & Sorgeloos, P. 2002. *Artemia : Basic and Applied Biology*. Kluwer Academic Publishers.

Abdillah, M., Nazilah, N. R. K., & Agustina, E. 2017. Identifikasi Senyawa Aktif dalam Ekstrak Metanol Daging Buah Kurma Jenis Ajwa (*Phoenix dactylvera* L.). *Research Report*.

Anam, C., Sirojudin, & Firdausi, K. S. 2007. Analisis Gugus Fungsi pada Sampel Uji, Bensin dan Spiritus Menggunakan Metode Spektroskopi FTIR. *Berkala Fisika*, *10*(1), 79–85.

Andriani, S., Widiastuti, E. L., Nurcahyani, N., Rosa, E., & Busman, H. 2021. Cytotoxic Activity of Methanol Extraction of *Avicennia marina* and Taurin in The HeLa Cancer Cells. *Journal of Physics: Conference Series*. https://doi.org/10.1088/1742-6596/1751/1/012045

Arafah, A. B. R., & Notobroto, H. B. 2017. Faktor yang Berhubungan dengan Perilaku Ibu Rumah Tangga Melakukan Pemeriksaan Payudara Sendiri (SADARI). *The Indonesian Journal of Public Health*, *12*(2), 143–153.

Arifianti, R., Widiastuti, E. L., & Nurcahyani, E. 2019. Efek Ekstrak Metanol Makroalga Merah (*Eucheuma cottonii)*, Gambir Laut (*Clerodendrum inerme*), Dan Taurin Terhadap Profil Protein Plasma Darah Mencit Jantan (*Mus musculus* L.) Yang Diinduksi Senyawa Karsinogen Benzo (A) Piren. In *Prosiding Seminar Nasional Tumbuhan Obat Indonesia Ke 55* (Vol. 1, No. 1, pp. 1-8). Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat-Penjaminan Mutu Pendidikan (LPPM-PMP) Universitas Tidar.

Arifin, A. F., Nurrachmi, I., & Efriyeldi. 2020. Komponen Fitokimia dan Toksisitas Lamun *Thalassia hemprichii* terhadap *A. salina Jurnal Perikanan Dan Kelautan*, *25*(3), 163–171.

Arimbi WN, Andi HA, Afghani J. Uji Toksisitas dengan Metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test) Terhadap Hasil Fraksinasi Ekstrak Kulit Buah Tampoi (*Baccaurea macrocarpa*). *Jurnal Kimia Khatulistiwa.* 2015:4(1);75-83.

Aslantürk, Ö. S. 2018. In Vitro Cytotoxicity and Viability Assays: Principles , Advantages , and Disadvantages. In M. L. Larramendy & S. Soloneski (Eds.), *Genotoxicity - A Predictable Risk to Our Actual World* (pp. 64–80). https://doi.org/10.5772/intechopen.71923

American Type Culture Collection (ATCC). 2023. *Cell Biology, ATCC. Number: HTB-22TM, Designations: MCF- 7*. American Type Culture Collection.

Aulia, A., Kurnia, S. K., & Mulyana, D. 2021. Identifikasi Morfologi Beberapa Jenis Anggota Phaeophyta di Pantai Palem Cibeureum, Anyer, Banten. *Tropical Bioscience: Journal of Biological Science*, *1*(1), 21–28.

Avryna, P., Wahid, I., & Fauzar. 2019. Invasive Carcinoma Mammae dengan Metastasis Orbita , Tulang dan Paru. *Jurnal Kesehatan Andalas*, *8*(1), 89–93.

Bareta, A. R., Widiastuti, E. L., & Nurcahyani, N. 2023. Uji Sitotoksisitas Taurin dan Ekstrak Etanol Makroalga Cokelat dengan Metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test). *Berita Biologi*, *22*(2), 153–157.

Bary, K., Elamraoui, B., Laasri, F. E., Mzibri, M. El, Benbacer, L., & Bamhaoud, T. 2018. Cytotoxic Effect of Extracts From The Moroccan Marine Sponge on Human Prostate Cancer Cell Line. *International Journal of New Technology and Research*, *4*(1), 74–78. www.ijntr.org

Bintoro, A., Ibrahim, A. M., & Situmeang, B. 2017. Analisis dan Identifikasi Senyawa Saponin dari Daun Bidara (*Zhizipus mauritania* L.). *Jurnal ITEKIMA*, *2*(1), 84–94.

Bonifácio, B. V., Vila, T. V. M., Masiero, I. F., Silva, P. B. da, Silva, I. C. da, Lopes, E. de O., Ramos, M. A. dos S., Souza, L. P. de, Vilegas, W., Pavan, F. R., Chorilli, M., Lopez-Ribot, J. L., & Bauab, T. M. 2019. Antifungal Activity of a Hydroethanolic Extract From Astronium urundeuva Leaves Against *Candida albicans* and *Candida glabrata*. *Frontiers in Microbiology*, *10*.

Bray, F., Ferlay, J., & Soerjomataram, I. 2018. *Global Cancer Statistics 2018 : GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries*. 394–424. https://doi.org/10.3322/caac.21492

Cascione, M., Matteis, V. De, Mandriota, G., Leporatti, S., & Rinaldi, R. 2019. Acute Cytotoxic Effects on Morphology and Mechanical Behavior in MCF-7 Induced by TiO 2 NPs Exposure. *International Journal of Molecular Sciences*, *20*.

CCRC (Cancer Chemoprevention Research, & Center). 2009. *Prosedur Pembuatan Media Kultur*. http://ccrc.farmasi.ugm.ac.id diakses tanggal 23 Januari 2023

CCRC (Cancer Chemoprevention Research, & Center). 2013. *Prosedur Uji Sitotoksik*. http://ccrc.farmasi.ugm.ac.id diakses tanggal 23 Januari 2023.

Childs, A. C., Phaneuf, S. L., Dirks, A. J., Phillips, T., & Leeuwenburgh, C. 2002. Doxorubicin Treatment in Vivo Causes Cytochrome c Release and Cardiomyocyte Apoptosis, As Well As Increased Mitochondrial Efficiency, Superoxide Dismutase Activity, and Bcl-2:Bax Ratio1. *Cancer Research*, *62*(16), 4592–4598.

Comşa, Ş., Cîmpean, A. M., & Raica, M. 2015. The Story of MCF-7 Breast Cancer Cell Line: 40 Years of Experience in Research. *Anticancer Research*, *35*(6), 3147–3154.

Delnavazi, M. R., Saiyarsarai, P., Jafari-Nodooshan, S., Khanavi, M., Tavakoli, S., Hadavinia, H., & Yassa, N. 2018. Cytotoxic Flavonoids from the Aerial Parts of *Stachys lavandulifolia* Vahl Mohammad-Reza. *Pharmaceutical Sciences*, *24*(4), 332–339. https://doi.org/10.15171/PS.2018.47

Devi, D. R., & Battu, G. R. 2019. Qualitative Phytochemical Screening and FTIR Spectroscopic Analysis of *Grewia tilifolia* (Vahl) Leaf Extracts. *International Journal of Current Pharmaceutical Research*, *11*(4), 100–107.

Diananda, R. (2009). *Mengenal Seluk Beluk Kanker*. Katahati.

Djajanegara, I., & Wahyudi, P. 2009. Pemakaian Sel Hela dalam Uji Sitotoksisitas Fraksi Kloroform dan Etanol Ekstrak Daun. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, *7*(1), 7–11.

Dona, R., Frimayanti, N., Ikhtiarudin, I., Iskandar, B., Maulana, F., & Silalahi, N. T. 2019. Studi In Silico, Sintesis, dan Uji Sitotoksik Senyawa P-Metoksi Kalkon terhadap Sel Kanker Payudara MCF-7. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, *6*(3), 243–249. https://doi.org/10.25077/jsfk.6.3.243-249.2019

Doughari, J. H. 2012. *Phytochemicals: Extraction Methods, Basic Structures and Mode of Action as Potential Chemotherapeutic Agents*. Rijeka, Croatia: INTECH Open Access Publisher. https://doi.org/10.5897/AJB11.1948

Drewes, C. 2006. Quantitative Investigations of Hatching in Brine Shrimp Cysts. In M. A. O'Donnell (Ed.), *in Tested Studies for Laboratory Teaching. Proceedings of the 27th Workshop/Conference of the Association for Biology Laboratory Education (ABLE)* (Vol. 27, pp. 299–312).

Dumitrascu, M. 2011. *A. salina*. *Balneo-Research Journal*, *2*(4), 119–122.

Dwijayanti, E., Alimuddin, A. H., & Wibowo, M. A. 2014. Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Sitotoksik pada Kulit Batang Tampoi *(Baccaurea macrocarpa*) terhadap *A. salina* Leach dengan Metode BSLT. *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, *3*(4), 6–10.

Elhardallou, S. B. 2011. Cytotoxicity and Biological Activity of Selected Sudanese Medicinal Plants. *Research Journal of Medicinal Plants*, *5*(3), 201–229.

Endarini, L. H. 2016. Farmakognisi dan Fitokimia. Jakarta: Pusdik SDM Kesehatan.

Ergina, Nuryanti, S., & Pursitasari, I. D. 2014. Uji Kualitatif Senyawa Metabolit Sekunder pada Daun Palado (*Agave angustifolia*) yang diekstraksi dengan Pelarut Air dan Etanol. *Jurnal Akademi Kimia*, *3*(3), 165–172.

Fardiaz, M. A., Az-zahro, K. N., Dzulqaidah, I., Savitri, D. A., Pratama, I. S., & Hidayat, L. H. 2023. Acute Toxicity Test of The Jamu *Turmeric tamarind* on *A. salina* Leach Larvae. *Jurnal Biologi Tropis*, *23*(3), 263–269.

Fawzy, G. A., Al-Taweel, A. M., Perveen, S., Khan, S. I., & Al-Omary, F. A. 2016. Bioactivity and Chemical Characterization of *Acalypha fruticosa* Forssk . growing in Saudi Arabia. *Saudi Pharmaceutical Journal*. https://doi.org/10.1016/j.jsps.2016.05.004

Fenton, J. J. 2001. *Toxicology: A Case-Oriented Approach* (1st Editio). CRC Press.

Friedhelm. 2012. Ecology of Insular Southeast Asia. Diterjemahkan dan diterbitkan oleh Salemba teknika :Jakarta.

Gajardo, G. M., & Beardmore, J. A. 2012. The Brine Shrimp *Artemia* : Adapted to Critical Life Conditions. *Frontiers in Physiology*, *3*, 1–8. https://doi.org/10.3389/fphys.2012.00185

Gest, C., Joimel, U., Huang, L., Pritchard, L. L., Petit, A., Dulong, C., Buquet, C., Hu, C. Q., Mirshahi, P., Laurent, M., Fauvel-Lafève, F., Cazin, L., Vannier, J. P., Lu, H., Soria, J., Li, H., Varin, R., & Soria, C. 2013. Rac3 Induces A Molecular Pathway Triggering Breast Cancer Cell Aggressiveness: Differences in MDA-MB-231 and MCF-7 Breast Cancer Cell Lines. *BMC Cancer*, *13*(1), 63. https://doi.org/10.1186/1471-2407-13-63

Ghozaly, M. R., & Safitri, E. 2016. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak N-Heksan, Etil Asetat dan Metanol dari Varietas Umbi Wortel (*Daucus carota* L.) dengan Metode DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil). *Sainstech Farma*, *9*(2), 13–18.

Gustavina, N. L. G. W. B., Dharma, I. G. B. S., & Faiqoh, E. 2017. Identifikasi Kandungan Senyawa Fitokimia Pada Daun dan Akar Lamun di Pantai Samuh Bali. *Journal of Marine and Aquatic Sciences*, *4*(2), 271. https://doi.org/10.24843/jmas.2018.v4.i02.271-277

Gusungi, D. E., Maarisit, W., Hariyadi, H., & Potalangi, N. O. 2020. Studi Aktivitas Antioksidan dan Antikanker Payudara (MCF-7) Ekstrak Etanol Daun Benalu Langsat *Dendrophthoe pentandra*. *Biofarmasetikal Tropis*, *3*(1), 166–174. https://doi.org/10.55724/j.biofar.trop.v3i1.274

Habli, Z., Toumieh, G., Fatfat, M., Rahal, O. N., & Gali-Muhtasib, H. 2017. Emerging Cytotoxic Alkaloids in the Battle against Cancer: Overview of

Molecular Mechanisms. *Molecules*, *22*(250), 1–22. https://doi.org/10.3390/molecules22020250

Hadisaputri, Y. E., Cahyana, N., Muchtaridi, M., Lesmana, R., Rusdiana, T., Chaerunisa, A. Y., Sufiawati, I., Rostinawati, T., & Subarnas, A. 2020. Apoptosis‐Mediated Antiproliferation of A549 Lung Cancer Cells Mediated by *Eugenia aquea* Leaf Compound and Its Molecular Onteraction with Caspase Receptor in Molecular Docking Simulation. *Oncology Letters*, *19*(5), 3551–3557. https://doi.org/10.3892/ol.2020.11466

Hamrun, N., Nabilah, T., Hasyim, R., Ruslin, M., Dammar, I., & Arianto, M. A. A. 2020. Toxicity Test of Bioactive Red Alga Extract *Eucheuma spinosum* on Shrimp *A. salina* Leach. *Systematic Reviews in Pharmacy*, *11*(5), 672–676.

Haryani, T. S., Triastinurmiatiningsih, & Sari, B. L. 2020. Uji Antioksidan Ekstrak *P. australis* dan Efek Toksisitas Akut terhadap Mencit (*Mus muculus*). *Fitofarmaka: Jurnal Ilmiah Farmasi*. 12(1): 1–8.

Haryanti, S., & Widiyastuti, Y. 2017. Aktivitas Sitotoksik pada Sel MCF-7 dari Tumbuhan Indonesia untuk Pengobatan Tradisional Kanker Payudara. *Media Litbangkes*, *27*(4), 247–254.

Haryono, S. J., Anwar, S. L., & Salim, A. 2018. *Dasar-Dasar Molekuler Kanker Bagi Praktisi Klinis.* Yogyakarta: Gadjah Mada University Pess

Hausman, D. M. 2019. What Is Cancer ? *Perspectives in Biology and Medicine*, *62*(4), 778–784.

Herawati, A. R., Suprapto, G., & Wahono, J. D. 2019. Pemberdayaan Pulau-Pulau Kecil Terluar Sebagai Garda Terdepan Wilayah Negara Kesatuan Republik Indonesia. *Journal of Public Policy Applied Administration*, *1*(2), 77–84.

Hernawan, U.W., Sjafrie, N.D.M., Supriyadi, I.. H., Iswari, M.Y., Anggraini, K., Rahmat dan Suyarso. 2017. Status Padang Lamun Indonesia 2017. Jakarta. 24 hlm

Holleczek, B., Jansen, L., & Brenner, H. 2013. Breast Cancer Survival in Germany : A Population-Based High Resolution Study from Saarland. *PLOS ONE*, *8*(7), 1–9. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0070680

Infodatin. 2016. Infodatin Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI Oktober 2016 Bulan Peduli Kanker Payudara. Jakarta: Kemenkes RI

Inggrid, H. M., & Santoso, H. 2014. Ekstraksi Aantioksidan dan Senyawa Aktif dari Buah Kiwi (*Actinidia deliciosa*). *Research Report-Engineering Science*, *2*.

Ismarani. 2012. Potensi Senyawa Tannin Dalam Menunjang Produksi Ramah

Lingkungan. *Jurnal Agribisnis Dan Pengembangan Wilayah*, *3*(2), 46–55.

Ismaryani, A., Salni, Setiawan, A., & Triwani. 2018. Aktivitas Sitotoksik, Antiproliferasi dan Penginduksi Apoptoksis Daun Salung (P*sychotria viridiflora* Reinw. ex. Blume) terhadap Sel Kanker Serviks *HeLa*. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, *16*(2), 206–213.

Istiqomah, E. A. L. 2023. Aktivitas Antikanker Ekstrak Etanol Lamun (*C. rotundata* dan *Enhalus acoroides*) serta Taurin sebagai Supresor P21 terhadap Sel Hela. *Tesis,* Universitas Lampung.

Januar, H. I., Dewi, A. S., Marraskuranto, E., & Wikanta, T. 2012. In Silico Study of Fucoxanthin As a Tumor Cytotoxic Agent. *Journal of Pharmacy & Bioallied Sciences*, *4*(1), 56–60. https://doi.org/10.4103/0975-7406.92733

Jayathilake, D. R. M., & Costello, M. J. 2018. A Modelled Global Distribution of The Seagrass Biome. *Biological Conservation*, *226*, 120–126. https://doi.org/10.1016/j.biocon.2018.07.009

Jelita, S. F., Setyowati, G. W., Ferdinand, M., Zuhrotun, A., & Megantara, S. 2020. Uji Toksisitas Infusa *Acalypha siamensis* dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Farmaka*, *18*(1), 14–22.

Jeong, J. S., & Choi, M. J. 2019. The Intake of Taurine and Major Food Source of Taurine in Elementary School Children in Korea. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, *1155*, 349–358.

Julianto, T. S. 2019. *Fitokimia Tinjauan Metabolit Sekunder dan Skrining Fitokimia* (Pertama). Universitas Islam Indonesia.

Kanwar, A. S. 2007. Brine Shrimp (*A. salina*) a Marine Animal for Simple and Rapid Biological Assays. *Chinese Clinical Medicine*, *2*(4), 236–240.

Kautsari, N., & Yudi Ahdiansyah. 2016. Kepadatan Biomassa dan Kandungan Alginat *P. australis* di Perairan Sumbawa. *Jurnal Perikanan Dan Kelautan*, *6*(1), 13–20.

Kepel, R. C., Mantiri, D. M. H., Rumengan, A., & Nasprianto. 2018. Biodiversitas Makroalga di Perairan Pesisir Desa Blongko, Kecamatan Sinonsayang, Kabupaten Minahasa Selatan. *Jurnal Ilmiah Platax*, *6*(1), 174–187.

Keputusan Menteri Kelautan dan Perikanan Nomor : KEP.10/MEN/2002 tentang Pedoman Umum Perencanaan Pengelolaan Pesisir Terpadu.

Kim, D. S., Jeon, B. K., Lee, Y. E., Woo, W. H., & Mun, Y. J. 2012. Diosgenin Induces Apoptosis in HepG2 Cells through Generation of Reactive Oxygen Species and Mitochondrial Pathway. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2012*. https://doi.org/10.1155/2012/981675

Kumar, S. R., Hosokawa, M., & Miyashita, K. 2013. Fucoxanthin: A Marine

Carotenoid Exerting Anti-Cancer Effects by Affecting Multiple Mechanisms. *Marine Drugs*, *11*, 5130–5147. https://doi.org/10.3390/md11125130

Kuo, J. & A.J McComb. 1989. Seagrass Taxonomy, Structure and Development. In: Larkum, A.W.D., A.J. McComb & S.A. Shepherd (Eds.). Biology of Seagrass: A Treatise on the Biology of Seagrasses with special reference to Australian Region. Aquatic Plant Studies No. 2. Elsevier. Amsterdam. 6-73.

Kuo J., Cambridge M. L., McKenzie L. L. & Coles R. G. 2018: Taxonomy of Australian seagrasses. – Pp. 759–781 in: Larkum A. W. D., Kendrick G. A. & Ralph P. J. (ed.), Seagrasses of Australia. Structure, ecology and conservation. – Cham: Springer International Publishing AG.

Kurniawan, H., & Ropiqa, M. 2021. Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Daun Ekor Kucing (*Acalypha hispida* Burm . f .) dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Journal Syifa Sciences and Clinical Research*, *3*(2), 52–62.

Kusumastuti, A. (2011). Pengenalan Pola Gelombang Khas dengan nterpolasi. *Jurnal Matematika Murni Dan Aplikasi*, *2*(1).

Lantah, P. L., Montolalu, L. A., & Reo, A. R. 2017. Kandungan Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Rumput Laut *Kappaphycus alvarezii*. *Media Teknologi Hasil Perikanan*, *5*(3), 73-79.

Lee, A. V., Oesterreich, S., & Davidson, N. E. 2015. MCF-7 Cells — Changing the Course of Breast Cancer Research and Care for 45 Years. *Journal of the National Cancer Institute*, *107*(7). https://doi.org/10.1093/jnci/djv073

Limantara, L., & Heriyanto. 2010. Studi Komposisi Pigmen dan Kandungan Fukosantin Rumput Laut Cokelat dari Perairan Madura dengan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi. *Ilmu Kelautan*, *15*(1), 23–32.

Lin, J., Huang, L., Yu, J., Xiang, S., Wang, J., Zhang, J., Yan, X., Cui, W., He, S., & Wang, Q. 2016. Fucoxanthin, a Marine Carotenoid, Reverses Scopolamine-Induced Cognitive Impairments in Mice and Inhibits Acetylcholinesterase in Vitro. *Marine Drugs*, *14*(67). https://doi.org/10.3390/md14040067

Lisdawati, V., Wiryowidagdo, S., & Kardono, L. B. S. 2006. Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) dari Berbagai Ekstrak Daging Buah dan Kulit Biji Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*). *Bulletin Penelitian Kesehatan*, *34*(3), 111–118.

Maharany, F., Nurjanah, Suwandi, R., Anwar, E., & Hidayat, T. 2017. Kandungan Senyawa Bioaktif Rumput Laut *P. australis* dan *Eucheuma cottonii* sebagai Bahan Baku Krim Tabir Surya. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, *20*(1), 10–17.

Malau, J., Utami, Y. P., Idrus, I., Afriani, T., Sammulia, S. F., Septiani, D.,

Slamet, N. S., Suhaera, Khairuddin, Mierza, V., Ratnasari, D., Hardianti, B., Rachmayanti, A. S., & Hilmi, I. L. 2023. *Farmasi Bahan Alam* (Wahyuni & D. Nugraheni (eds.); Edisi Pert). Eureka Media Aksara.

Marhaeni, B., Radjasa, O. K., Bengen, D. G., & Kaswadji, R. F. (2010). Screening of Bacterial Symbionts of Seagrass Enhalus sp. Against Biofilm-Forming Bacteria. *Journal of Coastal Development*, *13*(2), 126–132.

Marianingsih, P., Amelia, E., & Suroto, T. 2013. Inventarisasi dan Identifikasi makroalga di Perairan Pulau Untung Jawa. *Prosiding Semirata FMIPA Universitas Lampung*, 219–225.

Marliana, E., & Saleh, C. 2011. Uji Fitokimia dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kasar Etanol, Fraksi N-heksana, Etil Asetat dan Metanol dari Buah Labu Air (*Lagenari siceraria* (molina) standl). *Jurnal Kimia Mulawarman*, *5*(8), 63–69.

Marlis, A. 2008. *Isolasi Oligosakarida Ubi Jalar (Ipomoea batatas L.) dan Pengaruh Pengolahan terhadap Potensi Prebiotiknya*. Institut Pertanian Bogor.

Marselia, A., Wahdaningsih, S., & Nugraha, F. 2021. Analisis Gugus Fungsi dari Ekstrak Metanol Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*) Menggunakan FT-IR. *Jurnal Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran UNTAN*, *5*(1), 1–5.

Mayorga, P., Pérez, K. R., Cruz, S. M., & Cáceres, A. 2010. Comparison of Bioassays using The Anostracan Crustaceans *A. salina* and *Thamnocephalus platyurus* for Plant Extract Toxicity Screening. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, *20*(6), 897–903. https://doi.org/10.1590/S0102-695X2010005000029

Mckenzie, L., & Yoshida, R. 2019. Seagrass-Watch. *Proceedings of a Workshop for Monitoring Seagrass Habitats in Tropical Queensland*.

Mehrgou, A., & Akouchekian, M. 2016. The Importance of BRCA1 and BRCA2 Genes Mutations in Breast Cancer Development. *Medical Journal of the Islamic Republic of Iran*, *30*, 1–12.

Meliala, A. C., Sitorus, H., & Harahap, Z. A. 2016. Studi Tutupan dan Kerapatan Lamun di Desa Sitardas Kecamatan Badiri Kabupaten Tapanuli Tengah. *AQUACOASTMARINE*, *15*(1), 41–51.

Meyer, B. N., Ferrigni, N. R., Putnam, J. E., Jacobsen, L. B., Nichols, D. E., & McLaughlin, J. L. 1982. Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents. *Planta Medica*, *45*(1), 31–34. https://doi.org/10.1055/s-2007-971236

Molyneux, P. 2004. The Use of The Stable Free Radical diphenylpicryl- hydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarin Journal of*

Science and Technology, *26*(2), 211–219.

Momenimovahed, Z., & Salehiniya, H. 2019. Epidemiological Characteristics of and Risk Factors for Breast Cancer in The World. *Breast Cancer Targets Therapy*, *11*, 151–164.

Mudjiman, A. 1988. *Udang Renik Air Asin: A. salina*. Bhratara Karya Aksara.

Mukhriani. 2014. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan*, *2*.

Munifah, I., & Krisnawang, H. 2007. Life/29-6P Isolation & Antioxidative Assay of Several Marine Macroalgae Components Within Ethyl-acetate Fraction. *International Conference On Chemical Sciences (ICCS2007), Yogyakarta*.

Nasrudin, Wahyono, Mustofa, & Susidarti, R. A. 2017. Isolasi Senyawa Steroid dari Kulit Akar Senggugu (*Clerodendrum serratum* L.Moon). *Pharmacon*, *6*(3).

Ni-Ni-Win, Hanyuda, T., Arai, S., Uchimura, M., Prathep, A., Draisma, S. G. A., Phang, S. M., Abbott, I. A., Millar, A. J. K., & Kawai, H. 2011. A Taxonomic Study of The Genus *Padina* (Dictyotales, Phaeophyceae) Including The Descriptions of Four New Species From Japan, Hawaii, and The Andaman Sea. *Journal of Phycology*, *47*(5), 1193–1209. https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2011.01054.x

Noer, S., Pratiwi, R. D., & Gresinta, E. 2018. Penetapan Kadar Senyawa Fitokimia (Tanin, Saponin, dan Flavonoid sebagai Kuersetin) pada Ekstrak Daun Inggu (*Ruta angustifolia* L.). *Eksakta: Jurnal Ilmu-IImu MIPA*, *18*(1), 19–29. https://doi.org/10.20885/eksakta.vol18.iss1.art3

Nur, S., Sami, F. J., R, W., Awaluddin, A., & Afsari, M. I. A. 2019. Korelasi Antara Kadar Total Flavonoid dan Fenolik dari Ekstrak dan Fraksi Daun Jati Putih (*Gmelina arborea* Roxb.) Terhadap Aktivitas Antioksidan. *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy) (e-Journal)*, *5*(1), 33–42. https://doi.org/10.22487/j24428744.2019.v5.i1.12034

Nuralifah, N., Parawansah, P., & Nur, H. 2021. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Air dan Ekstrak Etanol Daun Kacapiring (*Gardenia jasminoides* Ellis) Terhadap Larva *A. salina* Leach dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Indonesian Journal of Pharmaceutical Education*, *1*(2), 98–106. https://doi.org/10.37311/ijpe.v1i2.11462

Nurrahman, N. W. D., Sudjarwo, G. W., & Putra, O. N. 2020. Skrining fitokimia metabolit sekunder alga cokelat (*P. australis)* dari Kepulauan Poteran Madura. *Journal of Pharmaceutical Care Anwar Medika*, *2*(2), 60–69.

Nursid, M., Noviendri, D., Rahayu, L., & Novelita, V. 2017. Isolasi Fukosantin dari Rumput Laut Coklat *P. australis* dan Sitotoksisitasnya terhadap Sel MCF7 dan Sel Vero. *Jurnal Pascapanen Dan Bioteknologi Kelautan Dan*

Perikanan, *11*(1), 83–90. https://doi.org/10.15578/jpbkp.v11i1.237

Nuzaha, & Muchtaridi, M. 2017. Review jurnal: Aktivitas Antimikroba dari Senyawa Bioaktif Rumput Laut atau Alga. *Farmaka*, *15*(2), 207–217.

Octavinna, N., Zuhrotun, A., & Chaerunnisa, A. Y. 2018. Aktivitas Senyawa Aktif *Michelia champaca* sebagai Inhibitor Topoisomerase Antikanker. *Farmaka*, *16*(2), 1–11.

Pádua, D., Rocha, E., Gargiulo, D., & Ramos, A. A. 2015. Bioactive Compounds From Brown Seaweeds : Phloroglucinol, Fucoxanthin and Fucoidan as Promising Therapeutic Agents Against Breast Cancer. *Phytochemistry Letters*, *14*, 91–98. https://doi.org/10.1016/j.phytol.2015.09.007

Pavia, D. L., Lampman, G. M., Kriz, G. S., & Vyvyan, J. R. 2008. *Introduction to Spectroscopy* (4th editio). Cengage Learning, California.

Panjaitan, R. B. 2011. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Kulit Batang Pulasari (*Alyxiae Cortex*) dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test. *Skripsi*. Yogyakarta : Universitas Sanata Dharma. *Peranan Lamun*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.

Permana, A. H. C., Husni, A., & Budhiyanti, S. A. 2016. Aktivitas Antioksidan dan Toksisitas Ekstrak Lamun *Cymodocea* sp. *Jurnal Teknologi Pertanian*, *17*(1), 37–46.

Permana, R., Andhikawati, A., Akbarsyah, N., & Putra, P. K. D. N. Y. 2020. Identifikasi Senyawa Bioaktif dan Potensi Aktivitas Antioksidan Lamun *Enhalus acoroides* (Linn. F). *Jurnal Akuatek*, *1*(1), 66–72.

Petersen, L.-E., Kellermann, M. Y., & Schupp, P. J. 2020. Secondary Metabolites of Marine Microbes: From Natural Products Chemistry to Chemical Ecology. *OUMARES 9-The Oceans: Our Research, Our Future: Proceedings of the 2018 Conference for YOUng MArine RESearcher in Oldenburg, Germany*, 159–180.

Pohan, D. J., Marantuan, R. S., & Djojosaputro, M. 2023. Toxicity Test of Strong Drug Using the BSLT (Brine Shrimp Lethality Test) Method. *International Journal of Health Sciences and Research*, *13*(2), 203–209.

Pourmorad, F., Hosseinimehr, S. J., & Shahabimajd, N. 2006. Antioxidant Activity, Phenol and Flavonoid Contents of Some Selected Iranian Medicinal Plants. *African Journal of Biotechnology*, *5*(11), 1142–1145. https://doi.org/10.1055/s-2007-987042

Pradana, N. E., Wardiwira, F. F., Hakim, L., Imamah, A. N., & Istianisa, W. (2018). Efektivitas Ekstrak Lamun *Cymodocea rotundata*, *Thalassia hemprichii*, dan *Enhalus acoroides* dari Perairan Jepara Sebagai Antibakteri pada Fillet Ikan Nila (*Oreochromis niloticus)* Selama Penyimpanan Dingin. *SAINTEK PERIKANAN : Indonesian Journal of Fisheries Science and*

Technology, *13*(2), 143. https://doi.org/10.14710/ijfst.13.2.143-147

Pramesti, R., Susanto, A., S, W. A., Ali Ridlo, S., & Oktaviaris, Y. 2016. Struktur Komunitas dan Anatomi Rumput Laut di Perairan Teluk Awur, Jepara dan Pantai Krakal, Yogyakarta. *Jurnal Kelautan Tropis*, *19*(2), 81–94.

Prayoga, D. G. E., Nocianitri, K. A., & Puspawati, N. N. 2019. Antioksidan Ekstrak Kasar Daun Pepe (*Gymnema reticulatum* Br.) pada Berbagai Jenis Pelarut. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan*, *8*(2), 111–121.

Rahman, A., Malik, A., & Ahmad, A. R. 2016. Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanolik Buah Buni (*Antidesma bunius* (L .) Spreng). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, *3*(2), 159–163. https://doi.org/10.33096/jffi.v3i2.497

Rahman, S., Rahardjanto, A., & Husamah. 2022. *Mengenal Padang Lamun (Seagrass Bed)* (Edisi pert). Dream Litera. www.dreamlitera.com

Rahmayani, U., Pringgenies, D., & Djunaedi, A. 2013. Uji Antioksidan Ekstrak Kasar Keong Bakau (*Telescopium telescopium*) dengan Pelarut yang Berbeda terhadap Metode DPPH (*Diphenyl Picril Hidrazil*). *Journal of Marine Research.* Vol 2(4): 36-45.

Rais, N., Ved, A., Shadab, M., Ahmad, R., & Shahid, M. 2023. Taurine, A Non-Proteinous Essential Amino Acid for Human Body Systems: An Overview. *Arab Gulf Journal of Scientific Research*, *41*(1), 48–66. https://doi.org/10.1108/AGJSR-04-2022-0019

Ramadhan, R., Dirgayusa, I. G. N. P., & Faiqoh, E. 2021. Skrining Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Daun Lamun *Halophila ovalis* di Perairan Pantai Karma dan Pantai Serangan, Bali. *Journal of Marine and Aquatic Sciences*, *7*(2), 140. https://doi.org/10.24843/jmas.2021.v07.i02.p02

Ripps, H., & Shen, W. 2012. Review: Taurine: A "Very Essential" Amino Acid. *Molecular Vision*, *18*(November), 2673–2686.

Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan T*. ITB:Bandung.

Roy, P., & Saikia, B. 2016. Cancer and Cure : A Critical Analysis. *Indian Journal of Cancer*, *53*(3). https://doi.org/10.4103/0019-509X.200658

Safitri, D. D., Melani, W. R., & Suryanti, A. 2020. Karakteristik Habitat *Padina australis* di Perairan Pulau Karas Kecamatan Galang Kota Batam Provinsi Kepulauan Riau. *Jurnal Manajemen Riset Dan Teknologi*, *2*(1), 10–20.

Sahribulan, & Pagarra, H. 2022. Identifikasi Gugus Fungsi dari Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Etanol Daun Kayu Jawa *Lannea coromandelica. Jurnal Pendidikan Biologi*, *5*(2), 161–168.

Salampe, M., Rahma, Z., Nur, S., & Mamada, S. S. 2019. Aktivitas Antioksidan

Ekstrak Etanol Daun Beroma (*Cajanus cajan* (L .) Milps). *Majalah Farmasi Dan Farmakologi*, *23*(1), 29–31.

Salim, R. 2018. Uji Aktivitas Antioksidan Infusa Daun Ungu Dengan Metoda DPPH (1,1- diphenil- 2-picrylhidrazil). *Jurnal Katalisator*, *3*(2), 153–161.

Sangi, M., Runtuwene, M. R. J., Simbala, H. E. I., & Makang, V. M. A. 2008. Analisis Fitokimia Tumbuhan Obat di Kabupaten Minahasa Utara. *Chemistry Progress*, *1*(1), 47–53.

Saputra, Y. D. 2023. Aktivitas Antikanker Ekstrak Etanol *Sargassum duplicatum*, *Padina australis*, dan Taurin sebagai Supresor Gen *p21* terhadap sel kanker serviks (HeLa). *Tesis.* Universitas Lampung.

Saxena, M., Saxena, J., Nema, R., Singh, D., & Gupta, A. 2013. Phytochemistry of Medicinal Plants. *Medicinal Plants of Central Asia: Uzbekistan and Kyrgyzstan*, *1*(6), 168–182. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-3912-7_4

Septiani, S., Dewi, E. N., & Wijayanti, I. 2017. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Lamun (*C. rotundata*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *SAINTEK PERIKANAN : Indonesian Journal of Fisheries Science and Technology*, *13*(1), 1. https://doi.org/10.14710/ijfst.13.1.1-6

Setiadi, A. 2012. *Analisis Toksisitas dengan Metode Probit*. (http://www.2016). Diakses 25 Januari 2023.

Setyowati, W. A. E., Ariani, S. R. D., Ashadi, Mulyani, B., & Rahmawati, C. P. 2014. Skrining Fitokimia dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Metanol Kulit Durian (*Durio zibethinus* Murr) Varietas Petruk. *Seminar Nasional Kimia Dan Pendidikan Kimia VI*, 271–280.

Siesler, H. W. 2017. *Near-Infrared Spectra, Interpretation. Encyclopedia of Spectroscopy and Spectrometry* (Third edit).

Sinaga, C. F., & Ardayani, T. 2016. Hubungan Pengetahuan dan Sikap Remaja Putri Tentang Deteksi Dini Kanker Payudara Melalui Periksa Payudara Sendiri di SMA Pasundan 8 Bandung Tahun 2016. *Kartika Jurnal Ilmiah Farmasi*, *4*(1), 16–19.

Sirait, P. S., Setyaningsih, I., & Tarman, K. 2019. Anticancer Activity of Spirulina Cultivated in Walne and Organic Media. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, *22*(1). https://doi.org/10.17844/jphpi.v22i1.25876

Skoog, D.A., Holler, F.J., & Crouch, S.R. 2016. *Principles of Instrumental Analysis*. 7th Edition. USA: Cengage Learning.

Soamole, H. H., Sanger, G., & Harikedua, S. D. 2018. Kandungan Fitokimia Ekstrak Etanol Rumput Laut Segar (*Turbinaria* sp ., *Gracilaria* sp ., dan *Halimeda macroloba*). *Jurnal Media Teknologi Hasil Perikanan*, *6*(3), 94–

98.

Soedharma D. 2007. *Pertumbuhan, Produktivitas dan Biomassa, Fungsi dan.* The Global Cancer Observatory. 2020. *Indonesia.* [online] dalam https://gco.iarc.fr/ (diakses tanggal 23 Januari 2023).

Solis, P. N., Wright, C. W., Anderson, M. M., Gupta, M. P., & Philhipso, J. D. 1993. A Microwell Cytotoxicity Assay using *A. salina* (Brine Shrimp). *Planta Medica*, *59*(3), 250–252.

Srimariana, E. S., Kawaroe, M., Lestari, D. F., & Nugraha, A. H. 2020. *Keanekaragaman dan Potensi Pemanfaatan Makroalga di Pesisir Pulau Tunda (Biodiversity and Utilization Potency of Macroalgae at Tunda Island). 25*(1), 138–144. https://doi.org/10.18343/jipi.25.1.138

Subhashini, P., Dilipan, E., Thangaradjou, T., & Papenbrock, J. 2013. Bioactive Natural Products From Marine Angiosperms: Abundance And Functions. *Natural Products And Bioprospecting*, *3*(4), 129–136. https://doi.org/10.1007/s13659-013-0043-6

Sucahyowati, H., & Hendrawan, A. 2020. Sedimentasi dan Perkembangan Perekonomian di Wilayah Pesisir Studi Kasus Desa Penikel. *WIJAYAKUSUMA Prosiding Seminar Nasional*, 158–165.

Sumihe, G., Runtuwene, M. R. J., & Rorong, J. A. 2014. Analisi Fitokimia dan Penentuan Nilai LC50 Ekstrak Metanol Daun Liwas. *Jurnal Ilmiah Sains*, *14*(2).

Sunardi, S. 2023. Analisis Gugus Fungsi Dan Penentuan Kadar Total Fenol Ekstrak Kulit Buah Naga Merah dan Putih. *Jurnal Redoks: Jurnal Pendidikan Kimia Dan Ilmu Kimia*, *6*(1), 8–18. https://doi.org/10.33627/re.v6i1.976

Suryani, Y. 2020. *Kanker Payudara*. PT. Freeline Sipta Granesia.

Sweeney, E. E., McDaniel, R. E., Maximov, P. Y., Fan, P., & Craig Jordan, V. 2012. Models and Mechanisms of Acquired Antihormone Resistance in Breast Cancer: Significant Clinical Progress Despite Limitations. *Hormone Molecular Biology and Clinical Investigation*, *9*(2), 143–163. https://doi.org/10.1515/hmbci-2011-0004

Szabo, M. R., C., I., D. Chambre, & Lupea, A. X. 2007. Improved DPPH Determination For Antioxidant Activity Spectrophotometric Assay. *Chemical Papers*, *81*(3), 214–216. https://doi.org/10.2478/s11696-007-0022-7

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), 45–53.

Ulfa, A. M., Herdwiani, W., & Purwidyaningrum, I. 2021. Kajian Literatur Aktivitas Antikanker Tanaman Bunga Matahari (*Helianthus annus* L) Terhadap Berbagai Kultur Sel Kanker. *Pharmacy Medical Journal*, *4*(2), 73–82. https://doi.org/10.35799/pmj.v4i2.37480

Vali, F., Changizi, V., & Safa, M. 2015. Synergistic Apoptotic Effect of Crocin and Paclitaxel or Crocin and Radiation on MCF-7 Cells , a Type of Breast Cancer Cell Line. *International Journal of Breast Cancer*, *2015*.

Wagner, J. G. 1993. *Pharmacokinetics for the pharmaceutical scientist.* Lancarter- Basel: Technomic Pub.

Wahyudin, Y., & Mahipal. 2013. Strategi Pembangunan Negara Kepulauan (Strategic Development for Archipelago State). *Wawasan Tridharma: Majalah Ilmiah Kopertis Wilayah IV*, *6*(Tahun XXV).

Wang, J. J., Lei, K. F., & Han, F. 2018. Tumor Microenvironment : Recent Advances in Various Cancer Treatments. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, *22*, 3855–3864.

Wasonga, A. G., & Olendi, R. J. 2017. Effect of different Salinity levels on the Hatchability and Survival of Brine Shrimp , *A. salina* (Linnaeus , 1758) from Malindi , Kenya. *African Journal of Education, Science and Technology*, *3*(4), 1–5.

Wibowo, S., Suryaningrum, D. T. H., Utomo, B. S. B., & Syamdidi. 2013. *Artemia untuk Pakan Ikan dan Udang. Jakarta: Penebar Swadaya.* Penebar Swadaya.

Widiastuti, E. L., Rima, K., & Busman, H. 2021. Anticancer Potency of Seagrass *(Enhalus acoroides)* Methanol Extract in the HeLa Cervical Cancer Cell Culture. *Proceedings of the International Conference on Sustainable Biomass (ICSB 2019)*, *202*, 38–42.

Williamson, K. E., Din, O. S. El, & O'Kane, H. F. 2007. Apoptosis. In *The Cancer Handbook*.

Wiratmaja, I. G., Kusuma, I. G. B. W., & Winaya, I. N. S. 2011. Pembuatan Etanol Generasi Kedua Dengan Memanfaatkan Limbah Rumput Laut *Eucheuma cottonii* Sebagai Bahan Baku. *Jurnal Ilmiah Teknik Mesin Cakra M*, *5*(1), 75–84.

Wong, R. S. Y. 2011. Apoptosis in Cancer : from Pathogenesis to Treatment. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, *30*.

Woo, H. D., & Kim, J. 2013. Dietary Flavonoid Intake and Risk of Stomach and Colorectal Cancer. *World Journal of Gastroenterology*, *19*(7), 1011–1019. https://doi.org/10.3748/wjg.v19.i7.1011

Yabbarov, N. G., Posypanova, G. A., Vorontsov, E. A., Popova, O. N., & Severin,

E. S. 2013. Targeted Delivery of Doxorubicin: Drug Delivery System Based on PAMAM Dendrimers. *Biochemistry (Moscow)*, *78*(8), 884–894. https://doi.org/10.1134/S000629791308004X

Yudhapratama, E. 2010. Penentuan Keberadaan Zat Aditif pada Plastik Kemasan Melalui Perlakuan Pemanasan pada Spektrometer IR. Bandung : UPI.

Zubia, M., Robledo, D., & Freile-Pelegrin, Y. 2007. Antioxidant Activities in Tropical Marine Macroalgae From The Yucatan Peninsula, Mexico. *Journal of Applied Phycology*, *19*(5), 449–458. https://doi.org/10.1007/s10811-006-9152-5