

POTENSI SAPONIN EKSTRAK TERIPANG
***Holothuria leucospilota* (Brandt, 1835) SEBAGAI ANTIKANKER PROSTAT**

SKRIPSI

Oleh

SITI PARIHATUL WARIDAH
NPM 2154221006



FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2025

**POTENSI SAPONIN EKSTRAK TERIPANG
Holothuria leucospilota (Brandt, 1835) SEBAGAI ANTIKANKER PROSTAT**

Oleh

SITI PARIHATUL WARIDAH

Skripsi

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

Pada

**Jurusan Perikanan dan Kelautan
Fakultas Pertanian Universitas Lampung**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDARLAMPUNG
2025**

ABSTRAK

POTENSI SAPONIN EKSTRAK TERIPANG *Holothuria leucospilota* (Brandt, 1835) SEBAGAI ANTIKANKER PROSTAT

Oleh

SITI PARIHATUL WARIDAH

Kanker menjadi salah satu penyebab utama kematian di seluruh dunia, salah satunya kanker prostat yang menempati urutan ke lima di Indonesia. Teripang merupakan organisme laut yang banyak digunakan dan dimanfaatkan dalam pengobatan. Salah satu manfaat yang banyak diteliti yaitu sebagai anti-kanker. Efek antikanker tersebut erat kaitannya dengan kandungan senyawa bioaktif utama dalam teripang, yaitu saponin. Penelitian bertujuan untuk menganalisis potensi saponin ekstrak teripang yang berasal dari perairan Teluk Lampung sebagai antikanker prostat (PC3). Metode penelitian yang digunakan meliputi identifikasi morfologi dan molekuler teripang, ekstraksi menggunakan etanol 70%, fraksinasi dengan pelarut (n-heksan, butanol dan aquabidest), uji kuantifikasi saponin menggunakan metode uji vanillin sulfat, serta uji sitotoksitas dengan metode MTT (Mikrotetrazolium). Analisis data menggunakan analisis deskriptif dan analisis inferensial. Hasil identifikasi menunjukkan teripang yang berasal dari perairan Teluk Lampung memiliki bentuk, warna dan spikula yang dimiliki spesies *H. leucospilota* yaitu *table disk*, *irreguler buttons*, *buttons*, *Pseudo-plates*, *tabel dorsal dan ventral*, *tentakel*, *perforeted plates*, *dorsal rods* serta memiliki kemiripan 99% dengan spesies *H. leucospilota* pada target *sequence nucleotide* dari GenBank. Hasil uji sitotoksitas menunjukkan teripang memiliki potensi sebagai antikanker, dengan nilai IC_{50} sebesar 7.593 $\mu\text{g/ml}$ termasuk kategori sangat aktif pada fraksi butanol. Hasil analisis uji ANOVA memiliki nilai sig. 0,00 yang menunjukkan adanya pengaruh perbedaan konsentrasi terhadap penghambatan pertumbuhan. Hasil uji lanjut LSD menunjukkan konsentrasi 50 ppm memiliki pengaruh yang sangat signifikan. Ekstrak kasar dan fraksi butanol teripang memiliki konsentrasi saponin paling tinggi masing-masing $0,7884 \pm 0,110$ (mg/gr) dan $0,2681 \pm 0,108$ (mg/gr). Kesimpulannya, teripang yang berasal dari perairan Teluk Lampung memiliki potensi antikanker prostat (PC3) yang sangat aktif untuk dikembangkan lebih lanjut.

Kata kunci : Antikanker, *H. leucospilota*, Kanker Prostat, Saponin, Spikula

ABSTRACT

POTENTIAL OF SAPONIN EXTRACT OF THE SEA CUCUMBER *Holothuria leucospilota* (Brandt, 1835) AS ANTICANCER OF PROSTAT

By

SITI PARIHATUL WARIDAH

Cancer is one of the leading causes of death worldwide, with prostate cancer ranking fifth in Indonesia. Sea cucumbers are marine organisms that are widely used and utilised in medicine. One of their most researched benefits is their anti-cancer properties. These anti-cancer effects are closely related to the main bio-active compound in sea cucumbers, namely saponin. The study aimed to analyze the potential of sea cucumber saponin extract from the waters of Lampung Bay as an anti-prostate cancer (PC3) agent. The research methods used included morphological and molecular identification of sea cucumbers, extraction using 70% ethanol, fractionation with solvents (n-hexane, butanol and aquabidest), quantification of saponins using the vanillin sulphate test method, and cytotoxicity testing using the MTT (Microtetrazolium) method. Data analysis used descriptive and inferential analysis. The identification results showed that sea cucumbers originating from the waters of Lampung Bay had the shape, colour and spicule characteristics of the *H. leucospilota* species, namely table disks, irregular buttons, buttons, pseudo-plates, dorsal and ventral tables, tentacles, perforated plates, dorsal rods, and a 99% similarity to the *H. leucospilota* species in the target nucleotide sequence from GenBank. The cytotoxicity test results showed that sea cucumbers have anticancer potential, with an IC₅₀ value of 7.593 µg/ml, which is classified as highly active in the butanol fraction. The ANOVA test analysis results had a sig. value of 0.00, indicating that there was an effect of concentration on growth inhibition. Further LSD test results showed that a concentration of 50 ppm had a very significant effect. Crude extracts and butanol fractions of sea cucumbers had the highest saponin concentrations of 0.7884±0.110 (mg/g) and 0.2681±0.108 (mg/g), respectively. In conclusion, sea cucumbers from Lampung Bay possess very active anti-prostate cancer (PC3) potential, warranting further development.

Keywords: Anticancer, *H. leucospilota*, Prostate Cancer, Saponin, Ossicles

Judul skripsi : POTENSI SAPONIN EKSTRAK TERIPANG
Holothuria leucospilota (Brandt, 1835) SEBAGAI
ANTIKANKER

Nama Mahasiswa : Siti Parihatul Waridah

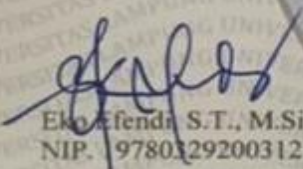
Nomor Pokok Mahasiswa : 2154221006

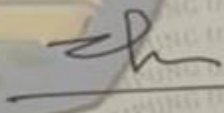
Program Studi : Ilmu Kelautan

Fakultas : Pertanian

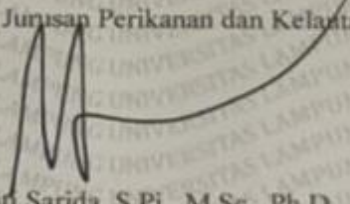


1. Komisi Pembimbing


Eko Efendi, S.T., M.Si.
NIP. 97803292003121001


Dr. Muhammad Nursid, S.Si., M.Si.
NIP. 197402182003121003

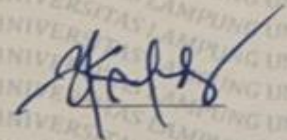
2. Ketua Jurusan Perikanan dan Kelautan


Munti Sarida, S.Pi., M.Sc., Ph.D.
NIP. 198309232006042001

MENGESAHKAN

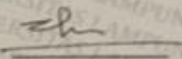
1. Tim Penguji

Ketua : Eko Efendi, S.T., M.Si.

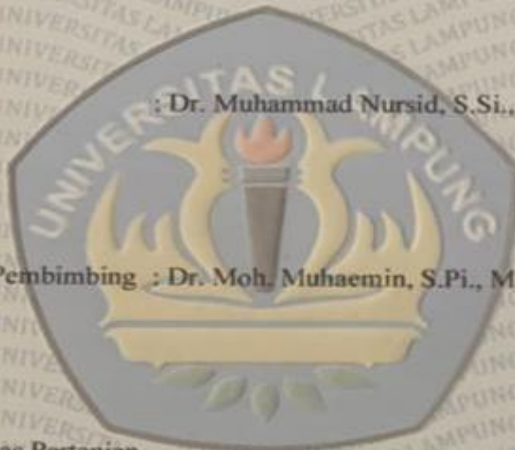
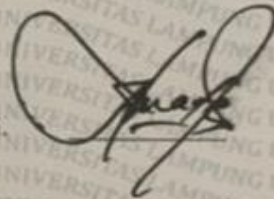


Sekretaris

: Dr. Muhammad Nursid, S.Si., M.Si.



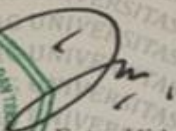
Penguji Bukan Pembimbing : Dr. Moh. Muhaemin, S.Pi., M.Si.



2. Dekan Fakultas Pertanian



Dr. Ir. Kuswanta Futas Hidayat, M.P.
NIP. 196411181989021002



Tanggal lulus ujian skripsi: 31 Juli 2025



KEMENTERIAN PENDIDIKAN TINGGI, SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS LAMPUNG
FAKULTAS PERTANIAN
JURUSAN PERIKANAN DAN KELAUTAN

Prof. Dr. Sumantri Brojonegoro No. 1 Bandar Lampung 35145 Telp (0721) 704946 Fax (0721) 770347

PERNYATAAN ORISINALITAS

Saya menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa sepanjang pengetahuan saya, di dalam naskah skripsi yang berjudul "**Potensi Ekstrak Saponin Teripang *Holothuria leucospilota* (Brandt, 1853) sebagai Antikanker Prostat**" tidak terdapat karya ilmiah yang pernah diajukan oleh pihak lain untuk mendapatkan karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain, kecuali yang secara tertulis dikutip dalam naskah ini dan disebut dalam sumber kutipan dan daftar pustaka.

Apabila ternyata dalam naskah skripsi ini ditemukan dan terbukti terdapat unsur-unsur fabrikasi, falsifikasi, plagiat dan konflik kepentingan saya bersedia skripsi ini digugurkan dan gelar akademik yang telah saya peroleh (S1) dibatalkan, serta diproses sesuai dengan peraturan perundang-undangan yang berlaku (Undang-Undang Nomor 20 Tahun 2003, Pasal 25 ayat 2 dan Pasal 70).

Bandar Lampung, 12 September 2025

Yang membuat pernyataan



Siti Parihatul Waridah
NPM. 2154221006

RIWAYAT HIDUP

Penulis lahir di Kota Serang, Provinsi Banten, pada 02 September 2003 sebagai anak dari pasangan Bapak Warji dan Ibu Ika Yuliasari. Penulis menempuh pendidikan sekolah dasar di SDN Beberan (2008-2015) dilanjutkan pendidikan menengah pertama di SMP Informatika pada tahun 2015-2017 dan pendidikan menengah atas di SMAN 1 Serang pada tahun 2017-2020. Penulis kemudian melanjutkan pendidikan ke jenjang pendidikan tinggi di Program Studi Ilmu Kelautan, Jurusan Perikanan dan Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung pada tahun 2021.

Selama menjadi mahasiswa, penulis pernah menjadi asisten dosen pada mata kuliah Mikrobiologi laut dan Planktonologi laut. Penulis aktif pada organisasi Himpunan Mahasiswa Banten (HMB) sebagai anggota pada periode 2022-2023. Penulis mengikuti Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Adi Luhur, Kecamatan Panca Jaya, Kabupaten Mesuji, Provinsi Lampung selama 40 hari pada bulan Januari-Februari 2024. Penulis ikut serta dalam MBKM riset di Badan Riset dan Inovasi Nasional, Cibinong Bogor pada tahun 2024

Untuk keluarga tercinta, Ibu Ika Yuliasari, Teh Lisa, Uli, Salwa, Nenek, dan Abi
yang selalu kebersamai.

SANWACANA

Puji syukur penulis ucapkan ke hadirat Tuhan yang Maha Esa, karena atas rahmat dan hidayah-Nya skripsi ini dapat diselesaikan.

Skripsi dengan judul “*Potensi Saponin Ekstrak Teripang *Holothuria leucospilota* (Brandt, 1835) Sebagai Antikanker*” adalah salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana sains di Universitas Lampung.

Dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Dr. Ir. Kuswanta Futas Hidayat, M.P. selaku Dekan Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.
2. Munti Sarida, S.Pi. M.Sc. Ph.D. selaku Ketua Jurusan Perikanan dan Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.
3. Eko Efendi, S.T., M.Si. selaku Dosen Pembimbing Utama.
4. Dr. Muhammad Nursid, S.Si., M.Si. selaku Dosen Pembimbing Pembantu/Sekretaris.
5. Dr. Moh. Muhaemin, S.Pi., M.Si. selaku Penguji Utama.
6. Kedua orang tua, Ibu Ika Yuliasari dan Bapak Warji, Teh Lisa, Uli, Awa, dan Nenek tercita
7. Seluruh Tim Riset Bahan Alam Perairan, Pusat Riset Bioindustri Laut dan Darat, Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN).

Bandar Lampung, 2025

Siti Parihatul Waridah

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL	iv
DAFTAR GAMBAR	v
DAFTAR LAMPIRAN	vii
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian.....	3
1.3 Manfaat Penelitian.....	3
1.4 Kerangka Pikir.....	3
1.5 Hipotesis.....	6
II. TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Teripang <i>Holothuria leucospilota</i> (Brandt, 1835).....	7
2.1.1 Morfologi.....	8
2.1.2 Habitat.....	9
2.2 Senyawa Metabolit Teripang.....	10
2.2.1 Senyawa Metabolit Sekunder Teripang	10
2.2.2 Manfaat Senyawa Metabolit Sekunder Teripang.....	11
2.2.3 Saponin	12
2.2.4 Faktor yang mempengaruhi senyawa bioaktif.....	13
2.3 Kanker	16
2.3.1 Kanker Prostat	17
2.3.2 Faktor Risiko	18
2.4 Antikanker	20
III. METODE PENELITIAN	22
3.1 Waktu dan Tempat	22
3.1.1 Waktu Penelitian	22
3.1.2 Tempat Penelitian	22
3.2 Bahan dan Alat	22
3.2.1 Bahan	23
3.2.2 Alat.....	24
3.3 Rancangan Penelitian	26
3.4 Prosedur Penelitian.....	26
3.4.1 Preparasi Sampel Teripang	26
3.4.2 Identifikasi Spesies Teripang	27
3.4.3 Ekstraksi Sampel <i>H. leucospilota</i>	31
3.4.4 Fraksinasi ekstrak kasar teripang <i>H. leucospilota</i>	32
3.4.5 Uji Sitotoksitas.....	32

3.4.5 Uji Kuantifikasi Saponin	37
3.5 Analisis Data.....	38
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	40
4.1 Identifikasi Spesies Teripang.....	40
4.1.1 Identifikasi Morfologi.....	40
4.1.2 Identifikasi Molekuler	43
4.2 Ekstraksi dan Fraksinasi teripang <i>H. leucospilota</i>	45
4.2.1 Ekstraksi	45
4.2.2 Fraksinasi.....	46
4.3 Aktivitas Antikanker.....	48
4.4 Pengaruh Konsentrasi terhadap Penghambatan Pertumbuhan Sel Kanker .	53
4.5 Kuantifikasi Saponin	54
V. SIMPULAN DAN SARAN.....	57
5.1 Simpulan.....	57
5.2 Saran.....	57
DAFTAR PUSTAKA	59
LAMPIRAN.....	74

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Senyawa metabolit sekunder teripang.....	12
2. Bahan yang digunakan dalam penelitian.	23
3. Alat yang digunakan dalam penelitian.	24
4. Pengenceran seri konsentrasi standart.....	37
5. Analisis BLAST.	44
6. Hasil fraksinasi ekstrak kasar <i>H. leucospilota</i>	47
7. Aktivitas antikanker ekstrak dan fraksi <i>H. leucospilota</i> pada konsentrasi 50 ppm.....	48
8. Hasil analisis varian.	53
9. Hasil uji kuantifikasi saponin metode vanilin-sulfat.	55
10. Perhitungan uji MTT ekstrak dan fraksi-fraksi pada konsentrasi 50 ppm.	81
11. Perhitungan uji MTT fraksi butanol <i>H. leucospilota</i>	81
12. Informasi respon.....	82
13. Hasil regresi.....	82
14. Uji kesesuaian model (Goodness-of-Fit).....	82
15. Estimasi parameter.	82
16. Tabel persentil (Dosis Efektif).....	83
17. Hasil uji normalitas	84
18. Hasil uji homogenitas varians (Levene's Test).	84
19. Hasil analisis posthoc LSD.....	85

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Kerangka pikir penelitian.....	5
2. <i>H. leucospilota</i> (Brandt, 1835) (a) morfologi; (b) kondisi teripang saat hidup .	8
3. Spikula <i>H. leucospilota</i> (Brandt, 1835) (a) <i>pseudo-plates</i> , (b) <i>table</i> , (c) <i>tentakel</i> , (d) <i>bottoms</i> , (e) <i>table disk & crown</i> , (f) <i>perforated-plates</i> , (g) <i>irreguler bottoms</i>	9
4. Reaksi kimia reagen MTT menjadi formazan	21
5. Prosedur penelitian.....	27
6. Skema perhitungan kepadatan sel kanker.	34
7. Hubungan antara konsentrasi larutan standar dengan nilai absorbansi.....	37
8. Morfologi <i>H. leucospilota</i> (a) tampak dorsal, (b) tampak ventral, (c) papila, (d) <i>tentakel</i>	41
9. Spikula <i>H. leucospilota</i> (a) <i>table disk</i> , (b) <i>irreguler bottoms</i> , (c) <i>buttons</i> , (d) <i>Pseudo-plates</i> , (e) <i>dorsal table</i> , (h) <i>ventral table</i> , (g) <i>tentakel</i> , (h) <i>perforeted plates</i> , (i) <i>ventral rods</i>	42
10. Pohon filogenetik teripang <i>H. leucospilota</i> berdasarkan sekuen DNA COI gen menggunakan analisis neighbor joining (NJ) pada aplikasi Mega X dengan bootstrap 1000 replikasi.....	45
11. Kondisi sel kanker prostat (PC3) pada perbesaran 100x setelah diberikan perlakuan ekstrak <i>H. leucospilota</i> dan reagen MTT	49
12. Kondisi sel kanker prostat (PC3) pada perbesaran 200x setelah diberikan perlakuan fraksi butanol <i>H. leucospilota</i> dan reagen MTT.	51
13. Hubungan konsentrasi fraksi butanol dengan persentase inhibisi sel kanker prostat (PC3)	52
14. Kurva standar uji kuantifikasi saponin.....	55
15. Sel plating.....	76
16. Urutan pengujian sitotoksitas	77
17. Pengenceran konsentrasi uji	78
18. Dokumentasi kegiatan penelitian.	79

19. Dokumentasi kegiatan penelitian (i) sel kanker prostat; (j) & (k) Hasil pengujian sitotoksitas; (l) Hasil uji kuantifikasi saponin.....	80
20. Analisis probit IC50 menggunakan MiniTab.	82

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Alat pendukung penelitian	75
2. Susunan sel uji antikanker	76
3. Urutan pengujian sitotoksisitas	77
4. Contoh perhitungan pengenceran konsentrasi uji	78
5. Dokumentasi kegiatan penelitian	79
6. Perhitungan persentase inhibisi ekstrak kasar dan fraksi	81
7. Analisis Probit pada MiniTab18	82
8. Hasil perhitungan statistik (SPSS)	84

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kanker prostat menempati urutan kedua setelah kanker paru pada laki-laki di dunia, dengan angka kejadian kanker prostat sebesar 14,8% (WHO, 2022). Kanker prostat pada stadium awal umumnya tidak menimbulkan gejala klinis yang dapat dikenali, tetapi seiring dengan progresivitas penyakit, mulai muncul gejala seperti nokturia, hematuria, retensi urin, dan nyeri pada daerah panggul saat berkemih yang dapat berdampak fatal terutama pada pasien lanjut usia (Lawrenti, 2019). Kanker prostat di Indonesia menempati urutan kelima dengan kasus kanker terbanyak pada pasien laki-laki sebesar 11,6 kasus per 100.000 pria dan kematian sebesar 4,5 per 100.000 pria (Bray et al., 2024). Di Indonesia, sekitar 50% pasien kanker prostat datang dalam kondisi kanker yang telah bermetastasis dan memasuki stadium akhir, sehingga pengobatannya menjadi semakin sulit (Perdana et al., 2016).

Metode pengobatan yang umum digunakan dalam penanganan kanker prostat meliputi kemoterapi, terapi radiasi, pembedahan, serta kombinasi berbagai pendekatan lainnya (Saputra et al., 2024). Pembedahan hanya dapat diterapkan pada kanker lokal stadium awal dan tidak efektif untuk stadium lanjut atau kanker yang telah mengalami metastasis. Sementara itu, terapi radiasi dan kemoterapi bersifat tidak selektif sehingga berpotensi merusak sel normal (Sumarni et al., 2022). Seiring dengan perkembangan penelitian, arah pengobatan kanker kini berfokus pada pencarian senyawa baru yang bersifat toksik terhadap sel kanker namun tidak menimbulkan efek merugikan pada sel normal. Saat ini, pengembangan obat anti-kanker mulai diarahkan pada sumber-sumber alami, baik dari tanaman darat maupun organisme laut (Lichota & Gwozdinski, 2018).

Organisme laut menjadi sumber senyawa bioaktif yang memainkan peran penting dalam penemuan dan pengembangan obat-obatan (Yun et al., 2019). Beberapa produk farmasi yang berasal dari biota laut telah disetujui FDA sebagai pengobatan, diantaranya sebagai obat kanker sitarabin (Cytosar-U), eribulin mesilat (Halaven), brentuximab vedotin (Adcetris), trabektidin (Yondelis) (Mayer et al., 2017). Teripang merupakan salah satu organisme laut yang dapat menghasilkan senyawa metabolit sebagai bentuk pertahanan diri, senyawa metabolit yang dihasilkan diantaranya saponin, steroid, triterpenoid, fenol, flavonoid, peptides, fucoidan, *glucosaminoglycan*, lektin dan alkaloid (Xu et al., 2018). Kandungan senyawa bioaktif pada teripang berbeda-beda, hal ini dipengaruhi oleh faktor lingkungan dan habitat (letak geografis, kondisi lingkungan, dan ketersediaan makanan), serta faktor perbedaan spesies (Nurfitriani et al., 2017).

Potensi teripang dalam bidang farmakologi terus mengalami perkembangan, salah satunya teripang spesies *Holothuria leucospilota*. Ekstrak kasar dari spesies ini terbukti mampu menurunkan tumor metastasis di paru-paru tikus (Zhang et al., 2009), serta menunjukkan aktivitas antioksidan dan antibakteri (Arfatahery & Khabbazan, 2021; Darya et al., 2020; Farjami et al., 2013; Rasyid et al., 2021). Selain itu, ekstrak tersebut memiliki aktivitas antitoksoplasma terhadap parasit *T. Gondii* (Adeyemi et al., 2023), dan memiliki aktivitas antikanker terhadap sel kanker lambung (MKN45) dengan nilai IC_{50} 75 μ g/ml (Sadegh et al., 2024) dan sel HeLa (Vaseghi et al., 2018).

Senyawa bioaktif berupa saponin (triterpen glikosida) banyak ditemukan pada teripang khususnya pada bagian dinding tubuh (Dyck et al., 2010). Senyawa tersebut diketahui dapat dimanfaatkan sebagai bahan antibakteri, antifungi, antitumor dan antikanker, antikoagulan dan antithrombosis (Xu et al., 2018). Pemanfaatan senyawa bioaktif dilakukan dengan pengujian terhadap ekstrak kasar dari sampel teripang. Ekstrak teripang *H. leucospilota*, *H. scabra*, *S. chloronotus* mengandung senyawa bioaktif saponin yang memiliki aktivitas sebagai anti-proliferatif terhadap sel kanker paru-paru (A549) dan sel kanker serviks (C33A) (Janakiram et al., 2015).

Eksplorasi teripang sebagai bahan farmakologi mulai berkembang beberapa tahun terakhir di Provinsi Lampung, khususnya perairan Teluk Lampung

(Chasanah et al., 2016; Hutapea et al., 2023; Rasyid, 2017; Rasyid et al., 2018, 2021, 2023; Untari et al., 2025). Wilayah ini memiliki kondisi lingkungan yang dipengaruhi oleh aktivitas antropogenik (Prasetyo et al., 2022), fluktuasi lingkungan (Isnaini & Aryawati, 2023; Nurfitriani et al., 2017), dan keanekaragaman hayati tinggi (Fagbohun et al., 2023). Tekanan ekologis yang muncul dari kombinasi faktor tersebut mendorong teripang untuk menghasilkan senyawa bioaktif sebagai bentuk adaptasi. Berdasarkan karakteristik lingkungan Teluk Lampung dan potensi bioaktif yang dimiliki teripang, penelitian dilakukan untuk mengkaji kemampuannya sebagai agen antikanker prostat.

1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian sebagai berikut :

1. mengidentifikasi teripang berdasarkan pendekatan morfologi dan molekuler
2. menganalisis potensi ekstrak dan nilai IC_{50} fraksi butanol teripang *H. leucospilota* sebagai antikanker prostat
3. menganalisis pengaruh perbedaan konsentrasi terhadap penghambatan pertumbuhan sel kanker prostat
4. menganalisis konsentrasi saponin yang terkandung pada ekstrak dan fraksi teripang *H. leucospilota*

1.3 Manfaat Penelitian

Manfaat yang diharapkan dalam penelitian yaitu diperoleh informasi mengenai spesies teripang yang ditemukan di perairan Teluk Lampung berdasarkan morfologi dan molekuler. Memberikan informasi potensi antikanker ekstrak dan fraksi teripang *H. leucospilota* yang berasal dari Lampung sebagai antikanker prostat. Memberikan informasi senyawa aktif saponin yang berperan dalam aktivitas farmakologis.

1.4 Kerangka Pikir

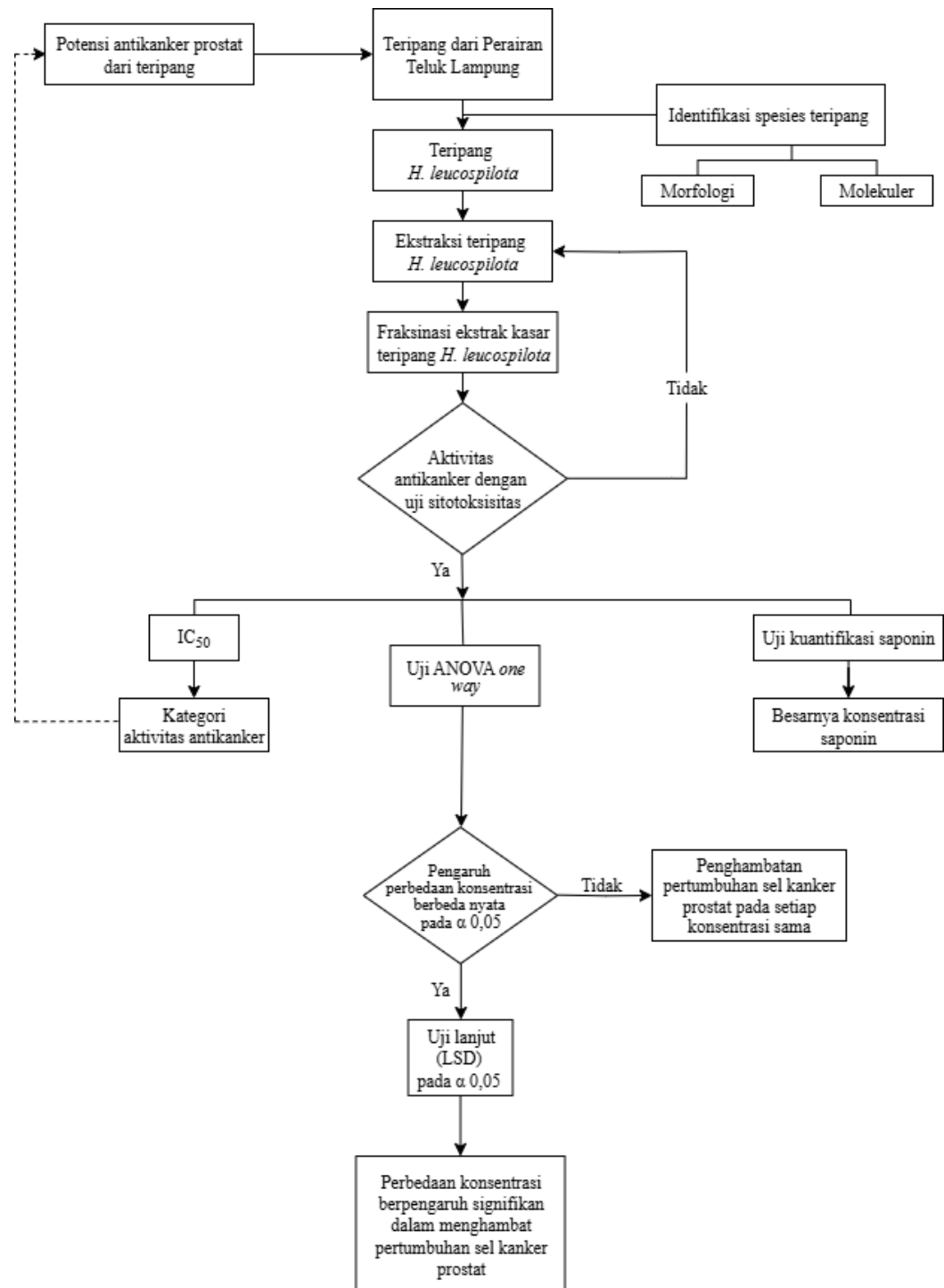
Teripang merupakan organisme laut yang mengandung senyawa bioaktif seperti saponin, steroid, triterpenoid, fenol, flavonoid dan lain-lain yang berpotensi dimanfaatkan dalam bidang farmakologi. Salah satu senyawa tersebut adalah sa-

ponin, yang diketahui mampu menghambat proliferasi sel kanker dan menginduksi apoptosis. Akumulasi senyawa ini dipengaruhi oleh kondisi lingkungan yang menimbulkan stres pada teripang. Perairan Teluk Lampung menjadi salah satu habitat penting bagi berbagai jenis teripang. Lingkungan perairan ini dipengaruhi oleh aktivitas antropogenik dan fluktuasi parameter lingkungan, yang dapat memicu stres fisiologis pada teripang dan mendorong terbentuknya senyawa bioaktif sebagai respons adaptif.

Senyawa bioaktif pada teripang memiliki karakteristik tersendiri pada setiap spesiesnya. Oleh karena itu, perlu dilakukan identifikasi terlebih dahulu untuk mengetahui apakah spesies teripang tersebut sudah teridentifikasi memiliki potensi senyawa bioaktif. Senyawa tersebut dapat diperoleh melalui proses ekstraksi dengan metode maserasi. Pelarut yang digunakan berupa etanol, yang memiliki toksisitas lebih rendah dibandingkan dengan metanol.

Hasil dari proses ekstraksi berupa ekstrak kasar kemudian di fraksinasi menggunakan pelarut butanol, n-heksan, dan air untuk mengelompokkan senyawa bioaktif berdasarkan kepolarannya. Dengan prinsip *assay guided isolation* ekstrak kasar dan fraksi-fraksi diuji sitotoksitasnya terlebih dahulu terhadap penghambatan pertumbuhan sel kanker prostat. Fraksi dengan nilai penghambatan tertinggi diuji kembali untuk mendapatkan nilai IC_{50} . Ekstrak dan fraksi-fraksi dilakukan uji lanjut untuk mengetahui kandungan saponin yang merupakan senyawa bioaktif mayor pada teripang, serta mengetahui apakah aktivitas antikanker selaras dengan kandungan saponin yang merupakan senyawa potensial antikanker pada teripang.

Efektivitas kemampuan bahan bioaktif dalam menghambat pertumbuhan sel kanker prostat dapat diketahui dari besarnya konsentrasi ekstrak uji dalam menghambat 50% pertumbuhan sel, besar konsentrasi disebut juga dengan nilai IC_{50} (*Inhibitory Concentration*). Jika konsentrasi ekstrak uji yang digunakan semakin kecil, maka potensi aktivitas antikanker semakin besar. Konsentrasi yang digunakan pada pengujian antikanker di analisis statistik untuk mengetahui penghambatan pertumbuhan sel kanker prostat (PC3) dipengaruhi oleh perbedaan konsentrasi. Secara menyeluruh alur pemikiran penelitian disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Kerangka pikir penelitian.

1.5 Hipotesis

Pengaruh konsentrasi uji terhadap penghambatan sel kanker diuji dengan menguji hipotesis. Hipotesis yang diajukan adalah :

$H_0: \sigma_1 = \sigma_2 = \dots = \sigma_n$: Tidak terdapat perbedaan nyata antara peningkatan konsentrasi uji terhadap respon penghambatan pertumbuhan sel kanker prostat (PC3).

$H_1: \sigma_i \neq \sigma_j$: Terdapat perbedaan nyata antara peningkatan konsentrasi uji terhadap respon penghambatan pertumbuhan sel kanker prostat (PC3).

Pengujian hipotesis ini dilakukan menggunakan uji *Analysis of Variance* (ANOVA) satu arah (*one-way ANOVA*) pada tingkat signifikansi (α) sebesar 0,05, yang bertujuan untuk menentukan apakah terdapat perbedaan yang bermakna secara statistik variansi respon penghambatan pertumbuhan sel kanker prostat (PC3) dari berbagai kelompok perlakuan konsentrasi. Jika ditemukan perbedaan yang signifikan, dilakukan uji *Least Significant Difference* (LSD) pada tingkat signifikansi (α) sebesar 0,05 untuk mengetahui pasangan rata-rata kelompok mana yang berbeda secara signifikan.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Teripang *Holothuria leucospilota* (Brandt, 1835)

Teripang atau timun laut merupakan hewan yang termasuk dalam Filum *Echinodermata* dari kelas *Holothuridae*. Teripang termasuk salah satu organisme makrozoobenthos yang dapat ditemukan pada area pasang surut dangkal sampai dengan perairan dalam (Al Faroby et al., 2021). Salah satu spesies teripang dari kelas *Holothuridae* adalah *H. leucospilota* (Gambar 2b) memiliki warna hitam, coklat kehitaman, memiliki perbedaan warna pada beberapa daerah (Tay et al., 2022).

Teripang nangka (*H. leucospilota*) memiliki klasifikasi menurut Brandt (1835) dalam (Aba & Rusliadi, 2020) adalah sebagai berikut :

Filum : Echinodermata

Subfilum : Echinozoa

Kelas : Holothuroidea

Subkelas : Aspidochirotacea

Ordo : Aspidochirotida

Famili : Holothuriidae

Genus : *Holothuria*

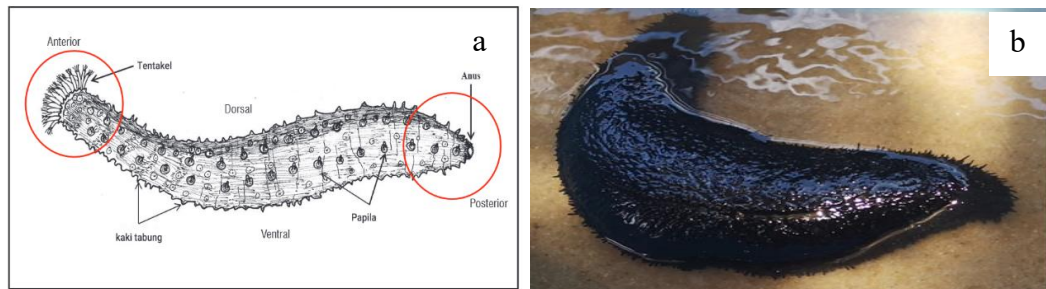
Spesies : *Holothuria leucospilota* (Brandt, 1835)

H. leucospilota dikenal dengan berbagai nama lokal di Indonesia, antara lain teripang salengko, teripang talengko, cera, jepun, keling, nangka, teripang tali jangkar, pimam kaworet, dan teripang getah hitam (Setyastuti & Purwati, 2015). Keanekaragaman nama mencerminkan persebaran geografis dan budaya masyarakat pesisir yang memanfaatkan teripang sebagai sumber daya laut (Handayani et al., 2017). Dalam perdagangan internasional, spesies ini dikenal dengan nama dagang *white threadfish*, yang digunakan untuk mempermudah identifikasi di

pasar global dan memperkuat nilai komersialnya sebagai komoditas laut bernilai ekonomi tinggi (Aba & Rusliadi, 2020).

2.1.1 Morfologi

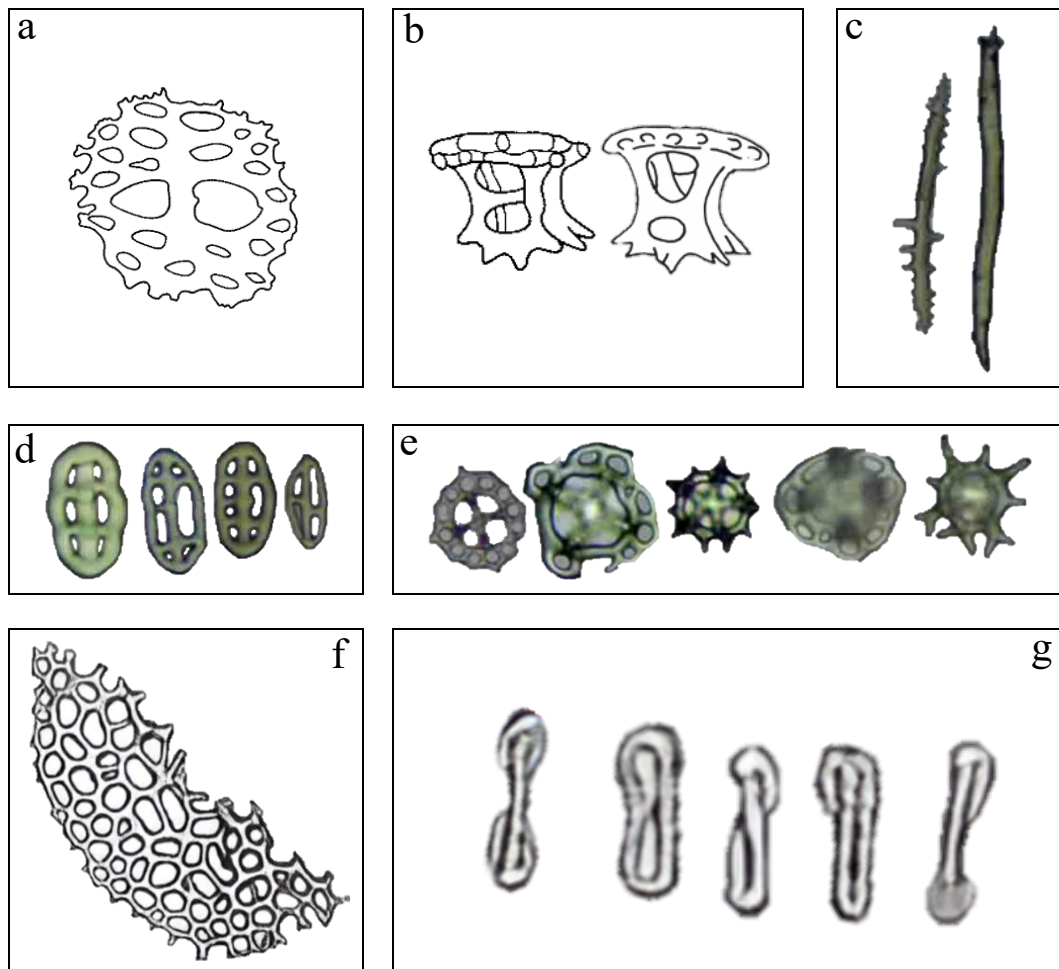
Teripang nangka (*H. leucospilota*) berdasarkan Setyastuti et al. (2019) dan Wirawati et al. (2019) memiliki tubuh silindris dan memanjang. Dinding tubuh tebal dan lunak. Warna dasar tubuh hitam baik di bagian dorsal maupun ventral (Gambar 2). Papila dorsal panjang, berwarna hitam dan tersusun rapat dan padat menutupi permukaan tubuh. Kaki tabung mirip dengan papila dorsal dan tersusun padat menutupi permukaan ventral. Tentakel berwarna hitam dengan mulut ventral pada bagian anterior dan anus yang berada di bagian posterior (Gambar 2a).



Gambar 2. *H. leucospilota* (Brandt, 1835) (a) morfologi; (b) kondisi teripang saat hidup.

Sumber : (Setyastuti & Purwati, 2015; Tay et al., 2022)

Spikula pada *H. leucospilota* (Gambar 3) memiliki tipe yang sama pada bagian dorsal dan ventral seperti tipe *table* dengan tepi berduri dan ada yang bergelombang, tiang relatif pendek dan mahkota berduri sederhana (gambar 3e). Spikula tipe *buttons* terdiri dari 2 bentuk, yaitu *buttons* yang ukurannya besar memiliki 3-4 pasang lubang di kedua sisinya dan tersusun simetris (gambar 3d) dan *buttons* yang ukurannya kecil tereduksi dan bentuknya tidak teratur (gambar 3g). Tipe lempeng semu berbentuk lonjong dengan lubang yang besar di tengah dan lubang kecil di pinggirnya (gambar 3a). Spikula bagian dorsal terdapat tipe *perforeted plates* yang memiliki ukuran cukup besar (gambar 3f). Spikula pada tentakel memiliki bentuk ujung-ujung yang bergerigi (gambar 3c) (Eisapour et al., 2022; Purcell et al., 2012; Wirawati et al., 2019).



Gambar 3. Spikula *H. leucospilota* (Brandt, 1835) (a) *pseudo-plates*, (b) *table*, (c) *tentakel*, (d) *bottoms*, (e) *table disk & crown*, (f) *perforated-plates*, (g) *irregular bottoms*.

2.1.2 Habitat

Teripang umumnya menempati habitat dengan berbagai tipe dasar (substrat), seperti lumpur, lumpur berpasir, pasir, pasir berlumpur, kerikil, pantai berbatu, karang mati, pecahan karang dan bongkahan karang, beberapa jenis teripang memiliki kecenderungan menyukai tipe dasar tertentu (Wirawati et al., 2019). Teripang *H. leucospilota* umumnya dijumpai di pantai berpasir, berbatu, padang lamun, dan terumbu karang (Setyastuti et al., 2019). Spesies ini dapat hidup sampai kedalaman 10 m (Purcell et al., 2012). Teripang memiliki kebiasaan membenamkan diri dalam substrat atau dibalik batu, bersembunyi di dalam lubang dan beberapa terpapar di area terbuka (Wirawati et al., 2019).

H. leucospilota merupakan spesies yang distribusinya menyebar pada wilayah bersuhu hangat (Purcell et al., 2012). Tersebar dari Laut Merah, Pantai timur, sela-

tan Amerika, Jepang, New South Wales dan Australia Barat. Wilayah Indonesia meliputi Sumatera, Jawa, Lombok, Flores, Timor, Rote, P. Sawu, Sulawesi, Ambon, Papua Barat (Wirawati et al., 2019). Kepadatannya mencapai 5.000 ind/ha (Purcell et al., 2012).

2.2 Senyawa Metabolit Teripang

Senyawa metabolit merupakan produk yang diperoleh dari proses metabolisme pada makhluk hidup yang berperan dalam pertumbuhan, perkembangan dan reproduksi, senyawa ini terbagi menjadi senyawa metabolit primer dan sekunder. Senyawa metabolit primer adalah senyawa esensial yang dihasilkan pada proses metabolisme sel dan keseluruhan proses sintesis serta perombakan zat-zat untuk keberlangsungan hidup, seperti karbohidrat, asam amino, protein, lipid (Wahidah et al., 2017). Senyawa metabolit sekunder adalah senyawa organik yang tidak langsung terlibat dalam metabolisme dasar, tetapi berperan dalam mekanisme pertahanan, interaksi ekologis, atau adaptasi lingkungan (Putri et al., 2023).

2.2.1 Senyawa Metabolit Sekunder Teripang

Senyawa metabolit sekunder awalnya dianggap sebagai produk sampingan atau limbah dari proses produksi metabolit primer yang berlebihan. Namun, seiring dengan kemajuan ilmu pengetahuan, telah terbukti bahwa senyawa ini diproduksi oleh organisme sebagai respons terhadap lingkungan mereka. Organisme laut, terutama yang berada di daerah tropis, menghadapi berbagai tantangan untuk kelangsungan hidup, termasuk persaingan untuk ruang tumbuh, cahaya, dan makanan (Valensia et al., 2021). Organisme laut dengan pergerakan fisik yang terbatas mengembangkan sistem pertahanan diri dengan memproduksi senyawa kimia (*chemical defense*) (Nugraha & Huriyah, 2023).

Metabolit sekunder pada teripang terbentuk melalui serangkaian reaksi biokimia yang melibatkan jalur metabolisme primer dan sekunder. Proses ini dimulai dengan pengambilan nutrisi dari lingkungan, seperti karbohidrat, protein, dan mineral, yang diolah menjadi senyawa dasar. Dalam sel-sel teripang, enzim-enzim spesifik berperan dalam mengubah senyawa-senyawa ini menjadi prekursor metabolit sekunder. Seperti, asam amino yang diubah menjadi senyawa fenolik melalui

jalur biosintesis flavonoid, sementara glukosa dapat diubah menjadi senyawa terpenoid dan saponin melalui jalur mevalonat (MVA) atau jalur non-mevalonat (MEP) (Ariyanti et al., 2024). Proses ini dipengaruhi oleh berbagai faktor, termasuk stres lingkungan, keberadaan patogen, dan interaksi dengan organisme lain.

Senyawa yang dihasilkan kemudian dimodifikasi lebih lanjut melalui proses kimia seperti hidrosilasi atau glikosilasi, metilasi, dan oksidasi, yang menghasilkan berbagai jenis metabolit sekunder. Senyawa tersebut disimpan dalam jaringan tubuh atau disekresikan ke lingkungan untuk berfungsi sebagai pertahanan terhadap predator, patogen, serta membantu dalam proses regenerasi jaringan (Ariyanti et al., 2024).

2.2.2 Manfaat Senyawa Metabolit Sekunder Teripang

Pemanfaatan teripang telah dikenal sejak dahulu oleh Etnis Tionghoa sebagai makanan yang memiliki khasiat medis pada dinasti Ming, dalam tradisi Cina teripang digunakan untuk mengobati penyakit pada sistem pencernaan dan organ reproduksi. Bahan aktif yang terdapat dalam teripang juga dikenal secara luas sebagai obat untuk meningkatkan stamina, mengatasi impotensi, memper-lambat penuaan, dan mengatasi konstipasi (Anisya et al., 2024). Selain itu, senyawa antioksidan yang ada dalam teripang berperan dalam mengurangi kerusakan sel dan jaringan tubuh, serta memiliki efek *antinociception* (penahan rasa sakit) dan antiinflamasi (mengurangi peradangan) (Akerina & Sangaji, 2019).

Beberapa penelitian menunjukkan teripang memiliki aktivitas biologis yang berbeda seperti antikanker, antiinflamasi, antikoagulan, hipolipidemik, penyembuhan luka, dan aktivitas hipoglikemik, yang semuanya memiliki implikasi yang jelas dalam pencegahan dan pengobatan penyakit kardiometabolik (Xu et al., 2018). Teripang merupakan biota laut yang kaya akan beberapa senyawa bioaktif yang kuat, terutama saponin, kondroitin sulfat, glikosaminoglikan, dan polisakarida sulfat. Selain itu, beberapa penelitian tentang teripang telah mengungkapkan bahwa teripang terdiri dari banyak nutrisi dan konstituen bioaktif mulai dari protein (terutama kolagen), lipid (sebagian besar asam lemak omega-3 dan omega-6), vitamin, dan mineral, terutama magnesium, zinc, kalsium, dan zat besi (Xu et al., 2018).

Studi farmakologi menunjukkan bahwa senyawa metabolit sekunder yang berasal dari organisme teripang memiliki potensi sebagai agen antiinflamasi, antikanker, dan antiartritik. Senyawa – senyawa tersebut juga dilaporkan digunakan untuk pengobatan terhadap penyakit asma dan tekanan darah tinggi. Potensi lainnya adalah sebagai antiangiogenik, antikoagulan, antihipertensi, antioksidan (Bordbar et al., 2011), anti parasit (Murti & Agrawal, 2010), antibakteri dan anti-fungi (Omran & Khedr, 2015). Beberapa potensi senyawa metabolit sekunder yang berasal dari teripang disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Senyawa metabolit sekunder teripang.

Senyawa	Potensi	Referensi
Sulfated polysaccharide	Anti inflamasi SDF-1/ CXCR4	(Cui et al., 2016)
Fucoidan, cerebroside	Antioxidative	(Wang et al., 2012; Wu et al., 2013)
Saponin	Antidiabetes	(El Barky et al., 2016)
Triterpenoid	Antibakteri <i>Aeromonas hydrophila</i>	(Roihanah et al., 2013)
Alkaloid	Antibakteri <i>Salmonellathypi</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i>	(Yuliana et al., 2017)
Arguside A	Antikanker HCT-116	(Liu et al., 2007)
Peptide	ACE inhibitory	(Ghanbari et al., 2015)
Bivittoside	Antikanker HCT116, MCF7	(Omran & Khedr, 2015)
Cucumarioside A2–2	Antikanker Ehrlich ascite carcinoma, HL-60	(Menchinskaya et al., 2014)
Frondoside A	Antikanker THP-1, HeLa, RT112, RT4, HT-1197	(Dyshlovoy et al., 2017)
Hillasides A and B	Antikanker A549, MCF7, IA9, CAKI-1, PC-3, KB	(Wu et al., 2007)
Holothurin A3 and A4	Antikanker KB, Hep-G2	(Dang et al., 2007)
Leuscopilotaside B, holothurin B/B2	Antikanker A549, HL-60, MOLT-4, BEL-7402	(Han et al., 2010)

2.2.3 Saponin

Senyawa aktif yang terkandung dalam teripang memiliki berbagai jenis, salah satu senyawa utama dengan kandungan yang melimpah adalah golongan senyawa saponin (triterpen glikosida) (Dyck et al., 2010). Saponin adalah kelompok senyawa glikosida yang kompleks dengan berta molekul besar, umumnya dihasilkan oleh tumbuhan, organisme laut, dan beberapa jenis bakteri. Senyawa ini larut dalam air, namun tidak larut dalam eter (Hasbullah, 2016). Saponin tersusun atas glikosida dan aglikon. Glikosida terdiri dari gugus gula seperti glukosa, fruktosa, dan jenis gula lainnya. Gugus aglikon merupakan sapogenin. Sifat ampifilik tersebut

dapat membuat bahan alam yang mengandung saponin bisa berfungsi sebagai surfaktan (Fagbohun et al., 2023).

Karakteristik khas saponin meliputi rasa pahit, kemampuan membentuk busa saat dilarutkan dalam air, dan sifat toksik terhadap hewan berdarah dingin. Saponin bekerja dengan menurunkan tegangan permukaan, yang dapat menyebabkan kerusakan pada membran sel atau meningkatkan permeabilitas sel, sehingga menyebabkan sitoplasma bocor keluar dari sel yang mengakibatkan kematian sel, sebagai potensi anti kanker yang baik (Fagbohun et al., 2023).

2.2.4 Faktor yang mempengaruhi senyawa bioaktif

Komposisi dan konsentrasi senyawa bioaktif pada teripang tidak bersifat statis, melainkan sangat dinamis dan dipengaruhi oleh interaksi kompleks antara faktor intrinsik dan ekstrinsik (Suriadi et al., 2025). Faktor intrinsik seperti usia teripang dapat memodulasi profil senyawa ini seiring dengan perubahan kebutuhan fisiologis sepanjang siklus hidupnya (Sugama et al., 2019). Sementara itu, faktor ekstrinsik atau lingkungan seperti, suhu perairan, salinitas, pH, ketersediaan makanan, dan paparan polutan, memainkan peran krusial dalam membentuk biosintesis dan akumulasi senyawa bioaktif (Suriadi et al., 2025).

A). Faktor Lingkungan

1. Suhu Perairan

Suhu merupakan parameter lingkungan krusial yang secara langsung mempengaruhi fisiologi dan metabolisme teripang sebagai organisme ektoterm. Suhu optimal untuk pertumbuhan dan kelangsungan hidup berada teripang pada kisaran 28–32°C (Kabelen et al., 2023). Peningkatan suhu di luar ambang tersebut dapat mempercepat metabolisme, meningkatkan stres oksidatif, serta memicu perubahan jalur biosintetik senyawa bioaktif, seperti saponin dan antioksidan (Landes et al., 2023). Respons stres akibat suhu ekstrem juga dapat mengakibatkan penurunan sintesis metabolit sekunder karena energi diarahkan untuk mempertahankan fungsi vital, sehingga potensi terapeutik dan nilai bioaktif teripang dapat mengalami penurunan yang signifikan (Ju et al., 2024).

2. Salinitas Perairan

Salinitas memiliki peran penting dalam memengaruhi keseimbangan osmotik, metabolisme, dan pertumbuhan teripang. kisaran toleransi salinitas pada teripang antara 26–40 ppt (Suriadi et al., 2025). Fluktuasi salinitas, baik hipotonik maupun hipertonik, menyebabkan stres osmotik yang memaksa organisme untuk mengalokasikan energi pada osmoregulasi, sehingga mengganggu efisiensi metabolisme dan sintesis senyawa bioaktif seperti fukoidan dan protein fungsional (Fakar et al., 2023; Yu et al., 2013). Variabilitas salinitas yang tinggi, seperti akibat perubahan iklim atau praktik budidaya yang tidak optimal, dapat menyebabkan inkonsistensi kualitas senyawa bioaktif teripang (Yu et al., 2013).

3. pH Perairan

pH air berperan penting dalam menjaga homeostasis fisiologis teripang, termasuk fungsi enzimatis dan sistem imun. Kisaran pH optimal untuk teripang yaitu antara 7.8–8.2 (Suriadi et al., 2025). pH ekstrem dapat mengganggu aktivitas metabolik, menurunkan kemampuan biomineralisasi, serta meningkatkan stres oksidatif akibat gangguan eliminasi spesies oksigen reaktif (ROS) (Shi et al., 2021). Asidifikasi laut akibat peningkatan CO₂ atmosferik menyebabkan penurunan pH yang mengganggu biosintesis senyawa bioaktif. Dampak ini menurunkan konsentrasi dan stabilitas senyawa bernilai farmakologis tinggi, seperti saponin dan polisakarida tersulfasi (Ayubi et al., 2024; Hossain et al., 2022).

4. Polusi lingkungan

Teripang yang hidup di dasar perairan sangat rentan terhadap kontaminasi logam berat karena kebiasaannya sebagai *deposit feeder*. Logam berat seperti Pb dan Cd bersifat toksik, sementara logam esensial seperti Cu, Fe, Mn, dan Zn dapat menjadi berbahaya pada konsentrasi tinggi (De Fretes et al., 2020; Jiang et al., 2015). Akumulasi logam berat terbukti menyebabkan kerusakan histologis, khususnya pada jaringan usus, serta memicu stres oksidatif dan aktivasi mekanisme detoksifikasi (Jiang et al., 2015). Gangguan tersebut berdampak pada alokasi energi metabolik, sehingga proses biosintesis senyawa bioaktif dapat mengalami hambatan atau modulasi. Dalam kondisi tertentu, stres oksidatif justru merangsang produksi senyawa pelindung, seperti antioksidan endogen berupa senyawa fenolik dan peptida antioksidan (De Fretes et al., 2020). Tingkat kontaminasi

logam berat tidak hanya memengaruhi aspek keamanan pangan, tetapi juga menentukan potensi dan kualitas senyawa bioaktif yang dihasilkan oleh teripang. Teripang juga memiliki peran potensial sebagai bioindikator kondisi lingkungan perairan (Ayubi et al., 2024).

Mikroplastik (MPs) telah diidentifikasi sebagai kontaminan *emerging* yang berdampak signifikan terhadap kesehatan organisme laut, termasuk teripang. Menurut Shukhairi et al. (2025) teripang sebagai organisme yang mengonsumsi sedimen, teripang mudah terpapar MPs yang dapat menyebabkan kerusakan histolo-gis, gangguan fungsi enzim, stres fisiologis, serta efek toksik lainnya seperti imunotoksitas dan neurotoksisitas. Paparan mikroplastik dapat mengganggu jalur metabolik yang terlibat dalam sintesis senyawa bioaktif, terutama yang berkaitan dengan sistem imun dan pertahanan antioksidan. Penurunan aktivitas enzim akibat mikroplastik berpotensi menurunkan produksi dan stabilitas senyawa bioaktif (Shukhairi et al., 2025). Stres oksidatif yang diinduksi oleh mikroplastik dapat menguras cadangan senyawa pelindung atau secara kompensatorik meningkatkan produksinya. Fenomena tersebut memiliki implikasi ekologis dan industri yang serius, mengingat peningkatan kontaminasi mikroplastik di lingkungan laut secara langsung mengancam kualitas dan konsistensi produk bioaktif berbasis teripang, yang bernilai tinggi dalam sektor nutrasetika dan farmasi (Melindo et al., 2022).

B). Faktor Ketersediaan Makanan

Kualitas dan kuantitas pakan merupakan faktor krusial yang menentukan respons metabolik teripang (Sanjeewa & Herath, 2023). Teripang sebagai organisme *deposit feeder* memperoleh nutrisi dari bahan organik dalam sedimen, termasuk bakteri, protozoa, mikroalga bentik, dan detritus makroalga. Jenis pakan memiliki pengaruh signifikan terhadap laju metabolisme pasca-pakan (Specific Dynamic Action/SDA) dan efisiensi pemanfaatan energi (Bao et al., 2017). Variasi dalam komposisi diet, khususnya kandungan protein, memiliki pengaruh langsung terhadap profil nutrisi proksimat teripang, termasuk kadar protein, lemak, dan karbohidrat (Maskur et al., 2024). Senyawa bioaktif seperti peptida umumnya berasal dari protein, sementara kandungan fucoidan dipengaruhi oleh

ketersediaan nutrisi tertentu (Lu et al., 2022). Oleh karena itu, ketersediaan dan jenis nutrisi dalam pakan secara langsung menentukan suplai prekursor metabolik yang esensial bagi sintesis senyawa bioaktif kompleks. Kekurangan nutrisi atau komposisi pakan yang tidak seimbang dapat menghambat jalur biosintetik tersebut, sehingga mengubah konsentrasi maupun profil senyawa bioaktif yang dihasilkan (Bao et al., 2017).

C). Faktor Usia

Usia atau tahapan ontogenetik teripang diketahui berperan penting dalam memengaruhi profil senyawa bioaktif yang dikandungnya. Studi metabolomik berbasis LC-MS terhadap *Apostichopus japonicus* menunjukkan bahwa ekspresi gen *oxidosqualene cyclase* (OSC), enzim kunci dalam biosintesis saponin, lebih tinggi pada fase awal pertumbuhan dibandingkan dengan fase dewasa, yang mengindikasikan bahwa biosintesis saponin cenderung lebih aktif pada individu juvenil (Thimmappa et al., 2022). Analisis senyawa bioaktif pada *Bohadschia marmorata* juga menunjukkan adanya variasi komposisi dan konsentrasi metabolit sekunder seperti saponin dan asam lemak, yang diperkirakan berkorelasi dengan usia biologis dan status fisiologis organisme (Guo et al., 2020). Perbedaan tersebut dipengaruhi oleh perubahan kebutuhan metabolik dan prioritas fisiologis sepanjang siklus hidup, di mana individu muda mengutamakan pertumbuhan dan diferensiasi sel, sementara individu dewasa cenderung mengalokasikan energi untuk fungsi reproduksi dan pertahanan (Sugama et al., 2019).

2.3 Kanker

Kanker merupakan penyakit yang ditimbulkan oleh pertumbuhan sel yang abnormal (WHO, 2018). Pertumbuhan abnormal dari sel-sel epitelial yang menginfiltrasi jaringan sekitar dan menyebabkan metastasis (Purwoko, 2018). Kanker juga dapat berkembang dari sel tubuh berupa tumor (Hoadley et al., 2018). Umumnya sel normal akan membelah diri untuk menggantikan sel yang tua dan rusak, sedangkan kanker merupakan sel yang tumbuh dari tumor ganas yang berkembang dengan menginvasi jaringan terdekat dan menjalar ke bagian tubuh lainnya dan membentuk tumor baru atau dikenal dengan istilah metastasis

(Imaniar et al., 2022). Sel normal akan membelah diri jika mendapat sinyal, sedangkan sel kanker akan tetap membelah diri meskipun tidak ada sinyal yang diberikan oleh tubuh dan sel kanker dapat menolak sinyal yang diberikan oleh tubuh untuk melakukan apoptosis sehingga sel kanker akan terus membelah diri secara massif (Imaniar et al., 2022).

Kanker menjadi salah satu penyakit yang mematikan dan penyebab kematian paling banyak di dunia. Berdasarkan data dari *International Agency for Research on Cancer* (IARC) pada tahun 2022, sekitar 9,7 juta kematian disebabkan oleh kanker dan terdapat 20 juta kasus kanker baru (Bray et al., 2024). Jumlah kasus ini diperkirakan akan meningkat menjadi 17 juta kematian per tahun pada tahun 2030 (Donepudi et al., 2014). Kementerian Kesehatan RI menyampaikan bahwa pada tahun 2018 jumlah kasus baru kanker di Indonesia mencapai 348.809 kasus dengan kematian 207.210 jiwa (Nasution et al., 2024). Jenis kanker yang paling sering umum terjadi adalah kanker paru-paru juga merupakan penyebab utama kematian akibat kanker, dengan perkiraan 1,8 juta kematian (18,7%), diikuti oleh kanker kolorektal (9,3%), hati (7,8%), payudara wanita (6,9%), dan perut (6,8%) (Bray et al., 2024).

Salah satu kanker yang mulai meningkat kasusnya yaitu kanker prostat yang menempati urutan ke-2 kanker yang paling umum terjadi pada laki-laki di dunia dengan jumlah kasus sebanyak 1.414.259 jiwa pada tahun 2020. Di Indonesia, *Global Cancer Statistics* menunjukkan bahwa kanker prostat adalah kanker kelima yang paling umum terjadi pada pria di Indonesia, dengan jumlah kasus baru sebanyak 13.563 jiwa pada tahun 2020 sebagaimana dilansir dari data *International Agency for Research on Cancer*. Kanker prostat dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor risiko seperti merokok, kelebihan berat badan, kurangnya aktivitas fisik, dan perubahan pola reproduksi yang terkait dengan urbanisasi dan pembangunan ekonomi telah meningkatkan kasus kanker (Gomes et al., 2015; Nguyen et al., 2014; Noman et al., 2021).

2.3.1 Kanker Prostat

Kanker prostat adalah kanker yang berasal dari organ prostat; hampir semua kanker prostat berasal dari sel-sel kelenjar, dikenal dengan istilah adenokarsinoma

prostat. Kanker prostat sebagian besar (70-80%) berasal dari zona perifer (Lawrenti, 2019). Organ prostat terletak di depan rektum dan di bawah kandung kemih. Organ ini berperan menghasilkan cairan yang memberi perlindungan dan nutrisi pada sel spermatozoa dalam semen, sehingga membuat semen menjadi lebih cair. Organ prostat tumbuh cepat selama masa pubertas dipengaruhi oleh hormon androgen, terutama testosteron yang dihasilkan oleh testis. Organ ini terbagi atas zona perifer, zona transisional, zona anterior, dan zona sentral. Ukuran organ ini biasanya tidak berubah atau tumbuh lambat pada orang dewasa. Kanker Prostat merupakan pertumbuhan sel prostat yang kadang tidak menimbulkan gejala, namun karena terus berkembang maka dapat menyebabkan rasa sakit pada penderita serta hambatan saat buang air kecil (Arwansyah et al., 2014).

Kanker prostat stadium awal umumnya tidak bergejala. Namun, pada beberapa kasus ditemukan gejala lokal, seperti sering buang air kecil, berkurangnya pancaran urin, urgensi, dan hematuria (Lawrenti, 2019). Jika sudah memasuki stadium lanjut, maka muncul gejala kesulitan buang air kecil, termasuk; (1) buang air kecil yang sering di malam hari, (2) aliran urine yang lemah atau terputus-putus, (3) kesulitan menahan buang air kecil, (4) rasa tidak lengkap saat buang air kecil, (5) nyeri atau terbakar saat buang air kecil atau ejakulasi, (6) darah dalam urine atau sperma, (7) nyeri panggul atau punggung bagian bawah, (8) penurunan berat badan yang drastis dan kesulitan dalam ereksi (Christina et al., 2022).

2.3.2 Faktor Risiko

Terdapat beberapa faktor yang dapat meningkatkan terjadinya kanker prostat seperti merokok, usia, ras, genetik, kelebihan berat badan, kurangnya aktivitas fisik dan lain-lain. Salah satunya adalah kebiasaan merokok. Rokok mengandung lebih dari 4000 bahan kimia, di antaranya 60 diklasifikasikan sebagai karsinogen kelas 1 dan kelas 2 oleh *International Agency for Research on Cancer* (IARC). Komponen seperti *Polycyclic Aromatic Hydrocarbons* (PAH) dalam rokok dapat mengaktifkan metabolisme, menghindari proses detoksifikasi, dan berikatan dengan DNA sehingga memicu aktivitas karsinogenik. Polimorfisme fungsional pada gen-gen yang berperan dalam metabolisme hidrokarbon aromatik polisiklik (PAH) dan proses detoksifikasi diketahui dapat memodulasi pengaruh paparan

asap rokok terhadap risiko terjadinya kanker prostat. Kebiasaan merokok turut berkontribusi terhadap perubahan keseimbangan hormonal, di mana pria perokok dilaporkan memiliki kadar androsteron dan testosteron yang lebih tinggi, yang secara potensial dapat meningkatkan kerentanan terhadap kanker prostat (Perdana et al., 2016).

Usia menjadi salah satu faktor yang meningkatkan risiko penyakit kanker prostat. Kanker prostat jarang ditemukan pada laki-laki berusia di bawah 40 tahun, namun risikonya meningkat setelah usia 50 tahun. Enam dari sepuluh kasus kanker prostat terjadi pada pria berusia di atas 65 tahun (Kemenkes, 2015). Selain itu, faktor ras juga turut berpengaruh, di mana kanker prostat lebih sering terjadi pada orang Afrika-Amerika dan pria keturunan Karibia di Amerika Serikat. Ras Afrika diketahui memiliki risiko lebih tinggi terhadap kanker prostat dibandingkan dengan ras Asia maupun Hispanik (Kemenkes, 2015).

Riwayat keluarga menjadi faktor risiko penting lainnya. Anggota keluarga dekat, seperti ayah atau saudara laki-laki, yang didiagnosis kanker prostat pada usia muda (di bawah 50 tahun) dapat meningkatkan risiko dua kali lipat terkena kanker prostat. Risiko ini dapat meningkat menjadi tujuh hingga delapan kali lipat jika terdapat dua atau lebih anggota keluarga yang menderita kanker prostat (Kemenkes, 2015).

Obesitas juga dikaitkan dengan risiko kanker prostat, karena berhubungan dengan perubahan level metabolik dan hormon steroid yang mendukung pertumbuhan dan perkembangan sel prostat serta proses onkogenesis. Obesitas, terutama bila disertai dengan kurangnya aktivitas fisik, dapat menyebabkan resistensi insulin, peningkatan kadar glukosa darah, dan menciptakan kondisi yang mendukung perkembangan kanker. Diagnosis kanker prostat pada pria obesitas sering kali terlambat karena sulit terdeteksi, mengingat ukuran prostat yang lebih besar dan kadar PSA yang cenderung lebih rendah, sehingga perlu mempertimbangkan *Body Mass Index* (BMI) saat menginterpretasikan hasil pemeriksaan PSA (Perdana et al., 2016). Selain faktor-faktor yang telah disebutkan, faktor lain yang dapat meningkatkan risiko kanker prostat meliputi konsumsi alkohol, gaya hidup, mutasi genetik, penyakit metabolik lain, status pernikahan, serta riwayat vasektomi (Ati et al., 2021).

Kanker prostat dapat diobati melalui jalur operasi apabila sel kanker masih berada pada stadium awal dan belum menyebar ke jaringan lain (Lawrenti, 2019). Kanker prostat yang telah bermetastasis pengobatan yang dapat dilakukan berupa terapi radiasi atau kemoterapi. Pengobatan tersebut dapat menimbulkan efek samping berupa kerusakan pada sel-sel sehat serta memerlukan biaya pengobatan yang cukup besar (Christina et al., 2022; Lawrenti, 2019). Sebagai respons terhadap efek samping yang ditimbulkan oleh terapi kimiawi konvensional, berbagai alternatif pengobatan berbasis bahan alami mulai dikembangkan. Salah satu kandidat potensial adalah teripang, yang diketahui mengandung senyawa bioaktif berupa saponin (triterpen glikosida) dengan aktivitas antikanker melalui mekanisme penghambatan pertumbuhan sel kanker (Putram et al., 2017).

2.4 Antikanker

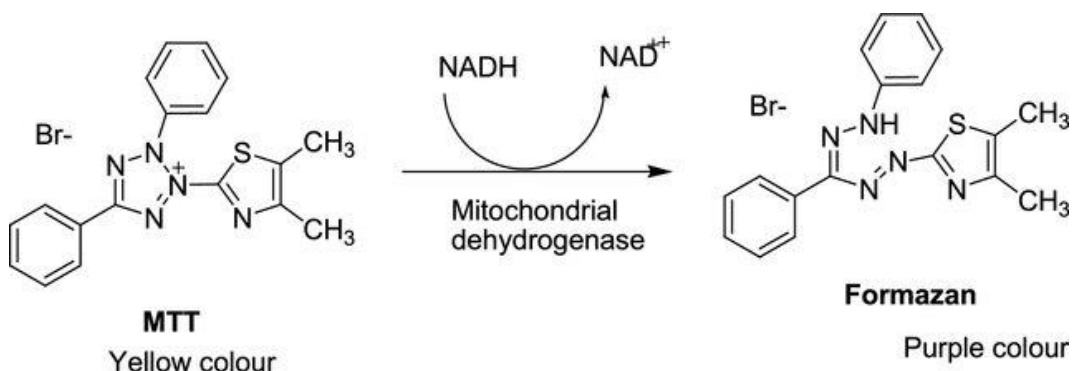
Antikanker merupakan suatu bahan yang digunakan untuk pengobatan penyakit kanker. Bahan yang memiliki aktivitas antikanker sering disebut dengan senyawa sitotoksik. Mekanisme kerjanya dengan cara mempengaruhi metabolisme asam nukleat, terutama DNA dan biosintesis protein, sehingga mengganggu perkembangan sel kanker (Nursid et al., 2013; Putri et al., 2023). Senyawa antikanker dapat menimbulkan kematian sel kanker melalui beberapa mekanisme kerja dengan memacu apoptosis (Ru et al., 2022), karena apoptosis merupakan program sel yang berperan memanipulasi untuk memacu kematian sel. Gen dan protein yang berperan di dalamnya dapat menjadi target pengembangan antikanker.

Aktivitas antikanker dapat diamati melalui uji sitotoksitas. Salah satu uji sitotoksitas yang umum digunakan dengan metode uji mikrotetrazolium (MTT). Uji mikrotetrazolium memiliki kelebihan yaitu relatif cepat, sensitif, akurat, digunakan untuk mengukur sampel dalam jumlah besar dan hasilnya bisa untuk memprediksi sifat sitotoksik suatu bahan (Amir & Murcitra, 2017). Uji mikrotetrazolium digunakan untuk menyelidiki mekanisme aktivasi sel dan kerusakan sel secara kolorimetri dan didasarkan pada *bio-reduction* garam tetrazolium ke formazan (Dhande & Patil, 2024).

Menurut Beniwal et al. (2022) uji tersebut memanfaatkan senyawa 3-(4,5-dimetil-2-tiazolil)-2,5-difenil tetrazolium bromida (MTT), yang secara spesifik

dapat direduksi oleh enzim dehidrogenase mitokondria dalam sel yang metaboliknya aktif. Pada sel hidup dan berproliferasi, enzim oksidoreduktase (NAD(P)H-dependent dehydrogenase) yang berada di dalam mitokondria akan memindahkan elektron dari NADH atau NADPH ke gugus tetrazolium pada MTT (berwarna kuning) menjadi produk akhir berupa kristal formaza berwarna ungu (gambar 4). Sel yang telah mati atau mengalami kehilangan aktivitas metabolik tidak mampu melakukan proses reduksi, sehingga tidak terbentuk formazan. Kristal formazan dapat diukur pada panjang gelombang maksimal 570 nm. Namun, spektrum maksimum bisa bergeser tergantung kondisi media dan pelarut (Ghasemi et al., 2021).

Uji aktivitas antikanker digunakan untuk menentukan nilai IC_{50} (*Inhibitory Concentration*). Nilai IC_{50} menunjukkan nilai konsentrasi yang menghasilkan hambatan proliferasi sel 50 % dan menunjukkan potensi ketoksikan suatu senyawa terhadap sel kanker. Semakin besar nilai IC_{50} senyawa tersebut semakin tidak toksik (Hafner et al., 2016). Aktivitas antikanker mempunyai tiga kategori menurut *National Cancer Institute* (NCI) yaitu, sangat aktif jika $IC_{50} < 30 \mu\text{g/ml}$, moderat aktif jika $IC_{50} 30\text{-}100 \mu\text{g/ml}$, dan tidak aktif jika $IC_{50} > 100 \mu\text{g/ml}$.



Gambar 4. Reaksi kimia reagen garam MTT menjadi formazan,
Sumber : (Beniwal et al., 2022)

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

3.1.1 Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan selama tujuh bulan, yaitu dari bulan April hingga Desember 2024. Pengambilan sampel teripang dilakukan pada bulan April oleh nelayan lokal. Kegiatan penelitian di laboratorium dilakukan dari bulan Mei s/d Oktober 2024, analisis dan pengolahan data dilakukan dari bulan Oktober s/d Desember 2024.

3.1.2 Tempat Penelitian

Sampel teripang didapatkan dari perairan Teluk Lampung. Sampel teripang diambil langsung oleh nelayan lokal dan dikirim dalam kondisi beku ke Laboratorium Genomik dan Cryo-EM Badan Riset dan Inovasi Nasional, Cibinong, Bogor. Kegiatan Ekstraksi, fraksinasi, identifikasi molekuler, uji kuantifikasi saponin, uji antikanker teripang dilakukan di Laboratorium Genomik dan Cryo-EM Badan Riset dan Inovasi Nasional, Cibinong, Bogor. Identifikasi morfologi teripang dilakukan di Laboratorium Keanekaragaman Hayati, Badan Riset dan Inovasi Nasional, Cibinong, Bogor. Analisis statistika dilakukan di Laboratorium Oseanografi, Jurusan Perikanan dan Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.

3.2 Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan pada penelitian menggunakan beberapa bahan biologis dan kimiawi, serta peralatan laboratorium untuk mendukung seluruh rangkaian proses analisis. Adapun bahan dan alat yang digunakan dalam penelitian sebagai berikut.

3.2.1 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Bahan yang digunakan dalam penelitian.

No	Nama Bahan	konsentrasi	Spesifikasi	Keterangan/fungsi
1	Teripang	239 gram	Lokal	Sebagai sampel analisis.
2	Ethanol	99%	Sigma (PA)	Sebagai pelarut dalam kegiatan maserasi dan isolasi spikula.
3	Aquades	-	Genomik	Sebagai pelarut dalam membuat etanol 70%.
4	Butanol	99%	Sigma (PA)	Pelarut dalam proses partisi yang mengikat senyawa polar.
5	<i>MilliQ (aquabidest)</i>	-	Genomik	Sebagai pelarut ekstrak.
6	n-Heksan	99%	Sigma (PA)	Pelarut dalam proses partisi yang mengikat senyawa non polar.
7	Metanol	99%	Sigma (PA)	Pelarut yang digunakan dalam mencuci labu evaporasi.
8	Alkohol	70%	Teknis	Untuk mensterilkan alat yang akan digunakan.
9	Larutan pemutih	-	Bayclin	Untuk meluruhkan spikula.
10	<i>(Tris-acetate)</i> TAE buffer	50x	Pro analisis	Untuk melarutkan agarose, memastikan arus listrik mengalir melalui gel serta memungkinkan asam nukleat bergerak melalui matriks agarose, stabilitas pH dan konsentrasi ion saat elektroforesis.
11	Agarose	-	Vivantis	Untuk memisahkan molekul DNA, RNA, dan protein dalam berbagai ukuran.
12	Vanillin	-	Sigma (PA)	Untuk mengidentifikasi senyawa saponin dan terpenoid
13	<i>Saponins from Quillaja Bark</i>	-	Sigma (PA)	Sebagai standar dalam uji total kandungan saponin.
14	Asam sulfat	98%	Sigma (PA)	Untuk mengidentifikasi senyawa saponin dan terpenoid.
15	Medium MEM	-	Sigma (PA)	Sebagai media pertumbuhan sel.
16	<i>Penicillin-streptomisin</i>	-	gibco	Sebagai antibiotik untuk mencegah kontaminasi bakteri.
17	<i>Fetal bovine serum</i>	-	Sigma	Sebagai nutrisi dalam pertumbuhan sel.
18	<i>Amphotericin B</i>	-	Gibco	Sebagai antimikotik untuk mencegah kontaminasi jamur.
19	<i>Phosphate Buffer Saline (PBS)</i>	-	Gibco	Untuk pencucian pada kultur sel.
20	<i>Dimethyl Sulfoxide (DMSO)</i>	-	Sigma	Pelarut yang digunakan untuk menyimpan ekstrak.
21	Pereaksi MTT atau (3-(4, 5-dimetiltiazolil-2)-2, 5-difeniltetrazolium bromida)	-	Sigma	Untuk mengukur aktivitas mitokondria sel hidup dalam uji sitotoksik.

Tabel 2. Bahan yang digunakan dalam penelitian (Lanjutan).

No	Nama Bahan	Konsentrasi	Merek	Keterangan/fungsi
22	Trypsin -EDTA (<i>Ethylenediaminetetraacetic Acid</i>)	-	Gibco	Untuk melepaskan sel.
23	<i>Sodium Dodecyl Sulphate</i> . (SDS)	10%	Tribioscience	Untuk menghentikan reaksi dengan menghancurkan sel dan menghentikan aktivitas enzimatis dan melarutkan kristal formazan.
24	KIT TIANamp	-	TIANGEN	Untuk mengekstraksi DNA .
25	Primer CO1	-	Thermoscientific	Untuk mengawali reaksi replikasi DNA, menentukan fragmen DNA yang akan diamplifikasi, dan membatasi fragmen DNA target yang akan diamplifikasi
26	KOD Neo Fx	-	Thermoscientific	enzim DNA polimerase dalam proses PCR.
27	dntp's	-	Thermoscientific	Untuk bahan penyusunan DNA, energi sintesis DNA dan spesifitas basa dalam proses PCR.
28	KOD Neo buffer	-	Thermoscientific	Untuk menstabilkan pH, penyedia ion dalam proses PCR.
29	Ultra pure water	-	Thermoscientific	Untuk pelarut reagen dan menghindari kontaminasi.
30	Loading dye	-	Thermoscientific	Sebagai penanda pergerakan DNA dan membantu memastikan bahwa sampel tenggelam ke dasar sumur gel agarose.
31	Marker	-	Thermoscientific	Sebagai acuan untuk mengetahui ukuran DNA hasil amplifikasi.
32	Pewarna atau Dye	100x	Thermoscientific	Sebagai pewarna molekul tertentu agar dapat dilihat atau dianalisis.
33	KIT purifikasi DNA	-	Geneaid	Untuk mempurifikasi DNA.

3.2.2 Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian disajikan pada Tabel 3. Alat-alat pendukung lainnya disajikan pada lampiran 1.

Tabel 3. Alat yang digunakan dalam penelitian.

No	Nama Alat	Konsentrasi	Spesifikasi	Keterangan/fungsi
1	<i>Rotary vakum evaporator</i>	-	Buchi R-300	Untuk memekatkan ekstrak.
2	Sonikator	-	Elmasonic	Untuk melarutkan ekstrak.
3	<i>Hot plate</i>	-	Biobase	Untuk mengeringkan fraksi hasil partisi dengan metode <i>waterbath</i> .
4	<i>T-flask</i>	25 cm ²	Biologix	Wadah kultur sel.

Tabel 3. Alat yang digunakan dalam penelitian (Lanjutan).

No	Nama Alat	Konsentrasi	Spesifikasi	Keterangan/fungsi
5	<i>Mini centrifuge</i>	-	Thermo Scientific	Untuk memisahkan dan mengisolasi partikel dalam medium cair.
6	<i>Vortex mixer</i>	-	Thermo Scientific	Untuk mencampur larutan yang ada di dalam <i>microtube</i> .
7	<i>Centrifuge</i>	-	Tomy MDX-310	Untuk memisahkan komponen sel dalam larutan atau suspensi.
8	<i>Bio safety cabinet</i>	-	Thermo Scientific 1300 series A2	Untuk melindungi pengguna, meminimalisir kontaminasi, dan menjaga lingkungan kerja dari bahaya mikroorganisme.
9	PCR Gradient	-	Eppendorf Mastercycler® nexus	Alat PCR.
10	Elektroforesis	-	Bio-Rad	Untuk memisahkan, menganalisis, dan mengidentifikasi.
11	Transilluminator UV	-	Analitikjena	Untuk mengvisualisasi DNA setelah proses elektroforesis.
12	<i>Microplate</i>	96 well	Biologix	Wadah yang digunakan untuk melakukan uji MTT dan uji vanilin-sulfat dengan membaca absorbansi.
13	<i>Dry block incubator</i>	-	BioSan TDB-100	Untuk inkubasi pemanas kering berbasis blok dengan kontrol suhu yang presisi.
14	Inkubator CO ₂	-	Scinteck	Untuk mengatur kadar karbon dioksida (CO ₂) dan faktor lain seperti suhu dan kelembaban agar sesuai dengan lingkungan alami sel.
15	Mikroskop inverted	-	(Olympus CKK53, CX23 dan BX53)	Untuk mengamati kultur sel dan spikula.
16	<i>Hemocytometer</i>	-	-	Untuk menghitung jumlah sel.
17	<i>Microplate reader</i>	-	Thermo scientific	Untuk mengukur absorbansi sampel uji MTT dan uji vanilin-sulfat.
18	Software Bioedit 7 dan Mega X	-	-	Pengolahan data hasil sekuensing.
19	Software Excel	-	Office 2021	Pengolahan data uji kuantifikasi saponin dan uji antikanker.
20	Labu evaporasi	250 ml, 500 ml dan 1 L	Pyrex dan duran	Untuk menampung maserat saat evaporasi.
21	Erlenmeyer	(1 L, 500 ml, 100 ml)	Duran, Iwaki	Alat untuk melakukan maserasi, menampung maserat dan hasil partisi.
22	Kertas saring	-	-	Untuk menyaring maserat.
23	Timbangan analitik	-	Sartorius	Untuk menimbang sampel dan bahan kimia yang digunakan dalam uji.
24	Corong pisah	250 ml	-	Wadah pemisah dalam kegiatan partisi.

3.3 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian menggunakan metode eksperimental untuk mengetahui potensi antikanker *H. leucospilota* terhadap sel kanker prostat (PC3). Potensi antikanker diketahui melalui nilai IC_{50} dari deret konsentrasi yang berbeda. Konsentrasi yang digunakan yaitu 3,125 ppm; 6,25 ppm; 12,5 ppm; 25 ppm; dan 50 ppm dengan tiga kali pengulangan pada setiap konsentrasi. Media kultur sel, suhu, inkubator berada pada kondisi seragam. Data hasil aktivitas antikanker dianalisis untuk mengetahui apakah respon penghambatan pertumbuhan sel kanker prostat (PC3) secara statistik dipengaruhi oleh perbedaan konsentrasi. Data dianalisis dengan model uji *ANOVA one way* pada tingkat signifikansi (α) sebesar 0,05, karena data memenuhi asumsi data numerik, asumsi independensi, serta asumsi distribusi normal dan homogenitas varians. Jika ditemukan perbedaan yang signifikan, dilakukan uji *Least Significant Difference* (LSD) pada tingkat signifikansi (α) sebesar 0,05 untuk mengetahui pasangan rata-rata kelompok mana yang berbeda secara signifikan.

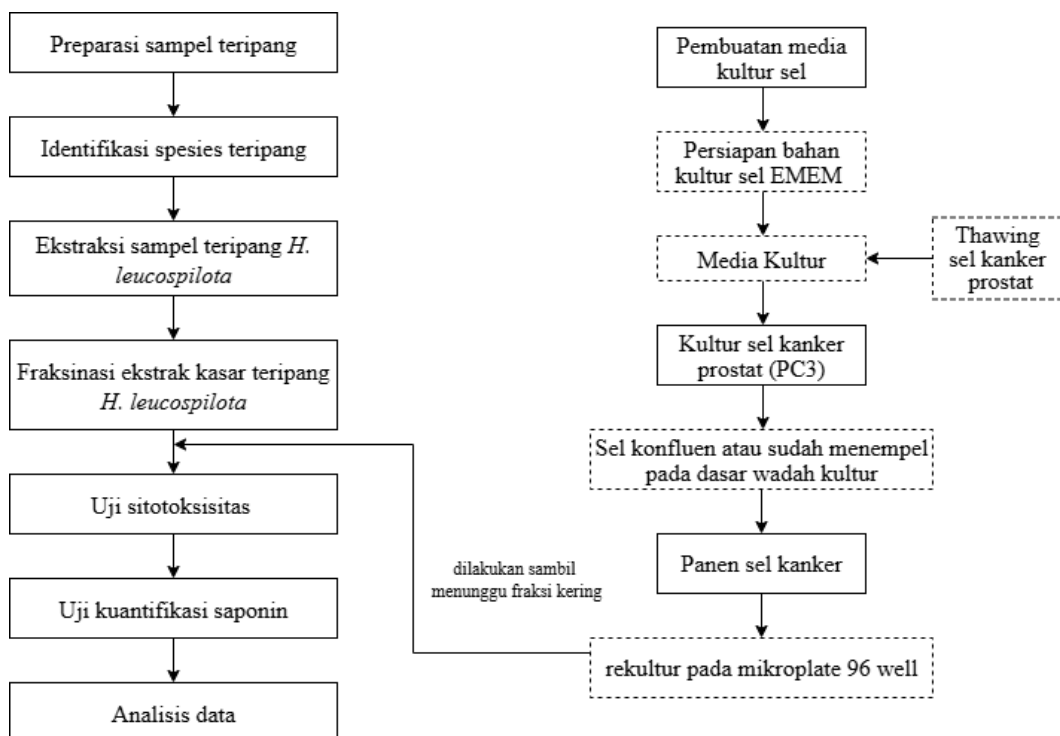
3.4 Prosedur Penelitian

Penelitian menggunakan prinsip *assay-guided isolation* digunakan sebagai panduan dalam setiap tahap pemisahan dan pemurnian senyawa, sehingga hanya fraksi atau senyawa yang aktif secara biologis yang dilanjutkan ke tahap berikutnya. Penelitian dilakukan dalam beberapa tahapan, yaitu preparasi sampel teripang, identifikasi secara morfologi dan molekuler, ekstraksi, fraksinasi, uji kuantifikasi saponin, dan uji sitotoksitas. Prosedur penelitian disajikan pada (Gambar 5). Prosedur uji sitotoksitas sebelumnya disiapkan terlebih dahulu media dan kultur sel kanker prostat yang akan digunakan untuk uji.

3.4.1 Preparasi Sampel Teripang

Preparasi sampel teripang mengacu pada (Fitri et al., 2024). Sampel teripang beku dicairkan melalui perendaman dalam air bersuhu ruang. Setelah proses pencairan selesai, sampel dicuci secara menyeluruh, termasuk bagian saluran pencernaannya, untuk memastikan tidak ada sisa pasir yang tertinggal. Teripang yang sudah dicuci kemudian ditiriskan di atas nampan untuk mengurangi kadar airnya.

Teripang yang sudah tiris disisihkan satu ekor untuk diidentifikasi dan yang lainnya dipotong-potong ukuran $\pm 1 - 2$ cm menggunakan gunting untuk di ekstraksi.



Gambar 5. Prosedur penelitian.

3.4.2 Identifikasi Spesies Teripang

Identifikasi merupakan tahapan awal yang dilakukan dalam mengeksplorasi suatu organisme. Identifikasi dilakukan melalui pendekatan morfologi dan molekuler sebagai berikut :

3.4.2.1 Identifikasi Morfologi

Identifikasi dilakukan dengan mengamati morfologi luar berupa bentuk, ukuran, warna dan morfologi dalam berupa spikula *H. leucospilota*. Prosedur identifikasi spikula mengacu pada (Khatulistiani et al., 2022). Identifikasi spikula dilakukan dengan cara memotong sampel teripang menjadi bagian-bagian kecil dari daging dorsal, ventral, dan tentakel (sekitar 1 mm²). Sampel teripang disimpan di atas kaca preparat, kemudian ditetesi larutan NaOCl atau larutan pemutih untuk memisahkan spikula dari dagingnya dan diinkubasi sekitar 30 menit hingga 1

jam hingga menghasilkan endapan spikula. Sampel daging teripang yang tidak luruh dibuang menggunakan tisu. Endapan spikula dibilas menggunakan aquabides untuk menghilangkan sisa larutan NaOCl, proses diulang sebanyak 3 kali atau sampai tidak ada bau dari larutan NaOCl dan mendapat isolat spikula. Isolat spikula yang sudah bersih ditetesi dengan etanol 96% agar spikula menyebar dan tidak menumpuk saat diamati di mikroskop, kemudian spikula diinkubasi 12 jam sampai spikula mengering. Isolat spikula diamati di bawah mikroskop Olympus CX23 dengan perbesaran lensa objektif 20x dan 40x.

3.4.2.2 Identifikasi Molekuler

Identifikasi dilakukan di Lab Molekuler, Laboratorium Genomik, Badan riset dan Inovasi Nasional Cibinong. Identifikasi molekuler mengacu (Patantis et al., 2019). Tahapan identifikasi molekuler yaitu :

1. Ekstraksi DNA dengan TIANamp

1.1 Preparasi sel teripang

Bagian kulit luar teripang dipotong sampai mengenai sedikit daging $\pm$ 30 mg. Sampel teripang dimasukkan ke dalam *microcentrifuge tube* 1,5 ml. Pasir steril ditambahkan ke sampel teripang dan sampel dihaluskan menggunakan *pastel*. Setelah itu, buffer GA sebanyak 200 μ l ditambahkan untuk membantu memecahkan sel, dan sel teripang divortex selama 15 detik.

1.2 Melisis sel teripang

Proses lisis sel teripang dengan ditambahkan proteinase K sebanyak 20 μ l, divortex dan di inkubasi pada suhu 56°C selama 0,5 – 2 jam atau sampai 12 jam. Sel teripang ditambahkan larutan Buffer GB sebanyak 200 μ l ke dalam *microcentrifuge tube*, lalu di-vortex dan diinkubasi selama 10 menit pada suhu 70°C.

1.3 DNA binding

Proses DNA *binding* diawali dengan menambahkan 200 μ l etanol (96-100%), lalu divortex selama 15 detik. Dipindahkan supernatan ke *spin column* CB3. Sampel DNA disentrifugasi pada 12.000 rpm selama 30 detik, lalu supernatan dibuang. *Spin column* ditambahkan 50 μ l buffer GD, lalu disentrifugasi pada 12.000 rpm selama 30 detik dan supernatan dibuang.

1.4 Pencucian

Setelah proses DNA *binding*, selanjutnya dilakukan proses pencucian DNA dengan menambahkan 500 µl buffer PW ke dalam sampel lalu disentrifugasi pada 12.000 rpm selama 30 detik. Supernatan dibuang dan proses pencucian diulangi sebanyak 2 kali. Sampel disentrifugasi pada 12.000 rpm selama 2 menit untuk mengeringkan membran silika.

1.5 Elusi

Pada tahap elusi *spin column* dipindahkan ke *micro tube* baru dan ditambahkan 50 µl larutan buffer TE ditengah-tengah membran, lalu diinkubasi pada suhu ruang selama 2 menit. Selanjutnya sampel disentrifugasi pada 12.000 rpm selama 2 menit. Membran silika dibuang dan cairan yang mengandung DNA pada mikro-tube disimpan pada suhu -20 untuk digunakan sebagai template PCR.

2. Amplifikasi DNA

Amplifikasi DNA atau PCR (*Polimerase Chain Reaction*) diawali dengan pembuatan PCR mix yang terdiri dari primer CO1eF(*forward*) dan CO1eR (*reverse*), KOD Fx Neo master mix (1 µL KOD Neo, 25 µL buffer, 10 µL dNTPs, 1,5 µL primer, 1 µL template DNA, 10 µL UPW). Template DNA dimasukkan ke dalam tabung PCR lalu diamplifikasi dengan menggunakan mesin PCR (Eppendorf Mastercycler® nexus).

Amplifikasi PCR menggunakan metode *touchdown*, metode ini merupakan modifikasi dari PCR dasar dimana suhu *annealing* diturunkan untuk meningkatkan spesififikasi PCR. Tahap awal denaturasi pada suhu 98°C selama 3 menit, selanjutnya 98°C selama 30 detik, *annealing* pada suhu 55°C selama 30 detik, ekstensi 72°C selama 1 menit sebanyak 11 siklus. Kemudian siklusnya kembali diulang dari denaturasi pada suhu 98°C selama 3 menit, selanjutnya 98°C selama 30 detik, *annealing* pada suhu 55°C selama 30 detik, ekstensi 72°C selama 1 menit sebanyak 25 siklus dilanjutkan dengan ekstensi akhir suhu 72°C selama 7 menit dan 10°C ± 30 menit untuk penyimpanan.

3. Pembuatan Gel Agarose

Agarose dibuat dengan melarutkan 0,6 g agarose (vivantis) dalam 70 ml tris-acetate-EDTA (*ethylenediaminetetraacid*) buffer 1x. Larutan agarose dipanaskan sampai mendidih dan larut (bening). Larutan agarose dimasukkan dalam pencetak gel yang telah dipasang *well comb*. Gel agarose ditunggu sampai memadat (sekitar 20 menit).

4. Elektroforesis

Gel agarose dimasukkan ke dalam tank elektroforesis yang berisi larutan TAE 1x. Marker 100bp dimasukan ke dalam salah satu ujung sumuran, lalu DNA sampel yang telah dicampur dengan cairan "*loading dye*" dimasukkan ke dalam sumur dengan perbandingan 2:1. Elektroda dihubungkan dengan *power supply*, kemudian dinyalakan selama 40 menit. Alat elektroforesis dimatikan, kemudian gel dari alat tersebut diambil. Gel dipindahkan ke dalam UV transilluminator, kemudian diamati hasilnya pada komputer.

5. Purifikasi

Gel agarose yang mengandung pita DNA dipotong dan dimasukan kedalam *micro tube* $\pm$ 300 mg. *Microtube* ditambahkan 500 μ l PCR buffer dan diinkubasi pada suhu 55-60°C selama 10-15 menit sampai gel larut. Sampel DNA sebanyak 800 μ l dipindahkan ke *DFH column* dalam *collection tube* dan disentrifugasi pada 14.000 rpm selama 30 detik, lalu supernatan dibuang. DNA dicuci dengan menambahkan 600 μ l *wash buffer* diinkubasi selama 1 menit. *DFH column* disentrifugasi pada 14.000 rpm selama 30 detik, kemudian supernatan dibuang dan diulangi sebanyak 2 kali. *DFH column* disentrifugasi kembali pada 14.000 rpm selama 3 menit untuk mengeringkan matriks *column*. *DFH column* dipindahkan ke *micro tube* 1,5 ml, kemudian ditambahkan 20-50 μ l elusi buffer yang sudah dihangatkan pada suhu 60-70°C. *DFH column* diinkubasi selama 2 menit agar elusi dapat terserap dengan baik, kemudian *DFH column* disentrifugasi pada 14.000 rpm selama 2 menit. *DHF column* dibuang dan cairan yang mengandung DNA pada *micro tube* disimpan pada suhu -20 untuk di sekuensing.

6. Pengolahan Data Sekuensing

Gen CO1 rDNA teripang dianalisis di Laboratorium Pusat Sekuensing, KST Soekarno BRIN Cibinong untuk memperoleh urutan rantai DNA. Analisis data sekuensing dilakukan dengan menggunakan program software Mega X dan Bio-edit 7. Hasil sekuensing dari masing-masing primer *forward* dan *reverse*, selanjutnya dilakukan penggabungan dengan merubah hasil sekuensing *reverse* untuk dilakukan pembalikan berpasangan (*reverse complement*). Untuk analisis *sequence alignment*, dilakukan dengan membandingkan sekuens yang diperoleh (query) dengan sekuens yang telah ada pada Gen Bank dengan *database searches* NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) menggunakan BLAST (*Basic Local Align-ment Search Tool*) untuk mendapatkan sekuen yang memiliki kekerabatan paling dekat. Kekerabatan antar sekuen dianalisis filogenik menggunakan aplikasi Mega X.

3.4.3 Ekstraksi Sampel *H. leucospota*

Prosedur ekstraksi mengacu (Fitri et al., 2024). Sampel awal teripang basah yang sudah dipotong sebanyak 293 g dimasukkan ke dalam erlenmeyer 1 liter, lalu ditambahkan etanol 70% sebanyak 600 ml atau sampai sampel terendam sempurna oleh pelarut. Sampel teripang direndam selama 24 jam (pelarut berubah warna dan bau). Hasil perendaman berupa maserat disaring dengan kertas saring, perendaman diulangi sebanyak 4 kali dan maserat dikumpul dalam satu wadah dari setiap pengulangan.

Maserat kemudian dipekatkan menggunakan *rotary vakum evaporator* pada tekanan vakum 73 – 34 mbar, suhu chiller 6°C, suhu waterbath 37°C – 50°C, dan rotasi 60 rpm hingga didapatkan ekstrak kasar berbentuk pasta. Ekstrak kasar dimasukkan ke dalam botol vial dan ditimbang, kemudian dihitung nilai rendemennya.

Rendemen ekstrak merupakan perbandingan antara bobot ekstrak yang dihasilkan dengan bobot sampel awal sebelum diekstraksi. Persentase rendemen ekstrak dihitung dengan menggunakan persamaan (1).

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{B_e}{B_s} \times 100\% \dots\dots\dots (1)$$

Keterangan :

Be = Bobot ekstrak (g)

Bs = Bobot sampel awal (g)

3.4.4 Fraksinasi ekstrak kasar teripang *H. leucospilota*

Prosedur fraksinasi mengacu pada (Dewi et al., 2023) dengan metode partisi cair-cair dimana pemisahan senyawa menggunakan dua pelarut (polar dan non polar) yang tidak bercampur dan berbeda tingkat kepolarannya. Ekstrak kasar sebanyak 2 g disuspensikan menggunakan 100 ml aquabides dan dimasukkan ke dalam corong pisah. Kemudian, larutan ekstrak ditambahkan n-heksan sebanyak 50 ml dengan perbandingan volume n-heksan dan aquabides sebesar 1:2. Campuran larutan dihomogenkan dalam corong pisah dan didiamkan sampai terbentuk dua fase (1 – 12 jam). Pemisahan fraksi diulang sebanyak 3 kali. Fraksi heksan dikumpulkan dalam satu wadah, sedangkan fraksi aqueous yang didapat kemudian dimasukkan dalam corong pisah dan ditambahkan butanol 50 ml. Lalu, campuran larutan dihomogenkan dalam corong pisah dan didiamkan sampai terbentuk dua fase (1 – 12 jam). Pemisahan fraksi diulang sebanyak 3 kali. Masing-masing fraksi yang dihasilkan ditampung pada wadah yang berbeda. Fraksi n-heksan dan butanol yang didapat kemudian dipekatkan menggunakan *rotary vacuum evaporator*, sedangkan fraksi aqueous dikeringkan menggunakan *freeze dryer*. Fraksi yang sudah pekat atau kering disimpan dalam lemari pendingin.

3.4.5 Uji Sitotoksisitas

Seluruh prosedur uji sitotoksisitas mengacu pada (Nursid et al., 2019) mulai dari preparasi sel kanker prostat (PC3) yang terdiri dari pembuatan media kultur, kultur sel kanker, panen sel yang siap digunakan untuk uji dan tahap pengujian dengan metode MTT (Mikrotetrazolium). Tahapan yang dilakukan sebagai berikut:

3.4.5.1 Pembuatan Media Kultur

Media kultur untuk sel prostat (PC3) dibuat dengan medium EMEM (*eagle's minimum essential medium*) dengan 10% FBS (*fetal bovine serum*), 1% penisilin-streptomisin, dan 0,5% AMP (*amphotericin B*) dari volume media kultur yang akan dibuat. Media kultur disimpan di dalam pendingin suhu 4°C sampai akan digunakan untuk kultur sel kanker.

3.4.5.2 Kultur Sel Kanker

Media kultur dimasukan ke dalam konikal steril sebanyak 3 ml. *Cryo tube* dikeluarkan dari *deep freezer* suhu -80°C dan dilelehkan pada suhu ruang. Suspensi sel diambil sebanyak 1 ml, kemudian dipindahkan ke dalam konikal berisi media kultur secara perlahan. Konikal disentrifugasi 3000 rpm selama 3 menit. Supernatan dalam konikal dibuang, lalu ditambahkan 4 ml media kultur baru. Sel diresuspen hingga homogen. *Flask* kultur diisi sebanyak 5 ml media kultur dan dimasukan suspensi sel masing-masing 2 ml lalu dihomogenkan. Sel diamati dengan mikroskop inverted, kemudian dimasukan ke dalam inkubator CO_2 dengan aliran sebesar 5 ml/menit pada suhu 37°C selama 3x24 jam atau sampai sel 80% konfluen.

3.4.5.3 Panen Sel Kanker

Media kultur dalam *flask* kultur dibuang jika sel kanker sudah konfluen 80% (sel menempel dan menutupi dasar *flask* kultur dan sel saling menempel membentuk lapisan monolayer yang padat) dan sel dicuci dengan 3 ml PBS. Kemudian ditambahkan 1 ml tripsin EDTA 0,25% dan diinkubasi selama 2-3 menit, selanjutnya ditambahkan 3 ml media kultur untuk menonaktifkan kinerja tripsin EDTA 0,25%, sel diresuspen secara perlahan sehingga semua sel lepas dari dasar *flask* kultur. Suspensi sel dipindahkan ke dalam konikal dan disentrifugasi 3000 rpm selama 3 menit. Supernatan dibuang dan ditambahkan 4 ml media kultur baru, lalu diresuspen secara perlahan. Suspensi sel dipindahkan sebanyak 10 μl ke dalam hemositometer. Selanjutnya sel dihitung di bawah mikroskop *inverted* dengan menggunakan bantuan *hand counter*. Sel dihitung pada empat kamar *haemocytometer* (Gambar 6). Perhitungan jumlah sel per ml dengan menggunakan persamaan 2.

$$\text{TC/ml} = \frac{\sum A + \sum B + \sum C + \sum D}{4} \times 10^4 \dots\dots\dots (2)$$

Keterangan:

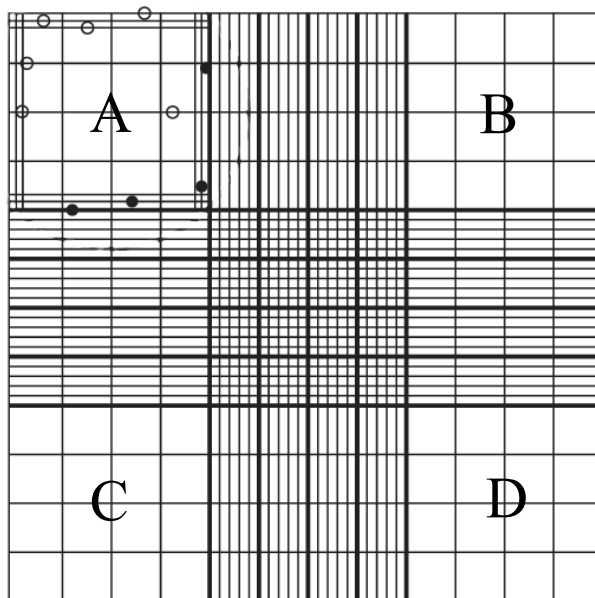
TC / ml = Jumlah sel terhitung/ml

ΣA = Jumlah sel pada kamar hitung A

ΣB = Jumlah sel pada kamar hitung B

ΣC = Jumlah sel pada kamar hitung C

ΣD = Jumlah sel pada kamar hitung D



Gambar 6. Skema perhitungan kepadatan sel kanker.

Sumber : (Zhang et al., 2020)

Kepadatan sel kanker prostat (PC3) yang digunakan pada uji sitotoksik adalah 2×10^4 sel pada tiap sumuran.

3.4.5.4 Uji Aktivitas Antikanker

Ekstrak dan fraksi teripang *H. leucospilota* diuji aktivitas antikanker dalam menghambat pertumbuhan sel kanker prostat (PC3) dengan metode MTT (Mikro-tetrazolium). Suspensi sel yang berjumlah $2 \times 10^4/100 \mu\text{l}$ dimasukkan ke dalam sumuran 96 well dan diinkubasi dalam inkubator CO_2 dengan temperatur 37°C selama 24 jam, *cell plating* uji disajikan pada (Lampiran 2). Masing-masing ekstrak dan fraksi teripang dilarutkan menggunakan media kultur dan DMSO (*Dimethyl Sulfoxide*) untuk membuat larutan stok. Penggunaan DMSO untuk memudahkan ekstrak dan fraksi-fraksi larut, serta menjaga larutan stok tidak

terdegradasi untuk uji lainnya. Konsentrasi larutan stok sebesar 10.000 ppm dibuat dengan melarutkan sebanyak 10 mg ke dalam 1 ml media kultur dan DMSO (*Dimethyl Sulfoxide*) 5% (v/v). Konsentrasi uji dibuat dengan mengencerkan larutan stok, sehingga diperoleh konsentrasi uji 50 ppm. Pengenceran dilakukan menggunakan persamaan (3).

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2 \dots\dots\dots (3)$$

Keterangan:

V_1 = Volume stok

N_1 = konsentrasi stok

V_2 = Volume uji

N_2 = Konsentrasi uji

Setelah 24 jam media lama diganti dengan media kultur yang mengandung ekstrak kasar dan fraksi-fraksi teripang dengan konsentrasi yang sudah dibuat sebelumnya sebanyak 100 µl sebanyak 3 kali pengulangan. Pengujian menggunakan 3 jenis kontrol yaitu kontrol sel, kontrol sampel dan kontrol media, urutan pengujian disajikan pada (Lampiran 3). Mikroplate 96 well diinkubasi selama 24 jam dalam inkubator CO₂. Setelah 24 jam, sel diamati dibawah mikroskop *inverted*, lalu didokumentasikan. Kemudian, media dibuang dan disiapkan reagen MTT 5 mg dalam 1 ml *Phosphate Buffer Saline* (PBS), stok reagen MTT sebanyak 5 mg/ml dalam PBS diencerkan kembali dengan media kultur sehingga didapat konsentrasi 500 µg/ml. Lalu tiap sumuran dimasukkan 100 µl reagen MTT. Mikroplate 96 well diinkubasi ke dalam inkubator CO₂ se-lama 4 jam. Setelah 4 jam, ditambahkan 100 µl SDS 10% untuk menghentikan pembentukan kristal formazan. Mikroplate 96 well diinkubasi kembali selama 12 jam pada suhu kamar dan ruang gelap lalu dibaca absorbansinya dengan *ELISA reader* pada panjang gelombang 570 nm (Nursid et al., 2019).

Data absorbansi masing-masing sumuran dikonversi ke dalam persentase inhibisi sel. Persentase inhibisi digunakan untuk menentukan persentase hambatan dari suatu bahan (ekstrak sampel) yang dilakukan terhadap sel kanker. Persentase inhibisi dihitung menggunakan persamaan (4) (Nursid et al., 2019).

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{(C-D)-(A-B)}{(C-D)} \times 100\% \dots\dots\dots (4)$$

Keterangan:

A = absorbansi rata-rata sel dengan perlakuan

B = absorbansi rata-rata perlakuan

C = absorbansi rata-rata kontrol sel

D = absorbansi rata-rata kontrol media

Fraksi butanol diuji kembali untuk mengetahui nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} menunjukkan nilai konsentrasi yang menghasilkan hambatan proliferasi sel 50 % dan menunjukkan potensi ketoksikan suatu senyawa terhadap sel kanker. Langkah kerja pengujian sebagai berikut :

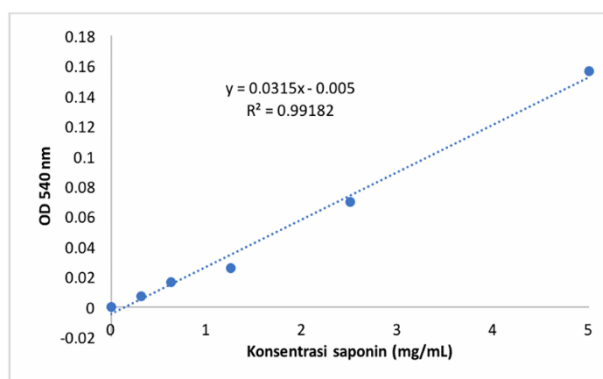
- a) suspensi sel yang berjumlah $2 \times 10^4/100 \mu\text{l}$ dimasukkan ke dalam sumuran *96 well* dan diinkubasi dalam inkubator CO_2 5 ml/menit dengan temperatur 37°C selama 24 jam;
- b) pembuatan larutan uji dari larutan stok dengan metode pengenceran menggunakan persamaan (3). Konsentrasi uji yang dibuat yaitu 50 ppm; 25 ppm; 12,5 ppm; 6,25 ppm; 3,125 ppm masing-masing dibuat 3 kali ulangan. Perhitungan konsentrasi larutan uji disajikan pada Lampiran 4;
- c) media kultur pada *microplate 96 well* diganti dengan media kultur yang mengandung fraksi teripang dengan konsentrasi yang sudah dibuat sebelumnya sebanyak $100 \mu\text{l}$ pada setiap sumuran (*triplo*). Pengujian menggunakan 3 jenis kontrol yaitu kontrol sel, kontrol sampel dan kontrol media (kontrol digunakan untuk validitas, dan interpretasi hasil uji);
- d) *microplate 96 well* diinkubasi pada inkubator CO_2 selama 24 jam, lalu sel diamati menggunakan mikroskop *inverted* dan didokumentasikan;
- e) media kultur dibuang dan tiap sumuran dimasukkan $100 \mu\text{l}$ reagen MTT;
- f) *microplate 96 well* diinkubasi pada inkubator CO_2 selama 4 jam;
- g) setiap sumuran ditambahkan $100 \mu\text{l}$ SDS 10% untuk menghentikan pembentukan kristal formazan;
- h) *microplate 96 well* ditutupi tisu atau alumunium foil dan diinkubasi selama 12 jam pada suhu kamar dan ruang gelap; dan absorbansi dibaca dengan *microplate reader* pada panjang gelombang 570 nm, data absorbansi masing-masing sumuran dikonversi ke dalam persentase inhibisi sel menggunakan persamaan (4).

3.4.5 Uji Kuantifikasi Saponin

Prosedur uji kandungan saponin mengacu pada (Dewi et al., 2023; Fitri et al., 2024). Ekstrak dan fraksi ditimbang dan dilarutkan dengan etanol 70% mencapai konsentrasi 1000 ppm dengan volume 1mg/ml. Pembuatan larutan standar dilakukan secara bertahap dengan metode pengenceran seri (*serial dilution*) dari larutan induk saponin 5 mg/ml dalam etanol 70%. Pertama dimulai dengan mengambil 1 ml larutan induk tanpa pengenceran untuk menghasilkan larutan standar konsentrasi 5 mg/ml. Kemudian untuk memperoleh konsentrasi 2,5 mg/ml, sebanyak 0,5 ml larutan 5 mg/ml diencerkan dengan 0,5 ml etanol 70% dan seterusnya (Tabel 4). Ekstrak dan fraksi sebanyak 20 µl dipindahkan ke dalam *micro tube* baru. Kemudian Ekstrak, fraksi dan standar ditambahkan vanillin 5% sebanyak 50 µl dan asam sulfat 72% sebanyak 500 µl, kemudian diinkubasi pada suhu 60°C selama 10 menit. Ekstrak, fraksi dan standar dipindah-kan ke dalam sumuran 96 *well* sebanyak 100 µl (duplo). Ekstrak, fraksi dan standart dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 540 nm menggunakan *Microplate reader*. Konsentrasi saponin dihitung berdasarkan nilai absorbansi sampel dan diinterpolasikan ke persamaan regresi linear pada kurva standar (Gambar 7).

Tabel 4. Pengenceran seri konsentrasi standart.

Konsentrasi Standart (mg/ml)	Volume Standart (ml)	Etanol 70 % (ml)
5	1	0
2,5	0,5 dari (5 mg/ml)	0,5
1,25	0,5 dari (2,5 mg/ml)	0,5
0,625	0,5 dari (1,25 mg/ml)	0,5
0,375	0,5 dari (0,625 mg/ml)	0,5
0	0	0,5



Gambar 7. Hubungan antara konsentrasi larutan standar dengan nilai absorbansi
Sumber : (Patantis et al., 2019)

3.5 Analisis Data

Analisis data hasil identifikasi teripang *H. leucospilota* dengan pendekatan morfologi dan molekuler dianalisis secara deskriptif. Identifikasi morfologi teripang berdasarkan ciri-ciri fisik seperti bentuk tubuh, warna, dan susunan spikula, sementara pendekatan molekuler memverifikasi identitas spesies melalui perbandingan sekuens genetik dengan data referensi di GenBank.

Hasil uji sitotoksitas fraksi butanol dianalisis untuk mengetahui konsentrasi senyawa yang dapat menghambat 50% pertumbuhan sel (IC_{50}). Nilai IC_{50} diperoleh melalui analisis regresi probit menggunakan perangkat lunak Minitab18. Analisis probit menggunakan Minitab18 memberikan estimasi nilai IC_{50} secara statistik berdasarkan hubungan logaritmik antara konsentrasi senyawa dan tingkat inhibisi sel

Data hasil penelitian berupa persen inhibisi dan konsentrasi dianalisis dengan model uji *one way ANOVA*, karena data memenuhi asumsi data numerik, asumsi independensi, serta asumsi distribusi normal dan homogenitas varians. Uji *one way ANOVA* digunakan untuk menentukan apakah terdapat perbedaan varian-si respon yang signifikan secara statistik antar kelompok perlakuan. Analisis dilakukan pada tingkat signifikansi 5% ($P < 0,05$). Pengambilan keputusan pada hipotesis yang diajukan yaitu:

1. Jika $p\text{-value} \leq \alpha$: Tolak H_0 , maka dapat diindikasikan bahwa terdapat minimal satu konsentrasi yang memberikan perbedaan yang signifikan terhadap penghambatan pertumbuhan sel kanker.
2. Jika $p\text{-value} > \alpha$: Tolak H_1 , disimpulkan tidak ada perbedaan yang signifikan terhadap penghambatan pertumbuhan sel kanker.

Setelah analisis ANOVA menunjukkan bahwa berbeda nyata (berdasarkan nilai $p < 0,05$), maka melakukan uji lanjut LSD (*Least Significant Difference*) untuk menentukan pasangan konsentrasi mana yang secara statistik menunjukkan perbedaan nyata dalam efek penghambatan pertumbuhan sel. Uji LSD bekerja dengan membandingkan selisih rata-rata inhibisi antara dua konsentrasi dengan nilai selisih terkecil yang masih dianggap signifikan (*least significant difference*). Jika nilai selisih rata-rata inhibisi antar dua perlakuan melebihi nilai LSD yang dihitung, maka perbedaan tersebut dianggap signifikan. Melalui uji LSD, dapat dike-

tahui secara spesifik konsentrasi mana yang memberikan respon penghambatan paling signifikan dibanding konsentrasi lain.

Hasil uji kuantifikasi saponin dianalisis secara deskriptif menggunakan *Microsoft Excel 2021*. Nilai absorbansi dari sampel dibandingkan dengan persamaan linear kurva standar saponin ($y=ax+b$). Konsentrasi saponin dalam sampel dapat dihitung menggunakan rumus:

$$y = ax+b$$

$$x = \frac{y-b}{a}$$

keterangan :

x = konsentrasi saponin (mg/ml)

y = rata-rata absorbansi sampel

untuk mendapat konsentrasi total dapat mengalikan berat sampel dengan konsentrasi saponin yang didapatkan.

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Kesimpulan dari penelitian ini sebagai berikut :

1. Teripang yang berasal dari Perairan Teluk Lampung berdasarkan morfologi dan molekuler memiliki kemiripan dengan spesies *H. leucospilota*.
2. Ekstrak dan fraksi *H. leucospilota* memiliki potensi sebagai antikanker prostat, dengan nilai IC_{50} pada fraksi butanol 7,593 $\mu\text{g/ml}$ yang menunjukkan aktivitas antikanker yang tinggi karena nilai $IC_{50} < 30 \mu\text{g/ml}$
3. Perbedaan konsentrasi memberikan pengaruh pada penghambatan pertumbuhan sel kanker. Konsentrasi 50 ppm memberikan pengaruh yang paling signifikan diantara konsentrasi yang lain. Serta konsentrasi maksimal dalam uji sitotoksitas karena dapat menghambat 100% pertumbuhan sel kanker prostat.
4. Konsentrasi saponin paling tinggi berada pada ekstrak kasar dan fraksi butanol, selaras dengan aktivitas antikanker.

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan terdapat beberapa saran untuk penelitian selanjutnya yaitu :

1. Ekstrak kasar dan Fraksi butanol *H. leucospilota* memiliki potensi dan prospektif untuk dikembangkan dan diteliti lebih lanjut mengenai aktivitas antikanker untuk sel lestari lainnya.
2. Identifikasi senyawa metabolit yang terkandung dalam teripang perlu dilakukan untuk mengetahui golongan senyawa apa saja yang terkandung dan berpotensi untuk dikembangkan sebagai pengobatan antikanker atau pengobatan lain.

3. Penggunaan konsentrasi dengan rentan yang sempit dapat memberikan keakuratan nilai IC_{50} dan pengujian dengan berbagai macam sel kanker sangat diperlukan dengan maksud membandingkan keaktifan senyawa pada sel yang berbeda.

DAFTAR PUSTAKA

- Aba, L., & Rusliadi, R. (2020). Inventarisasi jenis teripang (Holothuroidea) pada zona intertidal di Perairan Pulau Ottouwe Wakatobi. *Saintifik*, 6(1), 31–43. <https://doi.org/10.31605/saintifik.v6i1.249>
- Adeyemi, O. S., Ishii, K., & Kato, K. (2023). L-tryptophan-titanium oxide nanoparticles showed selective anti-toxoplasma gondii activity and improved host biocompatibility. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 162(1), 1-15. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2023.114597>
- Akerina, F. O., & Sangaji, J. (2019). Analisis fitokimia dan toksisitas serta aktivitas antioksidan beberapa jenis teripang di Desa Kakara, Halmahera Utara. *Agrikan: Jurnal Agribisnis Perikanan*, 12(2), 188–196. <https://doi.org/10.29239/j.agrikan.12.2.188-196>
- Alara, O. R., Abdurahman, N. H., & Olalere, O. A. (2020). Ethanolic extraction of flavonoids, phenolics and antioxidants from *Vernonia amygdalina* leaf using two-level factorial design. *Journal of King Saud University*, 32(1), 7–16. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2017.08.001>
- Amalia, N. R. A. S., Dimarti, S. C., Suranto, R. D. P., Utami, I. D., & Aldiansyach, C. A. (2014). Diversity of Holothuroids in Sepanjang Beach. *Conference of Indonesian Student Association in Korea (CISAK)*. https://www.researchgate.net/publication/278412823_Diversity_of_Holothuroids_in_Sepanjang_Beach_Gunung_Kidul_Yogyakarta_Indonesia#fullTextFileContent
- Amir, H., & Murcitra, B. G. (2017). Uji microtetrazolium (MTT) ekstrak metanol daun *Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl terhadap sel kanker payudara MCF. *Alotrop*, 1(1), 27–32. <https://doi.org/10.33369/atp.v1i1.2711>
- Anisya, A., Prayitno, D. I., & Idiawati, N. (2024). Ekstraksi dan karakterisasi kolagen pada teripang pasir *Acaudina molpadioides* dari Perairan Jawa Kalimantan Barat. *Jurnal Laut Khatulistiwa*, 7(2), 133–139. <https://doi.org/10.26418/lkuntan.v7i2.64615>

- Arfatahery, N., & Khabbazan, M. M. (2021). Antibacterial activity of the sea cucumber *Holothuria leucospilota* whole body extract against *Staphylococcus aureus* strains MRSA, SEA, and SEB. *Research Square*, 1(2)1–14. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-301584/v1>
- Arifin, H. N., Ningsih, R., Fitriyaningsih, A. A., & Hakim, A. (2013). Antibacterial activity test sea cucumber extract (*Holothuria scabra*) Sidayu Coast Gresik using disk diffusion method. *Alchemy*, 2(2), 101–149. <https://doi.org/10.18860/al.v0i0.288>
- Ariyanti, M., Farida, F., & Umiyati, U. (2024). Review: metabolit sekunder pada kelapa sawit. *Paspalum*, 12(1), 207–215. <https://doi.org/10.35138/paspalum.v12i1.709>
- Arwansyah, Ambarsari, L., & Sumaryada, T. I. (2014). Simulasi docking senyawa kurkumin dan analognya sebagai inhibitor reseptor androgen pada kanker prostat. *Current Biochemistry*, 1(1), 11–19. <https://doi.org/10.29244/cb.1.1.11-19>
- Sanjeeva, K. K. A., & Herath, K. H. I. N. M. (2023). Bioactive secondary metabolites in sea cucumbers and their potential to use in the functional food industry. *Fisheries and Aquatic Sciences*, 26(2), 69–86. <https://doi.org/10.47853/FAS.2023.E6>
- Asrori, M. R., Sutrisno, & Wijaya, H. W. (2020). Metanol dan etanol: produksi, karakterisasi, eksplorasi, dan pemberdayaan sumber daya alamnya. *Prosiding SNKP*, 2(1), 179–196. <https://kimia.fmipa.um.ac.id>
- Ati, V. R. B., Rahmadiano, H. M., & Munfiah, S. (2021). Faktor-faktor risiko yang berhubungan dengan kejadian kanker prostat (studi kasus di RSUD prof. Dr. Margono Soekarjo Purwokerto). *Mandala*, 14(2), 67–73. <https://doi.org/10.20884/1.mandala>
- Avigail, Y., Yudiati, E., & Pringgenies, D. (2019). Aktivitas antioksidan dan kandungan total fenolik pada ekstrak teripang di Perairan Karimunjawa, Jepara. *Journal of Marine Research*, 8(4), 346–354. <https://doi.org/10.14710/jmr.v8i4.24600>
- Ayubi, N., Padmasari, D. F., Komaini, A., Syafawi, A., Ardha, M. A. Al, Dafun, P. B., Ming, J. W., Lesmana, H. S., & Putri, D. R. S. (2024). Phytochemical Compounds in Sea Cucumber Have the Potential to Reduce Oxidative Stress and Inflammation Due to Exercise: Systematic Review. *Physical Education Theory and Methodology*, 24(1), 158–168. <https://doi.org/10.17309/tmf.v2024.1.19>
- Bao, J., Jiang, H., Dong, S., & Tian, X. (2017). Effect of food on specific dynamic action (SDA) of green and red types of sea cucumber (*Apostichopus japonicus* Selenka). *Journal of Ocean University of China*, 16(5), 905–910. <https://doi.org/10.1007/S11802-017-3226-7>

- Beniwal, M., Jain, N., Jain, S., & Aggarwal, N. (2022). Design, synthesis, anticancer evaluation and docking studies of novel 2-(1-isonicotinoyl-3-phenyl-1H-pyrazol-4-yl)-3-phenylthiazolidin-4-one derivatives as Aurora-A kinase inhibitors. *BMC Chemistry*, 16(1), 61–78. <https://doi.org/10.1186/s13065-022-00852-8>
- Bi, Q. Y., Wang, M. R., Zhao, F., Wang, M., Yin, X. J., Ruan, J. Z., Wang, D. L., & Ji, X. M. (2020). N-butanol fraction of wenxia formula extract inhibits the growth and invasion of non-small cell lung cancer by down-regulating Sp1-mediated MMP2 expression. *Frontiers in Pharmacology*, 11(1), 35–45. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.594744>
- Bordbar, S., Anwar, F., & Saari, N. (2011). High-value components and bioactives from sea cucumbers for functional foods. *Marine Drugs*, 9(10), 1761–1805. <https://doi.org/10.3390/md9101761>
- Bray, F., Laversanne, M., Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Soerjomataram, I., & Jemal, A. (2024). Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 74(3), 229–263. <https://doi.org/10.3322/caac.21834>
- Chasanah, E., Fawzya, Y. N., Tarman, K., Januar, H. I., & Nursid, M. (2016). Fatty acid profile, carotenoid content, and in vitro anticancer activity of Karimunjawa and Lampung sea cucumber. *Squalen Bulletin of Marine and Fisheries Postharvest and Biotechnology*, 11(3), 117–124. <https://doi.org/10.15578/squalen.v11i3.269>
- Christina, S., Sanchia, H., & Angka, R. N. (2022). Kanker prostat : risiko dan pencegahannya. *Jurnal MedScientiae*, 1(2), 73–81. <https://doi.org/10.36452/jmedscientiae.v1i2.2638>
- Cui, C., Wang, P., Cui, N., Song, S., Liang, H., & Ji, A. (2016). Sulfated polysaccharide isolated from the sea cucumber *Stichopus japonicas* promotes the SDF-1 α /CXCR4 axis-induced NSC migration via the PI3K/Akt/FOXO3a, ERK/MAPK, and NF- κ B signaling pathways. *Neuroscience Letters*, 616(1), 57–64. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2016.01.041>
- Dang, N. H., Van Thanh, N., Van Kiem, P., Huong, L. M., Van Minh, C., & Kim, Y. H. (2007). Two new triterpene glycosides from the Vietnamese sea cucumber *Holothuria scabra*. *Archives of pharmacal research*, 30(11), 1387–1391. <https://doi.org/10.1007/BF02977361>
- Darya, M., Sajjadi, M. M., Yousefzadi, M., Sourinejad, I., & Zarei, M. (2020). Antifouling and antibacterial activities of bioactive extracts from different organs of the sea cucumber *Holothuria leucospilota*. *Helgoland Marine Research*, 74(1), 1–13. <https://doi.org/10.1186/s10152-020-0536-8>

- De Fretes, C. C., Kakisina, P., & Rumahlatu, D. (2020). Concentration of heavy metal Hg, Au, and Fe in sediments, water, and tissue damage of golden sea cucumber *Stichopus herrmanni* (Semper, 1868) (Holothuroidea; Stichopodidae) in Kayeli Bay, Indonesia. *Acta Aquatica Turcica*, 16(1), 113–123. <https://doi.org/10.22392/ACTAQUATR.603602>
- Dewi, A. S., Arumia, M., Samodro, D. A., Fajarningsih, N. D., Patantis, G., Nursid, M., Batubara, I., & Fawzya, Y. N. (2023). Characterization and bioactivities of sequentially-prepared sea cucumber ethanolic extracts and protein hydrolysates. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 32(1), 95–110. <https://doi.org/10.1080/10498850.2022.2163862>
- Dhande, S. R., & Patil, V. R. (2024). In vitro MTT assay to evaluate mitochondrial dysfunction in rat brain synaptosomes. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 17(8), 3543–3545. <https://doi.org/10.52711/0974-360X.2024.00553>
- Donepudi, M. S., Kondapalli, K., Amos, S. J., & Venkanteshan, P. (2014). Breast cancer statistics and markers. *Journal of Cancer Research and Therapeutics*, 10(3), 506–511. <https://doi.org/10.4103/0973-1482.137927>
- Dwicahyani, T., Sumardianto, & Rianingsih, L. (2018). Uji bioaktivitas ekstrak teripang keling *Holothuria atra* sebagai antibakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Pengelolaan Dan Bioteknologi Hasil Perikanan*, 7(1), 15–24. <http://www.ejournal-s1.undip.ac.id/index.php/>
- Dyck, S. V, Gerbaux, P., & Flammang, P. (2010). Qualitative and quantitative saponin contents in five sea cucumbers from the Indian Ocean. *Marine Drugs*, 8(1), 173–189. <https://doi.org/10.3390/md8010173>
- Dyshlovoy, S. A., Madanchi, R., Hauschild, J., Otte, K., Alsdorf, W. H., Schumacher, U., Kalinin, V. I., Silchenko, A. S., Avilov, S. A., Honecker, F., Stonik, V. A., Bokemeyer, C., & Amsberg, G. V. (2017). The marine triterpene glycoside frondoside A induces p53-independent apoptosis and inhibits autophagy in urothelial carcinoma cells. *BMC Cancer*, 17(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/s12885-017-3085-z>
- Eisapour, M., Salari, A. M. A., Salamat, N., Nafisi, B. M., & Salati, A. P. (2022). Identification and taxonomy of sea cucumbers (*Holothuria*) in Persian Gulf. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 21(1), 63–81. <https://doi.org/10.22092/ijfs.2022.351042.0>
- El Barky, A. R., Hussein, S. A., Alm-Eldeen, A. A., Hafez, Y. A., & Mohamed, T. M. (2016). Anti-diabetic activity of *Holothuria thomasi* saponin. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 84(1), 1472–1487. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2016.10.002>

- Fagbohun, O. F., Joseph, J. S., Oriyomi, O. V., & Rupasinghe, H. P. V. (2023). Saponins of north atlantic sea cucumber: chemistry, health benefits, and future prospectives. *Marine Drugs*, 21(5), 262–281. <https://doi.org/10.3390/md21050262>
- Fakar, W. A., Rizkina, R. D., Nurjanah, S., & Suryani, D. (2023). Senyawa fucoidan pada teripang laut untuk pengobatan diabetes mellitus: sebuah tinjauan pustaka. *Jurnal Medika Hutama*, 5(1), 3768–3778. <http://jurnalmedikahutama.com>
- Faridani, F. A., Salamat, N., Doostshenas, B., Sharifpour, I., & Fakhri, A. (2023). Timing of the reproductive cycle of *Holothuria (Mertensiothuria) leucospilota* (Brandt, 1835) from the Persian Gulf based on evaluation of gonad histomorphology and sex hormones. *Aquatic Sciences*, 85(4), 99–116. <https://doi.org/10.1007/s00027-023-00997-1>
- Farjami, B., Nematollahi, M. A., Moradi, Y., Irajian, G., Nazemi, M., Ardebili, A., & Pournajaf, A. (2013). Antibacterial activity of the sea cucumber *Holothuria leucospilota*. *International Journal of Molecular and Clinical Microbiology*, 1(1), 225–230. https://journals.iau.ir/article_513260.html
- Al Faroby, W., Supratman, O., & Syari, I. A. (2021). Analisis kepadatan teripang hitam (*Holothuria atra*) di kawasan intertidal Perairan Tuing Kabupaten Bangka. *Akuatik*, 15(1), 1–7. <https://doi.org/10.33019/akuatik.v15i1.3103>
- Fitri, D. A., Purwanti, N., Nursid, M., & Patantis, G. (2024). Effects of sun and oven drying on the physicochemical composition of Indonesian sandfish (*Holothuria scabra*). *Squalen Bulletin of Marine and Fisheries Postharvest and Biotechnology*, 19(1), 13–21. <https://doi.org/10.15578/squalen.886>
- Ghanbari, R., Zarei, M., Ebrahimpour, A., Abdul-Hamid, A., Ismail, A., & Saari, N. (2015). Angiotensin-I converting enzyme (ACE) inhibitory and anti-oxidant activities of sea cucumber (*Actinopyga lecanora*) hydrolysates. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(12), 28870–28885. <https://doi.org/10.3390/ijms161226140>
- Ghasemi, M., Turnbull, T., Sebastian, S., & Kempson, I. (2021). The MTT assay: Utility, limitations, pitfalls, and interpretation in bulk and single-cell analysis. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(23), 1–30. <https://doi.org/10.3390/IJMS222312827>
- Gomes, N. G., Lefranc, F., Kijjoa, A., & Kiss, R. (2015). Can some marine-derived fungal metabolites become actual anticancer agents?. *Marine Drugs*, 13(6), 3950–3991. <https://doi.org/10.3390/md13063950>

- Guo, K., Su, L., Wang, Y., Liu, H., Lin, J., Cheng, P., Yin, X., Liang, M., Wang, Q., & Huang, Z. (2020). Antioxidant and anti-aging effects of a sea cucumber protein hydrolyzate and bioinformatic characterization of its composing peptides. *Food and Function*, 11(6), 5004–5016.
<https://doi.org/10.1039/D0FO00560F>
- Hafner, M., Niepel, M., Chung, M., & Sorger, P. K. (2016). Growth rate inhibition metrics correct for confounders in measuring sensitivity to cancer drugs. *Nature Methods*, 13(6), 521–527. <https://doi.org/10.1038/nmeth.3853>
- Halimatushadyah, E., Da'i, M., & Nursid, M. (2018). Sitotoksisitas dan induksi apoptosis ekstrak etanol teripang *Holothuria atra* Jaeger, 1833 pada beberapa sel kanker. *Jurnal Pascapanen Dan Bioteknologi Kelautan Dan Perikanan*, 13(2), 101–110. <https://doi.org/10.15578/jpbkp.v13i2.536>
- Han, H., Zhang, W., Yi, Y.-H., Liu, B.-S., Pan, M.-X., & Wang, X.-H. (2010). A novel sulfated holostane glycoside from sea cucumber *Holothuria leucospilota*. *Chemistry & Biodiversity*, 7(7), 1764–1769.
<https://doi.org/10.1002/cbdv.200900094>
- Handayani, T., Sabariah, V., Hambuako, R. R., Gunung, J., Amban, S., Barat, M.-P., & Untuk, P. (2017). Komposisi spesies teripang (holothuroidea) di perairan Kampung Kapisawar Distrik Meos Manswar Kabupaten Raja Ampat. *Jurnal Perikanan Universitas Gadjah Mada*, 19(1), 45–51.
<https://doi.org/10.22146/jfs.26946>
- Haripriya, R., & Thirumalaivasan, P. (2022). In vitro and in vivo anticancer studies of n-butanol fraction from ethanol extract of *Annona muricata* leaves. *International Journal of Health Sciences*, 5(1), 1504–1516.
<https://doi.org/10.53730/ijhs.v6ns5.9335>
- Hasbullah, U. H. A. (2016). Kandungan senyawa Saponin pada daun, batang dan umbi tanaman Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis). *Planta Tropika: Journal of Agro Science*, 4(1), 20–24.
<https://doi.org/10.18196/pt.2016.052.20-24>
- Hasnia, W. O., Ramli, M., & Rahmadani. (2022). Struktur komunitas holothuroidea di perairan Desa Sombu Kabupaten Wakatobi. *Sapa Laut*, 7(1), 45–51. <https://doi.org/10.33772/jsl.v7i1.24340>
- Hoadley, K. A., Yau, C., Hinoue, T., Wolf, D. M., Lazar, A. J., Drill, E., Shen, R., Taylor, A. M., Cherniack, A. D., Thorsson, V., Akbani, R., Bowlby, R., Wong, C. K., Wiznerowicz, M., Sanchez-Vega, F., Robertson, A. G., Schneider, B. G., Lawrence, M. S., Noushmehr, H., ... Laird, P. W. (2018). Cell-of-origin patterns dominate the molecular classification of 10,000 tumors from 33 types of cancer. *Cell*, 173(2), 291–304.
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.03.022>

- Hossain, A., Dave, D., & Shahidi, F. (2022). Antioxidant potential of sea cucumbers and their beneficial effects on human health. *Marine Drugs*, 20(8), 521–543. <https://doi.org/10.3390/MD20080521>
- Hutapea, M., Swandiny, G. F., Syafawi, M. I., Pratama Putra, F., Kokadir, S., Basilianus, E., Putri, G., & Abdillah, S. (2023). Penelitian terbaru terhadap 3 (tiga) jenis ekstrak teripang di Pulau Tegal Mas, Lampung. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 21(2), 165–171. <https://doi.org/10.35814/jifi.v21i2.1447>
- Imaniar, N., Nurafni, S., Pitaloka, D. A., & Salman, I. (2022). Sarang semut (*Myrmecodia pendans*) sebagai bahan baku teh herbal antikanker. *Pharmamedica Journal*, 7(2), 143–149. <https://doi.org/10.47219/ath.v7i2.179>
- Isnaini, I., & Aryawati, R. (2023). Kerapatan lamun dan hubungan dengan parameter lingkungan di Perairan Pesisir Teluk Lampung. *Buletin Oseanografi Marina*, 12(3), 331–339. <https://doi.org/10.14710/buloma.v12i3.50694>
- Janakiram, N. B., Mohammed, A., & Rao, C. V. (2015). Sea cucumbers metabolites as potent anti-cancer agents. *Marine drugs*, 13(5), 2909–2923. <https://doi.org/10.3390/md13052909>
- Jiang, H., Tang, S., Qin, D., Chen, Z., Wang, J., Bai, S., & Mou, Z. (2015). Heavy metals in sea cucumber juveniles from coastal areas of Bohai and yellow seas, North China. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 94(5), 577–582. <https://doi.org/10.1007/S00128-014-1432-1>
- Ju, Z., Li, X., Yang, W., & Xiong, D. (2024). Immune responses of sea cucumber (*Apostichopus japonicus*) to combined environmental stress from high temperature and oil pollution. *Marine and Freshwater Research*, 75(6), 225–232. <https://doi.org/10.1071/MF23161>
- Kabelen, A. S., Oedjoe, M. D. R., & Linggi, Y. (2023). Pertumbuhan teripang pasir (*Holothuria scabra*) yang dipelihara pada substrat yang berbeda. *Jurnal Vokasi Ilmu Perikanan*, 4(1), 36–41. <https://doi.org/10.35726/jvip.v4i1.6953>
- Kamarudin, R. K., & Rehan, M. M. (2015). Morphological and molecular identification of *Holothuria (Merthensiothuria) leucospilota* and *Stichopus horrens* from Pangkor Island, Malaysia. *Tropical Life Sciences Research*, 26(1), 87–99. <https://doi.org/26868593>
- Khatulistiani, T. S., Dewi, A. S., & Yasman. (2022). Detailed description of scanning electromagnetic microscope (SEM) of the *Holothuria scabra*'s ossicles (Holothuroidea: Echinodermata) collected from Pesawaran Waters, Lampung, Indonesia. *Biodiversitas*, 23(7), 3697–3704. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d230747>

- Kusuma, A. E., & Aprileili, D. A. (2022). Pengaruh jumlah pelarut terhadap rendemen ekstrak daun katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr). *Sitawa*, 1(2), 125–135. <https://doi.org/10.62018/SITAWA.V1I2.22>
- Landes, A. M., Sunde, J., & Christophersen, G. (2023). Effect of live-storage period and temperature on oxygen consumption rate in the cold-water sea cucumber *Parastichopus tremulus*. *Frontiers in Marine Science*, 10(1), 1–10. <https://doi.org/10.3389/FMARS.2023.1248840/BIBTEX>
- Lawrenti, H. (2019). Perkembangan terapi kanker prostat. *Cermin Dunia Kedokteran*, 46(8), 521–528. <https://doi.org/10.55175/cdk.v46i8.426>
- Lichota, A., & Gwozdziński, K. (2018). Anticancer activity of natural compounds from plant and marine environment. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(11), 1–38. <https://doi.org/10.3390/ijms19113533>
- Liu, B.-S., Yi, Y.-H., Li, L., Zhang, S.-L., Han, H., Weng, Y.-Y., & Pan, M.-X. (2007). Arguside a: a new cytotoxic triterpene glycoside from the sea cucumber *Bohadschia argus* jaeger. *Chemistry & Biodiversity*, 4(12), 2845–2851. <https://doi.org/10.1002/cbdv.200790234>
- Lu, Z., Sun, N., Dong, L., Gao, Y., & Lin, S. (2022). Production of Bioactive Peptides from Sea Cucumber and Its Potential Health Benefits: A Comprehensive Review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 70(25), 7607–7625. <https://doi.org/10.1021/ACS.JAFC.2C02696>
- Maskur, M., Sayuti, M., Widyasari, F., & Setiarto, R. H. B. (2024). Bioactive Compound and Functional Properties of Sea Cucumbers as Nutraceutical Products. *Reviews in Agricultural Science*, 12(1), 45–64. https://doi.org/10.7831/RAS.12.0_45
- Massin, C., Uthicke, S., Purcell, S. W., Rowe, F. W., & Samyn, Y. (2009). Taxonomy of the heavily exploited Indo-Pacific sandfish complex (Echinodermata: Holothuriidae). *Zoological Journal of the Linnean Society*, 155(1), 40–59. <https://doi.org/10.1111/j.1096-3642.2008.00430.x>
- Mayer, A. M. S., Rodríguez, A. D., Taglialatela-Scafati, O., & Fusetani, N. (2017). Marine pharmacology in 2012–2013: Marine compounds with antibacterial, antidiabetic, antifungal, anti-inflammatory, antiprotozoal, antituberculosis, and antiviral activities; affecting the immune and nervous systems, and other miscellaneous mechanisms of action. *Marine drugs*, 15(9), 273–334. <https://doi.org/10.3390/md15090273>
- Melindo, H. E., Riani, E., & Sinambela, M. W. C. (2022). Microplastic threats in the cultured of sandfish (*Holothuria scabra*): a case study of Pasar Island, Bandar Lampung. *Coastal and Ocean Journal*, 6(2), 73–80. <https://doi.org/10.29244/coj.v6i2.44505>

- Menchinskaya, E. S., Pislyagin, E. A., Kovalchyk, S. N., Davydova, V. N., Silchenko, A. S., Avilov, S. A., Kalinin, V. I., & Aminin, D. L. (2014). Antitumor activity of cucumarioside A2-2. *Chemotherapy*, 59(3), 181–191. <https://doi.org/10.1159/000354156>
- Monika, R., Pringgenies, D., & Setyati, W. A. (2021). Potensi ekstrak teripang *Stichopus hermannii*, Semper 1868 (Holothuroidea : Stichopodidae) sebagai penghasil senyawa antibakteri terhadap *Streptococcus mutans* Clarke, 1924 (Bacilli : Streptococcaceae). *Journal of Marine Research*, 10(3), 421–427. <https://doi.org/10.14710/jmr.v10i3.31097>
- Murti, Y., & Agrawal, T. (2010). Marine derived pharmaceuticals-development of natural health products from marine biodiversity. *International Journal of ChemTech Research*, 2(4), 2198–2217. https://www.sphinxesai.com/Oct_dec_2010_vol2_no.4/chemTech_vol2_no.4_1_pdf/CT%3D59%20%282198-2217%29.pdf?utm_source
- Nasution, M., Sari, R. F., & Widyasari, R. (2024). Pendekatan regresi logistik biner dan regresi logistik berstruktur pohon dalam analisis diagnosis kanker payudara. *Lebesgue*, 5(1), 354–372. <https://doi.org/10.46306/lb.v5i1>
- Nguyen, V. T., Lee, J. S., Qian, Z. J., Li, Y. X., Kim, K. N., Heo, S. J., Jeon, Y. J., Park, W. S., Choi, I. W., Je, J. Y., & Jung, W. K. (2014). Gliotoxin isolated from marine fungus *Aspergillus sp.* induces apoptosis of human cervical cancer and chondrosarcoma cells. *Marine Drugs*, 12(1), 69–87. <https://doi.org/10.3390/md12010069>
- Noman, E., Al-Shaibani, M. M., Bakhrebah, M. A., Almoheer, R., Al-Sahari, M., Al-Gheethi, A., Mohamed, R. M. S. R., Almulaiky, Y. Q., & Abdulaal, W. H. (2021). Potential of anti-cancer activity of secondary metabolic products from marine fungi. *Journal of Fungi*, 7(6), 436–463. <https://doi.org/10.3390/jof7060436>
- Nugraha, S., & Huriyah, S. B. (2023). Karakteristik komponen bioaktif pada avertebrata hasil perairan laut. *Clarias*, 4(1), 2774–244. <https://doi.org/10.56869/clarias.v4i1.315>
- Nurfitriani, E., Mulyani, Y., & Agung, M. U. K. (2017). Hubungan kualitas air dengan profil metabolit sekunder ekstrak daging *Holohuria atra* di Perairan Teluk Lampung dan Perairan Garut. *Jurnal Akuatika Indonesia*, 2(2), 146–156. <https://doi.org/10.24198/jaki.v2i2.23423>
- Nursid, M., Fajarningsih, N. D., & Chasanah, E. (2013). Cytotoxic activity and apoptosis induction of T47D cell lines by *Turbinaria decurrens* extract. *Squalen Bulletin of Marine and Fisheries Postharvest and Biotechnology*, 8(1), 23–28. <https://doi.org/10.15578/squalen.v8i1.78>

- Nursid, M., Marraskuranto, E., & Chasanah, E. (2019). Cytotoxicity and apoptosis induction of sea cucumber *Holothuria atra* extracts. *Pharmacognosy Research*, 11(1), 41–46. https://doi.org/10.4103/pr.pr_3_18
- Nursid, M., Pratitis, A., & Ekowati Chasanah, dan. (2010). Kultivasi kapang MFW-01-08 yang diisolasi dari *Ascidia aplidium longitorax* dan uji aktivitas sitotoksiknya terhadap sel kanker payudara T47D. *Jurnal Pascapanen Dan Bioteknologi Kelautan Dan Perikanan*, 5(2), 103–110. <https://www.bbp4b.litbang.kkp.go.id/jurnal-jpbkp/index.php/jpbkp/article/view/412/258>
- Omran, N. E., & Khedr, A. M. (2015). Structure elucidation, protein profile and the antitumor effect of the biological active substance extracted from sea cucumber *Holothuria polii*. *Toxicology and Industrial Health*, 31(1), 1–8. <https://doi.org/10.1177/0748233712466135>
- Patantis, G., Dewi, A. S., Fawzya, Y. N., & Nursid, M. (2019). Identification of beche-de-mers from indonesia by molecular approach. *Biodiversitas*, 20(2), 537–543. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d200233>
- Perdana, N. R., Mochtar, C. A., Umbas, R., Rizal, A., & Hamid, A. H. (2016). The risk factors of prostate cancer and its prevention: a literature review. *Acta medica indonesiana*, 8(3), 228–238. <https://www.inaactamedica.org/archives/2016/27840359.pdf>
- Pham, D. T., Doung, K. M., & Dinh, T. T. (2021). Isolation, purification and structural characteristics of glycosaminoglycans from sea cucumber *Stichopus horrens*. *Vietnam Journal of Science and Technology*, 58(6A), 199–208. <https://doi.org/10.15625/2525-2518/58/6a/15527>
- Prasetyo, B. A., Muawanah, M., Mardianto, L., & Lubis, M. Z. (2022). Distribusi spasial kualitas perairan dan hubungannya dengan aktifitas budidaya perikanan di Teluk Lampung. *Journal of Science and Applicative Technology*, 6(1), 1–10. <https://doi.org/10.35472/jsat.v6i1.897>
- Purcell, S. (2014). *Processing sea cucumbers into bêche-de-mer: A manual for Pacific Island fishers*. <https://www.researchgate.net/publication/263013835>
- Purcell, S. W., Samyn, Yves., & Conand, C. (2012). *Commercially important sea cucumbers of the world*. Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Purwoko, M. (2018). Hubungan tingkat pendidikan dan pekerjaan dengan tingkat pengetahuan mengenai kanker ovarium pada wanita. *Mutiara Medika*, 18(2), 45–48. <https://doi.org/10.18196/mm.180214>
- Putram, N. M., Setyaningsih, I., Tarman, K., & Nursid, M. (2017). Aktivitas antikanker dari fraksi aktif teripang. *Jurnal Pengelolaan Hasil Perikanan Indonesia*, 20(1), 53–62. <https://journal.ipb.ac.id/index.php/jphpi>

- Putri, A. P., Chattri, M., Advinda, L., & Violita. (2023). Karakteristik saponin senyawa metabolit sekunder pada tumbuhan. *Serambi Biologi*, 8(2), 251–258. <https://serambibiologi.ppj.unp.ac.id/index.php/srmb/article/view/207/115>
- Putri, F. E., Diharmi, A., & Karnila, R. (2023). Identifikasi senyawa metabolit sekunder pada rumput laut coklat (*Sargassum plagyophyllum*) dengan metode fraksinasi. *Jurnal Teknologi Dan Industri Pertanian Indonesia*, 15(1), 40–46. <https://doi.org/10.17969/jtipi.v15i1.23318>
- Rasyid, A. (2017). Analysis of secondary metabolites, antibacterial activity and compound composition in the sea cucumber *Bohadschia sp.* extract. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Kelautan Tropis*, 8(2), 645–653. <https://doi.org/10.28930/jitkt.v8i2.15831>
- Rasyid, A., Putra, M. Y., & Yasman. (2021). Free radical scavenging activity of five selected sea cucumbers collected from Lampung waters, Indonesia. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 890(1), 1–6. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/890/1/012014>
- Rasyid, A., Putra, M. Y., & Yasman. (2023). Antibacterial and antioxidant activity of sea cucumber extracts collected from Lampung waters, Indonesia. *Kuwait Journal of Science*, 50(4), 615–621. <https://doi.org/10.1016/j.kjs.2023.03.012>
- Rasyid, A., Wahyuningsih, T., & Ardiansyah, A. (2018). Profil metabolit sekunder, aktivitas antibakteri dan komposisi senyawa yang terkandung dalam ekstrak metanol teripang *Stichopus horrens*. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Kelautan Tropis*, 10(2), 333–340. <https://doi.org/10.29244/jitkt.v10i2.19480>
- Rattu, F. E., Mege, R., Manampiring, N., Roring, V. I. Y., Gedoan, S., & Mokosuli, Y. (2024). Identifikasi teripang laut (Holothuroidea) dari Perairan Laut Pulau Kabaruan berdasarkan identifikasi morfologi dan DNA barcoding. *Bioscientist : Jurnal Ilmiah Biologi*, 12(1), 277–292. <https://doi.org/10.33394/bioscientist.v12i1.9649>
- Riwanti, P., & Izazih, F. (2020). Penelitian pengaruh perbedaan konsentrasi etanol pada kadar flavonoid total ekstrak etanol 50,70 dan 96% *Sargassum polycystum* dari Madura. *Journal of Pharmaceutical Care Anwar Medika*, 82(2), 2654–8364. <https://doi.org/10.36932/jpcam.v2i2.1>
- Rizkita, A. D., Dewi, S. A., Wibowo, E. A. P., & Maulana, I. (2021). Isolasi dan identifikasi saponin dari ekstrak leunca (*Solanum ningrum L*) secara spektrofotometri infra merah. *Jurnal Ilmiah Sains*, 21(2), 166–169. <https://doi.org/10.35799/jis.v21i2.34635>
- Roihanah, S., Sukoso, & Andayani, S. (2013). Aktivitas antibakteri ekstrak teripang *Holothuria sp.* terhadap bakteri *Aeromonas hydrophila* secara in vitro. *The Journal Of Experimental Science*, 3(1), 40–44. <https://doi.org/10.21776/ub.jels.2013.003.01.08>

- Ru, R., Guo, Y., Mao, J., Yu, Z., Huang, W., Cao, X., ... & Yuan, L. (2022). Cancer cell inhibiting sea cucumber (*Holothuria leucospilota*) protein as a novel anti-cancer drug. *Nutrients*, 14(4), 786–804. <https://doi.org/10.3390/nu14040786>
- Sadegh, K., Ahmadi, A., Shadi, A., & Ghasemi, A. (2025). Anticancer activity of *Holothuria leucospilota*-derived saponin on mkn45 gastric cancer cell via upregulation of cdh1 hub gene. *Middle East Journal of Cancer*, 16(1), 24–38. <https://doi.org/10.30476/mejc.2024.100200.1976>
- Samyn, Y., Appeltans, W., & Kerr, A. M. (2005). Phylogeny of Labidodemas and the Holothuriidae (Holothuroidea: Aspidochirotida) as inferred from morphology. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 144(1), 103–120. <https://doi.org/10.1111/j.1096-3642.2005.00158.x>
- Saputra, Y. D., Widiastuti, E. L., Berliana, M. I., & Nurcahyani, N. (2024). Potensi produk alami laut dari ekstrak etanol *Sargassum duplicatum* dan *Padina australis* secara sitotoksik terhadap sel HeLa. *Berita Biologi*, 23(1), 155–165. <https://doi.org/10.55981/beritabiologi.2024.661>
- Setyastuti, A., & Purwati, P. (2015). Species list of Indonesian trepang. *SPC Beche-de-mer Information Bulletin*, 35(2), 19–25. <https://www.researchgate.net/publication/280495107>
- Setyastuti, A., Wirawati, I., Permadi, S., & Vimono, I. B. (2019). *Teripang Indonesia: Jenis, Sebaran, dan Status Nilai Ekonomi*. PT. Media Sains Nasional.
- Shi, W., Li, Y., Dong, Y., Xin, M., Zhang, X., & Xu, Q. (2021). The effect of ocean acidification on the enzyme activity of *Apostichopus japonicus*. *Fish and Shellfish Immunology*, 108, 1–6. <https://doi.org/10.1016/J.FSI.2020.11.004>
- Shukhairi, S. S., Mazlan, N., Abd Rahman, N. N., Nazahuddin, M. N. A., Shawel, A. S., & Kumar, V. S. (2025). The effect of chronic microplastic exposure on the growth, biochemical responses, and histological changes of the juvenile sea cucumber *Holothuria scabra*. *Environmental Science and Pollution Research International*, 32(24), 1–13. <https://doi.org/10.1007/S11356-025-36559-1>
- Simbolon, A. R., Putra, M. Y., & Wirawati, I. (2021). Identifikasi spesies menggunakan DNA barcoding dalam menunjang budidaya dan konservasi teripang di Perairan Lampung. *Jurnal Riset Akuakultur*, 16(1), 31–37. <https://doi.org/10.15578/jra.16.1.2021.31-37>
- Sobari, E., Gilang Ramadhan, M., & Dwi Destiana, I. (2022). Menentukan nilai rendemen pada proses ekstraksi daun murbei (*Morus alba L.*) dengan pelarut berbeda. *Jurnal Ilmiah Ilmu Dan Teknologi Rekayasa*, 5(2), 36–41. <https://doi.org/10.31962/jiitr.vvii.66>

- Soltani, M., Parivar, K., Baharara, J., Kerachian, M. A., & Asili, J. (2014). Hemolytic and cytotoxic properties of saponin purified from *Holothuria leucospilota* sea cucumber. *Reports of biochemistry & molecular biology*, 3(1), 43. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4757088/>
- Subari, A., Razak, A., & Sumarmin, R. (2021). Phylogenetic analysis of *Rasbora spp.* based on the mitochondrial DNA COI gene in Harapan Forest. *Jurnal Biologi Tropis*, 21(1), 89–94. <https://doi.org/10.29303/jbt.v21i1.2351>
- Sugama, K., Hartati, R., Giri, I. N. A., & Widianigsih. (2019). *Aspek Biologi dan Budidaya Teripang Pasir, Holothuria scabra*. AMAFRAD Press.
- Suhardi, R. E., Fajri, H., Aditya, A. P., & Vallahayil, F. A. (2024). Phylogenetic analysis of the Dipterocarpaceae family in the peatland vegetation of Danau Sentarum National Park using in silico approaches based on MatK sequences. *Indonesian Journal of Biotechnology and Biodiversity*, 8(3), 114–126. <https://doi.org/10.47007/ijobb.v8i3.232>
- Suleman, I. F., Sulistijowati, R., Manteu, S. H., & Nento, W. R. (2022). Identifikasi senyawa saponin dan antioksidan ekstrak daun lamun (*Thalassia hemprichii*). *Jambura Fish Processing Journal*, 4(2), 94–102. <https://doi.org/10.37905/jfpj.v4i2.15213>
- Sumarni, Hartati, Supriyo, & Harnany, A. S. (2022). Gambaran tingkat kecemasan pasien kanker payudara terhadap kemoterapi. *Jurnal Lintas Keperawatan*, 3(2), 235–24. <https://doi.org/10.31983/jlk.v3i2.9267>
- Suriadi, L. S., Fatmawati, Thamrin, M., Djai, S., & Suhartin. (2025). Kelimpahan jenis holothuroids di Perairan Laut Hukum Adat (Kaombo) Desa Wabula Buton, Sulawesi Tenggara. *Jurnal Sains dan Inovasi Perikanan*, 9(1), 1–7. <https://doi.org/10.33772/jsipi.v9i1.1002>
- Tay, D. D., Choo, M. Y., Musa, S. M., & Ahmad, H. F. (2022). Whole genome sequencing of *Priestia megaterium* isolated from the gut of sea cucumber (*Holothuria leucospilota*). *Materials Today: Proceedings*, 75, 123–126. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2022.10.150>
- Thimmappa, R., Wang, S., Zheng, M., Misra, R. C., Huang, A. C., Saalbach, G., Chang, Y., Zhou, Z., Hinman, V., Bao, Z., & Osbourn, A. (2022). Biosynthesis of saponin defensive compounds in sea cucumbers. *Nature Chemical Biology*, 18(7), 774–781. <https://doi.org/10.1038/S41589-022-01054-Y>
- Untari, F., Rasyid, A., Murniasih, T., & Wibowo, J. T. (2025). Uji aktivitas antimikroba dari ekstrak metanol teripang asal Perairan Lampung. *Manilkara*, 3(2), 89–98. <https://doi.org/10.33830/manilkara.v3i2.11162.2025>

- Valensia, R., Aida, F., Hartati, H., & Hermawan, A. K. (2021). Isolasi senyawa metabolit sekunder pada beberapa hewan bahari. *PharmaCine*, 2(1), 15–2021. <https://journal.unsika.ac.id/>
- Vaseghi, G., Hajakbari, F., Sajjadi, S., Dana, N., Ghasemi, A., & Yegdaneh, A. (2018). Cytotoxic screening of marine organisms from Persian Gulf. *Advanced Biomedical Research*, 7(1), 108–112. https://doi.org/10.4103/abr.abr_9_18
- Wahidah, N., Ratman, & Ningsih, P. (2017). Analisis senyawa metabolit primer pada jamur merang (*Volvariella volvaceae*) di daerah perkebunan kelapa sawit Lalundu. *Jurnal Akademika Kimia*, 6(1), 43–47. <https://doi.org/10.22487/j24775185.2017.v6.i1.9227>
- Wang, Y., Su, W., Zhang, C., Xue, C., Chang, Y., Wu, X., Tang, Q., & Wang, J. (2012). Protective effect of sea cucumber (*Acaudina molpadioides*) fucoidan against ethanol-induced gastric damage. *Food Chemistry*, 133(4), 1414–1419. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.02.028>
- WHO. (2018). *Cancer*. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer>
- WHO. (2022). *Cancer site ranking*. <https://gco.iarc.who.int/media/globocan/factsheets/cancers/39-all-cancers-fact-sheet.pdf>
- Wibowo, J. T., Kellermann, M. Y., Versluis, D., Putra, M. Y., Murniasih, T., Mohr, K. I., Wink, J., Engelmann, M., Praditya, D. F., Steinmann, E., & Schupp, P. J. (2019). Biotechnological potential of bacteria isolated from the sea cucumber *Holothuria leucospilota* and *Stichopus vastus* from lampung, Indonesia. *Marine Drugs*, 17(11), 635–660. <https://doi.org/10.3390/md17110635>
- Wirawati, I., Setyastuti, A., & Purwati, P. (2019). *Timun Laut Dari Perairan Dangkal Indonesia*. PT. Media Sains Nasional.
- Wu, F.-J., Xue, Y., Tang, Q.-J., Xu, J., Du, L., Xue, C.-H., Takahashi, K., & Wang, Y.-M. (2013). The protective effects of cerebrosides from sea cucumber and starfish on the oxidative damage in PC12 cells. *J. Oleo Sci*, 62(9), 717–727. <http://www.jstage.jst.go.jp/browse/jos/http://mc.manuscriptcentral.com/jjocs>
- Wu, J., Yi, Y. H., Tang, H. F., Wu, H. M., & Zhou, Z. R. (2007). Hillasides A and B, two new cytotoxic triterpene glycosides from the sea cucumber *Holothuria hilla* Lesson. *Journal of Asian Natural Products Research*, 9(7), 609–615. <https://doi.org/10.1080/10286020600882676>
- Xu, C., Zhang, R., & Wen, Z. (2018). Bioactive compounds and biological functions of sea cucumbers as potential functional foods. *Journal of Functional Foods*, 49, 73–84. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.08.009>

- Yu, Z., Qi, Z., Hu, C., Liu, W., & Huang, H. (2013). Effects of salinity on ingestion, oxygen consumption and ammonium excretion rates of the sea cucumber *Holothuria leucospilota*. *Aquaculture Research*, 44(11), 1760–1767. <https://doi.org/10.1111/J.1365-2109.2012.03182.X>
- Yuliana, Ilyas, A., & Suriani. (2017). Isolasi senyawa bioaktif antibakteri pada ekstrak etanol teripang pasir (*Holothuri scabra*) di Kepulauan Selayar. *Al-Kimia*, 5(1), 71–80. <https://doi.org/10.24252/al-kimia.v5i1.2340>
- Yun, C. W., Kim, H. J., & Lee, S. H. (2019). Therapeutic application of diverse marine-derived natural products in cancer therapy. *Anticancer Research*, 39(10), 5261–5284. <https://doi.org/10.21873/anticancer.13721>
- Zhang, M., Gu, L., Zheng, P., Chen, Z., Dou, X., Qin, Q., & Cai, X. (2020). Improvement of cell counting method for Neubauer counting chamber. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 34(1), 1–6. <https://doi.org/10.1002/jcla.23024>
- Zhang, W., Lu, Y., Xu, B., Wu, J., Zhang, L., Gao, M., Zheng, S., Wang, A., Zhang, C., Chen, L., & Lei, N. (2009). Acidic mucopolysaccharide from *Holothuria leucospilota* has antitumor effect by inhibiting angiogenesis and tumor cell invasion in vivo and in vitro. *Cancer Biology and Therapy*, 8(15), 1489–1499. <https://doi.org/10.4161/cbt.8.15.8948>