



AKTIVITAS ANTIMITOSIS EKSTRAK ETANOL 80% LAWI-LAWI (*Caulerpa racemosa*) TERHADAP SEL ZIGOT BULU BABI (*Tripneustes gratilla*)

Eva Feriadi^{1*}, Al Awaldhi Ramadhan¹, Muh. Syahrudin¹, Febrianto Patulak¹, Diah Fausiah¹

¹Program Studi S-1 Farmasi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Sembilanbelas November Kolaka

*Alamat Korespondensi: feriadi.eva@gmail.com

Abstract: Cancer remains one of the leading causes of mortality worldwide, characterized by a high prevalence rate and ranking as the second most common cause of death globally. The elevated prevalence of cancer is closely associated with its hallmark features of uncontrolled cellular proliferation and aberrant mitotic processes. One plant species proposed to possess antimitotic potential is the lawi-lawi plant (*Caulerpa racemosa*). The bioactive compounds contained within this alga have been demonstrated to exhibit diverse pharmacological activities and are traditionally utilized by Indonesian communities as a natural source of antioxidants. This study employed a quantitative approach using a true experimental post-test-only control group design to evaluate the effect of an 80% ethanol extract of *C. racemosa* on the inhibition of mitosis in sea urchin (*Tripneustes gratilla*) zygote cells. The results of the antimitotic assay revealed that the *C. racemosa* extract exhibited an IC_{50} value of 208.93 $\mu\text{g/mL}$, whereas the positive control, Vincristine, demonstrated a markedly lower IC_{50} value of 2.46 $\mu\text{g/mL}$. These findings indicate that the 80% ethanol extract of *C. racemosa* possesses measurable antimitotic activity, although its potency is moderate when compared with the strong inhibitory effect exhibited by Vincristine.

Keywords: anticancer, antimitotic, *Caulerpa racemosa*, *Tripneustes gratilla*.

Abstrak: Kanker merupakan salah satu penyakit pembunuh utama di seluruh dunia. Penyakit kanker memiliki angka prevalensi yang sangat tinggi dan menjadi penyebab kematian nomor dua di dunia. Tingginya angka prevalensi kanker tidak lepas dari sifat proliferasi dan fase mitosis yang abnormal. Salah satu tumbuhan yang diduga memiliki aktivitas sebagai antimitosis adalah tumbuhan lawi-lawi (*Caulerpa racemosa*). Kandungan senyawa kimia yang terdapat pada tumbuhan ini telah terbukti memiliki aktivitas farmakologis dan masyarakat Indonesia memanfaatkannya sebagai sumber antioksidan alami. Penelitian ini merupakan penelitian kuantitatif secara *true experimental* menggunakan *post-test only control group design* yang mengkaji perlakuan pemberian ekstrak etanol 80% lawi-lawi (*C. racemosa*) terhadap penghambatan mitosis sel zigot bulu babi (*Tripneustes gratilla*). Hasil pengujian aktivitas antimitosis menunjukkan bahwa ekstrak *C. racemosa* memiliki nilai IC_{50} sebesar 208,93 $\mu\text{g/ml}$ sedangkan kontrol positif Vincristine memiliki nilai IC_{50} sebesar 2,46 $\mu\text{g/ml}$. Berdasarkan hasil pengujian, ekstrak etanol 80% *C. racemosa* memiliki aktivitas antimitosis meskipun nilai IC_{50} nya tergolong sedang jika dibandingkan dengan kontrol positif Vincristine yang nilai IC_{50} nya sangat kuat.

Kata kunci: antikanker, antimitosis, *Caulerpa racemosa*, *Tripneustes gratilla*.

PENDAHULUAN

Kanker merupakan sekumpulan penyakit yang ditandai oleh pertumbuhan sel abnormal secara tidak terkendali, yang dapat muncul pada hampir seluruh organ maupun jaringan tubuh serta memiliki kemampuan untuk menginvasi dan bermetastasis ke organ lainnya. Secara global, kanker menempati posisi sebagai penyebab kematian tertinggi kedua setelah penyakit kardiovaskular. Pada tahun 2018, tercatat sekitar 9,6 juta kematian di dunia disebabkan oleh kanker. Di Indonesia, prevalensi penyakit kanker mengalami peningkatan dari 1,4% pada tahun

2013 menjadi 1,8% pada tahun 2018 (Amalia dkk., 2023). Angka morbiditas dan mortalitas karena kanker diperkirakan akan mengalami peningkatan dalam beberapa dekade mendatang (Sung et al., 2021).

Tingginya angka prevalensi kanker tidak lepas dari sifat proliferasi sel kanker yang tidak terkendali dan berhubungan dengan fase mitosis yang abnormal. Mitosis merupakan salah satu dari tahapan dalam siklus sel yang berperan dalam pemisahan kromosom dan pembelahan sel untuk menghasilkan sel-sel yang baru. Proses mitosis sel kanker terjadi tidak beraturan dan pembelahan selnya dipercepat karena kemampuan yang dimiliki sel kanker untuk menghindari apoptosis dan faktor penghambat pertumbuhan. Pertumbuhan dan penyebaran sel kanker yang abnormal ini dapat menghambat sirkulasi dan merusak fungsi organ yang dapat berujung pada kematian (*American Cancer Society*, 2018 ; Huang et al., 2022).

Berbagai upaya pengobatan kanker yang tersedia saat ini yaitu melalui pembedahan, terapi radiasi, kemoterapi, imunoterapi dan sebagainya. Namun semuanya memiliki efek sampingnya masing-masing (Rahman, 2016). Oleh karenanya, pencarian obat antikanker baru yang lebih efektif dan minim efek samping masih terus dilakukan, terutama yang bersumber dari bahan alam karena beberapa keunggulannya seperti efek samping lebih sedikit, biaya lebih ekonomis, tersedia secara luas dan mudah terurai secara hayati. Selain itu, bahan alam seperti tumbuhan dikenal memiliki aktivitas antioksidan yang signifikan dalam menangkal radikal bebas penyebab kanker (Ciampi et al., 2020 ; Korrapati et al., 2016). Penelitian pencarian obat antikanker telah dimulai sejak tahun 1981 dan hingga kini tercatat ada 136 obat antikanker di dunia, 83% diantaranya bersumber dari bahan alam. Hal ini menjadi bukti bahwa bahan alam merupakan penyumbang utama obat antikanker dan diklaim lebih berkhasiat dibandingkan obat sintesis (Newmann & Cragg, 2016). Salah satu temuan obat antikanker paling terkenal efikasinya ialah paclitaxel yang diisolasi dari kulit batang *Taxus brevifolia* dan digunakan untuk terapi kanker payudara dengan menghambat proliferasi pada fase mitosis sel kanker (Amaral et al., 2019). Menargetkan fase mitosis adalah metode pengobatan kanker yang efektif karena banyak produk alam memberikan efek antitumor yang menguntungkan melalui penghambatan mitosis (Steinmetz & Prota, 2018). Oleh karenanya, fokus pencarian dan eksplorasi obat antikanker baru dari bahan alam saat ini tertuju pada tumbuhan yang mampu menghambat dan menghentikan pertumbuhan sel pada fase mitosis (antimitosis) melalui penghambatan mikrotubulus sehingga sel tidak dapat memperbanyak diri/proliferasi dan akhirnya mati (Huang et al., 2022).

Saat ini, upaya penemuan senyawa bioaktif antikanker tidak lagi terbatas pada organisme darat, tetapi telah berkembang hingga mencakup organisme laut. Keanekaragaman hayati di perairan laut Indonesia memberikan potensi besar untuk dimanfaatkan sebagai sumber penemuan senyawa bioaktif baru (Swantara dkk., 2016). Hal ini sejalan dengan Negara Indonesia yang merupakan Negara kepulauan terbesar di dunia dengan keanekaragaman hayati yang berlimpah, salah satunya biota laut yang sangat bervariasi. Meskipun demikian, nyata pemanfaatan biota laut baik sebagai nutrisi maupun bahan baku obat masih kurang optimal di Indonesia. Salah satu diantaranya adalah rumput laut yang merupakan salah satu komoditas potensial yang menawarkan berbagai komponen bioaktif yang menarik. Rumput laut memiliki lebih dari 10.000 spesies sehingga tumbuhan ini akan sangat berpotensi untuk dimanfaatkan pada bidang industri makanan, bioteknologi dan biofarmasi (Sumartini & Yaqin, 2023).

Salah satu jenis rumput laut yang tersebar luas di perairan Indonesia adalah *Caulerpa racemosa*. Spesies ini dikenal sebagai lawi-lawi oleh masyarakat sekitar Sulawesi dan dimanfaatkan sebagai bahan makanan dalam bentuk sayuran maupun dikonsumsi langsung. Spesies *C. racemosa* termasuk kategori *Feather Seaweed* (makroalga yang dapat dimakan) dan dilaporkan menghasilkan metabolit sekunder yang aktif sebagai antioksidan, anti bakteri, anti jamur, anti tumor, antihipertensi dan hipotiroid (Anwar dkk., 2016 ; Picaulima et al., 2023 ; Septiyaningrum dkk., 2020). Merujuk dari latar belakang tersebut dan mengingat banyaknya manfaat dari metabolit sekunder yang terdapat dalam lawi-lawi (*C. racemosa*), peneliti tertarik untuk mengkaji lebih lanjut mengenai potensi dan aktivitas farmakologis lainnya dari lawi-lawi (*C. racemosa*), terutama pada pengujian aktivitas antimitosisnya dalam menghambat pembelahan sel sehingga nantinya dapat memberikan gambaran awal untuk skrining sitotoksik sebelum pengujian langsung secara *in vitro* terhadap sel kanker.

METODE PENELITIAN

ALAT DAN BAHAN

Alat dan Instrumen

Alat dan instrumen yang akan digunakan dalam penelitian ini yaitu wadah toples, botol vial, batang pengaduk, corong, corong pisah, cawan porselin, gelas ukur, gelas kimia, tabung reaksi, erlenmeyer, aerator, kaca preparat, spoit 1 cc, mikropipet, oven, *blender*, *rotary evaporator*, timbangan analitik, *coolbox*, *waterbath*, lemari pendingin, dan mikroskop.

Bahan

Sampel yang akan digunakan dalam penelitian ini yaitu tumbuhan lawi-lawi (*Caulerpa racemosa*) yang diperoleh dari perairan Desa Tanggetada, Kecamatan Tanggetada, Kabupaten

Kolaka, Sulawesi Tenggara. Bahan-bahan yang digunakan ialah etanol 80%, akuades, kloroform, air laut saring, kertas saring, DMSO 1%, kalium klorida 10%, formalin 10%, *yellow tip*, *blue tip*, plastik *wrap*, *aluminium foil*, dan *vincristine* (kontrol positif).

Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan adalah bulu babi (*Tripneustes gratilla*) atau yang dikenal dengan nama lokal *Tehe-tehe* di daerah Tanggetada, berjenis kelamin jantan dan betina yang dewasa dan masih hidup, diperoleh dari perairan Desa Tanggetada, Kecamatan Tanggetada, Kabupaten Kolaka, Sulawesi Tenggara.

PROSEDUR PENELITIAN

Pengambilan Sampel

Sampel lawi-lawi (*Caulerpa racemosa*) diperoleh dari pantai di pesisir Desa Tanggetada, Kecamatan Tanggetada, Kabupaten Kolaka, Sulawesi Tenggara.

Determinasi Sampel

Sampel lawi-lawi (*Caulerpa racemosa*) yang telah dikumpulkan dilakukan determinasi untuk memeriksa dan memastikan status taksonominya di Laboratorium Biologi, Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Halu Oleo.

Preparasi Sampel

Proses preparasi sampel lawi-lawi (*Caulerpa racemosa*) diawali dengan melakukan sortasi untuk memisahkan kotoran atau alga lain yang melekat pada sampel. Selanjutnya dilakukan proses pencucian menggunakan air mengalir untuk membersihkan sisa kotoran dan pasir yang masih melekat di sampel. Tahap selanjutnya adalah perajangan untuk memisahkan bagian yang akan digunakan yaitu *erect frond* dengan bagian lain yang tidak digunakan. Selanjutnya dilakukan proses sortasi basah untuk memastikan tidak ada kotoran atau bagian lain yang masih menempel. Kemudian dilakukan penimbangan untuk mengetahui berat sampel awal (basah). Tahap selanjutnya sampel dijemur dengan cara diangin-anginkan (tidak di bawah matahari secara langsung). Setelah kering selanjutnya dilakukan sortasi kering untuk memisahkan kotoran atau bagian sampel yang tidak digunakan. Tahap akhir dari preparasi adalah menghaluskan sampel menggunakan *blender* hingga diperoleh serbuk simplisia yang kering.

Ekstraksi Sampel

Serbuk simplisia lawi-lawi (*Caulerpa racemosa*) ditimbang sebanyak 300,2 g dan dimasukkan dalam wadah untuk dimaserasi dan ditambahkan pelarut etanol 80% dengan perbandingan 1:5 hingga simplisia terendam seluruhnya dan disimpan selama ± 48 jam dalam wadah tertutup rapat dan terhindar dari sinar matahari langsung dengan sesekali dilakukan pengadukan. Hasil ekstraksi (lapisan atas) kemudian disaring menggunakan corong dan kertas saring dan

ditampung dalam wadah. Proses ini diulangi sebanyak 2 kali pengulangan dengan cara yang sama. Ekstrak etanol 80% lawi-lawi (*C. racemosa*) selanjutnya dipekatkan menggunakan *rotary vacuum evaporator* sampai didapatkan ekstrak yang kental dan diuapkan dalam *waterbath* hingga diperoleh ekstrak kental yang konsisten dan dihitung rendamen ekstrak (Depkes RI, 2000).

UJI AKTIVITAS ANTIMITOSIS

Pembuatan Larutan KCl 10%

Sebanyak 10 gr KCl dimasukkan dalam labu ukur 100 mL kemudian ditambahkan aquades sedikit demi sedikit, sambil dikocok dan dicukupkan volume hingga 100 ml.

Penyiapan Air Laut Bebas Protozoa

Air laut yang digunakan dalam pengujian antimitosis diperoleh dari Balai Benih Udang Dinas Kelautan dan Perikanan Provinsi Sulawesi Tenggara. Air laut ini kemudian dilakukan penyaringan kembali dengan menggunakan kertas saring untuk memastikan bebas dari protozoa.

Persiapan Sampel Uji

Ekstrak etanol lawi-lawi (*C. racemosa*) ditimbang sebanyak 2 mg kemudian dilarutkan dengan DMSO 1% sebanyak 200 μ l, diencerkan dengan air laut bebas protozoa sehingga diperoleh konsentrasi 200 μ g/ml sebagai larutan stok. Larutan stok ini dipipet menggunakan mikropipet ke dalam vial untuk mendapat konsentrasi 100, 10, dan 1 μ g/ml. Kemudian dibuat kontrol negatif (tanpa senyawa bioaktif) dengan menggunakan air laut bebas protozoa dan DMSO 1%. Sedangkan untuk kontrol positif digunakan obat *vincristine* dengan variasi konsentrasi 0,01, 0,1, dan 1 μ g/ml.

Persiapan Fertilisasi Sel Zigot Bulu Babi

Bulu babi *T. gratilla* jantan dan betina diinduksi dengan melakukan penyuntikan 1 ml KCl 10% ke dalam bagian gonad melalui mulut bulu babi. Sperma yang berwarna putih susu dan sel telur yang berwarna kuning keemasan akan keluar melalui anus dan selanjutnya ditampung pada gelas kimia yang berbeda. Fertilisasi dilakukan dengan cara mencampurkan 1 ml sperma dan 4 ml sel telur dan difertilisasikan dalam gelas kimia yang berisi 50 ml air laut bebas protozoa, kemudian dimasukkan ke dalam lemari pendingin pada suhu 7°C dan dibiarkan selama 90 menit (Feriadi dkk., 2018).

Perlakuan Uji Antimitosis

Masing-masing variasi konsentrasi ekstrak etanol lawi-lawi (*C. racemosa*) serta *vincristine* dipipet 10 μ l dan ditambahkan dengan 890 μ l air laut bebas protozoa dan 100 μ l hasil fertilisasi

sel telur bulu babi, kemudian diinkubasi pada suhu 7°C selama 2 jam. Setelah inkubasi selesai, ditambahkan 10 µl formalin 10% ke dalam tiap konsentrasi. Campuran tersebut kemudian diambil 100 µl dan diamati di bawah mikroskop pada perbesaran 10x dan diulangi lagi sebanyak 3 kali (Feriadi dkk., 2018).

Perhitungan Penghambatan Pembelahan Sel

Pengamatan dilakukan dengan melihat sel yang tidak membelah (mati/lisis) dan sel yang membelah (*cleavage*) lalu membandingkan keduanya terhadap total keseluruhan sel dalam satu bidang pandang/optik sehingga diperoleh nilai rata-rata penghambatan pembelahan untuk setiap sampel (Feriadi dkk., 2018).

$$\text{Persen inhibisi} = \frac{\text{Jumlah sel tidak membelah}}{\text{Total sel}} \times 100\%$$

Analisis Data

Tingkat aktivitas antimitosis dapat diketahui dari persamaan kurva regresi linear antara log konsentrasi dan nilai persen inhibisi. Selanjutnya nilai persamaan regresi linear dikonversi menjadi perhitungan untuk mendapatkan nilai IC₅₀ untuk menggambarkan aktivitas antimitosis.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Pengumpulan dan Determinasi Sampel

Tumbuhan yang digunakan pada penelitian ini adalah lawi-lawi yang diperoleh dari pesisir Desa Tanggetada, Kecamatan Tanggetada, Kabupaten Kolaka, Provinsi Sulawesi Tenggara dan telah melalui proses determinasi taksonomi, anatomi dan morfologi di Laboratorium Biologi, Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Halu Oleo. Determinasi tumbuhan dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui ketepatan spesies dan keaslian sampel tumbuhan yang digunakan serta untuk menghindari adanya kesalahan dalam pengumpulan sampel mengingat ada berbagai jenis spesies rumput laut lain yang juga tumbuh di wilayah perairan yang sama. Berdasarkan hasil determinasi tumbuhan menunjukkan bahwa sampel tumbuhan yang digunakan pada penelitian ini adalah tumbuhan lawi-lawi dengan spesies *Caulerpa racemosa* (Forssk) J. Agardh.

Menurut masyarakat sekitar, tumbuhan ini sangat mudah dijumpai di perairan dengan kedalaman dangkal yang berpasir serta dapat tumbuh sepanjang tahun. Hal ini dapat terkonfirmasi saat proses pengambilan sampel, dimana tumbuhan lawi-lawi (*C. racemosa*)

sangat banyak dijumpai dan hidup bergerombol di perairan berpasir jernih dengan kedalaman 1-2 meter. Kriteria sampel lawi-lawi (*C. racemosa*) yang diambil adalah sampel yang usianya cukup matang ditandai dengan warna hijau tua, segar dan bulir-bulir buahnya (ramuli) yang padat berair. Hal ini penting mengingat kadar senyawa aktif sangat dipengaruhi oleh usia tumbuhan itu sendiri (Sa'diah dkk., 2019). Pengambilan sampel dilakukan pada dini hari hingga pagi karena pada waktu tersebut air laut cenderung surut sehingga memudahkan dalam proses pengambilan sampel. Di samping itu, lawi-lawi (*C. racemosa*) cenderung sangat peka terhadap sinar matahari, oleh karena itu kegiatan pengumpulan sampel dilakukan secepat mungkin (Runtuboy & Abadi, 2018). Pertimbangan lainnya adalah pada dini hari hingga pagi hari tumbuhan belum mengalami proses fotosintesis sehingga kandungan metabolit sekundernya masih dalam keadaan yang lebih optimum (Akib dkk., 2021).

Bagian sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah *erect frond*. karena bagian inilah yang umumnya dimanfaatkan oleh masyarakat sekitar untuk diolah menjadi sumber pangan seperti sayuran maupun dikonsumsi secara langsung dalam keadaan segar. Sampel yang telah dikumpulkan selanjutnya disortasi basah, dicuci dan dikeringkan. Selanjutnya dilakukan sortasi kering untuk memisahkan sampel yang layak digunakan, termasuk memisahkan sampel yang terkontaminasi pertumbuhan jamur maupun yang melekat dengan kotoran selama proses pengeringan. Sampel simplisia lawi-lawi (*C. racemosa*) selanjutnya dihaluskan dengan cara di *blender* hingga diperoleh serbuk simplisia. Hasil preparasi sampel dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil preparasi sampel lawi-lawi (*C. racemosa*)

Sampel tumbuhan	Berat total sampel awal yang diperoleh (g)	Berat sampel basah yang digunakan (g)	Berat sampel kering (g)	Berat simplisia serbuk (g)	Rendemen (%)
Lawi-lawi (<i>Caulerpa racemosa</i>)	8400	3590	328,2	300,2	8,36

Nilai rendemen simplisia memberikan gambaran banyaknya sampel yang menyusut setelah proses pengeringan. Hal ini terjadi karena berkurangnya atau hilangnya kandungan air yang terdapat pada simplisia basah, dimana kandungan air yang tinggi pada simplisia dapat menyebabkan terjadinya reaksi-reaksi enzimatis yang dapat memicu proses pertumbuhan jamur atau kapang yang pada akhirnya merusak simplisia dan senyawa yang terkandung di dalamnya (Arsyad dkk., 2023).

Hasil Ekstraksi Sampel

Proses ekstraksi sampel simplisia lawi-lawi (*C. racemosa*) dilakukan menggunakan metode ekstraksi dingin, yaitu maserasi. Pemilihan metode ini karena ekstraksi cara dingin seperti maserasi memiliki banyak keuntungan seperti prosedur dan peralatan yang mudah dan sederhana dan memungkinkan banyak senyawa tidak tahan panas untuk dapat terekstraksi (Makalunsenge et al., 2022). Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol 80% dengan perbandingan sampel terhadap pelarut (1:5). Perbandingan ini dipilih berdasarkan kemampuan pelarut etanol dalam merendam semua sampel, sehingga sebanyak 300,2 g sampel dimaserasi menggunakan 1500 ml pelarut etanol 80% dengan 2 kali pengulangan maserasi. Penggunaan etanol sendiri sebagai pelarut karena etanol dikenal sebagai pelarut yang memiliki kemampuan menyari dengan rentang polaritas yang lebar, sehingga mampu menarik senyawa polar hingga non polar. Etanol dapat melarutkan senyawa yang bersifat polar karena memiliki gugus -OH yang sifatnya polar, serta memiliki gugus etil (CH₃CH₂) yang bersifat non polar sehingga juga dapat menarik senyawa non polar (Handoyo, 2020). Sedangkan penggunaan konsentrasi etanol 80% didasarkan pada beberapa penelitian yang mengatakan bahwa rendemen ekstrak yang diperoleh lebih banyak jika menggunakan etanol dengan konsentrasi 80% ketimbang konsentrasi lainnya (Brahmi et al., 2022). Selain itu, penelitian lainnya yang dilakukan oleh Asidah et al., (2023), menunjukkan bahwa beberapa kandungan senyawa metabolit sekunder seperti fenolik juga lebih tinggi jika sampel diekstraksi menggunakan pelarut etanol 80%. Hasil proses ekstraksi dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil ekstraksi sampel lawi-lawi (*C. racemosa*)

Sampel tumbuhan	Berat simplisia serbuk (g)	Berat ekstrak Kental (g)	Rendemen (%)	Acuan (%)
Lawi-lawi (<i>C. racemosa</i>)	300,2	34,23	11,40	>10

Berdasarkan hasil rendemen ekstrak diperoleh pada penelitian ini yakni sebesar 11,40%, nilai ini sesuai dan memenuhi persyaratan Farmakope Herbal Indonesia yakni rendemen ekstrak kental nilainya tidak kurang dari 10%. Nilai rendemen ini terbilang cukup berbeda jauh dengan dua penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Marfuah dkk., (2018) yang memperoleh rendemen ekstrak etanol *C. racemosa* sebesar 2,18% dan 3,66%. Perbedaan hasil rendemen ekstrak yang dihasilkan suatu sampel dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti

metode ekstraksi, waktu ekstraksi, lama perendaman, jenis dan konsentrasi pelarut, rasio sampel terhadap pelarut, suhu dan pengadukan (Gazali dkk., 2018). Tingginya nilai rendemen ekstrak yang diperoleh umumnya berkorelasi dengan jumlah metabolit sekunder yang dapat ditarik oleh pelarut (Sa'diah dkk., 2019).

Hasil Aktivitas Antimitosis

Pengujian antimitosis yang dilakukan dalam penelitian ini menggunakan hewan uji bulu babi (*Tripneustes gratilla*). Menurut Angkouw & Mangindaan., (2013), terdapat kemiripan embriologi manusia dan bulu babi (*T. gratilla*), terutama pada ukuran sel sperma dan sel telurnya serta perkembangan tahap gastrula yang sama. Selain itu, menurut Syuhada & Rukaya, (2023), pengujian pendahuluan aktivitas sitotoksik dapat memanfaatkan telur yang telah dibuahi, salah satunya berasal dari hewan laut bulu babi (*T. gratilla*) yang berasal dari kelas Echinoidea dan dapat menghasilkan telur dalam jumlah banyak. Telur bulu babi (*T. gratilla*) yang dibuahi sangat sensitif terhadap efek interaksi dengan bahan kimia, sehingga lebih mudah diamati dalam studi toksisitas sel. Terdapat beberapa kemiripan antara sel kanker dan sel bulu babi (*T. gratilla*), terutama pada proses pembelahannya yang melibatkan tahapan siklus sel, dimana keduanya sama-sama memulai tahapan siklus sel pada periode tumbuh (G1), fase S (sintesis DNA), fase tumbuh kedua (G2) dan berakhir pada fase mitosis. Karena kemiripannya, embriologi bulu babi (*T. gratilla*) dianggap sebagai model yang cocok dan dianggap sebagai salah satu metode alternatif dalam mempelajari atau skrining awal suatu sampel terhadap penghambatan pembelahan sel (mitosis).

Bulu babi (*T. gratilla*) yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari pesisir Desa Tanggetada, Kecamatan Tanggetada, Kabupaten Kolaka, Provinsi Sulawesi Tenggara. Bulu babi (*T. gratilla*) ini dapat dijumpai ketika kondisi perairan sedang surut dan hidup berkelompok. Menurut Tuang-tuang et al., (2019), mayoritas semua spesies bulu babi menyukai substrat seperti padang lamun, terumbu karang dan hidup berasosiasi satu sama lain, sehingga hal ini memudahkan dalam proses pengambilan dan pengumpulan sampel. Dalam penelitian ini, bulu babi (*T. gratilla*) yang digunakan adalah bulu babi betina dan jantan yang dewasa sehingga dapat menghasilkan gonad yang matang. Menurut Putra dkk., (2017), bulu babi (*T. gratilla*) ketika mencapai tingkat kematangan gonadnya dapat diamati dari bentuk dan ukuran cangkangnya dengan diameter sekitar 6-7 cm dan berat berkisar sekitar 160-170 gram.

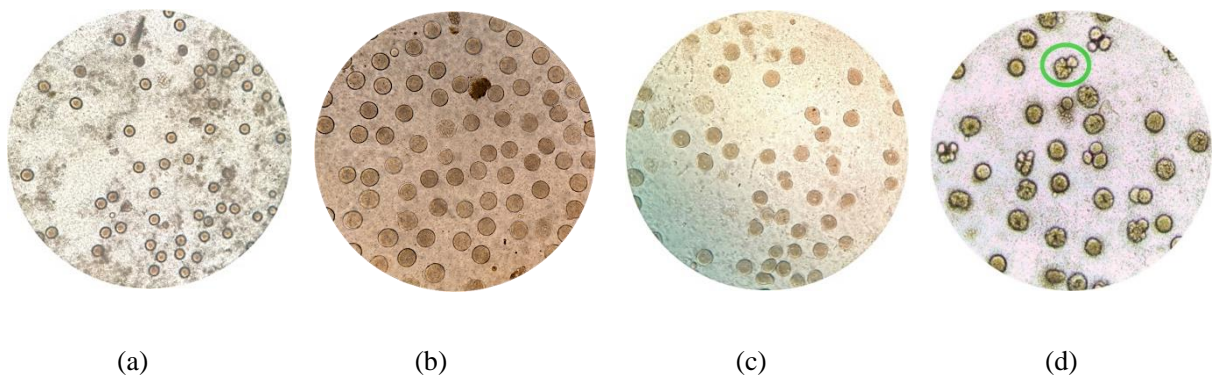
Sebelum digunakan dalam pengujian, bulu babi (*T. gratilla*) dilakukan proses adaptasi dengan lingkungan baru selama beberapa jam. Hal ini penting mengingat jauhnya jarak yang ditempuh bulu babi (*T. gratilla*) dari habitat aslinya menuju laboratorium. Proses adaptasi

dilakukan dengan menempatkannya pada suhu ruang di dalam wadah akuarium yang berisi air laut yang berasal dari tempat yang sama dengan pengambilan bulu babi (*T. gratilla*) sehingga diharapkan memiliki tingkat salinitas dan pH yang sama, dilengkapi dengan pasir dan aerator untuk menjaga suplai oksigen tetap ada. Dalam rangkaian tahapan pengujian antimitosis, salah satu bagian paling penting adalah proses fertilisasi. Fertilisasi merupakan proses pembuahan sel telur (ovum) oleh sperma untuk menghasilkan sel zigot, yang selanjutnya berkembang menjadi embrio atau janin dari suatu organisme. Dalam prosesnya, fertilisasi sendiri terbagi menjadi dua jenis, yakni fertilisasi internal atau yang terjadi di dalam tubuh dan fertilisasi eksternal yang terjadi diluar tubuh. Menurut Jalaludin & Ardeslan (2017), proses fertilisasi alamiah bulu babi (*T. gratilla*) umumnya terjadi secara eksternal, dimana bulu babi jantan akan melepaskan sel sperma dan bulu babi betina melepaskan sel telur dan proses pemijahan akan terjadi secara alamiah dengan bantuan dari arus gelombang yang selanjutnya menghasilkan sel zigot. Oleh karena itu, dalam penelitian ini dilakukan proses fertilisasi secara eksternal dengan memperhatikan beberapa faktor yang mempengaruhi keberhasilan proses fertilisasi, termasuk faktor internal yaitu tingkat kematangan gonad dari bulu babi (*T. gratilla*), dapat diamati dari ukuran bulu babi, kuantitas serta warna sel sperma dan sel telur yang dihasilkan pada saat proses pemijahan. Tingkat kematangan gonad ini akan mempengaruhi keberhasilan proses fertilisasi yang dilakukan.

Prosedur fertilisasi eksternal dilakukan secara *in vitro*, diawali dengan mengeluarkan sel sperma dan sel telur bulu babi dengan melakukan penginduksian larutan KCl 10% sebanyak 1 ml melalui mulut bulu babi (*T. gratilla*) pada empat sudut bulu babi (*T. gratilla*) dan diikuti dengan memutar-mutar bulu babi agar larutan KCl 10% dapat tersebar ke seluruh bagian dalam bulu babi (*T. gratilla*). Selang beberapa waktu, sel sperma dan sel telur akan keluar melalui anus yang selanjutnya di tampung pada wadah berbeda. Jenis kelamin bulu babi ditentukan melalui warna sel yang keluar. Sel yang berwarna kekuningan menandakan betina, sedangkan sel yang berwarna putih susu menandakan jantan. Konfirmasi lebih lanjut mengenai jenis sel yang dikeluarkan bulu babi (*T. gratilla*) dilakukan dengan melihat morfologi selulernya di bawah mikroskop cahaya. Sel-sel ini bisa dikeluarkan dari dalam gonad bulu babi (*T. gratilla*) karena larutan KCl 10% bersifat hipotonis dan mengakibatkan berkurangnya perbedaan polaritas (depolarisasi) pada membran bagian dalam gonad bulu babi (*T. gratilla*). Hal inilah yang menyebabkan pecahnya dinding sel bulu babi (*T. gratilla*) sehingga sel telur dan sel sperma menjadi terdesak untuk keluar dari dalam gonad (Amirah, 2015 ; Rosal & Bitacura, 2024).

Selain faktor internal seperti tingkat kematangan gonad, keberhasilan proses fertilisasi dalam penelitian ini juga sangat dipengaruhi oleh faktor eksternal lainnya seperti media fertilisasi yang digunakan harus menyesuaikan dengan habitat alamiah, waktu pemijahan, tingkat salinitas, pH media serta temperatur yang digunakan. Penggunaan air laut bebas protozoa sebagai media fertilisasi sangat penting karena jika terdapat protozoa di dalam media fertilisasi, protozoa tersebut dapat memakan sel telur dan sel sperma yang menyebabkan gagalnya proses fertilisasi (Liambo dkk., 2016). Menurut Suriani dkk., (2020), kisaran pH media fertilisasi 6,5-8,5 adalah pH yang baik untuk pertumbuhan bulu babi (*T. gratilla*). Perubahan pH dapat menyebabkan penurunan kemampuan sel sperma dalam berinteraksi dengan sel telur. Suhu dan salinitas juga sangat mempengaruhi proses perkembangan embrio awal bulu babi (*T. gratilla*). Suhu yang baik menurut beberapa literatur berkisar antara 15-20°C (Agustina dkk., 2017), 7°C (Feriadi dkk., 2018), 14-15°C (Liambo dkk., 2016) dan 26-30°C (Parvez dkk., 2017). Dalam penelitian ini, suhu yang ideal dan menentukan keberhasilan proses fertilisasi berada pada rentang 7-10°C. Suhu tersebut diasumsikan sebagai suhu yang sesuai dengan habitat tempat bulu babi (*T. gratilla*) melakukan fertilisasi eksternal. Selain itu, salinitas yang ideal untuk proses fertilisasi berkisar antara 26-35 ‰ (Jumrodah dkk., 2017) dan 29-33 ‰ (Suriani dkk., 2020), namun dalam penelitian ini faktor tersebut tidak dapat dikontrol karena keterbatasan tertentu.

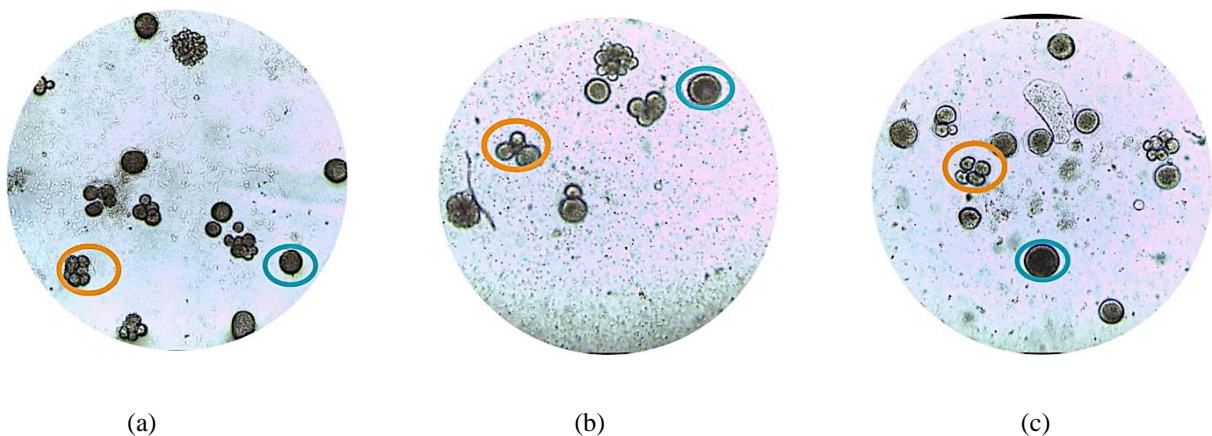
Dalam proses fertilisasi bulu babi (*T. gratilla*) pada penelitian ini menggunakan waktu 90 menit. Menurut Jumrodah dkk., (2017), proses bulu babi (*T. gratilla*) untuk sampai pada tahap awal pembelahan menjadi dua sel memerlukan waktu 60-120 menit, hingga akhirnya menjadi blastula pada jam ke 8-10. Interaksi yang terjadi antara sperma dan sel telur adalah reaksi akrosom. Reaksi akrosomal pada bulu babi diawali oleh kontak sperma dengan jeli telur. Kontak ini menyebabkan eksositosis vesikel akrosom sperma dan pelepasan enzim proteolitik yang dapat mencerna atau menembus lapisan jeli ke permukaan telur. Setelah sperma bulu babi menembus jeli telur, proses akrosomal sperma menghubungi permukaan sel telur. Tahap utama pengenalan spesies spesifik terjadi pada saat ini. Dengan demikian, pengenalan sel bulu babi secara spesifik terjadi yang meliputi tingkat daya tarik sperma, aktivasi sperma, dan adhesi sperma ke permukaan telur. Dalam tahapan fertilisasi bulu babi (*T. gratilla*), proses pembelahan umumnya terjadi setiap jam dimulai dari pembelahan pertama (Gilbert, 2000).

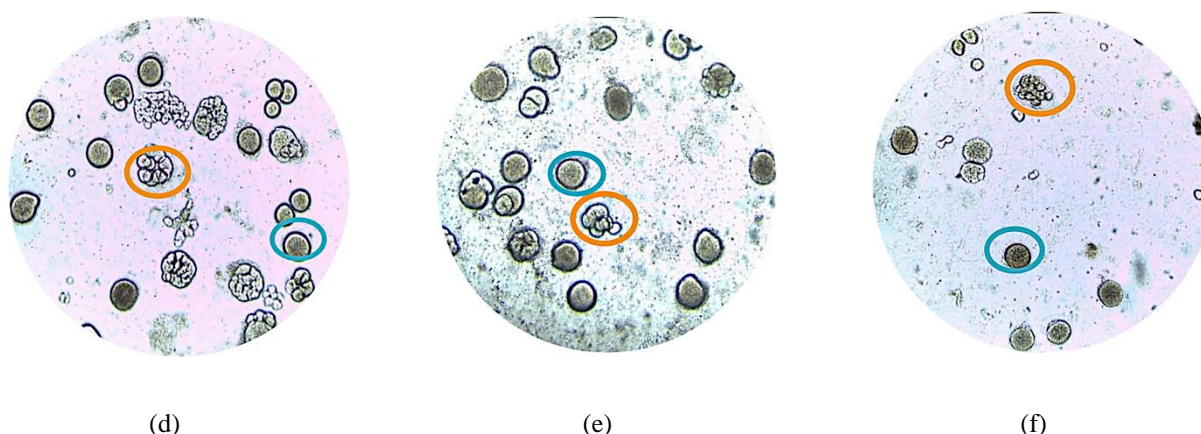


Gambar 1. Proses fertilisasi di bawah mikroskop perbesaran 10X

(a) menit ke 0 ; (b) menit ke 30 ; (c) menit ke 60 ; (d) menit ke 90.

Pengujian antimitososis dalam penelitian ini menggunakan tiga sampel, yaitu ekstrak etanol 80% lawi-lawi (*C. racemosa*) dengan seri konsentrasi 1, 10 dan 100 $\mu\text{g/ml}$, kontrol positif *vincristine* dengan seri konsentrasi 0,01, 0,1, dan 1 $\mu\text{g/ml}$, serta kontrol negatif (air laut bebas protozoa + DMSO 1%). Tiap sampel diberikan masing-masing pada sel bulu babi (*T. gratilla*) yang telah difertilisasi. Proses inkubasi dilakukan selama dua jam untuk memberikan waktu pada masing-masing sampel untuk bekerja menghambat pembelahan (mitosis). Setelah proses inkubasi, masing-masing sampel diberikan larutan formalin 10% untuk menghentikan proses fertilisasi sehingga memudahkan pada saat pengamatan dan menghitung jumlah sel yang tidak membelah (dihambat). Gambaran aktivitas ekstrak etanol 80% lawi-lawi (*C. racemosa*) dan kontrol positif *vincristine* dapat dilihat pada gambar di bawah ini.





(d)

(e)

(f)

Gambar 2. Penghambatan mitosis sel pada mikroskop perbesaran 10X :

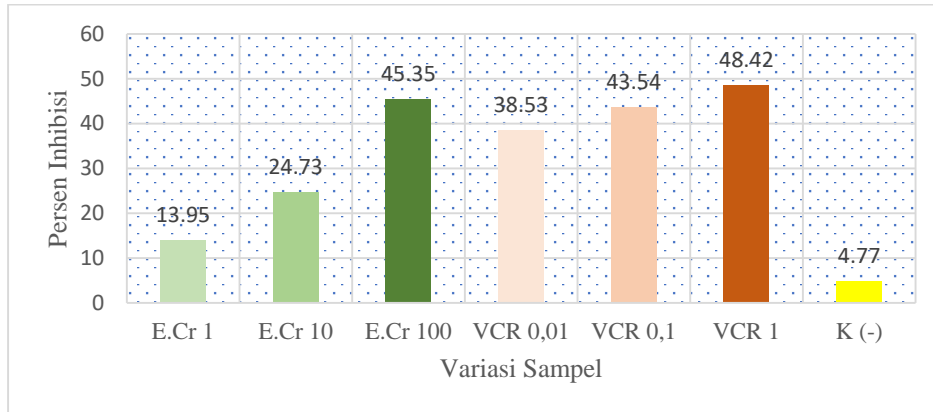
(a) ekstrak *C. racemosa* 1 µg/ml; (b) ekstrak *C. racemosa* 10 µg/ml; (c) ekstrak *C. racemosa* 100 µg/ml; (d) *vincristine* 0,01 µg/ml; (e) *vincristine* 0,1 µg/ml; (f) *vincristine* 1 µg/ml.

Kemampuan penghambatan pembelahan (mitosis) dari tiap sampel dilakukan masing-masing *triplo* di bawah mikroskop pada perbesaran 10X. Dalam penelitian ini, seri konsentrasi ekstrak yang digunakan adalah 1, 10 dan 100 µg/ml, mengacu pada beberapa penelitian sebelumnya (Agustina dkk., 2017). Sebagai pembanding digunakan kontrol positif obat *vincristine* yang merupakan obat antikanker yang luas digunakan dalam pengobatan berbagai jenis kanker dan berasal dari tumbuhan Tapak dara (*Catharanthus roseus*) serta memiliki mekanisme sebagai antimitosis. Selain itu, penelitian ini juga menggunakan kontrol negatif (air laut bebas protozoa + DMSO 1%) untuk memastikan bahwa penghambatan pembelahan sel zigot tidak dipengaruhi oleh pelarut ekstrak yaitu DMSO 1%. Setiap seri konsentrasi sampel dihitung jumlah sel yang tidak membelah atau dihambat pembelahannya dibagi dengan total keseluruhan sel dalam satu bidang pandang, sehingga akan diperoleh nilai rata-rata persen inhibisi seperti yang dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Nilai inhibisi antimitosis tiap sampel

Sampel	Konsentrasi (µg/ml)	Inhibisi I (%)	Inhibisi II (%)	Inhibisi III (%)	Rata-rata Inhibisi (%)
Ekstrak <i>C. racemosa</i>	1	10,71	17,43	13,71	13,95
	10	25,51	21,50	27,19	24,73
	100	42,86	43,59	49,61	45,35
<i>Vincristine</i>	0,01	38,55	40,79	36,25	38,53
	0,1	41,12	41,94	47,57	43,54
	1	43,18	52,08	50,00	48,42
Kontrol Negatif		3,17	6,78	4,35	4,77

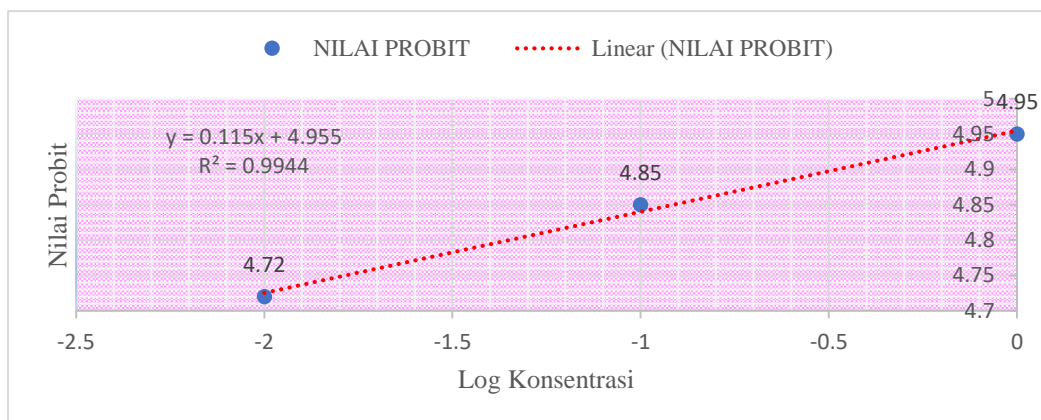
Variasi konsentrasi dari tiap sampel menunjukkan perbedaan dalam hasil penghambatan pembelahan sel zigot bulu babi (*T. gratilla*). Dalam penelitian ini, diamati bahwa semakin tinggi konsentrasi yang digunakan, semakin banyak sel zigot yang dihambat pembelahannya. Perbedaan kekuatan inhibisi tiap sampel dapat dilihat pada Gambar 3.



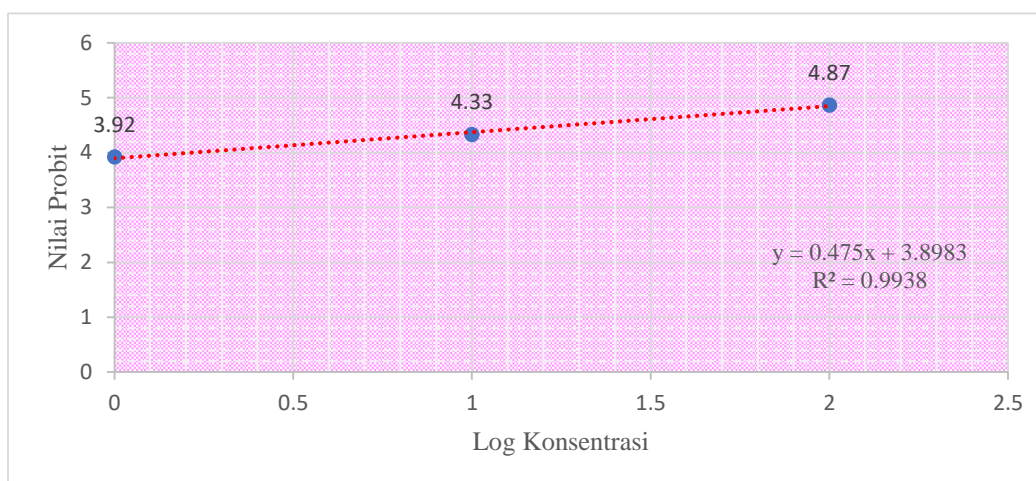
Gambar 3. Grafik nilai rata-rata persen inhibisi tiap sampel

Keterangan : E.Cr 1 = Ekstrak *C. racemosa* 1 µg/ml VCR 0,01 = Vincristine 0,01 µg/ml
 E.Cr 10 = Ekstrak *C. racemosa* 10 µg/ml VCR 0,1 = Vincristine 0,1 µg/ml
 E.Cr 100 = Ekstrak *C. racemosa* 100 µg/ml VCR 1 = Vincristine 1 µg/ml
 K (-) = Kontrol negatif (air aut + DMSO 1%)

Berdasarkan gambar 3, hanya ekstrak etanol *C. racemosa* konsentrasi 100 0,01 µg/ml yang memiliki nilai rata-rata persen inhibisi yang melebihi kontrol positif vincristine konsentrasi 0,01 dan 0,1 µg/ml. Hal ini disebabkan karena adanya perbedaan kuantitas kandungan atau konsentrasi zat aktif dari tiap sampel yang berperan dalam proses penghambatan tahapan pembelahan sel. Data persen inhibisi selanjutnya dibuat grafik antara log konsentrasi sampel (x) dan nilai probit persen inhibisi (y) didapatkan persamaan regresi linearnya seperti yang tertera pada gambar 4 dan gambar 5.



Gambar 4. Grafik inhibisi vincristine



Gambar 5. Grafik inhibisi ekstrak etanol 80% lawi-lawi (*C. racemosa*)

Merujuk dari kurva regresi linier di atas, yakni nilai log konsentrasi terhadap nilai probit, maka nilai IC_{50} dari sampel dapat dihitung. Dalam pengujian antimitosis, nilai IC_{50} digunakan sebagai parameter untuk mengetahui dan menentukan kategori kekuatan suatu bahan atau senyawa dalam menghambat aktivitas pembelahan sel sebesar 50% (Amirah, 2015). Semakin kuat aktivitas antimitosis dari suatu bahan atau senyawa, maka nilai IC_{50} semakin kecil. Berdasarkan perhitungan yang dilakukan, maka nilai IC_{50} dari masing-masing sampel dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Nilai IC_{50} sampel dan kategori kekuatannya

Sampel	Nilai IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)	Kategori (Weerapreyakul dkk., 2012)
Ekstrak <i>C. racemosa</i>	208,93 (Sedang)	Sangat Kuat ($<10 \mu\text{g/ml}$), Kuat ($10-50 \mu\text{g/ml}$), Sedang ($100-500 \mu\text{g/ml}$), Lemah ($>500 \mu\text{g/ml}$)
<i>Vincristine</i>	2,46 (Sangat Kuat)	

Keterangan :

IC_{50} = Inhibition Concentration 50

Merujuk dari tabel di atas, ekstrak etanol 80% lawi-lawi (*C. racemosa*) memiliki kemampuan untuk menghambat fase pembelahan (mitosis) dari sel zigot bulu babi (*T. gratilla*), meskipun kekuatannya tergolong dalam kategori sedang. Tingkat toksisitas selama pembelahan sel (mitosis) dipengaruhi oleh konsentrasi dan durasi paparan zat toksik, hal ini mengacu pada semakin tinggi konsentrasi dan semakin lama terpapar zat toksik maka semakin besar kemungkinan muncul kerusakan pada proses pembelahan sel. Faktor berikutnya adalah kondisi biologis sel, kondisi ini merujuk pada beberapa jenis sel yang aktif membelah seperti sel embrionik, sel akar dan sel sumsum) lebih mudah dan rentan terhadap toksikan dibanding

sel yang tidak aktif membelah. Selain itu, faktor karakteristik agen toksik juga sangat berpengaruh terhadap tingkat pembelahan sel (Istifli et al., 2019).

Kemampuan antimitosis yang dimiliki ekstrak etanol 80% lawi-lawi (*C. racemosa*) kemungkinan berkaitan dengan keberadaan dan karakteristik metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, polifenol, kuinon, steroid/terpenoid dan monoterpenoid/seskuiterpenoid. Beberapa studi bahkan menunjukkan bahwa genus *Caulerpa* dikenal memiliki kandungan senyawa yang sangat dominan sebagai antikanker (Shah et al., 2020). Beberapa senyawa fitokimia memiliki karakteristik dan sifat toksik sehingga mampu menyebabkan gangguan pada mikrotubulus dan tahapan siklus sel. Misalnya pada steroid yang diketahui mampu memblokir fase G2/M dari siklus sel, memicu terjadinya apoptosis serta perubahan distribusi ion Ca^{2+} yang mengakibatkan pecahnya sitoplasma dari sel somatik. Sedangkan terpenoid diketahui mampu memblokir fase mitosis dengan cara menstabilkan polimer tubulin yang pada akhirnya menghambat penguraian mikrotubulin (Agustina dkk., 2017). Flavonoid juga dikenal aktif menyebabkan penghentian siklus sel pada fase G2/M dan menginduksi apoptosis serta *autophagy* pada sel kanker (Zhang et al., 2018).

Secara spesifik, beberapa senyawa bioaktif fungsional telah berhasil teridentifikasi di pada tumbuhan lawi-lawi (*C. racemosa*), termasuk alkaloid bisindole seperti caulerpin, caulersin, caulerchlorin, dan racemosin serta seskuiterpenoid seperti caulerpenin. Senyawa-senyawa ini terbukti memiliki aktivitas biologis, salah satunya antioksidan yang sangat erat kaitannya dengan antikanker karena senyawa yang bersifat antioksidan mampu menangkal radikal bebas yang dapat memicu munculnya beberapa penyakit, termasuk kanker (Permatasari et al., 2022). Caulerpin secara khusus juga dilaporkan memiliki aktivitas antiinflamasi yang sangat baik, dimana inflamasi sangat erat kaitannya dengan kanker mengingat salah satu ciri khas dari awal terbentuknya sel kanker adalah terjadinya pembentukan tumor (pembengkakan/benjolan) yang sifatnya jinak atau ganas (Palaniyappan et al., 2023). Alkaloid caulerpin pada sel kanker bekerja menghambat pengangkutan elektron ke kompleks mitokondria III dan mengaktivasi *Hypoxia Inducible Factor-1* (HIF-1) sehingga suplai nutrisi menjadi terhambat yang pada akhirnya dapat memicu kematian sel kanker. Sedangkan senyawa caulerpenin secara spesifik bekerja pada siklus sel kanker dengan cara membatasi waktu pertumbuhan sel kanker pada fase G1 ke fase sintesis (S) dan memblokir pertumbuhan fase G2/M pada sel kanker (Alves et al., 2018). Mekanisme senyawa caulerpenin ini mirip dengan cara kerja kontrol positif *Vincristine* yang juga bekerja pada siklus sel fase M (Mitosis) dengan cara merusak jaringan mikrotubulus dan menghentikan proses mitosis (Huang et al., 2022). Prinsip dan cara kerja ini senyawa-senyawa tersebut dianggap terwakili oleh penggunaan

hewan bulu babi (*T. gratilla*) yang juga memiliki mikrotubulus, dimana mikrotubulus pada bulu babi (*T. gratilla*) berperan penting pada proses embriogenesis, juga dalam pemeliharaan bentuk, transportasi intraseluler, motilitas dan pembelahan sel (Agustina dkk., 2017).

KESIMPULAN

Ekstrak etanol 80% lawi-lawi (*C. racemosa*) memiliki aktivitas antimitosis terhadap pembelahan sel zigot bulu babi (*T. gratilla*) dilihat dari nilai IC_{50} sebesar 208,93 $\mu\text{g/ml}$ dan tergolong dalam kategori sedang jika dibandingkan dengan IC_{50} kontrol positif *Vincristine* dengan nilai 2,46 $\mu\text{g/ml}$ dan tergolong sangat kuat.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustina, R., Alam, G., & Lethe, C. (2017). Aktivitas Antimitosis Hasil Fraksinasi Ekstrak Kloroform Spons *Siphanocalina* sp terhadap Sel Zigot Bulu Babi *Tripneustes gratilla* linn. *MFF*, 21(3): 59-62.
- Akib, N. I., Hendra, N. S., Putri, A. E. P., Armadhani, F. I., Adjeng, A. N. T., & Mahmudah, R. (2021). Preparasi Fitosom Ekstrak Etanol Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.) sebagai Antioksidan. *JFSP*, 7(3): 393-404.
- Alves, C., Silva, J., Pinteus, S., Gaspar, H., Alpoim, M. C., Botana, L. M., & Pedrosa, R. (2018). From marine Origin to Therapeutics: The Antitumor Potential of Marine Algae-Derived Compounds. *Front Pharmacol*, 9(777).
- Amalia, R., Hanifah, S., Hadad, N. D., Sahidin, I., & Diantini, A. (2023). Isolat Senyawa dari Spons Laut: Sitotoksitas terhadap Lini Sel Kanker dan Mekanisme Kematian Sel. *Jurnal Farmasi Klinik Indonesia*, 12(2): 129-143.
- Amaral, R. G., Dos-santos, S., Andrade, L. N, Severino, P., & Carvalho, A. A. (2019). Natural Products as Treatment against Cancer: A Historical and Current Vision. *Clin oncol*, 4(1): 1562.
- American Cancer Society. (2018). *Cancer Facts and Figures*. Atalanta : American Cancer Society inc.
- Amirah, S. (2015). Uji Efek Antimitosis Ekstrak Etanol Daun Wungu (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff.) dengan Metode Penghambatan Pembelahan Sel Telur (*Tripneustes gratilla* L.) Terfertilisasi. *As-Syifaa Jurnal Farmasi*, 7(1): 43-51.
- Angkouw, E. D., & Mangindaan, R. E. P. (2013). A Study on The Cytotoxic Activity of Marine Sponges on the Embryo Development of Sea Urchin *Diadema savigny*. *Aquatic Science & Management*, 1(1): 107-113.
- Anwar, L. O., Bubun, R. L., & Rosmawati. (2016). Manfaat Anggur Laut (*Caulerpa racemosa*) dan Penanganannya dengan Melibatkan Masyarakat Pantai di Desa Rumba-rumba. *Seminar Nasional dan Gelar Produk*. Universitas Muhammadiyah Malang.

- Arsyad, R., Amin, A., & Waris, R. (2023). Teknik Pembuatan dan Nilai Rendamen Simplisia dan Ekstrak Etanol Biji Bagore (*Caesalpinia crista* L.) Asal Polewali Mandar. *Makassar Natural Product Journal*, 1(14): 138-147.
- Asidah, N., Sari, R. K., Rafi, M., & Syafitri, U. D. (2023). Total Phenolic Content, Antioxidant, and Sunscreen Activities of *Daemonorops draco* Resin Extracts from Extraction at Various Ethanol Concentrations and Resin-Solvent Ratio. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science*, 891.
- Brahmi, F., Mateos-Aparicio, I., Garcia-Alonso, A., Abaci, N., Saoudi, S., Smail-Benazzouz, L., Guemghar-Haddadi, H., Madani, K., & Boulekbache-Makhlouf, L. (2022). Optimization of Conventional Extraction Parameters for Recovering Phenolic Compounds from Potato (*Solanum tuberosum* L.) Peels and their Application as an Antioxidant in Yogurt Formulation. *Antioxidants (Basel)*, 11(7).
- Ciampi, F., Sordillo, L. M., Gandy, J. C., Caroprese, M., Sevi, A., Albenzio, M., & Santillo, A. (2020). Evaluation of Natural Plant Extracts as Antioxidants in a Bovine in vitro Model of Oxidative Stress. *J. Dairy Sci*, 103(1): 8938-8947.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (2000). *Parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat*. Jakarta : Ditjen POM.
- Feriadi, E., Wahyuni, & Yusuf, M. I. (2018). Antimitotic Activity of *Cayratia trifolia* Ethanol Extract on Zygote Cells of *Tripneustes gratilla*. *Pharmacology and Clinical Pharmacy Research*, 2(1): 69-75.
- Gazali, M., Nurjanah, & Zamani, N. P. (2018). Eksplorasi Senyawa Bioaktif Alga Cokelat *Sargassum* sp. Agardh sebagai Antioksidan dari Pesisir Barat Aceh. *JPHPI*, 2(1): 167–178.
- Gilbert, S. F. (2000). *Biological Development 6th edition*. Sunderland : Sinauer's Associates.
- Handoyo, D. L. Y. (2020). Pengaruh Lama Waktu Maserasi (Perendaman) terhadap Kekentalan Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle*). *Jurnal Farmasi Tinctura*, 2(1): 34-41.
- Huang, M., Liu, C., Shao, Y., Zhou, S., Hu, G., Yin, S., Pu, W., & Yu, H. (2022). Anti-tumor Pharmacology of Natural Products Targeting Mitosis. *Cancer biol med*, 19(6): 774-801.
- Istifli, E. S., Husunet, M. T., & Ila, H. B. (2019). Citotoxicity – Definition, Identification And Cytotoxic Compounds. Turkey : IntechOpen.
- Jalaluddin, J., & Ardeslan, A. (2017). Identifikasi dan Klasifikasi *Phylum echinodermata* di Perairan Laut Desa Sembilan Kecamatan Simeulue Barat Kabupaten Simeulue. *Jurnal Biology Education*, 6(2).
- Jumrodah, J., Liliyasi, S., Adisendjaja, Y. H., & Sanjaya, Y. (2017). Laboratory Cultivation of Sea Urchins for Sustainable Development. *HAYATI Journal of Biosciences*.
- Korrapati, S., Kurra, P., & Puttugunta, S. (2016). Natural and Herbal Remedies for Cancer Treatment. *Inventi impact: planta activa*, 4(1): 140-147.

- Liambo, N. P., Malik, A., & Ahmad, A. R. (2016). Uji Antimitosis Ekstrak Etanolik Klika Sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap Sel Telur Landak Laut (*Tripneustes gratilla* L.) Terfertilisasi. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 3(2).
- Makalunsenge, M. O., Yudistira, A., & Rumondor, E. M. (2022). Antioxidant Activity Test of Extracts and Fractions of *Callyspongia aerizusa* Obtained from Manado Tua Island. *PHARMACON*, 11(4).
- Marfuah, I., Dewi, E. N., & Rianingsih, L. (2018). Kajian Potensi Ekstrak Anggur Laut (*Caulerpa racemosa*) sebagai Antibakteri terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *J Peng Biotek Has Pi*, 7(1): 7–14.
- Newman, D. J., & Cragg, G. M. (2016). Natural Products as Sources of New Drugs from 1981 to 2014. *J Nat Prod*, 79(3): 629-61.
- Palaniyappan, S., Sridhar, A., Kari, Z. A., Isais, G. T., & Ramasamy, T. (2023). Evaluation of Phytochemical Screening, Pigment Content, in vitro Antioxidant, Antibacterial Potential and GC-MS Metabolite Profiling of Green Seaweed *Caulerpa racemosa*. *Mar. Drugs*, 21(5): 1-23.
- Parvez, M. S., Rahman, M. A., Yussof, F. M., Arsyad, A., & Lee, S. (2017). Salinity Effects on the Development of Embryos and Larvae of a High-Valued Sea Urchin, *Tripneustes gratilla*. *Journal of Enviromental Biology*, 39(1): 786-794.
- Permatasari, H. K., Bulain, S., Amar, N., Azizah, M. R., Muslim, F. Z., Daud, V. P. A., & Nurkolis, F. (2022). Anticancer Properties of *Caulerpa racemosa*: a Review Study. *Nutr Clín Diet Hosp*, 42(3): 110-121.
- Picaulima, S. M., Erbabley, N. Y. G. F., & Kelabora, D. M. (2023). Peningkatan Pendapatan Masyarakat Pesisir Melalui Usaha Perikanan Budidaya Anggur Laut (*Caulerpa* sp) Menggunakan Metode Jaring Kuadran Sistem Tancap Dasar di Ohoi Letman, Kabupaten Maluku Tenggara. *Jurnal Pengabdian Masyarakat Berkemajuan*, 7(1): 58-65.
- Putra, N. S., Sari, W., & Muhammadar, M. (2017). Studi Kematangan Gonad Bulu Babi di Kawasan Pantai Kecamatan Mesjid Raya, Kabupaten Aceh Besar. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kelautan Perikanan Unsyiah*, 2(4).
- Rosal, M. S. S., & Bitacura, J. G. (2024). Gamete Viability, Fertilization, and Embryonic Development of Gracious Sea Urchin *Tripneustes gratilla* under Varying Temperature Ranges. *Aquaculture Studies*, 24(5).
- Runtuboy, N., & Abadi, S. (2018). Pengaruh Kedalaman terhadap Perkembangan Rumput Laut Kotoni Hasil Kultur Jaringan. *Jurnal Penyuluhan Perikanan dan Kelautan*, 12(3).
- Sa'diah, S., Anwar, E., Jufri, M., & Cahyaningsih, U. (2019). Perbandingan Ekstrak Jahe Merah (*Zingiber officinale* Roscoe. Var. Rubrum), Gingerol dan Shogaol sebagai Anti-toksoplasma terhadap Parasit *Toxoplasma gondii* Secara in-vitro. *Jurnal Jamu Indonesia*, 4(3): 93-102.

- Septiyaningrum, I., Utami, M. A. F., & Johan, Y. (2020). Identifikasi Jenis Anggur Laut (*Caulerpa* sp.) Teluk Sepang Kota Bengkulu. *Jurnal Perikanan*, 10(2): 195-204.
- Shah, S. A. I., Hassan, S. S., Bungau, S., Si, Y., Xu, H., Rahman, M. H., Behl, T., Gitea, D., Pavel, F., Aron, R. A. C., Pasca, B., & Nemeth, S. (2020). Chemically Diverse And Biologically Active Secondary Metabolites from Marine *Phylum chlorophyta*. *Mar Drugs*, 18(10).
- Steinmetz, M., & Prota, A. E. (2018). Microtubule-targeting Agents: Strategies to Hijack the Cytoskeleton. *Trends cell biol*, 28: 76-92.
- Sumartini, & Yaqin, R. I. (2023). *Biomaterial dari Laut*. Bandung : Penerbit Widina Bhakti Persada.
- Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., & Jemal, A. (2021). Global Cancer Statistics 2020: Globocan Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *A cancer journal for clinicians*, 71: 209-49.
- Suriani, S., Latumahina, B. M., & Hitalessy, R. B. (2020). Hubungan Populasi Makroalga {*Padina* sp} dengan Bulu Babi (*Tripneustes gratilla*) di Perairan Pantai Desa Titawaai Kabupaten Maluku Tengah. *Jurnal Riset Perikanan dan Kelautan*, 291: 165-175.
- Swantara, I. M. D., Rita, W. S., & Hernindya, A. (2016). Identifikasi Isolat Antikanker Spons *Hyrtios erecta*. *Indonesian Journal of Cancer*, 10(4): 123-129.
- Syuhada, & Rukaya, B. E. (2023). Cytotoxic Potential of Ethanol Extract Akar Kedayan (*Aristolochia foveolata* Merr.) on Fertilized *Tripneustes gratilla* Eggs. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 21(1): 65-70.
- Tuang-tuang, J. G., Liana, M. L. F., Mercado, B. E., & Dimzon, J. C. (2019). Effects of Temperature to the Collector Urchin *Tripneustes gratilla* (Linnaeus, 1758) Two-armed Larvae. *Journal of Science, Engineering and Technology*, 6: 27-34.
- Zhang, H., Hu, J., Fu, R., Liu, X., Zhang, Y., Li, J., Liu, L., Li, Y., Deng, Q., Luo, Q., Ouyang, Q., & Gao, N. (2018). Flavonoids Inhibit Cell Proliferation and Induce Apoptosis and Autophagy Through Downregulation of PI3K γ Mediated PI3K/AKT/mTOR/p70S6K/ULK Signaling Pathway in Human Breast Cancer Cells. *Sci Rep*, 8(11255).