

**ISOLASI SENYAWA KIMIA DARI MAKROALGA *Halimeda
cilindracea* Decaisne. DAN *Caulerpa racemosa* (Forsk.) J.
Agardh. SERTA UJI BIOAKTIVITASNYA TERHADAP BAKTERI
DAN SEL KANKER**

**ISOLATION OF CHEMICAL COMPOUNDS FROM THE
MACROALGAE *Halimeda cilindracea* Decaisne. AND *Caulerpa
racemosa* (Forsk.) J. Agardh. AND BIOACTIVITY AGAINST
BACTERIAL AND CANCER CELL**

IWAN DINI

H013171003



**PROGRAM STUDI DOKTOR (S3) ILMU KIMIA
SEKOLAH PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2022**

**ISOLASI SENYAWA KIMIA DARI MAKROALGA *Halimeda cylindracea*
Decaisne. DAN *Caulerpa racemosa* (Forsk.) J. Agardh. SERTA UJI
BIOAKTIVITASNYA TERHADAP BAKTERI DAN SEL KANKER**

DISERTASI

Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar Doktor

Program Studi

Ilmu Kimia

Disusun dan diajukan oleh

IWAN DINI

kepada

**PROGRAM STUDI DOKTOR (S3) ILMU KIMIA
SEKOLAH PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2022**

DISERTASI

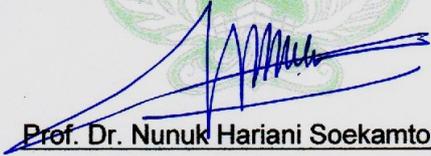
**ISOALSI SENYAWA KIMIA DARI MAKROALGA *Halimeda cylindracea*
Decaisne. DAN *Caulerpa racemosa* (Forskal) J. Agardh. SERTA UJI
BIOAKTIVITASNYA TERHADAP BAKTERI DAN SEL KANKER**

Disusun dan diajukan oleh

IWAN DINI
Nomor pokok H013171003

telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Disertasi
pada tanggal 8 September 2022
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui
Komisi Penasehat,


Prof. Dr. Nunuk Hariani Soekamto, M.S.

Promotor

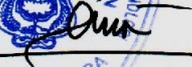

Dr. Herlina Rasyid, S.Si.
Ko-Promotor 1


Prof. Dr. Ungang Supratman, M.S.
Ko-Promotor 2

Ketua Program Studi S3
Ilmu Kimia


Prof. Dr. Paulina Taba, M.Phil

Dekan Fakultas MIPA
Universitas Hasanuddin


Dr. Eng. Amiruddin, S.Si., M.Si.



PERYATAAN KEASLIAN DISERTASI

Yang bertanda tangan di bawah ini;

Nama : Iwan Dini
Nomor Mahasiswa : H013171003
Program Studi : S3 Ilmu Kimia

menyatakan dengan sebenarnya bahwa disertasi yang saya tulis ini adalah benar-benar hasil karya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila dikemudian hari, terbukti atau dapat dibuktikan sebagian atau keseluruhan disertasi ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, September 2022
yang menyatakan



Iwan Dini

PRAKATA

Menempuh pendidikan jenjang doktoral memiliki tantangan tersendiri dari kondisi masing-masing individu yang menempuhnya. Banyak kesulitan yang baru kami hadapi, tetapi bersama kesulitan tersebut selalu muncul kemudahan-kemudahan yang menggembirakan. Oleh karena itu, segala puji dan syukur hanya kepada Allah Rabbulalamiin pemilik ilmu dan pemelihara alam semesta, atas nikmat-nikmatnya yang terus tumpahrukan kepada hambannya dan seluruh mahluknya, terkhusus dari nikmat ilmu yang kemudian dengan nikmat-nikmat tersebut segala penghambaan kita serahkan seluruhnya hanya kepada-Nya dengan mengikuti petunjuk Rasulullah Muhammad shalallahu alaihi wassalam. Kemudian atas kemudahan-kemudahan yang diberikan-Nya, penulis dapat menyelesaikan pendidikan sampai tertulisnya disertasi ini, Alhamdulillah.

Penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Ibu Prof. Dr. Nunuk Hariani Soekamto, MS. Sebagai promotor, kepada Bapak Dr. Firdaus, MS., Ibu Dr. Herlina Rasyid, S.Si., dan Bapak Prof. Dr. Unang Supratman sebagai kopromotor, atas waktu yang diberikan dalam membimbing, mengarahkan dan membantu penulis mulai dari rencana penelitian, pelaksanaan penelitian di laboratorium, penulisan artikel, penulisan disertasi, dan terkhusus atas waktu yang diberikan dalam pertemuan rutin sekali dalam sepekan. Semuanya itu banyak membantu kami dalam memberi dorongan dan memotivasi kami untuk tidak patah semangat dalam memecahkan segala permasalahan yang dihadapi dalam penelitian. Terima kasih juga penulis sampaikan kepada tim penguji dari

penguji eksternal Ibu Prof. Dr. Jalifah Latip, juga kepada Bapak Prof. Dr. Ahyar Ahmad, Ibu Prof. Dr. Paulina Taba M. Phill, dan Ibu Dr. Hasnah Natsir, MS., selaku penguji internal atas petunjuk dan arahan untuk penyempurnaan penulisan disertasi ini. Ucapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada Rektor Universitas Negeri Makassar (UNM), Dekan FMIPA UNM, dan Ketua Jurusan Kimia FMIPA UNM atas rekomendasi yang diberikan untuk melanjutkan pendidikan.

Ucapan terima kasih dan penghargaan yang besar penulis sampaikan kepada tingkat penyelenggara pendidikan yaitu kepada;

1. Direktorat Pendidikan Tinggi Kementrian Pendidikan dan Kebudayaan atas bantuan beasiswa BPPDN 2017, dan hibah disertasi doktor pada program Doktor Ilmu Kimia, Sekolah Pascasarjana Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin,
2. Prof. Dr. Dwia Aries Tina Pulubuhu, M.A selaku rektor Universitas Hasanuddin (periode tahun 20017-2022), dan Prof. Dr. Ir. Jamaluddin Jompa M.Sc. selaku rektor Universitas Hasanuddin (periode tahun 2022-2027) yang telah memberikan kesempatan bagi penulis untuk menempuh pendidikan Doktoral di Universitas Hasanuddin,
3. Dr. Eng. Amiruddin, M. Si selaku dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam beserta staf yang telah memberikan pelayanan administrasi yang mudah dan cepat bagi penulis selama studi,
4. Prof. Ahyar Ahmad, Ph. D selaku ketua program studi S3 Ilmu Kimia FMIPA Universitas Hasanuddin yang telah memberikan pelayanan, arahan, dan nasehat yang bermakna selama penulis menempuh pendidikan,

5. Seluruh staf pengajar prodi. S3 Ilmu Kimia FMIPA UNHAS yang telah memberikan bekal ilmu yang bermanfaat bagi penulis selama menempuh pendidikan,
6. Seluruh teman sejawat dosen di Jurusan Kimia FMIPA UNM atas motivasi dan dorongan yang sangat membantu penulis,
7. Mahasiswa S3 Ilmu Kimia angkatan 2016, 2018, 2019, 2020, dan 2021 khususnya angkatan 2017 yaitu Ibu Dr. apt. Ajeng Kurniati Roddu, M. Kes dan Ibu Dr. Fitriyanti Jumaetry Sami MS., dari kerjasama yang baik, motivasi, bantuan dan dukungan yang diberikan,
8. Rekan-rekan tim peneliti Kimia organik FMIPA UNHAS dari S1, S2, dan S3 dari motivasi, curhat, suka duka cerita dari isolat yang tak kunjung dapat, dan kebersamaan pada pertemuan rutin setiap pekan bersama pembimbing selama penelitian,
9. Ibu Kartini, S.Pi., staf laboratorium kimia organik FMIPA UNHAS dan bapak Irsan staf administrasi prodi. S3 kimia FMIPA UNHAS atas segala bantuan dan layanan yang baik.

Pada kesempatan ini, penulis juga menyampaikan penghormatan dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada kedua orangtua kami, Bapak Muh. Dini dan Ibu Indo Tuwo yang telah mendidik dan terus mendoakan kami sampai saat ini, kepada istri dan anak-anak, adik-adik tercinta atas dukungan kesabaran. Banyak sekali pihak-pihak yang telah membantu penulis selama menempuh studi yang tidak mampu kami sebutkan satu per satu. Penulis ucapkan trima kasih dan berdoa kepada Allah Subhanahu wa ta'ala, semoga diberikan ganjaran yang berlipat disisi-Nya

Penulis sangat menyadari bahwa tulisan dan isi disertasi ini masih jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu, penulis dengan sangat terbuka mengharapkan masukan dan kritikan yang dapat menambah khasanah pengetahuan penulis dan kesempurnaan tulisan ini sehingga dapat lebih memberikan manfaat pada perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi yang terkait.

Makassar, September 2022
Penulis,

Iwan Dini

ABSTRAK

Iwan Dini. Isoalsi senyawa kimia dari makroalga *H. Cilindracea* Decaisne dan *C. racemosa* (forskal) J. Agardh. serta uji bioaktivitasnya terhadap bakteri dan sel kanker (dibimbing oleh Nunuk Hariani Soekamto, Firdaus, Herlina Rasyid, dan Unang Supratman).

Makroalga *Halimeda* dan *Caulerpa* menghasilkan senyawa metabolit sekunder golongan terpenoid dan alkaloid dari jalur metabolisme tertentu sebagai pertahanan diri terhadap gangguan organisme predator. Senyawa ini dapat diisolasi dan telah diketahui potensi bioaktivitasnya terhadap bakteri dan sel kanker. Oleh karena itu, penelitian dilakukan untuk mendapatkan senyawa metabolit sekunder dari makroalga *H. Cilindracea* Decaisne dan *C. racemosa* (Forskal) J. Agardh. Sampel kedua makroalga diperoleh dari pulau karang di teluk Bone Sulawesi Selatan. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan menentukan struktur molekul senyawa kimia yang diisolasi dari kedua makroalga, kemudian menguji aktivitas antibakteri dan antikankernya. Metode yang digunakan meliputi ekstraksi (maserasi bertingkat), fraksinasi dan pemurnian menggunakan kolom kromatografi dan rekristalisasi, penentuan struktur molekul dengan analisis data spektroskopi IR, UV-Vis, MS, dan NMR. Potensi antibakteri dari ekstrak diuji dengan metode difusi agar terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Potensi antikanker dari senyawa yang diisolasi diuji dengan metode BSLT dan MTT terhadap sel Hela. Hasil penelitian terhadap *H. Cilindracea* Decaisne. diperoleh empat senyawa yaitu: bisindolalkaloid (**1**), β -sitosterol (**2**), *Kolest-5-ena-3 β -ol* (**3**), dan halimedatrial (**4**). Keempat senyawa tersebut baru pertama kali dilaporkan dari *H. Cilindracea* Decaisne. Penelitian terhadap *C. racemosa* (Forskal) J. Agardh diperoleh senyawa bisindolalkaloid (**1**), β -sitosterol (**2**), asam kaulerpenoat (**5**), dan ester β -sitosterol (**6**). Senyawa **6** pertamakali dilaporkan dari makroalga *Caulerpa* sedangkan senyawa **1**, **2**, dan **3** sudah pernah dilaporkan sebelumnya dari *Caulerpa racemosa*. Hasil uji BSLT dan antikanker menunjukkan bahwa senyawa **1**, **4**, **5**, dan **6** tergolong toksik terhadap *A. salina* Leach. dengan nilai LC₅₀ masing-masing 81,28; 124,45; 107,71; dan 205,85 μ g/mL dan juga aktif terhadap sel HeLa dengan IC₅₀ masing-masing 38,74; 135,86; 62,05; dan 88,58 μ M, sedangkan senyawa **2** tidak aktif dengan nilai IC₅₀ >1000 μ M. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kedua makroalga menghasilkan senyawa kimia dari golongan alkaloid dan terpenoid yang aktif sebagai antikanker dan potensial dikembangkan sebagai obat antikanker.

Kata kunci; makroalga, *Halimeda cilindracea*, *Cualerpa racemosa*, terpenoid, alkaloid, antikanker.

ABSTRACT

Iwan Dini. Isolation of chemical compounds from the macroalgae *H. cylindracea* Decaisne. and *C. racemosa* (Forsk.) J. Agardh. and bioactivity against bacteria and HeLa cell (Supervised by Nunuk Hariani Soekamto, Firdaus, Herlina Rasyid, and Unang Supratman).

The *Halimeda* and *Caulerpa* macroalgae species are known to produce terpenoids and alkaloids from certain pathways as chemical defense against predators. These compounds can be isolated and have been known for their bioactivity potential as antibacterial and anticancer. Therefore, the secondary metabolites of *H. cylindracea* Decaisne. and *C. racemosa* (Forsk.) J. Agardh. was researched. The macroalgae sample were collected from the coral islands on the Gulf of Buni, South Sulawesi. The research aims to isolate and elucidate the molecule structure of secondary metabolites from the two macroalgae as well as to test the potency of the secondary metabolites as antibacterial and anticancer. Methods used in this research included sample preparation, maceration, fractionation, and purification by column chromatography and recrystallization. The elucidation structure of compounds determined based on the results of spectroscopic data: IR, UV-Vis, MS, and NMR. The antibacterial activity of the extract were measured by disc diffusion for *S. aureus* and *E. coli*. The anticancer activity of the compounds were tested by the BSLT method and MTT method against HeLa cells. From the *H. cylindracea* Decaisne. were isolated four compounds: bisindolealkaloid (**1**), β -sitosterol (**2**), cholest-5-ene-3 β -ol (**3**), and halimedatrial (**4**). These compounds is the first to be discovered from *H. cylindracea* Decaisne. From the *C. racemosa* (Forsk.) J. Agardh. were isolated four compounds: bisindolealkaloid (**1**), β -sitosterol (**2**), caulerpenic acid (**5**), and ester β -sitosterol (**6**). Compound **6** was the first reported from *Caulerpa* while compounds **1**, **2**, and **3** have been previously reported from the *C. racemosa*. The results of the BSLT and anticancer tests showed that compounds **1**, **4**, **5**, and **6** were classified as toxic to *A. salina* Leach. with LC₅₀ values 81.28, 124.45, and 107.71 μ g/mL respectively, and also active against HeLa cells with IC₅₀ 138,74, 135,86, 62,05, dan 88,58 μ M respectively. While compounds **2** were inactive. The results of this research indicate that the two macroalgae produce alkaloid and terpenoid compounds that are active as anticancer and have a potential to be developed as anticancer drugs.

keywords; macroalgae, *Halimeda cylindracea*, *Cualerpa racemosa*, terpenoids, alkaloids, anticancer.

DAFTAR ISI

	halaman
PRAKATA	i
ABSTRAK	v
ABSTRACT	vi
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xv
DAFTAR SINGKATAN, ISTILAH, DAN LAMBANG	xvii
I. PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	7
C. Tujuan Penelitian	8
D. Manfaat Penelitian	8
II. TINJAUAN PUSTAKA	
A. Makroalga	9
1. Manfaat dan kandungan senyawa kimia makroalga	10
2. Potensi antikanker makroalga	12
3. Potensi antibakteri makroalga	13
B. Makroalga <i>Halimeda</i>	15
1. Taksonomi dan morfologi	16
2. Kandungan kimia	19
3. Bioaktivitas <i>Halimeda</i>	24
C. Makroalga <i>Caulerpa</i>	27

1. Taksonomi dan morfologi	28
2. Kandungan kimia	30
3. Bioaktivitas <i>Caulerpa</i>	37
D. Uji Bioaktivitas (<i>Bioassay</i>)	40
1. Uji antibakteri	41
2. Antikanker dan uji sitotoksik	42
3. Uji toksisitas metode BSLT	46
E. Kerangka pikir dan hipotesis	46
1. Kerangka pikir	46
2. Hipotesis	48
III. METODE PENELITIAN	
A. Objek penelitian	50
B. Alat dan bahan penelitian	51
C. Waktu dan tempat penelitian	53
D. Prosedur kerja	53
1. Penyiapan sampel, ekstraksi, isolasi, dan pemurnian	53
2. Isolasi senyawa dari ekstrak heksan <i>H. cylindracea</i>	55
3. Isolasi senyawa dari ekstrak etil asetat <i>H. cylindracea</i>	57
4. Isolasi senyawa dari ekstrak etil asetat <i>C. racemosa</i> .	60
5. Isolasi senyawa dari ekstrak heksan <i>C. racemosa</i> .	61
6. Penentuan struktur molekul	68
7. Uji fitokimia dan uji bioaktivitas	68
8. Uji antibakteri	68
9. Uji BSLT	69
10. Uji sitotoksik (MTT)	70

IV. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A.	Gambaran umum	72
B.	Hasil uji toksisitas dan uji antibakteri ekstrak, <i>H. cylindracea</i> . dan <i>C. racemose</i> (Forsk.) J. Agardh.	75
	1. Toksisitas ekstrak, <i>H. cylindracea</i> Decaisne. dan <i>C. racemose</i> (Forsk.) J. Agardh	75
	2. Aktivitas antibakteri ekstrak <i>H. cylindracea</i> Decaisne. dan <i>C. racemose</i> (Forsk.) J. Agardh	76
C.	Penentuan struktur senyawa dari <i>H. cylindracea</i> Decaisne	79
	1. Senyawa 1 (bisindolalkaloid)	79
	2. Senyawa 2 (β -sitosterol)	85
	3. Senyawa 3 (Kolest-5-ena-3 β -ol)	88
	4. Senyawa 4 (diterpenoid halimedatrial)	93
D.	Penentuan struktur senyawa dari <i>C. racemosa</i> (Forsk.) J. Agardh.	98
	1. Senyawa 1 (bisindolalkaloid)	98
	2. Senyawa 2 (β -sitosterol)	101
	3. Senyawa 5 (asam kaulerpenoat)	103
	4. Senyawa 6 (ester β -sitosterol)	109
E.	Bioaktivitas antikanker senyawa hasil isolasi terhadap <i>A. salina</i> Leach dan sel HeLa	113
F.	Hubungan struktur molekul dengan aktivitas antikanker senyawa dari <i>H. Cylindracea</i> Decaisne dan dari <i>C. racemosa</i> (Forsk.) J. Agardh.	117

V. KESIMPULAN DAN SARAN	
A. Kesimpulan	121
B. Saran	122
DAFTAR PUSTAKA	123
LAMPIRAN	132

DAFTAR TABEL

No.		halaman
1.	Bioaktivitas ekstrak dan senyawa kimia dari genus <i>Halimeda</i>	26
2.	Bioaktivitas ekstrak dan senyawa kimia dari genus <i>Caulerpa</i>	38
3.	Hasil ekstraksi maserasi <i>H. cylindracea</i> . dan <i>C. racemosa</i>	55
4.	Fraksi gabungan dari fraksi-fraksi hasil fraksinasi ekstrak heksan <i>H. cylindracea</i> Decaisne	56
5.	Fraksi gabungan dari fraksi-fraksi hasil fraksinasi ekstrak Etil asetat <i>H. cylindracea</i> Decaisne	58
6.	Fraksi gabungan dari fraksi-fraksi hasil fraksinasi ekstrak heksan <i>C. racemose</i> (Forskal) J. Agardh.	62
7.	Hasil uji toksisitas (BSLT) ekstrak <i>H. cylindracea</i> Decaisne. dan <i>C. racemose</i> (Forskal) J. Agardh.	75
8.	Data uji antibakteri ekstrak <i>H. cylindracea</i> Decaisne	77
9.	Data hasil uji antibakteri ekstrak <i>C. racemosa</i> (Forsskal) J. Agardh.	77
10.	Data spektrum IR, UV, dan MS senyawa 1	80
11.	Data spektrum ^1H & ^{13}C NMR senyawa (1)	81
12.	Data spektrum ^1H & ^{13}C NMR senyawa 1 ^a (^1H , 600 MHz, ^{13}C , 125 MHz in acetone) dan bisindolalkaloid ^b (^1H , 600 MHz, ^{13}C , 125 MHz in CDCl_3) (Alarif, <i>et al.</i> , 2010)	84
13.	Data spektrum IR, dan MS senyawa 2	85

14.	Data spektrum ^1H and ^{13}C NMR APT senyawa 2 ^a (^1H , 600 MHz, ^{13}C , 125 MHz in CHCl_3) dan β -sitosterol ^b (Henri <i>et al.</i> , 2017)	87
15.	Data spektrum IR dan MS senyawa 3	89
16.	Data spektrum ^1H and ^{13}C NMR senyawa 3 ^a dan kolest-5-ena-3 β -ol ^b (Fitriyanti J.S, 2021) (^1H , 500 MHz, ^{13}C , 125 MHz in CHCl_3)	91
17.	Data spektrum IR, UV, dan MS senyawa 4	93
18.	Data spektrum ^1H & ^{13}C NMR senyawa 4 ^a (^1H , 500 MHz, ^{13}C , 125 MHz in CDCl_3) dan halimedatrial ^b (^1H , 360 MHz, ^{13}C , 50 MHz in CDCl_3) (Paul & Fenical, 1983)	96
19.	Data spektrum ^1H & ^{13}C NMR senyawa 1 ^a (^1H , 500 MHz, ^{13}C , 125 MHz in acetone) dan bisindolalkaloid ^b (^1H , 600 MHz, APT ^{13}C , 125 MHz in CDCl_3) (Iwan Dini, <i>et al.</i> , 2021)	99
20.	Data spektrum IR, UV, dan MS senyawa 5	103
21.	Data spektrum ^1H & ^{13}C NMR senyawa (5)	105
22.	Data spektrum IR senyawa 6 dan β -sitosterol	110
23.	Data spektrum ^1H and ^{13}C NMR senyawa 6 ^a (^1H , 500 MHz, ^{13}C , 125 MHz in CHCl_3) dan β -sitosterol ^b	111
24.	Hasil uji aktivitas senyawa yang diisolasi dari <i>H. cylindracea</i> Decaisne dan dari <i>C. racemose</i> (Forskal) J. Agardh.	114
25.	Aktivitas antikanker senyawa bisindolalkaloid	115

DAFTAR GAMBAR

No.		halaman
1.	Taksonomi <i>Halimeda</i> dan <i>Caulerpa</i>	14
2.	Morfologi <i>Halimeda cylindracea</i>	18
3.	Biosintesis halitunal	21
4.	Morfologi <i>Caulerpa racemose</i>	29
5.	Bagan kerangka pikir	49
6.	Kromatogram senyawa 1 dan isolat (6)	61
7.	Bagan isolasi fraksi heksan <i>H. cylindraceae</i> Decaisne	64
8.	Bagan isolasi fraksi etil asetat <i>H. cylindraceae</i> Decaisne	65
9.	Bagan isolasi fraksi etil asetat <i>C. racemosa</i>	66
10.	Bagan isolasi fraksi heksan <i>C. racemos</i> (Forsskal) J. Agardh.	67
11.	Enam senyawa yang diisolasi dari <i>H. cylindracea</i> Decaisne dan <i>C. racemose</i> (Forskal) J. Agardh	73
12.	Struktur molekul senyawa bisindolalkaloid	79
13.	Pola fragmentasi ion molekul senyawa 1	81
14.	Spektrum ¹³ C NMR senyawa 1	83
15.	Korelasi HMQC, COSY, dan HMBC senyawa 1	83
16.	Struktur molekul senyawa 2 (β -sitosterol)	85
17.	Struktur molekul senyawa 3 (kolest-5-ena-3 β -ol)	89
17b	Pola fragmentasi ion molekul senyawa 3	89
18.	Korelasi HMBC senyawa 3	92

19.	Struktur molekul senyawa 4 (halimedatrial)	93
19b	Polafragmentasi ion molekul senyawa 4	94
20.	Spektrum ^{13}C NMR senyawa 4	95
21.	Spektrum ^1H NMR senyawa 1 dan ^1H NMR bisindolalkaloid	100
22.	spektrum ^{13}C NMR senyawa 1 dan ^{13}C NMR bisindolalkaloid	100
23.	Spektrum ^1H -NMR; A) senyawa 2 dan B) β -sitosterol	102
24.	Struktur molekul senyawa 5	103
24a	Pola fragmentasi ion molekul senyawa 5	104
25.	Spektrum ^1H -NMR; A) senyawa 1 , dan B) senyawa 5	106
26.	Korelasi HMBC dan COSY senyawa 5	106
27.	Struktur molekul senyawa 6	109
28.	Spektrum ^1H -NMR, A) senyawa 6 dan B) β -sitosterol	110
29.	Korelasi COSY dan HMBC senyawa 6	112
30.	Perbandingan aktivitas antikanker terhadap sel HeLa dari ester- β -sitosterol (6) dan bisindolalkaloid (1) dengan gugus ester dan tanpa gugus ester	118

DAFTAR LAMPIRAN

No.		halaman
1.	Peta Lokasi dan sampel penelitian	132
2.	14 spesies makroalga yang ditemukan di Teluk Bone	133
3.	Hasil Identifikasi spesimen sampel makroalga	134
4A.	Hasil Uji sitotoksik BSLT Ekstrak dan Isolat dari <i>H. cylindracea</i> Decaisne dan <i>C. racemose</i> (Forsk.) J. Agardh.	135
4B.	Data Uji aktivitas anti bakteri ekstrak <i>H. cylindracea</i> Decaisne. dan <i>C. racemose</i> (Forsk.) J. Agardh.	142
5.	Hasil uji fitokimia	143
6.	Spektrum FT-IR, MS dan UV-vis senyawa (1)	144
7.	Spektrum NMR senyawa (1)	145
8.	Spektrum FT-IR dan spektrum MS senyawa (2)	148
9.	Spektrum NMR senyawa (2)	149
10.	Spektrum FT-IR dan spektrum MS senyawa (3)	150
11.	Spektrum NMR senyawa (3)	151
12.	Spektrum FT-IR dan spektrum MS senyawa (4)	154
13.	Spektrum NMR senyawa (4)	155
14.	Spektrum NMR isolat (1)	156
15.	Spektrum FT-IR, spektrum MS, dan UV senyawa (5)	157
16.	Spektrum NMR senyawa (5)	158
17.	Spektrum FT-IR senyawa (2)	160

18.	Spektrum NMR senyawa (2)	161
19.	Spektrum FT-IR dan NMR senyawa (6)	162
20.	Spektrum NMR senyawa (6)	163
21.	Spektrum HMBC dan COSY senyawa (6)	164
22.	Data uji MTT senyawa dari <i>H. cylindracea</i> Decaisne. dan <i>C. racemose</i> (Forskal) J. Agardh terhadap sel HeLa	166

DAFTAR SINGKATAN, ISTILAH, DAN LAMBANG

Singkatan/istilah /lambang	Arti dan keterangan
APT	Attached proton test
BSLT	Brine shrimp lethality test
CFU	Colony-forming unit
COSY	Proton proton (H-H) correlation spectroscopy
DNA	Deoxyribonucleic acid
DMSO	Dimetil sulfoksida
Formazan	Senyawa formula [RNNCR'NNHR"]
FBS	Fetal bovine serum
HepG2	Human liver cancer cell line
HeLa	Cervical cancer cells line
HMBC	Heteronuclear multiple bond correlation
hPTP1B	Protein-tyrosine phosphatase 1B
HSQC	Heteronuclear single quantum correlation
HT-29	human colon cancer cell line
Hz	Satuan frekuensi
H-460	Human lung cancer
IC ₅₀	Inhibition concentration 50%
IR	Infra red
<i>J</i>	Tetapan kopling
KLT	Kromatographi lapis tipis
KCG	Kromatographi kolom cair grafitasi
KCT	Kromatographi kolom cair tekan

KCV	Kromatographi kolom cair vakum
LC ₅₀	Lethal concentration 50%
MCF-7	Michigan cancer foundation-7
MIC	Minimum inhibition concentration
MS	Massa spectroscopy
MTT	Dimethylthiazol diphenyltetrazoliumbromide
[M] ⁺	Ion molekul
nM	Nano molar
NMR	Nuclear magnetic resonance
PDA	Potato dextrose agar
R _f	Retention factor
RPMI	Roswellpark memorial institute
SF-268	Cellosaurus cell line
TMS	Tetra methyl silane
t.l	Titik leleh
UV	Ultra violet
UV-Vis	Ultra violet visible
WHO	World health organization
λ	Panjang gelombang
λ_{\max}	Panjang gelombang maksimum
μL	Mikroliter
ν	Bilangan gelombang
δ_{C}	Chemical shift of carbon
δ_{H}	Chemical shift of proton

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Senyawa kimia yang digunakan untuk mengobati penyakit yang disebabkan oleh mikroorganisme seperti bakteri dan sel kanker akan berinteraksi dengan makromolekul biologis dari sumber penyakit tersebut. Interaksi ini sifatnya dinamis, sehingga peluang munculnya penyakit baru dan resistensi obat terhadap sumber penyakit di masa mendatang dapat terus berlangsung (Ersam, 2004). Munculnya bakteri resisten menjadi ancaman dari ketidak seimbangan antara jumlah obat dengan jenis infeksi bakteri resisten antibiotik. Dibutuhkan penelitian mendesak penemuan dan pengembangan obat-obatan melawan bakteri resisten yang menyebabkan kematian ± 250.000 jiwa setiap tahunnya. Begitu juga penyakit kanker yang merupakan salah satu penyebab kematian tertinggi di seluruh dunia dengan angka kematian pada tahun 2020 mencapai 10 juta kasus dan terus meningkat (WHO, 2021). Sebagian sel kanker telah menunjukkan kemampuan bertahan hidup melawan obat antikanker dengan cara meningkatkan pelepasan obat ke luar sel (Mansoori *et al.*, 2017). Hal ini menjadi tantangan yang akan terus kita hadapi dalam rangka menjaga kesejahteraan masyarakat di bidang kesehatan.

Metode pengobatan terhadap penyakit kanker saat ini dilakukan dengan cara operasi, radiasi, dan penggunaan obat (kemoterapi). Ketiga

metode pengobatan ini baik dilakukan secara terpisah maupun menggabungkan ketiganya belum cukup menurunkan laju angka kematian yang disebabkan oleh penyakit kanker. Oleh karena itu, penyakit kanker menjadi salah satu masalah terbesar di bidang kesehatan, sehingga pencarian obat antikanker baik melalui sintesis maupun yang berasal dari bahan alam menjadi prioritas.

Senyawa kimia dari bahan alam yang aktif terhadap sel kanker, mampu bersinergi dengan radioterapi melalui kemoterapi. Perpaduan ini terbukti lebih efisien dalam mengobati kanker dengan meningkatkan efek terapeutik, mengurangi efek samping, mengurangi dosis obat, mengatasi resistensi obat, menargetkan sel induk kanker, dan membatasi metastasis dan kekambuhan kanker (Mathews *et al.*, 2021). Hal ini mendorong peneliti melakukan penelitian untuk menemukan senyawa kimia penuntun (*lead compound*) yang dapat dikembangkan menjadi alternatif pengobatan terhadap kanker. Salah satu bahan alam laut yang menarik untuk dieksplorasi adalah makroalga. Penelitian telah membuktikan bahwa makroalga laut menghasilkan senyawa kimia dengan berbagai bioaktivitas menarik diantaranya sebagai antikanker dan antibakteri (Ioannou *et al.*, 2011; Mohamed *et al.*, 2012; Eom *et al.*, 2012; Blunt *et al.*, 2012; 2017; Gutierrez *et al.*, 2018).

Halimeda dan *Caulerpa* adalah dua dari genus makroalga hijau dengan keanekaragaman spesies yang cukup tinggi dibanding dengan spesies makroalga hijau lainnya. *Halimeda* yang berasal dari family

halimedaceae terdiri atas 49 spesies dan *Caulerpa* dari family caulerpaceae terdiri atas 104 spesies (G.M. Guiry & Guiry, 2021). Tingkat keanekaragaman spesies berkorelasi dengan keragaman struktur molekul senyawa kimia yang dihasilkan (Ersam, 2004). Selain itu, makroalga di habitatnya berinteraksi dengan banyak jenis bakteri yang mempengaruhi ekosistem laut, berinteraksi dengan banyak predator dan organisme patogen lainnya, sehingga untuk bertahan hidup, makroalga mengembangkan mekanisme pertahanan diri dengan menghasilkan senyawa kimia detoksikasi yang bersifat toksik yang merupakan timbunan energi yang dapat digunakan dan dimanfaatkan (Paul & Fenical, 1983; Ramanan *et al.*, 2016). Mekanisme lain dari pertahanan diri makroalga melalui bakteri simbiosis dengan mekanisme respon kimia yang memicu biosintesis senyawa bioaktif (Goecke *et al.*, 2010; Ismail *et al.*, 2016).

Uji bioaktivitas terhadap ekstrak dari beberapa spesies *Halimeda* dan *Caulerpa* menunjukkan adanya senyawa kimia antibakteri dan antikanker. Ekstrak metanol, ekstrak etilasetat dan ekstrak aseton dari *H. macrolaba*, *H. gracilis*, dan *H. opuntia* menunjukkan sifat toksik terhadap *Artemia salina* Leach dan aktif terhadap bakteri *S. aureus*, *P. mirabilis*, *P. aeruginosa*, *Enterococcus faecalis*, dan *E. coli* (Govindasamy *et al.*, 2011; Selim, 2012; Basir *et al.*, 2017). Ekstrak dari *H. tuna* dan *H. incrassate* aktif terhadap sel HeLa, HepG2, dan sel KB (Indira *et al.*, 2013; Gutierrez *et al.*, 2018; Kurt *et al.*, 2018). Ekstrak etilasetat dari *C. lentillifera* dan *C.*

racemosa aktif terhadap *E. coli*, *S. aureus*, *Streptococcus sp.* dan *Salmonella sp.* (Nagappan *et al.*, 2014; Zheng *et al.*, 2018).

Halimeda menghasilkan senyawa kimia golongan terpenoid dengan gugus aldehyd asetat seperti senyawa halimedatrial dan halimedatetraasetat yang bersifat sitotoksik dan antimikroba (Paul & Fenical, 1983; 1984; 1988). Dari *H. stuposa* ditemukan senyawa diterpenoid *4-hydroxydictyolactone*, *dictyol E* dan *8 α ,11-dihydroxypachydictyol A* yang aktif terhadap sel tumour SF-268, MCF-7, H460, dan HT-29 (Ovenden *et al.*, 2012). Selain itu, dari *H. incrassate* ditemukan alkaloid caulerpin yang bersifat antitumor dan dari *H. xishaensis* ditemukan alkaloid halimedin yang aktif terhadap *S. aureus* dan *E. coli* (Su *et al.*, 1998; Guven *et al.*, 2010).

Caulerpa menghasilkan senyawa terpenoid yang khas dengan gugus 1,4-diasetoksi-1,3-butadiena seperti *caulerpenyne*, *oxytoxin*, *taxifolial A*, *B*, *C* dan *D* yang diisolasi dari *C. racemosa*, *C. peltata*, *C. brownii* dan *C. Jlexilis*. Senyawa-senyawa ini ditemukan aktif sebagai antibakteri, antitumor, dan antikanker (Capon *et al.*, 1983; Guerriero *et al.*, 1992; 1993; Mao, *et al.*, 2006; Sfecci *et al.*, 2017). Kemudian senyawa *racemobutenolids A* dan *B* dari *C. lentillifera* memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel leukemia HL-60 (Yang *et al.*, 2015). *Caulerpa* juga menghasilkan senyawa indolalkaloid seperti caulerpin dari *C. taxifolia* yang aktif sebagai antikanker dan aktif terhadap bakteri *S. aureus*, *E. coli*, *Streptococcus sp.* dan *Salmonella sp.* Senyawa turunan indolalkaloid seperti *caulerprenylols A* dan *caulerprenylols B* dari *C. racemosa*, *C. lentillifera*, *C. serrulata* dan *C.*

peltata (Su *et al.*, 1997; Mao *et al.*, 2006; Liu *et al.*, 2013; Alarif *et al.*, 2010; Nagappan & Vairappan, 2014).

Kajian literatur menunjukkan bahwa makroalga dari genus *Halimeda* dan *Caulerpa* menghasilkan senyawa dari golongan terpenoid dan alkaloid yang memiliki sifat antibakteri dan antikanker. Senyawa tersebut memiliki jalur metabolisme tertentu sebagai pertahanan diri *Halimeda* dan *Caulerpa* terhadap organisme predator (Paul & Fenical, 1983; Amade & Lemee, 1998). Kedua genus makroalga ini memiliki banyak spesies yang belum diteliti kandungan kimianya diantaranya *H. Cilindracea* Decaisne dan *C. racemosa* (Forsk.) J. Agardh., keduanya ditemukan tumbuh di pulau-pulau karang pada daerah teluk Bone, Sulawesi Selatan dengan tingkat populasi yang cukup besar, berpotensi menghasilkan senyawa baru dan atau senyawa turunan dari senyawa yang telah diketahui, karena perbedaan habitat dan jenis predator berpengaruh terhadap biosintesis turunan metabolit sekunder makroalga. Jumlah senyawa halimedatetraasetat dan halimedatrial yang dihasilkan oleh *Halimeda* bergantung pada usia jaringan dan intensitas herbivora di habitatnya (Paul & Fenical, 1984; Cetrulo & Hay, 2000). Selain itu, sejauh penelusuran pustaka yang dilakukan, belum ada penelitian kandungan kimia terhadap keanekaragaman makroalga yang ada di teluk Bone, padahal wilayah tersebut termasuk wilayah Wallacea dan merupakan wilayah *global biodiversity hotspots* (Myers *et al.*, 2000).

Oleh karena itu, dilakukan penelitian terhadap potensi senyawa antibakteri dan antikanker yang dihasilkan oleh makroalga *H. Cilindracea*

Decaisne. dan *C. racemosa* (Forskal) J. Agardh. Potensi antibakteri diujikan terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli* yang mewakili dari masing-masing bakteri Gram-positif dan bakteri Gram-negatif. Potensi antikanker ekstrak dan senyawa diuji dengan metode BSLT, kemudian senyawa yang diisolasi diuji lebih lanjut terhadap sel HeLa. Diuji terhadap sel HeLa karena merupakan salah satu sel penyebab penyakit kanker rahim yang merupakan salah satu dari empat kasus kanker terbesar yang menimpa wanita secara global (WHO, 2021). Sel HeLa juga merupakan salah satu jenis sel yang cukup aman dikulturkan, dapat tumbuh agresif pada media RPMI, dan telah digunakan untuk mempelajari sel kanker manusia.

Penelitian dilakukan melalui isolasi senyawa kimia yang diawali dengan skrining fitokimia, potensi antibakteri dan antikanker pada ekstrak kedua makroalga. Hasil penelitian pendahuluan yang dilakukan menunjukkan bahwa ekstrak *H. cylindracea* Decaisne bersifat sitotoksik terhadap *A. Salina* Leach. dan memiliki aktifitas antibakteri namun tidak signifikan (Dini *et al.*, 2019). Penelitian dilanjutkan pada fraksinasi dan pemurnian ekstrak dengan metode kromatografi kolom, penentuan struktur molekul isolat dengan pengukuran spektroskopi, dan uji anti kanker terhadap sel HeLa isolat berdasarkan potensi yang telah diuraikan.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian pada latar belakang, maka masalah yang dirumuskan pada penelitian ini adalah;

1. bagaimana aktivitas ekstrak makroalga *H. Cilindracea* Decaisne dan *C. racemosa* (Forskal) J. Agardh. terhadap *A. salina* Leach dan terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*?
2. bagaimana struktur molekul senyawa yang diisolasi dari *H. Cilindracea* Decaisne dan *C. racemosa* (Forskal) J. Agardh.?
3. bagaimana aktivitas antikanker terhadap sel Hela dari senyawa yang diisolasi dari *H. Cilindracea* Decaisne dan *C. racemosa* (Forskal) J. Agardh.?
4. bagaimana hubungan struktur molekul dengan aktivitas antikanker senyawa yang diisolasi dari *H. Cilindracea* Decaisne dan dari *C. racemosa* (Forskal) J. Agardh.?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk:

1. menentukan aktivitas antibakteri dan toksisitas ekstrak dari makroalga *H. Cilindracea* Decaisne dan *C. racemosa* (Forskal) J. Agardh.
2. mengisolasi, menentukan struktur molekul, dan menentukan aktivitas antikanker senyawa kimia yang diisolasi dari makroalga *H. Cilindracea* Decaisne dan *C. racemosa* (Forskal) J. Agardh.
3. mempelajari hubungan struktur molekul dengan aktivitas antikanker senyawa yang diisolasi dari *H. cilindracea* Decaisne. dan dari *C. racemosa* (Forskal) J. Agardh.?

D. Manfaat Penelitian

Manfaat yang dapat diperoleh dari hasil penelitian yaitu;

1. Memberikan informasi dan pengetahuan baru mengenai potensi antibakteri dan antikanker senyawa kimia khususnya dari makroalga *H. Cilindracea* Decaisne dan *C. racemosa* (Forskal) J. Agardh. yang ada di perairan teluk Bone Sulawesi Selatan.
2. Memberikan informasi mengenai struktur molekul senyawa kimia dari makroalga *H. Cilindracea* Decaisne dan dari *C. racemosa* (Forskal) J. Agardh dan hubungannya dengan aktivitas antikanker.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Makroalga

Tumbuhan laut terbagi atas tumbuhan tingkat tinggi (kelompok lamun atau seagrass) dan tumbuhan tingkat rendah (alga atau seaweed). Berdasarkan ukurannya, alga dibedakan atas alga berukuran kecil (mikroalga) dan alga berukuran besar (makroalga). Makroalga termasuk tumbuhan multiseluler tetapi tidak mempunyai akar, batang, bunga dan daun sejati dan merupakan tumbuhan laut ukuran besar yang berupa *thallus* sehingga dimasukkan dalam kelompok tumbuhan divisi *thallopyta*. Berdasarkan kandungan pigmennya, maka makroalga diklasifikasikan dalam tiga divisi yaitu; makroalga merah (*Rhodophyceae*), makroalga coklat (*Phaeophyceae*), dan makroalga hijau (*Chlorophyceae*). Makroalga umumnya tumbuh melekat pada substrat keras (Kasim, 2016), ditemukan di habitat laut, dan beberapa spesies dapat tumbuh dan berkembang di ekosistem air tawar (Hamed *et al.*, 2018).

Makroalga hidup di dasar laut dengan ketersediaan cahaya dari matahari yang cukup untuk fotosintesis, dapat ditemukan di setiap zona iklim dari perairan hangat tropis hingga daerah dingin di daerah kutub. Paparan cahaya, suhu, fitur pantai, kedalaman, pasang surut, dan spesies pasang surut (*intertidal*) menciptakan habitat tertentu yang menentukan distribusi makroalga. Morfologinya terdiri atas *holdfast* (bagian thallus yang menyerupai akar), *node* (bagian yang menyerupai tangkai atau batang),

dan *blade* atau *segment* (bagian yang menyerupai bentuk daun). *Node* adalah bagian yang tidak semua dapat ditemukan pada spesies makroalga.

Makroalga hijau umumnya ditemukan di perairan dekat pantai dan laut dangkal dan telah diidentifikasi lebih dari 1.500 spesies (Gutierrez *et al.*, 2018). Hidup dengan menyerap sejumlah besar cahaya matahari dan mengandung klorofil a dan b, pigmen *lutein*, *violaxanthin*, *neoxanthin*, dan *enteroxanthin* (Abad *et al.*, 2011). Keanekaragaman spesies yang tinggi menjadikan makroalga berperan penting sebagai satu organisme utama di perairan yang bertanggung jawab untuk asimilasi nitrat, fotosintesis, dan berada di dasar rantai makanan sebagai penentu kualitas makanan yang dipindahkan ke tingkat rantai makanan lainnya (Torres *et al.*, 2014).

1. Manfaat dan kandungan senyawa kimia makroalga

Beberapa dari spesies makroalga telah lama dimanfaatkan sebagai sumber nutrisi tambahan yang berkhasiat untuk kesehatan. Beberapa spesies makroalga ada yang dijadikan sebagai makanan kesehatan karena adanya kandungan serat, mineral, asam lemak, asam amino esensial, dan vitamin khususnya di Asia Tenggara seperti di Jepang, China dan Korea (Wang *et al.*, 2009; Rajapakse, 2011). Kandungan protein, serat, dan karbohidrat dari makroalga dipercaya memiliki fungsi terapeutik seperti diet, hipokolesterolemik, antioksidan, dan antitumor (Patarra *et al.*, 2011). Karbohidrat termasuk komponen penting dari makroalga karena menunjukkan banyak aktivitas biologis seperti antioksidan, antialergi, antikanker, antikoagulan, proteksi kardiovaskular dan imunostimulan.

Selain itu, kandungan karbohidrat makroalga banyak yang dijadikan sebagai bahan dalam industri makanan (Matanjun *et al.*, 2010).

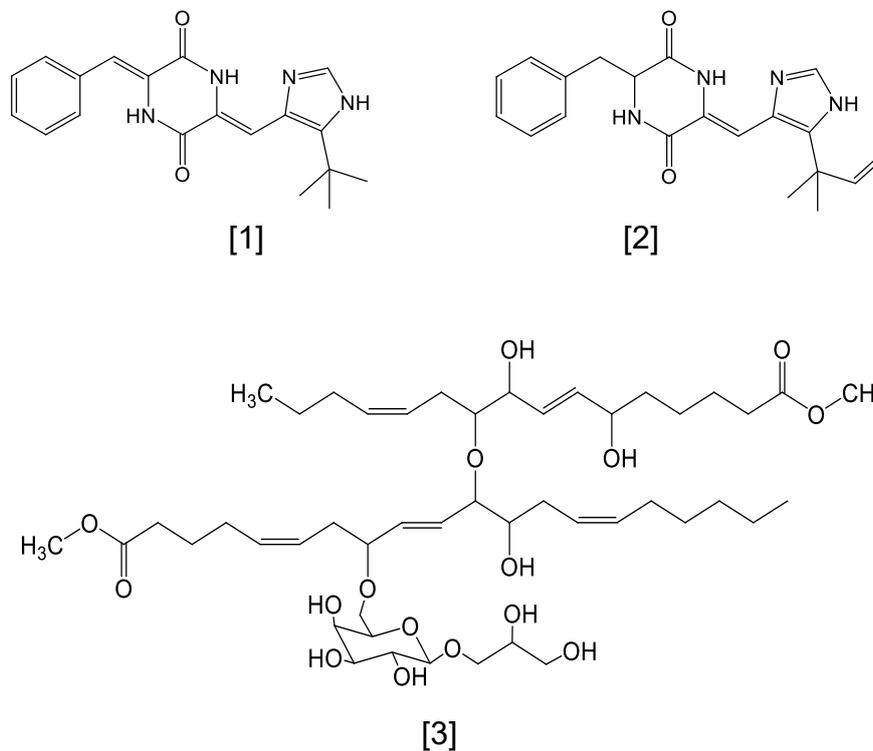
Beberapa spesies dari makroalga seperti *Caulerpa racemosa*, *Chondria sp.*, *Sargassum vulgare*, *Ulva sp.*, *Sargassum thunbergii*, *Laurencia microcladia*, *Jania capillaceae*, *Dictyota caribaea*, *Sargassum fluttans*, dan *Digenea simplex* telah lama dimanfaatkan oleh masyarakat Negara Kuba, Jepang, Meksiko, dan di beberapa negara di Asia Timur sebagai obat tradisional antiprotozoal (Torres *et al.*, 2014).

Hasil penyelidikan telah mengungkapkan potensi pengobatan dari makroalga seperti; antibakteri, antikanker, antiobesitas, antidiabetes, antihipertensi, antioksidan, antikoagulan, anti-inflamasi, imunomodulator, antiestrogenik, simultasi tiroid, neuroprotektif, antiviral, antijamur, dan penyakit degeneratif lainnya (Mohamed *et all*, 2012). Makroalga menghasilkan beragam senyawa kimia yang dapat dikelompokkan sebagai senyawa alifatik, heterosiklikoksigen, aromatik sederhana, polifenol, poliketida, terpenoid, steroid, alkaloid, karbohidrat, asam amino, dan peptida. Lebih dari separuh adalah senyawa terpenoid (59%) kemudian aromatik sederhana (11%), poliketida (10%), alifatik (9%), alkaloid (3,5%), karbohidrat (3%), dan selebihnya (<5%) dari kelompok senyawa lainnya (Leal *et al.*, 2013). Biosintesis dan bioaktivitas dari kelompok senyawa di atas dipengaruhi oleh interaksi makroalga dengan perubahan lingkungan laut, intensitas cahaya, tekanan air, dan salinitas (Perez *et al.*, 2016; Gutierrez *et al.*, 2018).

2. Potensi antikanker makroalga

Makroalga memiliki potensi yang besar untuk dijadikan objek penelitian untuk menemukan senyawa antikanker. Uji *in vitro* dan *in vivo* terhadap ekstrak dan senyawa kimia yang diisolasi dari banyak spesies makroalga menunjukkan aktivitas antikanker. Seperti ekstrak makroalga *Gracilaria caudata* dan *H. incrassate* yang aktif terhadap sel HeLa dan HepG2 dengan LC₅₀ masing-masing 51 dan 89 µg/mL, 29 dan 39 µg/mL (Gutierrez *et al.*, 2018).

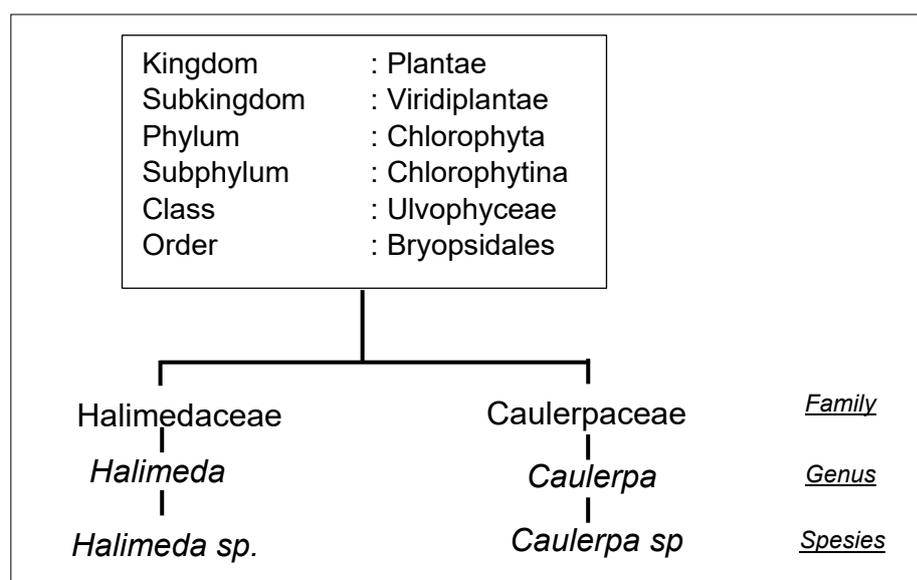
Makroalga laut yang dijadikan sebagai bahan makanan yang memiliki khasiat mengatasi dan mengobati penyakit kanker diketahui menghasilkan senyawa kimia seperti polisakarida sulfat, phlorotannins, dan karotenoid. Senyawa ini banyak yang memiliki aktivitas anti kanker (Kim *et al.*, 2011). Senyawa kimia yang diisolasi dari makroalga yang memiliki aktivitas anti kanker seperti; senyawa polifenol dari kelompok phlorotanin turunan *phloroglucinol* diisolasi dari makroalga coklat *Eklonia cava* yang memiliki aktivitas menghambat proliferasi sel kanker payudara MCF-7 dan sel MDA-MB231 (Kong *et al.*, 2009). Senyawa alkaloid plinabulin [1] turunan dari halimide [2] diisolasi dari jamur *Aspergillus sp.* yang diisolasi dari makroalga *H. lacrimosa* memiliki aktivitas menghambat polimerisasi tubulin penyebab destabilisasi tumor vaskular (Mayer *et al.*, 2010). Senyawa poliester metilester nigricanosida [3] diisolasi dari makroalga *Avrainvillea nigricans* aktif terhadap sel MCF-7 dengan IC₅₀ 3 nM (Williams *et al.*, 2007).



3. Potensi antibakteri makroalga

Makroalga yang hidup di laut berinteraksi dengan bakteri melalui interaksi mutualisme, parasitisme, dan interaksi flokulasi. Interaksi ini mempengaruhi metabolisme kimia makroalga dan ekosistem laut (Ramanan *et al.*, 2016). Makroalga sebagai produsen utama di laut mengembangkan mekanisme pertahanan diri terhadap berbagai jenis bakteri patogen dengan menghasilkan senyawa kimia. Respon tersebut dipercaya sebagai hasil detoksikasi metabolit yang disimpan dalam sel tumbuhan (Manitto, 1981). Diantara senyawa kimia dari makroalga yang dilaporkan memiliki sifat anti bakteri adalah senyawa diterpenoid dolabellana dan turunannya yang diisolasi dari *Dilophus spiralis* yang aktif terhadap bakteri varian *S. aureus* termasuk yang resisten dengan nilai MIC 2 - 28 µg/mL, (Ioannou *et al.*, 2011).

Interaksi makroalga dengan bakteri diketahui berupa interaksi kimia. Bakteri berasosiasi dengan spesies makroalga tertentu pada thallus makroalga yang mekanismenya belum sepenuhnya diketahui, tetapi dari fungsi ekologis diketahui melalui mekanisme respon kimia yang memicu biosintesis senyawa bioaktif alami. Beberapa bakteri mampu mencegah bakteri patogen melalui invasi *biofouling* yang memperluas pertahanan diri makroalga. Makroalga mempengaruhi metabolisme bakteri menghasilkan senyawa yang menghambat bakteri patogen. Seperti bakteri *Pseudoalteromonas* yang diisolasi dari permukaan *Halimeda* sp. ditemukan senyawa turunan γ -lakton [23] yang aktif terhadap bakteri (Goecke *et al.*, 2010). Ekstrak bakteri yang diisolasi dari permukaan makroalga *Padina pavonica* menunjukkan aktivitas menghambat bakteri *S. Aureus* dan bakteri *Vibrio alginolyticus* (Ismail *et al.*, 2016).



Gambar 1. Taksonomi *Halimeda* dan *Caulerpa* (G.M. Guiry & Guiry 2021).

Makroalga genus *halimeda* dan *caulerpa* adalah dua kelompok makroalga hijau dengan jumlah spesies yang cukup besar yang memiliki potensi menghasilkan senyawa antikanker dan antibakteri. Keduanya berasal dari orde Bryopsidales (Gambar 1). *Halimeda* adalah satu-satunya genus dari family Halimedaceae yang terdiri atas 49 spesies sedangkan *caulerpa* adalah salah satu genus dari 9 genus yang ada pada family caulerpaceae. *Caulerpa* yang terdiri atas 104 spesies adalah yang terbanyak ditemukan spesiesnya dibandingkan dari genus yang lain pada family caulerpaceae (G.M. Guiry & Guiry 2021).

B. Makroalga *Halimeda*

Halimeda adalah tumbuhan kecil yang banyak ditemukan tumbuh di dasar laut dangkal dengan menempel pada bebatuan berpasir. *Halimeda* termasuk dari makroalga hijau yang berkapur seperti tumbuhan kaktus di bawah laut. Semua spesies dari *Halimeda* menyimpan kalsium karbonat dalam bentuk *aragonite* dengan kadar yang tinggi. Segmentnya yang berwarna hijau merupakan tempat terjadinya fotosintesis. Segment tersebut berubah menjadi putih ketika mati karena terjadi pengapuran. Substrat tempat tumbuh *halimeda* didominasi oleh pasir berbatu memberi pengaruh terhadap pertumbuhannya karena *halimeda* memiliki adaptasi yang besar terhadap substrat tempat tumbuhnya (Handayani, 2017).

Spesies dari *halimeda* kebanyakan ditemukan tumbuh di daerah laut hangat dengan cahaya matahari yang cukup. Banyak ditemukan di daerah zona pasang surut yang berdasar pasir dan bercampur lumpur. *Halimeda*

juga ditemukan tumbuh disela-sela padanglamun. Hampir semua spesies *Halimeda* ditemukan pada daerah garis lintang 23.5° utara dan selatan khatulistiwa, tersebar di Samudra Hindia, Atlantik, dan kebanyakannya ditemukan di laut pasifik (Hillis-Colinvaux L, 1980). Di temukan 37 spesies di laut Indo-Pasifik dan kebanyakannya di Indonesia diataranya; *H. cilindracea*, *H. macrolaba*, *H. borneensis*, *H. simulans*, *H. coplosa*, *H. tuna*, *H. discoidea*, *H. opuntia*, *H. minima*, *H. renschii*, *H. gracilis*, dan *H. micrinesica* (Kadi, 1987).

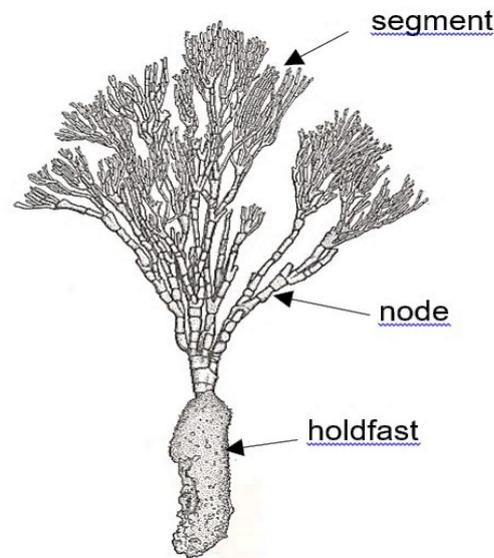
1. Taxonomi dan morfologi

Halimeda adalah salah satu genus dari makroalga hijau (Chlorophyta) dari order bryopsidales. *Halimeda* merupakan satu-satunya genus pada family halimedaceae yang terdiri atas 49 spesis. Secara taksonomi *Halimeda* diklasifikasikan sebagai berikut (G.M. Guiry in Guiry, M.D. & Guiry, G.M, 2021):

Kingdom : Plantae
Subkingdom : Viridiplantae
Phylum : Chlorophyta
Subphylum : Chlorophytina
Class : Ulvophyceae
Order : Bryopsidales
Family : Halimedaceae
Genus : *Halimeda*
Spesies : *Halimeda cilindracea* Decaisne.

Halimeda secara morfologi mempunyai tiga bentuk thallus yaitu berbentuk menjari, memencar, dan merumpun. Contoh morfologinya dapat dilihat pada Gambar 2 dan secara rinci dari bagian-bagian thallusnya terbagi dalam susunan berikut,

- (1) *Ruas daun atau segment*, terdiri dari bagian pucuk (*apical segment*) dan ruas tengah (*medial segment*). Bentuk ruas ada yang bulat (*lobed*), ginjal (*reniform*), bulat telur (*oval*), prisma (*cunneatus*) dan tabung (*cylindrical*) dengan panjang dan lebar yang berbeda-beda antara 12-29 mm dan lebar 17-40 mm. Ketebalan tergantung pada kandungan CaCO_3 . Tinggi ruas ada yang mencapai 26 cm dan berwarna hijau.
- (2) *Ruas pangkal/node (basal segment)*, bagian ini berfungsi seperti batang, bentuknya ada seperti kipas, bulat daun, ginjal, oval, dan tabung, kadang terdapat ruas bantalan yang disebut "*custion segment*". Pada bagian ini dapat dijumpai pada beberapa spesies *halimeda* diantaranya pada *H. micronesia*, *H. simulans*, *H. cylindrica*, *H. monile* dan *H. favulosa*.
- (3) *Holdfast*, berfungsi seperti akar yang menancap pada substrat berlumpur dan berpasir berbentuk seperti umbi. Mengandung akar serabut yang berbentuk kumpulan pita yang menyatu dengan partikel-partikel pasir dan lumpur menjadi bulatan yang keras (Kadi, 1987).



Gambar 2. Morfologi *Halimeda cylindracea*
 (<http://niobioinformatics.in/seaweed/taxonomy/Halimeda%20cylindracea.htm>).

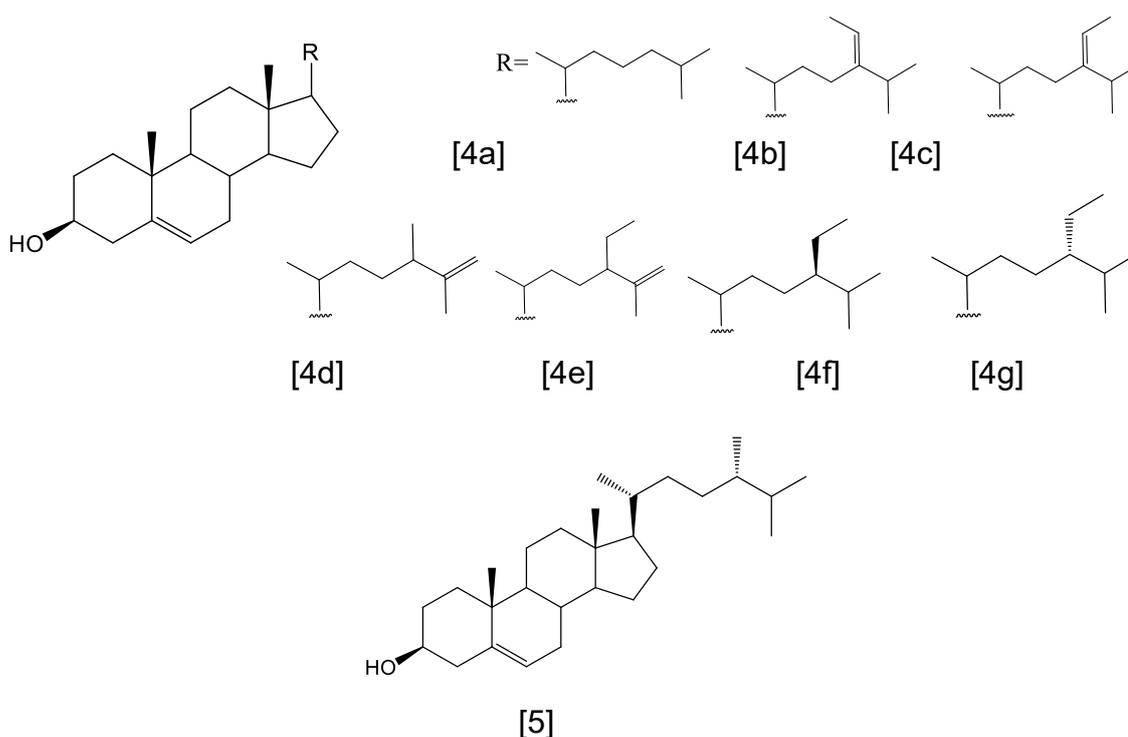
2. Kandungan kimia

Kandungan senyawa kimia makroalga genus *Halimeda* dilaporkan dari beberapa hasil penelitian menunjukkan adanya senyawa dari golongan steroid, alkaloid, dan terpenoid. Terpenoid merupakan senyawa dominan yang ditemukan pada genus ini, sebagaimana makroalga hijau yang umumnya telah terbukti menjadi sumber berbagai senyawa terpenoid khususnya sesquiterpen dan diterpene (Tillekeratne & Schmitz, 1984). Kandungan kimia *Halimeda* berdasarkan kajian literatur disebutkan sebagai berikut;

2.1 Senyawa steroid

Senyawa steroid yang ditemukan pada makroalga hijau relatif lebih tinggi dibandingkan dengan makroalga coklat dan merah (Leal *et al.*, 2013). Makroalga hijau mengandung senyawa steroid yang lebih kompleks sehingga sulit ditentukan kandungannya secara umum, sedangkan

steroid pada ganggang merah dan coklat didominasi oleh kolesterol dan fukosterol. Makroalga hijau diketahui mengandung kolesterol [4a] yang juga ditemukan pada makroalga merah, fukosterol [4b] juga ditemukan pada makroalga coklat, isofukosterol [4c] ditemukan pada tumbuhan tingkat tinggi, dan ergosterol [5] yang ditemukan pada banyak jamur, beserta kodisterol [4d] dan klerosterol [4e]. Kandungan steroid total makroalga hijau ditemukan bervariasi dari masing-masing spesies. komposisinya dapat dijadikan penuntun terbentuknya steroid tertentu (Kerr & Baker, 1991).

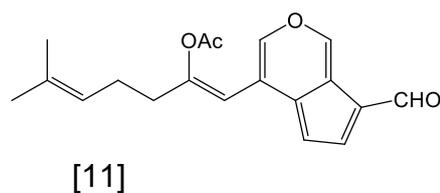
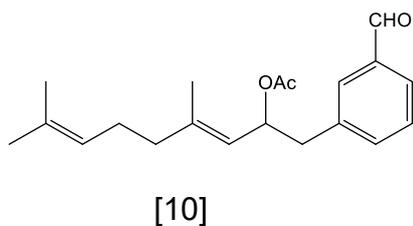
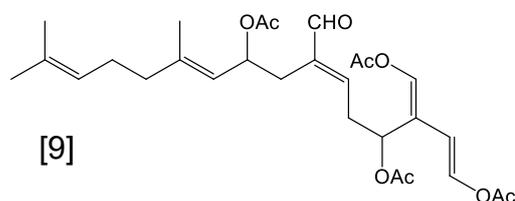
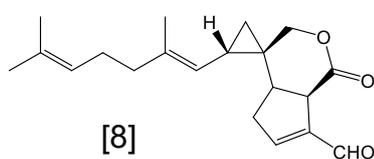
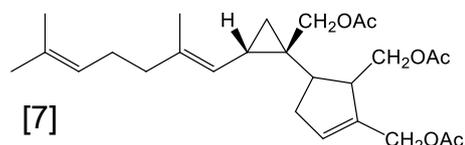
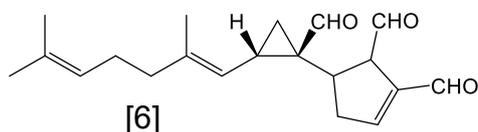


Senyawa steroid yang ditemukan pada makroalga *Halimeda* diantaranya β -sitosterol [4f] dari *H. gracillis* (Hendri *et al*, 2017). Massa kering *H. incrassata* diketahui mengandung 0.05% steroid dengan komposisi kolesterol [4a] 2%, ergosterol [5] 4% dan klonasterol [4g] 94%

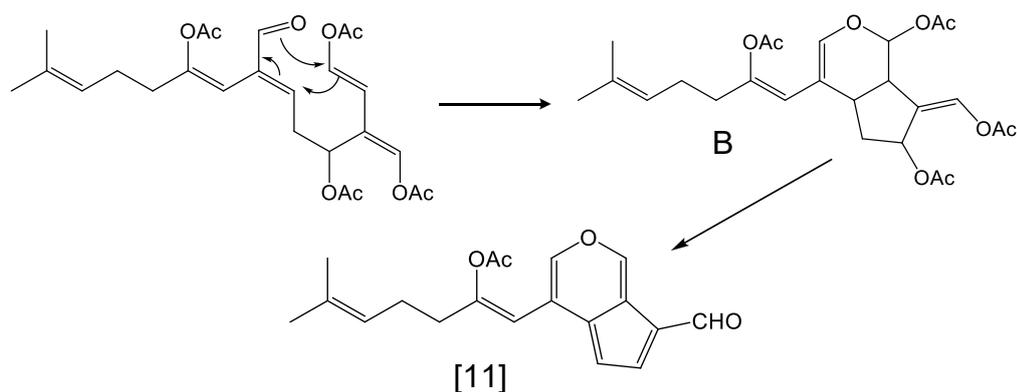
(Patterson GW, 1974). Steroid klonasterol juga ditemukan pada *H. macrolaba* (Dzeha, 2003).

2.2 Senyawa terpenoid

Senyawa terpenoid yang ditemukan pada *halimeda* termasuk golongan terpenoid yang unik seperti diterpenoid halimedatrial [6], halimedatriasetat [7], halimedalakton [8], halimedatetraasetat [9], dan bis-nor-diterpenoid [10]. Senyawa terpenoid ini adalah dari kelompok yang ditemukan pada spesies-spesies *halimeda* dengan gugus aldehid dan asetat. Kelompok senyawa ini dapat disekresikan ke lingkungan oleh *Halimeda* sebagai respon terhadap ancaman lingkungan dan sebagai senyawa pertahanan diri terhadap predator (Paul & Fenical, 1984).



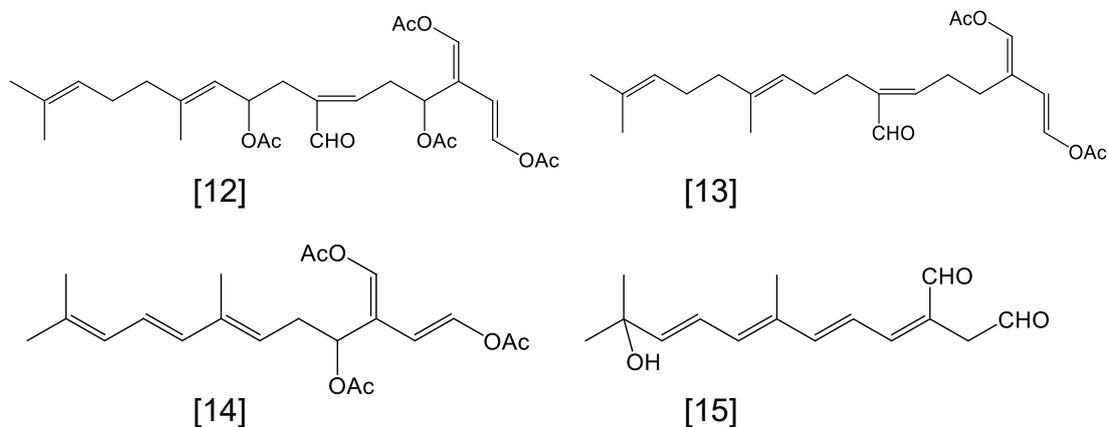
Senyawa halimedatrial [6] kadang tidak ditemukan pada spesies tertentu dari *Halimeda*, tergantung lokasi tumbuhnya. Seperti *H. Discoidea*, *H. Macroloba*, dan *H. Incrassata* yang tumbuh di Poerto Rico mengandung 31% halimedatrial, tetapi di daerah Guam tidak ditemukan adanya halimedatrial (Paul & Fenical, 1983; 1984). Senyawa terpenoid lainnya yang ditemukan pada *Halimeda* adalah senyawa halitunal [11]. Senyawa ini mengandung cincin siklopentadienapiran yang ditemukan pada *H. tuna*. Jalur biosintesis senyawa ini sebagaimana pada Gambar 3, dapat diusulkan dari senyawa halimedatetraasetat yang merupakan metabolit terpenoid utama pada *halimeda*. Diawali dari halimedatetraasetat yang mengalami siklisasi enol-asetat menghasilkan senyawa B sebagai senyawa intermedit atau senyawa antara. Senyawa B kemudian mengalami deasetilasi atau melepaskan dua molekul asamasetat dan kemudian mengalami penataan ulang yang disertai dengan hidrolisis dan reduksi asetil menjadi aldehid menghasilkan halitunal (Koehn *et al.*, 1991).



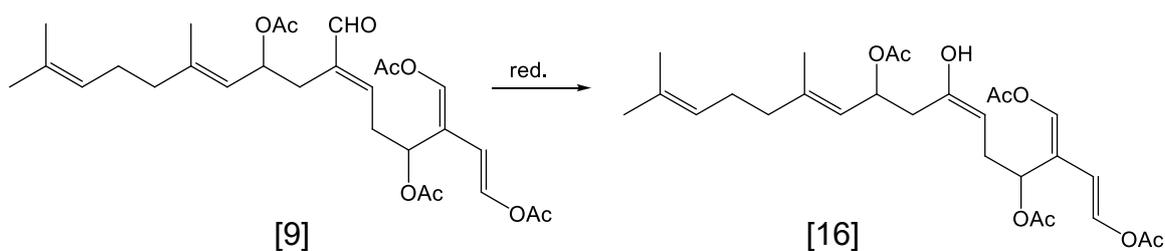
Gambar 3. Biosintesis halitunal (Koehn *et al.*, 1991).

Senyawa terpenoid yang lain dengan gugus aldehid dan asetat yang ditemukan pada *halimeda* adalah senyawa 4,9-diasetoksiudoteal [12].

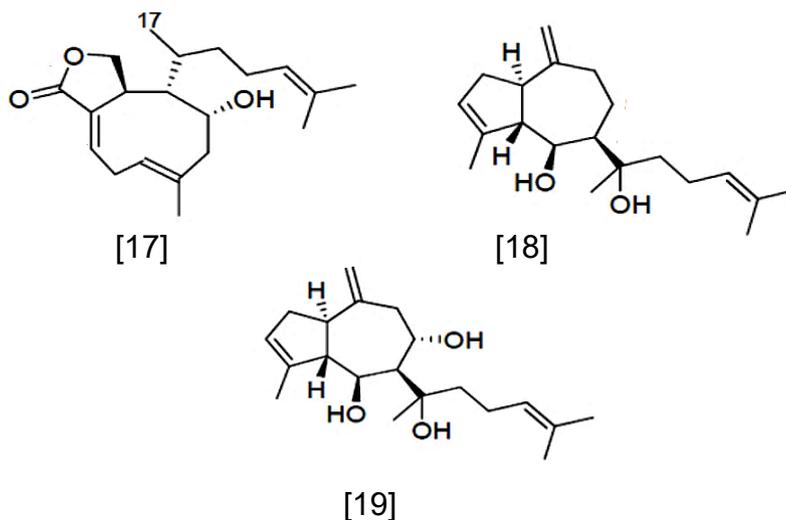
Senyawa ini ditemukan dominan pada *H. opuntia* bersama dengan beberapa senyawa diterpenoid lainnya seperti senyawa udoteal [13], rhipocephalin [14], dan rhipocephenal [15] yang umumnya dapat ditemukan pada kebanyakan spesies makroalga hijau (Tillekeratne & Schmitz, 1984; Sun & Fenical, 1979).



Senyawa diterpenoid juga ditemukan pada organisme yang mencari makan di sekitar tempat tumbuh *halimeda*. Senyawa halimedatetracetate dengan satu gugus alkohol [16] ditemukan pada *Elysia halimeda*. Hewan gastropoda ini ditemukan banyak mencari makan di bagian segment *halimeda*. Senyawa ini oleh *E. Halimeda* disimpan dalam tubuhnya dari memodifikasi atau mereduksi halimedatetraasetat [9] sebagai pertahanan diri (Paul & Van, 1988).



Senyawa diterpenoid lainya adalah 4-hidroksidiktiolakton [17], diktiol E [18], dan $8\alpha,11$ -dihidroksipacidiktiol A [19]. Ketiga senyawa ini diisolasi dari *H. stuposa*. Senyawa-senyawa ini juga ditemukan pada makroalga hijau lainnya dari spesies *Dictyota sp.* (Ovenden *et al.*, 2012).

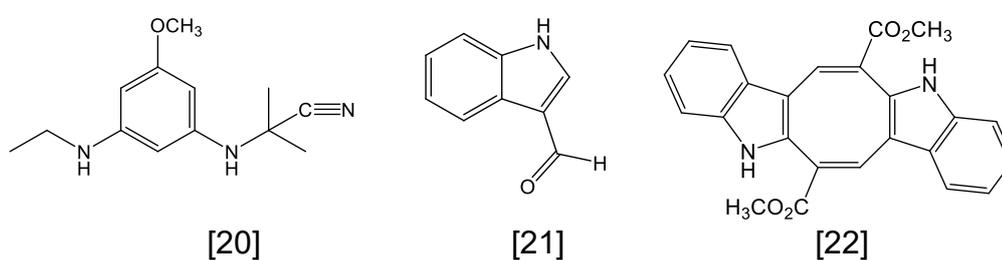


2.3 Senyawa alkaloid

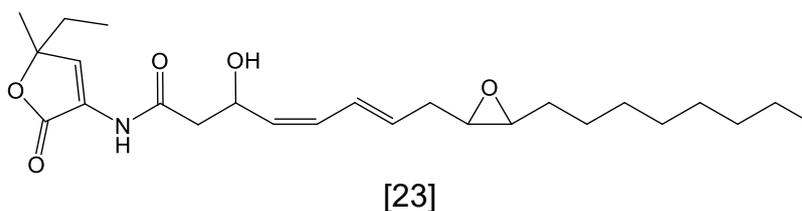
Senyawa alkaloid diketahui merupakan salah satu golongan senyawa kimia yang banyak dihasilkan oleh organisme laut. Senyawa ini ditemukan pada organisme tertentu sebagai senyawa mayor dan pada organisme lain sebagai senyawa minor. Senyawa alkaloid yang ditemukan pada makroalga ada yang diketahui sebagai senyawa pertahanan diri terhadap predator dan ditemukan sebagai senyawa kimia yang bersifat sitotoksik. Contoh dari senyawa ini adalah alkaloid indol yang diketahui sebagai senyawa yang bersifat *neurologis* (Fattorusso, 2008 dalam Kochanowska & Hamann, 2010).

Halimeda merupakan target yang menarik untuk penemuan senyawa alkaloid karena belum banyak alkaloid yang dilaporkan struktur

molekulnya dari genus ini. Alkaloid dari *halimeda* yang telah dilaporkan diantaranya alkaloid halimedin 1,3,5-sym-triazin [20] yang diisolasi dari makroalga *H. xishaensis* (Su *et al.*, 1998). Alkaloid indol yaitu indole-3-carboksialdehid [21] dari *H. stuposa* dan caulerpin I [22] dari *H. incrassate* (Güven *et al.*, 2010; Ovenden *et al.*, 2012).



Senyawa yang lain yang ditemukan adalah korormisin dari turunan γ -lakton [23] diisolasi dari bakteri *Pseudoalteromonas* yang bersimbiosis dengan *Halimeda* sp. Senyawa ini dihasilkan oleh bakteri diperkirakan melalui mekanisme respon kimia yang biosintesisnya dipicu secara biologis dari interaksinya dengan makroalga *Halimeda* sp. (Goecke *et al.*, 2010).



3. Bioaktivitas *Halimeda*

Halimeda hidup dan tumbuh pada kondisi lingkungan yang ekstrim seperti salinitas yang tinggi, ancaman dari berbagai jenis predator, bakteri dan organisme patogen lainnya. Untuk bertahan hidup pada lingkungannya

halimeda menghasilkan senyawa kimia bersifat toksik. Makroalga *Halimeda* diketahui menghasilkan zat *antifouling* yang toksik dan beracun terhadap ikan predator. Zat ini diketahui dari kelompok diterpenoid halimedatrial yang bersifat antibakteri dan sitotoksik. Senyawa ini oleh *Halimeda* dapat disekresikan keluar ke arah batu karang dan ikan sebagai zat racun sebagai sistem pertahanan. *Halimeda* secara alami menghasilkan senyawa kimia dari golongan diterpenoid halimedatrial dan halimedatetraacetate dari jalur metabolisme berbeda oleh sebagai *chemical defense* (Paul & Fenical, 1983; 1984; 1988). Senyawa halimedatrial memiliki aktivitas biologi yang lebih tinggi dibandingkan dengan halimedatetraasetat dalam mengusir herbivora (Paul & Alstyne, 1988b).

Perbedaan habitat dan keberagaman jenis predator memberi pengaruh terhadap metabolisme metabolit sekunder makroalga. Penyelidikan terhadap *halimeda* ditemukan senyawa halimedatetraacetate dan halimedatrial dengan jumlah yang berbeda tergantung pada usia jaringan dan intensitas herbivora di habitatnya (Paul & Fenical, 1986; Cetrulo & Hay, 2000). Kerusakan segmen menyebabkan produksi halimedatetraasetat [9] menurun dan konsentrasi halimedatrial [6] meningkat. Setelah terluka, *halimeda* mengubah halimedatetraasetat menjadi halimedatrial yang diperantarai enzim putatif (Stout & Kubanek, 2010). Beberapa bioaktivitas ekstrak maupun senyawa dari *halimeda* dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Bioaktivitas ekstrak dan senyawa kimia dari genus *Halimeda*

Nama spesies	Ekstrak/Senyawa	Bioaktivitas /Nilai	Literatur
<i>Halimeda sp.</i>	Diterpenoid halimedatrial [6], halimedatriasetat [7], halimedalakton [8], halimedatetraasetat [9].	Antimikrobiaal dan sitotoksik	Paul <i>et al.</i> , 1984
<i>H. tuna</i>	Ekstrak butanol/ Halitunal [11]	Aktif terhadap <i>murine coronavirus strain A59</i>	Koehn, <i>et al.</i> , 1991
	Ekstrak kloroform dan Ekstrak metanol	Terhadap beberapa bakteri (gram + dan gram -) / MIC 15.62 - 250 µg/mL	Indira K <i>et al.</i> , 2013.
	Ekstrak CH ₂ Cl ₂ :methanol (7:3)	Cancer Cell line HeLa, HepG2 dan KB IC ₅₀ :59, 59 dan 37 µg/ml	Gutierrez <i>et al.</i> , 2018
<i>H. xishaensis</i>	Alkaloid halimedin [20]	Aktif terhadap Bakteri <i>S. aureus</i> dan <i>E. coli</i>	Su <i>et al.</i> , 1998
<i>H. incrassata</i>	Alkaloid caulerpin I [22]	Antitumor dan antibakterial	Guven <i>et al.</i> , 2010
<i>H. opuntia</i>	Ekstrak Metanol	Terhadap bakteri <i>S. aureus</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> , dan <i>E coli</i> MIC 0,5-2 µg /mL	Selim SA, 2012.
<i>H. stuposa</i>	4-hidroksidiktialakton [17]; diterpenes dictyol E [18]; dan 8α,11-dihydroxypachydictyol A [19]	Terhadap Sel tumour SF-268, MCF-7, H460, dan HT-29/ GI ₅₀ 16-88 µM	Ovenden <i>et al.</i> , 2012
	indole-3-carboxaldehyde [21]	Tidak aktif	
<i>H. incrassata</i>	Ekstrak CH ₂ Cl ₂ :methanol (7:3)	Cancer Cell line HeLa, HepG2 dan KB IC ₅₀ :29, 34 dan 39 µg/ml	Gutierrez <i>et al.</i> , 2018
	Ekstrak air	Antioksidan dan neuroprotektif	Fallarero <i>et al.</i> , 2003

<i>H. discoidea</i> Tabel 1. (Lanjutan)	Ekstrak metanol	Antitumour	Harada and Kamei, 1998
<i>H. monile</i>	Ekstrak asam fenolik bebas	Antioksidan dan hepatoprotektif	Mancini <i>et al.</i> , 2009
<i>H. gracilis</i>	Ekstrak metanol	Antibakteri <i>S. aureus</i> dan <i>E. coli</i> .; zona hambat 10 dan 6 mm. dan antioksidan	Basir <i>et al.</i> , 2017
Isolat <i>Pseudoalteromonas</i> dari <i>Halimeda</i> sp	Kromasin turunan γ -lakton [23]	Antibakteri khusus Gram-negatif	Yoshikawa <i>et al.</i> , 1997
<i>H. macrolaba</i>	Ekstrak aseton dan metanol	Aktif terhadap <i>S. aureus</i> & <i>E. coli</i> zona hambat 12-18 mm	Govindasam <i>et al.</i> , 2011

C. Makroalga *Caulerpa*

Caulerpa umumnya hidup menempel pada substrat berpasir di dasar laut dangkal dengan aliran air yang tenang, tumbuh dan tersebar didaerah laut tropis sampai subtropis. Keanekaragaman paling tinggi ditemukan didaerah tropis yang tersebar di laut Pasifik, laut Indian, dan laut Antlantik. Ditemukan jumlah spesies *caulerpa* yang cukup banyak yaitu 29 spesies dengan sebaran diantaranya di laut Sunda 20 spesies, daerah *west of Wallace's* 23 spesies dan *East of Wallace's* 20 spesies (Van *et al.*, 1996). *C. lentillifera* ditemukan tersebar luas di lautan tropis dan subtropis meliputi Asia Tenggara, Jepang, Thailand, dan Korea Selatan. Spesies ini merupakan komponen penting secara ekologis karena ditanam di banyak tambak udang di Thailan untuk tujuan pengolahan air (Zheng *et al.*, 2018).

Beberapa negara Asia seperti Indonesia, Malaysia, Philipina, Singapur, Vietnam dan Taiwan, memanfaatkan beberapa spesies tertentu

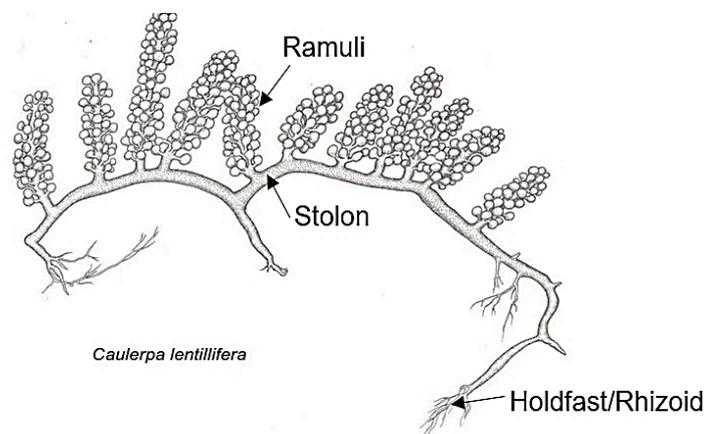
dari *Caulerpa* sebagai bahan makanan tambahan diantaranya *C. racemosa* yang dimakan dalam bentuk lalapan (Perryman *et al.*, 2017). *Caulerpa* dikenal dengan sebutan lawi-lawi atau lathoh dimanfaatkan sebagai sumber makanan tambahan khususnya di kawasan timur Indonesia. Kebanyakan spesies *caulerpa* dimanfaatkan sebagai makanan kesehatan karena mengandung serat, polifenol, β -karoten, vitamin C, tokoferol, asam lemak dan mineral yang berguna untuk kesehatan (Matanjun *et al.*, 2009; 2010).

1. Taxonomi dan morfologi

Caulerpa termasuk salah satu genus dari makroalga hijau (Chlorophyta) dari 9 genus pada family caulerpaceae yang terdiri atas 104 spesies. Spesies yang disebutkan diantaranya *C. lentillifera*, *C. cylindrata*, *C. racemosa*, *C. serrulata*, dan *C. taxifolia*. Dalam taksonomi *caulerpa* diklasifikasikan sebagai berikut (G.M. Guiry & Guiry 2021);

Kingdom : Plantae
Subkingdom : Viridiplantae
Phylum : Chlorophyta
Subphylum : Chlorophytina
Class : Ulvophyceae
Order : Bryopsidales
Family : Caulerpaceae
Genus : *Caulerpa*
Spesies : *Caulerpa sp.*

Caulerpa memiliki ciri khusus yaitu tumbuh bergerombol di hamparan terumbu karang dan padan lamun didasar laut berpasir pada kedalaman air hingga 20 m. Tumbuh dengan membenamkan rhizoidnya pada substrat pasir, batu, dan lumpur di dasar laut. Betuk thallus terdiri atas stolon, rhizoid, dan ramuli (G.M. Guiry & Guiry 2021). Rincian morfologi *caulerpa* dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Morfologi *Caulerpa racemosa*
 (http://www.niobioinformatics.in/seaweed/book/Caulerpa_racemosa.jpg)

Stolon pada *caulerpa* adalah memiliki bentuk menjalur horizontal berupa filamen yang ramping dan banyak bercabang. Stolon berfungsi sebagai batang pokok berukuran 16-22 cm. Pada stolon melekat *rhizoids* yang tidak berwarna dengan bentuk morfologi yang beragam ada seperti benang atau menyirip. Perkembangan stolon dan *rhizoid* bergantung pada substrat. Stolon dapat menjalar mencapai 2 m tetapi keumumannya bercabang. *Rhizoid* berfungsi sebagai alat pelekat pada subtrat serta bagian untuk tegakan ramuli atau bagian dari segment (G.M. Guiry & Guiry 2021). Ramuli merupakan organ percabangan dari stolon sebagai organ utama, bentuknya agak lunak dan terkesan kosong berdiameter antara 2-4

mm dan memiliki bulatan-bulatan pada ujung atau rata dan bertangkai yang tersusun di sepanjang ramuli. Stolon dan rhizoid bentuknya hampir sama untuk semua spesies *caulerpa*.

Kebanyakan spesies *caulerpa* secara morfologi dapat dibedakan dari bentuk ramulinya yang disebut juga dengan nama asimilator karena kandungan klorofil. Dari keseluruhan spesies *caulerpa* dapat dibedakan dengan melihat bentuk dan tegakkan ramulinya. Ramuli ada yang mempunyai bentuk memanjang, pipih menyerupai spiral dengan pinggir bergerigi atau bergelombang. Diantara ramuli juga ada yang membentuk percabangan dan ada pula yang hanya berdiri sendiri tidak bercabang (Saptasari, 2010). Ramuli sebagai tempat terjadinya fotosintesis sebagian besar spesies *caulerpa* menghasilkan senyawa yang toksik untuk pertahanan diri terhadap predator (Shams & Amini, 2017).

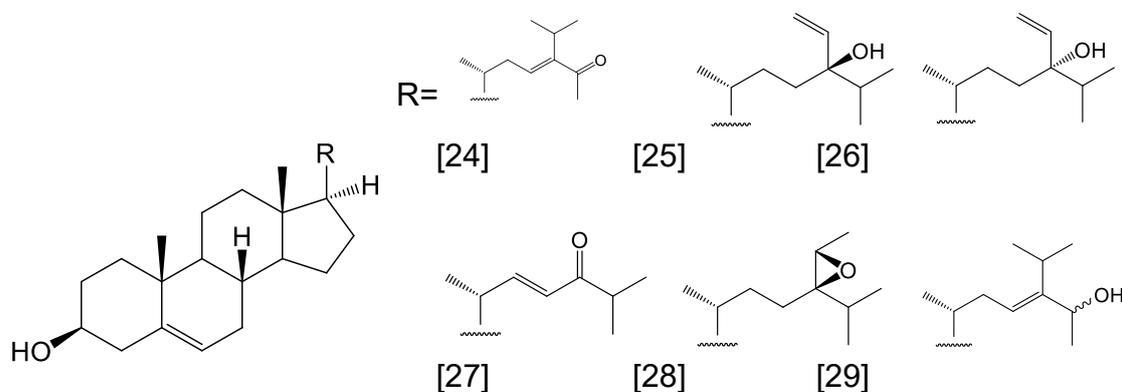
2. Kandungan kimia

Caulerpa menghasilkan senyawa terpenoid monoterpen, sesquiterpen, dan diterpen dengan ciri umum yaitu pada ujung rantai karbon terdapat gugus 1,4-diasetoksibutadiena. Kemudian senyawa kelompok alkaloid indol yang mengandung nitrogen seperti caulerpin dan caulerpicin dan kelompok senyawa aromatik.

2.1 Senyawa steroid

Caulerpa menghasilkan senyawa steroid diantaranya kolesterol [4a], fukosterol [4b], dan klionasterol, [4f]. Sejumlah senyawa steroid stigmastane yaitu; 28-oxostigmastane, (23E)-3 β -hydroxystigmasta-5,23-

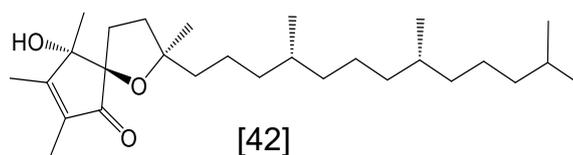
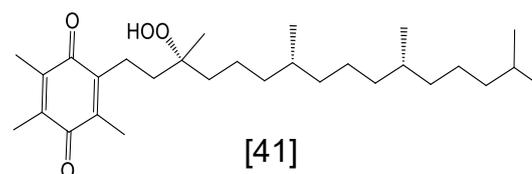
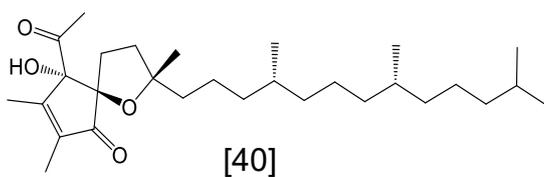
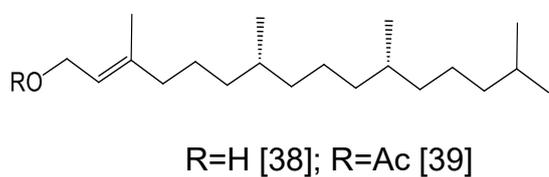
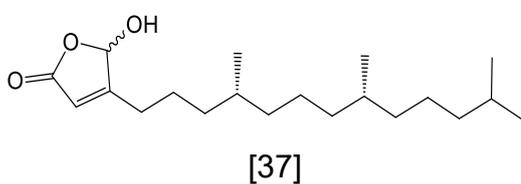
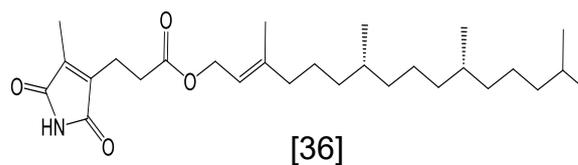
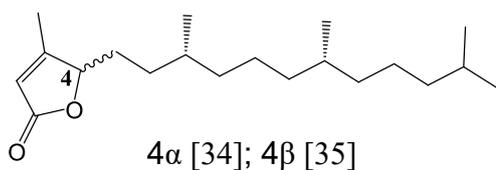
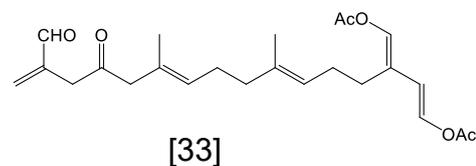
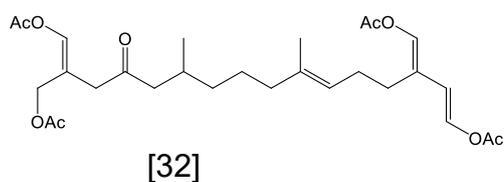
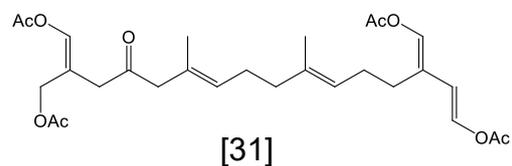
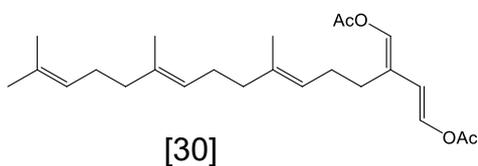
dien-28-one [24], (3 β ,24 R)-stigmasta-5,28-diene-3,24-diol [25], (β ,24 S)-stigmasta-5,28-diene-3,24-diol [26], (22 E)-3 β -hydroxy-cholesta-5,22-dien-24-one [27], 24 R ,28 S -epoxyfucosterol [28], dan (3 β ,23 E)-stigmasta-5,23-dien-3,28-diol [29]. Semua senyawa steroid tersebut ditemukan pada *C. racemosa* dari Laut Zhanjiang China (Mao *et al.*, 2011; Yang *et al.*, 2015). Senyawa kolesterol [4a] dan klionasterol [4f] juga ditemukan pada *H. incrassata* (Patterson, 1974) dan *H. macrolaba* (Dzeha *et al.*, 2003).



2.2 Senyawa terpenoid

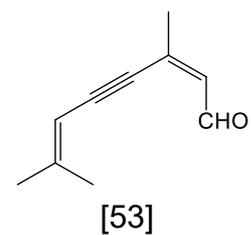
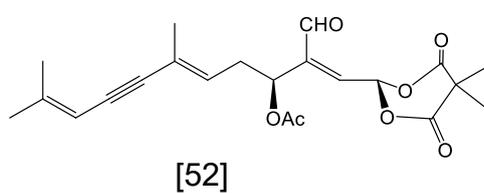
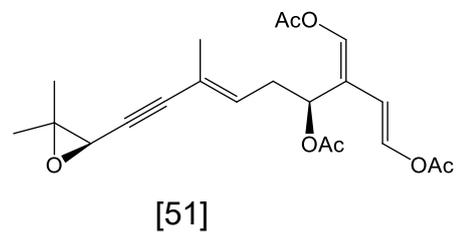
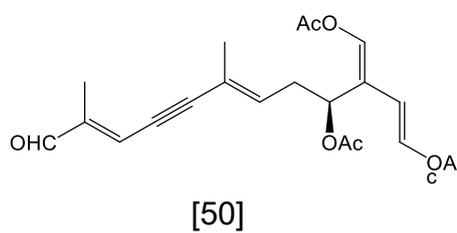
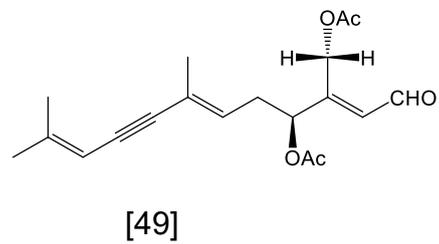
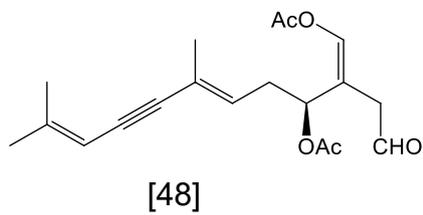
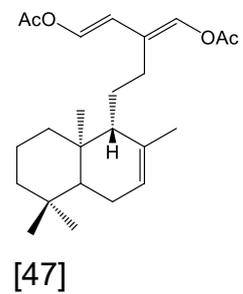
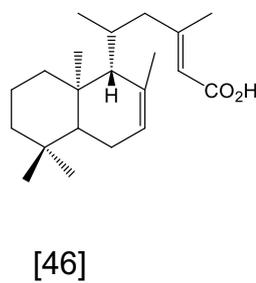
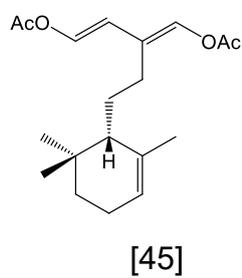
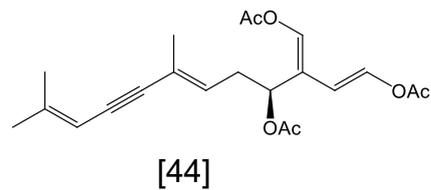
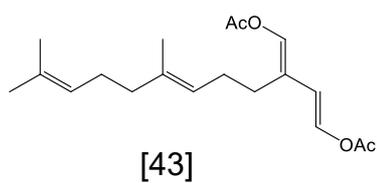
Senyawa terpenoid ditemukan pada makroalga *caulerpa* diantaranya senyawa diterpenoid rantai lurus hidrotrifarin [30], klorodesmin [31] dan dihidroklorodasmin [32] diisolasi dari *C. fastigiata* dan *C. trifaria* yang ditemukan hidup melimpah pada daerah terumbu karang dengan gelombang tinggi. Ketiga senyawa ini mengandung bis-enol asetat yang merupakan ciri senyawa terpenoid yang umum ditemukan pada *Caulerpa*. Kelompok senyawa ini juga dikenal dengan sifat bioaktivitas yang tinggi. Biosintesis terbentuknya senyawa ini secara alami belum diketahui, namun

dikaitkan dengan senyawa [33] dengan gugus fungsi aldehid (Fenical & Paul, 1984).



Senyawa diterpenoid yang lain adalah racemobutenolids A [34], racemobutenolids B [35], 4,5-dehidrodiodiktionema A [36], kakospongionolida C [37], *trans*-phytol [38], *trans*-phytyl acetate [39], α -

tokospiro A [40], α -tokopherolquinon [41], dan α -tokospirone [42]. Sembilan senyawa ini diisolasi dari *C. racemosa* yang diperoleh dari laut Cina selatan (Yang *et al.*, 2015).



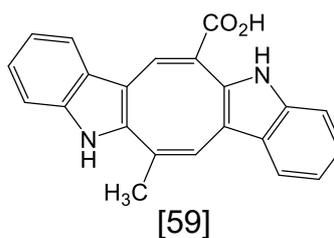
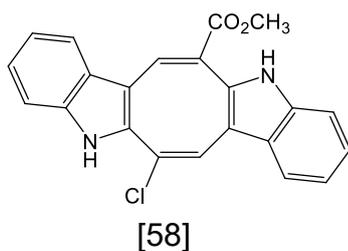
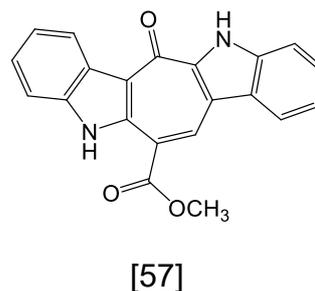
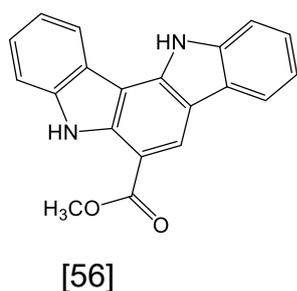
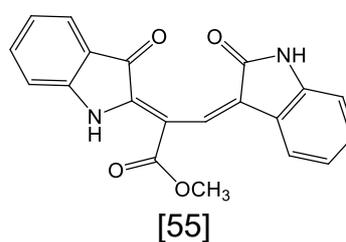
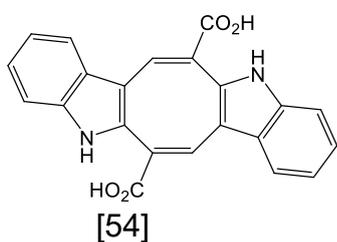
Selain diterpenoid, juga ditemukan senyawa sesquiterpen seperti flexilin [43] dari *C. flexilis*, rhipocephalin [14], dan rhipocephana [15] dari *Rhipocephalus phoenix* yang satu family dengan *Caulerpa* (Sun & Fenical, 1979; Fenical & Paul, 1984). Kemudian senyawa caulerpenyne [44] yang pertamakali diisolasi dari *C. prolifera* dan *C. taxifolia* (Sfecci *et al.*, 2017). Sejumlah sesquiterpen dengan gugus 1,4-diasetoksi-1,3-butadiena [45-47] juga ditemukan pada *C. racemosa*, *C. peltata*, *C. brownii* dan *C. Jlexilis* (Capon *et al.*, 1983). Sejumlah turunan caulerpenyne seperti senyawa oxytoxin [48], taxifolial A [49], Taxifolial B [50], senyawa campuran diastereoisomer taxifolial [51], Taxifolial C [52], dan taxifolial D [53] juga diisolasi dari *C. taxifolia* (Guerrieroa *et al.*, 1992; 1993).

Senyawa caulerpenyne [44] termasuk senyawa kimia dari *caulerpa* yang memiliki banyak sifat bioaktivitas. Struktur molekulnya dibentuk oleh sistim diasetoksibutadiena dan sifat bioaktivitasnya sangat dipengaruhi oleh gugus besar yang terikat (moitas) pada struktur dasarnya. Senyawa ini dikaitkan dengan sistem pertahanan kimia dari *C. taxifolia* yang tumbuh pesat pada suhu tinggi (Mao, *et al.*, 2006).

2.3 Senyawa alkaloid

Makroalga hijau juga dikenal mengandung pikmen merah yang diketahui sebagai senyawa caulerpin [22] yang masuk dalam kelompok alkaloid indol. Senyawa ini telah diisolasi dari *C. racemosa* var. *laetevirens*, *C. lentillifera* J. Agardh, *C. serrulate*, *C. peltate*, *C. racemose*, dan *C. taxifolia* (Su *et al.*, 1997; Capon *et al.*, 1983; Mao *et al.*, 2006; Alarif *et al.*,

2010; Nagappan & Vairappan, 2014). Selain dari *Caulerpa*, caulerpin juga ditemukan pada *H. incrassate* (Güven *et al.*, 2010). Turunan caulerpin yaitu asam kaulerpenoat [54] diisolasi dari *C. racemose* Bersama empat turunan bisindolalkaloid lainnya (Liu *et al.*, 2012) dan juga dilaporkan dari hasil hidrolisis caulerpin (Anjaneyulu *et al.*, 1992; Alarif *et al.*, 2010).

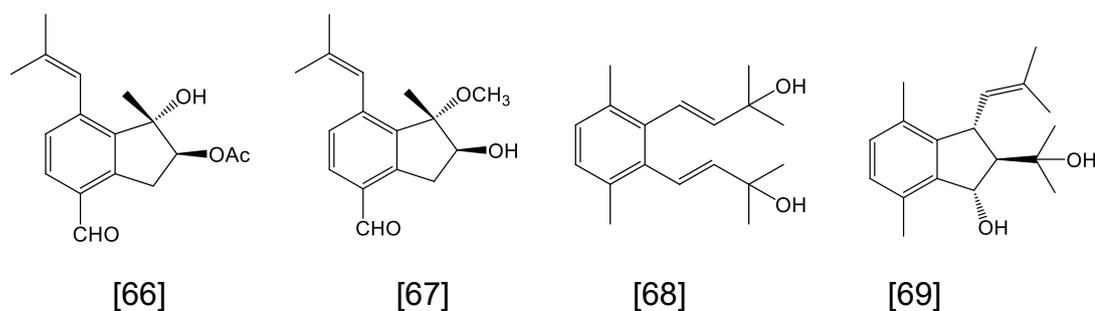
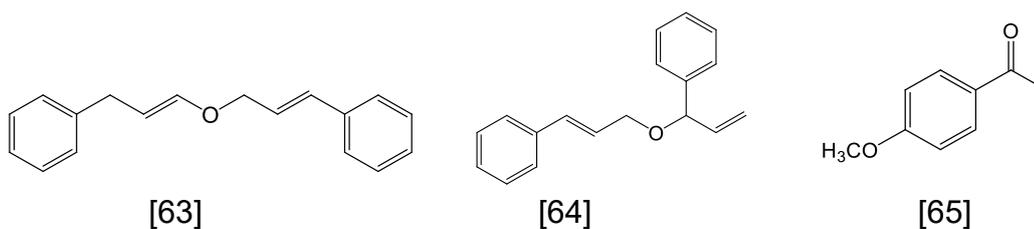
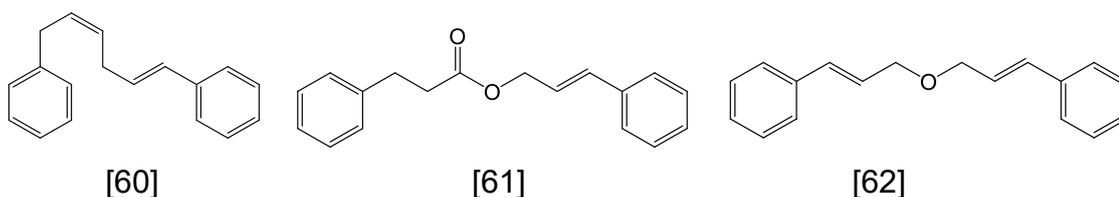


Dua senyawa alkaloid bisindol yaitu rasemosin A [55] dan senyawa rasemosin B [56] diisolasi dari *C. racemosa*. Kedua senyawa ini secara biogenetik dapat diusulkan biogenesisnya dari senyawa caulerpin [22] yang mengalami oksidasi ikatan rangkap kemudian pelepasan dua karbonil dan siklisasi radikal (Liu *et al.*, 2013). Senyawa bisindol yang mirip dengan

caulerpin adalah senyawa alkaloid indol kaulersin [57], asam monometil caulerpinate [58] dan trklorinasi caulerchlorin [59] diisolasi dari *C. serrulata* dan *C. racemosa* (Su *et al.*, 1997; Liu *et al.*, 2012).

2.4 Senyawa aromatik

Senyawa aromatik yang ditemukan pada makroalga genus *caulerpa* diantaranya; pada *C. rcemosa* ditemukan senyawa 1,5-difenil-1,4-pentadiena [60], sinnamil dihidrosinamat [61], disinnamilether [62], sinnamil-3-fenil-1-propenilether [63], dan trans-sinamil-1-fenil-2-propenileter [64] (Anjaneyulu *et al.*, 1992). Pada *C. taxifolia* ditemukan senyawa 4-metoksiasetofenon [65] (Valls *et al.*, 1994).



Senyawa aromatik paraxilen terprenilasi yaitu; caulerpal A [66] dan caulerpal B [67] diisolasi dari *C. taxifolia*. Kedua senyawa ini secara biogenetik dapat disarankan biogenesisnya dari senyawa caulerpenyne (Mao *et al.*, 2006). Pada *C. recemosa* juga ditemukan senyawa paraxilena terprenilasi caulerprenylols A [68] dan caulerprenylols B [69]. Senyawa aromatik terprenilasi yaitu kuinon, hydroquinones, phenylpropanoids, dan phenols juga dapat ditemukan pada ganggang coklat, spons, karang lunak, dan moluska. Senyawa paraxilena terprenilasi termasuk senyawa yang jarang ditemukan dan tidak banyak yang dilaporkan. Penemuan senyawa paraxilena terprenilasi pada *caulerpa* menunjukkan keragaman senyawa kimia yang dihasilkan oleh makroalga genus *caulerpa* (Liu *et al.*, 2013).

3. Bioaktivitas *Caulerpa*

Caulerpa memiliki aktivitas antioksidan, sitotoksin, antidiabetik, dan antiinflamasi (Ridhowati & Asnani, 2016). *Caulerpa* memiliki kandungan gizi yang tinggi, dipercaya menghasilkan senyawa kimia yang bermanfaat untuk kesehatan seperti untuk antibakteri, antijamur, antikanker, antioksidan, dan antivirus serta menjadi rahasia umur panjang penduduk daerah Okinawa Jepang (Zheng F. *et al.*, 2018). *Caulerpa* diduga menghasilkan senyawa kimia yang bersifat toksik melalui jalur metabolisme yang unik. Senyawa ini diketahui disekresikan untuk pertahanan diri terhadap predator (Amade & Lemee, 1998), menjadikan *caulerpa* potensial sebagai sumber senyawa bioaktif yang dapat dimanfaatkan bagi pengembangan industri farmasi khususnya obat antibakteri, dan antikanker. Pada Tabel 2, dituliskan

beberapa informasi ekstrak maupun senyawa kimia dari *Caulerpa* dengan aktivitasnya yang menunjukkan kandungan kimia dengan bioaktivitas yang menarik.

Tabel 2. Bioaktivitas ekstrak dan senyawa kimia dari genus *Caulerpa*

Nama spesies	Ekstrak/Senyawa	Bioaktivitas	Literatur
<i>C. taxifolia</i>	Caulerpin [40]	Menghambat aktivitas hPTP1B Type-II diabetes & obesitas	Mao <i>et al.</i> , 2006
		Antikanker	Liu <i>et al.</i> , 2009
	Caulerpenyne [62]	antibakteri dan antitumor dan Menghambat pertumbuhan beberapa sel kanker	Sfecci <i>et al.</i> , 2017
<i>C. lentillifera</i>	Ekstrak Polisakarida xylogalactomanans	Immunostimulatory	Sun <i>et al.</i> , 2018
	Matriks 0.5 mm	Cardiovascular Protective dan antioksidan	Matanjan <i>et al.</i> , 2010
	sulfated polysaccharide	Immunostimulatory	Maeda <i>et al.</i> , 2012
	Ekstrak etanol	Antidiabetes	Sharma, 2014
	racemobutenolids A [52] dan B [53]	Sitotoksik terhadap sel leukemia HL-60 IC ₅₀ 47.3 dan 67.4 μ M.	Yang <i>et al.</i> , 2015
	Konsentrat 10%	Menghambat <i>E. coli</i>	Tapotubun <i>et al.</i> , 2016
<i>C. racemosa</i>	Ekstrak air panas dan fraksi n-butanol	Antivirus HSV-1 & Cox B3	Wang <i>et al.</i> , 2007
	Sulfoquinovosyldiac glycerol (SQDG)	Antivirus HSV-2 IC ₅₀ 15,6 μ g mL ⁻¹	
	Ekstrak aseton	menghambat aktivitas enzim α -amylase ED ₅₀ 0,09 mg/ml	Teixeira <i>et al.</i> , 2007

Tabel 2. (Lanjutan)

	Caulerpin [40]	Antiinflamatori	Nagappan & Vairappan, 2014
		Antibakteri, <i>E. coli</i> ; <i>S. aureus</i> ; <i>Streptococcus sp.</i> dan <i>Salmonella</i>	
	Caulerpenyne [62]	<i>Inhibited lipoxygenase</i> IC ₅₀ 5.1 µM	Cengiz. <i>et al.</i> , 2011
	caulerpin [40] dan asam caulerpinic [72]	Insektisida /larva <i>C. pipiens</i> LC ₅₀ 1.45 dan 2.99 ppm	Alarif <i>et al.</i> , 2010
	4,5-dehidrodiodiktionema A [36], α-tokopherolquinon [41], & Stigmastane [24]	Menghambat protein tyrosine phosphatases (PTP 1B), IC ₅₀ 2.30; 3,85; dan 3,80 µM	Yang <i>et al.</i> , 2015
	Ekstrak etanol	Antibakteri	Singkoh, 2011
	Caulerchlorin [75]	Anti jamur MIC ₈₀ 16 µg mL ⁻¹ ,	Liu <i>et al.</i> , 2012
	Racemosins A [73] dan B [74]	Neuroprotective	Liu <i>et al.</i> , 2013
	Caulerprenylols A [84] and B [85]	Antijamur <i>C. glabrata</i> , <i>T. rubrum</i> dan <i>C. neoformans</i> MIC ₈₀ 4-64 µg/mL	Liu AH, <i>et al.</i> , 2013
	Polisakarida sulfat	Antitumor	Ji <i>et al.</i> , 2008
		Antivirus (HSV-1) dan (HSV-2) EC ₅₀ , .2–4,2 µg/mL	Ghosh <i>et al.</i> , 2004
<i>Caulerpa spp.</i>	Caulerpenyne [62]	Antibakteri <i>Vibrio sp.</i> dan Antijamur <i>Leptosphaeria sp.</i> <i>Lulworthia sp.</i> hambat > 2 mm	Paul & Fenical 1986
<i>C. mexicana</i>	Ekstak metanol	Anti-inflammatory	Bitencourt <i>et al.</i> , 2015
<i>C. sertularoides</i>	Ekstrak metanol	Antioksidan	Santoso <i>et al.</i> , 2004
<i>C. prolifera</i>	Caulerpenyne [62]	antibakteri dan antitumor	Sfecci <i>et al.</i> , 2017

D. Uji Bioaktivitas (*Bioassay*)

Uji bioaktivitas adalah uji yang umum digunakan untuk mengukur dan menentukan tingkat toksisitas atau tingkat kematian yang disebabkan oleh suatu bahan uji (ekstrak atau senyawa kimia) terhadap organisme patogen. Uji bioaktivitas bertujuan untuk memberikan informasi tentang efek biologis suatu bahan uji, memastikan kualitas, keamanan dan kemanjuran suatu bahan, serta pemanfaatannya secara berkelanjutan. Uji bioaktivitas juga digunakan dalam menelusuri potensi bahan yang diuji sebagai produk biofarmasi dan produk industri. Oleh karena itu, metode uji bioaktivitas yang digunakan harus dapat diandalkan, terstandarisasi, dan relevan berdasarkan standar internasional. Uji bioaktivitas diberlakukan atas tinjauan stimulus dan respon terhadap subjek. Stimulus merupakan perlakuan yang diberikan pada subyek seperti terhadap mikroorganisme dan hewan yang besarnya dinyatakan sebagai dosis. Sedangkan respon adalah aktivitas teramati yang dapat berupa tingkah laku atau jumlah kematian subyek dari akibat dosis yang diberikan.

Uji bioaktivitas dapat dilakukan secara *in vitro* dan *in vivo*. Pada uji *in vitro*, bagian organisme hidup (sel atau jaringan) diperlakukan dan dipelajari dari luar organisme hidup menggunakan wadah seperti cawan petri, tabung reaksi, atau peralatan gelas dan peralatan laboratorium lainnya, sedangkan uji *in vivo* dilakukan dalam tubuh organisme hidup. Banyak cara dapat dilakukan dalam uji bioaktivitas diantaranya uji untuk melihat efek antibakteri secara *in vitro*, uji sitotoksitas antikanker dengan metode MTT, dan uji toksisitas BSLT.

1. Uji antibakteri

Bakteri patogen yang telah miliar tahun beradaptasi dengan lingkungan diketahui akan terus mengembangkan resistensi terhadap obat antibakteri yang tersedia melalui mutasi baru atau pertukaran informasi genetik. Penggunaan obat antibakteri secara bijaksana sesuai dengan dosis dan durasi yang tepat dan penanganan dan pengendalian klinis penyebaran bakteri resisten adalah cara penting untuk mengurangi munculnya resistensi. Selain daripada itu, dibutuhkan agen antibakteri baru seperti senyawa kimia antibakteri dengan mekanisme kerja yang berbeda.

Senyawa kimia antibakteri umumnya bekerja dengan mekanisme dari salah satu dari empat mekanisme kerja antibakteri yaitu; 1) melalui gangguan pada sintesis dinding sel, 2) melalui penghambatan sintesis protein, 3) melalui gangguan pada sintesis asam nukleat, dan 4) melalui penghambatan jalur metabolisme dan gangguan struktur membran bakteri dengan pelepasan lipopolisakarida, distabilisasi gaya gerak proton dengan kebocoran ion, dan penghambatan sintesis enzim (Sara Burt, 2004; Tenover, 2006; Vadana P, *et al* 2015).

Mencari agen antibakteri baru pada ekstrak tumbuhan masih tetap diperlukan karena tumbuhan selalu mengkondisikan diri dengan lingkungannya dalam metabolismenya dan menghasilkan senyawa kimia sebagai pertahanan melawan organisme patogen seperti bakteri. Mekanisme uji diperlukan usaha untuk sampai pada uji *in vivo* untuk memastikan bahwa antimikroba yang aktif itu tidak beracun terhadap sel tujuan pengobatan (Barbieri *et al.*, 2017).

Metode skrining dalam menemukan agen antibakteri yang banyak dilakukan saat ini ada dua yaitu metode difusi dan dilusi. Metode difusi cakram secara tersendiri sebagai sarana untuk menentukan aktivitas antibakteri dari tanaman obat saat ini direkomendasikan untuk dihindari. Metode tersebut tidak lagi merupakan metode yang umum digunakan, tetapi ketika digunakan harus disertai dengan pengujian MIC. Metode MIC tetap menjadi metode pilihan beberapa tahun terakhir ini. Metode uji dengan dilusi dan bio-autography adalah dua metode yang juga masih banyak dilakukan. Dari metode tersebut di atas, data aktivitas antibakteri kebanyakannya diukur, ditetapkan dan dikategorikan dari nilai MIC. Ekstrak tanaman obat dikategorikan aktif antibakteri jika nilai MIC $\leq 160 \mu\text{g/mL}$, minyak esensial $\leq 1000 \mu\text{g/ml}$ dan untuk senyawa murni $\leq 16 \mu\text{g/mL}$ (van Vuuren & Holl, 2017). Daya hambat bakteri dikategorikan dibagi atas: sangat kuat (zona bening $> 20 \text{ mm}$), kuat (zona bening $10 - 20 \text{ mm}$), sedang (zona bening $5 - 10 \text{ mm}$), dan lemah ($< 5 \text{ mm}$) (Davis dan Stout 1971).

2. Uji antikanker dan uji sitotoksik

Zat antikanker adalah senyawa kimia yang dapat membunuh atau mencegah terbentuknya sel kanker. Sel kanker adalah sel-sel yang telah kehilangan daya aturnya dan dapat membelah diri walaupun tidak diperlukan dalam tubuh. Hasil pembelahan menghasilkan sel-sel baru yang berlebihan yang sama dengan sifat induknya (sel sakit) yang tidak memiliki daya atur dan dapat membelah secara takterkontrol pada organisme multiseluler. Awal terbentuknya sel kanker diketahui dipicu oleh tujuh

mekanisme penyebab yaitu; kerusakan DNA, modifikasi epigenetik, perubahan metabolisme, peradangan kronis, interaksi molekul yang menyimpang, penghambatan pada apoptosis, dan *cross-talk* seluler dari jaringan berbeda (Mathews S. *et al.* 2021).

Senyawa kimia yang memiliki sifat antikanker dapat diketahui melalui pengujian secara *in vitro*. Atas dasar ini dapat dilanjutkan pada uji *invivo* sampai pada uji klinis untuk kemudian ditetapkan sebagai obat kanker. Obat kanker yang baik harus memiliki mekanisme kerja yang mampu menekan inisiasi, perkembangan, penyebaran metastasis, dan kekambuhan kanker. Senyawa dari bahan alam banyak diketahui dapat menargetkan satu atau lebih mekanisme ini (Mathews S. *et al.* 2021).

Senyawa kimia antikanker dapat diklasifikasikan menurut strukturnya dan mekanisme kerjanya yang dihubungkan dengan aktivitas sitotoksik dengan siklus sel. Salah satu mekanisme kerja anti kanker yang diketahui adalah sebagai pengalkilasi dan senyawa yang setara dengan nukleosida yang mempengaruhi DNA dan metabolisme protein sehingga mampu menghambat polimerisasi dan depolimerisasi pada mikrotubulus. Pengalkilasi dicirikan secara kimia oleh kemampuan untuk bereaksi secara kovalen di bawah kondisi fisiologis dengan banyak konstituen sel termasuk enzim, struktur protein, dan asam nukleat. Agen alkilasi memiliki gugus alkil (CH_2^+) yang dapat berinteraksi dengan molekul yang mengandung pusat bermuatan negatif terutama gugus tiol (SH) pada asam amino, enzim dan protein. Sifat alkilasi ini dapat bereaksi dengan nukleofil pada basa DNA sehingga terjadi substitusi membentuk ikatan kovalen dengan agen

pengalkilasi (Calman K.C et al 1980). Zat antikanker yang lainnya adalah punya kemampuan memutus satu atau dua rantai DNA yang menghambat replikasi DNA. Contoh senyawa ini adalah calicheamicin γ_1 , yang membentuk sistem enadiuna pada rantai DNA. Zat antikanker juga dapat berupa senyawa yang dapat menghambat depolimerisasi atau repolimerisasi dari mikrotubulus yang kemudian akan menghambat pembelahan sel, zat seperti ini sangat berguna untuk pengobatan penyakit kanker. Contoh senyawanya adalah vincristine, obat anti kanker yang menghambat polimerisasi mikrotubulus, kemudian taxol yang menghambat depolimerisasi mikrotubulus (Maulidiyah, 2011)

Uji antikanker biasa disebut uji sitotoksitas dimana evaluasi uji biologi ini adalah bagian dari uji kategori skrining yang menggunakan sel-sel jaringan secara *in vitro*. Pada uji ini, diamati pertumbuhan sel, reproduksi oleh adanya efek morfologis bahan obat yang diuji. Nilai toksisitas merupakan indikator terpenting dari sistem evaluasi biologi *in vitro* dan metode untuk mengevaluasinya terus dikembangkan dan ditingkatkan yang bertujuan untuk deteksi sensor yang memungkinkan penilaian secara tepat (Li W *et al.*, 2015). Metode uji sitotoksitas sebaiknya sederhana, cepat, memiliki sensitivitas tinggi dan aman. Salah satu jenis uji sitotoksitas adalah dengan pengukuran kinerja dehidrogenase mitokondria yang juga dikenal sebagai uji MTT. Metode ini banyak dipilih karena pengukurannya cepat dan proliferasi sel dapat diukur melalui alat kolorimeter.

Prinsip MTT assay adalah enzim *dehidrogenase* dalam mitokondria pada sel hidup dapat mereduksi MTT yang berwarna kuning yang larut

dalam air menghasilkan formazan (kristal berwarna ungu). Formazan adalah zat yang larut dalam DMSO dan pelarut organik lainnya, tetapi tidak larut dalam air. Jumlah kristal formazan yang terbentuk berkorelasi positif dengan jumlah aktivitas sel, dan pengukuran nilai absorbansi pada kalorometri (densitas optik) mencerminkan jumlah aktivitas metabolit sel yang bertahan hidup. Senyawa MTT yang telah direduksi oleh sel menjadi endapan formazan yang berwarna ungu diukur absorbansi menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 570 nm dengan sensitivitas deteksi sekitar 1.000 sel (Riss *et al.*, 2011; Li *et al.*, 2015).

Parameter dalam uji sitotoksik adalah IC_{50} , nilai konsentrasi yang menunjukkan hambatan proliferasi sel 50% dan sebanding dengan potensi ketoksikan terhadap sel. Persentase sel yang hidup dihitung dan ditentukan dengan menggunakan persamaan berikut;

$$\% \text{ sel hidup} = \frac{(\text{absorbansi perlakuan} - \text{absorbansi kontrol})}{\text{absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

Data konsentrasi dan persentase sel hidup dibuat grafik persamaan regresi linear antara log konsentrasi dengan prosentase sel hidup. Parameter kemiringan (r) pada persamaan regresi jika lebih besar dari r tabel maka persamaan regresi linier memenuhi standar untuk mencari IC_{50} . Dengan masukan nilai $y = 50\%$ pada persamaan regresi dapat dihitung nilai IC_{50} . Metode ini dapat digunakan untuk uji antikanker terhadap sel kanker seperti sel Hela (Soltan-Dallal *et al.*, 2017). Tingkat aktivitas sifat antikanker berdasarkan rekomendasi dari ACI dikategorikan sebagaiberikut; untuk ekstrak tanaman dikatakan aktif jika nilai $IC_{50} \leq 30 \mu\text{g/mL}$ dan untuk

senyawa kimia murni $IC_{50} \leq 4 \mu\text{g/mL}$ (Guedes *et al.* 2013). Aktivitas antikanker dari senyawa murni juga dikategorikan sangat aktif jika $IC_{50} < 1 \mu\text{M}$, aktif jika $IC_{50} 1\text{-}20 \mu\text{M}$, moderat jika $IC_{50} 20\text{-}100 \mu\text{M}$, lemah jika $IC_{50} 1001\text{-}200 \mu\text{M}$, dan tidak aktif jika $IC_{50} > 200 \mu\text{M}$ (Indrayanto, G., *et al.*, 2021)

3. Uji toksisitas metode BSLT

BSLT adalah salah satu metode uji bioaktivitas yang masih digunakan saat ini. Metode ini dipercaya karena menunjukkan korelasi terhadap uji spesifik anti tumor dan antikanker (Anderson *et al.*, 1991). Metode ini juga dikenal dengan uji toksisitas yang umum digunakan pada tahapan awal dalam menelusuri senyawa bioaktif atau toksik. Pada uji ini, digunakan larva udang *A. salina* Leach. yang sengaja ditetaskan dalam medium buatan. Metode ini cukup sederhana, mudah dilakukan dan waktu pengujian relative singkat, serta biaya yang rendah. Keuntungan lain dari metode ini adalah sampel yang digunakan relatif kecil yaitu 1-10 mg. Hasil pengukuran aktivitas toksik untuk ekstrak tumbuhan di kategorikan toksik jika nilai $LC_{50} \leq 1000 \mu\text{g/mL}$ dan untuk senyawa murni dikategorikan toksik jika $LC_{50} \leq 30 \mu\text{g/mL}$ (Meyer *et al.*, 1992).

E. Kerangka Pikir dan Hipotesis

1. Kerangka Pikir

Makroalga genus *Halimeda* dan *Caulerpa* memiliki kemampuan bertahan hidup dengan mengembangkan mekanisme pertahanan diri melalui mekanisme respon kimia menghasilkan senyawa kimia bioaktif

sebagai pertahanan diri (*chemical defense*). Mekanisme tersebut diketahui dipicu oleh lingkungan dengan berbagai jenis bakteri, predator, dan organisme patogen lainnya. Senyawa kimia yang dihasilkan sebagai zat racun digunakan untuk mengusir predator. Perbedaan habitat dan keberagaman jenis predator memberi pengaruh terhadap biosintesis senyawa turunan metabolit sekunder keduanya.

Makroalga *halimeda* dan *caulerpa* di Teluk Bone Sulawesi Selatan belum pernah diteliti khususnya senyawa kimia metabolit sekunder dan bioaktivitasnya. Keduanya memiliki keanekaragaman spesies yang tinggi dibandingkan dengan makroalga hijau lainnya. Tumbuh di dasar laut dan berinteraksi dengan banyak jenis bakteri, predator, dan organisme patogen lainnya. Adanya perbedaan lingkungan termasuk perbedaan jenis bakteri dan organisme patogen, maka keduanya dipastikan menghasilkan *chemical defense* sebagai senyawa metabolit sekunder bioaktif dengan struktur molekul yang berbeda. Pada keduanya dapat ditemukan senyawa baru atau turunan dari senyawa yang telah diketahui yang bersifat bioaktif.

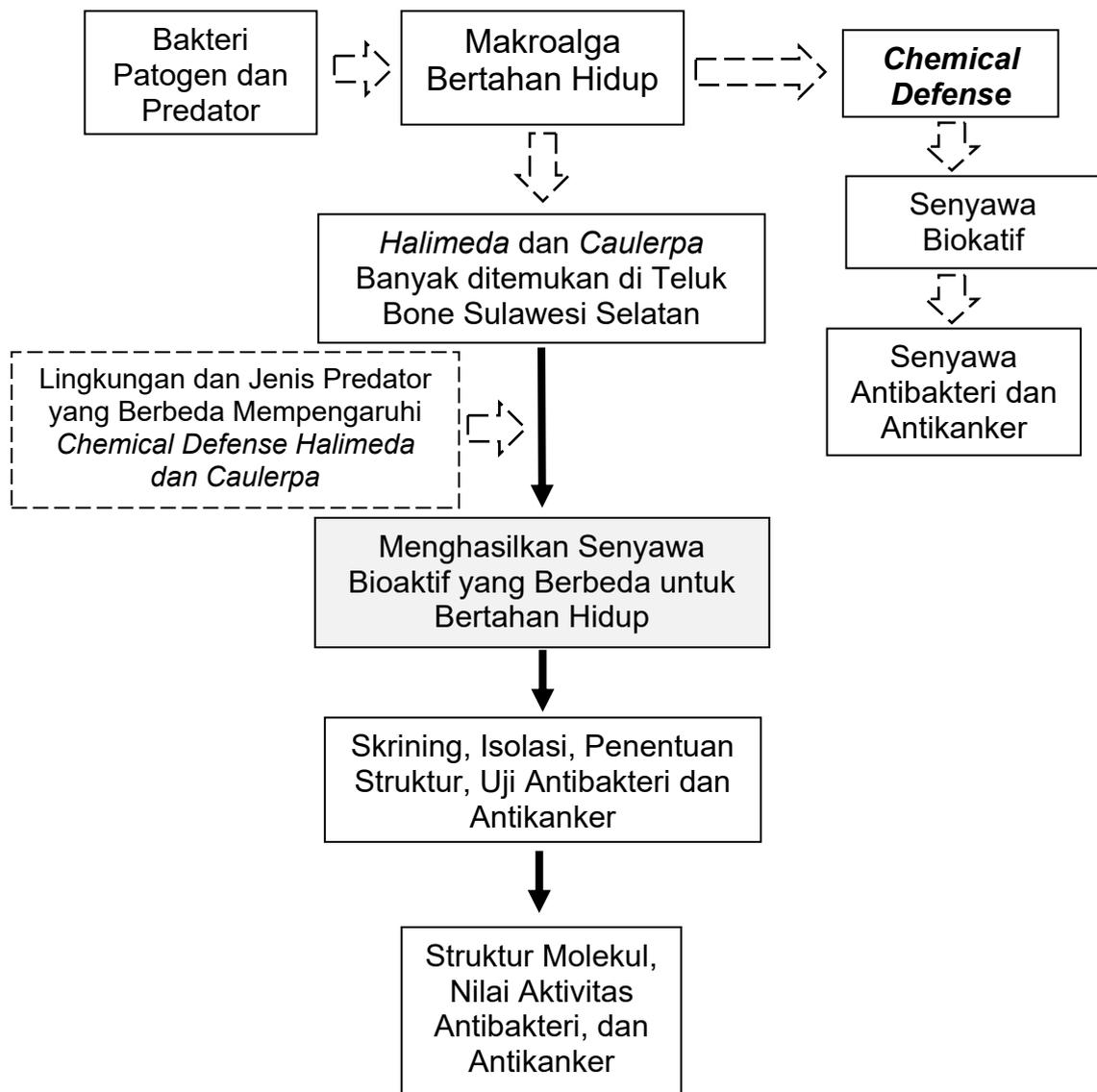
Chemical defense yang dihasilkan oleh *Halimeda* adalah senyawa diterpenoid yang diketahui sebagai zat racun yang memiliki sifat sitotoksik dan sifat antibakteri. *C. lentillifera* yang dipercaya berkhasiat sebagai antibakteri dan antikanker oleh penduduk daerah Okinawa Jepang diketahui menghasilkan culerpenyne senyawa terpenoid 1,4-diasetoksi-1,3-butadiena moitas dan alkaloid culerpin dengan bioaktivitas yang tinggi. Melalui metode standar dalam isolasi senyawa kimia bahan alam, penentuan struktur, dan ujibioaktivitas akan dapat diisolasi dan ditentukan

struktur molekul senyawa kimia antibakteri dan antikanker pada makroalga *Halimeda cylindraceae* dan *Caulerpa lentillifera* yang ada di Teluk Bone Sulawesi Selatan, lebih jelasnya dapat dilihat pada Gambar 5.

2. Hipotesis

Berdasarkan latar belakang, tinjauan pustakan, serta kerangka pikir, maka dirumuskan hipotesis sebagai berikut;

1. ekstrak *H. cylindraceae* Decaisne dan Ekstrak *C. racemose* (Forscal) J. Agardh yang diperoleh dari teluk Bone aktif terhadap bakteri dan toksik terhadap *A. salina* Leach.
2. *H. cylindraceae* Decaisne dan *C. racemose* (Forscal) J. Agardh. di Teluk Bone menghasilkan senyawa terpenoid dan alkaloid dengan struktur molekul yang berbeda dari yang ditemukan sebelumnya,
3. Senyawa yang diperoleh dari *H. cylindraceae* Decaisne dan *C. racemosa* (Forscal) J. Agardh berpotensi antibakteri dan antikanker.



Gambar 5. Bagan kerangka pikir