

**UJI FITOKIMIA, SITOTOKSIK, DAN
ANTIKANKER EKSTRAK MAKROALGA
Caulerpa racemosa (Forsskal)
J.Agardh. TERHADAP SEL HELA**

Muharram¹, Iwan Dini², Nita Magfirah Ilyas³
Chemistry, Universitas Negeri Makassar, Indonesia
Email: iwandini@unm.ac.id¹

Abstrak. Penelitian ini bertujuan untuk menguji kandungan fitokimia dan sifat sitotoksik potensi antikanker dari berbagai ekstrak *C. racemosa* (Forsskal) J. Agardh. Metode yang digunakan meliputi; ekstrak *C. racemosa* (Forsskal) J. Agardh. diperoleh dengan cara maserasi dengan pelarut organik (n-heksana, etil asetat, aseton, dan etanol). Aktivitas sitotoksik dievaluasi dengan metode BSLT, dan selanjutnya terhadap sel kanker, yaitu sel Hela. Hasil penelitian menunjukkan bahwa Ekstrak n-heksana, etil asetat, aseton, dan etanol makroalga *C. racemosa* (Forsskal) J. Agardh toksik terhadap *Artemia salina* Leach. dengan kategori ekstrak heksan sangat toksik dan hanya kategori toksik dengan nilai LC₅₀ berturut-turut 31,62; 46,77; 69,18; dan 389,05 µg/mL. Aktivitas terhadap sel kanker uji yaitu sel kanker Hela, ekstrak etil asetat dan aseton tergolong aktif dengan IC₅₀ 19,97 dan 19,60 µg/mL. Hasil penelitian menunjukkan potensi ekstrak untuk dikembangkan menjadi salah satu sumber fitofarmaka antikanker.

Kata kunci: *Caulerpa*, antikanker, sitotoksik

**INDONESIAN
JOURNAL OF
FUNDAMENTAL
SCIENCES**

E-ISSN: 2621-6728

P-ISSN: 2621-671X

Submitted: June, 50th 2023

Revised: July 28th, 2023

Accepted: August, 2nd 2023



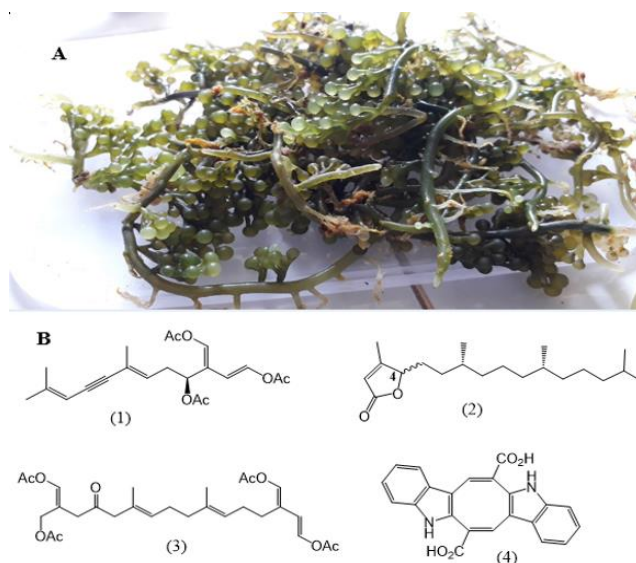
This work is licensed under a [Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)

PENDAHULUAN

Produk alami dari makroalga laut telah banyak dieksplorasi, untuk digunakan manusia sebagai makanan dan pengobatan, dimulai dengan pengetahuan tradisional. Tren terkini dalam penelitian obat-obatan dari sumber alami menunjukkan bahwa makroalga laut merupakan sumber senyawa metabolit bioaktif baru yang menjanjikan. Makroalga laut memiliki keanekaragaman spesies yang cukup tinggi, masih merupakan sumber penting metabolit sekunder baru yang bertindak sebagai pertahanan kimia dan menunjukkan potensi aktivitas antikanker dan antimikroba (Eom S H. 2012; Agriali T. 2013; Blunt J W, 2017; Alka Choudhary , dkk., 2017; Gutiérrez-Rodríguez 2018). Caulerpa merupakan salah satu genera makroalga hijau dari famili caulerpaceae, terdapat 103 spesies yang tersebar luas di perairan tropis dan subtropis Laut Mediterania (M.D. Guiry and Guiry, G.M. 2020), 29 spesies di Indonesia (Van dkk., 1996), banyak spesies yang dimanfaatkan sebagai pangan lokal (Nagappan dan Vairappan, 2014; Morris dkk., 2014), umumnya adalah *C. lentillifera* dan *C. racemosa* (Aguilar-Santos and Doty, 1968; Matanjan dkk., 2009; Putra dkk., 2013). Selain digunakan sebagai makanan, spesies Caulerpa dapat menghilangkan nutrisi dalam sistem resirkulasi produksi dan di tambak udang serta meningkatkan kualitas air tambak (Chaitanawisuti dkk., 2011; Paul dan de Nys, 2008; Hamano dkk., 2006), menunjukkan menjanjikan untuk menghilangkan hidrokarbon dari lingkungan laut (M. Pietroletti, dkk. 2010). Berdasarkan studi fitokimia, spesies dalam genera caulerpa termasuk *C. trifaria*, *C. brownii*, *C. flexilis*, *C. peltata*, *C. racemosa*, *C. taxifolia*, *C. prolifera* dan *C. lentillifera* diketahui bertahan dalam lingkungan yang kompetitif dan, oleh karena itu, mengembangkan senyawa metabolit sekunder yang beracun sebagai pertahanan kimia terhadap herbivora (Capon dkk., 1983; Paul V. dan W. Fenical, 1986), yang merupakan sumber senyawa bioaktif yang beragam. Jenis senyawa tersebut banyak yang bersifat antikanker dan antibakteri, antara lain senyawa terpenoid, caulerpenyne (1), racemobutenolids A dan B (2;3), dan senyawa alkaloid caulerpine (4) (Gambar 1B) (Fischel dkk., 1995; Ayyad S dan Badria F., 1994; Mao dkk., 2006; Vairappan C., 2014; Yang H., dkk., 2014; Yang P., dkk., 2015; Sfecci dkk., 2017). Caulerpa mengandung berbagai macam senyawa terpenoid 1,4-diacetoxybuta-1,3-dien (Blackman, dkk., 1978).

Umumnya jenis dan jumlah metabolit sekunder bioaktif yang diekskresikan alga laut sesuai dengan kematangannya dan kemampuannya berinteraksi dengan perubahan lingkungan, seperti keanekaragaman predator, radiasi, tekanan air, dan salinitas (Souza, L.A.R. dkk.. 2012; Senthilkumar, K. dkk.. 2013), sehingga diasumsikan bahwa ekskresi senyawa bioaktif dari Caulerpa dipengaruhi oleh lingkungan, sehingga berpotensi bahwa lingkungan yang berbeda menginduksi metabolit bioaktif yang berbeda dari spesies Caulerpa yang sama.

Spesies Caulerpa dari teluk Bone sama sekali belum terjangkau dengan penelitian kimia dan senyawa kimia padahal teluk Bone masuk daerah Wallacea dan salah satu dari daerah hotspot keanekaragaman hayati global (Myers dkk 200). Berdasarkan asumsi ini, dalam penelitian ini, kami ingin melaporkan hasil penelitian tentang aktivitas antibakteri, antikanker, sitotoksik, dan fitokimia makroalga hijau *C. racemosa* (Forsskal) J. Agardh., yang dikumpulkan dari Teluk Boni, Sulawesi Selatan, Indonesia. Spesies ini tumbuh di daerah dengan populasi herbivora yang signifikan tetapi belum pernah diteliti. Hasil studi pendahuluan ini dapat menjadi referensi baru dalam pencarian senyawa produk alami yang memiliki efek antikanker dan antimikroba, serta dapat mengarahkan penelitian lebih lanjut untuk menemukan struktur molekul baru yang memiliki sifat antikanker dan antibakteri dari produk alam laut khususnya. Caulerpa di Teluk Boni.



Gambar 1. *C. racemosa* (Forsskal) J. Agardh: Sample (A); Contoh struktur molekul senyawa kimia dari *Caulerpa* (B)

METODE PENELITIAN

Pengumpulan dan identifikasi sampel

C. racemosa (Forsskal) J. Agardh. (Gambar 1A), dikumpulkan dari pulau karang Teluk Boni, Sulawesi Selatan, Indonesia (4° 03' 19" S, 120° 22' 51" E). Pengambilan sampel pada pagi hari pukul 18.00 hingga 23.00, pengambilan sampel dengan tangan pada kedalaman air laut mencapai 0,5 – 1,5 meter pada berbagai kedalaman. Sampel dicuci dengan air laut dan air suling untuk membersihkan sampel dari kotoran dan disimpan dalam cool box. Spesimen jenis telah ditentukan oleh Ibu Tri Handayani, staf Pusat Penelitian Oseanografi LIPI Ancol, Indonesia, dengan nomor identifikasi B7435/IPK.2/IF.07/XI/2019

Kimia dan Instrumentasi

Pelarut organik (n-heksana, etil asetat, aseton dan etanol; kualitas murni), maserator, kertas saring Whatman, kotak pendingin, corong Buchner, pelat tetes, timbangan analitik (cheetah FA2204B), penguap putar (Hahn Shin HS-2005V-N) untuk persiapan ekstrak. DMSO, air laut, amonia, asam sulfat, FeCl₃, dengan kualitas murni, Merck, Jerman. Reagen Liebermann-Burchard, Wagner, Meyer, Dragendorff untuk uji fitokimia.

Persiapan Ekstrak

Sampel kering *C. racemosa* (Forsskal) J. Agardh., dimaserasi selama 24 jam dengan pelarut organik menggunakan n-heksana, etil asetat, aseton, dan etanol masing-masing pada suhu kamar selama 4 hari. Filtrat yang diperoleh selanjutnya disaring dan diuapkan dengan rotary evaporator (40°C, 60rpm) untuk menghasilkan ekstrak kasar. Seluruh ekstrak kasar disimpan dalam gelas kimia yang ditutup dengan aluminium foil pada suhu -200C sampai pengujian dilakukan.

Penentuan kandungan fitokimia

Uji spesifik seluruh ekstrak digunakan untuk mengetahui adanya senyawa alkaloid, flavonoid, steroid, dan terpenoid. Pengujian menggunakan reagen tertentu; Regent Wagner, pereaksi Mayer, dan pereaksi Dragendorff untuk alkaloid, pereaksi Liebermann-Burchard (LB) untuk steroid, pereaksi Salkowski untuk terpenoid, dan pereaksi FeCl₃

untuk kandungan fenolik. Semua reagen disiapkan menurut Harbone J. B. 1998 dengan sedikit modifikasi.

Uji sitotoksitas dan Antikanker

Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) terhadap larva udang *Artemia salina* digunakan untuk mengukur sitotoksitas pada nilai LC₅₀. Metode ini telah dikembangkan untuk memantau sitotoksitas dan antitumor senyawa produk alami (Meyer et al, 1982; Anderson et al., 1991). Konsentrasi serial larutan sampel yang disiapkan (31,25, 62,50, 125,00, 250,00, 500,00, dan 1000,00 µg/mL) ke dalam botol vial dari larutan stok. Sekitar 10–15 naupli ditambahkan dengan bantuan pipet Pasteur ke setiap vial yang berisi ekstrak encer. Kontrol yang mengandung 1000 µl DMSO dalam air laut dimasukkan dalam setiap percobaan (setiap percobaan dilakukan dalam rangkap tiga). 24 jam kemudian, mortalitas larva *Artemia salina* dianalisis menggunakan Analisis Probit sehingga diperoleh nilai LC₅₀.

Uji anticancer ekstrak dengan prosedur uji MTT mengacu pada SOP Pusat penelitian dan Pengembangan Stem Cell Universitas Airlangga diuraikan sebagai berikut, sel uji seperti sel hela dalam medium RPMI 1640 konsentrasi sel $1,5 \times 10^4$ sel/mL diambil 100 µL dan dimasukkan dalam plat kultur 96-well diinkubasi pada 37°C dalam inkubator CO₂ selama satu malam. Pada saat yang sama sampel uji kemudian dibuat dengan melarutkan dengan sedikit DMSO kemudian dibuat variasi konsentrasi yang dikehendaki menggunakan PBS (*Phosphate Buffer Saline*), kemudian dikocok dengan *mixer plate micro*. Setelah diinkubasi, kultur sel diambil dan diamati perkembangannya. Jika kondisi sel baik maka uji dilanjutkan dengan menambahkan sampel uji kedalam masing-masing sumur (replika 3 kali) untuk masing masing konsentrasi sampel yaitu 100, 10, dan 1, µg/mL kemudian diinkubasi kembali pada 37°C dalam inkubator CO₂ selama 24 jam. Selama inkubasi perkembangan sel diamati, jika efek sitotoksik belum teramati inkubasi dapat dilanjutkan sampai 48 jam. Setelah itu, menambahkan ke dalam masing-masing sumur 25 µL larutan MTT dan diinkubasi dalam incubator CO₂ selama 2-4 jam pada 37°C sampai Kristal formazan terbentuk jelas kemudian tambahkan reagen stopper (100 µL *Sodium dodecyl sulphate* 10% dalam 0,1 N HCl). Selanjutnya plat di bungkus aluminium foil dan diinkubasi selama 12 jam dalam tempat gelap. Setelah itu, masing-masing lubang kultur di ukur absorbansinya dengan ELISA reader pada panjang gelombang 590 nm. Persentase sel yang hidup kemudian dihitung dan ditentukan dengan menggunakan persamaan berikut;

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

Dari data dibuat grafik persamaan regresi linear log konsentrasi dengan prosentase sel hidup, nilai parameter r pada persamaan regresi linier jika lebih besar dari r tabel maka persamaan regresi linier memenuhi standar untuk mencari nilai IC₅₀. Dengan masukan nilai y = 50% pada persamaan regresi akan diperoleh IC₅₀.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini mendeskripsikan kandungan fitokimia (senyawa golongan metabolit sekunder), aktivitas sitotoksik secara in vitro ekstrak organik dari makroalga hijau *C. racemosa* (Forsskal) J. Agardh. Spesies ini dikumpulkan dari pulau karang Teluk Boni, Sulawesi Selatan, Indonesia. Pada penelitian kandungan fitokimia sebagaimana pada Tabel 1, menunjukkan bahwa ekstrak tersebut mengandung; alkaloid dominan pada ekstrak etil asetat, terpenoid/steroid dominan pada ekstrak n-heksana, dan senyawa fenolik hanya terdapat pada ekstrak etil asetat. Penelitian ini menunjukkan bahwa

kandungan fitokimia dominan *C. racemosa* (Forsskal) J. Agardh teridentifikasi sebagai alkaloid dan terpenoid. Uji ini juga membuktikan bahwa terdapat banyak jenis senyawa yang dimetabolisme oleh tumbuhan makroalga *Caulerpa* dideteksi terdapat terpenoid, steroid dan alkaloid. Membuktikan bahwa daun makroalga *Caulerpa* merupakan makroalga laut yang memetabolisme senyawa kimia yang berpotensi sebagai obat sebagai bukti ilmiah penggunaannya dimasyarakat sebagai makanan salad yang dikonsumsi. Data diatas menunjukkan adanya komponen alkaloid dan terpenoid yang cukup signifikan terkandung dalam sampel makroalga *Caulerpa*.

Tabel 1. Kandungan fitokimia ekstrak of *C. racemosa* (Forsskal) J. Agardh.

Phytochemical test	Extract				Phytochemical content
	n-hexane	Ethyl acetate	acetone	ethanol	
Wagner	+	++	++	-	Alkaloid
Mayer	-	+	-	-	Alkaloid
Dragendorff	+	++	+	-	Alkaloid
Lieberman-Burchard	++	+	-	-	Terpenoid/Steroid
(LB)	+	+	-	+	Cholesterol
Salkowski	-	+	-	-	Phenolic
FeCl ₃					

Menarik untuk dicatat bahwa kelompok senyawa metabolit sekunder yang dominan ini telah terbukti menunjukkan aktivitas biologis yang menarik. Alkaloid utama yang dilaporkan sebelumnya dari *caulerpa* adalah alkaloid bisindol diantaranya; *caulerpin racemosin C* dan *caulersin* menunjukkan aktivitas penghambatan PTP1B yang signifikan dengan nilai IC₅₀ masing-masing sebesar $5,86 \pm 0,57$ dan $7,14 \pm 1,00$ μ M (Yang H et al 2014).

Pengujian untuk mengukur potensi antikanker dari ekstrak melalui pengujian dan pengukuran letal konsentrasi atau LC₅₀ dari pengujian BSLT ekstrak *Caulerpa* dari ekstrak heksan, etilasetat, aseton dan etanol. Pengujian ini untuk melihat potensi sitotoksi ekstrak yang dapat berkorelasi dengan bioaktivitas ekstrak seperti bersifat anti kanker. Hasil uji sebagaimana pada tabel 2. Aktivitas ekstrak dari metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak, menunjukkan adanya toksisitas yang cukup tinggi bahkan ada yang toksisitasnya tergolong sangat tinggi. Sesuai dengan ketentuan bahwa untuk senyawa murni dikatakan aktif apabila nilai LC₅₀-nya di bawah atau sama dengan 200 μ g/mL (Anderson, dkk., 1991) dan 500 μ g/mL untuk ekstrak atau fraksi.

Table 2. Hasil Uji toksisitas (BSLT) ekstrak *C. racemosa* (Forsk.) J. Agardh.

Ekstrak	Toksisitas (LC ₅₀ μ g/mL)	Kategori (Meyer et al., 1982).
Heksan	31,62	Sangat toksik
Etil asetat	46,77	Toksik
Aseton	69,18	Toksik
Etanol	389,05	Toksik

Table 2. Hasil uji MTT ekstrak *C. racemose* (Forsk.) J. Agardh. terhadap sel Hela

Ekstrak	Toksisitas (IC ₅₀ µg/mL)	Kategori sifat antikanker (Indrayanto G, et all. 2021).
Heksan	303,11	Tidak Aktif
Etil asetat	19,97	Aktif
Aseton	19,60	Aktif
Etanol	23,53	Moderat

Aktivitas ekstrak awal (ekstrak n-heksan, etil asetat, aseton dan etanol) terhadap benur udang *A. salina* dengan nilai LC₅₀ masing-masing 31,62 µg/mL; 46,77 µg/mL, 69,18 µg/mL, dan 389,05 µg/mL. Hasil ini menunjukkan bahwa ekstrak n-heksan sangat toksik ekstrak etilasetat, aseton dan etanol tergolong toksik. Perbedaan nilai toksisitas atau tingkat toksisitas ekstrak disebabkan karena adanya perbedaan kandungan kimia pada ekstrak. Perbedaan ini terjadi karena jenis pengestrak yang digunakan berbeda sesuai dengan teori bahwa senyawa itu larut pada pelarut yang sesuai dengan kepolaran pelarut yang digunakan. Hal uji ini juga mengindikasikan bahwa ekstrak *Caulerpa* kemungkinan mengandung senyawa yang bersifat bioaktif atau terdapat beberapa senyawa yang tidak aktif yang bergabung dan saling memperkuat sehingga menyebabkan fraksi tersebut aktif. Data ini juga menunjukkan adanya potensi senyawa antikanker pada makroalga *C. racemose* (Forsk.) J. Agardh. yang tumbuh di perairan teluk Bone.

Untuk membuktikan sifat bioaktif dari ekstrak dilakukan uji secara invitro terhadap sel kanker yaitu sel Hela yang merupakan sel kanker penyebab kanker yang terbanyak diderita oleh Perempuan diseluruh dunia. Selain itu, sel ini juga dapat dikembangkan atau dikultur dalam media, mudah dikontrol. Dengan menggunakan larutan tetrazolium yang kemudian melalui reaksi reduksi oleh sel berubah menjadi orange yang dapat diukur dengan spektroskopi. Konsentrasi formazan sebanding dengan jumlah sel hidup. Persentase kematian sel dihitung dari jumlah sel yang hidup yang ditruskan pada nilai probit yang diplot terhadap variasi konsentrasi larutan uji untuk menghitung konsentrasi inhibisi atau IC₅₀. Hubungan yang linear antara konsentrasi ekstrak dengan rata rata % sel hidup diperoleh nilai kemiringan yang dan persamaan yang dapat ditentukan nilai IC₅₀ yang merupakan parameter ketoksikan ekstrak. Hasil uji pada Tabel 3 menunjukkan bahwa ekstrak dengan pelarut etilasetat dan aseton dari *C. racemose* (Forsk.) J. Agardh tergolong aktif terhadap sel Hela sesuai kategori (Indriyanto g., et all., 2021) yang artinya ekstrak ini punya potensi aktif sebagai antikanker khususnya terhadap sel Hela.

Dari hasil pengujian sebelumnya dari uji fitokimia Table 1 menunjukan bahwa kedua ekstrak dominan positif mengandung alkaloid. Hasil penelitian sebelumnya telah mengungkap bahwaterdapat senyawa utama dari alkaloid indol yang dimetabolisme oleh *Caulerpa*. Senyawa ini adalah senyawa caulerpin. Caulerpin telah dilaporkan dengan berbagai aktivitas antikankerseperti terhadap kanker payudara SK-BR-3, kanker paru-paru A549, kanker usus besar HT29, kanker serviks HeLa, leukemia K562 dan kanker hati Huh7 dengan nilai sitotoksitas IC₅₀ masing-masing 3,71, 4,20, 4,04, 1,95, 4,67 dan 0,72 µM (Li H. et al., 2018), anti-proliferasi sel kanker HCT-116 dan HT-29 (Yu H. et al., 2017), dan aktif terhadap sel kanker NCL-H460 (Dini, I., et al., 2021).

KESIMPULAN

Ekstrak makroalga *C. racemose* (Forskal) J. Agardh. yang diperoleh dari teluk Bone menunjukkan adanya kandungan senyawa kimia metabolit sekunder yang menarik dari golongan terpenoit dan alkaloid. Ekstrak memiliki efektoksi terhadap benur *Arthemisa salaina* Leach. dengan kategori ekstrak heksan sangat toksik dan hanya kategori toksik dengan nilai LC_{50} berturut-turut 31,62; 46,77; 69,18; dan 389,05 $\mu\text{g/mL}$. Dan uji ekstrak terhadap sel kanker Hela juga menunjukkan bahwa ekstrak etilasetat dan aseton tergolong aktif dengan IC_{50} 19,97 dan 19,60 $\mu\text{g/mL}$. Hasil penelitian menunjukkan adanya potensi besar ekstrak dari makroalga *C. racemose* (Forskal) J. Agardh. untuk dikembangkan menjadi salah satu sumber fitofarmaka antikanker.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kepada FMIPA UNM dan LP2M Universitas Negeri Makassar atas dana penelitian PNPB tahun anggaran 2023

DAFTAR PUSTAKA

- Agriali T, Grevo S G, Billy Wagey. Biodiversitas alga makro di lagun pulau Pasige, kecamatan Tagulandang, kabupaten Sitaro. *Pesisir dan Laut Tropis* 2013;2:35
- Aguilar-Santos, G., Doty, M.S., 1968. Caulerpa as food in the Philippines. *PhilippineAgricult.* 52, 477–482.
- Ayyad S and Badria F. Caulerpine: An antitumor indole alkaloid from *Caulerpa racemosa*. *Alex. J. Pharm. Sci.* (1994) 8: 217-219.
- Blackman, A. J.; Wells, R. In *Flexilin and trifarin, terpene 1,4-diacetoxybuta-1,3-dienes from two CAULERPA species (chlorophyta)*, *Tetrahedron Letters* 1978, 33, 3063 - 3064..
- Benzekri, R.; Bouslama, L.; Papetti, A.; Snoussi, M.; Benslimene, I.; Hamami, M.; Limam, F., Isolation and identification of an antibacterial compound from *Diplotaxis harra* (Forssk.) Boiss. *Industrial Crops and Products* 2016, 80, 228-234.
- Blunt J W, Copp B R, Keyzers R A, Munro M H G and Prinsep M R., *Marine Natural Report. Natural product reports* 2017;34:235
- Capon RJ, Ghisalberti EL and Jefferies PR. Metabolites of the green algae, *Caulerpa* species. *Phytochem.* (1983) 22: 1465-1467.
- Choudhary, A.; Naughton, L.M.; Montánchez, I.; Dobson, A.D.W.; Rai, D.K. Current Status and Future Prospects of Marine Natural Products (MNPs) as Antimicrobials. *Mar. Drugs* 2017, 15, 272.
- Chaitanawisuti, N., Santhaweesuk, W., Kritsanapuntu, S., 2011. Performance of theseaweeds *Gracilaria salicornia* and *Caulerpa lentillifera* as biofilters in a hatcheryscale recirculating aquaculture system for juvenile spotted babylons (*Babyloniaareolata*). *Aquacult. Int.* 19, 1139–1150.
- Dini, I.; Soekamto, N.H.; Supratman, F.U.; Latip, J. Alkaloid Caulerpin and Cytotoxic Activity against NCL-H460 Lung Cancer Cells Isolated along with β -sitosterol from the *Halimeda cylindracea* Decaisne. *Sains Malays.* **2021**, 50, 2663–2674.
- Eom SH, Kim YM, Kim SK. Antimicrobial effect of phlorotannins from marine brown algae. *Food Chem Toxicol.* 2012;50(9):3251-3255. doi:10.1016/j.fct.2012.06.028
- Fischel, J.L., Lemee, R., Formento, P., Caldani, C., Moll, J.L., Pesando, D., Meinesz, A., Grelier, P., Pietra, P., Guerriero, A., 1995. Cell-growth-inhibitory effects of caulerpenyne, a sesquiterpenoid from the marine alga *Caulerpa taxifolia*. *Anti-cancer Res.* 15, 2155–2160.

- Guiry, M.D. & Guiry, G.M. 2020. *AlgaeBase*. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. <https://www.algaebase.org>; searched on 12 September 2020.
- Gutiérrez-Rodríguez, A. G.; Juárez-Portilla, C.; Olivares-Bañuelos, T.; Zepeda, R. C., Anticancer activity of seaweeds. *Drug Discovery Today* 2018, 23 (2), 434-447.
- Harborne JB. *Phytochemical methods. A guide to modern techniques of plant analysis* 2nd.Ed. New York: Chapman and Hall.Ltd., p.37-141;1984.
- Hamano, K., Tsutsui, I., Srisapoome, P., 2006. The use of seaweed for improving water quality in brackish water shrimp farming ponds and effects on shrimp health. JIRCAS Working Report, 41-44.
- Morris, C., Bala, S., South, G.R., Lako, J., Lober, M., Simos, T., 2014. Supply chain and marketing of sea grapes, *Caulerpa racemosa* (Forsskål) J. Agardh (Chlorophyta: Caulerpaceae) in Fiji, Samoa and Tonga. *J. Appl. Phycol.* 26, 783-789.
- Matanjan, P., Mohamed, S., Mustapha, N., Muhammad, K., 2009. Nutrient content of tropical edible seaweeds, *Eucheuma cottonii*, *Caulerpa lentillifera* and *Sargassum polycystum*. *J. Appl. Phycol.* 21, 75-80.
- Mao, S.-C.; Guo, Y.-W.; Shen, X., Two novel aromatic valerenane-type sesquiterpenes from the Chinese green alga *Caulerpa taxifolia*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 2006, 16 (11), 2947-2950.
- Nagappan, T.; Vairappan, C. S., Nutritional and bioactive properties of three edible species of green algae, genus *Caulerpa* (Caulerpaceae). *Journal of Applied Phycology* 2014, 26 (2), 1019-1027.
- Putra, N.S.S.U., Laping, I., Rimmer, M.A., Raharjo, S., 2013. *Caulerpa* culture in South Sulawesi –an alternative for brackish water pond culture. *Aquacult. Asia-Pac.* Singapore, 44-45.
- Ouchari, L.; Boukeskase, A.; Bouizgarne, B.; Ouhdouch, Y., Antimicrobial potential of actinomycetes isolated from the unexplored hot Merzouga desert and their taxonomic diversity. *Biol Open* 2019, 8 (2), bio035410.
- Paul, N.A., de Nys, R., 2008. Promise and pitfalls of locally abundant seaweeds as biofilters for integrated aquaculture. *Aquaculture* 281, 49-55.
- Pietroletti, M.; Capobianchi, A.; Ragosta, E.; Mecozzi, M., Preliminary evaluation of hydrocarbon removal power of *Caulerpa racemosa* in seawater by means of infrared and visible spectroscopic measurements. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 2010, 77 (3), 673-679.
- Paul, V.; Fenical, W., Chemical defense in tropical green algae, order Caulerpaceae. *Marine Ecology-progress Series - MAR ECOL-PROGR SER* 1986, 34, 157-169.
- Paul, V.; Fenical, W., Chemical defense in tropical green algae, order Caulerpaceae. *Marine Ecology-progress Series - MAR ECOL-PROGR SER* 1986, 34, 157-169.
- Pietroletti, M.; Capobianchi, A.; Ragosta, E.; Mecozzi, M., Preliminary evaluation of hydrocarbon removal power of *Caulerpa racemosa* in seawater by means of infrared and visible spectroscopic measurements. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 2010, 77 (3), 673-679.
- Prud'Homme Van Reine, W. F.; Verheij, E.; Coppejans, E., Species and ecads of *Caulerpa* (Ulvophyceae, Chlorophyta) in Malesia (South-East Asia): Taxonomy, biogeography and biodiversity. *Netherland Journal of Aquatic Ecology* 1996, 30 (2), 83-98.
- Senthilkumar, K.; Manivasagan, P.; Venkatesan, J.; Kim, S.-K., Brown seaweed fucoidan: biological activity and apoptosis, growth signaling mechanism in cancer. *Int J Biol Macromol* 2013, 60, 366-374.

- Souza, L. A. R. d.; Dore, C. M. P. G.; Castro, A. J. G.; Azevedo, T. C. G. d.; Oliveira, M. T. B. d.; Moura, M. d. F. V.; Benevides, N. M. B.; Leite, E. L., Galactans from the red seaweed *Amansia multifida* and their effects on inflammation, angiogenesis, coagulation and cell viability. *Biomedicine & Preventive Nutrition* 2012, 2 (3), 154-162.
- Sfecci, E.; Le Quemener, C.; Lacour, T.; Massi, L.; Amade, P.; Audo, G.; Mehiri, M., Caulerpenyne from *Caulerpa taxifolia*: A comparative study between CPC and classical chromatographic techniques. *Phytochemistry Letters* 2017, 20, 406-409.
- Souza, L. A. R. d.; Dore, C. M. P. G.; Castro, A. J. G.; Azevedo, T. C. G. d.; Oliveira, M. T. B. d.; Moura, M. d. F. V.; Benevides, N. M. B.; Leite, E. L., Galactans from the red seaweed *Amansia multifida* and their effects on inflammation, angiogenesis, coagulation and cell viability. *Biomedicine & Preventive Nutrition* 2012, 2 (3), 154-162.
- Senthilkumar, K.; Manivasagan, P.; Venkatesan, J.; Kim, S.-K., Brown seaweed fucoidan: biological activity and apoptosis, growth signaling mechanism in cancer. *Int J Biol Macromol* 2013, 60, 366-374.
- Vairappan, C., Antibacterial activity of major secondary metabolites found in four species of edible green macroalgae genus *Caulerpa*. *Asian Journal of Microbiology, Biotechnology and Environmental Sciences* 2004, 6, 197-201.
- Yang, H.; Liu, D.-Q.; Liang, T.-J.; Li, J.; Liu, A.-H.; Yang, P.; Lin, K.; Yu, X.-Q.; Guo, Y.-W.; Mao, S.-C.; Wang, B., Racemosin C, a novel minor bisindole alkaloid with protein tyrosine phosphatase-1B inhibitory activity from the green alga *Caulerpa racemosa*. *Journal of Asian Natural Products Research* 2014, 16 (12), 1158-1165.
- Yang, P.; Liu, D.-Q.; Liang, T.-J.; Li, J.; Zhang, H.-Y.; Liu, A.-H.; Guo, Y.-W.; Mao, S.-C., Bioactive constituents from the green alga *Caulerpa racemosa*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 2015, 23 (1), 38-45.