

Kajian Pustaka Modifikasi Salinitas terhadap Kandungan β -Karoten Serta Aktivitas Antikanker *Dunaliella Salina*

Jihan Noer Ainun Farda & Indra Topik Maulana & Livia Syafnir

Prodi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Bandung, Bandung, Indonesia

email: jfarda49@gmail.com, indra.topik@gmail.com, livia.syafnir@gmail.com

ABSTRACT: *Dunaliella salina* is a green microalga that lives in seawater and is known as a natural source of β -carotene. Culture media is an important in the production of *D. salina* biomass. One of them is salinity which influences the production of β -carotene. This study aims to determine the effect of salinity modification on the production of β -carotene content and the anticancer activity of *Dunaliella salina*. This research is in the form of a systematic literature review, by conducting a literature search through several publishers, namely Google Scholar, Pubmed, Taylor & Francis, Research Gate and Springer and then selecting articles that match the inclusion criteria, a total of 5 articles obtained at the main library then analyzed the data. The results showed that there was a significant effect of salt concentration in culture media on increasing *Dunaliella salina* β -carotene production, in hypertonic media cells would experience osmotic pressure and encourage cells to produce β -carotene as a form of self-defense. However, because of the increase in salt can reduce cell growth. With the increased production of β -carotene content, it also increases the antioxidant and anticancer activity of *Dunaliella salina*.

Keywords: *Dunaliella salina*, salinity, β -carotene, anticancer

ABSTRAK: *Dunaliella salina* merupakan mikroalga hijau yang berhabitat di air laut serta dikenal sebagai penghasil sumber β -karoten alami. Media kultur berperan penting terhadap produksi biomassa *D. salina*. Salah satunya yaitu salinitas yang memberikan pengaruh terhadap produksi β -karoten. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh modifikasi salinitas terhadap produksi kandungan β -karoten serta aktivitas antikanker *Dunaliella salina*. Penelitian ini berupa systematic literature review, dengan melakukan penelusuran pustaka melalui beberapa publisher yaitu Google Scholar, Pubmed, Taylor & Francis, Research Gate dan Springer lalu dilakukan seleksi terhadap artikel-artikel yang sesuai dengan kriteria inklusi, total artikel yang diperoleh 5 artikel sebagai pustaka utama kemudian dianalisis datanya. Hasil penelitian menunjukkan adanya pengaruh nyata dari konsentrasi kadar garam pada media kultur terhadap peningkatan produksi β -karoten *Dunaliella salina*, pada media yang hipertonis sel akan mengalami tekanan osmotik dan mendorong sel untuk memproduksi β -karoten sebagai bentuk pertahanan diri. Namun karena adanya peningkatan garam dapat menurunkan pertumbuhan sel. Dengan meningkatnya produksi kandungan β -karoten turut meningkatkan aktivitas antioksidan serta antikanker dari *Dunaliella salina*.

Kata Kunci: *Dunaliella salina*, salinitas, β -karoten, antikanker

1 PENDAHULUAN

Dunaliella salina adalah mikroalga hijau uniseluler yang termasuk ke dalam kelas *Chlorophyta*. Spesies ini merupakan salah satu dari tiga mikroalga utama yang menghasilkan lipid, protein dan berbagai jenis pigmen dengan kandungan yang tinggi (Darvish *et al.*, 2018) dan memiliki kemampuan dalam menghasilkan karotenoid sebagai sumber antioksidan. Senyawa ini biasa dimanfaatkan dalam industri pangan, industri kosmetik dan industri farmasi, dengan kandungan karotenoid yang kompleks dan nutrisi esensial yang dikandung oleh β -karoten alami. Senyawa bioaktif lain yang terdapat dalam *Dunaliella salina* adalah fenol, sulfat polisakarida dan vitamin yang berguna untuk regulasi sel, respon kekebalan tubuh serta antioksidan

(Novianti, 2019). β -karoten merupakan senyawa antioksidan yang alami (Zainuddin, 2017). Antioksidan alami memiliki potensi besar terhadap perlindungan dari radikal bebas, penelitian menunjukkan aktivitas antioksidan dari *D. salina* dikarenakan adanya produksi karoten (Murthy *et al.*, 2005; Tran *et al.*, 2014).

Media pertumbuhan bagi mikroalga, seperti unsur nitrat dan fosfat merupakan unsur yang sangat penting dan mutlak, karena nitrogen dalam nitrat adalah makronutrien memiliki peranan penting dalam membentuk lemak, klorofil dan protein dari biomassa mikroalga (Hu and Gao, 2006). Faktor lingkungan yaitu salinitas, yang akan mempengaruhi kandungan biomassa, pertumbuhan sel dan pigmen dari *Dunaliella salina* (Zainuddin, 2017).

Berdasarkan uraian diatas, maka rumusan

masalah dalam penelitian ini adalah bagaimana pengaruh modifikasi salinitas media kultur *Dunaliella salina* terhadap kandungan β -karoten serta aktivitas antikanker. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh modifikasi salinitas media kultur *Dunaliella salina* terhadap kandungan β -karoten serta aktivitas antikanker.

2 METODOLOGI

Penelitian dilakukan dengan melakukan penelusuran pustaka melalui beberapa publisher meliputi Google Scholar, Pubmed, Taylor & Francis, Research Gate dan Springer. Pencarian artikel menggunakan kata kunci “*Dunaliella salina*”, “*salinity*”, dan “*anticancer*”. Kemudian diperoleh total artikel sebanyak 11 artikel. Setelah itu, dilanjutkan dengan menyeleksi artikel-artikel tersebut yang sesuai dengan kriteria inklusi, yakni 1). Terbit tahun 2011-2021, 2). Membahas modifikasi salinitas media kultur terhadap produksi β -karoten, 3). Membahas pengaruh salinitas terhadap aktivitas antikanker, 4). Berupa *research article*. Kemudian diperoleh 5 artikel yang sesuai dengan kriteria inklusi lalu dilakukan analisis data.

3 PEMBAHASAN DAN DISKUSI

Mikroalga merupakan organisme yang paling primitif dan memiliki ukuran yang sangat kecil atau dapat juga disebut sebagai fitoplankton serta banyak hidup di daerah perairan atau tempat yang lembab. Mikroalga mampu berfotosintesis seperti tumbuhan tingkat tinggi pada umumnya. Jenis mikroalga yang berhabitat di laut biasa disebut *marine microalgae* atau mikroalga laut, serta memiliki peran yang begitu penting dalam ekosistem sumber makanan di laut dan sebagai materi organik dalam sedimen laut yang menjadikannya sebagai salah satu komponen dasar pembentukan minyak bumi di dasar laut (*fossil fuel*) (Kawaroe, 2010).

Dunaliella salina adalah mikroalga hijau uniseluler dan bersifat halofilik yang termasuk kedalam *Chlorophyta* (Smith *et al.*, 2010). Sel-sel *Dunaliella salina* memiliki bentuk yang beragam, seperti bulat telur, elips dan pyriform (Borowitzka and Siva, 2007). Dinding sel yang tidak kaku menyebabkan volume sel lebih mudah mengalami perubahan karena tekanan osmotik dari lingkungan. Mikroalga ini dapat mengalami

penyusutan sel maupun pembengkakan sel jika berada di kondisi salinitas yang tidak sesuai (Pisal and Lele, 2005), maka cara *Dunaliella salina* mempertahankan diri dari kondisi tersebut dengan memproduksi gliserol serta karotenoid (Ramos *et al.*, 2011).

Salah satu faktor yang mempengaruhi kandungan biopigmen dalam mikroalga adalah salinitas. Salinitas berperan untuk mempertahankan tekanan osmotik pada protoplasma. Konsentrasi salinitas yang digunakan pada media kultur akan berpengaruh terhadap laju fotosintesis mikroalga. Sehingga kondisi media hiposalinitas maupun hipersalinitas mempengaruhi produksi biomassa, laju pertumbuhan dan kandungan pigmen yang diproduksi *Dunaliella salina* (Zainuddin, 2017). Berdasarkan beberapa penelitian yang telah dilakukan, *Dunaliella salina* yang dikultur pada kondisi stress (hipersalinitas) menunjukkan peningkatan produksi karotenoid, karena pembentukan pigmen karoten berguna untuk melindungi sel dari kondisi salinitas yang tinggi (Pisal and Lele, 2005). Semakin tinggi kandungan karotenoid yang ada pada ekstrak *Dunaliella salina* akan meningkatkan aktivitas antioksidan pula (Abdille *et al.*, 2005). Pada beberapa penelitian yang telah dilakukan, ekstrak *Dunaliella salina* juga memiliki aktivitas sitotoksik pada berbagai macam sel kanker (Mo *et al.*, 2012; Atasever-Arslan *et al.*, 2015).

Penelitian yang dilakukan oleh (Singh *et al.*, 2016), konsentrasi salinitas pada kulturisasi mikroalga *Dunaliella salina* berpengaruh terhadap kandungan β -karoten serta aktivitas antikanker. Pada media kultur konsentrasi salinitas 1.0 M, 3.0 M dan 3.5 M, konsentrasi KNO_3 0 mM dan 250 mM, serta temperatur bervariasi antara 15-25°C, kandungan β -karoten *Dunaliella salina* meningkat pada 3.5 M NaCl dibandingkan dengan kondisi normal (1.7 M). Pada penelitian yang dilakukan oleh (Olmos, 2015) menggunakan berbagai konsentrasi NaCl yaitu 1.0 M, 1.5 M dan 2.0 M, setelah dilakukan kulturisasi selama 15 hari diperoleh produksi β -karoten meningkat di salinitas 1.5 M NaCl. Hasil yang sama juga diperoleh melalui penelitian yang dilakukan oleh (Olmos, 2015), (Tammam, Fakhry and El-Sheekh, 2011) dan (Mo *et al.*, 2012) yang memperlihatkan peningkatan kandungan β -karoten pada konsentrasi NaCl yang tinggi. Namun untuk penelitian (Olmos, 2015) data tidak diperlihatkan

mengenai kadar β -karoten dari berbagai konsentrasi salinitas.

Hal ini menunjukkan adanya pengaruh nyata konsentrasi garam dalam kultur *Dunaliella salina* terhadap produksi β -karoten. Hasil penelitian ditunjukkan pada tabel 1.

Tabel 1. Pengaruh modifikasi salinitas media kultur *Dunaliella salina* terhadap kandungan β -karoten

No	Media Normal	Modifikasi Salinitas	Kadar β -karoten ($\mu\text{g/mL}$)	Referensi
1	1,7 M	-	3,2 (media normal)	(Singh et al., 2016)
		1,0 M	4,25	
		3,0 M	5,75	
		3,5 M	9,8	
2	1,25 M	-	2,82 (media normal)	(Tammam et al., 2011)
		0,05 M	0,3	
		0,1 M	0,4	
		0,5 M	0,35	
		1,0 M	1,5	
		2,5 M	2,9	
		3,0 M	3,0	
		3,5 M	3,2	
		4,0 M	3,98	
3	15%	-	920 (media normal)	(Mo et al., 2012)
		35%	1352	

Konsentrasi salinitas yang digunakan pada media berpengaruh terhadap produksi kandungan karotenoid, karena perbedaan konsentrasi salinitas, sel akan mengalami tekanan osmotik yang menyebabkan *Dunaliella salina* memproduksi karotenoid. Hal ini diperkirakan karena adanya ion Na^+ dan Cl^- yang dapat mengganggu keseimbangan osmotik sel dengan lingkungannya (Imron, Sudarno and Mashitah, 2016). Karena kondisi yang tidak seimbang inilah yang membuat sel harus beradaptasi dengan lingkungannya dengan cara memproduksi metabolit sekunder agar dapat bertahan hidup dari peningkatan salinitas (Setiasih, Sabdono and Pramesti, 2020).

Adanya peningkatan kadar garam yang menyebabkan kondisi media menjadi stress akan berpengaruh terhadap menurunnya laju fotosintesis, karena kondisi hipersalinitas menyebabkan pertumbuhan *Dunaliella salina* terganggu yaitu tekanan ion dan permeabilitas membran yang menyebabkan perubahan rasio ionik (Mata, Martins and Caetano, 2010). Konsentrasi garam yang tinggi akan meningkatkan konsentrasi ion eksternal, maka untuk menjaga kondisi yang setimbang, ion akan masuk ke dalam sel sedangkan air akan keluar dari sel. Kondisi ini bisa juga menyebabkan organ intraseluler, membran sel dan enzim rusak. Sementara pada konsentrasi garam yang rendah, untuk mempertahankan kondisi yang setimbang air akan masuk ke dalam sel agar konsentrasi ion

berkurang, namun apabila air masuk terlalu banyak akan menyebabkan sel mengembang kemudian rusak (Lobban and Harrison, 1987).

Peningkatan produksi karotenoid ternyata berbanding terbalik dengan laju pertumbuhan *Dunaliella salina*

Tabel 2. Pengaruh modifikasi salinitas media kultur terhadap pertumbuhan sel *Dunaliella salina*

No	Media Normal	Modifikasi Salinitas	Pertumbuhan Sel	Referensi
1	1,7	-	29×10^6 sel/mL	(Singh et al., 2016)
		3,5	13×10^6 sel/mL	
2	-	-	-	(Olmos et al., 2015)
		1,5	1×10^6 sel/mL	
3	1,5	-	$1,9 \times 10^6$ sel/mL	(Tran et al., 2013)
		0,5	$1,5 \times 10^6$ sel/mL	

Semakin tinggi salinitas dan meningkatnya produksi β -karoten maka laju pertumbuhan mikroalga semakin menurun (Ben-Amotz, Katz and Avron, 1982; Raja, Hemaiswarya and Rengasamy, 2007). Hal ini dikarenakan salinitas yang tinggi akan menghambat proses pembentukan sel yang baru (Soeder and Stengel, 1974), sebab kadar garam yang terlalu tinggi mengakibatkan kondisi media kultur bersifat hipertonis bagi sel sehingga kemampuan penyerapan nutrient oleh sel berkurang (Howe and Merchant, 1992).

β -karoten merupakan prekursor vitamin A yang berguna untuk menjaga fungsi retina. β -karoten juga memiliki kemampuan untuk melindungi kulit dengan aktivitas antioksidannya. Antioksidan digunakan untuk menetralkan ROS (*reactive oxygen species*) yang merugikan bagi manusia. ROS kerap kali dikaitkan dengan proses penuaan dini serta patogenesis beberapa penyakit, selain itu ROS juga diketahui berperan dalam pembentukan kanker (Tong et al., 2015). Karotenoid merupakan metabolit sekunder yang dihasilkan oleh *Dunaliella salina* dan berperan sebagai pertahanan diri dalam kondisi lingkungan yang abnormal. Pembentukan karotenoid dipengaruhi oleh nutrient-nutrient yang terkandung pada media kultur yang digunakan (Wahyuni, Rahardja and Azhar, 2019).

Dunaliella yang tumbuh di kondisi stress berkaitan dengan aktivitas antioksidan yang menunjukkan peningkatan aktivitas antioksidan atau meningkatnya enzim pelindung untuk mendetoksifikasi dan mencegah ROS (Tammam, Fakhry and El-Sheekh, 2011). ROS (*Reactive Oxygen Species*) merupakan kelompok melokeul

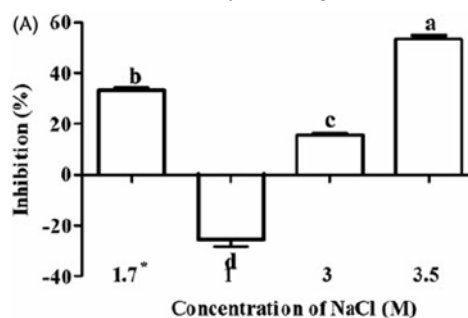
kecil reaktif yang berperan dalam regulasi fungsi sel serta proses biologis. Ketika terjadi kondisi ketidakseimbangan mekanisme oksidan dalam tubuh akan menyebabkan stress oksidatif (Kattoor *et al.*, 2017). Radikal bebas terbentuk dari proses metabolisme sel atau respon tubuh terhadap lingkungan seperti terpapar sinar ultraviolet dan polusi (Valiko *et al.*, 2006). Molekul radikal bebas mengandung satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan di orbital luar (Halliwell and Gutteridge, 2007).

Proses terjadinya kanker diawal dengan proses karsinogenesis yang dapat berlangsung selama bertahun-tahun. Karsinogenesis terjadi dalam empat tahap, yaitu inisiasi, promosi, konversi dan progresi. Dimana pada tiga tahap pertama terjadi perubahan sel normal menjadi sel kanker (Sarkar *et al.*, 2013). Pada tahap inisiasi terjadi interaksi senyawa karsinogenik dengan agen promotor secara intra ataupun ekstraseluler yang kemudian terbentuk massa tumor pada tahap promosi. Apabila tahap promosi terus berlangsung maka sel akan terus tumbuh secara tidak terkontrol, inilah tahap progresi (Irigaray and Belpomme, 2010). Sel kanker bersifat agresif dan mampu menyusup ke jaringan yang ada di sekitar kemudian merusaknya, kemudian bermetastasis (menyebarkan) ke jaringan lainnya melalui pembuluh darah dan limpa (Schneider, 2011).

Antioksidan adalah senyawa yang mampu menangkal atau meredam radikal bebas dan ROS (Halliwell and Gutteridge, 2007). Senyawa antioksidan terbukti dapat mencegah terjadinya penyakit kronis seperti jantung koroner dan kanker (Amrun., Umiyah and U, 2007).

Penelitian yang dilakukan oleh (Singh *et al.*, 2016) Ekstrak *Dunaliella salina* pada kondisi stress maupun normal menunjukkan adanya efek sitotoksik terhadap sel MCF-7 (kanker payudara), ditunjukkan pada gambar 1 efek sitotoksik yang terbaik diperoleh yang dikultur pada kondisi stress pada kondisi stress (konsentrasi NaCl 3.5 M). Hasil uji efek sitotoksik tersebut sangat relevan dengan produksi karotenoid.

Namun mungkin juga karena adanya beberapa senyawa bioaktif yang lain.

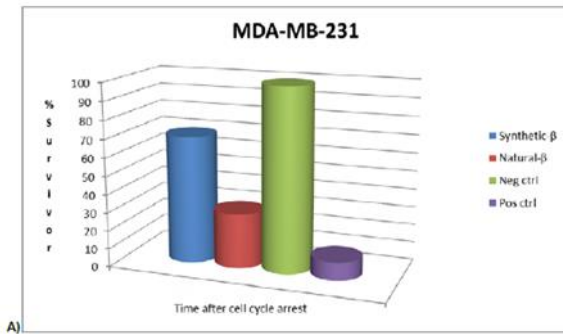


Gambar 1. Efek sitotoksik *Dunaliella salina* berdasarkan perbedaan salinitas terhadap sel MCF-7 (kanker payudara) (Singh *et al.*, 2016).

Dari penelitian (olmos, 2015) diketahui bahwa β -karoten alami yang dihasilkan oleh *Dunaliella salina* mampu menginduksi 70% kematian sel MDA-MB-231 (kanker payudara) dibandingkan dengan β -karoten sintetis yang hanya mampu membunuh 30% sel kanker berdasarkan pengujian MTT assays. β -karoten yang dihasilkan secara alamiah adalah berkonfigurasi cis yakni cis-9- β -karoten, sedangkan β -karoten hasil produksi sintetis berkonfigurasi trans yakni all trans β -karoten.

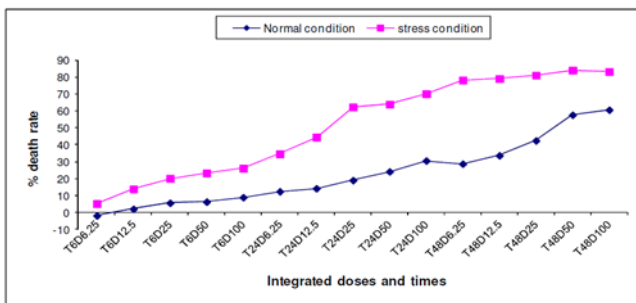
Kandungan karotenoid utama yang ada di *dunaliella salina* termasuk AT β C dan 9C β C, khususnya yang memiliki isomer 9-cis menunjukkan aktivitas antiperoksidatif yang lebih besar dari ikatan trans karena reaktivitasnya yang lebih tinggi (Tsai, Lu and Hsu, 2012). Diketahui bahwa 9C β C merupakan isomer yang dapat mempengaruhi induksi apoptosis sel MDA-MB-231. Sebagai informasi tambahan, β -karoten yang dihasilkan secara alamiah adalah berkonfigurasi cis yakni cis-9- β -karoten, sedangkan β -karoten hasil produksi sintetis berkonfigurasi trans yakni all trans β -karoten. Penelitian tersebut menunjukkan bahwa konfigurasi β -karoten sangat menentukan aktivitas farmakologinya.

Untuk itu diperlukan formula khusus bagi media kultur untuk memproduksi 9C β C pada *Dunaliella salina*, selain itu pengaruh dari waktu pemanenan β -karoten juga mempengaruhi perolehan konsentrasi 9C β C (Olmos *et al.*, 2015).



Gambar 2. Sel MDA-MB-231 (kanker payudara) yang dapat bertahan setelah diinduksi oleh β -karoten alami *Dunaliella salina* dan sintetis (Olmos *et al.*, 2015).

(Mo *et al.*, 2012), juga telah membuktikan dalam kondisi media stress dihasilkan produksi β -karoten lebih tinggi dibandingkan dengan kondisi media normal. Ekstrak etanol *Dunaliella salina* pada kondisi stress menunjukkan penurunan jumlah sel A431 yang hidup dibandingkan ekstrak *Dunaliella salina* pada kondisi normal.



Gambar 3. Perbandingan ekstrak *Dunaliella salina* kondisi normal dan stress terhadap persentase kematian sel A431 berdasarkan perbedaan waktu dan konsentrasi (Mo *et al.*, 2012).

Selama 48 jam ditemukan perbedaan yang signifikan antara ekstrak *Dunaliella salina* pada kondisi stress dan normal, dengan meningkatkan jumlah konsentrasi dari ekstrak etanol mikroalga selama 3 masa inkubasi (6, 24, 48 jam), tingkat keberlangsungan hidup sel A431 menurun.

Persentase kematian sel A431 meningkat karena pengaruh penambahan waktu inkubasi dan peningkatan berbagai konsentrasi ekstrak *Dunaliella salina*, kematian paling tinggi ditunjukkan oleh ekstrak *Dunaliella salina* pada kondisi stress yang mungkin karena kandungan β -karotennya yang tinggi (Mo *et al.*, 2012).

Persentase kematian sel A431 meningkat karena pengaruh penambahan waktu inkubasi dan

peningkatan berbagai konsentrasi ekstrak *Dunaliella salina*, kematian paling tinggi ditunjukkan oleh ekstrak *Dunaliella salina* pada kondisi stress yang mungkin karena kandungan β -karotennya yang tinggi (Mo *et al.*, 2012). Penelitian oleh (Sheu *et al.*, 2008) menunjukkan bahwa ekstrak etanol *dunaliella salina* dapat membunuh sel A549 penyebab kanker paru-paru pada manusia, dengan mengubah P21 dan protein P23 yang berperan dalam siklus regulasi sel dan menyebabkan siklus sel berhenti.

Dari sebuah penelitian mengenai leukoplakia oral yang telah dilakukan 5 uji klinis membuktikan bahwa suplemen β -karoten dapat meringankan penyakit ini (Challem, 1997). Selain itu terdapat beberapa penelitian lain terkait aktivitas antikanker dari *Dunaliella salina*, seperti pada penelitian (Sheu *et al.*, 2008) menyatakan bahwa ekstrak *Dunaliella salina* dapat menghambat sel A549 (kanker paru-paru) dengan menginduksi apoptosis serta menghentikan siklus sel. *Dunaliella salina* juga menunjukkan efek sitotoksik terhadap SH-SY5Y (sel neuroblastoma manusia) (Atasever-Arslan *et al.*, 2015). Pada pemberian serbuk liofilisasi *Dunaliella salina* dapat mengurangi pertumbuhan tumor terhadap tikus yang diinduksi kanker payudara karena serbuk liofilisasi *Dunaliella salina* dapat mengurangi stress oksidatif serta efektif dalam memodulasi aktivitas antioksidan, selain itu *Dunaliella salina* dapat mengubah tingkat reseptor hormonal, proliferasi sel dan apoptosis marker yang menunjukkan aktivitas antitumor (Srinivasan *et al.*, 2017).

Dari penelitian praklinis secara *in vitro* dan *in vivo*, menunjukkan karotenoid memiliki efek antitumor yang kuat karena potensinya dalam mencegah senyawa tersebut. Karena kemoprevensi dapat menjadi suatu langkah yang dapat dilakukan untuk mengendalikan atau mencegah pertumbuhan kanker, dengan mekanisme berbasis molekuler menggunakan karotenoid dapat menjadi pendekatan yang menarik. Adanya karotenoid diharapkan dapat menjadi suatu mekanisme yang dapat mengubah jalur pertumbuhan sel atau kematian sel, termasuk memodulasi sistem kekebalan, hormon dan faktor pertumbuhan sel, mekanisme regulasi siklus sel, diferensiasi sel dan apoptosis (Tanaka, Shnimizu and Moriwaki, 2012).

4 KESIMPULAN

Diketahui adanya peningkatan konsentrasi garam akan meningkatkan produksi kandungan β -karoten *Dunaliella salina*. Disamping itu terjadi penurunan jumlah sel, karena kondisi hipersalinitas pada media kultur menyebabkan tekanan osmotik di dalam sel sehingga sel memproduksi β -karoten sebagai pertahanan diri dari lingkungan yang abnormal dan menghambat proses pembentukan sel yang baru. Dengan meningkatnya produksi kandungan β -karoten dalam *Dunaliella salina* turut serta meningkatkan aktivitas antioksidan serta antikanker.

ACKNOWLEDGE

Alhamdulillah atas rahmat dan izin Allah SWT saya dapat menyelesaikan penelitian saya dengan baik dan lancar. Terima kasih kepada Bapak Indra Topik Maulana dan Ibu Livia Syafnir sebagai Dosen Pembimbing. Serta terima kasih kepada kedua orang tua, adik, serta teman-teman yang selalu memberikan dukungan selama ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdille, M. H. *et al.* (2005). Antioxidant Activity of The Extracts from *Dillenia indica* fruits. *Food Chemistry*, Vol.90(4): 891-896.
- Amrun., M., Umiyah, U. and U, E. U. (2007). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air dan Ekstrak Metanol Beberapa Varian Buah Kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) Dari Daerah Jember. *Berkala Penelitian Hayati*, 13(1), pp. 45–50.
- Atasever-Arslan, B. *et al.* (2015). Cytotoxic Effect of Extract From *Dunaliella salina* Against SH-SY5Y Neuroblastoma Cells. *Gen. Physiol. Biophys*, Vol.34: 201-207.
- Ben-Amotz, A., Katz, A. and Avron, M. (1982). Accumulation of beta-carotene in Halotolerant Algae: Purification and Characterization of beta-carotene-Rich Globules From *Dunaliella Bardawil* (Chlorophyceae)1. *Journal of Phycology*.
- Borowitzka, M. A. and Siva, C. J. (2007). The Taxonomy of The Genus *Dunaliella* (Chlorophyta, Dunaliellales) with Emphasis on The Marine and Halophilic Species. *Journal of Applied Phycology*. Vol 19(5): 567-590.
- Challem, J. J. (1997). Beta-carotene and Other Carotenoids: Promises, Failures, and A New Vision. *Journal of Orthomolecular Medicine*, 12(1), pp. 11–19.
- Darvish, M. *et al.* (2018). Potential Cytotoxic Effects of Peptide Fractions From *Dunaliella salina* Protein Hydrolyzed by Gastric Proteases. *Journal of Aquatic Food Product Technology*. Vol.27(2): 165–175.
- Halliwell, B. and Gutteridge, J. (2007). *The Chemistry of Free Radical and Related 'Reactive Species' in Free Radical in Biology and Medicine*. New York: Oxford University Press.
- Howe, G. and Merchant, S. (1992). Heavy Metal-Activated Synthesis of Peptides in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Plant Physiol.*
- Hu, H. and Gao, K. (2006). Response of Growth and Fatty Acid Compositions of *Nannochloropsis* sp. To Environmental Factors Under Elevated CO₂ Concentration. *Biotechnology Letters*. Vol.28(13): 987–992.
- Imron, M. A., Sudarno and Mashitah, E. D. (2016). Pengaruh Salinitas Terhadap Kandungan Lutein pada Mikroalga *Botryococcus braunii*. *Journal of marine and coastal science*. Vol.5(1).
- Irigaray, P. and Belpomme, D. (2010). Basic Properties and Molecular Mechanisms of Exogenous Chemical Carcinogens. *Carcinogenesis*, 31(2), pp. 135–148.
- Kattoor, A. J. *et al.* (2017). Oxidative Stress in Atherosclerosis. *Current Atherosclerosis Reports*, 19(11).
- Kawaroe, M. P. T. (2010). *Mikroalga Potensi dan Pemanfaatannya untuk Produksi Bio Bahan Bakar*. Bogor: IPB Press.
- Lobban, C. S. and Harrison, P. J. (1987). *Seaweed Ecology and Physiology*. Cambridge University Press.
- Mata, T. M., Martins, A. A. and Caetano, N. S. (2010). Microalgae for Biodiesel Production and Other Applications: A Review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14(1), pp. 217–232.
- Mo, E. *et al.* (2012). Anticancer Effect of *Dunaliella salina* Under Stress and Normal Conditions Against Skin Carcinoma Cell Line A431 in Vitro. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*. Vol.11(2): 283–293.

- Murthy, K. N. C. *et al.* (2005). In Vivo Antioxidant Activity of Carotenoids from *Dunaliella salina* - A Green Microalga. *Life Sciences*. Vol.76(12): 1381–1390.
- Novianti, T. (2019). Kajian Pemanfaatan Mikroalga *Dunaliella salina* sebagai Bahan Fortifikasi Pangan dengan Pendekatan Bioekonomi Kelautan. *Mangifera Edu*. Vol.3(2): 100–109.
- Olmos, J. (2015). Apoptosis Comparison Effects Between Synthetic and Natural B-Carotene from *Dunaliella salina* on MDA-MB-231 Breast Cancer Cells. *Journal of Microbial & Biochemical Technology*. Vol.7(2).
- Pisal, D. S. and Lele, S. S. (2005). Carotenoid Production from Microalga, *Dunaliella salina*. *Indian Journal of Biotechnology*. Vol.4(4): 476–483.
- Raja, R., Hemaiswarya, S. and Rengasamy, R. (2007). Exploitation of *Dunaliella* for β -carotene Production. *Applied Microbiology and Biotechnology*. Vol.74(3): 517–523.
- Ramos, A. A. *et al.* (2011). The Unicellular Green Alga *Dunaliella salina* Teod. as A Model for Abiotic Stress Tolerance: Genetic Advances and Future Perspectives. *Algae*. Vol.26(1): 3–20.
- Sarkar, S. *et al.* (2013). Cancer Development, Progression, and Therapy: An Epigenetic Overview. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(10), pp. 21087–21113.
- Schneider, K. A. (2011). *Counseling About Cancer Strategies for Genetic Counseling*. 3rd edn. New Jersey: Wiley-Blackwell.
- Setiasih, I. B., Sabdon, A. and Pramesti, R. (2020). Pengaruh Salinitas terhadap Pertumbuhan dan Aktivitas Antioksidan *Dunaliella salina* (Chlorophyceae : Dunaliellaceae). *Journal of Marine Research*. Vol.9(2): 181–185.
- Sheu, M. J. *et al.* (2008). Ethanol Extract of *Dunaliella salina* Induces Cell Cycle Arrest and Apoptosis in A549 Human Non-Small Cell Lung Cancer Cells. *In Vivo*, 22(3), pp. 369–378.
- Singh, P., Baranwal, M. and Reddy, S. M. (2016). Antioxidant and Cytotoxic Activity of Carotenes Produced by *Dunaliella salina* Under Stress. *Pharmaceutical Biology*. Vol.54(10): 2269–2275.
- Smith, D. R. *et al.* (2010). The *Dunaliella salina* Organelle Genomes: Large Sequences, Inflated with Intronic and Intergenic DNA. *BMC Plant Biology*.
- Srinivasan, R. *et al.* (2017). Oral Administration of Lyophilized *Dunaliella salina*, a Carotenoid-Rich Marine Alga, Reduces Tumor Progression in Mammary Cancer Induced Rats. *Food and Function*, 8(12), pp. 4517–4527.
- Soeder, C. and Stengel, E. (1974). Physico-chemical Factors Affecting Metabolism and Growth Rate. *Algal physiology and chemistry*.
- Tammam, A. A., Fakhry, E. M. and El-Sheekh, M. (2011). Effect of Salt Stress on Antioxidant System and The Metabolism of The Reactive Oxygen Species in *Dunaliella salina* and *Dunaliella tertiolecta*. *African Journal of Biotechnology*. Vol.10(19): 3795–3808.
- Tanaka, T., Shnimizu, M. and Moriwaki, H. (2012). Cancer Chemoprevention by Carotenoids. *Molecules*, 17(3), pp. 3202–3242.
- Tong, L. *et al.* (2015). Reactive Oxygen Species in Redox Cancer Therapy. *Cancer Letters*. Vol.367(1): 18–25.
- Tran, D. *et al.* (2014). Growth, Antioxidant Capacity and Total Carotene of *Dunaliella salina* DCCBC15 in A Low Cost Enriched Natural Seawater Medium. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. Vol.30(1): 317–322.
- Tsai, C. F., Lu, F. J. and Hsu, Y. W. (2012). Protective Effects of *Dunaliella salina* - A Carotenoids-Rich Alga - Against Ultraviolet B-induced Corneal Oxidative Damage in Mice. *Molecular Vision*. 18(June): 1540–1547.
- Valko, M. *et al.* (2006). Free radicals, Metals and Antioxidants in Oxidative Stress-Induced Cancer. *Chemico-Biological Interactions*, 160(1), pp. 1–40.
- Wahyuni, N., Rahardja, B. S. and Azhar, H. (2019). Pengaruh Pemberian Kombinasi Konsentrasi Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera*) dengan Pupuk Walne Dalam Media Kultur Terhadap Laju Pertumbuhan dan Kandungan Karotenoid *Dunaliella salina*. Vol.4(April): 37–49.

- Zainuddin, M. (2017). Aktivitas Antioksidan Biopigmen Dunaliella salina Pada Media Kultur Hiposalin dan Hipersalin. *Jurnal Enggano*. Vol.2(1): 25–38.
- Fauzi, Nur Muhammad. (2021). Uji Kualitatif dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanolik Buah Maja (*Aegle Marmelos (L.)Correa*) dengan Metode DPPH. *Jurnal Riset Farmasi*, 1(1), 1-8.