

NILAI SUN PROTECTION FACTOR ANGGUR LAUT SEGAR DENGAN METODE DAN JENIS PELARUT EKSTRAKSI YANG BERBEDA

Ayun Erwina Arifianti*, Rizky Clarinta Putri, Salsabiela Haz Ekaputri,

Wanda Nisrina Aqilah, Effionora Anwar

Fakultas Farmasi, Universitas Indonesia, Depok, Jawa Barat

*Korespondensi: ayun.arifianti@farmasi.ui.ac.id

Diterima: 2 Desember 2019/Disetujui: 15 April 2020

Cara sitasi: Arifianti AE, Putri RC, Ekaputri SH, Aqilah WN, Anwar E. 2020. *Nilai sun protection factor* anggur laut segar dengan metode dan jenis pelarut ekstraksi yang berbeda. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 23(1): 31-37.

Abstrak

Kanker kulit melanoma merupakan satu dari sembilan belas kanker yang sering terjadi di seluruh dunia. Kebutuhan akan adanya alternatif zat aktif tabir surya menjadi sangat penting terutama dari bahan alam laut yaitu anggur laut (*Caulerpa* sp.). Penelitian ini bertujuan untuk menentukan nilai SPF ekstrak cair anggur laut segar dengan metode ekstraksi yang berbeda. Metode ekstraksi dilakukan dengan dua cara yaitu maserasi dan *microwave-assisted extraction* (MAE) masing-masing dengan tiga jenis pelarut (etanol, air, dan etanol-air 1:1). Ekstrak cair yang dihasilkan diukur pH dan ditentukan nilai SPF secara invitro menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Ekstrak cair anggur laut segar dengan nilai SPF in vitro tertinggi kemudian dianalisis aktivitas antioksidannya menggunakan metode DPPH. Ekstrak cair yang dihasilkan berbau amis, dan berwarna hijau dengan intensitas warna yang berbeda. Interaksi antara perlakuan metode ekstraksi dan jenis pelarut menunjukkan perbedaan signifikan terhadap nilai pH ekstrak cair anggur laut segar. Nilai SPF dari ekstrak maserasi etanol, air, dan etanol-air berturut-turut 0,583; 3,099; 2,911 sedangkan ekstrak MAE 3,807; 5,555; 4,979. Metode MAE menunjukkan nilai SPF in vitro yang lebih tinggi secara signifikan daripada maserasi tanpa melihat perbedaan pelarut. Hasil persentase penghambatan DPPH dari ekstrak MAE dengan pelarut etanol, air, dan etanol-air pada konsentrasi 106 mg/mL berturut-turut 33,85%; 22,99%; 17,44%. Aktivitas antioksidan ekstrak etanol dengan metode ekstraksi MAE lebih tinggi daripada ekstrak dengan pelarut lainnya namun tidak lebih tinggi dibandingkan dengan asam askorbat sebagai pembanding.

Kata kunci: anggur laut, karakterisasi, maserasi, microwave-assisted extraction, sun protection factor

SPF Value of Fresh Sea Grape Extract from Different Solvent and Method of Extraction

Abstract

Skin cancer melanoma is one of the nineteen most prevalent cancers in the world. The needs of skin protecting active ingredients in sunscreen is still high, particularly from marine materials such as sea grapes (*Caulerpa* sp.). This research was aimed to develop a method that could obtain extract with high in vitro SPF value and antioxidant activity. Two extraction methods (maceration and microwave-assisted extraction) with three different solvents (ethanol, distilled water [DW], and ethanol-DW 1:1) were evaluated. The in vitro SPF value was measured using spectrophotometer UV-Vis, while the antioxidant activity was determined using DPPH. All sea grape extractions yielded in green liquid with different intensity with the odor of fish and pH value showed significantly different between extraction method and variety of solvent. The extracts obtained using maceration had SPF values 0.583, 3.099; 2.911 when using ethanol, DW and ethanol-DW as a solvent, respectively. Meanwhile the MAE produced extracts with SPF values 3.807; 5.555; 4.979, respectively. The percentage inhibition of DPPH for the MAE extracts at a concentration of 106 mg/mL were 33.85%; 22.99%; 17.44%. The MAE extract showed higher in vitro SPF values as compared to the maceration extract. The antioxidant activity in the ethanolic MAE extract was higher than in other solvents but still lower than the ascorbic acid.

Keywords: characterization, maceration, microwave-assisted extraction, sea grapes, sun protection factor

PENDAHULUAN

Kanker kulit melanoma merupakan satu dari sembilan belas kanker yang sering terjadi di seluruh dunia (GCO 2019). Kanker kulit terbagi menjadi dua jenis yaitu kanker kulit melanoma dan non melanoma. Kanker kulit non melanoma yang sering terjadi adalah karsinoma sel skuamosa (KSS) dan karsinoma sel basal (KSB) (WCRF 2019). Kanker kulit non melanoma terjadi sebanyak 2 hingga 3 juta kasus sedangkan kanker kulit melanoma terjadi sebanyak 132.000 kasus di seluruh penjuru dunia (WHO 2019).

Kanker secara umum 30-50% dapat dicegah dengan memodifikasi atau menghindari faktor risiko (WHO 2018). Salah satu penyebab kanker kulit adalah paparan sinar ultraviolet (UV). Sinar UV dapat merusak kulit bahkan dengan durasi paparan kurang dari 15 menit (CDC 2019). Radiasi sinar UV bersifat karsinogen (IARC 2007). Apapun warna dan jenis kulit, semua berisiko terkena kanker kulit. Paparan sinar UV dapat tetap terjadi walaupun langit sedang berawan (NIOSH 2010).

Tindakan pencegahan kanker kulit karena paparan radiasi sinar UV adalah menggunakan tabir surya (*sunscreen*). Penggunaan tabir surya dapat mencegah kanker kulit non melanoma dan bahkan secara drastis dapat menurunkan insiden melanoma yang invasif hingga 73% (Green *et al.* 2011). Sampai tahun 2019, terdapat 16 senyawa yang terdaftar di *Food and Drug Administration* (FDA) untuk digunakan sebagai zat aktif tabir surya. Namun, hanya 2 dari 16 senyawa yang dikategorikan FDA sebagai senyawa yang aman dan efektif (*generally recognized as safe and effective-GRASE*) yaitu zink oksida dan titanium oksida (FDA 2019).

Kebutuhan akan adanya alternatif zat aktif tabir surya menjadi sangat penting terutama dari bahan alam laut. Salah satunya adalah anggur laut (*Caulerpa* sp.). Anggur laut banyak terdapat pada perairan Indonesia yang telah terbukti secara *in vivo* mampu menghambat kerusakan DNA dan *photo aging* akibat radiasi sinar UV (Wiraguna *et al.* 2018). Di sisi lain, metode ekstraksi anggur laut yang menghasilkan nilai SPF tertinggi masih belum banyak dikembangkan sebagai

alternatif zat aktif tabir surya. Penelitian ini bertujuan untuk membuat ekstrak cair anggur laut segar dengan dua metode ekstraksi yaitu maserasi dan *microwave-assisted extraction* (MAE) dengan masing-masing metode menggunakan tiga jenis pelarut berbeda (etanol, air, dan etanol-air perbandingan 1:1) untuk menentukan karakteristik ekstrak dan nilai SPF *in vitro* tertinggi serta aktivitas antioksidan pada metode tersebut.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah anggur laut yang diperoleh dari Pantai Anyer di Banten, Jawa Barat. Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi adalah *aquadestilata* (Brataco, Indonesia), dan etanol teknis 96% (Dwinika, Indonesia). Bahan pengujian antioksidan meliputi etanol p.a (Merck, Indonesia), dan DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) (TCI, Jepang).

Alat yang digunakan berupa *microwave* (Modena MV 3002, Italia), spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu 1800, Jepang), pH-meter tipe 510 (Eutech Instrument, Singapura), sentrifugator (Kubota 5100, Jepang), timbangan analitik tipe 210-LC (ADAM, Amerika Serikat), lemari pendingin (Toshiba, Jepang), *rotary vacuum evaporator* (Buchi R205, Swiss), blender (Philips, Indonesia), pipet mikro (Eppendorf, Jerman), dan alat-alat gelas untuk analisis.

Metode Penelitian Ekstraksi anggur laut

Metode ekstraksi dengan *microwave* yang digunakan mengikuti Li *et al.* (2012) sedangkan metode ekstraksi maserasi mengikuti Anwar *et al.* (2018) dengan modifikasi. Anggur laut segar dibersihkan dari kotoran dan dicuci dengan air mengalir, kemudian ditimbang sebanyak 5 gram dan diblender. Hasil blender dimasukkan ke dalam labu lalu ditambahkan pelarut 250 mL dan diekstraksi dengan *microwave* (MAE) pada daya 100 W selama 30 menit. Pelarut yang digunakan terdiri dari tiga jenis yaitu air, etanol 96% dan campuran air dan etanol 96% perbandingan 1:1.

Anggur laut segar dibersihkan dengan cara yang sama dengan metode MAE untuk

digunakan pada metode maserasi. Anggur laut bersih ditimbang sebanyak 250 gram dan ditambahkan pelarut sebanyak 2,5 L dan dimaserasi selama 2 x 24 jam. Pelarut yang digunakan sama dengan metode MAE yaitu air, etanol 96% dan campuran air dan etanol 96% perbandingan 1:1. Masing-masing ekstrak yang dihasilkan dari metode MAE dan maserasi disaring dan filtrat yang dihasilkan merupakan ekstrak cair yang akan digunakan untuk tahap selanjutnya.

Ekstrak anggur laut

Ekstrak cair dengan pelarut dan metode ekstraksi yang berbeda diamati warna dan baunya secara visual dan dilakukan pengukuran pH. Pengujian pH dilakukan pada 20 mL ekstrak dengan menggunakan pH meter yang telah dikalibrasi. Pengujian dilakukan duplo dan dihitung nilai rata-rata pH yang didapat.

Pengujian sun protection factor (SPF) ekstrak anggur laut

Masing-masing ekstrak cair anggur laut sebanyak 1,5 mL dimasukkan ke dalam kuvet kemudian diukur nilai absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Serapan diukur pada panjang gelombang 290-320 nm mengikuti metode Dutra *et al.* (2004) dengan modifikasi. Secara teori, sinar UV terbagi menjadi tiga jenis berdasarkan panjang gelombang dan efek radiasi yang dihasilkan yaitu sinar UV A, B dan C. Panjang gelombang sinar UV A adalah 320-400 nm, sinar UV B 290-320 nm, dan sinar UV C sebesar 200-290 nm. Sinar UV B dibandingkan dengan sinar lainnya memiliki efek eritema dan pada paparan kronis dapat menyebabkan kanker. Oleh karena itu, pada pengujian SPF ini digunakan rentang panjang gelombang sinar UV B yaitu 290-320 nm (Tranggono *et al.* 2007). Perhitungan nilai SPF menggunakan perhitungan Mansur (Mansur *et al.* 1986) sebagai berikut:

$$\text{Nilai SPF in vitro} = FK \times \sum_{290}^{320} EE(\lambda) \times I(\lambda) \times (A \lambda)$$

Keterangan:

Perkalian $EE(\lambda)$ dan $I(\lambda)$ adalah suatu tetapan yang diperoleh dari literatur (Sayre *et al.*, 1979)

FK adalah faktor koreksi yaitu 10

$A(\lambda)$ diperoleh dari percobaan

Pengujian antioksidan ekstrak anggur laut

Penentuan aktivitas antioksidan dilakukan mengikuti Anwar *et al.* (2018) dengan modifikasi. Ketiga ekstrak cair dengan hasil uji SPF in vitro yang tertinggi ditimbang dan diencerkan dengan pelarut etanol p.a yang dibuat dalam konsentrasi 106 mg/mL. Kemudian masing-masing sampel dipipet sebanyak 2 mL lalu ditambahkan 1 mL pelarut etanol p.a dan larutan DPPH-etanol masing-masing sebanyak 1 mL serta divortex selama 20 detik. Sampel diletakkan di tempat gelap selama 30 menit, lalu diukur serapan larutan pada panjang gelombang maksimum DPPH yang telah dioptimasi sebelumnya.

Analisis Data

Analisis data berupa perbandingan nilai pH dan SPF in vitro dari masing-masing ekstrak dilakukan dengan uji *two-way* ANOVA menggunakan IBM SPSS 21.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstrak Cair Anggur Laut

Ekstrak cair yang didapatkan adalah berbau amis dan berwarna hijau dengan intensitas warna yang berbeda (*Figure 1*). Ekstrak etanol dari kedua metode ekstraksi memiliki warna hijau yang paling pekat. Warna hijau pekat yang didapatkan pada ekstrak tersebut kemungkinan menunjukkan adanya kandungan pigmen klorofil karena kelarutannya yang baik pada pelarut organik seperti etanol (Hosikian *et al.* 2010). *Caulerpa* sp. sebagai bagian dari alga hijau dilaporkan oleh Fajar *et al.* (2014) memiliki kandungan pigmen klorofil terbanyak dibandingkan dengan beta karoten dan *caulerpin*.

Hasil pengukuran pH ekstrak (*Table 1*) menunjukkan terdapat interaksi yang signifikan antara metode ekstraksi dan perbedaan pelarut terhadap pH, $F(2,6) = 185,641$, $p < 0,001$. Selain itu, terdapat perbedaan pH yang signifikan antar metode ekstraksi ($p < 0,001$) dan perbedaan pelarut ($p < 0,001$). Pengujian pH dilakukan untuk memastikan stabilitas senyawa polifenol yang diharapkan terdapat pada ekstrak karena struktur kimia dari senyawa polifenol



Figure 1 Sea grape extracts using maceration method (a) and MAE (b). From left to right, ethanol, distilled water:ethanol, and distilled water extract.

menunjukkan kerentanan saat terpapar pada pH tinggi (Friedman *et al.* 2000).

Pemilihan pelarut pada penelitian ini dilakukan berdasarkan polaritas metabolit sekunder yang terkandung pada anggur laut yang dilaporkan Wiraguna *et al.* (2018) mengandung senyawa polifenol. Metode ekstraksi secara maserasi menggunakan prinsip difusi pelarut ke dalam dinding sel sehingga zat-zat yang terkandung di dalamnya akan terlarut (Ansel 2005), sedangkan metode MAE menggunakan panas yang dihasilkan dari gelombang mikro yang berinteraksi dengan senyawa polar dan beberapa komponen organik dalam matriks tanaman mengikuti mekanisme konduksi ion dan rotasi dipol (Zhang *et al.* 2018). Penggunaan MAE memberikan lebih banyak kelebihan di antaranya waktu ekstraksi yang lebih singkat, konsumsi energi dan penggunaan pelarut yang lebih rendah dibandingkan dengan metode konvensional.

Nilai SPF In Vitro Ekstrak Anggur Laut

SPF secara *in vitro* merupakan hasil perlindungan mutlak dari tabir surya terhadap eritema akibat radiasi UV yang dihitung berdasarkan transmisi *in vitro* pada spektrum aksi eritema dibandingkan dengan standar spektrum dari simulator sinar UV (Donglikar *et al.* 2016). Pengujian SPF

in vitro dilakukan dengan tujuan untuk mengkarakterisasi serapan UV dari larutan uji menggunakan alat spektrofotometri UV-Vis. Berdasarkan *Table 2*, nilai SPF *in vitro* ekstrak anggur laut dari metode MAE secara signifikan lebih tinggi daripada maserasi ($p=0,019$), tetapi tidak terdapat perbedaan antar pelarut yang digunakan dalam MAE masing-masing metode ($p=0,226$). Dalam proses ekstraksi secara MAE, molekul polar mengabsorpsi energi *microwave* sehingga disrupsi sel menjadi tidak terhindarkan (Cikos *et al.* 2018). Hal ini menyebabkan ekstraksi senyawa lebih sempurna dibandingkan metode konvensional seperti maserasi. Menurut Cikos *et al.* (2018), senyawa yang sering didapatkan dari MAE adalah polifenol dan polisakarida. Senyawa fenol kemungkinan dapat berguna dalam menghambat UV yang diinduksi oleh pembentukan radikal bebas oksigen dan peroksidasi lipid (Ebrahimzadeh *et al.* 2014). Penelitian yang dilakukan oleh Li *et al.* (2012) menyarankan bahwa MAE dapat menjadi cara yang efektif dalam mengekstrak kandungan fenol dari *Caulerpa racemosa* dengan waktu yang singkat karena mengurangi degradasi suhu dari senyawa fenol. Nurjanah *et al.* (2019) pun melaporkan hal yang sama pada penelitian dengan *Caulerpa sp.* segar dan direbus yaitu suhu tinggi dapat melarutkan atau mengoksidasi kandungan senyawa flavonoid.

Table 1 pH Test Result of Sea Grapes Extract

	Maceration			MAE		
	Ethanol ^a	Distilled Water ^b	DW-ethanol ^c	Ethanol ^d	Distilled Water ^e	DW-ethanol ^f
pH	7.20 ± 0.00	7.37 ± 0.02	7.67 ± 0.01	7.66 ± 0.04	7.28 ± 0.04	8.13 ± 0.01

Information: Uppercase letters indicated significant differences between treatment ($p<0.05$), two-way ANOVA.

Table 2 SPF Value from Sea Grapes Extract with Maceration and MAE

Wavelength	SPF Value for Maceration ^a			SPF Value for MAE ^b		
	Ethanol	Distilled Water	DW-ethanol	Ethanol	Distilled Water	DW-ethanol
290	0.062	0.409	0.203	0.445	0.535	0.548
295	0.315	1.768	1.479	2.730	3.063	2.905
300	1.126	6.636	5.892	8.030	11.496	11.076
305	1.344	5.727	5.739	7.589	12.778	10.607
310	0.816	5.476	5.141	5.038	7.193	6.915
315	0.347	1.410	1.723	2.302	3.098	2.377
320	0.066	0.268	0.199	0.514	0.720	0.419
mean	0.583	3.099	2.911	3.807	5.555	4.979

Information: Uppercase letters indicated significant differences between treatment (p<0.05), two-way ANOVA.

Nilai SPF dari maserasi yang didapatkan tidak jauh berbeda dengan penelitian Ersalina *et al.* (2020) yang menghasilkan nilai SPF berkisar antara 1,03-2,32 menggunakan 1% ekstrak maserasi dengan pelarut n-heksan, etil asetat dan etanol dari *Caulerpa racemosa* dalam sediaan krim.

Aktivitas Antioksidan Ekstrak MAE Anggur Laut

Penentuan aktivitas antioksidan ekstrak Anggur Laut pada metode terpilih dilakukan dengan metode DPPH yang dikenal sebagai metode yang populer menurut Molyneux (2004). Pengujian menggunakan larutan DPPH ini dilakukan pada panjang gelombang maksimum 504 nm. Asam askorbat yang digunakan sebagai baku pembanding menghasilkan nilai IC₅₀ 0,0045 mg/mL sehingga membuktikan metode pengujian sudah sesuai standar.

Anggur laut mengandung berbagai agen antioksidan seperti polifenol (Wiraguna *et al.* 2018). Polifenol adalah antioksidan kuat dan suplemen makanan penting bagi manusia (Nguyen *et al.* 2011). Polifenol mampu mendonorkan atom hidrogen dan menangkap radikal bebas (Lee *et al.* 2004). Penelitian yang dilakukan oleh Nufus *et al.* (2017) dan Susilowati *et al.* (2019) melaporkan *Caulerpa lentillifera* dan *Caulerpa racemosa*

mengandung senyawa fenol dan flavonoid yang menunjukkan aktivitas antioksidan.

Uji aktivitas antioksidan ekstrak hanya dilakukan pada metode ekstraksi yang memiliki nilai SPF tertinggi secara signifikan yaitu metode MAE karena senyawa alami yang bersifat antioksidan seperti polifenol (flavonoid) dikenal dapat digunakan sebagai tabir surya melalui mekanisme penghambatan radikal bebas yang dihasilkan dari kerusakan kulit akibat radiasi UV (Donglikar *et al.* 2016). Pengujian antioksidan pada ekstrak anggur laut hanya dapat dilakukan menggunakan persentase inhibisi pada konsentrasi paling rendah yang dilakukan yaitu 106 mg/mL dengan pengulangan duplo (Table 3). Hal ini dikarenakan data pengujian dengan berbagai konsentrasi ekstrak yang didapatkan menghasilkan kurva yang tidak linear untuk nilai IC₅₀. Berdasarkan hasil pengujian yang dilakukan, didapatkan nilai persentase penghambatan ekstrak etanol yang lebih tinggi dibandingkan pelarut lainnya, namun nilai tersebut lebih rendah daripada asam askorbat.

KESIMPULAN

Ekstrak cair anggur laut yang dihasilkan berbau amis, dan berwarna hijau dengan intensitas warna yang berbeda serta menunjukkan adanya perbedaan pH yang

Table 3 Antioxidant result with DPPH method from MAE extract

MAE Extract	Inhibition Percentage (%)
Ethanol 106 mg/mL	33.85
Distilled Water 106 mg/mL	22.99
DW-ethanol 106 mg/mL	17.44

signifikan antar metode ekstraksi dan jenis pelarut yang berbeda.

Metode *microwave-assisted extraction* menunjukkan nilai SPF *in vitro* yang lebih tinggi secara signifikan daripada maserasi tanpa melihat perbedaan pelarut. Aktivitas antioksidan pada ekstrak MAE etanol lebih tinggi daripada pelarut lainnya namun tidak lebih tinggi dibandingkan dengan asam askorbat sebagai pembanding.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Fakultas Farmasi, Universitas Indonesia dalam pendanaan melalui Hibah IRP A untuk Dosen Muda. Penulis pula mengucapkan terima kasih kepada Rini, Denny, dan Ibu Anna yang telah membantu penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Ansel HC. 2005. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Edisi keempat. Jakarta (ID): UI Press.
- Anwar E, Yulianti D, Putri KSS. 2018. Stability of microsphere of *Sargassum plagyophyllum* (Mertens) J. G. Agardh extract produced by spray drying using maltodextrin. *International Journal of Applied Pharmaceutics*. 10: 376.
- Donglikar MM, Deore SL. 2016. Sunscreens: A review. *Pharmacognosy Journal* 8(3): 171-179
- Dutra EA, Oliveira DAGC, Kedor-Hackmann ERM, Santoro MIRM. 2004. Determination of sun protection factor (SPF) of sunscreens by ultraviolet spectrophotometry. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 40: 3.
- [CDC] Center for Disease Control and Prevention. 2019. *Sun Protection*. www.cdc.gov.
- Cikos AM, Jokic S, Subaric D, Jerkovic I. 2018. Overview on the application of modern methods for the extraction of bioactive compounds from marine macroalgae. *Marine Drugs*. 16: 348.
- Ebrahimzadeh MA, Enayatifardb R, Khalilia M, Saeedi MGM, Charati Y. 2014. Correlation between Sun Protection Factor and Antioxidant Activity, Phenol and Flavonoid Contents of some Medicinal Plants. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. 13(3): 1041-1047
- Ersalina EB, Abdillah AA, Sulmartiwi L. 2020. Potential of *Caulerpa racemosa* extracts as sunscreen creams. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 441: 012007
- Fajar A, Ibrahim R, Dewi EN. 2014. *Jurnal Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan*. 3(1): 1-10.
- [FDA] Food and Drug Administration. 2019. *FDA Advances new proposed regulation to make sure that sunscreens are safe and effective*. www.fda.gov.
- [FDA] Food and Drug Administration. 2019. *Sunscreen : How to Help Protect Your Skin From the Sun*. www.fda.gov.
- Friedman M, Jurgens HS. 2000. Effect of pH on the Stability of Plant Phenolic Compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 48: 2101-2110.
- [GCO] The Global Cancer Observatory. 2019. *Indonesia Fact Sheet*. www.gco.iarc.fr.
- Green AC, Williams GM, Logan V, Stratton GM. 2011. Reduced melanoma after regular sunscreen use: randomized trial follow-up. *Journal Clinic Oncology*. 29(3): 257-263.
- Hosikian A, Lim S, Halim R, Danquah MK. 2010. Chlorophyll extraction from microalgae: A review on the process engineering aspects. *International Journal of Chemical Engineering*. 2010: 1-11.
- [IARC] International Agency for Research on Cancer. 2007. *IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans*. Lyon (FR): IARC.
- Lee J, Koo N, Min DB. 2004. Reactive oxygen species, aging, and antioxidative nutraceuticals. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 3:21-33
- Li Z, Wang B, Zhang Q, Qu Y, Xu H, Li G. 2012. Preparation and antioxidant property of extract and semipurified fractions of *Caulerpa racemosa*. *Journal of Applied Phycology*. 24: 1527-1536.
- Mansur JS, Breder MN, Mansur MC, Azulay RD. 1986. Determination of Sun protection factor by spectrophotometry. *Anais Brasileiros de Dermatologia*. 61:

- 121–4.
- Molyneux P. 2004. The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*. 26(2): 211–219.
- [NIOSH] The National Institute of Occupational Safety and Health. 2010. *NIOSH Fact Sheets: Protecting yourself from sun exposure*. www.cdc.gov.
- Nguyen VT, Ueng JP, Tsai GJ. 2011. Proximate Composition, Total Phenolic Content, and Antioxidant Activity of Seagrape (*Caulerpa lentillifera*). *Journal of Food Science*. 76(7): C950–C958.
- Nufus C, Nurjanah, Abdullah A. 2017. Karakteristik rumput laut hijau dari perairan Kepulauan Seribu dan Sekotong Nusa Tenggara Barat sebagai antioksidan. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 20(3): 620-632.
- Nurjanah, Jacob AM, Asmara DA, Hidayat T. 2019. Phenolic compound of fresh and boiled sea grapes (*Caulerpa* sp.) from Tual, Maluku. *Food ScienTech Journal*. 1(1): 31-39.
- Sayre RM, Agin PP, Levee GI, Marlowe E. 1979. Comparison of in vivo and in vitro testing of sunscreens formulas. *Photochemistry and Photobiology*. 559–566.
- Susilowati A, Mulyawan AE, Putri TW. 2019. Antioxidant Activity of the Sea Grape (*Caulerpa racemosa*) Used As an Antioxidant Lotion. *Oriental Journal Of Chemistry*. 35(4): 1443-1447
- Tranggono RI, Latifah F. 2007. *Buku Pegangan Ilmu Pengetahuan Kosmetik*. Jakarta (ID): PT Gramedia Pustaka Utama.
- Wiraguna A, Pangkahila W, Astawa I. 2018. Antioxidant properties of topical *Caulerpa* sp. extract on UVB-induced photoaging in mice. *Dermatology reports*. 10(2): 7597.
- [WCRF] World Cancer Research Fund. 2019. *Global Cancer data by country: exploring which countries have the highest cancers rate*. www.wcrf.org
- [WHO] World Health Organization. 2019. *Skin Cancers*. www.who.int.
- [WHO] World Health Organization. 2018. *Cancer Prevention*. www.who.int.
- Zhang QW, Lin LG, Ye WC. 2018. Techniques for extraction and isolation of natural products: a comprehensive review. *Chinese medicine*. 13: 20.