

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETIL ASETAT *Ulva fasciata* DELILE DAN *Turbinaria decurrens* BORY TERHADAP LAJU PERTUMBUHAN TUMOR KELENJAR SUSU PADA MENCIT C3H

Thamrin Wikanta¹⁾, Vita Fitria Handayani²⁾,
Lestari Rahayu³⁾, Asri Pratitis³⁾, dan Puspita Eka Wuyung^{3*)}

ABSTRAK

Kanker payudara merupakan penyakit kanker kedua terbanyak dijumpai setelah kanker mulut rahim pada wanita Indonesia. Telah dilakukan penelitian tentang pengaruh pemberian ekstrak etil asetat *Ulva fasciata* Delile dan *Turbinaria decurrens* Bory terhadap proliferasi sel tumor kelenjer susu pada mencit C3H. Tiga puluh ekor mencit dibagi menjadi 6 kelompok perlakuan, yaitu: K-I, kontrol negatif; K-II, kontrol pelarut; K-III, diberi ekstrak etil asetat *U. fasciata* dosis 41,32 mg/20 g BB (berat badan); K-IV, diberi ekstrak etil asetat *U. fasciata* dosis 82,64 mg/20 g BB; K-V, diberi ekstrak etil asetat *T. decurrens* dosis 24,29 mg/20 g BB; dan K-VI, diberi ekstrak etil asetat *T. decurrens* dosis 48,59 mg/20 g BB. Semua perlakuan diberikan selama 21 hari. Berat badan mencit dan volume tumor diukur setiap 2 hari sekali. *Doubling time* tumor dihitung pada akhir pengamatan. Hasil penelitian menunjukkan terjadinya penghambatan pertumbuhan tumor yang cukup besar pada K-IV, yang ditunjukkan dengan nilai *doubling time* tumor yang tinggi. Daya hambat pertumbuhan tumor menurun sesuai dengan urutan : K-IV (*U. fasciata* dosis 82,64 mg/20 g BB), K-V (*T. decurrens* dosis 24,29 mg/20 g BB), K-VI (*T. decurrens* dosis 48,59 mg/20 g BB) yang sama dengan K-II (kontrol pelarut), K-III (*U. fasciata* dosis 41,32 mg/20 g BB), K-I (kontrol negatif).

ABSTRACT: *Effect of Ulva fasciata Delile and Turbinaria decurrens Bory ethyl acetate extracts feeding on the growth rate of Adenocarcinoma mammae on C3H mice. By: Thamrin Wikanta, Vita Fitria Handayani, Lestari Rahayu, Asri Pratitis, and Puspita Eka Wuyung*

Breast cancer is the second mostly found disease after cervix cancer to Indonesian woman. Research on the effect of Ulva fasciata Delile and Turbinaria decurrens Bory ethyl acetate extract feeding on the Adenocarcinoma mammae cell proliferation on C3H mice has been conducted. Thirty experimental mice were divided into 6 treatment groups, i.e.: K-I, negative control; K-II, solvent control; K-III, given U. fasciata ethyl acetate extract dose of 41.32 mg/20 g BW (body weight); K-IV, given U. fasciata ethyl acetate extract dose of 82.64 mg/20 g BW; K-V, given T. decurrens ethyl acetate extract dose of 24.29 mg/20 g BW; and K-VI, given T. decurrens ethyl acetate extract dose of 48.59 mg/20 g BW. All treatments were given during 21 days. The mice body weight and tumor volume were measured and collected subsequently at every two days. Tumor doubling time was calculated at the end of research. Results showed that there was a highly tumor growth inhibition on the K-IV shown by the high doubling time value. Tumor growth inhibition decreased according to the sequence as follows: K-IV (U. fasciata dose of 82.64 mg/20 g BW), K-V (T. decurrens dose of 24.29 mg/20 g BW), K-VI (T. decurrens dose of 48.59 mg/20 g BW) which equal to K-II (solvent control), K-III (U. fasciata dose of 41.32 mg/20 g BW), K-I (negative control).

KEYWORDS: *ethyl acetate extract, Ulva fasciata, Turbinaria decurrens, breast tumor*

PENDAHULUAN

Di Indonesia, penyakit kanker payudara merupakan kejadian terbanyak kedua setelah kanker mulut rahim (Haryana & Soesatyo, 1995). Usaha pencarian bahan obat antikanker umumnya difokuskan pada pencarian bahan aktif yang mampu menekan proliferasi sel

tumor, mempunyai efek sitotoksik, antimetabolik atau mampu menginduksi terjadinya proses apoptosis pada sel kanker. Dewasa ini berbagai upaya pencegahan atau penyembuhan penyakit kanker dilakukan secara intensif di antaranya dengan pencarian senyawa antikanker dari bahan alam.

¹⁾ Peneliti pada Balai Besar Riset Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan, Balitbang KP, KKP; Jl. KS. Tubun Petamburan VI, Slipi, Jakarta Pusat; E-mail: thamrin_wikanta@yahoo.com

²⁾ Fakultas Farmasi, Universitas Pancasila; Jl. Serengseng Sawah, Jagakarsa, Jakarta.

^{3*)} Departemen Patologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia; Jl. Salemba Raya no 6, Jakarta.

Potensi makroalga Indonesia untuk dikembangkan sebagai bahan nutrasetikal ataupun bahan baku obat sangat besar karena dilaporkan memiliki bioaktivitas sebagai antimikroba, antelmintik, antivirus, dan antitumor. *Ulva fasciata* dan *Turbinaria decurrens* merupakan biota laut yang memiliki potensi sebagai antitumor, mengandung pigmen fotosintetik klorofil, karoten, fitohormon, xantofil, dan lutein, disamping protein, asam folat, asam lemak, polisakarida, dan beberapa jenis mineral (Atmadja *et al.*, 1996). Beberapa khasiat dari alga hijau *U. fasciata* yang telah diteliti, di antaranya memiliki aktivitas anti bakteri spektrum luas dan dapat mencegah penggumpalan darah secara efektif (Selvin & Lipton, 2004).

T. decurrens mengandung senyawa fukoxantin yang telah dikenal sebagai senyawa antitumor dan antioksidan. *U. fasciata* juga mengandung senyawa fukoxantin yang serupa dengan senyawa aktif pada *T. decurrens* (MarinLit, 2007). Pramitha *et al.* (2008) menyatakan bahwa *U. fasciata* mengandung senyawa inhibitor enzim α -glukosidase dan β -glukosidase yang sangat berguna untuk terapi penyakit kanker, diabetes, obesitas, hiperlipoproteinemia, dan HIV. Menurut Chakraborty & Paulraj (2010) *U. fasciata* mengandung 5 senyawa seskuiterpen yang berpotensi sebagai peredam radikal bebas.

Marraskuranto *et al.* (2008) melaporkan bahwa fraksi heksan ekstrak etanol *U. fasciata* bersifat aktif terhadap sel tumor HeLa dan T47D dengan nilai $IC_{50} < 30 \mu\text{g/mL}$. Fraksi etil asetat dari ekstrak aseton *U. fasciata* menunjukkan aktivitas sitotoksik sangat kuat terhadap sel HeLa dengan $IC_{50} 19 \mu\text{g/mL}$ (Wikanta *et al.*, 2010^b), dan pada $25 \mu\text{g/mL}$ mengakibatkan apoptosis dan nekrosis terhadap sel CaSki dan MCF7 (Wikanta *et al.*, 2011^b).

Pada penelitian ini akan dilakukan uji daya hambat proliferasi sel tumor payudara pada mencit C3H menggunakan ekstrak etil asetat *U. fasciata* dan *T. decurrens* melalui pengamatan perkembangan volume tumor yang sudah ditransplantasikan pada mencit galur C3H. Mula-mula dilakukan penentuan nilai LD_{50} ekstrak etil asetat alga hijau *U. fasciata* untuk memperkirakan dosis terapi yang akan diberikan pada mencit. Nilai LD_{50} *T. decurrens* ditentukan berdasarkan hasil Wikanta *et al.* (2010^a). Setelah itu dilakukan uji daya hambat dari ekstrak etil asetat *U. fasciata* dan *T. decurrens* terhadap perkembangan sel tumor kelenjar susu (*Adenocarcinoma mammae*) pada mencit galur C3H.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilakukan untuk menguji daya hambat ekstrak etil asetat *U. fasciata* dan *T. decurrens* terhadap perkembangan tumor kelenjar susu pada

mencit. Pada penelitian ini digunakan mencit *Mus musculus* C3H, yang berumur 2 bulan sebanyak 30 ekor dengan bobot badan berkisar 15-20 gram. Mencit jenis ini telah diberi agen karsinogen yaitu *Mouse Mammary Tumor Virus* (MMTV) dan diwariskan dari ibu kepada anaknya melalui air susu (MMTV, 2009).

Bahan

Sampel uji

Sampel uji adalah ekstrak etil asetat *U. fasciata* dan *T. decurrens*. Rumput laut diambil dari zona pasang surut pantai Binuangeun Banten Selatan pada bulan April 2008. Sebanyak 10 kg rumput laut kering angin dimaserasi dalam 10 L etil asetat (1/1, b/v) selama 3–7 kali 24 jam. Ekstrak disaring melalui kertas Whatman No. 1, dievaporasi pada tekanan rendah hingga didapatkan ekstrak kental, lalu dikeringkan pada suhu dan tekanan rendah, kemudian ekstrak disimpan dalam inkubator suhu 10°C untuk mencegah kerusakan hingga saat digunakan.

Hewan percobaan

Hewan percobaan untuk uji LD_{50} adalah mencit albino jantan galur DDY, diperoleh dari Unit *Breeding* hewan percobaan, Balai Besar Penelitian Veteriner Bogor. Hewan percobaan untuk uji antitumor adalah mencit jantan dan betina (*Mus musculus* L.) galur C3H, berat badan antara 15–20 gram, dan mencit pendonor tumor galur C3H, berasal dari bagian Patologi FKUI Salemba, Jakarta.

Pakan mencit

Pakan mencit DDY yaitu pellet yang dibeli di kios penjual pakan ikan. Pakan mencit C3H yaitu pellet yang dibeli di bagian Patologi FKUI Salemba. Komposisi pakan mencit C3H terdiri atas: susu SGM, vitamin B-kompleks, minyak ikan, jagung, kacang tanah, kacang kedelai, kacang hijau, tepung sagu, garam, dan air.

Air minum

Air minum yang digunakan untuk hewan percobaan adalah air suling.

Metode

Penetapan LD_{50}

Uji toksisitas akut (LD_{50}) ekstrak etil asetat alga hijau *U. fasciata* Delile dilakukan dengan metode Weil (1952), menggunakan mencit jantan DDY sebagai hewan percobaan melalui jalur pemberian intraperitoneal. Perhitungan nilai LD_{50} dilakukan dengan

menggunakan tabel biometrik dari Weil (1952). Nilai toksisitas akut (LD_{50}) untuk *T. decurrens* yang digunakan untuk pembandingan berdasarkan hasil penelitian Wikanta *et al.* (2010^a).

Praperlakuan

Sebelum penelitian dilaksanakan, mencit diadaptasikan selama satu minggu untuk membiasakan hidup dalam lingkungan dan perlakuan yang baru, dikontrol kesehatannya, suhu ruangan 27–30°C, pencahayaan diatur dengan pengatur otomatis 12 jam hidup dan 12 jam mati, serta diseragamkan pakannya.

Transplantasi tumor

Transplantasi tumor dilakukan berdasarkan metode Pringgoutomo (Nugroho *et al.*, 2008). Bubur tumor sebanyak 0,2 mL disuntikkan secara subkutan di aksila kanan mencit menggunakan jarum suntik ukuran 18. Pengamatan pertumbuhan tumor mulai dilakukan setelah masa laten, umumnya 1 minggu setelah transplantasi tumor. Tumor mulai berproliferasi setelah melewati masa laten, pertumbuhan tumor dihitung melalui nilai *doubling time* berdasarkan nilai volume tumor (Anon., 2008).

Perlakuan terhadap hewan percobaan

Sebanyak 30 ekor hewan percobaan dibagi menjadi 6 kelompok secara acak, masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor.

- K-I (Kontrol negatif) : hanya diberi air suling saja
- K-II (Kontrol pelarut SMEDDS) : diberi pelarut ekstrak sebanyak 0,5 mL/hari secara oral selama 21 hari.
- K-III : diberi larutan ekstrak *U. fasciata* dosis 41,32 mg/20 g BB (0,5 mL/hari) secara oral selama 21 hari. Dosis tersebut adalah 10% dari nilai LD_{50} per oral.
- K-IV : diberi larutan ekstrak *U. fasciata* dosis 82,64 mg/20g BB (0,5 mL/hari) secara oral selama 21 hari. Dosis tersebut adalah 20% dari nilai LD_{50} per oral.
- K-V : diberi larutan ekstrak *T. decurrens* dosis 24,29 mg/20 g BB (0,5 mL/hari) secara oral selama 21 hari. Dosis tersebut adalah 10% dari nilai LD_{50} per oral.
- K-VI : diberi larutan ekstrak *T. decurrens* dosis 48,58 mg/20 g BB (0,5 mL/hari) secara oral selama 21 hari. Dosis tersebut adalah 20% dari nilai LD_{50} per oral.

Pembuatan larutan sampel uji

Sampel uji dilarutkan dalam zat pembawa berbentuk mikroemulsi, disebut SMEDDS (*Self-*

microemulsifying drug delivery system) yang dibuat sesuai metode Ashok & Pradeep (2007) dengan modifikasi. SMEDDS terbuat dari campuran lesitin (minyak), tween-80 (surfaktan), polietilenglikol-6000 10% (kosurfaktan), dan air, kemudian zat aktif ditambahkan ke dalamnya. Hasil optimasi komposisi SMEDDS terbaik yang digunakan sebagai pelarut atau zat pembawa sampel uji ekstrak *U. fasciata* dan *T. decurrens* adalah: Lesitin = 1/9 (v/v); Tween-80 = 2/9 (v/v); PEG 6000 (10%) = 1/9 (v/v); Akuabides = 5/9 (v/v). Fungsi minyak dalam formulasi untuk meningkatkan penyerapan dan bioavailabilitas bahan obat sedangkan surfaktan dan kosurfaktan untuk mendapatkan emulsi yang stabil.

Pengukuran bobot badan, volume, dan *doubling time* tumor

- Penimbangan bobot badan mencit.
Penimbangan bobot badan mencit dilakukan setiap hari menggunakan timbangan mencit digital merk Ohaus Adventurer pro.
- Pengukuran volume tumor.
Pengukuran volume tumor mencit dilakukan tiap dua hari sekali, untuk panjang, dan lebar tumor menggunakan jangka sorong merk Grip-On Germany. Volume tumor (V) dihitung dengan rumus : $V = (D \times d^2)/2$, dimana : D = panjang tumor; d = lebar tumor (Zyad, 2007; Seki *et al.*, 2008).
- Perhitungan *doubling time* tumor
Perhitungan *doubling time* tumor menggunakan kalkulator *online* (*Chest X-ray. Key : doubling time*). Data yang diperlukan adalah volume tumor awal (mm^3), volume tumor akhir (mm^3) dan rentang waktu antara volume tumor awal dan volume tumor akhir (hari). Perhitungan *doubling time* dilakukan berdasarkan volume tumor hari ke nol (awal) dan volume tumor hari ke 22 (terakhir), dengan rentang waktu pemberian zat uji selama 21 hari (Anon., 2008).

HASIL DAN BAHASAN

Penentuan Nilai LD_{50} Ekstrak Etil Asetat Rumput Laut *Ulva fasciata* Delile

Dalam penelitian ini dilakukan uji pendahuluan untuk menentukan batas keamanan dari bahan uji ekstrak etil asetat *U. fasciata* yaitu dengan melakukan uji toksisitas akut untuk menentukan nilai LD_{50} dengan cara memberikan ekstrak etil asetat *U. fasciata* dalam beberapa tingkatan dosis. Ekstrak ini diberikan melalui jalur intraperitoneal (ip). Pemberian melalui jalur ini dipilih karena diharapkan efek yang terjadi lebih cepat sehingga dalam waktu 24 jam nilai

LD₅₀ sudah dapat diketahui. Hewan percobaan yang digunakan untuk uji LD₅₀ ini adalah mencit albino galur DDY. Hewan ini dipilih karena penanganannya lebih mudah.

Dari penentuan toksisitas akut didapatkan nilai LD₅₀ (per oral) masing-masing untuk *U. fasciata* sebesar 413,22 mg/20 g BB mencit (20.661 mg/kg BB mencit) dan nilai toksisitas akut untuk *T. decurrens* berdasarkan hasil penelitian Wikanta *et al.* (2010^a) sebesar 242,99 mg/20 g BB mencit (12.149,5 mg/kg BB mencit). Berdasarkan nilai yang didapatkan dan memperhatikan Tabel 1 dari Gleason (1969)

Liposom dapat dibuat dari bahan alam, contohnya kolesterol, fosfolipid atau asam lemak dari bahan alam sehingga menjadikan biokompatibel sebagai zat pembawa yang aman untuk penggunaan medis secara *in vivo*. Liposom yang mengandung bahan alam seperti fosfolipid dan kolesterol, sangat mudah dikenali oleh *Reticulum Endothelial System* (RES) sehingga setelah pemberian secara intravena, *vesicles* dengan cepat dapat dihilangkan dari sirkulasi oleh makrofag dari RES, yaitu oleh liver, limpa, dan sumsum tulang. Untuk mendapatkan sifat liposom sesuai kebutuhan maka dilakukan modifikasi kimia terhadap

Tabel 1. Klasifikasi toksisitas bahan (Gleason, 1969)
 Table 1. Clasification of substance toxicity (Gleason, 1969)

LD ₅₀ (mg/kg BB)/ LD ₅₀ (mg/kg BW)	Derajat Toksisitas/Degree of Toxicity
< 5	Supertoksik/Supertoxic
5-50	Amat sangat toksik/Very highly toxic
50-500	Sangat toksik/Highly toxic
500-5.000	Toksisitas sedang/Moderatly toxic
5.000-15.000	Toksisitas ringan/Slightly toxic
> 15.000	Praktis tidak toksik/Practically nontoxic

tentang klasifikasi toksisitas bahan, maka ekstrak etil asetat dari *U. fasciata* termasuk dalam kategori praktis tidak toksik sedangkan ekstrak etil asetat *T. decurrens* termasuk dalam kategori toksisitas ringan.

Sistem Pelarut atau Pembawa Bahan Aktif

Liposom mendapat banyak perhatian dalam sistem penghantaran bahan obat pada beberapa tahun terakhir ini. Liposom adalah *vesicles* (gelembung) berisi cairan yang seluruhnya tertutup (terenkapsulasi) oleh membran dari molekul lipid, biasanya fosfolipid. Liposom telah di gunakan secara tradisional dalam formulasi zat terapi yang memiliki tingkat kelarutan rendah dalam air untuk pemberian secara oral atau parenteral. Secara klinis liposom sudah terbukti dapat menghantarkan berbagai jenis obat (Jufri *et al.*, 2004). Dewasa ini, obat-obat yang beredar diformulasikan sebagai *liposome drug delivery systems* terutama antijamur dan terapi antikanker (Jufri, 2004). Liposom dapat menjerat sejumlah besar molekul-molekul kecil hidrofilik di dalamnya atau molekul-molekul lipofilik pada membran *bilayer*. Enzim tidak memiliki jalur masuk ke dalam bahan yang terenkapsulasi, sehingga enzim tidak dapat melakukan degradasi dan metabolisme terhadap zat yang terjerat dalam liposom (Kazuo, 2004; Daniels, 2006; Anon., 2009).

membran fosfolipid-bilayernya. Melalui *pegylation* pada fosfolipid akan menghasilkan membran fosfolipid *bilayer* dengan cara kerja dan fleksibilitas yang beragam (Kazuo, 2004; Daniels, 2008; Anon., 2009). Kombinasi fosfolipid dengan polietilen glikol (PEG) dapat menghindari pengenalan liposom sebagai zat asing oleh RES dalam cairan fisiologis sehingga dapat mencegah opsonisasi, bersifat aman, dan memperpanjang waktu paruh liposom dalam sirkulasi. Kombinasi fosfolipid dengan PEG dapat dibuat secara sintesis dengan kemurnian tinggi (Schnyder, 2005).

Sistem penghantar bahan aktif *drug delivery system* (DDS) yang berkembang dewasa ini memiliki ukuran nanometer (nanopartikel) sebagai pengembangan dari liposom yang berukuran mikrometer (mikropartikel). Tujuannya agar bahan aktif dapat mencapai sel/jaringan target dengan baik, dengan bioavailabilitas tinggi di dalam darah, tanpa mengalami clearance oleh RES di dalam saluran cerna, di dalam pembuluh darah, maupun di dalam ginjal, sehingga dapat bekerja lebih efektif di dalam tubuh dan mengurangi atau menghilangkan toksisitas zat aktif terhadap sel normal. DDS yang berkembang dewasa ini adalah konjugat PEG atau hasil PEGilasi, yang disebut *Self-microemulsifying drug delivery system* (SMEDDS). Mikroemulsi telah banyak digunakan sebagai penghantar zat aktif yang sukar larut dalam air karena

dapat menurunkan tingkat pengambilan oleh RES sehingga meningkatkan bioavailabilitas atau ketersediaan hayatinnya di dalam tubuh (Ashok & Pradeep, 2007).

Pada penelitian ini, bahan uji yang digunakan bersifat sukar larut dalam air maka dibuat formula zat pelarut, penjerat, dan pembawa zat aktif yang sesuai. Formula SMEDDS digunakan sebagai pilihan yang memungkinkan untuk formulasi bahan obat ini yang sukar larut dalam air. Emulsi yang terbentuk dengan spontan menjadikan bahan obat berada dalam kondisi terlarut berbentuk tetesan berukuran kecil yang menyediakan interaksi antarmuka yang besar untuk penyerapan bahan obat. Adanya lemak dalam formulasi dapat meningkatkan bioavailabilitas karena dapat meningkatkan penyerapan obat (Ashok & Pradeep, 2007).

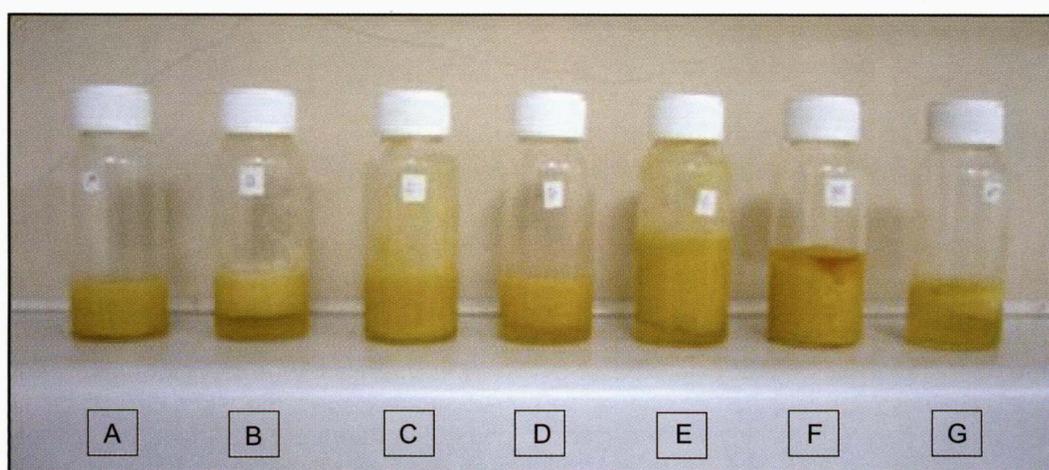
Formula SMEDDS dibuat berdasarkan metoda Ashok & Pradeep (2007) dengan modifikasi. Telah dibuat 7 komposisi formula SMEDDS sebagaimana disajikan pada Tabel 2 disertai contoh hasilnya yang disajikan pada Gambar 1. Berdasarkan sifat produk yang dihasilkan dan pengamatan selama 10 minggu, produk emulsi yang paling stabil dan baik tingkat keencerannya adalah formula A, maka formula A selanjutnya digunakan sebagai pelarut atau penghantar ekstrak uji pada uji antitumor secara *in vivo* yang diberikan pada mencit bertumor.

Analisis Volume dan Doubling Time Tumor

Doubling time adalah waktu yang diperlukan oleh sekelompok sel tumor menjadi dua kali lipat jumlahnya, misalnya dari satu sel membelah menjadi dua sel, dua sel menjadi empat sel, empat sel menjadi

Tabel 2. Formula SMEDDS
Table 2. Formula of SMEDDS

Komponen/ Component	Formula (% B/B)/Formula (% W/W)						
	A	B	C	D	E	F	G
Lesitin/Lecythin	1	1	2	1	3	2	1
Tween 80	2	2	2	3	3	3	2.5
PEG 6000 (10%)	1	2	1	1	1	1	1
Akuabidest/ Aquabidest	5	5	5	5	5	5	5
Total	9	10	10	10	12	11	9.5
Sifat Campuran/ Mix Properties	Larutan, emulsi stabil/Solution, stable emulsion	Larutan, 2 fasa terpisah/ Solution, 2 phase seperated	Gel lunak/ Soft gel	Gel lunak/ Soft gel	Gel keras/ Hard gel	Gel lunak/ Soft gel	Larutan, 2 fasa terpisah/ Solution, 2 phase seperated



Gambar 1. Contoh formula SMEDDS.
Figure 1. Sample of SMEDDS formula.

delapan sel dan seterusnya. Dengan mengetahui nilai *doubling time* tumor pada mencit dari setiap perlakuan pemberian zat aktif dibandingkan terhadap kontrol, maka dapat diketahui potensi dari zat aktif tersebut dalam menghambat pertumbuhan tumor pada dosis yang digunakan. Hasil pengukuran volume awal (V0) dan volume akhir (V22) tumor serta perhitungan selisih volume awal dan volume akhir (V22-V0) dan *doubling time* (DT) tumor pada mencit selama 21 hari pengamatan disajikan pada Tabel 3 dan Gambar 2.

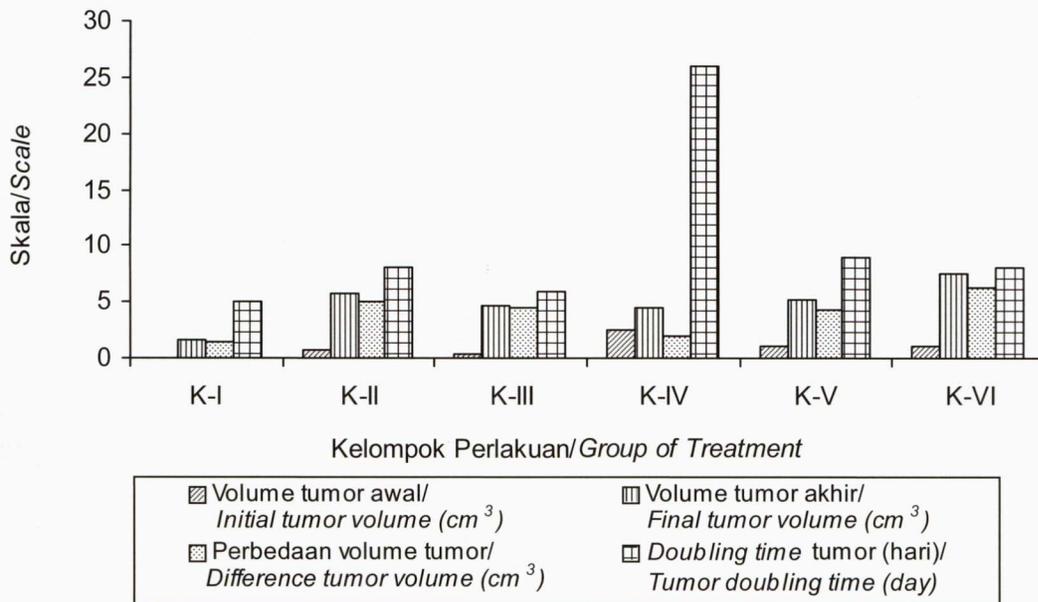
g BB) 8 hari, sama dengan K-II (Kontrol pelarut) 8 hari, lebih kuat dari K-III (*U. fasciata* dosis 41,32 mg/20 g BB) 6 hari, hampir sama dengan K-I (Kontrol negatif) 5 hari.

K-I (kontrol negatif) sebagai pembanding menghasilkan DT 5 hari. Kontrol negatif merupakan mencit bertumor tanpa mendapat perlakuan apapun sehingga tumor pada mencit dapat tumbuh dengan bebas dan hanya mendapat kendala dari sistem imun alamiah yang ada dalam tubuh mencit itu.

Tabel 3. Rata-rata volume (cm³) dan DT (*doubling time*) tumor pada mencit (hari)

Table 3. Mean volume (cm³) and DT (*doubling time*) of tumor on mice (day)

	K-I	K-II	K-III	K-IV	K-V	K-VI
V0 (cm ³)	0.0804	0.7654	0.3119	2.5458	1.0439	1.1605
V22 (cm ³)	1.6039	5.7801	4.7309	4.5789	5.2734	7.5083
V22-V0 (cm ³)	1.5235	5.0147	4.419	2.0331	4.2295	6.3478
DT (hari/day)	5	8	6	26	9	8



Gambar 2. Rata-rata volume dan *doubling time* tumor pada mencit dari 6 kelompok perlakuan.
Figure 2. Mean volume and *doubling time* of tumor on mice of 6 treatment group.

Hasil perhitungan *doubling time* menunjukkan K-IV (*U. fasciata* dosis 82,64 mg/20 g BB) memiliki nilai *doubling time* tumor paling tinggi yakni 26 hari. Hal ini menunjukkan bahwa *U. fasciata* dosis 82,64 mg/20 g BB memberikan daya hambat paling besar di antara bahan uji lainnya terhadap perkembangan sel tumor. Nilai *doubling time* (DT) makin menurun sesuai dengan urutan berikut : K-IV (*U. fasciata* dosis 82,64 mg/20 g BB) DT 26 hari, jauh lebih kuat dari K-V (*T. decurrens* dosis 24,29 mg/20 g BB) 9 hari, hampir sama dengan K-VI (*T. decurrens* dosis 48,59 mg/20

K-II (Kontrol pelarut) memberikan nilai DT 8 hari yang lebih tinggi dari pada K-I (kontrol negatif) DT 5 hari. SMEDDS sebagai pelarut yang dipakai ternyata memberikan efek positif dalam menghambat perkembangan tumor. Telah diketahui, dalam pertumbuhannya tumor akan menghisap nutrisi dari pembuluh darah di sekitarnya dan mendesak atau menekan serta menimbulkan kerusakan sel di sekitarnya (Boik, 1996; Underwood, 1999). Lesitin yang digunakan sebagai komponen SMEDDS, di samping membantu menghantar zat aktif sampai di

sel/jaringan target, senyawa ini yang juga merupakan salah satu komponen penting penyusun membran sel. Lesitin kemungkinan turut serta menjaga integritas dan fleksibilitas membran sel normal dari kerusakan serta mempertahankan fungsi sel tetap normal dan membantu proses perbaikan sel yang mengalami kerusakan akibat desakan oleh pertumbuhan sel tumor (Daniel, 2006).

K-III (*U. fasciata* dosis 41,32 mg/20 g BB) memberikan nilai DT 6 hari yang hampir sama dengan K-I (kontrol negatif) 5 hari. Adanya zat sitotoksik pada dosis ini tidak menimbulkan banyak pengaruh terhadap pertumbuhan tumor. Efek toksik dari ekstrak *U. fasciata* terhadap sel normal dapat dinetralisir, oleh adanya lesitin dari pelarut yang turut serta menjaga integritas dan fleksibilitas membran sel normal dari kerusakan serta mempertahankan fungsi sel tetap normal dan membantu proses perbaikan sel yang mengalami kerusakan membran.

K-IV (*U. fasciata* dosis 82,64 mg/20 g BB) memberikan nilai DT 26 hari, sangat tinggi dibandingkan dengan K-I (kontrol negatif) 5 hari. Adanya zat sitotoksik pada dosis ini sangat berpengaruh atau dapat menekan pertumbuhan tumor. Penggunaan dosis yang lebih tinggi memberikan hasil yang lebih positif, menghasilkan nilai *doubling time* yang lebih tinggi.

K-V (*T. decurrens* dosis 24,29 mg/20 g BB) DT 9 hari dan K-VI (*T. decurrens* dosis 48,59 mg/20 g BB) DT 8 hari memberikan nilai *doubling time* yang relatif sama dengan K-II (Kontrol pelarut) DT 8 hari tetapi lebih tinggi dibandingkan dengan K-I (kontrol negatif) DT 5 hari. Hal ini berarti adanya zat sitotoksik pada dosis ini tidak berpengaruh terhadap pertumbuhan tumor.

Jika semua kelompok uji dibandingkan terhadap K-I (kontrol negatif), maka K-II (kontrol pelarut), K-III (*U. fasciata* dosis 41,32 mg/20 g BB), K-IV (*U. fasciata* dosis 82,64 mg/20 g BB), K-V (*T. decurrens* dosis 24,29 mg/20 g BB), K-VI (*T. decurrens* dosis 48,59 mg/20 g BB) semuanya memiliki efek positif dalam menghambat perkembangan sel tumor, hal ini dapat dilihat dari nilai *doubling time* atau waktu yang diperlukan oleh sel tumor untuk membelah menjadi dua kali lipat jumlah sebelumnya. Ditinjau dari aspek zat penghantar bahan obat yang digunakan berarti zat tersebut memberikan efek positif membantu menghambat pertumbuhan tumor.

Jika semua kelompok uji dibandingkan terhadap K-II (kontrol pelarut), maka K-I (kontrol negatif) dan K-III (*U. fasciata* dosis 41,32 mg/20 g BB) tidak memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan tumor. Sedangkan K-V (*T. decurrens* dosis 24,29 mg/20 g BB) dan K-VI (*T. decurrens* dosis 48,59 mg/20 g BB)

memiliki daya hambat setara dengan K-II (kontrol pelarut) terhadap pertumbuhan tumor, tetapi K-IV (*U. fasciata* dosis 82,64 mg/20 g BB) memiliki daya hambat pertumbuhan tumor yang sangat tinggi berdasarkan nilai *doubling time* atau waktu yang diperlukan oleh sel tumor untuk membelah menjadi dua kali lipat jumlah sebelumnya.

Dalam sistem biologi, pemberian dosis atau peningkatan pemberian dosis suatu zat tidak selalu menimbulkan efek meningkat atau menurun yang bersifat linier, akan tetapi sering berupa bentuk huruf J, U, V, atau bentuk terbalik dari huruf tersebut. Hal ini terbukti dengan pemberian ekstrak *U. fasciata* dosis lebih tinggi menimbulkan efek penghambatan pertumbuhan tumor yang positif, sangat meningkat seperti mengikuti bentuk huruf J, apabila memperhatikan hubungan antara K-II, K-III, dan K-IV. Namun terjadi hal berbeda pada pemberian ekstrak *T. decurrens*, pemberian ekstrak dengan dosis lebih tinggi menimbulkan efek penghambatan pertumbuhan tumor yang negatif, sehingga apabila memperhatikan hubungan antara K-II, K-V, dan K-VI penghambatan makin menurun. Banyak senyawa kimia pada pemberian dosis rendah dapat menstimulasi pertumbuhan tetapi pada dosis tinggi menimbulkan penghambatan pertumbuhan. Berdasarkan fenomena tersebut maka berbagai upaya dilakukan untuk mendapatkan manfaat dari senyawa yang bersifat toksik dalam jumlah atau dosis yang relatif kecil. Fenomena yang menyatakan hubungan antara pemberian dosis dengan respon yang dihasilkan disebut sebagai peristiwa hormesis kimia (Calabrese & Baldwin, 1998; Calabrese, 2004).

Hasil penelitian *in vivo* tentang bioaktivitas ekstrak *U. fasciata* dan *T. decurrens* pada mencit C3H bertumor (*Adenocarcinoma mammae*) memperlihatkan ekstrak *U. fasciata* bersifat lebih aktif atau lebih potensial menekan laju pertumbuhan tumor payudara.

Hasil penelitian *in vitro* oleh Marraskuranto *et al.* (2008) yang menyatakan bahwa bioaktivitas fraksi heksan dari ekstrak etanol *U. fasciata* relatif setara terhadap sel tumor HeLa (IC_{50} 25,6 μ g/mL) dan terhadap sel tumor T47D (IC_{50} 28,7 μ g/mL), sedangkan bioaktivitas fraksi etil asetat terhadap sel tumor HeLa (IC_{50} 66,23 μ g/mL) dan terhadap sel tumor T47D (IC_{50} 65,33 μ g/mL). Akan tetapi Wikanta *et al.* (2010^b) menyatakan bahwa fraksi etil asetat dari ekstrak aseton *U. fasciata* memiliki aktivitas sitotoksik yang sangat kuat terhadap sel HeLa dengan IC_{50} sebesar 19 μ g/mL. Fraksinasi terhadap fraksi etil asetat tersebut melalui kolom Septra C-18 menghasilkan 6 subfraksi. Hasil uji sitotoksik dari 6 subfraksi tersebut terhadap sel tumor HeLa pada dosis 19 μ g/mL, berdasarkan klasifikasi Carballo *et al.* (2002),

kelompok K-IV mengalami penurunan bobot badan lebih banyak tetapi memberikan nilai *doubling time* sangat tinggi (26 hari).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil uji pemberian ekstrak etil asetat dari *U. fasciata* dan *T. decurrens* pada mencit maka diperoleh kesimpulan sebagai berikut:

1. Nilai LD₅₀ ekstrak etil asetat *U. fasciata* adalah 413,22 mg/20 g BB atau 20,66 mg/kg BB mencit (per oral) dan *T. decurrens* adalah 242,99 mg/20 g BB atau 12,15 mg/kg BB mencit (per oral). Berdasarkan tabel Gleason, ekstrak etil asetat *U. fasciata* termasuk katagori praktis tidak toksik sedangkan ekstrak etil asetat *T. decurrens* termasuk katagori toksisitas ringan.
2. Pada setiap kelompok perlakuan selama pengamatan berlangsung, total bobot badan mencit relatif konstan, hanya ada sedikit penurunan atau peningkatan. Tubuh mencit makin kurus tetapi tumor makin membesar.
3. Berdasarkan nilai *doubling time* (DT) tumor, KIV (*U. fasciata* dosis 82,64 mg/20 g BB) memiliki nilai *doubling time* paling tinggi yakni 26 hari, berarti memiliki potensi atau daya hambat pertumbuhan tumor paling kuat dibandingkan kelompok uji lainnya. Potensi atau daya hambat pertumbuhan tumor makin menurun sesuai dengan urutan berikut : K-IV (*U. fasciata* dosis 82,64 mg/20 g BB) DT 26 hari, jauh lebih kuat dari K-V (*T. decurrens* dosis 24,29 mg/20 g BB) DT 9 hari, hampir sama dengan K-VI (*T. decurrens* dosis 48,59 mg/20 g BB) DT 8 hari, sama dengan K-II (Kontrol pelarut) DT 8 hari, dan lebih kuat K-III (*U. fasciata* dosis 41,32 mg/20 g BB) DT 6 hari, hampir sama dengan K-I (Kontrol negatif) DT 5 hari.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonymous. 2008. Doubling time chest x-ray: Your thoracic imaging resource. Diambil dari: <http://www.chestxray.com/SPN/DoublingTime>. Diakses pada tanggal 29 Juli 2008.
- Anonymous. 2009. Liposom. Diambil dari: http://www.soskin.fr/images/soskin/ams_graph02.jpg. Diakses pada tanggal 15 Januari 2009.
- Ashok, R.P. and Pradeep, R.V. 2007. Preparation and *in vivo* evaluation of SMEDDS (*Self-Microemulsifying Drug Delivery System*) containing fenofibrate. *AAPS Journal*. 9(3): E344–E352.
- Atmadja, W.S., Kadi, A., Sulistijo, dan Satari, R. 1996. *Pengenalan Jenis-Jenis Rumput Laut Indonesia*. Puslitbang Oseanologi, LIPI. Jakarta. p. 7–23.
- Berninghausen, O. and Leippe, M. 1997. Necrosis versus apoptosis as the mechanism of target cell death induced by *Entamoeba histolytica*. *Infection and immunity*. 65(9): 3615–3620.
- Boik, J. 1996. *Cancer & Natural Medicine : A Textbook of Basic Science and Clinical Research*. Oregon Medical Press, USA. p. 80–84.
- Carballo, J.L., Hernandez-Inda, Z.L., Perez, P., and Garcia-Gravalos, M.D. 2002. A comparison between two brine shrimp assay to detect *in vitro* cytotoxicity in marine natural product (Methodology Article). *BMC Biotechnology*. 2: 1–5.
- Chakraborty, K. and Paulraj, R. 2010. Sesquiterpenoids with free-radical-scavenging properties from marine macroalga *Ulva fasciata* Delile. *Food Chemistry*. 122(1): 31–41.
- Daniel, 2006. Lecithin benteng pelindung sel dari kerusakan. *Majalah Farmacia*. 5(8):50. Diambil dari: http://www.majalah-farmacia.com/rubrik/mag_details.asp?mid=10. Diakses pada tanggal 26 November 2008.
- Daniels, R. 2008. Liposomes-classification, processing technologies, industry applications and risk assessment. Diambil dari: <http://www.azonano.com>. Diakses pada tanggal 6 Oktober 2008.
- Dive, C., Gregory, C.D., Phipps, D.J., Evans, D.L., Milner, A.E., and Wyllie, H. 1992. Analysis and discrimination of necrosis and apoptosis (programmed cell death) by multiparameter flow cytometry. *Biochim. Et Biophys. Acta*. 1133: 275–285.
- Fajarningsih, N.D., Nursid, M., Wikanta, T., dan Marraskuranto, E. 2008^a. Bioaktivitas ekstrak *Turbinaria decurrens* sebagai antitumor (HeLa dan T47D) serta efeknya terhadap proliferasi limfosit. *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*. 3(1): 21–28.
- Fajarningsih, N.D., Marraskuranto, E., dan Wikanta, T., 2008^b. Aktivitas antiangiogenesis ekstrak heksan *Turbinaria decurrens*. *Pros. Sem. Nas. Perikanan dan Kelautan Bidang Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan*. Kerjasama FPIKUB–BBRSEKP–BBRP2BKP, Malang 8 Nopember 2008. BTK-11. p. 65–67.
- Gleason, M.N. 1969. *Clinical Toxicology of Commercial Product*. William and Wilkins, Baltimore. p. 3–4.
- Haryana, S.M. dan Soesatyo, M. 1995. Aspek genetik dan imunologik kanker payudara. *Cermin dunia kedokteran*. Diambil dari <http://www.cerminDuniaKedokteran/18AspekGenetik99.html>. Diakses pada tanggal 21 Juni 2008.
- Jufri, M., Anwar, E., dan Djajadisastra, J. 2004. Pembuatan Niosom berbasis maltodekstrin DE 5-10 dari pati singkong (*Manihot utilissima*). *Majalah Ilmu Kefarmasian*. 1(1): 10–20.
- Jufri, M. 2004. Arah dan perkembangan liposome drugs delivery systems. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. 1(2): 59–68.
- Kazuo M., 2004. Drug delivery systems by stealth liposome [abstrak]. *Pharm Tech Jpn*. 20(5): 963-968, 971-973 (Science Links Japan: 04A0334619). Diambil dari <http://sciencelinks.jp/j-east/article/200411/000020041104A033461>. Diakses pada tanggal 31 Juli 2008.

Tumor termasuk kategori nonmaligna apabila memiliki nilai *doubling time* > 500 hari (*Doubling time*, 2008). Oleh karena itu, untuk menekan laju pertumbuhan tumor maligna atau kanker agar mendapatkan nilai *doubling time* yang tinggi perlu diupayakan pencarian dosis ekstrak yang tepat dan komposisi serta jenis zat pembawa zat aktif yang tepat. Dosis tepat dan efisien diperlukan agar dapat memberikan efek toksik yang tinggi terhadap sel tumor dengan dosis yang tidak terlalu besar. Zat pembawa yang tepat dan efektif agar dapat menghantar zat aktif tersebut ke sel/jaringan target dengan aman tanpa mengalami fagositasi oleh RES sehingga dapat memberikan ketersediaan hayati (bioavailabilitas) zat aktif yang tinggi di dalam sistem peredaran darah serta bersifat aman terhadap sel normal.

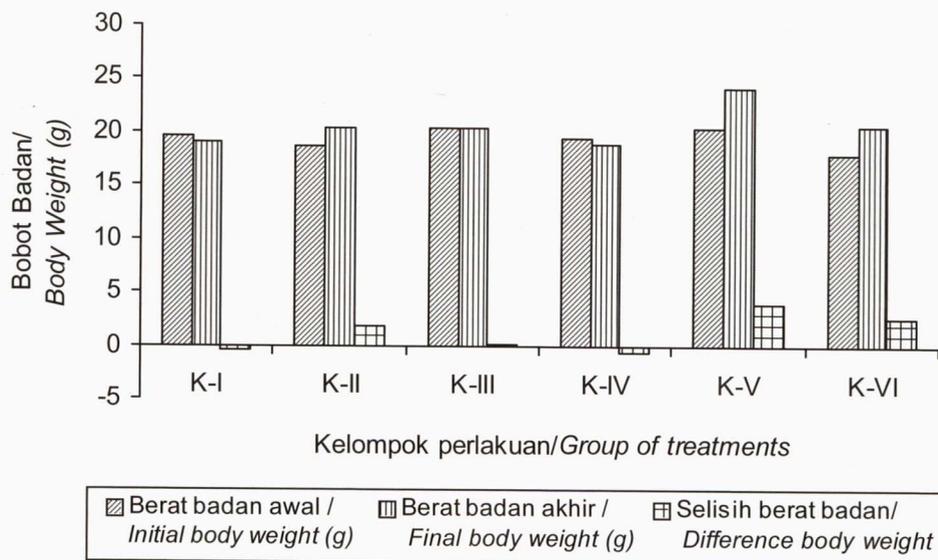
Analisis Bobot Badan

Pada penelitian ini bobot badan mencit yang ditimbang adalah seluruh bobot badan mencit ditambah tumor di mana pada awal penelitian yaitu pada hari ke-0, bobot badannya normal dan tumor masih sangat kecil, sedangkan pada hari terakhir yaitu hari ke 22 badan mencit lebih kurus dan tumornya besar. Makin kurusnya tubuh mencit berarti bahwa nutrisi yang masuk ke dalam tubuh mencit sebagian besar terdeposit pada tumor, dimetabolisme untuk

pertumbuhan tumor, hanya sebagian kecil yang terpakai untuk pertumbuhan tubuh mencit itu sendiri. Cadangan makanan yang tersimpan di bawah kulit mencit berarti makin habis terpakai karena dimetabolisme untuk kelangsungan hidupnya.

Hasil pengukuran bobot badan mencit selama pengamatan berlangsung disajikan pada Gambar 3. Bobot badan mencit dari hari ke 0 sampai hari ke 22 relatif tidak berubah atau konstan, hanya ada sedikit penurunan atau peningkatan, yaitu : K-I (kontrol negatif) turun sebesar -0,46 g (-2,36%), dan K-IV (*U. fasciata* dosis 82,64 mg/20 g BB) turun sebesar -0,66 g (-3,40%), sedangkan K-II (kontrol pelarut) naik sebesar +1,76 g (+9,42%), K-III (*U. fasciata* dosis 41,32 mg/20 g BB) naik sebesar +0,12 g (+0,59%), K-V (*T. decurrens* dosis 24,29 mg/20 g BB) naik sebesar +3,83 g (+18,82%), dan K-VI (*T. decurrens* dosis 48,59 mg/20g BB) naik sebesar +2,64 g (+14,80%).

Kelompok mencit K-II, K-V, dan K-VI mengalami peningkatan bobot badan agak banyak (2,6-9,4%) dan memberikan nilai *doubling time* sama atau relatif sama (8-9 hari), sedangkan kelompok K-III mengalami peningkatan bobot badan sangat sedikit (0,1%) dan memberikan nilai *doubling time* sedikit lebih rendah (6 hari). Kelompok mencit K-I mengalami penurunan bobot badan agak banyak (2,3%) tapi memberikan nilai *doubling time* rendah (5 hari), sedangkan



Gambar 3. Perubahan rata-rata bobot badan mencit dari 6 kelompok perlakuan. K-I= Kontrol negatif; K-II = Kontrol pelarut; K-III = *Ulva fasciata* dosis 41,32 mg/20 g BB; K-IV = *Ulva fasciata* dosis 82,64 mg/20 g BB; K-V = *Turbinaria decurrens* dosis 24,29 mg/20 g BB; K-VI = *Turbinaria decurrens* dosis 48,59 mg/20 g BB.

Figure 3. Changes of mean of mice body weight of 6 treatment groups. K-I = Negative control; K-II = Solvent control; K-III = *Ulva fasciata* dose of 41.32 mg/20 g BW; K-IV = *Ulva fasciata* dose of 82.64 mg/20 g BW; K-V = *Turbinaria decurrens* dose of 24.29 mg/20 g BW; K-VI = *Turbinaria decurrens* dose of 48.59 mg/20 g BW.

kelompok K-IV mengalami penurunan bobot badan lebih banyak tetapi memberikan nilai *doubling time* sangat tinggi (26 hari).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil uji pemberian ekstrak etil asetat dari *U. fasciata* dan *T. decurrens* pada mencit maka diperoleh kesimpulan sebagai berikut:

1. Nilai LD₅₀ ekstrak etil asetat *U. fasciata* adalah 413,22 mg/20 g BB atau 20,66 mg/kg BB mencit (per oral) dan *T. decurrens* adalah 242,99 mg/20 g BB atau 12,15 mg/kg BB mencit (per oral). Berdasarkan tabel Gleason, ekstrak etil asetat *U. fasciata* termasuk katagori praktis tidak toksik sedangkan ekstrak etil asetat *T. decurrens* termasuk katagori toksisitas ringan.
2. Pada setiap kelompok perlakuan selama pengamatan berlangsung, total bobot badan mencit relatif konstan, hanya ada sedikit penurunan atau peningkatan. Tubuh mencit makin kurus tetapi tumor makin membesar.
3. Berdasarkan nilai *doubling time* (DT) tumor, KIV (*U. fasciata* dosis 82,64 mg/20 g BB) memiliki nilai *doubling time* paling tinggi yakni 26 hari, berarti memiliki potensi atau daya hambat pertumbuhan tumor paling kuat dibandingkan kelompok uji lainnya. Potensi atau daya hambat pertumbuhan tumor makin menurun sesuai dengan urutan berikut : K-IV (*U. fasciata* dosis 82,64 mg/20 g BB) DT 26 hari, jauh lebih kuat dari K-V (*T. decurrens* dosis 24,29 mg/20 g BB) DT 9 hari, hampir sama dengan K-VI (*T. decurrens* dosis 48,59 mg/20 g BB) DT 8 hari, sama dengan K-II (Kontrol pelarut) DT 8 hari, dan lebih kuat K-III (*U. fasciata* dosis 41,32 mg/20 g BB) DT 6 hari, hampir sama dengan K-I (Kontrol negatif) DT 5 hari.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonymous. 2008. Doubling time chest x-ray: Your thoracic imaging resource. Diambil dari: <http://www.chestxray.com/SPN/DoublingTime>. Diakses pada tanggal 29 Juli 2008.
- Anonymous. 2009. Liposom. Diambil dari: http://www.soskin.fr/images/soskin/ams_graph02.jpg. Diakses pada tanggal 15 Januari 2009.
- Ashok, R.P. and Pradeep, R.V. 2007. Preparation and *in vivo* evaluation of SMEDDS (*Self-Microemulsifying Drug Delivery System*) containing fenofibrate. *AAPS Journal*. 9(3): E344–E352.
- Atmadja, W.S., Kadi, A., Sulistijo, dan Satari, R. 1996. *Pengenalan Jenis-Jenis Rumput Laut Indonesia*. Puslitbang Oseanologi, LIPI. Jakarta. p. 7–23.
- Berninghausen, O. and Leippe, M. 1997. Necrosis versus apoptosis as the mechanism of target cell death induced by *Entamoeba histolytica*. *Infection and immunity*. 65(9): 3615–3620.
- Boik, J. 1996. *Cancer & Natural Medicine : A Textbook of Basic Science and Clinical Research*. Oregon Medical Press, USA. p. 80–84.
- Carballo, J.L., Hernadez-Inda, Z.L., Perez, P., and Garcia-Gravalo, M.D. 2002. A comparison between two brine shrimp assay to detect *in vitro* cytotoxicity in marine natural product (Methodology Article). *BMC Biotechnology*. 2: 1–5.
- Chakraborty, K. and Paulraj, R. 2010. Sesquiterpenoids with free-radical-scavenging properties from marine macroalga *Ulva fasciata* Delile. *Food Chemistry*. 122(1): 31–41.
- Daniel, 2006. Lecithin benteng pelindung sel dari kerusakan. *Majalah Farmacia*. 5(8):50. Diambil dari: http://www.majalah-farmacia.com/rubrik/mag_details.asp?mid=10. Diakses pada tanggal 26 November 2008.
- Daniels, R. 2008. Liposomes-classification, processing technologies, industry applications and risk assessment. Diambil dari: <http://www.azonano.com>. Diakses pada tanggal 6 Oktober 2008.
- Dive, C., Gregory, C.D., Phipps, D.J., Evans, D.L., Milner, A.E., and Wyllie, H. 1992. Analysis and discrimination of necrosis and apoptosis (programmed cell death) by multiparameter flow cytometry. *Biochim. Et Biophys. Acta*. 1133: 275–285.
- Fajarningsih, N.D., Nursid, M., Wikanta, T., dan Marraskuranto, E. 2008^a. Bioaktivitas ekstrak *Turbinaria decurrens* sebagai antitumor (HeLa dan T47D) serta efeknya terhadap proliferasi limfosit. *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*. 3(1): 21–28.
- Fajarningsih, N.D., Marraskuranto, E., dan Wikanta, T., 2008^b. Aktivitas antiangiogenesis ekstrak heksan *Turbinaria decurrens*. *Pros. Sem. Nas. Perikanan dan Kelautan Bidang Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan*. Kerjasama FPIKUB–BBRSEKP–BBRP2BKP, Malang 8 Nopember 2008. BTK-11. p. 65–67.
- Gleason, M.N. 1969. *Clinical Toxicology of Commercial Product*. William and Wilkins, Baltimore. p. 3–4.
- Haryana, S.M. dan Soesatyo, M. 1995. Aspek genetik dan imunologik kanker payudara. *Cermin dunia kedokteran/18AspekGenetik99.html*. Diakses pada tanggal 21 Juni 2008.
- Jufri, M., Anwar, E., dan Djajadisastra, J. 2004. Pembuatan Niosom berbasis maltodekstrin DE 5-10 dari pati singkong (*Manihot utilissima*). *Majalah Ilmu Kefarmasian*. 1(1): 10–20.
- Jufri, M. 2004. Arah dan perkembangan liposome drugs delivery systems. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. 1(2): 59–68.
- Kazuo M., 2004. Drug delivery systems by stealth liposome [abstrak]. *Pharm Tech Jpn*. 20(5): 963-968, 971-973 (Science Links Japan: 04A0334619). Diambil dari <http://sciencelinks.jp/j-east/article/200411/000020041104A033461>. Diakses pada tanggal 31 Juli 2008.