

# EKSTRAKSI KOMPONEN AKTIF SEBAGAI ANTIKANKER PADA SEL LESTARI KEONG MATAH MERAH (*Cerithidea obtusa*)<sup>1</sup>

(Active Components extraction from *Matah merah* Mollusks (*Cerithidea obtusa*) for use as anti-cancer for Cells Line)

Sri Purwaningsih<sup>2</sup>, Rimbawan<sup>3</sup>, dan Bambang P. Priosoeryanto<sup>4</sup>

## ABSTRAK

Komponen bioaktif dari bahan alami telah banyak diteliti untuk digunakan sebagai obat antikanker. Penelitian mengenai komponen bioaktif dari keong matah merah (*Cerithidea obtusa*) sebagai antikanker belum pernah dilaporkan. Penelitian ini bertujuan: (1) Menentukan cara ekstraksi keong matah merah dengan beberapa pelarut (air, air + methanol, aseton, etil asetat, dan methanol), dan (2) Uji aktivitas zat aktif dari keong matah merah dalam melawan sel lestari kanker (K562, A 549, dan HeLa/*cervix cancer*). Dari penelitian dapat ditentukan bahwa waktu ekstraksi terbaik yang dipilih untuk penelitian adalah 72 jam dan perbandingan antara bahan baku dengan pelarut adalah 1:6 (w/v). Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai terbaik adalah ekstrak keong matah merah dengan pelarut aseton yang mempunyai daya hambat terbesar pada sel kanker (90.62% untuk HeLa/*cervix cancer*, 79.84% kanker paru/A 549, dan 76.71% untuk leukemia/K562) pada konsentrasi 25 ppm.

**Kata kunci:** Antikanker, *Cerithidea obtuse*, ekstraksi, sel tumor lestari.

## ABSTRACT

Bioactive components derive from natural substances have been widely studied for the use as an anti-cancer drug. A study on a bioactive component from matah merah mollusks (*Cerithidea obtusa*) as an anti-cancer has not yet been reported. This research was intended to find the best method of extraction for the bioactive components of this animal. The research were divided into of two stages: (1) an extraction of matah merah mollusks by applying various solvents (water, water and methanol, acetone, ethyl acetate, and methanol), and (2) anti-proliferation ability of matah merah mollusks against tumor cell line (HeLa/*cervix cancer*, A 549, and K562). The results showed that the best extraction time was is 72 hours with the ratio of main material and solvents being 1:6 (w/v). The result also found that acetone of 25 ppm was the best solution resulted the strongest inhibiting power against cancer cells (90.62% against HeLa/*cervix cancer*, 79.84% against lung cancer/A 549, and 76.71% against leukemia/ K562).

**Key words:** Anti-cancer, *Cerithidea obtuse*, extraction, tumor cell line.

## PENDAHULUAN

Menurut letaknya, Indonesia berada di wilayah segitiga Indopasifik Barat dengan iklim tropis yang menyebabkan kehidupan biota lautnya berinteraksi sangat dinamis. Hal ini membuat organisme di dalamnya dipacu untuk memproduksi senyawa metabolit sekunder sebagai senyawa yang diperlukan untuk mempertahankan kelangsungan hidup baik sebagai upaya untuk mempertahankan diri dari predator maupun perbaikan genetiknya untuk diturunkan

ke generasi berikutnya. Senyawa metabolit sekunder ini umumnya sangat bermanfaat bagi manusia sebagai senyawa bioaktif yang bernilai tinggi.

Dari sumber laut tersebut, invertebrata laut seperti *sponge*, ascidian dan moluska merupakan biota laut utama penghasil senyawa bioaktif. Senyawa bioaktif yang berasal dari invertebrata laut banyak digunakan sebagai obat, pangan dan produk pertanian. Senyawa bioaktif yang digunakan sebagai obat seperti antikanker, antibiotik, antiinflamasi, antivirus yang telah dikembangkan oleh badan-badan penelitian dan industri farmasi dunia (Widihati 2005).

Beberapa penelitian tentang pencarian obat baru sebagai antikanker dari bahan alami khususnya dari bahan alami laut biasanya de-

<sup>1</sup> Diterima 22 Agustus 2007 / Disetujui 14 Desember 2007.

<sup>2</sup> Bagian Bioteknologi Hasil Perairan, Departemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor, Bogor.

<sup>3</sup> Departemen Gizi Masyarakat dan Sumberdaya Keluarga, Fakultas Ekologi Manusia, Institut Pertanian Bogor, Bogor.

<sup>4</sup> Departemen Parasitologi dan Patologi, Institut Pertanian Bogor, Bogor.

ngan melakukan ekstraksi terlebih dahulu kemudian dilakukan pemurnian terhadap ekstrak kasar yang potensial untuk diujikan secara bio-asay. Penelitian dari tepung tulang ikan hiu oleh Jiao *et al.* (2004), mengekstraksi tepung tulang hiu dengan Gu-HCl guanidine kemudian dilakukan pemurnian dengan menggunakan *Superdex 75 chromatography* untuk mendapatkan fraksi aktif berupa Sp15 dan Sp 8 yang efektif sebagai antikanker. Penelitian lain yang dilakukan Davis *et al.* (2004) meneliti tentang rigidin E dari tunicate yang berasal dari Papua New Guinea dengan cara melakukan ekstraksi bahan baku dengan DCM, metanol, dan air, ternyata dari uji penapisan ekstrak dari metanol yang paling baik sehingga ekstrak tersebut dilanjutkan ke pemurnian dengan menggunakan sephadex LH-20 kolom kromatografi dan dihasilkan 9 fraksi utama. Langkah terakhir untuk mendapatkan rigidin E adalah melakukan pemurnian dengan kolom C<sub>18</sub> dengan HPLC sehingga didapatkan rigidin E baru yaitu rigidin E1 dan rigidin E2 yang efektif menghambat pertumbuhan sel lestari kanker.

Penelitian ini bertujuan: a) menentukan perbandingan jumlah zat dengan pelarut dan waktu ekstraksi untuk mendapatkan rendemen terbanyak, b) menentukan ekstrak terbaik dalam menghambat sel kanker melalui uji penapisan pada sel HeLa/*cervix cancer*, sel kanker paru/A 549, dan sel kanker leukemia / K562.

## METODE

### Bahan dan Alat

Bahan baku yang digunakan dalam penelitian ini adalah keong matah merah (*Cerithidea obtusa*) yang berasal dari pantai Kenjeran, Kecamatan Bulak, Kabupaten Surabaya, Jawa Timur. Bahan kimia yang digunakan adalah air, campuran air dengan metanol, metanol, etil asetat, aseton, dan bahan kimia untuk media pertumbuhan. Bahan kimia yang digunakan untuk uji secara *in vitro* adalah media DMEM/F 12 (*Dulbecco's Modified Eagle Medium*), NaHCO<sub>3</sub>, antibiotik penisilin streptomisin, FBS (*Fetal Bovine Serum*), EDTA-PBS (*Ethylene Diamine Tetraacetic Acid-Phospat Bovine Serum*), dan tripsin. Adapun uji sel yang digunakan adalah sel HeLa, Paru/A549, dan leukemia/K562.

Peralatan yang digunakan untuk ekstraksi adalah erlenmeyer, corong pisah, kertas saring,

vakum evaporator, *freeze drying*, timbangan, sedangkan peralatan yang digunakan untuk uji secara *in vitro* antara lain: *Tissue Culture Plate 24 well*, mikropipet, spoit, tabung *ependorf*, CO<sub>2</sub> inkubator, bunsen, *laminar air flow*, sentrifus, vortex, dan mikroskop cahaya.

### Tahapan Ekstraksi Komponen Aktif

Penelitian ini dilakukan untuk menentukan lama/waktu ekstraksi keong matah merah (*Cerithidea obtusa*) yang terbaik, yaitu dengan lama waktu yang diuji cobakan adalah 24, 48, 72, 86, dan 110 jam. Dilanjutkan dengan penelitian konsentrasi pelarut yaitu mencari perbandingan antara tepung matah merah dengan pelarut. Proses ekstraksi dilakukan dengan menggunakan 5 jenis pelarut yaitu air, air dan metanol, metanol, etil asetat, aseton. Perbandingan antara tepung keong matah merah (*Cerithidea obtusa*) dengan pelarut yang diuji cobakan adalah 1:1, 1:2, 1:3, 1:4, 1:5, 1:6, dan 1:7 (b/v).

### Tahapan Pengujian Aktivitas Antikanker

**Media sel kanker.** Media DMEM/F 12 (*Dulbecco's Modified Eagle Medium*) bubuk sebanyak satu paket dimasukkan ke dalam botol steril yang berisi 900 ml aquabides steril dan dihomogenisasi dengan *stirer* tanpa pemanasan, selanjutnya ditambahkan 12 g NaHCO<sub>3</sub>, antibiotik penisilin streptomisin 0.2%, dihomogenkan kembali kemudian ditambahkan akuabides sampai larutan menjadi 1000 ml. Media disaring menggunakan kertas saring steril ukuran 0.02  $\mu$ m secara aseptik dan hasil penyaringan dimasukkan dalam botol steril dan disimpan dalam lemari es pada suhu 2-8 °C sampai digunakan kembali. Apabila akan digunakan sebagai media tumbuh, media DMEM/F ditambahkan 10% FBS (*Fetal Bovine Serum*).

**Pengujian dalam microplate 24 sumur.** Suspensi sel ( $1 \times 10^6$  koloni/ml) dimasukan dalam sumur. Kultur diinkubasi pada inkubator dengan kondisi 5% CO<sub>2</sub>, 37°C, dan RH 90% selama 4 hari, untuk dilakukan pemanenan sel.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Hasil Ekstraksi Keong Matah Merah (*Cerithidea obtusa*)

Ekstraksi keong matah merah dilakukan dengan beberapa cara dari berbagai pelarut untuk memperoleh hasil paling baik, yaitu: (1) pe-

entukan lama ekstraksi keong matah merah; dan (2) penentuan perbandingan antara bahan dengan pelarut. Rendemen hasil dari lama eks-

traksi yang diperoleh disajikan pada Tabel 1, sedangkan perbandingan antara bahan dengan pelarut disajikan pada Tabel 2.

**Tabel 1. Nilai Rata-rata Rendemen (%) pada Perbandingan Zat dengan Pelarut 1:6 (b/v).**

Pelarut	Lama ekstraksi				
	24 jam (%)	48 jam (%)	72 jam (%)	86 jam (%)	110 jam (%)
Air	3.49 <sup>(a)</sup>	4.92 <sup>(b)</sup>	5.91 <sup>(b)</sup>	6.22 <sup>(b)</sup>	5.98 <sup>(b)</sup>
Air+metanol	3.02 <sup>(a)</sup>	4.78 <sup>(b)</sup>	5.68 <sup>(b)</sup>	5.77 <sup>(b)</sup>	5.17 <sup>(b)</sup>
Aceton	2.98 <sup>(a)</sup>	2.89 <sup>(a)</sup>	4.02 <sup>(b)</sup>	4.21 <sup>(b)</sup>	4.45 <sup>(b)</sup>
Metanol	2.27 <sup>(a)</sup>	3.21 <sup>(a)</sup>	4.08 <sup>(b)</sup>	4.06 <sup>(b)</sup>	4.27 <sup>(b)</sup>
Etil asetat	2.889 <sup>(a)</sup>	3.01 <sup>(a)</sup>	3.88 <sup>(ab)</sup>	3.98 <sup>(b)</sup>	3.88 <sup>(ab)</sup>
	kuning/bening	kuning/bening	kuning/bening	kuning tua	kuning tua
	coklat/keruh	coklat/keruh	coklat/keruh	coklat&bau	coklat&bau
	coklat/keruh	coklat/keruh	coklat/keruh	coklat/keruh	coklat&bau
	hijau/bening	hijau/bening	hijau/bening	hijau/bening	hijau/bening

Keterangan: Angka-angka pada baris yang sama yang diikuti huruf superscript berbeda (a, b) menunjukkan berbeda nyata ( $p < 0$ ).

**Tabel 2. Rendemen hasil ekstraksi (%) selama 72 jam**

Pelarut	Perbandingan (bahan: pelarut)						
	1:1	1:2	1:3	1:4	1:5	1:6	1:7
Air	2.61 <sup>(a)</sup>	2.42 <sup>(a)</sup>	2.92 <sup>(a)</sup>	3.31 <sup>(ab)</sup>	4.12 <sup>(b)</sup>	5.21 <sup>(b)</sup>	6.11 <sup>(b)</sup>
Air+metanol	2.12 <sup>(a)</sup>	2.91 <sup>(a)</sup>	2.12 <sup>(a)</sup>	3.21 <sup>(ab)</sup>	4.31 <sup>(b)</sup>	5.82 <sup>(b)</sup>	5.87 <sup>(b)</sup>
Aseton	1.73 <sup>(a)</sup>	1.92 <sup>(a)</sup>	2.02 <sup>(a)</sup>	2.72 <sup>(a)</sup>	2.98 <sup>(a)</sup>	4.04 <sup>(b)</sup>	4.01 <sup>(b)</sup>
Metanol	2.22 <sup>(a)</sup>	2.68 <sup>(a)</sup>	2.88 <sup>(a)</sup>	2.82 <sup>(a)</sup>	3.22 <sup>(ab)</sup>	4.86 <sup>(b)</sup>	5.21 <sup>(b)</sup>
Etil asetat	1.81 <sup>(a)</sup>	2.02 <sup>(a)</sup>	2.05 <sup>(a)</sup>	2.81 <sup>(ab)</sup>	2.78 <sup>(a)</sup>	3.82 <sup>(ab)</sup>	4.01 <sup>(b)</sup>

Keterangan: Angka-angka pada baris yang sama yang diikuti huruf superscript berbeda (a, b) menunjukkan berbeda nyata ( $p < 0$ ).

Hasil analisa ragam menunjukkan bahwa lama ekstraksi keong matah merah (*Cerithidea obtusa*) berpengaruh nyata terhadap rendemen yang dihasilkan. Uji beda Duncan menunjukkan bahwa lama ekstraksi 24 jam dan ekstraksi 48 jam berbeda dengan lama ekstraksi 72 jam, 89 jam dan 110 jam, sedangkan lama ekstraksi untuk 72 jam, 86 jam dan 110 jam tidak berbeda nyata. Berdasarkan lama ekstraksi dapat disimpulkan bahwa ekstraksi yang dipilih untuk penelitian selanjutnya adalah 72 jam, karena disamping hasilnya baik dan mendapat rendemen tinggi, untuk pelarut organik belum banyak lemak yang terambil dan untuk pelarut air belum timbul bau busuk yang menyengat.

Hasil analisa ragam menunjukkan bahwa perbandingan antara bahan dengan pelarut pada ekstraksi keong matah merah berpengaruh nyata terhadap rendemen yang dihasilkan. Uji beda Duncan menunjukkan bahwa perbandingan antara bahan dengan pelarut 1:1, 1:2, 1:3, 1:4, 1:5 berbeda dengan perbandingan antara bahan de-

ngan pelarut 1:6, 1:7. Dari hasil analisis tersebut dapat disimpulkan bahwa perbandingan antara bahan dengan pelarut ekstraksi yang dipilih untuk penelitian selanjutnya adalah 1:6, karena perbandingan antara bahan dengan pelarut 1:6 dengan 1:7 tidak berbeda nyata.

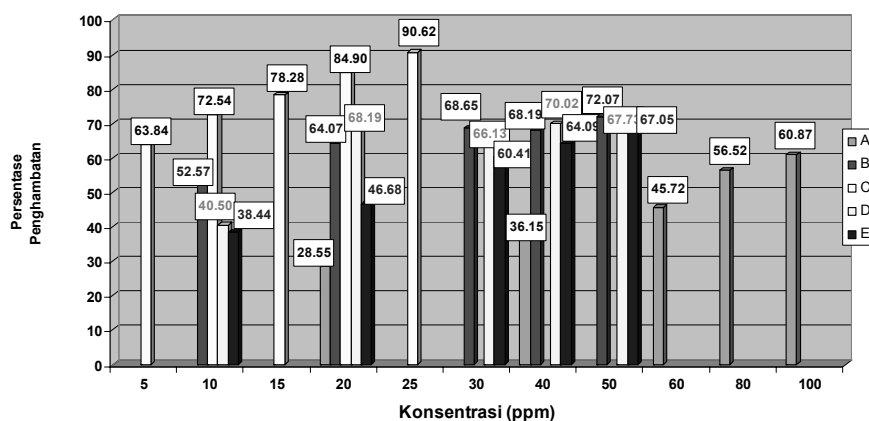
### Uji Bioaktivitas Ekstrak Keong Matah Merah pada Alur Sel Kanker

Uji bioaktivitas ekstrak matah merah (*Cerithidea obtusa*) diukur berdasarkan analisis penghambatan terhadap berbagai alur sel kanker, yaitu HeLa (*servix cancer*), kanker paru (*Lung carcinoma = A549*), leukemia (*K562*) (Gambar 1, Gambar 2 dan Gambar 3).

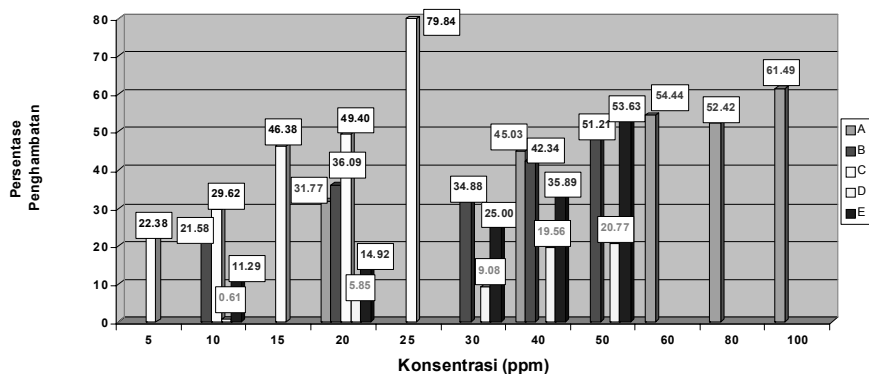
Analisis ragam menunjukkan bahwa ekstrak keong matah merah, yaitu ekstrak dari air, air dan metanol, aseton, etil asetat, serta metanol berpengaruh nyata ( $\alpha = 0.05$ ) terhadap penghambatan proliferasi sel kanker HeLa. Uji beda Duncan menunjukkan bahwa penghambatan tertinggi terjadi pada ekstrak dengan pelarut

aseton pada konsentrasi 25 ppm yaitu sebesar 90.62% dan berbeda dengan ekstrak yang lain. Hal ini juga menunjukkan bahwa zat antiproliferasi bersifat semipolar, karena dapat larut pada pelarut aseton. Efek penghambatan proliferasi sel yang tinggi disebabkan oleh kadar ekstrak dengan pelarut aseton memiliki efek sitotoksitas terhadap sel kanker HeLa lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak lainnya. Tingginya daya hambat proliferasi terhadap sel HeLa diduga disebabkan sel tersebut sedang berproliferasi

yaitu sedang berada pada fase mitosis (M) atau fase pasca mitosis ( $G_1$ ) yang mensintesis RNA dan protein. Sibuea (1981) menyatakan bahwa pada fase proliferasi merupakan sel-sel yang sensitif terhadap efek senyawa antitumor dan obat sitostatika bekerja dengan jalan merusak enzim atau substrat yang dipengaruhi oleh sistem enzim atau substrat yang berhubungan dengan sintesa DNA, sehingga obat tersebut mampu menghambat sel yang sedang membentuk DNA atau sel yang sedang membelah.



**Gambar 1.** Penghambatan Ekstrak Matah Merah Terhadap Pertumbuhan Alur Sel Kanker Hela (Kanker Serviks). Keterangan: A: Pelarut Air; B: Pelarut Air dan Metanol; C: Pelarut Aseton; D: Pelarut Etil Asetat; E: Pelarut Metanol.



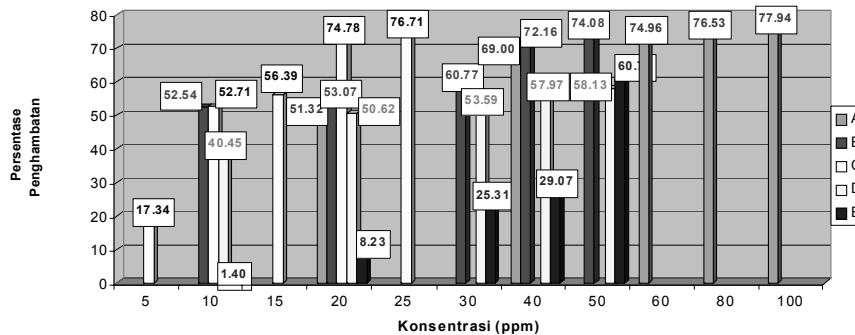
**Gambar 2.** Penghambatan Ekstrak Matah Merah Terhadap Pertumbuhan Alur Sel Kanker Paru (A 549). Keterangan: A: Pelarut Air; B: Pelarut Air Dan Metanol; C: Pelarut Aseton; D: Pelarut Etil Asetat; E: Pelarut Metanol.

Gambar 1 menunjukkan bahwa ekstrak keong matah merah mempunyai aktivitas penghambatan terhadap pertumbuhan alur sel HeLa yang diujikan. Pada dosis 20 ppm menunjukkan bahwa ekstrak dengan pelarut air mempunyai penghambatan yang terendah dibandingkan dengan ekstrak lain yaitu 28.55%. Hal ini disebabkan oleh rendahnya kandungan zat aktif yang bersifat sitotoksik.

Gambar 2 menunjukkan bahwa ekstrak keong matah merah mempunyai aktivitas penghambatan terhadap pertumbuhan alur sel paru (A549) yang diujikan. Pada dosis 10 ppm ekstrak dengan pelaut etil asetat mempunyai penghambatan terendah dibandingkan dengan ekstrak lain yaitu 0.16%, yang disebabkan rendahnya kandungan zat aktif yang bersifat sitotoksik. Menurut Giordano dan Saprano (2005),

rendahnya kemampuan zat aktif dalam menghambat sel kanker kemungkinan disebabkan ganasnya kanker sehingga protein p16 tidak dapat memblokir CDK4 dan CDK6 dalam sel, sehingga faktor pertumbuhan kanker yaitu *Platelet-derived Growth Factor* (PDGF) dan *Transforming Growth Factor  $\alpha$*  (TGF- $\alpha$ ) menginduksi sel keluar dari fase G1 yang mengakibatkan regulasi *cyclin D dependent kinase* sehingga sel masuk pada fase S dan berproliferasi tidak terkendali.

rendahnya kemampuan zat aktif dalam menghambat sel kanker kemungkinan disebabkan ganasnya kanker sehingga protein p16 tidak dapat memblokir CDK4 dan CDK6 dalam sel, sehingga faktor pertumbuhan kanker yaitu *Platelet-derived Growth Factor* (PDGF) dan *Transforming Growth Factor  $\alpha$*  (TGF- $\alpha$ ) menginduksi sel keluar dari fase G1 yang mengakibatkan regulasi *cyclin D dependent kinase* sehingga sel masuk pada fase S dan berproliferasi tidak terkendali.



**Gambar 3.** Penghambatan Ekstrak Matah Merah Terhadap Pertumbuhan Alur Sel Kanker Leukemia (K562). Keterangan: A: Pelarut Air; B: Pelarut Air Dan Metanol; C: Pelarut Aseton; D: Pelarut Etil Asetat; E: Pelarut Metanol.

Analisis ragam menunjukkan bahwa ekstrak keong matah merah berpengaruh sangat nyata ( $\alpha = 0.05$ ) terhadap penghambatan proliferasi sel kanker paru (A 549). Uji beda Duncan menunjukkan bahwa penghambatan tertinggi terjadi pada ekstrak dengan pelarut aseton dengan konsentrasi 25 ppm yaitu sebesar 79.84% berbeda dengan ekstrak yang lain.

Sel paru (A 549) tergolong dalam kelompok kanker yang monolayer maka untuk mencapai konsentrasi  $1.0 \times 10^6$  sel/ml dalam kultur dibutuhkan waktu sekitar 4 sampai 5 hari. Hal ini diduga sebagian sel tidak berada dalam fase proliferasi (M dan S) ketika dilakukan pengujian sehingga sel masih mampu bertahan walaupun diberi ekstrak.

Gambar 3, menunjukkan bahwa ekstrak keong matah merah mempunyai aktivitas penghambatan terhadap pertumbuhan alur sel leukemia (K562) yang diujikan. Pada dosis 10 ppm menunjukkan bahwa ekstrak dengan pelarut metanol mempunyai penghambatan yang terendah dibandingkan dengan ekstrak lain yaitu 1.40%, hal ini disebabkan oleh rendahnya kandungan zat aktif yang bersifat sitotoksik.

Analisis ragam menunjukkan bahwa ekstrak keong matah merah berpengaruh sangat nyata ( $\alpha = 0.05$ ) terhadap penghambatan proliferasi sel kanker leukemia (K562). Uji beda Duncan menunjukkan bahwa penghambatan tertinggi terjadi pada ekstrak dengan pelarut

aseton pada konsentrasi 25 ppm yaitu sebesar 76.71% berbeda dengan ekstrak yang lain. Penghambatan terhadap sel kanker didukung oleh penelitian Ching *et al.* (2006) yang menyatakan bahwa mekanisme proses penghambatan obat antikanker pada sel adalah melalui penghambatan pada tropoisomerase I dan II, FLT3 (*tyrosine kinase III*), CDKI (*cyclin-dependent kinase I*), dan *histone deacetylase* (HDAC), yang menyebabkan sel berhenti berkembang, mengalami apoptosis dan terdeferensiasi. Rifaii *et al.* (2006) menyatakan bahwa *fasciculation* merupakan hasil isolasi dari spons spesies *Ircinia variabilis* yang berasal dari Laut Atlantic di Maroco mempunyai aktivitas menghambat sel kanker lymphocyt pada manusia, MCF-7 (payudara) sebesar 47.11%, NCI-H640 (paru-paru) sebesar 64.47%, dan SF-2688 (CNS) 72.45%, tetapi tidak menghambat limfosit perifer normal. Komponen alami dari laut lain diteliti oleh Schwartsmann *et al.* (2006) dari moluska yang dari pantai India yaitu *Dolabella auricularia* yang menghasilkan zat antikanker berupa protein kecil dengan aktivitas menghambat mikrotubuli dan menyebabkan sel terakumulasi pada fase metafase dan akhirnya menyebabkan kematian sel kanker.

## KESIMPULAN

Lama ekstraksi adalah 72 jam dan perbandingan antara bahan baku dengan pelarut a-

dalah 1:6, memberikan rendemen tertinggi. Ekstrak matah merah mempunyai daya antiproliferasi terhadap tiga jenis alur sel kanker yaitu HeLa (*servix cancer*), kanker paru (*lung carcinoma* = A549), dan leukemia (K562). Nilai terbaik adalah ekstrak matah merah dengan pelarut aseton yang mempunyai daya hambat tertinggi terhadap 3 jenis sel kanker, yaitu sebesar 90.62% untuk kanker HeLa, 79.84% kanker paru, 76.71% untuk kanker leukemia pada konsentrasi 25 ppm.

## PUSTAKA

- Ching YW, Balunas MJ, Chai HB, dan Kinghorn AD. 2006. **Drug discovery from natural sources. Basic Research to Therapies.** AAPS. (<http://www.aapsj.org> [21 Juli 2006]).
- Davis RA, Christensen LV, Richardson AD, Rocha RM, Ireland CM. 2004. Rigidin E, A new pyrrolopyrimidine alkaloid from a Papua New Guinea Tunicate *Eudistoma* species. *J. Mar. Drugs.*, 1: 27-33.
- Giardino A, Soprano KJ. 2005. **Cell cycle inhibitors in cancer therapy.** New Jersey. Human Press.
- Jiao B, Chen J, Miao W, Wang L, Zhu Y, Miao H. 2004. **Identification and biological characterization of angiogenic and tumor growth inhibitors derived from *Sinica cetorhinus maximum cartilage*.** *J. Mar. Drugs*, 2: 30-38.
- Rifaii S, Fassouane A, Pingo P, Ane K, Nazareth N, Sao M, Nascimeth Jdan Her W. 2006. **Cytotoxicity and inhibition of lymphocyte Proliferation of fasciculatio, a linear furanosesterpene isolated from *Ircinia variabilis* collected from the Atlantic coast of Morocco.** *Marine Drugs*, 3: 15-21.
- Schwartzmann G, daRoca AB, Bernlinck SGS, dan Jimeno J. 2006. **Marine organisme as a source of new anti-cancer agents.** *The Lancet Onco*, 2: 314-328.
- Sibuea W H. 1991. **Kemoterapi tumor ganas. In Diagnosa Dini Keganasan serta Penanggulangannya.** Lumbantobing S M, Setiawan B, Pringgoutomo S (eds). UI Press, Jakarta.
- Widihati R. 2004. **Implementasi bioteknologi hasil laut dalam bidang obat-obatan dan farmasi.** Pusat Pengkajian dan Penerapan Teknologi Farmasi dan Medika (Pusat P2FM). Jakarta: BPPT.