

BIOAKTIVITAS EKSTRAK *Turbinaria decurrens* SEBAGAI ANTITUMOR (HeLa DAN T47D) SERTA EFEKNYA TERHADAP PROLIFERASI LIMFOSIT

Nurrahmi Dewi Fajarningsih^{*)}, Muhammad Nursid^{*)}, Thamrin Wikanta^{*)}, dan Endar Marraskuranto^{*)}

ABSTRAK

Riset mengenai bioaktivitas ekstrak makroalga *Turbinaria decurrens* terhadap proliferasi sel limfosit dan sitotoksitas terhadap sel lestari tumor HeLa dan T47D telah dilakukan. Uji toksisitas dilakukan dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT), sedangkan uji sitotoksitas terhadap sel tumor HeLa dan T47D dilakukan dengan metode *3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide*) assay (metode MTT), uji proliferasi limfosit juga dilakukan dengan metode MTT. Hasil uji BSLT menunjukkan bahwa fraksi n-heksana *T. decurrens* memiliki toksisitas tertinggi dengan LC_{50} sebesar 672,59 ppm sehingga tergolong toksik. Sementara itu, ekstrak *T. decurrens* mempunyai aktivitas sitotoksitas terhadap sel tumor HeLa (LC_{50} ekstrak kasar = 29,9 ppm), namun tidak efektif terhadap sel T47D (LC_{50} ekstrak kasar >1.000 ppm). Fraksi n-heksana *T. decurrens* merupakan fraksi yang menunjukkan aktivitas sitotoksitas terbaik terhadap sel tumor HeLa dengan LC_{50} sebesar 15,1 ppm. Ekstrak kasar, fraksi metanol, fraksi etil asetat, dan fraksi n-heksana dari makroalga *T. decurrens* mampu meningkatkan proliferasi sel limfosit manusia. Metabolit sekunder dari fraksi n-heksana *T. decurrens* sangat prospektif dikembangkan sebagai senyawa antitumor.

ABSTRACT: *Bioactivity of Turbinaria decurrens extract as an antitumor (HeLa and T47D) and its effects on lymphocyte proliferation. By: Nurrahmi Dewi Fajarningsih, Muhammad Nursid, Thamrin Wikanta, and Endar Marraskuranto*

Studies to determine the bioactivity of macroalga Turbinaria decurrens extract againsts HeLa and T47D tumors and its effect on human lymphocyte proliferation have been carried out. Toxicity assay was conducted using Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) method while cytotoxicity assay against HeLa, T47D cell lines and for lymphocyte proliferation were carried out using 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) assay (MTT method). The results of BSLT test showed that T. decurrens n-hexane fraction has the highest toxicity with Lethal Concentration₅₀ (LC₅₀) value of 672.59 ppm. T. decurrens crude ethanol extract showed a high antitumor activity against HeLa cell lines with LC₅₀ value of 29.9 ppm. On other hand, the extract showed low bioactivity against T47D cell lines (LC₅₀ value >1,000 ppm). N-hexane fraction of T. decurrens showed the best bioactivity against HeLa cell lines with LC₅₀ value of 15.1 ppm, whereas crude ethanol extract, methanol fraction, ethyl acetate fraction, and n-hexane fraction of T. decurrens increased the human lymphocyte proliferation. There were evidences that secondary metabolites of T. decurrens n-hexane fraction had a good potential for the development of nutraceutical products.

KEYWORDS: *Turbinaria decurrens, lymphocyte, HeLa, T47D, BSLT, MTT assay*

PENDAHULUAN

Penyakit kanker merupakan salah satu masalah kesehatan yang penting di dunia. Angka kejadian dan kematian akibat kanker terus meningkat setiap tahunnya. Badan Kesehatan Dunia melaporkan bahwa saat ini diperkirakan terdapat 11–12 juta penderita kanker di seluruh dunia dengan 6–7 juta di antaranya berada di negara berkembang. Setiap tahunnya terdapat 190–200 ribu penderita kanker baru di Indonesia (Anon., 2008). Dua jenis kanker dengan angka kejadian terbesar di Indonesia adalah kanker

mulut rahim (serviks) dan kanker payudara. Setiap tahunnya sekitar 8.000 wanita Indonesia meninggal dunia akibat kanker mulut rahim (Anon., 2007).

Besarnya angka kematian tersebut disebabkan karena sebagian besar penderita kanker terlambat mendapat pengobatan atau penanganan medis karena berbagai alasan. Selain itu, banyak obat kanker yang ada saat ini memiliki indikasi *therapeutic* yang rendah, dan dosis maksimum obat yang diberikan hanya memberikan efektivitas yang minimum. Tidak semua pasien dan atau jenis kanker responsif terhadap obat-obat kanker yang ada. Bahkan, banyak obat kanker

^{*)} Peneliti pada Balai Besar Riset Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan, DKP

yang menimbulkan efek samping dan efek resisten terhadap pasien (William & Andersen, 2006). Untuk menjawab permasalahan tersebut, riset untuk mendapatkan kandidat potensial obat antitumor baru sangat diperlukan.

Senyawa bahan alam dari makroalga telah terbukti menjadi salah satu sumber senyawa bioaktif baru (Boisson-Vidal *et al.*, 1995; Deslandes, 2000), di antaranya sebagai antimikroba, antivirus, dan antitumor (Satari, 1996). Deslandes *et al.* (2000) melaporkan adanya efek antiproliferatif ekstrak hidroetanol makroalga *Turbinaria oenata* terhadap sel lestari NSCLC-N6. Sheu *et al.* (1999) berhasil mengisolasi beberapa fucosterol baru dari makroalga *Turbinaria conoides* dengan aktivitas sitotoksik. Makroalga *Turbinaria decurrens* sangat melimpah di perairan Indonesia. Potensi bioaktivitas *T. decurrens* sangat menarik untuk diteliti bioaktivitasnya sebagai antitumor.

Model ideal dalam pencarian obat antitumor potensial adalah senyawa bioaktif yang dapat membunuh sel tumor namun memiliki toksisitas rendah terhadap sel normal. Tiga tahapan awal yang harus dilewati untuk pengembangan produk nutrasetikal, meliputi : tahap ekstraksi, tahap skrining biologis, dan uji farmakologi serta tahap uji toksikologi dan keamanan pakai (Sumaryono, 2004).

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari potensi bioaktivitas ekstrak makroalga *Turbinaria decurrens* sebagai antitumor HeLa (tumor serviks) dan T47D (tumor payudara) serta uji toksikologi secara *in vitro* terhadap sel limfosit yang diisolasi dari sel darah manusia.

BAHAN DAN METODE

Pengambilan Sampel, Ekstraksi, dan Fraksinasi

Makroalga *Turbinaria decurrens* diambil dari zona pasang surut pantai Binuangun, Banten. Sampel

T. decurrens segar yang diperoleh sebanyak 10 kg. Sampel dicuci menggunakan air tawar untuk menghilangkan kotoran dan epifit yang menempel, kemudian dimaserasi dalam 10 L pelarut etanol 95% selama 3 hari. Larutan yang diperoleh disaring dengan kertas saring *Whatman* No.41 dan dievaporasi dengan *Buchi Rotavapor*. Setelah pelarut etanol menguap semua, ekstrak dikeringbekukan (*freeze dried*) pada suhu -43°C tekanan 280×10^{-3} mbar hingga diperoleh ekstrak berbentuk serbuk kering (ekstrak kasar etanol). Setelah dilakukan uji bioaktivitas, selanjutnya ekstrak kasar etanol tersebut difraksinasi secara padat-cair. Proses fraksinasi dilakukan berturut-turut berdasarkan peningkatan kepolaran pelarut dengan menggunakan pelarut n-heksana, etil asetat, dan metanol.

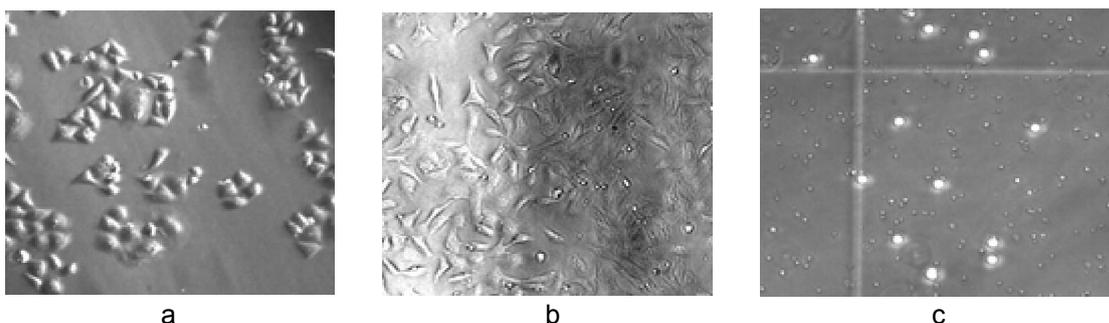
Kultur Sel HeLa dan T47D

Sel tumor HeLa yang digunakan pada penelitian ini berasal dari US NAMRU (*United States Naval Medical Research Unit*) Jakarta, sedangkan sel T47D berasal dari koleksi Fakultas Kedokteran UGM, Yogyakarta. Kedua jenis sel seperti terlihat pada Gambar 1, telah dikultur di laboratorium bioteknologi Balai Besar Riset Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan.

Sel HeLa ditumbuhkan dalam medium RPMI 1640 (Sigma) lengkap yang mengandung *fetal bovine serum* (FBS) 10% (Gibco), fungizon 0,5% (Gibco), dan penisilin-streptomisin 2% (Gibco). Sel T47D ditumbuhkan dalam medium DMEM (Gibco) lengkap yang mengandung FBS 10% (Gibco) dan penisilin-streptomisin 2%. Kedua sel dikultur menggunakan *flask* 25 mL (Nunc) dalam inkubator CO_2 pada suhu 37°C dan aliran CO_2 5%.

Isolasi Sel Limfosit

Isolasi sel limfosit dilakukan menurut metode yang digunakan oleh Wahyuni (2006). Darah dari seorang responden sehat diambil secara steril dan ditambah



Gambar 1. Morfologi sel (a) HeLa, (b) T47D, dan (c) limfosit manusia (perbesaran 100x).
Figure 1. The morphology of cells (a) HeLa, (b) T47D, and (c) human lymphocyte (100x magnification).

antikoagulan. Pemisahan komponen seluler dilakukan dengan sentrifugasi sampel darah dalam *vacutainer* dengan kecepatan 1.000 rpm selama 10 menit. Bagian darah yang berat (sel darah merah) berada di bawah dan plasma darah terpisah di bagian atas. Lapisan *buffy coat* (berisi sel limfosit) yang terletak di antara kedua lapisan diambil kemudian ditambah dengan medium RPMI. Selanjutnya, suspensi limfosit tersebut dilewatkan pada larutan *ficoll-hypaque* secara perlahan hingga terbentuk dua lapisan yang terpisah. Kemudian, tabung disentrifugasi lagi dengan kecepatan 1.500 rpm selama 30 menit. Sel limfosit, monosit, dan platelet berada di lapisan atas permukaan *ficoll* dan tidak menembus ke bawah, sedangkan granulosit dan sel darah merah terpisah di dasar tabung sentrifugasi. Lapisan yang berisi limfosit, monosit, dan platelet dicuci dengan medium RPMI dan disentrifugasi dengan kecepatan 1.500 rpm selama 10 menit. Supernatan dibuang kemudian pelet dicuci dan disentrifugasi kembali dengan kecepatan 1.500 rpm selama 10 menit sehingga limfosit terpisah dari platelet, monosit, dan *ficoll* (dalam supernatan). Pelet sel yang diperoleh kemudian ditambah medium pertumbuhan RPMI lengkap yang mengandung *Fetal Bovine Serum* (FBS) 10%, *fungizone* 0,5%, dan Penisilin-Streptomisin 2% dan dihomogenkan, kemudian dilakukan penghitungan jumlah sel dengan menggunakan hemositometer.

Pengujian Ekstrak *T. decurrens*

Uji toksisitas dengan *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Uji toksisitas dilakukan dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) menurut Meyer *et al.* (1982). Pada uji ini digunakan larva *Artemia salina* sebagai hewan uji. Telur *A. salina* (merk ARTEMIA) ditetaskan dalam larutan garam fisiologis (38 g garam dapur dalam 1.000 mL air suling) di bawah lampu TL 15 watt. Setelah 48 jam, telur menetas menjadi nauplii instar III/IV, siap digunakan sebagai hewan uji.

Larutan stok ekstrak dibuat dengan konsentrasi 10.000 ppm. Ekstrak kasar etanol, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi metanol makrolaga *T. decurrens* dilarutkan dalam dimetil sulfoksida (DMSO) sebagai larutan stok. Selanjutnya, dibuat seri konsentrasi ekstrak sebesar 6,25; 12,5; 25; 50; dan 100 ppm dari larutan stok tersebut. Pengenceran dilakukan dengan menggunakan larutan garam fisiologis. Sebagai kontrol, digunakan larutan garam dan 1% DMSO (konsentrasi DMSO tertinggi pada perlakuan). Maksimal kematian larva *A. salina* pada kontrol tidak boleh melebihi 10% dari total populasi uji.

Sepuluh ekor larva *A. salina* dimasukkan ke dalam *vial* yang berisi ekstrak sampel dalam berbagai seri konsentrasi. Masing-masing perlakuan dan kontrol dilakukan tiga kali ulangan. Selanjutnya, semua *vial* diinkubasikan di bawah lampu TL 15 watt selama 24 jam. Setelah diinkubasi, jumlah larva *A. salina* yang mati pada tiap *vial* dihitung untuk menentukan persentase kematiannya. Nilai *Lethal Concentration*₅₀ (LC₅₀) dihitung dengan menggunakan analisis probit dengan program MINITAB versi 13.2 dengan selang kepercayaan 95%.

Uji sitotoksitas terhadap sel kanker HeLa dan T47D

Uji sitotoksitas dilakukan dengan metode MTT (3-[4,5-dimetilthiazol-2yl]-2,5-difenil tetrazolium bromida) menurut Zachary (2003). Dibuat seri konsentrasi ekstrak *T. decurrens* sebesar 12,5; 25; 50; 100; dan 200 ppm dengan menggunakan pelarut medium pertumbuhan sebanyak 3 ulangan. Dibuat pula 3 macam kontrol, yaitu : kontrol sel tumor (100 µL sel tumor + 100 µL media), kontrol media (200 µL media), dan kontrol sampel (100 µL ekstrak *T. decurrens* + 100 µL media). Sebanyak 100 µL larutan ekstrak *T. decurrens* dari setiap konsentrasi dimasukkan ke dalam sumuran mikroplat yang telah berisi sel tumor sebanyak 2 x 10⁴ sel (100 µL). Mikroplat kemudian diinkubasikan selama 24 jam dalam inkubator CO₂, selanjutnya ditambahkan 10 µL MTT ke dalam tiap sumuran mikroplat dan diinkubasikan kembali selama 4 jam dalam inkubator CO₂. Reaksi MTT dihentikan dengan penambahan sodium dodesil sulfat (SDS) 10%, selanjutnya mikroplat kembali diinkubasikan selama 12 jam dalam ruang gelap pada suhu kamar. Setelah inkubasi tersebut, absorbansi tiap sumuran diukur dengan *spectrophotometer microplate reader* (DYNEX technologies tipe MRX) pada panjang gelombang 570 nm.

Penentuan persentase kematian sel dihitung berdasarkan rumus:

$$\text{Mortalitas} = \frac{(A - D) - (B - C)}{(A - D)} \times 100\%$$

Keterangan :
A = Absorbansi kontrol sel
B = Absorbansi sampel
C = Absorbansi kontrol sampel
D = Absorbansi kontrol media

Perhitungan nilai *Lethal Concentration*₅₀ (LC₅₀) dilakukan dengan menggunakan analisis probit dengan program MINITAB versi 13.2 dengan selang kepercayaan 95%.

Uji proliferasi limfosit

Uji proliferasi limfosit juga dilakukan dengan metode MTT (3-[4,5-dimetilthiazol-2yl]-2,5-difenil tetrazolium bromida) menurut Zachary (2003). Namun, jumlah sel limfosit yang digunakan adalah sebanyak 2×10^5 sel dalam tiap sumuran.

Penentuan persentasi proliferasi limfosit dilakukan menggunakan rumus:

$$\text{Proliferasi limfosit} = \frac{\text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

HASIL DAN BAHASAN

Uji Toksisitas

Tingkat toksisitas suatu ekstrak dapat diketahui dengan menghitung persentase kematian naupli artemia sebagai hewan uji dalam BSLT. Hasil perhitungan LC_{50} uji BSLT ekstrak *T. decurrens* dari penelitian ini ditampilkan dalam Tabel 1.

Suatu ekstrak dianggap sangat toksik bila memiliki nilai LC_{50} di bawah 30 ppm, dianggap toksik bila memiliki nilai LC_{50} 30–1.000 ppm dan dianggap tidak toksik bila nilai LC_{50} di atas 1.000 ppm

(Meyer *et al.*, 1982). Berdasarkan Tabel 1, dapat diketahui bahwa ekstrak *T. decurrens* fraksi n-heksana dengan LC_{50} sebesar 672,59 ppm termasuk dalam kategori toksik. Sementara ekstrak *T. decurrens* yang lain cenderung bersifat tidak toksik terhadap larva artemia.

Carballo *et al.* (2002) meneliti kelayakan penggunaan metode BSLT untuk pengujian aktivitas farmakologi produk bahan alam dari laut. Hasil penelitian tersebut menunjukkan adanya korelasi positif antara BSLT dan uji sitotoksik terhadap sel tumor paru-paru A-549 dan sel tumor kolon HT-29, dimana 50% spesies yang aktif dalam BSLT juga aktif dalam uji sitotoksik. Sementara itu, penelitian Fajarningsih *et al.* (2006) menunjukkan bahwa BSLT dapat mengeliminasi 53,9% sampel spons dan *soft coral* yang tidak aktif dalam uji sitotoksik terhadap sel tumor HeLa.

Aktivitas Sitotoksik Terhadap Sel Lestari Tumor HeLa dan T47D

Uji sitotoksik digunakan sebagai skrining tahap awal untuk mengetahui pengaruh suatu bahan dalam menghambat pertumbuhan sel tumor. Hasil perhitungan LC_{50} ekstrak *T. decurrens* disajikan pada Tabel 2.

Tabel 1. Nilai LC_{50} (ppm) uji BSLT ekstrak kasar etanol, fraksi metanol, fraksi etil asetat, dan faksi n-heksana *T. decurrens*

Table 1. BSLT LC_{50} value (ppm) of *T. decurrens*'s crude ethanol extract, methanol, ethyl acetate, and n-hexane fractions

Sampel/ Sample	LC_{50}
Ekstrak kasar etanol/Crude ethanol extract	> 1,000
Fraksi methanol/Methanol fraction	> 1,000
Fraksi etil asetat/Ethyl acetate fraction	> 1,000
Fraksi n-heksana/N-hexane fraction	672.59

Tabel 2. Nilai LC_{50} (ppm) ekstrak kasar etanol, fraksi metanol, fraksi etil asetat, dan faksi n-heksana *T. decurrens* terhadap sel HeLa dan sel T47D

Table 2. LC_{50} value (ppm) of *T. decurrens*'s crude ethanol extract, methanol, ethyl acetate, and n-hexane fractions against HeLa and T47D cell lines

Sampel/ Sample	HeLa	T47D
Ekstrak kasar etanol/Crude ethanol extract	29.90	>1,000
Fraksi methanol/Methanol fraction	24.50	574.30
Fraksi etil asetat/Ethyl acetate fraction	47.31	144.90
Fraksi n-heksana/N-hexane fraction	15.10	>1,000

Menurut Andersen (1991) dalam Sismindari et al. (2002), suatu ekstrak kasar dianggap aktif apabila mampu menghambat pertumbuhan 50% populasi sel tumor pada konsentrasi di bawah 30 ppm ($LC_{50} < 30$ ppm). Hasil pada penelitian ini, seperti terlihat pada Tabel 2. di atas, menunjukkan bahwa ekstrak kasar *T. decurrens* memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel HeLa dengan LC_{50} sebesar 29,9 ppm, namun tidak memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel T47D dengan LC_{50} ekstrak kasar >1.000 ppm. Fraksi n-heksana *T. decurrens* mempunyai aktivitas sitotoksik terbaik terhadap sel tumor HeLa dengan LC_{50} sebesar 15,1 ppm. Berdasarkan hal tersebut, maka dapat diperkirakan bahwa senyawa-senyawa aktif antitumor HeLa *T. decurrens* terdapat pada fraksi ini.

Sel tumor merupakan sel normal yang kemudian mengalami perubahan genetik (mutasi) hingga pertumbuhannya menjadi tidak normal. Setiap sel memiliki respon fisiologis yang berbeda terhadap rangsang yang diberikan dari luar, dalam hal ini adalah pemberian senyawa bioaktif ekstrak *T. decurrens*. Siklus sel merupakan peristiwa yang sangat kompleks, yang melibatkan sekuens spesifik yang berperan dalam mengatur pertumbuhan dan proliferasi sel. Secara umum, siklus sel akan menjadi tidak terkendali pada sel kanker (Buolamwini, 2000). Sejumlah senyawa bioaktif dapat menghambat proliferasi sel kanker melalui jalur metabolisme sel yang teregulasi. Setiap senyawa bioaktif dapat bekerja melalui berbagai mekanisme yang berbeda (Deslandes et al., 2000).

Sumber daya hayati laut merupakan "reservoir" metabolit sekunder unik dengan berbagai potensi bioaktivitas, di antaranya berpotensi sebagai antitumor. Kahalalide F yang diisolasi dari alga *Bryopsis* sp. memiliki aktivitas sebagai antitumor paru-paru, kolon dan prostat. Senyawa aktif tersebut bahkan telah dipatenkan sebagai kandidat substansi aktif dalam pengobatan kanker paru-paru (Smit, 2004). Ada dua model yang dikembangkan dalam riset pencarian senyawa bioaktif antitumor dari bahan alam.

Model pertama adalah mencari bahan alam yang memiliki toksisitas yang tinggi (sangat toksik terhadap berbagai jenis sel). Sedangkan model yang lain adalah mencari senyawa bioaktif yang dapat membunuh sel tumor secara spesifik.

Pada Tabel 2 dapat diketahui bahwa fraksi n-heksana *T. decurrens* merupakan fraksi dengan bioaktivitas antitumor HeLa yang terbaik, dimana nilai LC_{50} fraksi n-heksana adalah sebesar 15,1 ppm (tergolong sangat aktif). Secara ilmiah, dapat diduga senyawa-senyawa aktif *T. decurrens* dengan potensi bioaktivitas antitumor berada pada fraksi ini.

Sheu et al. (1999), mempublikasikan 9 senyawa *fucoesterol* yang diisolasi dari alga coklat *T. conoides*. Empat senyawa di antaranya memiliki bioaktivitas terhadap beberapa sel lestari tumor. Senyawa tersebut adalah, *24-ethylcholesta-4,24(28)-dien-3,6-dione*, *24-hydroperoxy-24-ethylcholesta-4,28(29)-dien-3,6-dione* dan *6β-hydroxy-24-ethylcholesta-4,24(28)-dien-3-one* yang secara signifikan memiliki efek sitotoksik terhadap sel lestari tumor P-388, A-549 dan HT-29. Senyawa *24-hidroperoxy-6β-hydroxy-24-ethylcholesta-4,-28(29)-dien-3-one* bahkan menunjukkan efek sitotoksik yang kuat terhadap sel lestari tumor P-388, A-549, HT-29 dan KB dengan ED_{50} berkisar antara (0,4–1,8 ppm).

Uji Proliferasi Limfosit

Bioaktivitas ekstrak *T. decurrens* terhadap proliferasi limfosit disajikan pada Tabel 3. Tampak bahwa ekstrak *T. decurrens* tidak bersifat toksik terhadap sel limfosit, bahkan dapat memacu terjadinya proliferasi limfosit.

Uji proliferasi limfosit dilakukan untuk mengetahui bioaktivitas ekstrak makroalga *T. decurrens* terhadap sel limfosit yang diberlakukan sebagai sel normal manusia. Apabila ekstrak tersebut tidak bersifat toksik pada sel limfosit, maka dapat dihipotesiskan bahwa ekstrak tersebut juga tidak toksik pada sel normal. Hasil uji proliferasi limfosit ekstrak *T. decurrens* fraksi

Tabel 3. Proliferasi sel limfosit yang diberi perlakuan 12,5; 25; dan 50 ppm ekstrak kasar etanol, fraksi metanol, fraksi etil asetat, dan fraksi n-heksana *T. decurrens* (%)

Table 3. Proliferation of lymphocyte cell which is treated with *T. decurrens*'s crude ethanol extract, methanol, ethyl acetate, and n-hexane fractions (%)

Sampel/Sample	50 ppm	25 ppm	12.5 ppm
Ekstrak kasar etanol/ Crude ethanol extract	109.660	101.468	104.230
Fraksi methanol/ Methanol fraction	149.750	141.602	193.190
Fraksi etil asetat/ Ethyl acetate fraction	126.110	113.470	99.290
Fraksi n-heksana/ N-hexane fraction	131.726	118.137	121.480

n-heksana memperlihatkan ekstrak tersebut pada konsentrasi 50 ppm dapat memacu proliferasi limfosit sebesar 1,32 kali dari jumlah sel awal dan pada konsentrasi 25 ppm dapat memacu proliferasi limfosit sebesar 1,18 kali dari jumlah sel awal.

Limfosit adalah sel darah putih (leukosit) yang mampu menghasilkan respon imun spesifik terhadap berbagai jenis antigen yang berbeda (Wahyuni, 2006). Sel limfosit terdiri dari sel limfosit B, sel limfosit T, dan sel *Natural Killer (NK cells)*. Sel limfosit B memproduksi antibodi yang menyerang sel-sel asing (imunitas humoral). Sel limfosit T secara langsung menyerang sel-sel kanker dan memberi sinyal pada sistem imun yang lain untuk mempertahankan tubuh (imunitas seluler), sedangkan sel NK memproduksi zat kimia yang menghancurkan dan membunuh sel asing di dalam tubuh (Siahaan, 2005). Secara *in vitro*, sel NK dapat membunuh beberapa jenis tertentu sel lestarsi tumor dan memperlihatkan mekanisme penghancuran sel-sel tertentu sebelum berkembang menjadi tumor. Sel NK akan menginduksi sel yang terinfeksi untuk mati secara alami / apoptosis (Karp, 2005).

Respon proliferasi kultur limfosit dalam media sintetik dapat digunakan untuk menggambarkan fungsi limfosit dan status imun individu. Kemampuan limfosit untuk berproliferasi atau membentuk klon menunjukkan secara tidak langsung kemampuan respon imunologik/tingkat kekebalan (Wahyuni, 2006).

Model ideal pencarian obat antitumor adalah yang bersifat toksik terhadap sel tumor namun aman terhadap sel normal. *T. decurrens* fraksi n-heksana memiliki bioaktivitas yang baik sebagai antitumor HeLa dan bersifat tidak toksik terhadap sel limfosit, bahkan dapat memacu proliferasi limfosit. Metabolit sekunder pada fraksi n-heksana *T. decurrens* berpotensi untuk dikembangkan sebagai produk nutrasetikal alami dan perlu diteliti lebih lanjut bioaktivitasnya sebagai antitumor.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa:

1. Ekstrak *T. decurrens* menunjukkan potensi bioaktivitas sebagai antitumor HeLa, namun kurang berpotensi sebagai antitumor T47D. Fraksi n-heksana *T. decurrens* merupakan fraksi yang menunjukkan aktivitas sitotoksik terbaik terhadap sel tumor HeLa dengan LC_{50} sebesar 15,1 ppm.
2. Ekstrak kasar, fraksi metanol, fraksi etil asetat, dan fraksi n-heksana makroalga *T. decurrens* mampu meningkatkan proliferasi sel limfosit manusia.
3. Metabolit sekunder pada fraksi n-heksana *T. decurrens* berpotensi untuk dikembangkan

sebagai produk nutrasetikal alami dan perlu diteliti lebih lanjut bioaktivitasnya sebagai antitumor.

SARAN

Senyawa aktif dari fraksi n-heksana *T. decurrens* perlu dipurifikasi lebih lanjut untuk mendapatkan informasi mengenai isolat aktifnya. Selain itu, mekanisme aksi secara molekuler dari senyawa bioaktif *T. decurrens* sebagai antitumor HeLa juga perlu dipelajari.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2007. Kanker mulut rahim renggut 8.000 wanita Indonesia per tahun. www.antara.co.id/arc/2007/9/20/kanker-mulut-rahim-renggut-8000-wanita-indonesia-per-tahun. Diakses tanggal 28 Maret 2008.
- Anonim. 2008. Hanya 15 persen penderita kanker di Indonesia tertangani. www.antara.co.id/arc/2008/1/17/hanya-15-persen-penderita-kanker-di-indonesia-tertangani. Diakses tanggal 28 Maret 2008.
- Boisson-Vidal, C., Haroun, F., Ellouali, M., Blondin, C., and Jozefonvicz, J. 1995. Biological activities of polysaccharides from marine algae. *Drugs of The Future*. 20: 1237–1249.
- Buolamwini, J.K. 2000. Cell cycle molecular targets in novel anticancer drug discovery. *Current Pharmaceutical Design*. 6: 379–392.
- 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.
- Deslandes, E., Pondaven, P., Auperin, T., Roussakis, C.C., Guezennec, J., Stiger, V., and Payri, C. 2000. Preliminary study of the *in vitro* antiproliferative effect of a hydroethanolic extract from the subtropical seaweed *Turbinaria oenata* (Turner J. Agardh) on a human non-small-cell bronchopulmonary carcinoma line (NSCLC-N6). *J. of Applied Phycology*. 12: 257–262.
- Fajarningsih, N.D., Januar, H.I., Wikanta, T., and Nursid, M. 2006. Correlation between brine shrimp lethality test and cytotoxicity assay in marine natural product screening. *Proceeding International seminar and workshop marine biodiversity and their potential for developing bio-pharmaceutical industry in Indonesia*. Research Center for Marine and Fisheries Product Processing and Biotechnology, Jakarta. p. 136–141
- Karp, G. 2005. *Cell and Molecular Biology*. John Wiley and Sons Inc., USA. p. 700–703.
- Meyer, B.N., Ferrigni, N.R.M., Putman, J.E., Jacobsen, L.B., Nicholas, D.E., and McLaughlin, J.L. 1982. Brine shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Med*. 45: 34–35.
- Satari, R. 1996. Potensi pemanfaatan rumput laut. *In* Atmadja, W.S., Kadi, A., Sulistijo, dan Satari, R. (eds.).

- Pengenalan Jenis-Jenis Rumput Laut Indonesia*. Puslitbang Oseanologi, LIPI, Jakarta.
- Sheu, J.H., Wang, G.H., Sung, P.J., and Duh, C.Y. 1999. New cytotoxic oxygenated fucosterols from the brown alga *Turbinaria conoides*. *J. of Nat. Prod.* 62(2): 224–227.
- Siahaan, R. 2005. Terapi biologi kanker. www.humanmedicine.net. Diakses tanggal 2 Januari 2007.
- Sismindari, A.S., Handayani, Yulia, S., dan Candra, E. 2002. Potent effect of protein extract containing ribosome-inactivating proteins (RIPs) isolated from *Erythrina fusca* Lour on cancer cells. *Indonesian J. Biotechnology*. p. 559–564.
- Smit, A.J. 2004. Medicinal and pharmaceutical uses of seaweed natural products : A review. *J. Appl. Phycology*. Netherland. 16: 245–262.
- Sumaryono, W. 2004. *Prospek, Tantangan dan Strategi Pengembangan Bioteknologi Kelautan di Indonesia*. Forum Bioteknologi Kelautan dan Perikanan Indonesia, Jakarta.
- Wahyuni, S. 2006. *Aktivitas Kitoooligomer Hasil Reaksi Enzimatik Terhadap Proliferasi Sel Limfosit dan Sel Kanker*. Disertasi. Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Williams, D.E. and Andersen, R.J. 2006. Coral reefs to clinical trials: Bio prospecting for drugs from the sea. *Report on International Seminar and Workshop on Marine Biodiversity and Their Potential for Developing Bio-pharmaceutical Industry in Indonesia*. Research Center for Marine and Fisheries Product Processing and Biotechnology, Book 2. Jakarta. p. 80–92
- Zachary, I. 2003. Determination of cell number. In Hughes, D. and Mehmet, H. (eds.). *Cell Proliferation and Apoptosis*. BIOS Scientific Publisher Limited. 373 pp.

