

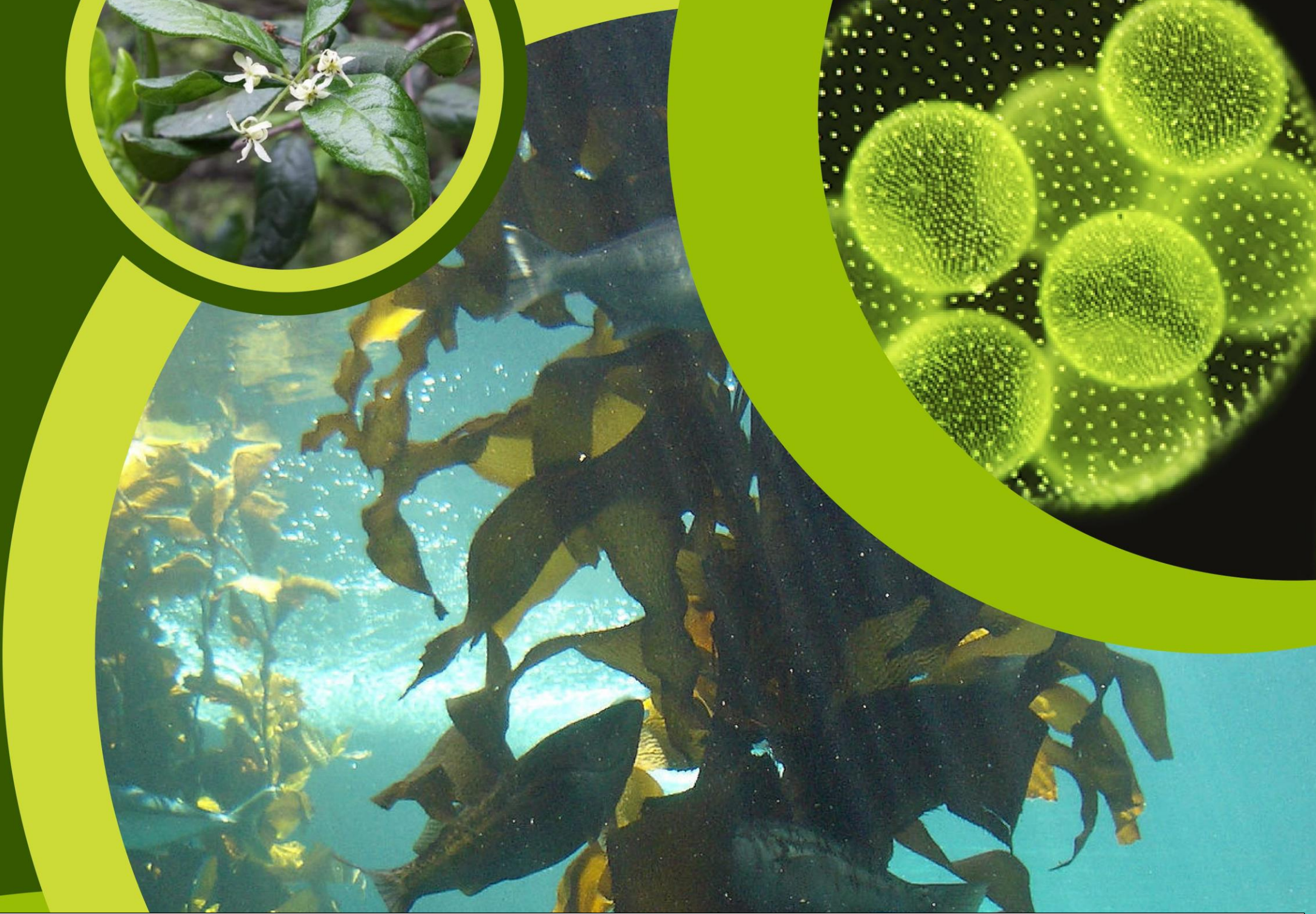
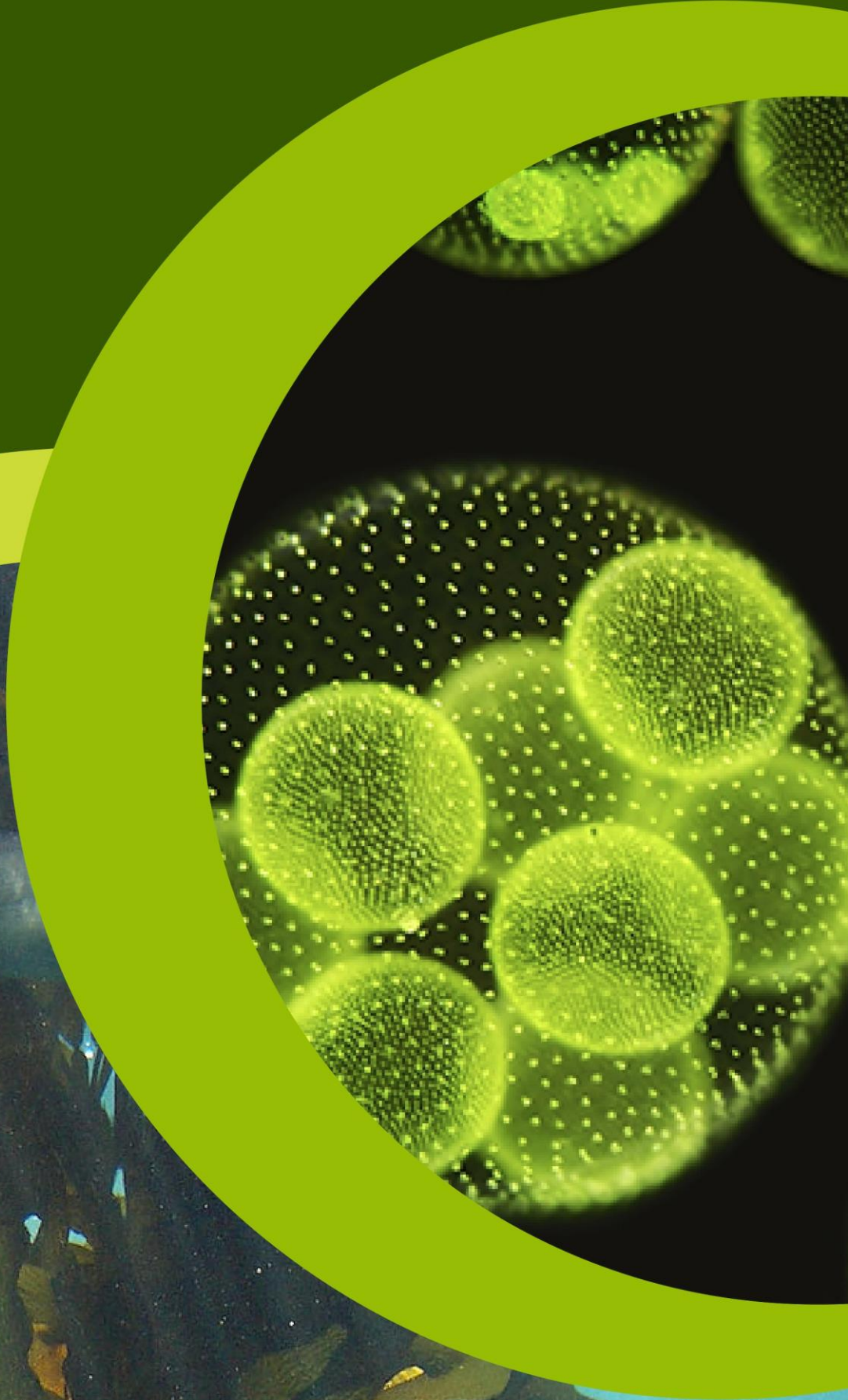
OBAT KANKER DARI BAHAN ALAMI

Penulis:

Mahreni

Apriani Soepardi

Istiana Rahatmawati



Penerbit : LPPM UPN "Veteran" Yogyakarta

OBAT KANKER DARI BAHAN ALAMI

DISUSUN OLEH

Mahreni

Apriani Soepardi

Istiana Rahatmawati

LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN BAGI MASYARAKAT (LPPM)
UPN "VETERAN" YOGYAKARTA

Jl. Padjajaran 104 Ringroad Utara, Condong Catur, Sleman
Yogyakarta (55283)



Penerbit : LPPM UPN "Veteran" Yogyakarta

KATA PENGANTAR

Puji Syukur kami panjatkan kepada Allah swt, atas limpahan rachmat serta hidayahNya sehingga kami dapat menyelesaikan buku dengan judul “**OBAT KANKER DARI BAHAN ALAMI**”. Ada beberapa tujuan penulis untuk menerbitkan buku ini. Tujuan yang pertama adalah rasa empati terhadap penderita kanker. Obat obat sintetis yang ada pada saat ini dapat menimbulkan efek samping sehingga penulis tergerak untuk mempelajari obat dari bahan alami yang telah terbukti lebih aman. Tujuan yang kedua adalah rasa syukur kepada karunia Allah yang telah melimpahkan kepada Negara Indonesia tercinta yaitu keragaman hayati nomer dua terbesar di dunia. Keragaman hayati ini memerlukan keterlibatan dari berbagai pihak baik akademisi maupun industri, untuk menjadikan produk produk bernilai ekonomi tinggi khususnya obat kanker. Dalam buku ini ada tiga bab yaitu:

BAB I OBAT KANKER DARI TANAMAN DARAT diantaranya menjelaskan mengenai senyawa bioaktif dalam tumbuhan sebagai anti kanker

BAB II OBAT KANKER DARI ALGA COKLAT diantaranya menjelaskan mengenai khasiat anti oksidan dalam Alga Coklat (Fukoidan) sebagai anti berbagai jenis kanker

BAB III OBAT KANKER DARI MIKROALGA diataranya menjelaskan mengenai teknik ekstraksi bioaktif dalam mikroalga dan khasiatnya sebagai anti kanker

Penulis menyadari tiada gading yang tak retak. Buku ini masih jauh dari sempurna sehingga saran yang membangun sangat diharapkan dari para pembaca untuk menyempurnakan buku ini.

Penulis juga menyadari banyak pihak yang telah membantu untuk menyelesaikan buku ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu demi satu. Ucapan terimakasih kepada yang telah memberikan kontribusi untuk menerbitkan buku ini yaitu:

1. LPPM UPN “veteran” Yogyakarta yang telah memberikan dukungan dana Penelitian skim Kluster tahun 2022.
2. Anggota Peneliti dan semua pihak yang telah memberikan kontribusinya sehingga buku ini dapat diterbitkan.

Demikian akhirul kata semoga bermanfaat bagi pembaca.

Yogyakarta, Oktober 2022

Wassalam

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
KATA PENGANTAR.....	ii
DAFTAR ISI.....	iii
DAFTAR TABEL.....	vi
DAFTAR GAMBAR.....	vii
PENDAHULUAN.....	1
BAB I OBAT KANKER DARI TANAMAN DARAT.....	2
1.1 Metodologi untuk Menyelidiki Efek Tanaman Obat pada Garis Sel Kanker.....	2
1.1.1 Penumbuhan garis sel/ <i>cell treatment</i>	2
1.1.2 Analisis protein/gen.....	2
1.2 Aksi Tanaman Obat sebagai Sitotoksisitas pada Kanker.....	2
1.2.1 Proliferasi.....	2
1.2.2 Apoptosis.....	3
1.2.3 Angiogenensis.....	4
1.2.4 Invasi dan Metastasis.....	4
1.2.5 Obat Adjuvan.....	5
1.3 Senyawa Bioaktif dalam Tumbuhan sebagai Anti Kanker.....	7
1.3.1 Alkanoid.....	7
1.3.2 Fenol.....	9
1.3.3 Terpenoid.....	11
1.3.4 Senyawa Lainnya.....	12
1.4 Berbagai Obat dari Tanaman Darat.....	14
1.5 Evaluasi Beberapa Tanaman Obat untuk Pengobatan Kanker di Togo/ Afrika.....	25
1.6 Vaksin Berbasis Tanaman untuk Terapi Kanker.....	26
BAB II OBAT KANKER DARI ALGA COKLAT.....	34
2.1 Fukoidan.....	34
2.1.1 Pengertian dan Sejarah.....	34
2.1.2 Sumber fukoidan.....	35
2.1.3 Struktur.....	36
2.1.4 Ekstraksi fukoidan.....	37

2.2	Metabolisme dan Toksisitas Fukoidan.....	39
2.3	Efek Antikanker Fukoidan	40
2.4	Mekanisme Antikanker Fukoidan.....	42
2.4.1	Fukoidan pada Siklu Sel dan Apoptosis	42
2.4.2	Fukoidan pada Molekul Pensinyalan Pertumbuhan	44
2.4.3	Fukoidan pada Invasi, Metastasis, dan Angiogenesis pada Kanker.....	46
2.5	Aktivitas Imunomodulator	47
2.6	Dosis dan Cara Pemberian	49
2.7	Efek Antikanker dan Antitumor Fukoidan pada Kanker Kandung Kemih ...	50
2.8	Efek Antikanker Fukoidan pada Kanker Payudara.....	54
2.8.1	Fukoidan dari Alga Coklat <i>Sargassum hystrix</i> Terhadap Sel Kanker Payudara MCF-7	57
2.9	Efek Antikanker Fukoidan pada Kanker Pankreas	59
2.10	Efek Antikanker pada Melanoma	64
2.11	Efek Antitumor Fukoidan pada Kanker Usus Besar.....	68
2.12	Efek Antikanker Fukoidan pada Kanker Paru-Paru	69
2.13	Efek Antikanker Fukoidan pada Kanker Hepatoma	71
2.14	Efek Antikanker Fukoidan pada Leukimia	73
2.15	Potensi Antitumor Fukoidan pada Jenis Kanker Lainnya	75
BAB III OBAT KANKER DARI MIKROALGA.....		79
3.1	Mikroalga	79
3.1	Sumber Mikroalga	80
3.2.1	Alga Air Tawar	80
3.2.2	Mikroalga Laut.....	80
3.3	Senyawa Bioaktif Mikroalga	80
3.3.1	Karotenoid	80
3.3.2	Polisakarida.....	86
3.3.3	Peptida	87
3.3.4	Vitamin	87
3.3.5	Asam Lemak Tak Jenuh Ganda	88
3.4	Ekstraksi Senyawa Bioaktif Mikroalga	42
3.4.1	Ekstraksi Pelarut Organik	89
3.4.2	<i>Ultrasonic-Assisted Extraction (UAE)</i>	90
3.4.3	<i>Microwave-Assisted Extraction (MAE)</i>	91

3.4.4 <i>Supercritical Fluid Extraction</i> (SFE).....	92
3.4.5 <i>Liquid Biphasic Flotation</i> (LBF)	92
3.4.6 Ekstraksi Cairan Ionik	93
3.5 Budidaya Mikroalga.....	93
2.6 Mekanisme Antikanker Mikroalga	95
3.7 Aktivitas Antikanker <i>Cyanobacteria</i>	95
3.8 Kapasitas Antitumor dari Mikroalga Biru Hijau (<i>Cyanophyceae</i>).....	98
3.9 Aktivitas Antikanker dan Antioksidan dari Ekstrak Sembilan Spesies Mikroalga	99
3.10 Skrining Bioaktivitas 32 Spesies Mikroalga untuk Aktivitas Antioksidan, Antiinflamasi, dan Antikanker.....	102
3.11 Aktivitas Antikanker Ekstrak Mikroalga pada Kanker Osteosarcoma (Mg-63)	104
3.12 <i>Nanocarrier</i> Berbasis Diatom dalam Terapi Kanker.....	106
3.13 Rekayasa Genetika Mikroalga.....	108

DAFTAR TABEL

Tabel 1.1. Penelitian penting dan menjanjikan terkait dengan senyawa baru yang diekstraksi dari produk alami yang berpotensi sebagai antikarsinogenik ..	14
Tabel 1.2. Senyawa terpenting yang disetujui hingga saat ini terkait dengan metabolit sekunder tanaman sebagai agen antikanker	20
Tabel 1.3. Vaksin nabati untuk terapi kanker	27
Tabel 2.1. Beberapa rumput laut coklat yang dilaporkan mengandung fukoidan beserta komposisinya.....	35
Tabel 2.2. Hasil ekstraksi dan komposisi fisio-kimia fukoidan.....	39
Tabel 2.3. Aktivitas biologis beberapa fukoidan alga coklat.....	41
Tabel 2.4. Target kanker beberapa fukoidan alga coklat.....	42
Tabel 2.5. Aktivitas imunomodulator in vitro fukoidan	48
Tabel 2.6. Aktivitas imunomodulator in vivo fukoidan	49
Tabel 2.7. Aktivitas imunomodulator in vivo fukoidan	51
Tabel 2.8. Pengaruh fukoidan pada sel kanker payudara secara in vitro	55
Tabel 2.9. Hasil dan komposisi kimia fukoidan dari <i>Sargassum hystrix</i>	58
Tabel 2.10. Hasil dan komposisi kimia fukoidan dari <i>Sargassum hystrix</i>	58
Tabel 2.11. Komposisi kimia fraksi fukoidan <i>Turbinaria conoides</i>	61
Tabel 2.12. Aktivitas fukoidan terhadap melanoma	65
Tabel 2.13. Pengaruh fukoidan pada sel kanker usus besar secara in vitro.....	69
Tabel 2.14. Pengaruh fukoidan pada sel kanker paru-paru secara in vitro.....	71
Tabel 2.15. Pengaruh fukoidan pada sel karsinoma hepatoma secara in vitro	72
Tabel 3.1. Spesies mikroalga aktif, sumber, kondisi budidaya, dan waktu panen.....	94
Tabel 3.2. Senyawa antikanker murni dari <i>Lyngbya majuscula</i>	96
Tabel 3.3. Metabolit sekunder (sebagai mg/100 g) dalam filtrat alga (ekstraseluler)	100
Tabel 3.4. Metabolit sekunder (sebagai%) dalam sel mikroalga yang berbeda.....	100
Tabel 3.5. Sifat terapeutik senyawa yang diperoleh dari ekstrak alga KACC 2 dan KACC 23 yang diidentifikasi menggunakan GC-MS.....	105
Tabel 3.6. Vaksin nabati untuk terapi kanker	109

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.1. Diagram skematis mekanisme protein Bcl-2 mengontrol jalur mitokondria.....	4
Gambar 1.2. Diagram skematik yang menggambarkan mekanisme induksi apoptosis oleh ekstrak tumbuhan CACF pada jalur sel melanoma	6
Gambar 1.3. Diagram skema jalur VEGF menunjukkan peristiwa jalur yang mengarah pada proliferasi sel, migrasi sel dan permeabilitas vaskular/peningkatan kelangsungan hidup sel. Hal ini juga menunjukkan dua kemungkinan target tanaman obat.....	7
Gambar 1.4. Berbagai senyawa Alkanoid yang ditemukan pada tumbuhan	7
Gambar 1.5. Berbagai senyawa Fenolik yang ditemukan pada tumbuhan.....	9
Gambar 1.6. Berbagai senyawa Terpenoid yang ditemukan pada tumbuhan.....	12
Gambar 1.7. Mekanisme vaksin berbasis tanaman untuk antikanker	32
Gambar 2.1. Sumber Fukoidan.	36
Gambar 2.2. Tipe I dan tipe II dari rantai tulang punggung rantai tulang punggung homofukosa	36
Gambar 2.3. Ilustrasi transformasi khas dan penyerapan fukoidan dalam tubuh setelah pemberian oral	40
Gambar 2.4. Skema representasi dari penghentian siklus sel dan mekanisme apoptosis fukoidan.....	44
Gambar 2.5. Skema representasi fukoidan pada beberapa molekul sinyal pertumbuhan	46
Gambar 2.6. Spektrum inframerah <i>Sargassum hystrix</i>	58
Gambar 2.7. Profil elusi ekstrak fukoidan dari <i>Turbinaria conoides</i>	61
Gambar 3.1. Karotenoid umum yang diekstraksi dari mikroalga dan manfaat kesehatannya.....	81
Gambar 3.2. Struktur kimia β -Karoten.....	81
Gambar 3.3. Struktur kimia astaxanthin.....	82
Gambar 3.4. Struktur kimia lutein.....	84
Gambar 3.5. Struktur kimia violaxanthin	85
Gambar 3.6. Struktur kimia monomer <i>chrysolaminaran</i>	86
Gambar 3.7. Struktur kimia asam eikosapentaenoat	88

Gambar 3.8. Metode ekstraksi senyawa bioaktif mikroalga yang efektif dan paling umum.....	89
Gambar 3.9. Mekanisme seluler yang mungkin untuk aktivitas anti-kanker mikroalga, dan kemungkinan peran molekul yang berpartisipasi	95

PENDAHULUAN

Kanker merupakan salah satu penyebab kematian terbesar di dunia. Pada tahun 2012, lebih dari 14 juta pasien didiagnosis menderita kanker, yang mengakibatkan lebih dari 8 juta kematian. Seiring dengan pertumbuhan penduduk yang tinggi, kasus kanker meningkat secara bertahap dengan proyeksi peningkatan sebesar 75% pada tahun 2030. Oleh karena itu, penemuan obat antikanker baru menjadi sangat penting. Oleh karena itu, sangat penting untuk mengidentifikasi strategi baru untuk terapi kanker untuk meminimalkan penderitaan pasien dan mengurangi biaya dengan perawatan mahal saat ini. Ada banyak obat yang tersedia untuk mengobati berbagai jenis kanker, namun, tidak ada obat yang benar-benar efektif dan aman.

Produk alami dan turunannya, seperti tumbuhan, organisme laut, dan mikroorganisme telah menunjukkan potensi yang sangat besar untuk pengembangan kemoterapi, menampilkan keragaman struktural yang luas dan karakteristik farmakologis dan molekuler yang mendukung pengembangan tersebut. Faktanya, 52% dari total molekul yang disetujui dari 1981 hingga 2014, adalah produk alami atau berasal dari produk alami. Pada periode yang sama, dari 131 molekul antikanker yang dilepaskan, 85 (49%) berasal dari produk alami dan turunannya. Pada buku ini, akan disajikan mengenai temuan yang paling penting dan menjanjikan terkait senyawa baru yang diekstraksi dari produk alami dengan potensi antikarsinogenik.

BAB I

OBAT KANKER DARI TANAMAN DARAT

Penelitian tanaman dan mikrobiologi khususnya pengembangan beberapa senyawa sebagai pengobatan kanker telah membawa kemajuan besar pada beberapa abad yang lalu [1]. Sebagian besar obat kanker yang berasal dari tanaman, diambil dari kulit pohon daun atau akar untuk kemudian di ekstrak [2]. Ekstrak tanaman ini mengandung berbagai fenol, flavonoid, dan metabolit sekunder, memiliki toksisitas yang lebih rendah pada manusia, sehingga dapat dikatakan jauh lebih aman untuk digunakan sebagai obat kanker dibandingkan senyawa sintesis. Berbagai senyawa tanaman seperti taksol, alkanoid indol, berberin, kurkumin, plumbagin, dan lain lain telah dilaporkan menunjukkan efek anti kanker [3].

1.1. Metodologi untuk Menyelidiki Efek Tanaman Obat pada Garis Sel Kanker

Pada studi kanker, tanaman obat disaring melalui garis sel pada setiap jenis kanker tertentu. Mekanisme ini dicapai dalam empat tahap penelitian yang berbeda, yaitu kultur sel; *cell treatment*, analisis protein/ gen [2].

1.1.1. Penumbuhan Garis Sel/*Cell Treatment*

Sel-sel ini ditumbuhkan, biasanya hingga sebanyak 70-80% untuk kemudian dilewatkan dan ditumbuhkan dalam media pertumbuhan tertentu. Setelah 24 jam, sel tersebut diberi perlakuan dengan ekstrak tumbuhan yang diencerkan. Uji proliferasi dilakukan untuk menentukan apakah ekstrak tumbuhan tertentu memiliki efek pada kanker tertentu. Hasil uji tersebut memberikan nilai IC50. Nilai ini menentukan konsentrasi yang cocok untuk mengobati sel kanker [2].

1.1.2. Analisis Protein/Gen

Analisis gen dan protein dilakukan dengan ekstraksi protein dan RNA pada saat sel diberi perlakuan dengan ekstrak tanaman obat. RNA ditranskripsikan secara terbalik untuk mendapatkan cDNA, untuk memungkinkan analisis transkripsi dengan menggunakan qPCR konvensional. Selain transkripsi gen, teknik PCR konvensional diperlukan untuk menunjukkan perubahan pada situs sambungan gen [2].

1.2. Aksi Tanaman Obat sebagai Sitotoksitas pada Kanker

1.2.1. Proliferasi

Terdapat beberapa mekanisme yang secara ketat mengatur siklus sel yang mempertahankan homeostasis jaringan. Kegagalan dalam mekanisme regulasi dapat menyebabkan proliferasi sel yang tidak terkontrol yang mengarah pada

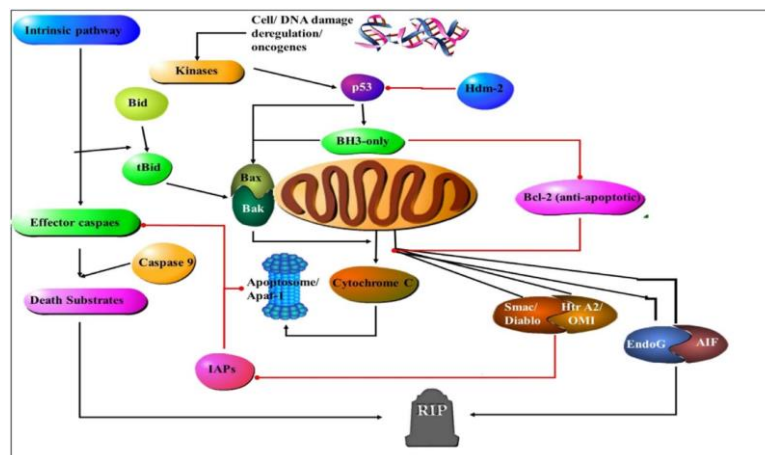
perkembangan tumor. Akumulasi tumor ganas atau proliferasi tidak terkendali untuk menyerang jaringan lain di sekitarnya dan bermetastatis ke organ lain inilah yang dikenal sebagai kanker. Berbagai faktor yang terlibat dalam perkembangan kanker seperti usia, karsinogen, perubahan genetik, dan lingkungan ini dapat menyebabkan mutasi genetik yang dapat menghambat induksi apoptosis dan perubahan mekanisme regulasi lainnya [2].

1.2.2. Apoptosis

Apoptosis atau kematian sel terprogram merupakan proses yang digunakan untuk menghilangkan sel yang tidak diinginkan seperti sel tua atau sel terluka. Apoptosis dimulai oleh reseptor kematian, yang menggunakan *caspases* 8 dan 9 atau jalur mitokondria. Induksi apoptosis pada sel tumor merupakan target yang menarik untuk pengembangan pengobatan kanker untuk pencegahan kanker. Mitokondria diketahui berperan dalam jalur apoptosis intrinsik yaitu pada area respons apoptosis dan rangsangan non-reseptor seperti racun, hipoksia, infeksi virus, dan kekurangan hormon dan faktor pertumbuhan tertentu. Rangsangan tersebut menyebabkan penurunan potensial membran mitokondria yang merupakan indikasi proses ireversibel dari apoptosis dini karena peningkatan permeabilitas membran mitokondria yang diikuti dengan pelepasan faktor apoptosis, termasuk sitokrom c. Jalur pensinyalan intrinsik telah dilaporkan sebagai jalur utama yang memicu apoptosis yang merupakan proses aktif sel normal untuk mengimbangi proliferasi sel dan apoptosis bertindak sebagai perlindungan untuk menghilangkan sel yang berubah dan berbahaya yang dapat menyebabkan kanker. Menanggapi kondisi seluler yang berubah atau disregulasi seluler yang akan dihasilkan dari ekspresi onkogen, sel memulai jalur pro-apoptosis intrinsik. Dalam hal ini jalur mitokondria sangat aktif karena mereka melepaskan kofaktor pro-apoptosis mitokondria ke dalam sitoplasma [2].

Langkah-langkah yang mengarah pada apoptosis pada sel Melanoma dan bagaimana protein Bcl-2 mengontrol jalur mitokondria di uraikan pada Gambar 1.1. Protein supresor tumor p53 disimpan pada tingkat rendah dalam sel normal karena waktu paruhnya yang pendek dan degradasi oleh jalur proteasome. Pada Mitokondria, sebagai respons terhadap kerusakan DNA atau aktivasi onkogen, p53 distabilkan dengan langkah-langkah modifikasi seperti fosforilasi oleh *Ataxia Telangiectasia Mutated* (ATM) dan rad3-related (ATR) atau pos pemeriksaan kinase. Melalui berbagai langkah p53 mendorong ekspresi berbagai

protein, yang menghasilkan penghentian pembelahan sel. Faktor transkripsi p53 juga memicu transkripsi faktor pro-apoptosis khususnya protein Bcl-2 pro-apoptosis seperti Bax, Noxa, Puma, Bik/Nbk dan Bid. Selanjutnya untuk memicu apoptosis mitokondria, p53 juga dapat berinteraksi langsung dengan anggota famili Bcl-2. Fungsi anggota famili Bcl-2 adalah menghambat apoptosis pada sel kanker. Penapisan tanaman obat diperlukan untuk mengidentifikasi senyawa yang dapat menurunkan ekspresi Bcl2 dan meningkatkan ekspresi Bax/Bak, yang pada gilirannya akan menginduksi kematian sel [2].



Sumber: Mbele, M. dkk., 2017.

Gambar 1.1. Diagram skematis mekanisme protein Bcl-2 mengontrol jalur mitokondria.

1.2.3. Angiogenesis

Angiogenesis adalah pembentukan pembuluh darah baru dalam tubuh, dan ini merupakan bagian dari proses normal dalam kehidupan. Angiogenesis juga memainkan peran penting dalam penyakit lain termasuk kanker. Tumor membutuhkan pembentukan pembuluh darah baru untuk memasok nutrisi dan oksigen. Hal ini dicapai dengan mengirimkan sinyal untuk merangsang pertumbuhan pembuluh darah baru yang akan mengirim darah ke tumor ini. Sehingga target dalam penelitian anti kanker adalah penghambatan apoptosis. Penghambatan jalur angiogenesis adalah cara tidak langsung untuk menargetkan proliferasi sel dan metastasis tumor [2].

1.2.4. Invasi dan Metastasis

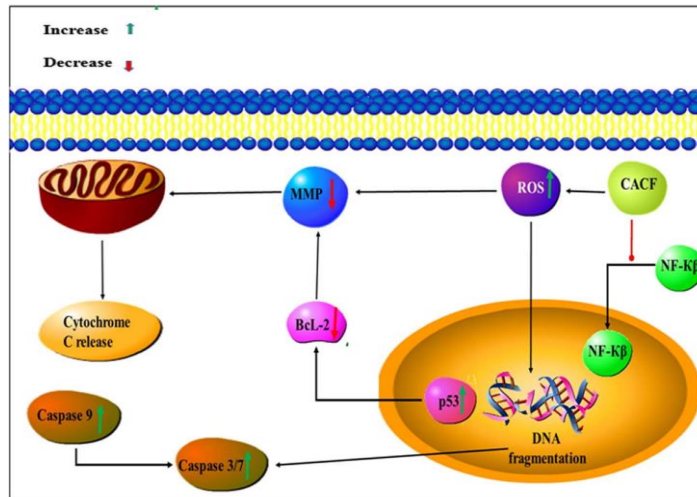
Metastasis kanker adalah akumulasi sel kanker ke jaringan dan organ yang jauh dari tempat tumor berasal. Proses ini berkontribusi pada kanker sebagai penyakit multipleks. Perubahan sel ke sel dan sel ke adhesi matriks adalah cara

vital metastasis. Metastasis memiliki tiga proses utama: invasi, intravasasi dan ekstravasasi. Disosiasi tumor ganas dari massa tumor primer dan perubahan sel menjadi matriks memungkinkan sel untuk menyerang stroma sekitarnya dan proses itu disebut invasi. Prosesnya melibatkan sekresi bahan kimia yang mendegradasi membran basal dan matriks ekstraseluler. Pergerakan pembuluh darah di dalam area tumor menyediakan cara untuk pelepasan sel ke sistem peredaran darah dan bermetastasis ke situs lain dan proses ini dikenal sebagai intravasasi. Intravasasi diikuti oleh interaksi antara sel tumor dan stroma dalam perkembangan angiogenesis. Kemudian perkembangan adhesi pada sel endotel pasir menembus endotel dan terjadi membran basal dan proses ini disebut ekstravasasi. Tumor baru yang menetap kemudian dapat berkembang biak di lokasi sekunder [2].

1.2.5. Obat Adjuvan

Ada banyak tanaman yang diketahui menginduksi apoptosis, karena menunjukkan sitotoksitas agen antitumor. Tindakan untuk menginduksi atau membangun kembali jalur apoptosis yang telah dihambat dalam sel kanker. Beberapa produk alami tanaman telah dilaporkan menginduksi apoptosis pada sel neoplastik tetapi tidak pada sel normal. Berbagai macam zat alami dilaporkan memiliki kemampuan untuk menginduksi apoptosis pada sel tumor yang berbeda. Sehingga skrining penginduksi apoptosis sangat penting, baik dalam bentuk ekstrak kasar atau sebagai komponen yang dimurnikan dari ekstrak tersebut [2].

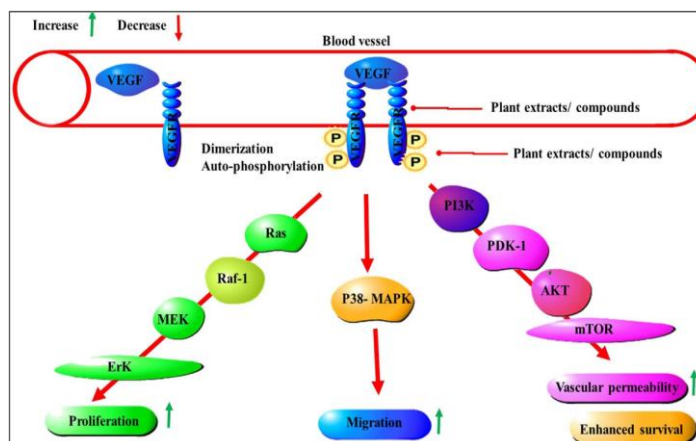
Induksi apoptosis pada sel tumor dianggap berguna dalam manajemen, terapi, dan pencegahan kanker. Gambar. 1.2 merangkum langkah-langkah dasar induksi. *Reactive oxygen species* (ROS) digambarkan sebagai molekul reaktif kimia, yang mengandung oksigen, seperti peroksida, superoksida, radikal hidroksil, dan oksigen singlet. Dalam metabolisme normal, ROS dibentuk sebagai produk alami oksigen dan memainkan peran penting dalam pensinyalan sel dan homeostasis. Oksidasi DNA terkait ROS dapat menghasilkan berbagai jenis kerusakan DNA karena berpotensi menyebabkan mutasi. Meskipun ROS berfungsi untuk memediasi induksi proliferasi sel pada sel kanker, tanaman obat dan turunannya selain dapat menghambat ROS juga dapat menghambat proliferasi sel [2].



Sumber: Mbele, M. dkk., 2017.

Gambar 1.2. Diagram skematik yang menggambarkan mekanisme induksi apoptosis oleh ekstrak tumbuhan CACF pada jalur sel melanoma.

Mutasi kanker dengan tingkat angiogenesis yang tinggi dapat menyebabkan faktor patogen. Berbagai tanaman telah dilaporkan memiliki efek anti-angiogenesis. Banyak penelitian yang menargetkan faktor angiogenik seperti faktor pertumbuhan endotel vaskular (VEGF), faktor pertumbuhan yang diturunkan dari trombosit (PDGF), faktor pertumbuhan fibroblas (FGF), angiopoietin, faktor pertumbuhan transformasi beta-1 ($TGF-\beta 1$), faktor pertumbuhan transformasi alpha ($TGF-\alpha$), dan faktor pertumbuhan epidermal (EGF). Faktor VEGF adalah protein yang bertindak langsung untuk memulai angiogenesis. VEGF memunculkan respons angiogenik yang nyata dalam berbagai model *in vivo*. Tanaman obat juga menargetkan VEGF dan reseptornya untuk menghambat angiogenesis karena VEGF dilaporkan sebagai kunci dalam regulasi angiogenesis. Gambar 1.3 menunjukkan jalur angiogenesis yang dapat menyebabkan penyakit kanker dan juga menunjukkan lokasi jalur di mana ekstrak tumbuhan dapat digunakan sebagai target tertentu. Dalam jalur ini ekstrak tumbuhan dapat menghambat situs pengikatan ligan VEGF atau menghambat fosforilasi sebagai respons terhadap pengikatan ligan VEGF sehingga dengan melakukan hal tersebut, proliferasi sel, migrasi sel, dan permeabilitas vaskular/peningkatan kelangsungan hidup sel akan terhambat dan apoptosis akan disukai [2].



Sumber: Mbele, M. dkk., 2017.

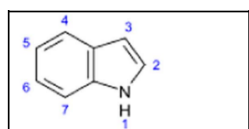
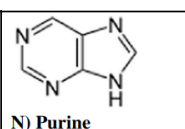
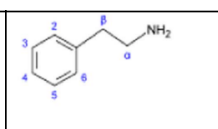
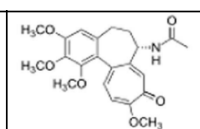
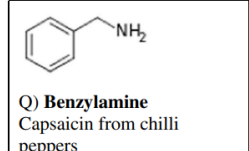
Gambar 1.3. Diagram skema jalur VEGF menunjukkan peristiwa jalur yang mengarah pada proliferasi sel, migrasi sel dan permeabilitas vaskular/peningkatan kelangsungan hidup sel. Hal ini juga menunjukkan dua kemungkinan target tanaman obat.

1.3. Senyawa Bioaktif dalam Tumbuhan sebagai Anti Kanker

Terdapat berbagai senyawa bioaktif yang ditemukan dalam tanaman obat yang dilaporkan memiliki beberapa aktivitas dalam jalur sel kanker [2].

1.3.1. Alkanoid

Alkanoid merupakan kelompok metabolit sekunder yang merupakan senyawa organik yang mengandung nitrogen kecuali asam amino, peptida, purin dan turunnya, gula amino, dan antibiotik. Mereka dapat diklasifikasikan sebagai alkanoid sejati dengan atom nitrogen heterosiklik atau alkanoid semu. Berbagai tipe struktural alkanoid ditunjukkan pada Gambar 1.4. Senyawa ini diidentifikasi berguna dalam pengobatan kanker karena telah terbukti dapat memblokir pembentukan mikrotubulus dan spindle kariokinetik yang mengakibatkan penghambatan mitosis pada metafase, kematian sel, dan penghambatan angiogenesis [2].

 <p>M) Indole Eserine from the Calabar bean</p>	 <p>N) Purine</p>	 <p>O) beta-Phenylethylamine Mescaline in the peyote cactus (<i>Lophophora williamsii</i>)</p>	 <p>P) Colchicine Colchicine</p>
 <p>Q) Benzylamine Capsaicin from chilli peppers</p>	<p>R) Abornin</p>	<p>S) Pancreatistatin</p>	<p>T) Narciclasine</p>

Sumber: Mbele, M. dkk., 2017.

Gambar 1.4. Berbagai senyawa Alkanoid yang ditemukan pada tumbuhan.

Berberine adalah alkaloid yang telah dilaporkan memiliki efek antitumor, hipolipidemik, hipoglikemik, dan induksi autophagy oleh penghambatan mTOR dan Akt. Berberin dapat mempengaruhi protein cyclin D1 dan E1 sehingga dapat menginduksi penghentian siklus sel pada sel kanker paru pada fase G1 [3].

Camptothecin (CPT) adalah alkaloid pentasiklik yang memiliki efektifitas tinggi serta toksisitas rendah untuk mengobati kanker, terdiri dari penggunaan mekanisme independen Top1 atau topoisomerase I untuk pengiriman aktivitas antitumor bersama dengan pembunuhan sel kanker. Berdasarkan hasil penelitian, terbukti bahwa pengurangan ekspresi Top1 serta aktivitas katalitik Top1 dalam sel kanker terkait dengan peningkatan resistensi terhadap CPT [3].

Irinotecan adalah salah satu penghambat Top1 yang paling terkenal. Ini mengalami modifikasi struktural berdasarkan pH fisiologis lingkungan seluler. Kompleks DNA terpotong irinotecan-topoisomerase I telah diketahui menonaktifkan perpindahan untai yang terpotong serta menyebabkan pencegahan pelepasan topoisomerase. Ekspresi topoisomerase I mungkin sekitar 14 – 16 kali lebih tinggi dalam kasus sel kanker dibandingkan dengan sel normal di sekitar tumor. Irinocetan dapat digunakan dalam terapi kombinasi untuk mengobati kanker kolorektal metastatic [3].

Piperine adalah suatu alkaloid yang bertanggung jawab atas kepedasan dalam cabai dan lada hitam. Selain itu piperine dapat menurunkan regulasi *cyclin* D1 dan mengaktifkan CDK inhibitor-1 (atau p21/WAF1) yang menyebabkan penghentian fase G1 dari siklus sel pada sel melanoma manusia dan murine. Piperine menurunkan regulasi *cyclin* D1 dan D2 bersama dengan CDK4 dan CDK6 sehingga menyebabkan penangkapan G1 dalam sel kanker usus besar. Telah dipelajari untuk studi kombinasi juga dan diimplementasikan dalam kombinasi dengan *Paclitaxel* yang menunjukkan aktivitas antikanker sinergis pada lini sel MCF-7 [3].

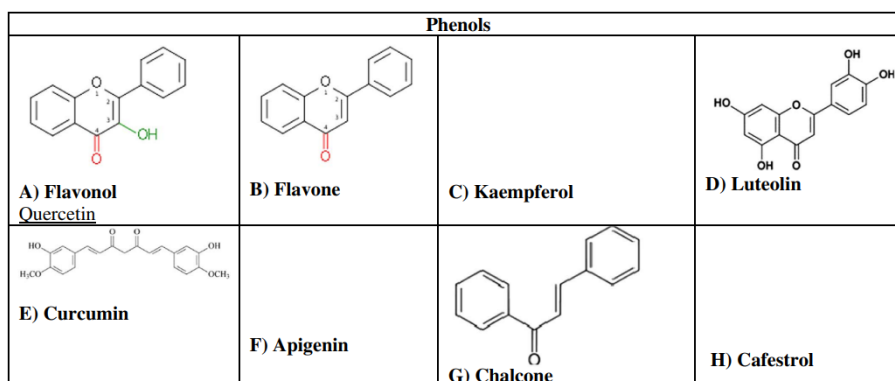
Alkaloid indol berasal dari tanaman *Catharanthus roseus* yang menunjukkan aktivitas farmakologis yang kuat. Senyawa semi sintetik Alkanoid Indol yang dikenal sebagai Alkanoid Vinca diketahui menekan pertumbuhan sel karena mengubah dinamika mikrotubular yang mengarah ke apoptosis. Seorang peneliti membuktikan bahwa prekursor langsung *Vinblastine*, *Anhydrovinblastine*, menunjukkan efek sitotoksik in vitro yang luar biasa terhadap kanker paru-paru non-sel kecil C4 serta karsinoma serviks, sel leukemia, dan sel

karsinoma A431. Juga, alkaloid indol (monoterpenik) yaitu *Cataroseumine* terbukti menunjukkan aktivitas sitotoksik terhadap garis sel HL-60 [3].

Taxol yang dikenal sebagai *Paclitaxel* (PTX) adalah metabolit yang termasuk dalam keluarga isoprenoid. Mekanisme utamanya sebagai obat antitumor melibatkan promosi kematian sel melalui pengikatan dengan tubulin dan penghambatan peran mikrotubulus [3].

1.3.2. Fenol

Senyawa polifenol disintesis dari fenilalanina atau tirosin yang memiliki setidaknya satu cincin aromatik yang tersubstitusi dengan gugus hidroksil, seperti yang ditunjukkan pada Gambar 1.5. Polifenol adalah antioksidan kuat. Banyak senyawa fenolik yang diisolasi dari tanaman menunjukkan efek sitotoksik terhadap tumor [2].



Sumber: Mbele, M. dkk., 2017.

Gambar 1.5. Berbagai senyawa Fenolik yang ditemukan pada tumbuhan.

Flavonoid adalah kelas besar metabolit sekunder yang diproduksi oleh tanaman untuk perlindungan terhadap stres fotosintesis, ROS, dan luka. Banyak flavonoid dan turunannya menunjukkan aktivitas antikanker. Isoflavon secara struktural mirip tetapi tidak berasal dari steroid (kolesterol). Yang termasuk dalam flavonoid diantaranya quercetin, luteolin, apigenin, kaempferol, dan Genistein. Mereka mengerahkan efek pro-apoptosis dengan memblokir aktivitas proteasome dan menghambat angiogenesis. Quercetin menghambat angiogenesis dengan memblokir reseptor EGF dan mengganggu jalur pensinyalan NF- κ B dan HER-2. Flavon Terprenilasi yang mengandung residu hidrofobik umumnya memiliki kemampuan untuk menghambat NF- κ B. Sebagai senyawa anti-angiogenik dalam pengobatan kanker, Flavonoid dan Chalcones mengatur

ekspresi VEGF, MMPs, dan EGFR serta menghambat jalur pensinyalan NF- κ B, PI3-K/Akt, dan ERK1/2 [2].

Kurkumin adalah senyawa kuning fenolik yang ditemukan di banyak spesies tanaman dan merupakan dasar dari banyak rempah-rempah dan wewangian seperti kunyit. Senyawa ini menghambat pembentukan tumor dengan mengganggu pertumbuhan, proliferasi, angiogenesis dan metastasis. Namun, tidak beracun bagi manusia pada dosis yang relatif besar. Jahe *Zingiber officinale* juga kaya akan senyawa fenol yang menunjukkan aktivitas sitotoksik melawan sel kanker. Aktivitas ini meningkat ketika ekstrak ini dikombinasikan dengan ekstrak *Curcuma longa* (spesies yang mengandung kurkumin) [2]. Penelitian lain membuktikan bahwa kurkuminoid utama yang berasal dari *Curcuma longa* dan *Piperine* dapat menghambat produksi mammosfer, penerusan sekuensial, ALDH⁺ atau aldehida dehidrogenase sel induk payudara dalam sel payudara biasa dan ganas. Metformin adalah suatu alkaloid adalah dilaporkan meningkatkan pengurangan viabilitas sel, proliferasi, klonogenisitas, dan perkembangan siklus sel dalam sel JAK2V617F. Berdasarkan hasil penelitian terdahulu, pemberian metformin dapat menghasilkan antiproliferasi dan anti-metastasis [3].

Chalcones (1,3-diphenyl-2-propen-1-one) adalah Flavonoid alami yang telah dilaporkan menargetkan beberapa jalur yang bertanggung jawab untuk kanker seperti siklus sel, MDM2/p53, proteasome, tubulin, reseptor kematian, NF- κ B, STAT3, NRF2, AP-1, reseptor estrogen (ER), reseptor androgen, P-gp, β -catenin/Wnt, PPAR-g, VEGF, EGFR dan lain-lain. Ekstrak etanolik dari *Pinus densiflora* atau jarum pinus mampu menghasilkan efek anti-oksidan, anti-tumor dan anti-mutagenik yang signifikan baik secara in vitro maupun in vivo. Studi lain melaporkan bahwa ekstrak metanol *Pinus sylvestris* atau *scots pine* dan minyak atsirinya menunjukkan selektivitas yang lebih baik terhadap sel kanker payudara ER negatif [3].

Myricetin merupakan agen anti-karsinogen potensial terhadap kanker ovarium, kulit, usus besar, hati dan payudara. Sebuah penelitian melaporkan bahwa *Myricetin* mampu menghambat proliferasi sel kanker kandung kemih T24 dengan menginduksi penghentian siklus sel pada fase G2/M dengan menurunkan regulasi *cyclin* B1 dan *cyclin-dependent* kinase cdc2. Studi lain melaporkan

bahwa myricetin menunjukkan aktivitas anti-proliferasi terhadap sel kanker hati manusia (HepG2) [3].

Silymarin merupakan flavonoid polifenol yang berasal dari *Silybum marianum* yang dapat menekan ekspresi CDK dengan mengatur penghambatnya (p21 dan p27), sehingga menghambat pensinyalan EGFR. Dalam dosis rendah, menghambat ERK1/2 menyebabkan penghentian pertumbuhan, sedangkan dalam dosis tinggi, apoptosis diinduksi melalui MAPK atau JNK jalur (mitogen diaktifkan protein kinase atau c-Jun N-terminal kinase masing-masing). Studi menunjukkan aktivitas *Silymarin* pada lini sel tumor prostat manusia tingkat lanjut DU145 di mana ia menghambat fosforilasi tirosin EGFR aktif maupun transformasi (atau yang dimediasi TGF- α) [3].

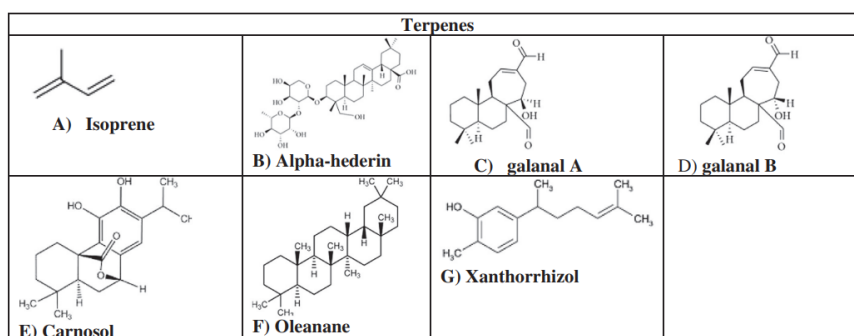
1.3.3. Terpenoid

Terpenoid berasal dari unit isoprena lima karbon dan termasuk monoterpen, seskuiterpen, diterpen, sesterterpen, triterpen, dan tetraterpen. *Xanthorrhizol* merupakan terpeoid seskuiterpenoid kompleks yang berasal dari rimpang *Curcuma xanthorrhizza*. Studi in vivo telah menunjukkan bahwa *Xanthorrhizol* menghambat pembentukan dan perkembangan tumor.

Ekstrak etanol dari *Orthosiphon labiatus* aktif melawan sel kanker payudara (MCF-7) manusia. Senyawa aktif yang berupa asam karnosat diterpene, dan dua diterpenoid labdane, serta senyawa serupa berupa abietane diterpenoid carnosol, rosmadial, dan carnosic acid yang diekstraksi dari tanaman obat juga sitotoksik terhadap garis sel kanker manusia (MCF-7). Carnosic Acid dan *Carnosol* adalah senyawa fenolik yang dapat ditemukan di tanaman *Rosmarinus officinalis*. Senyawa tersebut menunjukkan sifat antioksidan, anti-inflamasi, dan sitotoksik. Asam karnosat memiliki aktivitas antioksidan, antibakteri, dan anti-obesitas yang lebih kuat. Ini juga menghambat agregasi trombosit dan bersifat antiangiogenik [3].

Terpenoid lain (Gambar 1.6) meningkatkan aktivitas anti kanker dari obat yang ada. Alfa-hederin, triterpenoid saponin dapat meningkatkan sitotoksitas agen kemoterapi lainnya dan menyebabkan peningkatan kadar spesies oksigen reaktif yang mengarah pada peningkatan apoptosis. Temuan lain yang menjanjikan adalah bahwa beberapa terpenoid seperti galanal A dan B yang diisolasi dari rempah-rempah Kamerun, *Aframomum arundinaceum* secara

selektif bersifat sitotoksik, membunuh beberapa sel tetapi membiarkan garis sel lain tidak terluka [3].



Sumber: Mbele, M. dkk., 2017.

Gambar 1.6. Berbagai senyawa Terpenoid yang ditemukan pada tumbuhan.

Limonoids (*nomilinic acid 17 β-D-glucopyranoside, limonin, obacunone 17 β-D-glucopyranoside, nomilin*, dan komposisi berbasis glukosida limonoid), adalah senyawa bioaktif yang ditemukan dalam konsentrasi tinggi di *Citrus reticulata Blanco* dan diselidiki di payudara, leukemia, perut, hati, leher rahim dan garis sel kanker ovarium. Pada kanker payudara, mekanisme aksinya adalah induksi apoptosis. Pada studi lainnya, 9 limonoid murni yang diekstrak dari lemon diuji dalam sel kanker payudara positif dan negatif estrogen. Dalam penghambatan pertumbuhan sel kanker payudara positif dilaporkan bersama dengan aktivasi caspase 7 yang mengarah ke peningkatan apoptosis setelah perawatan.

1.3.4. Senyawa Lainnya

Andrographolide dilaporkan menekan aktivitas pengikatan DNA dan aktivasi NF-κB sehingga memiliki sifat anti-kanker dan fungsi anti-inflamasi. Dalam kombinasi dengan 5-FU, apoptosis sel HCT116 diinduksi saat *Andrographolide* berikatan dengan protein BAX dan ekspresinya diregulasi. *Andrographolide* Bersama dengan *Capecitabine* dilaporkan merupakan agen terapi yang efisien untuk kanker kolorektal stadium lanjut lokal pada pasien usia lanjut [3].

Thymoquinone menunjukkan penghambatan dalam perkembangan ligan faktor-κB nuklir yang mengarah ke osteoklastogenesis dalam BMM atau sel-sel makrofag turunan sumsum tulang. Regulasi ke bawah dari berbagai faktor transkripsi seperti NF-κB, aktivasi MAPK dan pensinyalan ROS yang mengarah

ke osteoklastogenesis juga diamati. Senyawa alami ini memiliki aplikasi dalam pengobatan kanker usus besar, prostat, hati, pankreas dan paru-paru [3].

Amygdalin dilaporkan memiliki potensi melawan sel kanker. *Amygdalin* disarankan menahan fase G₀/G₁ dari siklus sel dan kematian sel diinduksi oleh upregulasi protein proapoptosis seperti Bax dan caspase-3 dan downregulasi inhibitor apoptosis seperti Bcl-2. Mekanisme aksi yang sama ini terlihat pada garis sel HeLa kanker serviks manusia ketika *Amygdalin* menginduksi apoptosis pada sel ini [3].

Everolimus adalah turunan rapamycin yang merupakan penghambat jalur mTOR yang memulai aksinya dengan terlebih dahulu membentuk kompleks dengan protein FKBP12 yang mencegah pensinyalan mTOR sehingga memberikan ukuran untuk mengatasi resistensi terhadap terapi endokrin dan juga menghambat proliferasi dan pertumbuhan sel. Kombinasi *Everolimus* dan *Exemestane* disetujui oleh FDA untuk pengobatan kanker payudara dengan reseptor hormon positif serta faktor pertumbuhan epidermal manusia 2 fenotipe tumor negative [3].

Methylferulate dan berfungsi dalam penghentian siklus sel fase S dan G₂ atau M, promosi kematian sel, dan pembentukan spesies oksigen reaktif bersama dengan hambatan invasi sel, aktivitas proteasomal, dan pengikatan NF- κ B dengan aktivitas DNA dalam sel kanker kolorektal. *Methylferulate* juga menginduksi ekspresi berlebih dari berbagai penghambat CDK (p27KIP1, p21WAF1/CIP1, dan p19 INK4D), ekspresi gen pro-apoptosis (Smac, Bax, Apaf1, Bim dan Bid) serta berbagai caspases serta di bawah ekspresi CDK1 dan CDK2 bersama dengan ekspresi gen anti-apoptosis seperti Bcl2, cIAP-1 dan -IAP-2, serta FLIP [3].

Plumbagin merupakan senyawa bioaktif yang terdapat pada tumbuhan yang termasuk dalam famili *Plumbaginaceae*. *Plumbagin* memiliki aktivitas anti-kanker baik dalam kultur in-vivo maupun in-vitro. Studi melaporkan bahwa dalam kasus sel kanker hati, *Plumbagin* mampu menginduksi apoptosis dan menghambat proliferasi sel. Studi lainnya melaporkan efek *Plumbagin* terhadap sel kanker lambung AGS, di mana *Plumbagin* menghambat proliferasi sel, menginduksi apoptosis, autophagy dan menghambat migrasi dan invasi sel kanker. Efek plumbagin terhadap garis sel kanker payudara (MDA-MB-231) dilaporkan bahwa *Plumbagin* menginduksi apoptosis yang menyebabkan

kematian sel kanker. Sebuah studi melaporkan bahwa proliferasi sel kanker pankreas dihambat oleh plumbagin di mana ia menginduksi apoptosis dengan merusak mitokondria dan produksi ROS [3].

1.4. Berbagai Obat dari Tanaman Darat

Berdasarkan sejarahnya, dalam hal penelitian senyawa baru, tanaman lebih unggul dibandingkan dengan tanaman laut. Jumlah spesies tumbuhan di bumi ini kira-kira sejumlah 250.000. Namun, kemungkinan sebanyak kurang dari 15% keanekaragaman hayati global telah dinilai potensi bioaktifnya. Sehingga perlu adanya penelitian lebih lanjut mengenai pemanfaatan ekstrak tumbuhan. Sebuah tanaman tunggal mungkin mengandung sejumlah besar senyawa, dengan fitur terapeutik bervariasi, bertindak baik secara individu maupun dalam kombinasi atau sinergis, mendukung terapi terbaik. Banyak entitas kimia yang diisolasi dari bagian tanaman berada dalam triase klinis, seperti Paclitaxel, Camptothecin, Vinblastine dan Vincristine, serta Homoharringtonine (HHT) yang disetujui oleh FDA, dan elliptinium [1].

Tabel 1.1 menunjukkan hubungan penelitian yang paling dan menjanjikan terkait dengan senyawa baru yang diekstraksi dari produk alami dengan potensi antikarsinogenik.

Tabel 1.1. Penelitian penting dan menjanjikan terkait dengan senyawa baru yang diekstraksi dari produk alami yang berpotensi sebagai antikarsinogenik.

Famili	Spesies	Bagian yang Digunakan	Komponen Terisolasi	Aksi/Aktivitas
<i>Anacardiaceae</i>	<i>Mangifera indica L.</i>	Buah	Tidak teridentifikasi	Aktivitas sitotoksik pada sel kanker payudara
<i>Apocynaceae</i>	<i>Cryptolepis sanguinolenta Lindl.</i>	Akar	<i>Alkaloid: cryptolepine</i>	Aktivitas sitotoksik pada sel kanker payudara
	<i>Holarrhena floribunda (G. Don) Dur. dan Schinz</i>	Daun	Tidak teridentifikasi	Aktivitas antioksidan dan antimutagenik
<i>Asteraceae</i>	<i>Artemisia annua</i>	Buah	<i>Casticin</i>	Menghambat proliferasi dan pembaruan diri sel induk hati
	<i>Artemisia vulgaris L.</i>	Bagian aerial; daun dan kuncup	<i>Essential oil</i>	Aktivitas sitotoksik dan induksi apoptosis pada sel leukemia

Famili	Spesies	Bagian yang Digunakan	Komponen Terisolasi	Aksi/Aktivitas
<i>Asteraceae</i>	<i>Mikania spp</i>	Daun dan bagian aerial	<i>Sesquiterpene</i> <i>Coumarins</i>	Aktivitas sitotoksik
	<i>Inula lineariifolia Turcz</i>	Bagian aerial	<i>Sesquiterpenoids</i>	Aktivitas sitotoksik; induksi apoptosis, penghambatan pertumbuhan sel pada sel kanker payudara
	<i>Tanacetum parthenium L.</i>	Daun	<i>Parthenolide</i>	Sifat anti-inflamasi, anti-migrain, dan aktivitas antikanker
<i>Capparaceae</i>	<i>Capparis spinosa, Piper genus</i>	Daun	<i>Quercetin</i>	Efek antioksidan dan hepatoprotektif
<i>Cephalotaxaceae</i>	<i>Cephalotaxus harringtonii (Forbes) K. Koch</i>	Daun	<i>Alkaloid</i>	Pengobatan pasien dewasa dengan leukemia myeloid kronis dengan resistensi dan/atau intoleransi terhadap dua atau lebih inhibitor tirosin kinase
<i>Clusiaceae</i>	<i>Garcinia hanburryi Hook</i>	Bagian aerial	<i>Gambogic acid (gamboge)</i>	Aktivitas antitumor pada kanker paru-paru non-sel kecil, kanker usus besar dan kanker ginjal, di bawah fase klinis IIA.
<i>Compositae</i>	<i>Atractylodis macrocephalae</i>	Akar	<i>Atractylenolide</i>	Efek antiinflamasi, antibakteri, dan antitumor dan bertindak melawan gangguan saluran pencernaan
<i>Compostae</i>	<i>Silybum marianum (L.) Gaertn.</i>	Buah	<i>Silibinin</i>	Sifat hepatoprotektif
<i>Euphorbiaceae</i>	<i>Euphorbia peplus L.</i>	Getah	<i>Diterpenoid</i>	Pengobatan topikal actinik keratosis untuk digunakan pada wajah, kulit kepala, batang tubuh, dan ekstremitas

Famili	Spesies	Bagian yang Digunakan	Komponen Terisolasi	Aksi/Aktivitas
<i>Fabaceae</i>	<i>Psoralea corylifolia L.</i>	Seluruh tanaman	<i>Psoralidin</i>	Aktivitas antibakteri, antitumor, antioksidan, antiinflamasi, antijamur, dan imunomodulator
	<i>Tamarindus indica</i>	Perikarp dan biji	<i>Apigenin</i>	Sifat kemopreventif, antioksidan, antimutagenik, antiinflamasi, dan antivirus
	<i>Spatholobus suberectus</i>	Cauli	<i>Isoliquiritigenin</i>	Efek antiproliferatif, penekanan metastasis, angiogenesis, dan induksi apoptosis
<i>Gramineae</i>	<i>Bambusae Caulis in Taeniam</i>	Kulit kayu dari batang bambu	<i>Unidentified</i>	Aktivitas anti-metastasis pada melanoma murine dan sel fibrosarcoma manusia
<i>Lamiaceae</i>	<i>Hyptis crenata</i>	Daun	<i>Linalool</i>	Efek sitotoksik dan antiproliferatif, insektisida, aktivitas antimikroba dan antioksidan, efek gastroprotektif dan penyembuhan ulkus
	<i>Mentha piperita</i>	Daun dan batang	<i>Linalool</i>	Aktivitas antimikroba
	<i>Mentha spicata</i>	Daun	<i>Linalool</i>	Aktivitas antimikrobia
	<i>Ocimum basilicum</i>	Seluruh tanaman	<i>Ursolic acid</i>	Aktivitas antivirus
			<i>Apigenin</i>	Sifat kemopreventif, antioksidan, antimutagenik, antiinflamasi, dan antivirus
	<i>Salvia officinalis</i>	Seluruh tanaman	<i>Apigenin</i>	Sifat kemopreventif, antioksidan, antimutagenik, antiinflamasi, dan antivirus

Famili	Spesies	Bagian yang Digunakan	Komponen Terisolasi	Aksi/Aktivitas
<i>Lamiaceae</i>	<i>Thymus vulgaris</i>	Daun	<i>Ursolic acid</i>	Antiseptik dan anti inflamasi
	<i>Vitex trifolia</i> <i>Fruit Casticin</i>			Menghambat proliferasi dan pembaruan diri sel induk hati
<i>Lythraceae</i>	<i>Lawsonia inermis</i>	Daun	<i>Apigenin</i>	Antioksidan, antibakteri, antijamur, antivirus, antiparasit, analgesik, sitotoksik, antidiabetes, antileishmanial dan aktivitas penghambatan glikasi protein
Malvaceae	<i>Gossypium genus</i>	Seluruh tanaman	<i>Gossypol</i>	Antifertility, antivirus, anticancer, antioxidant, antitrypanosomal, antimicrobial, and antimalarial activities
Menispermaceae	<i>Tinospora cordifolia</i>	Seluruh tanaman	<i>Berberin</i>	Potensi terapeutik terhadap beberapa gangguan, termasuk diabetes, gangguan neurologis dan gangguan kardiologis, dan sifat antibakteri, antiinflamasi dan sitotoksisitas
Monimiaceae	<i>Peumus boldus</i> <i>Molina</i>	Daun dan kulit kayu	<i>Alkaloid: boldine</i>	Aktivitas sitotoksik dan induksi apoptosis pada sel kanker payudara
Perophoridae	<i>Ecteinascidia turbinata</i> <i>Herdman</i>	Tangki	<i>Alkloid</i>	Pengobatan liposarcoma atau leiomyosarcoma yang tidak dapat direseksi atau metastasis

Famili	Spesies	Bagian yang Digunakan	Komponen Terisolasi	Aksi/Aktivitas
Piperaceae	<i>Piper nigrum L.</i>	Fruit	<i>Piperine</i>	Pengurangan resistensi insulin, efek anti-inflamasi, dan peningkatan steatosis hati
Polyporaceae	<i>Trametes robiniophila Murr</i>	Ekstrak berair diisolasi dari Jamur <i>sandy beige</i>	<i>Huaier</i>	Mempengaruhi jumlah, kelangsungan hidup, dan ukuran mammosfer
Ranunculaceae	<i>Coptis chinensis</i>	Akar	<i>Berberin</i>	Potensi terapeutik terhadap beberapa gangguan, termasuk diabetes tipe 2, gangguan neurologis dan gangguan kardiologis, serta memiliki sifat antibakteri, anti-inflamasi, dan sitotoksitas
	<i>Hydrasis canadensis</i>	Batang kayu dan kulit kayu	<i>Berberin</i>	Potensi terapeutik terhadap beberapa gangguan, termasuk diabetes tipe 2, gangguan neurologis dan gangguan kardiologis, serta memiliki sifat antibakteri, anti-inflamasi, dan sitotoksitas
	<i>Nigella sativa L.</i>	Biji	<i>Thymoquinone</i>	Aktivasi penekan tumor dan penghambatan angiogenesis
Solanaceae	<i>Solanum lycopersicum</i>	Buah	<i>Lycopene</i>	Aktivitas antioksidan
	<i>Withania somnifera (L.) Dunal</i>	Daun	<i>Withaferin A</i>	Aktivitas antioksidan
Taxaceae.	<i>Taxus brevifolia Nutt</i>	Kulit pohon	<i>Antraciclina</i> s	Pengobatan kanker payudara metastatik
Theaceae	<i>Camellia sinensis</i>	Daun	<i>Epigallocatechin-Ogallate</i>	Aktivitas antioksidan

Famili	Spesies	Bagian yang Digunakan	Komponen Terisolasi	Aksi/Aktivitas
Theaceae	<i>Taxus chinensis (Pilger) Rehd</i>	Kulit pohon	Tidak teridentifikasi	Efek antiproliferatif in vitro dan in vivo (model xenograft) pada sel kanker paru-paru (A549)
Turneraceae	<i>Turnera aphrodisiaca</i>	Daun	<i>Apigenin</i>	Sifat kemopreventif, antioksidan, anti-mutagenik, antiinflamasi, dan antivirus
Vitaceae	<i>Vitis vinifera Linnaeus</i>	Buah	<i>Resveratrol</i>	Mengurangi risiko penyakit kardiovaskular, serebrovaskular dan pembuluh darah perifer, dan mengurangi risiko kanker
Zingiberaceae Curcuma	<i>longa Linnaeus</i>	Rimpang	<i>Curcumin</i>	Antioksidan, anti-inflamasi dan efek anti-mutagenik
	<i>Zingiber officinale Roscoe</i>	Rimpang	<i>6-Gingerol</i>	Sifat antioksidan dan anti-inflamasi
		Rimpang	<i>6-shogaol</i>	Efek proapoptosis dan promosi penghentian siklus sel pada sel hepatoma dan kanker prosta

Sumber: Majolo F. dkk., 2019.

Sumber yang sangat baik untuk pengembangan obat mungkin dalam metabolit sekunder yang terjadi di tanaman, sehingga struktur kimia senyawa ini diubah dengan meningkatkan selektivitas dan aksi antikankernya. Sehingga terjadi peningkatan dalam penyerapan, distribusi, sifat metabolisme dan ekskresi, serta penurunan toksisitas dan efek sampingnya. Tabel 1.2 menyajikan data senyawa yang paling penting dan paling penting sampai sekarang terkait dengan metabolit sekunder tanaman, termasuk dalam penggunaan klinis dan uji klinis sebagai agen antikanker. Sebagian besar uji klinis dalam onkologi. Meskipun mereka menunjukkan sifat sitotoksik yang relevan, senyawa turunan tanaman utama tidak terlibat dalam studi klinis sebagai agen antikanker [1].

Tabel 1.2. Senyawa terpenting yang disetujui hingga saat ini terkait dengan metabolit sekunder tanaman sebagai agen antikanker.

	Spesies	Bagian tanaman	Komposisi	Obat	Terutama untuk	Hasil	Juga digunakan untuk	Mekanisme	Hasil
VINCRIStINE APPROVED	<i>Catharanthus roseus (L.) G. Don</i>	Daun	Alkaloid	Vincristine (sejak 1963 – FDA)	Kemoterapi pada orang dewasa, tetapi terutama dalam praktik onkologi pediatrik terhadap leukemia limfoblastik akut	Penggabungannya dalam pengobatan regimen meningkatkan tingkat kelangsungan hidup hingga delapan puluh persen	Rhabdomyosarcoma, neuroblastoma, lymphomas and nephroblastoma	Mempengaruhi pembelahan sel dan melibatkan interaksi dengan tubulin, konstituen dasar mikrotubulus gelendong mitosis, menghambat polimerisasinya dan mengakibatkan penekanan mitosis	Merupakan salah satu agen antikanker turunan tanaman pertama yang disetujui oleh agensi ini
APPROVED				Sphingomyelin/cholesterol liposomal Vincristine (Marqibo®) sejak 2012 – FDA	Orang dewasa dengan leukemia limfoblastik akut yang kambuh				
IN STUDY				Marqibo®	Pasien anak dengan tumor padat dan leukemia yang kambuh atau yang tahan kemoterapi				
IN STUDY				Formulasi enkapsulasi Vincristine lainnya	Small-cell lung cancer and liver cancer				

	Spesies	Bagian tanaman	Komposisi	Obat	Terutama untuk	Hasil	Juga digunakan untuk	Mekanisme	Hasil
IN STUDY				Vincristine dalam kombinasi dengan agen antitumor lainnya	Uji klinis terbuka sedang berlangsung yang melibatkan terapi kombinasi vincristine				
PACLITAXEL APPROVED	<i>Taxus brevifolia</i> Nutt (<i>Pacific Yew</i>)	Kulit Pohon	<i>Tricyclic diterpenoid</i>	Taxol® (sejak 1993)	Pengobatan kanker payudara, ovarium dan paru-paru telah tercapai	Kemanjuran terapeutiknya mulai terbatas karena perkembangan multidrug resistance (MDR)		Promosi perakitan Tubulin	
APPROVED				Taxotere® Docetaxel (sejak 1995)	Pengobatan payudara, ovarium, prostat dan non-SCLCs	Memiliki lebih sedikit efek samping dan meningkatkan sifat farmasi. Memperlihatkan waktu paruh yang lebih lama, penyerapan seluler yang lebih cepat, dan retensi intraseluler yang lebih lama dari pada paclitaxel			Derivatif baru dengan kemanjuran terbaik dan efek samping yang lebih sedikit

	Spesies	Bagian tanaman	Komposisi	Obat	Terutama untuk	Hasil	Juga digunakan untuk	Mekanisme	Hasil
APPROVED				Jevtana® Cabazitaxel (sejak 2010 – FDA)	Pengobatan pasien dengan kanker prostat metastatik hormon refrakter dan tumor yang resisten terhadap docetaxel atau paclitaxel	Akumulasi intraseluler pada konsentrasi yang lebih besar daripada docetaxel dan menjelaskan peningkatan sitotoksitas dan efektivitasnya pada pasien taxaneresitant			Derivatif baru dengan kemanjuran terbaik dan efek samping yang lebih sedikit
APPROVED				Lipusu® (sejak 2006 – Chinese market)	Pengobatan kanker ovarium, payudara, non-SCLC, lambung dan kepala dan lehe	Formulasi liposomal Lipusu® ini menunjukkan efek antitumor yang mirip dengan paclitaxel, tetapi toksisitasnya lebih rendah daripada paclitaxel dengan dosis yang sama			Suntikan paclitaxel lecithin/kolesterol liposom pertama
IN STUDY				In combination with other anticancer drugs			Suntikan paclitaxel lecithin / kolesterol liposom pertama		

	Spesies	Bagian tanaman	Komposisi	Obat	Terutama untuk	Hasil	Juga digunakan untuk	Mekanisme	Hasil
APPROVED				Abraxane® sejak 2005 – FDA sejak 2012 – EMA		Dosis nab-paclitaxel yang lebih tinggi dapat diberikan dalam waktu infus yang lebih singkat, meningkatkan efek samping neuropati setelah penghentian terapi, meskipun neuropati sensorik perifer terjadi lebih sering dengan nab-paclitaxel dibandingkan dengan paclitaxel			Sebuah paclitaxel albumin-bound nanopartikel injeksi, juga bernama nab-paclitaxel dikembangkan untuk meningkatkan kelarutan paclitaxel
HOMOHAR-RINGTONINE APPROVED	<i>Cephalotaxus species</i>	Daun, kulit, dan biji	Alkaloid	Synribo® (sejak 2012 – FDA)	Pengobatan leukemia <i>myeloid</i> kronis pada pasien dengan resistensi dan/atau intoleransi terhadap dua atau lebih tirosin kinase	Ini adalah satu-satunya agen terapi alami yang disetujui sebagai obat komersial untuk mengobati leukemia myeloid kronis			Merupakan penghambat translasi protein kelas satu, yang berarti menghambat langkah pemanjangan sintesis protein

	Spesies	Bagian tanaman	Komposisi	Obat	Terutama untuk	Hasil	Juga digunakan untuk	Mekanisme	Hasil
PRECLINICAL AND CLINICAL INVESTIGATIONS					Keganasan hematologi				Respon hematologi dan sitogenetik yang tahan lama tanpa memandang status mutasi menunjukkan kemampuan untuk membunuh sel induk/progenitor secara efektif dan berperan dalam leukemia myeloid akut.

Sumber: Majolo F. dkk., 2019.

Pada 2012, FDA menyetujui agen baru yang berasal dari tanaman. Dari 45 obat yang disetujui pada 2015 oleh FDA, 20 berasal dari produk alami. Obat antikanker menyumbang 14 obat dari total obat yang diluncurkan pada tahun 2015, dua kali lebih banyak dari yang dikembangkan pada tahun 2014 di antara kelas obat ini. Hanya satu obat antikanker yang diluncurkan pada tahun 2015 yang dikembangkan dari produk alami, yaitu Yondelis® (*trabectedin*) (FDA, 2016) yang digunakan untuk pengobatan sarkoma jaringan lunak dan kekambuhan kanker ovarium [1].

1.5. Evaluasi Beberapa Tanaman Obat untuk Pengobatan Kanker di Togo/Afrika

Pada negara berkembang, kanker menjadi tantangan bagi penduduk dan peneliti. Di Togo, jamu banyak digunakan dan terkadang menjadi alternatif unik untuk pengobatan. Pengobatan tradisional di Togo mengklaim dapat mengobati penyakit kanker dan terbukti dengan pengetahuan dan praktik. Pengetahuan tradisional perlu digunakan untuk penemuan obat antikanker yang efektif, murah, dan aman untuk melawan resistensi multi-obat dalam kemoterapi. Untuk mencari potensi obat kanker fito dan obat tradisional berbasis terbukti, maka Kola, P. dkk. melakukan penelitian aktivitas antioksidan, antiangiogenik, antiinflamasi, dan sitotoksik in vitro dari empat spesies tanaman obat, yaitu akar *Cochlospermum planchonii* (CP), daun *Piliostigma thonningii* (PT), daun *Paullinia pinnata* (PP), dan akar *Securidaca longipedunculata* (SL) [4].

Tanaman obat yang akan diekstrak terlebih dahulu dipersiapkan. Pengambilan empat spesies tanaman obat dilakukan pada bulan Februari-Maret 2020. Selanjutnya, tanaman dicuci, dikeringkan di bawah AC, dan direduksi menjadi bubuk. Ekstrak hidroetanol dibuat sebagai berikut. Sebanyak 680 gram bubuk akar CP, 800 gram bubuk daun PT, 717 gram bubuk daun PP, dan 800 gram bubuk akar SL dimaserasi secara terpisah dengan masing-masing dalam 8 L Etanol-Aquades. Maserat yang dihasilkan kemudian disaring melalui kapa dan kemudian melalui kertas saring Whatman no. 1. Filtrat yang dihasilkan diuapkan pada suhu 45°C menggunakan *rotary evaporator*. Selanjutnya dilakukan uji kandungan senyawa bioaktif pada masing-masing ekstrak tanaman obat [4].

Berdasarkan hasil penelitian, ekstrak hidroetanol dari empat spesies tanaman obat kaya akan flavonoid, tanin, dan alkanoid. Polifenol memiliki efek yang kuat terhadap kanker, peradangan, patologi neurodegeneratif dan merupakan agen antioksidan yang kuat. Kandungan polifenol total untuk CP, PT, PP, dan SL masing-masing adalah $187,0 \pm 4,18$, $191,9 \pm 0,09$, $198,5 \pm 4,95$ dan $69,44 \pm 8,88$ mg/GAE/g. Kadungan polifenol

dan tanin tertinggi terdapat pada ekstrak daun PP. Sedangkan, kandungan flavonoid tertinggi terdapat pada ekstrak kar CP dan daun PT. Selain itu, ekstrak akar SL kaya akan saponin. Berdasarkan hasil penelitian ini, aktivitas substansial dan parameter biologisnya dalam terapi kanker [4].

Parameter biologis dari keempat spesies tanaman obat diuji pada tikus Wistas jantan dengan berat antara 200 dan 250 gram. Dari hasil penelitian bahwa keempat spesies tanaman obat ini memiliki aktivitas antioksidan, antiangiogenik, antiinflamasi, dan sitotoksik yang baik. Namun, pemberian konsentrasi ekstrak akar SL pada konsentrasi yang tinggi dapat memberikan toksisitas [4].

1.6. Vaksin Berbasis Tanaman untuk Terapi Kanker

Perawatan kanker telah meningkat secara signifikan selama beberapa dekade terakhir, yaitu dengan pembedahan, kemoterapi, radioterapi, dan strategi konvensional lainnya. Namun, kanker masih belum bisa diberantas dan pengobatan kanker jangka panjang yang efektif masih menjadi tantangan karena kekambuhan, metastasis, dan perkembangan resistensi multiobat. Pengobatan kanker berbasis vaksin telah banyak dieksplorasi. Vaksin yang digunakan untuk mengobati kanker dapat berupa vaksin kanker profilaksis yang dapat mencegah infeksi virus yang dapat menyebabkan kanker atau vaksin kanker terapeutik yang dapat mengobati kanker yang sudah ada [5].

Vaksin sub unit rekombinan telah berhasil diproduksi menggunakan biologi molekular dan teknik imunologi. Berbagai garis sel yang berasal dari ragi, amalia, serangga, atau bakteri telah digunakan untuk menghasilkan vaksin menggunakan ekspresi dan pemrosesan protein rekombinan. Namun, terdapat beberapa kendala dalam memproduksi vaksin tersebut, seperti volume media kultur yang relatif besar dan proses pemurnian yang memakan waktu lama dan mahal. Oleh karena itu, vaksin yang diproduksi oleh sistem ekspresi tanaman dapat menjadi alternatif yang baik karena biayanya lebih rendah dan lebih rendah risiko kontaminan patogennya dibandingkan dengan sistem mamalia [5].

Vaksin nabati (vaksin berbasis tanaman) pertama kali dilaporkan pada tahun 1990. Vaksin tersebut dibuat dari tanaman tembakau yang ditransformasi untuk mengekspresikan antigen protein permukaan A dari mutan *Streptococcus mutans*. Beberapa vaksin anti-kanker nabati saat ini sedang diselidiki. Pada sub bab ini akan dirangkum beberapa vaksin yang telah digunakan dalam terapi kanker dengan penekanan pada vaksin nabati [5].

Dibandingkan dengan vaksin rutin yang mengandung mikroorganisme patogen yang dilemahkan atau dibunuh, vaksin subunit rekominan yang telah dikembangkan menggunakan teknik biologi molekuler dan imunologi pada tingkat molekuler, telah terbukti secara efisien mencegah infeksi dengan menggunakan protein dan epitop antigenik yang teridentifikasi dengan baik. Berbagai vaksin nabati sebagai terapi kanker disajikan pada Tabel 1.3 sebagai berikut [5].

Tabel 1.3. Vaksin nabati untuk terapi kanker.

Jenis kanker	Jenis vaksin	Model	Temuan
Limfoma	Virus kentang X menanam partikel virus yang digabungkan dengan antigen tumor <i>idiotypic</i> (Id) yang imunogeniknya buruk	In vitro: BCL1 lymphoma In vivo: BALB/c, C57Bl/6 mice, TLR7 knockout (KO), TRIF KO mice	- Respon antibodi anti-Id yang kuat diinduksi pada tikus in vivo - Produksi IFN- α oleh DC plasmacytoid dan CD11c + DC limpa yang diaktifkan setelah keterlibatan TLR7 in vivo
Melanoma Paru Metastatik	<i>Empty Cowpea Mosaic Virus</i> (eCPMV)	In vitro: B16F10, 4T1, CT26, ID8-Defb29/Vegf-A In vivo: WT, Il-12 ^{-/-} , Ifn γ ^{-/-} NOD/scid/IL2R γ ^{-/-} , dan tikus yang kehabisan Ly6G	- Penurunan metastasis paru-paru B16F10 dan respons imun anti-tumor sistemik yang kuat terhadap B16F10 yang imunogenik lemah di kulit dicapai dengan menghirup CPMV yang dirakit sendiri
Breast cancer	- <i>Cowpea chlorotic mottle virus</i> (CCMV) yang membawa tikus CH401 epitop - <i>Sesbania mosaic virus</i> (SeMV) yang membawa tikus CH401 epitop - <i>Cowpea mosaic virus</i> (CPMV) yang membawa tikus CH401 epitop	In vitro: SKBR3, DDHER2 In vivo: tikus BALB/c	- Regimen prime-boost pada tikus menurunkan pertumbuhan tumor dan kelangsungan hidup yang berkepanjangan setelah tantangan tumor in vivo - Titer IgG spesifik HER2 yang dipicu oleh CCMV-CH401 adalah 4 kali lipat dan 8 kali lipat lebih tinggi daripada yang dipicu oleh SeMV-CH401 dan CPMV-CH401 - Respon dominan Th1 dipicu oleh CPMVCH401, tetapi CCMV-CH401 dan SeMV-CH401 memicu respons dominan Th2

Jenis kanker	Jenis vaksin	Model	Temuan
HER2+ ganas	<ul style="list-style-type: none"> - Virus kentang berserabut X (PVX) memberikan epitop HER2 - <i>Cowpea mosaic virus</i> (CPMV) memberikan epitop HER2 	<p>In vitro: sel HER2 + SK-BR-3</p> <p>In vivo: tikus FVB</p>	<ul style="list-style-type: none"> - APC yang diaktifkan meningkat di kelenjar getah bening dengan lebih banyak transportasi oleh partikel CPMV dibandingkan dengan partikel PVX berfilamen - CPMV lebih unggul untuk stimulasi respons humoral epitopespesifik dan presentasi epitop sel B
Melanoma	<ul style="list-style-type: none"> - Memasukkan doksorubisin (DOX) ke dalam PVX (PVX-DOX) - Administrasi bersama PVX dan DOX (PVX+DOX) - Monoterapi vaksin in situ dengan virus kentang X (PVX) 	<p>In vitro: B16F10</p> <p>In vivo: tikus C57BL/6J</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Perkembangan tumor yang tertunda ketika PVX diberikan sebagai vaksin intratumoral in situ - Dibandingkan dengan PVX atau DOX saja, kombinasi DOX dengan PVX meningkatkan respon antitumor dan meningkatkan profil sitokin/kemokin antitumor.
Kanker Payudara	Antigen Tn pada kapsid virus mosaik kacang tunggak permukaan (CPMV)	<p>In vitro: sel kanker payudara manusia NCI-ADR RES, MCF-7</p> <p>In vivo: tikus C57BL/6</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Titer IgG spesifik yang tinggi dan titer antibodi Tn total terlihat 35 hari setelah imunisasi
Melanoma	<i>Papaya mosaic virus nanoparticle</i> (PapMV)	<p>In vitro: B16F10, B16-OVA</p> <p>In vivo: Tikus C57BL/6 diamati setelah pengobatan dengan PapMV</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Pengurangan perkembangan melanoma dan kelangsungan hidup yang berkepanjangan diinduksi oleh pemberian PapMV intratumoral - Peningkatan dramatis total dan sel T CD8 (+) spesifik tumor - Tumor metastatik di paru-paru dicegah dengan pemberian PapMV sistemik
Kanker serviks	<i>Chimeric virus-like particle</i> (cVLP) yang mengandung serangkaian epitop sel T dari HPV 16 E6 dan E7 yang menyatu ke domain Cterminal	<p>In vitro: TC-1</p> <p>In vivo: tikus C57BL/6</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Antibodi IgG yang persisten diinduksi oleh cVLP ini selama lebih dari 12 bulan - cVLP dari onkoprotein HPV-16 E6/E7 memberikan pengurangan tumor yang signifikan (57%)

Jenis kanker	Jenis vaksin	Model	Temuan
Melanoma	<i>Tobacco mosaic virus</i> (TMV)	In vitro: B16F10	<ul style="list-style-type: none"> - Meskipun TMV dan TMV pendek secara signifikan kurang kuat daripada CPMV, keduanya memperlambat pertumbuhan tumor dan memperpanjang tingkat kelangsungan hidup - Rekrutmen sel T dan sel imun bawaan dimediasi oleh TMV
	<i>Cowpea mosaic virus</i> (CPMV)	In vivo: tikus C57BL/6	<ul style="list-style-type: none"> - Stimulasi respon antitumor oleh CAMV melalui rekrutmen monosit ke dalam lingkungan mikro tumor (TME)
Kanker hepatoseluler	Wafer yang dihasilkan dari benih jagung yang mengekspresikan HBsAg	tikus inbrida BALB/c	<ul style="list-style-type: none"> - Peningkatan tajam pada titer IgA mukosa dalam sampel tinja dan peningkatan signifikan dalam serum IgA pada tikus yang terpapar HBsAg secara oral wafer - Pada tikus yang diobati secara oral IgA tinja, serum IgG, IgA, mIU/mL, menunjukkan memori jangka panjang > selama satu tahun
Kanker hepatoseluler	Jaringan liofilisasi pengeksprei antigen permukaan hepatitis B dari selada tahan herbisida	In vivo: tikus BALB/c	Respon anti-HB humoral sistemik dan mukosa yang protektif dimunculkan
Kanker payudara	Fragmen protein Her2 44kD (ED44Her2) yang diekspresikan dalam <i>Nicotiana benthamiana</i> oleh sistem magnICON Terintegrasi dengan pembawa imunogenik asing; fragmen C toksin tetanus (FrC)	In vitro: - Sel TUBO D2F2/E2 In vivo: - BALB-neuT mencit betina - BALB/c	<ul style="list-style-type: none"> - Vaksin ED44Her2-FrC model praklinis terkontrol dari kanker payudara metastatik dan dengan titer antibodi tinggi - Antibodi anti-Her2 afinitas tinggi protektif dihasilkan bersama dengan sitokin sel CD4 + Th dengan kombinasi FrC

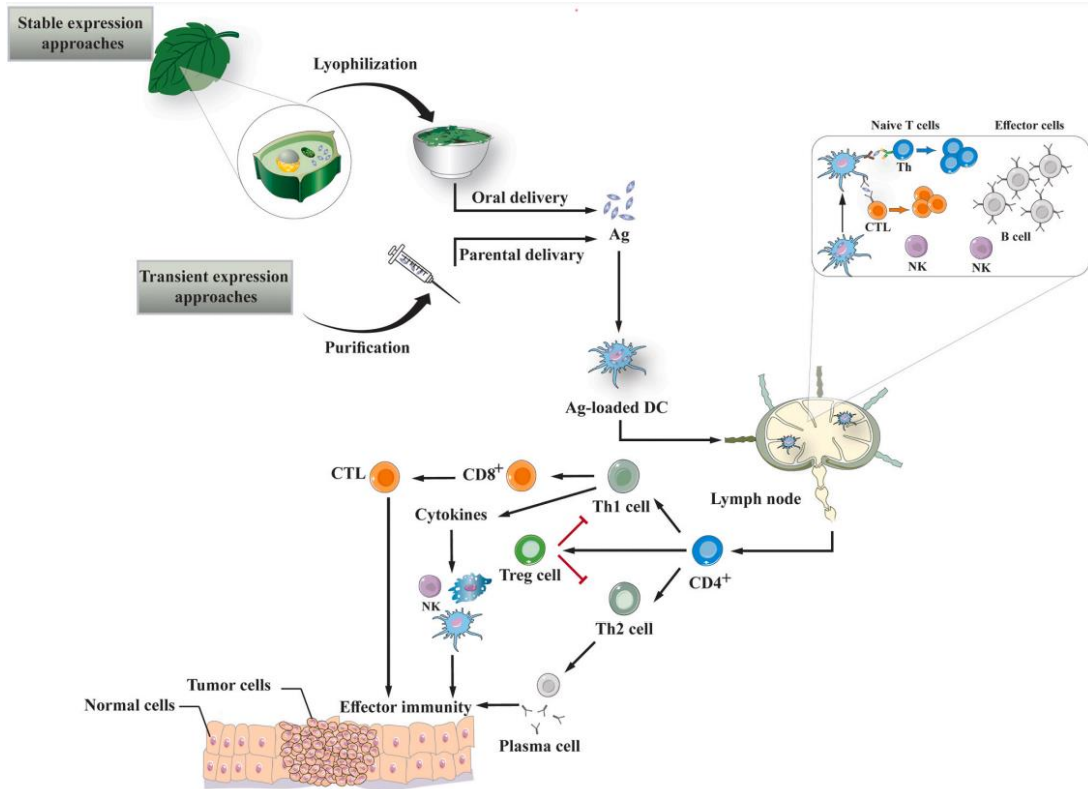
Jenis kanker	Jenis vaksin	Model	Temuan
Kanker payudara	Peptida <i>mucin tandem repeat</i> (MUC1 TR) epitel manusia yang diekspresikan tumor terkait tumor yang diekspresikan secara rekombinan terintegrasi dengan subunit E. coli enterotoksin B penargetan mukosa (LTB-MUC1)	In vivo: tikus toleran MUC1 (MUC1. Tg)	- Anti-MUC1 Respon IgG, IgG1, dan IgG2a di MUC1. Model tikus Tg setelah vaksinasi dengan adjuvant LTB-MUC1-6 Nya plus CpG ODN
Kanker payudara	Domain ekstraseluler tikus ErbB2 (653 asam amino) (rErbB2-TM) diekspresikan dalam <i>Nicotiana benthamiana</i>	In vivo: tikus BALB/c	- Respon imun antitumor humoral, tetapi sitotoksitas CTL yang buruk
Limfoma Non-Hodgkin	Domain idiotipe dari Ig spesifik tumor sebagai protein rantai tunggal Fv (scFv) yang diekspresikan dalam <i>Nicotiana benthamiana</i>	In vivo: Tikus	- Respon imun anti-idiotipe diinduksi tanpa reaktivitas silang terhadap protein Ig atau scFv yang tidak relevan
Kanker kolorektal	Tanaman tembakau transgenik mengekspresikan 3 gen GA733 rekombinan: -GA733 menyatu dengan fragmen imunoglobulin Fc -(GA733-Fc) GA733 ditandai ke urutan retensi ER KDEL (GA733K) GA733 -Fc menyatu dengan urutan retensi ER (GA733- FcK)	In vitro: SW480, SW1116, SW620, MCF-7 tikus BALB/c	- Tikus yang diimunisasi seefisien GA733-F turunan mamalia
Kanker kolorektal	Antigen kanker kolorektal terkait tumor yang diturunkan dari tumbuhan EpCAM (pGA733)	In vivo: tikus BALB/c, tikus telanjang xenograft dengan sel CRC SW948	- Respon antibodi spesifik serum GA733 yang kuat ditemukan pada semua hewan yang divaksinasi - Vaksin yang berasal dari tumbuhan dapat menekan pertumbuhan tumor pada tikus

Jenis kanker	Jenis vaksin	Model	Temuan
Kanker kolorektal	GA733–2 diproduksi di tanaman tembakau In vivo: -	In vitro: SW948 In vivo: Tikus Balb C	- Imunogenisitas antigen CRC yang diekspresikan tanaman mirip dengan sistem vektor ekspresi baculovirus rutin
Kanker serviks	HPV tipe 11 (HPV11) yang diekspresikan kentang dan tembakau sebagai protein kapsid L1 utama	In vivo: BALB/c tikus	- Peningkatan respons antibodi VLP serum yang signifikan setelah ditingkatkan secara oral dengan kentang L1 transgenik yang dicampur dengan LT (R192G) - Peningkatan oral, menghasilkan sel memori spesifik antigen pada tikus yang menelan kentang L1 transgenik plus adjuvant
Kanker serviks	Protein LTB dan HPV16L1 yang diekspresikan daun tembakau transgenik	In vivo: tikus BALB/c	- Transgenik turunan tembakau LTB dan koimunisasi HPV16-L1 menginduksi respon imun sistemik dan mukosa
Kanker serviks	HPV-16 L1 berbasis tanaman tembakau chimera	In vivo: tikus C57/BL6	- Respons anti-L1/-L2 pada tikus dan serum yang dinetralkan homolog HPV-16

Sumber: Rahimian, N. dkk., 2021.

Banyak penelitian yang mendukung konsep pengiriman oral biofarmasi nabati menggunakan biomassa yang berasal dari tumbuhan. Sebagaimana yang ditunjukkan Gambar 1.7 mengenai mekanisme vaksin antikanker berbasis nabati, dengan menggunakan berbagai teknologi yang mengarah pada ekspresi stabil atau sementara, TAA dihasilkan dalam sel tumbuhan melalui teknologi DNA rekombinan. Ekspresi transien memerlukan tahap pemurnian untuk menghasilkan formulas vaksin untuk injeksi parenteral, tetapi ekspresi yang stabil memungkinkan formulasi vaksin oral menggunakan bahan tanaman yang dikeringkan dan dibekukan. Sel dendritic (DC) memiliki akses ke antigen setelah pelepasan, yang pada gilirannya mengaktifkan limfosit dan presentasi antigen. Modulasi aktivitas sel imun fektor dimediasi oleh produksi sitokin, yang meliputi sitokin sel T helper tipe I dan tipe II (Th1/Th2). Mekanisme penghancuran sistem kekebalan tumor, termasuk pengembangan sel plasma yang mengekspresikan antibodi untuk aktivasi komplemen, serta *cytotoxic T*

lymphocytes (CTL) yang memicu apoptosis sel tumor, dan *antibody-dependent cellular cytotoxicity* (ADCC) di mana kematian sel tumor diinduksi oleh makrofag (MF) atau sel pembunuh alami (NK). Downregulation imunitas efektor dimediasi oleh Treg (sel T regulator) [5].



Sumber: Rahimian, N. dkk., 2021.

Gambar 1.7. Mekanisme vaksin berbasis tanaman untuk antikanker.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Majolo, F., Delwing, L. K. d. O. B., Marmitt, D. J., Filho, I. C. B., Goettert, M. I.; 2019; *Medicinal Plants and Bioactive Natural Compounds for Cancer Treatment: Important Advances for Drug Discovery*; *Phytochemistry Letters* 31; 196-307.
- [2] Mbele, M., Hull, R., and Dlamini, Z.; 2017; *African Medicinal Plants and Their Derivatives: Current Efforts Towards Potential Anti-Cancer Drugs*; *Experimental and Molecular Pathology* 103; 121-134.
- [3] Roya, A., Dattab, S., Bhatia, K. S., Bhumikab, Jhad, P., Prasad, R.; 2021; *Role of Plant Derived Bioactive Compounds Against Cancer*; *South African Journal of Botany*; 1-12.
- [4] Kola, P., Metowogo, K., Manjula, S.N., Katawa, G., Elkhenany, H., Mruthunjaya, K.M., Eklugadegbeku, K., Aklidikou, K. A.; 2022; *Ethnopharmacological Evaluation of Antioxidant, Anti-Angiogenic, and Anti-Inflammatory Activity of Some Traditional Medicinal Plants Used for Treatment of Cancer in Togo/Africa*; *Journal of Ethnopharmacology* 283; 1-8.
- [5] Rahimian, N., et al.; 2021; *Plant-Based Vaccines and Cancer Therapy: Where Are We Now and Where Are We Going?*; *Pharmacological Research* 169; 2-13.

BAB II

OBAT KANKER DARI ALGA COKLAT

Alga coklat merupakan alga laut makroskopik multiseluler dan pada dasarnya diklasifikasikan menjadi tiga taksa utama, yaitu makroalga hijau (Filum *Chlorophyta*), makroalga merah (Filum *Rhodophyta*), dan makroalga coklat (Filum *Orchrophyta*) [1, 2]. Makroalga mengandung beberapa senyawa bioaktif seperti polifenol, polisakarida sulfat, dan peptida [1]. Alga coklat atau yang dikenal dengan *Phaeophyta* merupakan rumput laut yang tersebar di berbagai daerah laut dingin dan merupakan kelompok besar tumbuhan laut, terutama meliputi, *Sargassum*, *Fucus*, dll [3]. Alga coklat melakukan peran penting dalam lingkungan laut, baik sebagai makanan maupun untuk habitat yang mereka bentuk [4]. Alga coklat kaya akan zat aktif dan terdiri dari polisakarida seperti alginat, selulosa, laminarin, dan fukoidan; polifenol seperti flavonoid; terpenoid; protein; sterol; siklik sulfida belerang multi-cincin; dan makrolida [3]. Berbagai zat aktif yang terkandung dalam alga coklat inilah yang membuat alga coklat dapat dimanfaatkan dalam berbagai aplikasi, diantaranya kedokteran, kosmetik, makanan fungsional, biofuel, dan industri biopolimer. Pada bab ini akan dibahas mengenai fukoidan yang terkandung dalam alga coklat serta pemanfaatannya sebagai obat kanker [5].

2.1. Fukoidan

2.1.1. Pengertian dan Sejarah

Fukoidan adalah polisakarida sulfat, kaya akan fukosa, yang banyak ditemukan dalam alga coklat dan spesies laut lainnya [1, 6]. Fukoidan dianggap sebagai molekul penguat dinding sel yang sepertinya terkait dengan perlindungan terhadap efek pengeringan ketika rumput laut terpapar sinar matahari pada saat air surut. Fukoidan juga dapat mengandung sejumlah kecil galaktosa, manosa, xilosa, glukosa dan/atau asam glukuronat [4, 7]. Secara umum, komposisi kimia fukoidan ini sangat bervariasi tergantung pada spesies alga, lokasi geografis dan musim panen, dan metodologi ekstraksi [6, 7]. Istilah “*fucoidin*” pertama kali diudulkan pada tahun 1913 oleh H. Kylin ketika pertama kali diisolasi dari alga coklat dari Famili *Fucaceae* dan *Laminariaceae* [4, 7]. Berdasarkan aturan IUPAC, sekarang disebut sebagai “*fukoidan*”, tetapi juga dapat disebut sebagai *fucan*, *fucosan*, atau *fucan sulfate* [4]. Hingga saat ini, fukoidan telah ditetapkan memiliki beberapa karakteristik biologis untuk manusia, seperti antikanker, antivirus, anti-alergi, antikoagulan, antioksidan,

anti-inflamasi, imunomodulasi, antidiabetik, radioprotektif, kardioprotektif, dan fungsi hepatoprotektif [1, 6, 7].

2.1.2. Sumber fukoidan

Konsentrasi fukoidan dalam alga coklat bervariasi, berkisar dari 19% yang diperoleh dari *Ecklonia radiata* hingga 51,2% yang diperoleh dari *Cladosiphon sp.* Tabel 2.1 dan Gambar 2.1. menunjukkan rumput laut coklat yang telah diteliti kandungan fukoidannya [1].

Tabel 2.1. Beberapa rumput laut coklat yang dilaporkan mengandung fukoidan beserta komposisinya.

Alga Coklat	Komposisi (% mol)
<i>Laminaria hyperborea</i>	Fukosa (97,8), galaktosa (2,2), sulfat (53,8) ^a
<i>Fucus vesiculosus</i>	Fukosa (44,5), xilosa (7,1), mannososa (2,7), galaktosa (3,1), glukosa (1,3), sulfat (28,4) ^a , asam uronat (4,9) ^a
<i>Undaria pinnatifida</i>	Fukosa (29,7), xilosa (0,4), mannososa (1,0), galaktosa (22,7), glukosa (0,8), ramnosa (0,3) sulfat (29,1) ^a , asetil (2,5) ^a , asam uronat (2,1) ^a
<i>Padina boryana</i>	Fukosa (61), galaktosa (31), mannososa (4), glukosa (3), asetil and sulfat (18,2) ^a , polifenol (4,3) ^a
<i>Sargassum feldmannii</i>	Fukosa (39), galaktosa (57), mannososa (1), xilosa (1) glukosa (1), sulfat (21) ^a , polifenol (2,4) ^a
<i>Sargassum henslowianum</i>	Fukosa (1), mannososa (0,05), galaktosa (0,05), xilosa (0,38), glukosa (0,92), asam uronat (5,8) ^a , sulfat (25,20) ^a
<i>Cladosiphon okamuranus</i>	Fukosa (70,13), arabinosa (0,34), xilosa (1,80), rhamnosa (0,17), mannososa (0,54), galaktosa (0,80), glukosa (0,31), asam glukuronat (9,27), sulfat (15,16) ^a
<i>Laminaria japonica</i>	Fukosa (48,7), galaktosa (18,4), mannososa (10,2), rhamnosa (4,03), glukosa (5,43), xilosa (1,21), asam glukuronat (10,8), N-asetilglukosamin (1,23), sulfat (21,43) ^a , asam uronat (6,78) ^a
<i>Sargassum duplicatum</i>	Fukosa (51,3), galaktosa (48,6), sulfat (31,7) ^a
<i>Nemacystus decipiens</i>	Fukosa (75), xilosa (1,2), galaktosa (1,8), glukosa (1,5), asam uronat (20,5), sulfat (20,3) ^a , protein (2,2) ^a

^a % berat sampel (massa)

Sumber: do-Amaral, C.C.F. dkk., 2020.

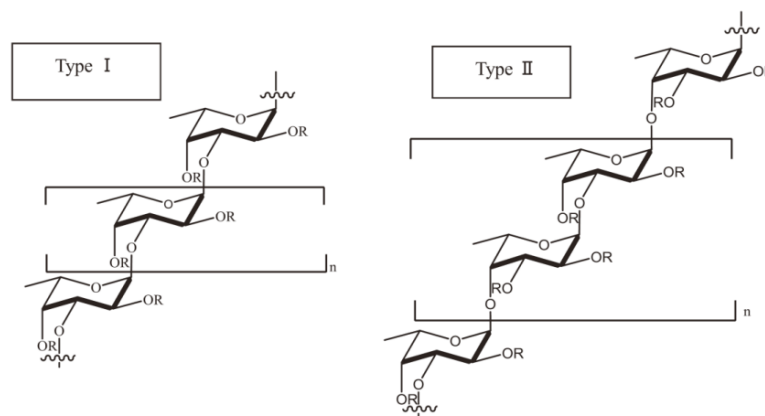


Sumber: Luthuli, S. dkk., 2019.

Gambar 2.1. Sumber Fukoidan. 1. *Fucus spiralis*, 2. *Laminaria digitata*, 3. *Fucus evanescens*, 4. *Fucus serratus*, 5. *Ascophyllum nodosum*, 6. *Pelvetia canaliculata*, 7. *Cladosiphon okamuranus*, 8. *Sargassum fusiform*, 9. *Laminaria japonica*, 10. *Sargassum horneri*, 11. *Nemacystus decipiens*, 12. *Padina gymnospora*, 13. *Hyperborea Laminaria*.

2.1.3. Struktur

Struktur kimia fukoidan terkenal cukup rumit. Fukoidan biasanya memiliki 2 tipe rantai tulang punggung homofukosa seperti yang ditunjukkan pada Gambar 2.2. Rantai (I) hanya dibentuk oleh residu (1→3)-linked α -L-*fucopyranose* dan rantai (II) terdiri dari (1→3) atau (1→4)-linked α -L-*fucopyranose* yang bergantian [27, 30]. Kandungan α -L-*fucose* dalam fukoidan adalah 34-44%. Sedangkan monosakarida lain termasuk galaktosa, xilosa, manosa, asam uronat, dll., menyumbang di bawah 10% dari keseluruhan pembentukan polisakarida. Gugus asam sulfat sebagian besar terletak pada posisi C-4 dan hanya sedikit yang terletak pada posisi C-3 [3].



Sumber: Lin, Y. dkk., 2020.

Gambar 2.2. Tipe I dan tipe II dari rantai tulang punggung rantai tulang punggung homofukosa. R dapat berupa gugus fukopiranosa, asam glukuronat, dan sulfat.

2.1.4. Ekstraksi fukoidan

Telah banyak yang melakukan studi mengenai berbagai metode yang digunakan untuk ekstraksi fukoidan. Secara umum, fukoidan dapat diekstraksi dengan menggunakan air panas, asam encer, dan alkali encer, atau pelarut organik berair [1, 4]. Asam klorida panas juga digunakan untuk ekstraksi fukoidan yang diikuti dengan pengendapan etanol [1]. Namun, metode ini biasanya memakan waktu lama, membutuhkan reagen dalam jumlah besar serta sulit untuk memurnikan polisakarida aktif karena dinding sel rumput laut coklat tersusun dari polimer kompleks. Selain menggunakan metode konvensional atau menggunakan pelarut, beberapa metode baru telah berkembang, diantaranya menggunakan gelombang mikro, gelombang ultrasound, dan menggunakan enzim [1, 4]. Gelombang mikro atau ultrasound digunakan untuk menggerakkan molekul air dalam sel untuk bergetar, sehingga memecah sel dan meningkatkan efisiensi metode ekstraksi air tradisional [3]. Metode ini dianggap sebagai metode yang ramah lingkungan [1]. Ekstraksi enzim-asisten adalah ekstraksi dengan menggunakan enzim untuk melarutkan dinding sel dan melepaskan isi sel. Metode ini memiliki efisiensi dan spesifisitas katalitik yang tinggi [3].

Ekstraksi fukoidan dari alga coklat secara umum melibatkan tiga langkah: (i) pengumpulan dan persiapan alga, (ii) pre-treatment alga, (iii) ekstraksi/pemurnian fukoidan. Langkah pertama atau langkah persiapan meliputi pengumpulan dan pembersihan alga dengan air laut untuk menghilangkan kotoran dan epifit. Alga yang telah dibersihkan kemudian dikeringkan dan digiling untuk mendapatkan hasil tertinggi pada proses ekstraksi. Langkah kedua atau proses pre-treatment merupakan penghapusan senyawa yang tidak diinginkan selama ekstraksi fukoidan seperti lipid (*defatted*), protein (*deproteinated*), fenol (*dephenolated*), dan klorofil. Untuk meminimalkan koekstraksi senyawa ini, metode ekstraksi yang paling umum dilakukan dengan menggunakan campuran pelarut organik, seperti metanol/kloroform/air, etanol/air, aseton/etanol, atau hanya aseton. Polaritas yang bervariasi dari pelarut organik ini memungkinkan ekstraksi berbagai kelas pengotor. Fukoidan larut dalam air. Pelarut non-polar seperti kloroform dapat digunakan untuk mengekstrak lipid, sedangkan pigmen dihilangkan dengan pelarut semipolar seperti metanol. Penggunaan suhu tinggi dan etanol sebagai pelarut memungkinkan ekstraksi kotoran yang lebih besar. Langkah ketiga atau ekstraksi

dicirikan dengan menggunakan pelarut organik dengan variabilitas kondisi yang besar, yaitu suhu dan waktu. Prosedur ekstraksi yang digunakan untuk mendapatkan fukoidan dari alga adalah titik kritis. Metode ekstraksi yang berbeda dapat menghasilkan komposisi kimia yang berbeda dari komponen fungsional dan akibatnya, aktivitas biologis yang berbeda/baru yang terkait dengannya [2].

Hanjabam, M. D. dkk. (2019) telah melakukan studi mengenai ekstraksi fukoidan mentanah dari alga coklat *Sargassum wightii* menggunakan metode ekstraksi konvensional dan metode ekstraksi modern. Metode ekstraksi konvensional yang digunakan yaitu menggunakan air panas atau *Hot Water Extraction* (HWE) sedangkan metode ekstraksi modern yang digunakan adalah menggunakan bantuan *ultrasound* atau *Ultra-Sonication Assisted Extraction* (UAE). *Sargassum wightii* dibersihkan, dikeringkan, dan digiling untuk selanjutnya digunakan dalam proses ekstraksi. Serbuk *Sargassum wightii* dicampur dengan air suling yang diasamkan (pH 2) menggunakan HCl 1 N dengan perbandingan 1:25 (rumput laut: air) dan diaduk selama 15 menit agar serbuk rumput laut mengembang. Suspensi *Sargassum wightii* diaduk terus menerus selama dua jam pada suhu 85°C. Setelah proses ekstraksi, larutan dinetralkan dengan NaOH 1 N dan disaring menggunakan corong nilon. Filtrat disentrifugasi selama 15 menit pada 6500 rpm dan suhu kamar. Filtrat yang diperoleh disaring lagi menggunakan kertas saring 11 mikrom dan diuapkan menggunakan Rotary Evaporator pada suhu 45°C hingga diperoleh konsistensi yang kental. Ekstraksi dilakukan dua kali dan filtrat dikumpulkan bersama. Larutan kental diendapkan dengan alkohol absolut hingga konsentrasi akhir 70% (v/v). Endapan dipisahkan dengan penyaringan melalui saringan nilon 1 m dan dilakukan pengeringan beku. Untuk metode UEA, larutan rumput laut yang membengkak menjadi sasaran perawatan ultrasound selama 30 menit (40 detik *pulse on*; 1 detik *pulse off*; amplitudo 50%) dalam sistem ultrasound skala lab. Langkah ekstraksi selanjutnya tetap sama seperti metode HWE. Selain itu ekstraksi dengan bantuan ultrasound dilakukan satu kali. Hasil dihitung sebagai berat serbuk kering beku terhadap berat serbuk *S. wightii* [9].

Hasil ekstraksi dan komposisi kimia (total fukosa, sulfat dan kandungan protein) dari bubuk fukoidan dari *Sargassum wightii* diberikan pada Tabel 2.2. Hasil studi menunjukkan bahwa hasil ekstraksi dengan metode UAE jauh lebih

tinggi daripada metode HWE. Namun kandungan fukosanya lebih tinggi pada metode HWE ($26,21 \pm 0,95\%$) dibandingkan dengan metode UEA ($23,72 \pm 0,81\%$). Hal ini dikarenakan penggunaan ultrasound menurunkan struktur polisakarida sulfat, seperti studi yang telah dilaporkan sebelumnya, yaitu ekstraksi fukoidan dari *Undaria pinnatifida*. Kandungan fukosa dari fukoidan juga dipengaruhi oleh kondisi ekstraksi yang digunakan untuk ekstraksi fukoidan [9].

Tabel 2.2. Hasil ekstraksi dan komposisi fisio-kimia fukoidan.

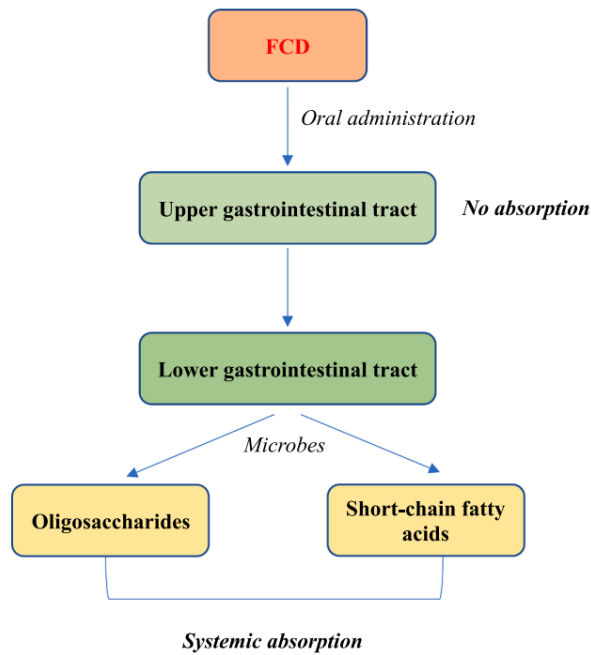
Metode	Yield (% w/w)	Total sulfat (% w/w)	Total fukosa (% w/w)	Total protein (% w/w)
HWE	10,59	$17,55 \pm 0,06$	$26,21 \pm 0,06$	$16,64 \pm 0,73$
UAE	14,61	$17,62 \pm 0,88$	$23,72 \pm 0,81$	$12,83 \pm 0,49$

Nilai dinyatakan sebagai mean \pm standar deviasi dari tiga bacaan.

Sumber: Hanjabam, M. D. dkk., 2019.

2.2. Metabolisme dan Toksisitas Fukoidan

Struktur polisakarida dengan kandungan sulfat tinggi pada fukoidan yang diekstraksi dari terutama dari alga coklat, mempengaruhi transformasi dan penyerapan dalam tubuh manusia [10]. Dalam beberapa dekade terakhir, umumnya diyakini bahwa fukoidan tidak dapat diserap di saluran pencernaan bagian atas dan malah didegradasi dan difermentasi oleh mikroba di saluran pencernaan bagian bawah [3, 10] seperti yang ditunjukkan pada Gambar 2.3. Akibatnya, mekanisme antitumor fukoidan secara oral masih belum jelas. Namun, pada tahun 2005 mulai dilakukan studi klinis penyerapan fukoidan melalui usus manusia. Sebuah studi dilakukan menggunakan antibodi spesifik fukoidan yang diekstraksi dari *Cladosiphon okamuranus* dengan metode *sandwich Elisa* untuk meneliti fukoidan guna menguji penyerapan fukoidan di usus tikus. Hasil studinya menggambarkan bahwa fukoidan dapat diserap oleh makrofag usus dan sel Kupfer [3]. Faktanya, sejumlah besar oligosakarida yang dihasilkan dari degradasi dan asam lemak rantai pendek yang dihasilkan dari fermentasi heteropolisakarida sulfat menghasilkan penyerapan sistemik polisakarida. Selanjutnya, perubahan mikrobiota usus yang disebabkan oleh fukoidan juga dapat mempengaruhi penyerapannya. Namun, kadar fukoidan dalam darah sangat rendah setelah pemberian oral karena eliminasinya yang cepat dari serum, sementara hampir semua fukoidan yang diberikan terakumulasi di hati dan perlahan-lahan diekskresikan dengan urin [10].



Sumber: Lin, Y. dkk., 2020.

Gambar 2.3. Ilustrasi transformasi khas dan penyerapan fukoidan dalam tubuh setelah pemberian oral.

Sebagian besar percobaan *in vitro* telah menunjukkan bahwa fukoidan dengan konsentrasi sitotoksik pada garis sel tumor tidak berpengaruh pada pertumbuhan sel normal dan mitosis [3]. Tidak beracunnya fukoidan juga telah dibuktikan dengan studi *in vivo*. Sebuah studi melaporkan bahwa fukoidan dari Sporophyll of *Undaria pinnatifida* terbukti aman pada tikus Sprague-Dawley dengan dosis oral hingga 1350 mg/kg/hari dalam 4 minggu. Dalam studi lain, pemberian fukoidan dari *Sargassum wightii* Greville 400 mg/kg/hari secara oral selama 4 minggu juga menunjukkan nontoksisitas pada organ tikus Wistar [25]. Studi lainnya melaporkan bahwa, para peserta menelan 5 kapsul yang mengandung 166 mg fukoidan setiap hari hingga 12 bulan. Tidak ada reaksi merugikan yang terdeteksi pada semua peserta [3]. Secara keseluruhan, penyelidikan tersebut mendukung penggunaan FCD jangka panjang dengan pemberian oral untuk tujuan terapeutik [25].

2.3. Efek Antikanker Fukoidan

Aktivitas antikanker fukoidan telah dipelajari secara ekstensif dan laporan penelitian paling awal telah muncul pada 1980-an. Sejak itu, sejumlah besar penelitian telah mengungkapkan bahwa fukoidan dapat secara langsung memberikan efek antikanker melalui penghentian siklus sel, induksi apoptosis, dll. Fukoidan secara tidak langsung juga dapat membunuh sel kanker dengan mengaktifkan sel pembunuh alami,

makrofag, dll. Dibandingkan dengan obat yang disintesis secara kimia, ekstrak alami digunakan sebagai obat antitumor baru atau sebagai *adjuvant* dalam kombinasi dengan obat antitumor karena aktivitas biologisnya yang tinggi, sumber yang luas, resistensi obat yang rendah, dan efek samping yang rendah. Fukoidan telah menunjukkan aktivitas antioksidan dalam beberapa penelitian. Fukoidan memiliki kelebihan radikal bebas dan merupakan antioksidan alami yang sangat baik. Fukoidan dengan berat molekul rendah dipisahkan menjadi DF1, DF2, dan DF3 setelah diproses. Mereka semua memiliki aktivitas penangkapan radikal anion superoksida tertentu. Berat molekul dan struktur fukoidan yang diperoleh dengan metode ekstraksi yang berbeda akan memiliki efek tertentu pada aktivitas biologisnya [3]. Beberapa fukoidan rumput laut coklat laut dengan aktivitas biologisnya serta pada target kanker telah tercantum dalam Tabel 2.3 dan Tabel 2.4.

Tabel 2.3. Aktivitas biologis beberapa fukoidan alga coklat.

Spesies Alga Coklat	Aktivitas biologis
<i>Undaria pinnatifida</i>	Imunomodulator dan antitumor
<i>Fucus vesiculosus</i>	Imunomodulator
<i>Ecklonia cava</i>	Antitumor/antikanker
<i>Fucus evanescens</i>	Antitumor/antikanker
<i>Laminaria guryanovae</i>	Antitumor/antikanker
<i>Laminaria japonica</i>	Antitrombotik dan antikoagulan
<i>Laminaria cichoriodes</i>	Antitrombotik
<i>Ascophyllum nodosum</i>	Antitrombotik
<i>Ecklonia cava</i>	Antitrombotik
<i>Hizikia fusiforme</i>	Antitrombotik
<i>Fucus vesiculosus</i>	Antitrombotik
<i>Padina gymnospora</i>	Antitrombotik
<i>Sargassum fulvellum</i>	Antitrombotik
<i>Ecklonia cava</i>	Antiinflamasi
<i>Laminaria saccharina</i>	Antiinflamasi
<i>Laminaria japonica</i>	Antiinflamasi
<i>Porphyra haitanesis</i>	Antioksidan
<i>Ulva pertusa</i>	Antioksidan
<i>Fucus vesiculosus</i>	Antioksidan
<i>Laminaria japonica</i>	Antioksidan
<i>Ecklonia kurome</i>	Antioksidan

Sumber: Wijesinghea, W.A.J.P dan Jeon, Y.J., 2012; Lin, Y. dkk., 2020.

Tabel 2.4. Target kanker beberapa fukoidan alga coklat.

Spesies Alga Coklat	Aktivitas biologis
<i>Fucus vesiculosus</i>	Limfoma (sel HS-Sultan)
<i>Cladosiphon novae-caledoniae</i>	Payudara (MCF-7 dan MDA-MB-231), Karsinoma Serviks (HeLa), Fibrosarkoma (HT1080)
<i>Cladosiphon novae-caledoniae</i>	Payudara (MDA-MB-231)
<i>Saccharina japonica</i> dan <i>Undaria pinnatifida</i>	Kandung Kemih dan Melanoma (T-47D dan SK-MEL-28)
<i>Cladosiphon okamuranus</i>	Liver (garis sel Huh7 dan HepG2)
<i>Sargassum fusifoeme</i>	Liver (garis sel Bel7402, SMMC7721, dan Huh7)
<i>Fucus vesiculosus</i>	Leukemia (sel HL-60 dan THP-1)
<i>Fucus vesiculosus</i>	Paru-paru (sel A549)
<i>Sargassum intergerrium</i>	Paru-paru (sel A549)
<i>Sargassum thunbergii</i>	Paru-paru (sel A549)

Sumber: do-Amarala, C.C.F. dkk., 2020; Lin, Y. dkk., 2020.

2.4. Mekanisme Antikanker Fukoidan

Berdasarkan studi yang telah dilakukan, dirangkum bahwa mekanisme antikanker fukoidan terutama mencakup empat aspek. Pertama, fukoidan dapat menekan proliferasi sel kanker dengan menghambat mitosis normalnya dan mengatur siklus sel. Kedua, fukoidan dapat mengaktifkan sinyal apoptosis sel kanker, menginduksi apoptosis melalui jalur terkait, dan dengan demikian menghasilkan efek anti kanker. Ketiga, fukoidan dapat menghambat pembentukan VEGF, sehingga menekan angiogenesis, memotong suplai nutrisi dan oksigen tumor, mengurangi volumenya dan menghalangi penyebaran dan transfer sel kanker. Keempat, fukoidan juga dapat mengaktifkan sistem imun tubuh, kemudian meningkatkan kemampuan sel natural killer dan sel T untuk membunuh sel tumor [3].

2.4.1. Fukoidan pada Siklu Sel dan Apoptosis

Proses fundamental dari progresi melalui siklus sel dan kematian sel terprogram melibatkan interaksi kompleks dari beberapa keluarga protein. Proses berbeda yang terkait erat dan bersama-sama memainkan peran penting dalam sensitivitas sel ganas terhadap kemoterapi. Siklus sel adalah mekanisme dimana sel membelah. Proses ini menuntut energi tinggi yang membutuhkan rangkaian peristiwa yang tercakup dan teratur untuk menjamin duplikasi dan pemisahan genom yang benar. Proses ini melibatkan empat fase berurutan mulai dari diam (fase G₀) ke proliferasi (fase G₁, S, G₂, dan M) dan kembali ke diam.

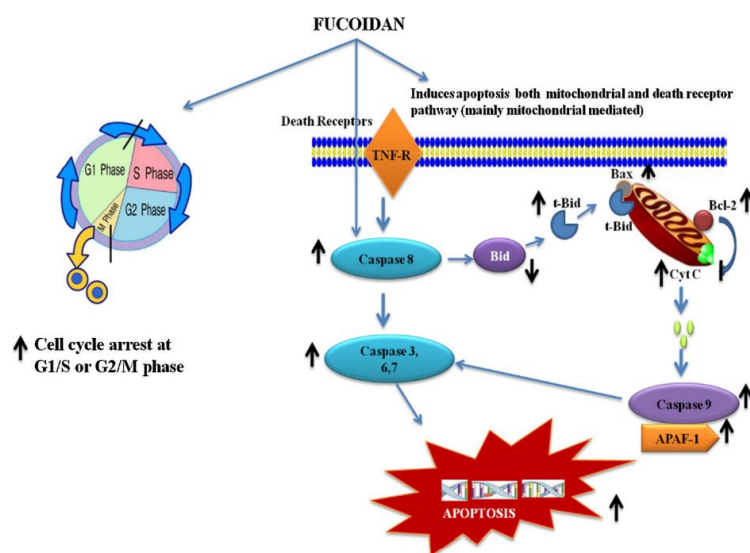
Peningkatan pengetahuan tentang deregulasi siklus sel pada kanker telah mempromosikan pengenalan senyawa bioaktif laut, yang dapat memodulasi jalur pensinyalan yang mengarah ke regulasi siklus sel atau secara langsung mengubah molekul regulasi siklus sel, dalam terapi kanker [4].

Proses kematian sel terprogram atau apoptosis, umumnya dicirikan oleh karakteristik morfologi yang berbeda dan mekanisme biokimia yang bergantung pada energi. Penurunan mekanisme pertahanan asli ini mendorong proliferasi seluler yang menyimpang dan akumulasi cacat genetik, sehingga menghasilkan tumorigenesis. Fukoidan menekan proliferasi sel dengan cara yang bergantung pada waktu dan dosis [4].

Apoptosis dimediasi melalui dua jalur utama, yaitu jalur ekstrinsik (reseptor kematian) dan intrinsik (mitokondria). Dalam jalur ekstrinsik, stimulasi reseptor kematian, seperti Fas dan reseptor faktor nekrosis tumor-1, mengarah pada pengelompokan dan pembentukan kompleks pensinyalan yang menginduksi kematian yang mencakup protein adaptor *Fas-associated death domain* (FADD) dan inisiator caspase, seperti caspase-8. Activated caspase-8 secara langsung mengaktifkan caspase efektor hilir, seperti caspase-3 dan -7. Caspase-8 dapat membelah Bid (*Bcl-2 interacting protein*) menjadi tBid (truncated Bid) dan berinteraksi dengan protein proapoptotic Bax. Akumulasi Bax inmitokondria mempromosikan sitokrom c dilepaskan ke dalam sitosol. Dalam jalur intrinsik, reseptor kematian mengirimkan sinyal kematian ke mitokondria, menghasilkan pelepasan beberapa protein ruang antarmembran mitokondria, seperti sitokrom c, yang berasosiasi dengan Apaf-1 dan procaspase-9 untuk membentuk apoptosom. Aktivasi caspase-9 dapat membelah dan mengaktifkan caspase efektor, seperti caspase-3 dan -7. Studi menunjukkan bahwa, fukoidan yang diekstraksi dari *Cladosiphon okamuranus*, memiliki efek antiproliferatif dan apoptosis yang kuat pada sel MCF-7 dengan cara yang bergantung pada dosis. Namun, fukoidan tidak mempengaruhi proliferasi sel normal sel epitel mamalia manusia. Caspase efektor, seperti caspase-3 atau -7, mengaktifkan DNase, menghasilkan fragmentasi DNA sebagai respons terhadap berbagai rangsangan apoptosis. Sel MCF-7 menunjukkan defek pada caspase-3 tetapi mengekspresikan caspase-7, yang merupakan caspase yang mampu membelah PARP (Poly (ADP-ribose) polimerase). Aktivasi caspase-7 dan pembelahan PARP adalah ciri khas dari apoptosis pada sel MCF-7. Pembelahan

PARP dan aktivasi caspase-7 diinduksi setelah pengobatan dengan fukoidan dalam sel MCF-7 dan bahwa caspase-7 inhibitor z-DEVD-fmk membatalkan apoptosis yang diinduksi fukoidan [4].

Caspase-8 memainkan peran penting dalam apoptosis yang dipicu oleh interaksi ligan dengan reseptor kematian, seperti Fas, reseptor faktor nekrosis tumor (TNF-R), dan reseptor ligan penginduksi apoptosis terkait TNF (TRAIL-R). Bid langsung dibelah oleh caspase-8, dimana domain C-terminal BH3 yang mengandung fragmen Bid yang disebut sebagai tBid, dapat memicu pelepasan sitokrom c dan menyebabkan aktivasi caspase-9. Fukoidan mengaktifkan Bid menjadi tBid di sel MCF-7. Oleh karena itu, disarankan juga bahwa caspase-8 mengaktifkan jalur apoptosis terkait tBid, yang mengarah ke aktivasi caspase-9 serta aktivasi langsung caspase-7 dalam sel yang diobati dengan fukoidan. Caspase-9 yang diaktifkan kemudian secara proteolitik membelah dan mengaktifkan algojo caspase-3, -6, dan -7. Aktivasi caspase-9 tampaknya merupakan jalur bercabang dari kematian sel apoptosis, yang berasal dari caspase-8 selama apoptosis yang diinduksi fukoidan. Molekul pensinyalan apoptosis mitokondria dan reseptor kematian yang diatur fukoidan ditunjukkan pada Gambar 2.4 [4].



Sumber: Senthilkumar, K. dkk., 2013.

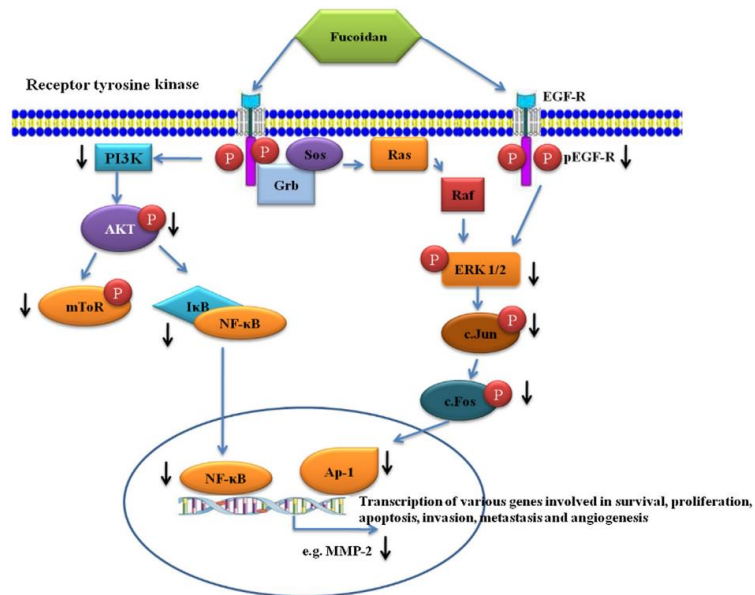
Gambar 2.4. Skema representasi dari penghentian siklus sel dan mekanisme apoptosis fukoidan.

2.4.2. Fukoidan pada Molekul Pensinyalan Pertumbuhan

Beberapa senyawa laut secara efisien mengganggu jalur pensinyalan sel terstimulasi faktor pertumbuhan konstitutif. Biasanya memicu jalur yang

melibatkan jalur Ras→Raf→ekstraseluler diatur kinase (ERK)→mitogen diaktifkan kinase/ERK-kinase (MEK)→protein aktivator (AP)-1 jalur. Jalur protein kinase teraktivasi mitogen (MAPK) terlibat dalam proliferasi sel, diferensiasi, dan apoptosis. Jalur ERK1/2 terlibat dalam perilaku invasif atau migrasi sejumlah keganasan. *Mammalian target of rapamycin* (mTOR) adalah protein kinase serin/treonin yang mengatur pertumbuhan dan proliferasi sel, motilitas sel, kelangsungan hidup sel, sintesis protein, dan transkripsi. PI3K dan Akt adalah regulator hulu yang terkenal dari jalur pensinyalan mTOR dalam sel mamalia. Fukoidan secara efektif menurunkan ekspresi MMP-2 melalui penghambatan PI3K-Akt mTOR serta jalur pensinyalan ERK1/2. Fukoidan secara signifikan menghambat fosfo-ERK1/2, p-PI3K, p-Akt dengan cara yang bergantung pada konsentrasi dengan efek penghambatan maksimum pada konsentrasi tertinggi. NF-κB dan AP-1 adalah faktor transkripsi yang mengatur ekspresi banyak gen yang terkait dengan banyak proses biologis dan patologis yang penting, termasuk kanker. Telah dilaporkan bahwa penghambatan NF-κB dan AP-1 menghasilkan penekanan inisiasi tumor, promosi, dan metastasis [4].

Fukoidan memberikan efek penghambatan yang kuat pada fosforilasi EGFR yang diinduksi EGF. Selanjutnya, fukoidan menekan fosforilasi ERK dan JNK di bawah kendali EGF. Aktivitas transkripsi c-fos dan c-jun yang diinduksi EGF dihambat oleh fukoidan, sehingga menyebabkan penghambatan AP-1 dan transformasi sel yang diinduksi oleh EGF. AP-1 adalah faktor transkripsi yang terlibat dalam proliferasi dan transformasi seluler dan ditransaktivasi oleh berbagai agen pemicu tumor. Kompleks AP-1 dibentuk oleh dimer proto-onkogen Jun atau heterodimer dari anggota keluarga Jun dengan anggota keluarga proto-onkogen Fos. Fukoidan menekan aktivasi AP-1 melalui penghambatan ekspresi JunD dalam garis sel T yang terinfeksi HTLV-1, sehingga menghambat proliferasi sel T yang terinfeksi HTLV-1. Molekul sinyal pertumbuhan regulasi oleh fukoidan ditunjukkan pada Gambar 2.5 [4].



Sumber: Senthilkumar, K. dkk., 2013.

Gambar 2.5. Skema representasi fukoidan pada beberapa molekul sinyal pertumbuhan. Panah warna hitam ke bawah menunjukkan bahwa penurunan aktivitas molekul oleh fukoidan.

2.4.3. Fukoidan pada Invasi, Metastasis, dan Angiogenesis pada Kanker

Metastasis adalah penyebab utama (hingga 90%) kematian terkait kanker. Perkembangan metastasis kanker terdiri dari beberapa proses, di mana sel kanker pertama kali terlepas dari tumor primer, menginvasi jaringan sekitarnya dan intravasasi ke dalam darah dan/atau sistem limfatik dan ekstravasasi dari pembuluh darah dan kemudian menetap dan berkoloni di organ target. Matrix metalloproteinases (MMPs) memainkan peran kunci dalam metastasis tumor. Degradasi matriks ekstraseluler (ECM) sangat penting untuk invasi seluler. Fukoidan menunjukkan bahwa menghambat metastasis melalui penekanan MMP-2 serta menundukkan ekspresi dan sekresi VEGF. Fukoidan terbukti mempengaruhi fungsi beberapa protein permukaan sel yang terlibat dalam migrasi dan adhesi sel, termasuk integrin, VEGF 1 dan 2, P-selectin, dan neuropilin-1 [4].

Angiogenesis adalah pembentukan pembuluh darah baru dalam proses fisiologis dan patologis. Angiogenesis yang sangat diatur dan sementara diperlukan untuk perkembangan embrionik dan penyembuhan luka. Namun, angiogenesis yang tidak terkontrol dan persisten terjadi pada beberapa keadaan patologis termasuk perkembangan tumor. Terapi anti-angiogenik telah menjadi strategi yang efektif untuk menghambat pertumbuhan tumor. Penghambatan angiogenesis dapat menyebabkan target untuk terapi kanker. Fukoidan

oversulfat meningkatkan efek anti tumor dan anti angiogenik pada kanker. Fukoidan dan fukoidan oversulfated secara signifikan menekan aksi mitogenik dan kemotatik dari VEGF. VEGF adalah penginduksi angiogenesis dan limfangiogenesis yang menarik, karena merupakan mitogen yang sangat spesifik untuk sel endotel [4].

2.5. Aktivitas Imunomodulator

Imunomodulasi mengacu pada tindakan yang dilakukan oleh obat pada proses pengaturan otomatis yang mengarahkan sistem pertahanan imunologis. Banyak polisakarida yang diperoleh dari sumber alami dianggap sebagai pengubah respons biologis dan telah terbukti meningkatkan berbagai respons imun. Menurut penelitian terdahulu, oligosakarida telah terbukti memiliki berbagai efek pada sistem kekebalan tubuh, seperti penghambatan metastasis kanker, aktivitas antitumor, aktivitas imunologi, dan aktivasi komplemen, dan mungkin menjadi kandidat yang efektif untuk imunoterapi tumor. Oleh karena itu, selain sifat antikanker atau antiproliferatif langsung, fukoidan juga dapat menekan perkembangan sel tumor melalui peningkatan aktivitas imunomodulator tubuh [11].

Efek imunomodulator fukoidan yang dimurnikan dari rumput laut coklat *Fucus vesiculosus* dilaporkan memiliki efek imunostimulasi dan dapat meningkatkan pematangan pada sel dendritik yang diturunkan dari sumsum tulang, meningkatkan aktivasi sel T sitotoksik, respon imun Th1, produksi antibodi setelah antigen challenge, dan produksi sel T memori [5, 29]. Berdasarkan studi yang dilakukan Yang dkk., fukoidan dapat digunakan pada vaksin berbasis sel dendritik untuk imunoterapi kanker. Dalam studi mereka, efek fukoidan pada proses pematangan dan aktivasi sel dendritik turunan monosit manusia ditunjukkan. Hasil mereka menunjukkan bahwa sel dendritik tampaknya menjadi target potensial untuk kapasitas imunomodulator fukoidan [11]. Aktivitas imunomodulasi in vivo dan in vitro fukoidan ditunjukkan pada Tabel 2.5 dan Tabel 2.6.

Fukoidan diisolasi dari *Undaria pinnatifida* memiliki aktivitas imunomodulasi untuk menghasilkan sitokin dan kemokin dari makrofag dan splenosit [11]. *Undaria pinnatifida* juga dapat mempromosikan aktivasi neutrofil manusia, sel pembunuh alami (NK), dan produksi sitokin pro-inflamasi (IL-6, IL-8, dan TNF- α) dan menunda apoptosis spontan mereka. Sebuah studi melaporkan peningkatan sel T dan aktivasi sel pembunuh alami (NK), serta peningkatan produksi sitokin pro-inflamasi, pada tikus

yang terinfeksi HSV-1 setelah pengobatan dengan fukoidan dari *Undaria pinnatifida* seperti [6].

Dilaporkan bahwa fukoidan pasca-translasi mengatur sekresi MMP-9 dari sel U937. Matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) adalah enzim multidomain yang disekresikan yang memainkan peran penting dalam migrasi sel imun. Aktivitas imunologi fukoidan terhadap aspirin menginduksi kerusakan mukosa lambung telah diteliti. Dalam penelitian tersebut, dinilai perubahan kekebalan pada jaringan perut tikus. Hasilnya menunjukkan bahwa efek perlindungan gastro fukoidan terhadap ulserasi yang diinduksi aspirin pada tikus dimediasi melalui sifat imunomodulatornya [11].

Tabel 2. 5. Aktivitas imunomodulator in vitro fukoidan.

Sumber	Komposisi	Garis Sel/Sel	Konsentrasi	Aktivitas
<i>Laminaria japonica</i>	Fuc: Gal: Man: Xyl: Glc = 65: 20: 8: 4: 3 MW = 10 – 30 kDa	Sel ginjal embrio manusia (HEK293-null, HEK293-TLR2/ CD14, HEK293-hTLR4/CD14-MD2, dan HEK293-hTLR5)	1 mg/mL; 10 µg/mL; 10 µg/mL; 1 µg/mL; 100 ng/mL; 10 ng/mL setiap ekstrak	Aktivasi spesifik reseptor Toll-like (TLR) 2 dan aktivasi jalur NF-κB berikutnya diamati untuk fukoidan <i>L. japonica</i> (1 mg/mL), fukoidan <i>L. cichorioides</i> (100 µg/mL dan 1 mg/mL), dan fukoidan <i>F. evanescens</i> (10 µg/mL ⁻¹ mg/mL); aktivasi TLR-4 dan mengikuti aktivasi jalur NF-κB terdaftar untuk fukoidan <i>L. japonica</i> (100µg/mL dan 1 mg/mL), fukoidan <i>L. cichorioides</i> (10µg/mL ⁻¹ mg/mL), dan fukoidan <i>F. evanescens</i> (1µg/mL ⁻¹ mg/mL)
<i>Laminaria cichorioides</i>	Fukoidan tersulfat penuh MW = 40 – 80 kDa			
<i>Fucus evanescens</i>	Gal: Xyl: Man = 70: 9: 10.8 MW = 40 – 60 kDa			
<i>Ascophyllum nodosum</i>	Fuc: Xyl: Glc: Man: Gal = 39.80: 3.68: 0.88: 0.72: 3.37	Neutrofil manusia	50 µg/mL	Semua fukoidan secara signifikan meningkatkan produksi IL-6, IL-8, dan TNF-α dari neutrophil
<i>Macrocystis pyrifera</i>	Fuc: Xyl: Glc: Man: Gal = 25.77: 0.84: 1.14: 1.12: 3.93			
<i>Undaria pinnatifida</i>	Fuc: Xyl: Glc: Man: Gal = 28.27: 0.45: 0.49: 0.30: 24.94			
<i>Fucus vesiculosus</i>	Fuc: Xyl: Glc: Man: Gal = 38.02: 2.73: 0.49: 1.27: 3.38			
<i>Nizamudia zanardinii</i>	Fuc: Xyl: Man: Gal = 38,1: 15,2: 33,2: 13,4	Makrofag murine RAW 264.7	10, 25, dan 50 µg/mL	Peningkatan sekresi NO, TNF-α, IL-1β, dan IL-6; aktivasi jalur pensinyalan sel NK, NF-κB, dan MAPK dengan pelepasan TNF-α dan INF-γ selanjutnya

Sumber: Apostolova, E. dkk., 2020.

Tabel 2. 6. Aktivitas imunomodulator in vivo fukoidan.

Sumber	Komposisi	Model	Dosis	Kontrol Positif	Perlakuan	Aktivitas
<i>Fucus vesiculosus</i>	Fukoidan yang tersedia secara komersial	C57BL/6 tikus	10 mg/kg	Tidak	Dosis tunggal disuntikkan i.p.	Peningkatan kadar TNF- α dan IL-6 di limpa dan serum darah
<i>Undaria pinnatifida</i>	Fuc: Gal = 1.0: 1.1; MW = 9000 Da	5-fluorouracil menginduksi immunosupresi pada tikus BALB / c diikuti oleh virus herpes simpleks-1 inokulasi	10 mg/ tikus per hari	Tidak ada	7 hari perawatan oral	Peningkatan aktivitas sel NK
<i>Ascophyllum nodosum</i>	Fuc: Xyl: Glc: Man: Gal = 39,80: 3,68: 0,88: 0,72: 3,37	C57BL/6 tikus	50 mg/kg	Tidak	4 hari perawatan intraperitoneal	M. pyrifera fukoidan meningkatkan pematangan dan aktivasi sel NK
<i>Macrocystis pyrifera</i>	Fuc: Xyl: Glc: Man: Gal = 25.77: 0.84: 1.14: 1.12: 3.93					
<i>Undaria pinnatifida</i>	Fuc: Xyl: Glc: Man: Gal = 28.27: 0.45: 0.49: 0.30: 24.94					
<i>Fucus vesiculosus</i>	Fuc: Xyl: Glc: Man: Gal = 38.02: 2.73: 0.49: 1.27: 3.38					
<i>Undaria pinnatifida</i>	Gal 20,7%, Fuc 24,4%, asam uronat 8,2% dan ester sulfat 31,3%	Kulit mencit BALB/c setelah iradiasi UVB	500 mg/kg	Vit. C 600 mg/kg berat	12 hari perawatan oral	Peningkatan kadar IFN- γ yang lebih rendah setelah iradiasi; mengu-rangi edema kulit dan migrasi leukosit; tidak ada perubahan signifikan dalam ekspresi IL-4, IL-6, TNF- α , dan NF- κ B

Sumber: Apostolova, E. dkk., 2020.

2.6. Dosis dan Cara Pemberian

Dosis fukoidan yang digunakan dalam percobaan in vitro bervariasi karena sumber dan metode pemurnian yang berbeda. Sebuah studi mengenai pengobatan sel kanker paru-paru A549 dengan fukoidan melaporkan bahwa fukoidan menghambat 50% proliferasi sel A549 setelah 48 jam dengan konsentrasi hanya 100 mikrog/mL).

Sedangkan dalam studi lainnya menemukan bahwa fukoidan pada dosis 700 mikrog/mL dapat menghambat 50% proliferasi sel dari sel kanker yang sama setelah 48 jam. Sehingga dapat disimpulkan bahwa sumber fukoidan yang berbeda mungkin menjadi penyebab utama perbedaan tersebut [3].

Percobaan *in vivo* pada mencit menunjukkan bahwa sumber, dosis, frekuensi pemberian, dan rute pemberian fukoidan dapat menyebabkan aktivitas antitumor yang berbeda. Aktivitas antitumor fukoidan yang dipelajari pada tikus C57 yang ditransplantasikan dengan adenokarsinoma paru Lewis, menunjukkan bahwa penyuntikan fukoidan 25 mg/Kg tunggal tidak memiliki dampak penghambatan yang berarti terhadap pertumbuhan tumor. Sedangkan dengan penyuntikan fukoidan berulang kali pada dosis 10 mg/kg, fukoidan menunjukkan aktivitas antitumor yang signifikan, dengan tingkat penghambatan pertumbuhan tumor adalah 33% dan aktivitas anti-metastasis berkurang 29% [3].

2.7. Efek Antikanker dan Antitumor Fukoidan pada Kanker Kandung Kemih

Kanker kandung kemih adalah kanker paling umum kesepuluh di seluruh dunia dengan 549.393 kasus baru pada tahun 2018 dan 199.222 kematian yang diperkirakan pada tahun yang sama. Kanker kandung kemih dianggap sebagai kanker di negara-negara industri dan tingkat kejadiannya tiga kali lipat lebih besar di negara-negara dengan sumber daya tinggi dibandingkan dengan sumber daya rendah. Faktor risiko yang paling signifikan untuk inisiasi dan perkembangan kanker kandung kemih meliputi faktor intrinsik, yaitu ekspresi proto-onkogen yang lebih tinggi dan gen penekan tumor yang rendah; dan faktor ekstrinsik, seperti merokok tembakau dan kontak dengan faktor risiko seperti polus udara dan paparan pekerjaan. Berbagai studi eksperimental mengenai aktivitas antikanker dan antitumor fukoidan terhadap sel kanker kandung kemih. Beberapa mekanisme seluler telah terpengaruh karena sifat fisikokimia yang memberikan fukoidan tindakan spesifik pada sel kanker kandung kemih, seperti yang ditunjukkan pada Tabel 2.7. Menurut literatur hingga saat ini, fukoidan telah menunjukkan harapan sebagai agen terapeutik [2].

Tabel 2.7. Penerapan fukoidan terhadap kanker kandung kemih secara in vitro dan in vivo.

Rancangan	Tujuan	Temuan utama
In vitro Kultur sel kanker kandung kemih manusia (garis sel T24).	Untuk mengevaluasi efek anti-proliferasi fukoidan pada sel T24 kanker kandung kemih manusia.	<ul style="list-style-type: none"> - Fukoidan menurunkan viabilitas sel T24 melalui induksi penangkapan G1 dan apoptosis; - Penangkapan G1 yang diinduksi Fukoidan dikaitkan dengan peningkatan ekspresi <i>inhibitor cyclin-dependent kinase</i> (Cdk) p21WAF1/ CIP1 dan defosforilasi pRB bersama dengan peningkatan pengikatan p21 ke Cdk4/6 serta pRB ke faktor transkripsi E2Fs.
In vitro Kultur garis sel karsinoma kandung kemih manusia 5637 dan T24.	Untuk melaporkan peran baru dari aktivasi protein kinase-B (AKT) dalam menghambat pertumbuhan sel dan migrasi dalam sel kanker kandung kemih yang diobati dengan fukoidan.	<ul style="list-style-type: none"> - Fukoidan menginduksi penghambatan pertumbuhan sel melalui penghentian siklus sel fase G1 yang dimediasi p21WAF1 dengan aktivasi pensinyalan AKT; - Aktivasi AKT tampaknya terkait dengan penghambatan ekspresi MMP9 melalui pengurangan aktivitas pengikatan NF-κB dan AP-1 dalam sel kanker kandung kemih yang diobati dengan fukoidan, menghasilkan penekanan migrasi dan invasi sel.
In vitro In vivo Kultur sel kanker kandung kemih manusia (garis sel T24).	Untuk mengevaluasi aktivitas anti-angiogenik <i>Low Molecular Weight Fucoïdan</i> (LMWF) pada sel T24 kanker kandung kemih.	<ul style="list-style-type: none"> - LMWF dapat menghambat akumulasi HIF-1 yang distimulasi hipoksia dan aktivitas transkripsi sekresi VEGF, serta migrasi dan invasi pada sel kanker kandung kemih manusia yang hipoksia. - LMWF juga menurunkan regulasi fosforilasi yang diaktifkan hipoksia dari jalur pensinyalan I3K/AKT/mTOR/p70S6K/4EBP-1 dalam sel T24. - LMWF menghambat HIF-1 dan VEGF in vivo, mengurangi pertumbuhan tumor.
In vitro Kultur sel kanker kandung kemih manusia (5637).	Untuk menentukan efek pro-apoptosis fukoidan pada sel kanker kandung kemih manusia 5637; Untuk menyelidiki peran ekspresi hTERT dan aktivitas telomerase selama apoptosis sel 5637 yang diinduksi fukoidan.	<ul style="list-style-type: none"> - Pengobatan fukoidan meningkatkan generasi ROS intraseluler, sedangkan eliminasi berlebihan ROS oleh N-acetylcysteine, antioksidan, melemahkan apoptosis yang diinduksi fukoidan, penghambatan ekspresi hTERT, c-myc, dan Sp1, dan membalikkan inaktivasi yang diinduksi fukoidan dari jalur pensinyalan PI3K/Akt.
In vivo Pengobatan tikus dengan kanker kandung kemih.	Untuk menyelidiki apakah suplementasi LMWF memperbaiki kemoterapi. Atrofi otot yang diinduksi pada tikus dengan kanker kandung kemih.	<ul style="list-style-type: none"> - LMWF mempromosikan pengurangan yang signifikan dari penurunan berat badan, atrofi otot, dan cedera usus dan disfungsi. - LMWF mempromosikan myostatin, aktivin A, dan produksi sitokin pro-inflamasi, ekspresi dan aktivasi FoxO3, aktivasi NF-κB, ekspresi MuRF-1 dan MAFbx/atrogen-1. - LMWF mempromosikan myostatin, aktivin A, dan produksi sitokin pro-inflamasi, ekspresi dan aktivasi FoxO3, aktivasi NF-κB, ekspresi MuRF-1 dan MAFbx/atrogen-1. - LMWF mengarah pada ekspresi dan pembentukan faktor pertumbuhan seperti insulin (IGF-1), dan pensinyalan sintesis protein mTOR/p70S6k/4EBP-1 yang diatur oleh IGF-1.

Sumber: do-Amaral, C.C.F. dkk., 2020.

Pada tahun 2014, Hye dkk. pertama melaporkan dampak fukoidan pada pertumbuhan sel kanker kandung kemih. Hasilnya menemukan bahwa fukoidan mengurangi viabilitas sel T24 dengan menginduksi penghentian siklus sel G1. Mereka juga menemukan bahwa penghentian yang disebabkan oleh fukoidan ini terkait dengan peningkatan ekspresi penghambat CDK dan defosforilasi pRB. Studi ini juga menemukan hilangnya MMP dan pelepasan sitokrom c dari mitokondria ke sitoplasma. Mereka mengkonfirmasi disfungsi mitokondria dan meningkatkan rasio ekspresi Bax/Bcl-2 setelah pengobatan dengan fukoidan. Apoptosis yang disebabkan oleh fukoidan juga dikombinasikan dengan *up-regulation* Fas, pemotongan Bid, dan aktivasi sekuensial caspase-8. Selain itu, fukoidan secara signifikan meningkatkan aktivasi caspase-9/3, menurunkan degradasi PARP dan ekspresi IAP. Pengamatan ini menunjukkan bahwa fukoidan adalah mediator signifikan dari interaksi antara jalur apoptosis endogen dan eksogen yang bergantung pada caspase dalam sel T24 [3].

Selanjutnya pada tahun 2015, Cho dkk, merawat sel kanker kandung kemih manusia 5637 dengan fukoidan dan ditemukan bahwa fukoidan menekan pertumbuhan tumor, yang diwujudkan dalam mempromosikan ekspresi *cyclin-dependent* kinase inhibitor 1 (p21WAF1) dan menghambat ekspresi cyclin dan cyclin-dependent kinase. Juga telah ditemukan bahwa pengobatan dengan fukoidan dapat menghambat metastasis dan infeksi sel kanker kandung kemih. Hasil serupa juga ditemukan pada sel T24 [2].

Park dkk. menyelidiki efek fukoidan pada proliferasi sel, penghentian siklus sel, dan kematian sel apoptosis pada garis sel T24 kanker kandung kemih manusia. Secara keseluruhan, penelitian menunjukkan bahwa fukoidan menghambat pertumbuhan sel T24 dengan menginduksi apoptosis pada sel-sel ini. Selain itu, fukoidan menginduksi gangguan siklus sel pada fase G1 dengan penurunan signifikan ekspresi cyclin D1, cyclin E, dan Cdks. Fukoidan juga mengganggu fosforilasi gen RB, mempengaruhi perannya dalam faktor transkripsi E2Fs. Transisi antara fase siklus sel tergantung pada siklin yang mengalami fosforilasi pRB dan kehadiran fukoidan mendukung transisi dari fase G1 ke S. Jika ditarik kesimpulan, penelitian ini dapat menunjukkan mekanisme yang menyebabkan gangguan siklus sel, sehingga mengarah pada penghambatan proliferasi sel dan akibatnya apoptosis yang bergantung pada caspase yang diinduksi fukoidan dalam sel T24 [2].

Studi yang dilakukan oleh Chen dkk. membuktikan peran antiangiogenik dari fukoidan yang berasal dari rumput laut dalam sel T24. Hasil studi Chen dkk. cukup

kuat dan menunjukkan bahwa pengobatan fukoidan mempromosikan penghambatan HIF-1 dan VEGF dalam sel T24. HIF-1 diproduksi dalam situasi hipoksia dan memiliki mekanisme yang melibatkan transkripsi gen pro-angiogenik, seperti VEGF. Sejalan dengan itu, blokade HIF-1 dikaitkan dengan penekanan pertumbuhan tumor, perkembangan, dan akibatnya keganasan melalui blokade VEGF. Menurut Chen dkk., pengobatan fukoidan juga menghambat fosforilasi kaskade AKT/mTOR/p70S6K/4EBP-1 dalam sel T24. Hasil ini penting karena partisipasi jalur ini dan hubungannya dengan VEGFR2 diketahui mendorong angiogenesis dan tumorigenesis. Uji *in vivo* menunjukkan respon yang sama, dengan pengurangan ukuran tumor dari penghambatan HIF-1 dan VEGF. Fitur ini membuat regulasi HIF-1 menjadi target penting dalam terapi antitumor [2].

Meng-Chuan dkk. menemukan bahwa fukoidan berat molekul rendah (LMWF) dapat menghambat pembentukan H_2O_2 terstimulasi hipoksia, akumulasi faktor-1 yang dapat diinduksi hipoksia, sekresi faktor pertumbuhan endotel vaskular aktif transkripsi, dan migrasi dan invasi sel kanker kandung kemih manusia hipoksia T24. Ini juga menghambat fosforilasi PI3K/AKT/mTOR/p70S6K/4EBP-1 yang diaktifkan oleh hipoksia dalam sel T24 [3].

Studi *in vitro* memungkinkan penyelidikan fukoidan yang diinduksi apoptosis dalam sel kanker kandung kemih. Sebuah studi dari Han dkk membawa perspektif baru dengan menunjukkan bahwa pengobatan fukoidan mampu menginduksi apoptosis pada 5637 sel kanker payudara dengan memproduksi spesies oksigen reaktif, dan kemudian mempromosikan penghambatan aktivitas telomerase oleh jalur sinyal PI3K/AKT. Spesies oksigen reaktif terkait dengan rantai transpor elektron di membran mitokondria. Setelah dilepaskan, mereka mendepolarisasi membran mitokondria dan meningkatkan permeabilitas dengan pelepasan protein pro-apoptosis. Efek apoptosis fukoidan disertai dengan inaktivasi telomerase yang signifikan, yang dikaitkan dengan penurunan ekspresi gen hTERT, Sp1, dan c-Myc [13]. Selain itu, Han dkk. Juga melaporkan bahwa apoptosis sel kanker kandung kemih manusia yang diinduksi fukoidan 5637 dikaitkan dengan peningkatan rasio Bax/Bcl-2, penghancuran struktural membran mitokondria, dan pelepasan sitokrom C [3].

Secara keseluruhan, data dan penelitian ini telah dilakukan secara *in vitro* dan *in vivo* model kanker kandung kemih dan fukoidan menunjuk menjadi strategi dengan potensi besar untuk membantu terapi antitumor dan antikanker. Penelitian lebih lanjut diperlukan di bidang ini untuk lebih memahami mekanisme seluler yang terlibat dalam

penekanan tumor, serta untuk mengevaluasi apakah penggunaan fukoidan dalam kombinasi dengan obat lain dapat menghasilkan hasil yang lebih baik dalam penghambatan tumor dengan pengurangan gejala pasien kanker atau efek samping yang begitu umum dalam kemoterapi konvensional [2].

Beberapa penelitian melaporkan bahwa fukoidan dan kombinasi fukoidan dengan obat klinis dalam pengaturan adjuvant dapat mengurangi toksisitas obat anti-kanker tertentu. Fukoidan telah diselidiki sebagai suplemen makanan atau agen anti-tumor sinergis untuk mengurangi toksisitas dan/atau meningkatkan kemanjuran obat kemoterapi [2].

Perawatan untuk kanker kandung kemih termasuk reseksi tumor transurethral yang diikuti dengan pemberian kemoterapi atau agen imunoterapi intravesikal, seperti pada *Mycobacterium bovis bacille Calmette-Guérin* (BCG). Sebuah studi melakukan studi untuk mempelajari BCG sebagai strategi terapi untuk pengobatan kanker kandung kemih manusia. BCG adalah agen imunoterapi yang mempromosikan reaksi imun terhadap sel kanker. Reaksi ini disebabkan oleh aksi sel sistem imun (limfosit CD4+ dan CD8+, *natural killer* dan makrofag) dan sekresi faktor dari respon imun humoral, seperti sitokin IL-2, IL-8, IL-18, IL-12 dan interferon (IFN)- γ . Efek kekebalan yang dimiliki fukoidan pada kanker telah ditetapkan. Fukoidan meningkatkan respons kekebalan sel-sel kekebalan, mendorong produksi sitokin, dan radikal bebas. Data ini menunjukkan bahwa fukoidan dapat digunakan sebagai strategi untuk meningkatkan respon imun BCG dan indeks terapeutik dalam kombinasi dengan imunoterapi [2].

Penggunaan produk alami untuk irigasi kandung kemih telah dijelaskan sejak tahun 1995 oleh Davidov, yaitu menggunakan infus herbal. Heparin, kurkumin, capsaicin, dan silibinin adalah contoh produk alami yang aman diberikan secara intravesika ke kandung kemih. Karakteristik fukoidan sebagai senyawa non-toksik, biodegradable, dan biokompatibel meningkatkan potensinya dalam penggunaannya dalam terapi adjuvant, termasuk pemberian intravesikal yang dikombinasikan dengan kemoterapi, seperti *gemcitabine/docetaxel* dan imunoterapi [2].

2.8. Efek Antikanker Fukoidan pada Kanker Payudara

Kanker payudara merupakan kanker yang paling banyak terdiagnosis pada wanita dan jumlah orang yang memiliki kanker payudara cenderung meningkat dari tahun ke tahun. Beberapa faktor risiko telah diidentifikasi, seperti usia, peristiwa

reproduksi, terapi penggantian hormon, gaya hidup, riwayat keluarga kanker payudara, penyakit payudara jinak sebelumnya, paparan radiasi pengion, densitas mamografi payudara yang tinggi, lokasi geografis, mutasi pada gen BRCA1 dan BRCA2 dan pada gen penetrasi tinggi lainnya seperti p53. Selain itu, kanker payudara memiliki heterogenitas molekuler yang besar dan secara histologis beragam [12].

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa fukoidan adalah antioksidan alami yang luar biasa dan memiliki potensi besar untuk mencegah penyakit akibat radikal bebas seperti kanker. Efek antikanker fukoidan dalam sel kanker payudara telah banyak dilaporkan, baik secara *in vitro* maupun *in vivo*, dengan mempengaruhi beberapa jalur pensinyalan sel [12]. Beberapa studi mengenai pengaruh fukoidan pada sel kanker payu dara secara *in vitro* dicantumkan pada Tabel 2.8.

Tabel 2.8. Pengaruh fukoidan pada sel kanker payudara secara *in vitro*.

Tipe Sel	Sumber Fukoidan	Dosis (µg/ml)	Efek pada siklus sel	Efek pada jalur apoptosis	Karakteristik aksi	Mekanisme aksi
MCF-7	<i>Cladosiphon</i>	1000	Fraksi Sub-G1↑	Pembelahan PARP ↑ Caspase-7,8,9 Sitokrom C, Bax, Bid	-	Menginduksi apoptosis sel
T-47D	<i>Saccharina</i>	50	-	-	Kurang sitotoksik menghambat pengikatan EGFReceptor dengan EGF	Menghambat proliferasi sel
MCF-7	<i>Fucus vesiculosus</i>	300	Penangkapan fase G1 Fraksi Sub-G1↑ Cyclin D1, ekspresi gen CDK-4↓	Aktivasi Caspase-8 Sitokrom C, Bax ↑ Bcl-2↓ Pelepasan APAf-1↑	ROS↑	Menginduksi apoptosis sel
MDA-MB-231	<i>Fucus vesiculosus</i>	90-120	-	Ekspresi protein Smad2/3 terfosforilasi, Smad4↓	-	Menghambat proliferasi sel
MCF-7	<i>Undaria pinnatifida</i>	2004 – 1000	-	-	-	Menghambat proliferasi sel

PARP (*Poly (ADP-Ribose) Polymerase*), EGF (*Epidermal Growth Factor*), ROS (*Reactive Oxygen Species*)

Sumber: Lin, Y. dkk., 2020.

Fukoidan yang diisolasi dari *Cladosiphon okamuranus* menghambat proliferasi sel MCF-7 dengan cara yang bergantung pada waktu dan dosis, dan menginduksi apoptosis melalui jalur yang bergantung pada caspase-8, tanpa mempengaruhi

kelangsungan hidup sel epitel payudara manusia normal [12]. Dalam studi tersebut juga melaporkan bahwa peneliti menemukan fukoidan menginduksi konsensasi kromatin dan fragmentasi DNA interstitial nuklir dll. [3]. Studi lainnya melaporkan bahwa, ekstrak fukoidan dapat menurunkan proliferasi sel dan menginduksi apoptosis pada sel MCF-7, melalui regulasi protein keluarga Bcl-2 dan depolarisasi membran mitokondria dengan fosforilasi JNK, p38, dan kinase yang diatur sinyal ekstraseluler (ERK1/2) [8]. Sebuah studi memperlakukan sel MCF-7 dengan fukoidan dari *Undaria pinnatifida* di Selandia Baru dan fukoidan telah ditemukan untuk menekan proliferasi sel tumor secara signifikan dan memiliki sitotoksitas yang sangat rendah untuk sel jaringan normal. Ditemukan bahwa penangkapan G1 dikaitkan dengan penurunan ekspresi gen. Hasil keseluruhan studi ini menunjukkan bahwa fukoidan dapat menginduksi apoptosis dan penghentian fase G1 dengan mengatur ekspresi gen terkait apoptosis dan siklus sel [3].

Sebuah studi mengenai dampak Fukoidan dari *Saccharina japonica* dan *Undaria pinnatifida* pada garis sel kanker payudara T-47D. Hasilnya menunjukkan bahwa fukoidan dapat secara efektif menghambat proliferasi dan pembentukan koloni sel T-47D serta memiliki toksisitas yang sangat rendah terhadap sel epidermis tikus [3, 12]. Sebuah studi lainnya melaporkan bahwa fukoidan mentah yang diekstraksi dari *Fucus vesiculosus* dapat menurunkan proliferasi sel kanker payudara 4T1, tanpa menyebabkan efek sitotoksik pada sel normal. Penurunan proliferasi sel dilakukan dengan induksi apoptosis melalui jalur mitokondria. Fukoidan juga mampu menurunkan ekspresi VEGF pada sel 4T1, yang menunjukkan aktivitas antiangiogenik. Juga ditunjukkan bahwa injeksi ekstrak fukoidan intraperitoneal pada tikus Balb/c betina xenograft 4T1, menghambat pertumbuhan tumor, angiogenesis, dan menekan metastasis paru-paru dari kanker payudara. Selain penghambatan pertumbuhan sel, peningkatan kematian sel, fukoidan juga menginduksi penghentian siklus sel melalui down-regulation jalur Wnt/b-catenin pada sel kanker payudara 4T1 in vitro dan in vivo [12].

Fukoidan mampu memblokir adhesi sel karsinoma payudara MDA-MB-231 ke trombosit, berkontribusi untuk penekanan metastasis tumor. Dalam sel-sel tersebut fukoidan juga menginduksi apoptosis melalui aktivasi caspase dan disfungsi mitokondria, dengan pelepasan sitokrom c, dan penurunan protein antiapoptosis. Sebuah studi menunjukkan bahwa fukoidan menghambat migrasi dan invasi selama EMT pada sel kanker payudara MDA-MB-231 dan 4T1 melalui modulasi pensinyalan

yang bergantung pada TGFR/Smad, in vitro dan in vivo [12]. Fukoidan dapat membalikkan EMT secara efektif, yang diinduksi oleh reseptor TGF β (TGFRs). Itu juga dapat mengatur penanda epitel, menurunkan regulasi penanda interstisial dan mengurangi ekspresi penekan transkripsi Snail, Slug and Twist, sehingga menghambat pertumbuhan sel MDA-MB-231 dan mengurangi pembentukan koloni selnya [3].

2.8.1. Fukoidan dari Alga Coklat *Sargassum hystrix* Terhadap Sel Kanker Payudara MCF-7

Husni, A. dkk. (2021) melakukan studi mengenai karakteristik dan aktivitas sitotoksik fukoidan dari alga coklat *Sargassum hystrix* terhadap sel kanker payudara MCF-7. Tingkat aksi sitotoksik fukoidan yang diekstraksi dari alga laut coklat dipengaruhi oleh spesies, fase pertumbuhan, lokasi geografis, kondisi lingkungan, dan musim. Namun, aksi sitotoksik fukoidan dari *Sargassum hystrix* belum sepenuhnya dieksplorasi. Oleh karena itulah peneliti melakukan penelitian ini [13].

Alga coklat *Sargassum hystrix* yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Pantai Telukawur, Jepara, Jawa Tengah, Indonesia, pada bulan Mei 2018. Alga coklat dibilas, dikeringkan pada suhu kamar tanpa terkena sinar matahari, digiling, disimpan dalam toples, dan dibungkus dengan plastik hitam untuk disimpan [13].

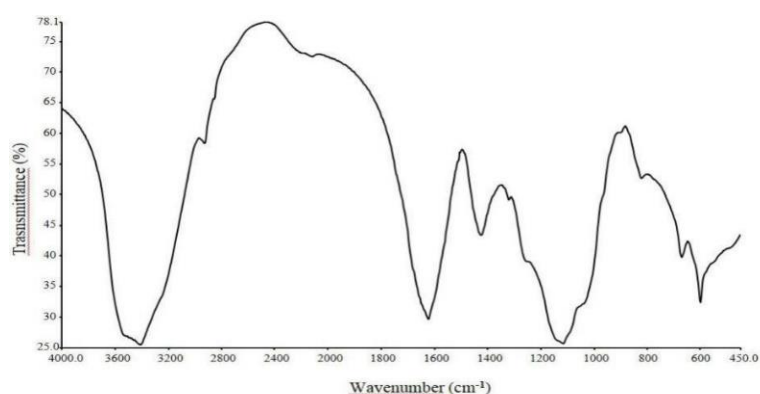
Fukoidan diekstraksi dengan menempatkan serbuk alga sebanyak 100 g dalam gelas kimia 2 L dan direndam dalam air suling dengan perbandingan 1:20 (b/v) ditutup dengan aluminium foil. Campuran diaduk pada suhu 85°C selama 4 jam menggunakan penangas air. Campuran disaring menggunakan planktonet dan filtratnya dikumpulkan. Kristal CaCl₂ ditambahkan ke filtrat untuk membentuk konsentrasi 2% sambil diaduk selama 30 menit pada kondisi kamar. Campuran selanjutnya disentrifugasi pada 8.000 rpm dan 5°C selama 15 menit. Filtrat disatukan dan endapan dihilangkan. Filtrat tersebut kemudian ditambahkan dengan etanol (1:2) dan diendapkan semalaman. Campuran dipisahkan antara pelet (sedimen) dan supernatan (filtrat) melalui sentrifugasi pada 8.000 rpm selama 15 menit. Pelet yang terkumpul dilarutkan dalam aquabides sampai benar-benar larut untuk selanjutnya dikeringkan dengan *freeze dryer*. Hasil dan komposisi ekstrak fukoidan *Sargassum hystrix* dicantumkan pada Tabel 2.9 [13].

Tabel 2.9. Hasil dan komposisi kimia fukoidan dari *Sargassum hystrix*.

Komposisi	Hasil (%)
Yield	6.77 ± 0.85
Total Gula	69.35 ± 5.83
Fukosa	63.12 ± 5.25
Xilosa	6.33 ± 0.58
Sulfat	26.5 ± 2.73

Sumber: Husni, A. dkk., 2021.

Pola gugus fungsi pada fukoidan *Sargassum hystrix* ditentukan melalui analisis FTIR. Dalam penelitian ini, spektrum inframerah diperoleh untuk mengidentifikasi keberadaan gugus ester sulfat sebagai atribut fukoidan, yang mengindikasikan polisakarida tersulfat. Selain gugus ester sulfat, karakteristik fukoidan diperkuat dengan gelombang 800 cm⁻¹ (C–O–S) untuk menunjukkan posisi ekuator atau aksial sulfat. Gambar 2.6 menunjukkan gugus fungsi yang terdeteksi pada fukoidan *Sargassum hystrix*. Spektrum FTIR menunjukkan serapan yang kuat pada beberapa bilangan gelombang yang ditunjukkan pada Tabel 2.10 [13].



Sumber: Husni, A. dkk., 2021.

Gambar 2.6. Spektrum inframerah *Sargassum hystrix*.

Tabel 2.10. Hasil dan komposisi kimia fukoidan dari *Sargassum hystrix*.

Komposisi		Interpretasi dari gugus fungsi
<i>Sargassum hystrix</i>	Referensi	
3411,61	3200-3500	O–H (Alkohol)
2926,47	2700-3000	C–H (Alkana)
1424,10	1350-1800	C=O (Aldehid, keton, asam karbosilik, ester)
1116,02	1000-1300	S=O (Sulfonat, sulfat)
820,93	700-850	S–O (Sulfat)

Sumber: Husni, A. dkk., 2021.

Sedangkan untuk garis sel MCF-7 dibeli dari Laboratorium Sentral Teknologi Farmasi dan Kedokteran Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi (BPPT, Jakarta). Sel-sel dipertahankan dalam RPMI yang ditingkatkan dengan 10% serum janin sapi, streptomisin, penisilin, dan fugizon dalam inkubator jenuh dengan 5% CO₂ pada 37°C. Uji MTT merupakan salah satu metode yang dapat digunakan untuk mengetahui sifat toksik suatu senyawa. Hasil uji MTT fukoidan *Sargassum hystrix* pada sel kanker payudara MCF-7 menunjukkan bahwa dosis yang diberikan pada sel kanker berbanding lurus dengan penghambatan pertumbuhan sel kanker. Fukoidan *Sargassum hystrix* dapat menghambat pertumbuhan sel kanker sebesar 47,80% ± 0,96% menjadi 49,60% ± 1,54% dengan dosis 500 mikrog/mL. Analisis probit mengungkapkan bahwa ekstrak kasar fukoidan *Sargassum hystrix* memiliki IC₅₀ sebesar 555,54 mikrog/mL. Penelitian lain mengenai aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker telah dilakukan. Misalnya, Palanisamy et al. menggunakan sampel ekstrak *S. polycystum* fukoidan terhadap sel MCF-7 dan diperoleh IC₅₀ sebesar 50 mikrog/mL. Karakteristik morfologi sel MCF-7 yang terpapar fukoidan dan sel kontrol yang tidak terpapar fukoidan berbeda. Atribut morfologi sel MCF-7 pada sel kontrol yang tidak terpapar fukoidan diamati sebagai poligonal tidak beraturan dan melekat pada substrat. Karakteristik morfologi sel yang terpapar fukoidan bervariasi, yaitu sel mengecil, berbentuk bulat, dan memiliki pola distribusi yang terbatas dibandingkan dengan sel kontrol. Perubahan bentuk ini konsisten dengan yang diamati oleh Kim dkk. yang menyatakan bahwa sel-sel osteoblas MC3T3 yang terkena fukoidan selama 4 jam telah mengubah karakteristik morfologi, yaitu dari bentuk tidak beraturan menjadi bentuk bulat dengan ukuran lebih kecil [13].

2.9. Efek Antikanker Fukoidan pada Kanker Pankreas

Kanker pankreas adalah salah satu kanker paling agresif dan merupakan penyebab utama keempat kematian terkait kanker. Prognosis kanker pankreas yang buruk telah dikaitkan dengan resistensinya terhadap apoptosis dan kecenderungan untuk penyebaran sistemik awal. Strategi terapeutik yang ada sering dielakkan oleh *crosstalk* molekuler antara jalur pensinyalan sel p53, bermutasi di lebih dari 50% PC dan NF-κB diaktifkan secara konstitutif pada penyakit residual yang resistan terhadap

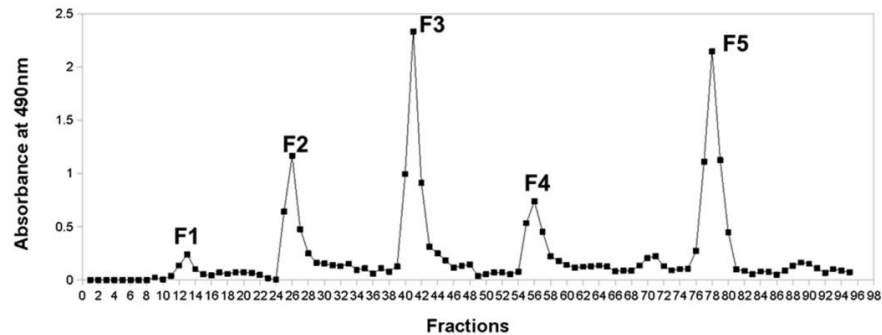
terapi. Mutasi dan aktivasi ini menjelaskan penghindaran kematian sel atau perkembangan kanker dan metastasis [14].

Lebih dari 90% kasus resisten terhadap kemoterapi yang ada. Oleh karena itu, perlu adanya pengembangan obat antikanker yang lebih kuat, termasuk identifikasi obat antikanker baru dengan efek samping yang lebih sedikit dari sumber daya alam. Dalam beberapa tahun terakhir, lingkungan laut yang belum dimanfaatkan telah menarik perhatian para ilmuwan di seluruh dunia yang berusaha untuk mengembangkan agen kemoterapi yang lebih efektif. Senyawa laut kurang beracun dan memiliki potensi biomedis yang sangat besar sebagai kandidat prospektif untuk pengobatan kanker pankreas, salah satunya fukoidan yang diekstrak dari alga laut coklat. Delmaa, dkk. Melakukan studi mengenai potensi antikanker pancreas ekstrak fukoidan dari alga laut coklat *Turbinaria conoides*. Dalam studi tersebut, dilakukan karakterisasi fraksi aktif ekstrak fukoidan untuk mengidentifikasi keefektifitasan antikanker pankreas pilihan mereka dan untuk menentukan mekanisme yang terlibat [14].

Alga coklat *Turbinaria conoides* yang digunakan dalam studi ini dikumpulkan dari pantai Tuticorin, pantai tenggara India selama September–Oktober 2008. Fukoidan diekstraksi dari *Turbinaria conoides* dengan ekstraksi air panas selama 16 jam pada suhu 95°C. Filtrat yang diperoleh diendapkan menggunakan etanol absolut dan didialisis menggunakan air suling, untuk kemudian diliofilisasi. Serbuk coklat yang diperoleh adalah ekstrak kasar fukoidan. Berdasarkan hasil studi Delmaa dkk. sebelumnya, ekstrak kasar fukoidan *Turbinaria conoides* memberikan aktivitas antioksidan yang signifikan terhadap berbagai radikal bebas. Penghambatan signifikan proliferasi sel dan induksi kematian sel apoptosis juga diamati pada sel kanker pankreas sebagai respons terhadap ekstrak kasar fukoidan *Turbinaria conoides*. Ekstrak kasar fukoidan *Turbinaria conoides* juga menunjukkan potensi anti-angiogenik yang signifikan. Sehingga dapat dikatakan ekstrak kasar fukoidan *Turbinaria conoide* menunjukkan potensi antikanker pankreas [14].

Sangat penting untuk mengkarakterisasi komponen ekstrak kasar dan mengidentifikasi kemanjurannya dalam pengaturan kanker pankreas. Dalam hal ini, analisis kromatografi pertukaran anion menunjukkan lima puncak, termasuk dua puncak dominan. Memanfaatkan metode ekstraksi air panas pada kolom selulosa-52 DEAE, kelima fraksi fukoidan terisolasi, yaitu: F1, F2, F3, F4, dan F5 seperti yang ditunjukkan pada Gambar 2.7. Fraksi fukoidan yang diekstraksi didialisis dengan air

suling dan diliofilisasi. Analisis hilir untuk kadar gula total dalam fraksi mengungkapkan 42,12%, 27,56%, 43,44%, 66,23%, dan 51,23% pada fraksi fukoidan F1, F2, F3, F4, dan F5. Selain itu, juga diamati kandungan asam uronat dan kandungan sulfat yang terukur di semua fraksi fukoidan, seperti yang ditunjukkan pada Tabel 2.11. Kandungan asam uronat pada fraksi F5 paling sedikit dibandingkan dengan fraksi lainnya. Sedangkan kadar sulfat yang sangat tinggi justru terdapat pada di fraksi F5 dibandingkan dengan fraksi lainnya [14].



Sumber: Delma, C.R. dkk., 2019.

Gambar 2.7. Profil elusi ekstrak fukoidan dari *Turbinaria conoides*.

Tabel 2.11. Komposisi kimia fraksi fukoidan *Turbinaria conoides*.

Fraksi	Total Gula (%)	Asam Uronat (%)	Sulfat (%)
F1	42,13	17,66	10,11
F2	27,56	18,30	31,59
F3	43,44	15,38	49,59
F4	66,23	13,56	63,46
F5	51,23	6,61	73,78

Sumber: Delma, C.R. dkk., 2019.

Untuk menilai potensi anti-proliferatif yang bergantung pada dosis, digunakan kisaran konsentrasi 3,125, 6,25, 12,5, 25, 50 $\mu\text{g/ml}$ dari masing-masing fraksi fukoidan. Semua lima fraksi fukoidan memberikan penghambatan proliferasi sel kanker pankreas in vitro yang ditandai dan tergantung dosis pada kelangsungan hidup sel kanker pankreas, meskipun tingkat penghambatan bervariasi antara fraksi dan garis sel. Penghambatan proliferasi adalah marginal dengan dosis 3,125 $\mu\text{g/ml}$ dengan penghambatan maksimal pada dosis 50 $\mu\text{g/ml}$. Kemudian, penghambatan pada dosis maksimum di sel Panc-1 dan sel MiaPaCA-2 diselidiki. Efek awal (24 jam pasca perawatan) obat-obatan langsung meningkat dalam sel Panc-1 dibandingkan dengan sel MiaPaCA-2. Untuk memeriksa apakah penghambatan kelangsungan hidup sel yang

diinduksi oleh fraksi fukoidan adalah proses sementara atau pasti, sel-sel yang diobati dengan dosis fraksi fukoidan diperiksa pada 72 jam setelah perawatan. Hasilnya, fraksi ini tidak hanya mempertahankan kemampuan penghambatan proliferasi sel kanker pankreas, tetapi juga menunjukkan peningkatan penghambatan selama periode yang diperpanjang. Selanjutnya, juga dilaporkan fraksi F5 menunjukkan dominasi keseluruhan yang konsisten dalam penghambatan proliferasi sel kanker pankreas. Sebaliknya, fraksi F1 adalah yang paling tidak efektif dalam penghambatan kelangsungan hidup di kedua garis [14].

Untuk menentukan bahwa fraksi fukoidan mengerahkan potensi antikanker pankreas dengan mengatur kematian sel terprogram, kami menyelidiki apakah pengobatan dengan fraksi fukoidan menginduksi apoptosis. Dibandingkan dengan kontrol yang tidak diobati, analisis imunoblotting mengungkapkan peningkatan besar dalam caspase -3, -8, dan -9 yang dibelah dalam sel MiaPaCa-2 dan Panc-1 yang diobati dengan fraksi fukoidan. Fraksi fukoidan 5 menghasilkan aktivasi yang tak tertandingi dari caspase yang dibelah. PARP-1 dan pembelahan PARP-1 oleh caspase adalah salah satu ciri dari apoptosis. Dari hasil studi, terdapat pembelahan PARP yang signifikan dengan pengobatan fukoidan pada sel MiaPaCa-2 dan Panc-1. Selain itu, percobaan menunjukkan peningkatan yang signifikan dalam pembelahan PARP dalam sel yang diobati dengan F5 dibandingkan dengan sel yang diobati dengan fraksi lainnya. Induksi arsitek mesin apoptosis dan apoptosis dengan fraksi fukoidan secara langsung menunjukkan potensi fukoidan yang mengatur kematian sel kanker pankreas yang bergantung pada caspase [14].

Untuk menentukan kemanjuran fraksi fukoidan F5 dalam menargetkan pensinyalan perkembangan penyakit, diselidiki perubahan level mRNA untuk 84 molekul jalur pensinyalan NF- κ B. Profil QPCR mengungkapkan tanda amplifikasi unik di seluruh garis sel. Perbedaan ekspresi profil-ke-profil dinormalisasi dengan kontrol internal (HPRT-1, GAPDH, dan/atau beta-aktin). Secara keseluruhan, fraksi F5 menghasilkan penghambatan masing-masing 66, 35, 25, dan 48 molekul jalur pensinyalan NF- κ B dalam sel MiaPaCa-2, Panc-1, Panc-3,27, dan BX-PC3, masing-masing [14].

Beberapa laporan telah menyarankan aktivasi konstitutif NF- κ B di kanker pankreas, yang sering berkorelasi dengan kemoresistensi sel kanker pankreas untuk apoptosis. Aktivasi NF- κ B bertindak sebagai penghambat apoptosis dengan mengatur berbagai gen anti-apoptosis. Sebaliknya, penekan tumor p53 memainkan peran penting

dalam menginduksi penghentian siklus sel, apoptosis, atau penuaan, dan sering bermutasi pada 50-70% kanker pankreas manusia. Korelasi terbalik antara p53 dan NF- κ B telah dilaporkan pada beberapa kanker lainnya. Untuk memperkuat pernyataan bahwa fukoidan F5 menghambat jalur pensinyalan NF- κ B, dilakukan studi mengenai efek fraksi fukoidan F5 pada aktivitas pengikatan DNA NF- κ B. Selanjutnya, didefinisikan manfaat fraksi fukoidan F5 dalam menghambat NF- κ B teraktivasi dengan TNF- α eksogen. Sel MiaPaCa-2 diperlakukan dengan 5 dan 10 μ g/ml F5 dan diperiksa perubahan aktivitas pengikatan DNA NF- κ B. Analisis EMSA mengungkapkan bahwa, terjadi penghambatan lengkap aktivitas pengikatan DNA dalam sel yang diobati dengan fukoidan dibandingkan dengan kontrol yang tidak diobati. Selanjutnya, diselidiki manfaat fukoidan dalam menghambat aktivitas pengikatan DNA NF- κ B yang diinduksi TNF- α . Sel diperlakukan dengan TNF- α eksogen (1 ng/ml) selama 1 jam dan kemudian diperlakukan dengan berbagai konsentrasi (1, 2, 5, 10 μ g/ml) fraksi fukoidan. Dibandingkan dengan kontrol yang tidak diberi perlakuan, TNF- α secara signifikan mengaktifkan aktivitas pengikatan DNA NF- κ B dalam sel kanker pankreas. Pengobatan dengan fraksi fukoidan memberikan penghambatan tergantung dosis yang signifikan dari aktivitas pengikatan DNA NF- κ B yang diinduksi TNF- α dalam sel-sel ini. Selanjutnya, hasil uji *luciferase* mengungkapkan, penghambatan yang signifikan dari aktivitas gen *luciferase* yang bergantung pada NF- κ B dalam sel MiaPaCa-2 yang diobati dengan fukoidan F5. Selain itu, analisis imunoblot dari ekstrak sitoplasma sel kanker pankreas yang diobati dengan fukoidan dengan adanya TNF- α mengungkapkan bahwa kadar I κ -B α meningkat dalam sel yang diobati dengan fraksi F5 dibandingkan dengan sel yang diobati dengan TNF- α saja. Hal ini menunjukkan penghambatan degradasi I κ -B α . Stabilisasi I κ -B α dengan fukoidan ini tetap konsisten dari waktu ke waktu, menunjukkan pemeliharaan stabilisasi I κ B α dengan fukoidan F5. Namun, tidak terlihat perbedaan yang signifikan dalam tingkat sitoplasma p65 dibandingkan dengan kontrol TNF- α . Hasil ini, menunjukkan bahwa pengurangan dosis yang bergantung pada aktivitas pengikatan DNA NF- κ B dan fungsi transkripsinya, menegaskan manfaat F5 dalam pengaturan ini. Selanjutnya, hasil studi menunjukkan bahwa p65 diasingkan dalam sitoplasma dan hanya aktivitas serta fungsi pengikatan DNA-nya pada tingkat inti yang dilemahkan oleh fraksi fukoidan F5. Untuk menentukan apakah fukoidan mengintervensi dengan NF- κ B-p53 cross-talk yang dapat mengatur apoptosis sel kanker pankreas yang dimediasi, diselidiki efek fukoidan F5 dalam mengembalikan regulasi terkait p53.

Dibandingkan dengan kontrol yang tidak diberi perlakuan, ekspresi ektopik dari NF- κ B menghasilkan penurunan kadar p53 dalam sel MiaPaCa-2. Sebaliknya, merawat sel yang mengekspresikan NF- κ B dengan fukoidan F5 secara kuat meningkatkan level p53, menunjukkan bahwa fukoidan F5 dapat menargetkan NF- κ B dalam sel kanker pankreas dan dengan demikian mengatur aktivasi p53 dan mempromosikan apoptosis [14].

2.10. Efek Antikanker pada Melanoma

Melanoma adalah jenis kanker kulit yang paling agresif, dengan tingkat insiden yang meningkat selama beberapa dekade terakhir. Akibat dari beban mutasi yang tinggi dan perubahan epigenetik, melanoma memiliki perkembangan yang cepat ke tahap metastasis, sehingga secara drastis mengurangi kelangsungan hidup pasien [15].

Ketika didiagnosis pada tahap awal tanpa adanya jaringan lokal atau invasi kelenjar getah bening, reseksi bedah biasanya bersifat kuratif. Namun, pengobatan melanoma metastatik masih merupakan obat dan tantangan ilmiah. Studi tentang jalur pensinyalan melanoma dan imunologi tumor memungkinkan pengembangan strategi pengobatan baru. Beberapa perkembangan telah dibuat menggunakan terapi kombinasi yang ditargetkan dengan BRAF dan inhibitor MEK; imunoterapi menggunakan inhibitor pos pemeriksaan terhadap CTLA4 dan PD-1; dan interleukin-2 yang dikombinasikan dengan kemoterapi, radio, dan imunoterapi. Sayangnya, terapi tersebut masih menjadi penyebab efek samping yang berbeda seperti kolitis, dermatitis, pruritus, hepatitis, hipofisitis, tiroiditis, hipotensi, takikardia, dan aritmia jantung. Selain itu, perilaku melanoma metastatik sangat heterogen dan sel-sel ini sangat mampu mengembangkan resistensi [15].

Masalah terkait melanoma yang dijelaskan di atas mendukung pencarian strategi antitumor baru untuk perawatan dengan toksisitas yang berkurang dan kemanjuran yang lebih baik. Salah satu kelompok senyawa yang menjanjikan adalah polisakarida sulfat yang diperoleh dari rumput laut, yang telah memiliki deskripsi aktivitas biologis yang luas, termasuk antitumor dan antimetastatik [15].

Mengenai efek anti-melanoma *in vivo*, fukoidan dapat mengaktifkan salah satu sistem kekebalan terhadap sel tumor sebagai penghambat pertumbuhan sel tumor dan angiogenesis, seperti yang ditunjukkan pada Tabel 2.12. Fukoidan yang tidak biasa dan kompleks dari *Undaria pinnatifida* menunjukkan penghambatan yang signifikan dalam kapasitas klonogenik dari garis sel melanoma. Sebuah studi perbandingan antara

dua fukoidan dari *Sargassum henslowianum* dan *Fucus vesiculosus* menunjukkan bahwa, kedua polisakarida yang terkandung mengaktifkan apoptosis pada sel melanoma (B16) dengan cara yang bergantung pada dosis, melalui induksi caspase-3. Polisakarida pertama lebih efektif untuk mengurangi viabilitas pada konsentrasi yang lebih rendah, sedangkan yang kedua menunjukkan aktivitas yang lebih baik pada konsentrasi yang lebih tinggi. Meskipun kedua fraksi memiliki kandungan sulfat yang sama, mereka sangat berbeda dalam proporsi kandungan asam uronat dan fukosa. Fukoidan *Sargassum henslowianum* mengandung asam uronat sebesar 66,9% dan fukoidan dari *Fucus vesiculosus* mengandung fukosa sebesar 67,3% sebagai konstituen monosakarida utama [15].

Tabel 2.12. Aktivitas fukoidan terhadap melanoma.

Sumber	% Komposisi	Model	Dosis	Aktivitas
<i>Ascophyllum nodosum</i>	GlcA (39,2%), Fuc (28,4%), Xyl (24,5%), Man (6,3%), Gal (1,1%), Glc (0,5%)	Garissel melanoma murine B16	10-1000 µg/mL	Tidak ada sitotoksitas (MTT)
			5-20 µg/mL	Penurunan migrasi, adhesi pada kolagen I
		Melanoma (B16F10) pada tikus C57Bl/6	50 mg/kg	Peningkatan E-cadherin dan penurunan N-cadherin
				Penurunan invasi sel, MMP-1 dan metastasis eksperimental
				Peningkatan proporsi sel dendritik di limpa dan tumor yang menguras kelenjar getah bening
				Peningkatan migrasi sel dendritik ke limpa dan tumor yang menguras kelenjar getah bening
				Peningkatan kadar IL-6, IL-12p70, dan TNF-α yang dihasilkan oleh sel dendritik
				Peningkatan respons Th1 dan Tc1
				Promosi respons dan fungsi sel T spesifik antigen
<i>Ecklonia cava</i>	Fuc (56,8-82,1%), Gal (11,9-32,7%), Glc (0,5-1,7%), Man (0,1-3,5%), UA (2,5%)	Garis sel melanoma murine B16	75 µg/mL	Sitotoksitas sel (MTT)
			25-100 µg/mL	Pengurangan viabilitas sel (MTT)
				Penurunan pertumbuhan tumor in vivo

Sumber	% Komposisi	Model	Dosis	Aktivitas
		Melanoma (B16F10) pada tikus C57Bl/6	5×10^4 /kg	Peningkatan kadar INF- γ yang dihasilkan oleh splenosit
			1-200 μ g/mL	Tidak ada sitotoksitas
		SK-MEL-28 garis sel melanoma manusia	100 μ g/mL	Penghambatan pembentukan koloni
<i>Fucus evanescens</i>	Fuc (88,7-100%), Man (1-4,6%), GlcA (2%), Xyl (1,8-2%), Gal (1,6-10%), Glc (1,3%)	SKMEL5 dan SKMEL28 garis sel melanoma manusia	100, 200, dan 400 μ g/mL	Pengurangan viabilitas sel (<i>trypan blue</i>)
				Pengurangan pembentukan koloni
<i>Fucus vesiculosus</i>	Fuc (67,3%), Gal (13,5%), UA (9,2%), Xyl (6,3%), Ara (1,4%), Glc (1,2%), Rha (1,0%), Man (0,1%)	Garis sel melanoma murine B16	100-1000 μ g/mL	Penurunan viabilitas sel (MTT)
			200 μ g/mL	Induksi apoptosis
			200-800 μ g/mL	Peningkatan aktivitas caspase 3
<i>Hizikia fusiforme</i>	Fuc (53,53-79,2%), Man (18,13%), Rha (2,09%), Ara (0,38%), Glc (0,19-5,95%), Gal (23,15%), Xyl (17,37%)	Garis sel melanoma murine B16-F10	50, 100 μ g/mL	Sitotoksik
			12,5, 25, 50, 100 μ g/mL	Penurunan kandungan melanin
			25,50 g/mL	Penghambatan melano-genesis melalui penurunan ekspresi tirosinase, TRP-1, TRP-2 dan MITF
			25 μ g/mL	Aktivasi ERK
			12,5, 25, 50 μ g/mL	Penurunan aktivitas tirosinase
<i>Laminaria saccharina</i>	Fuc (27-74,2%), Gal (16,9-18,8%), Glc (0,4-1,6%), Man (1,4-8%), Xyl (1,9-3,2%), UA (5,2-41,4%)	Garis sel melanoma murine B16-F10	5×10^4 /kg	Pengurangan berat tumor
		Melanoma (B16F10) pada tikus C57Bl/6		Pengurangan pembentukan pembuluh mikro terkait dengan tumor
<i>Laminaria japonica</i>	Gal (13,8-57%), Fuc (26,1-47,9%), Glc (3-9,5%), Rha (3%-20%), Man (1,1-11,2%), Xyl (2,8-21%)	Garis sel melanoma manusia A375	31, 125, 500, dan 2000 μ g/mL	Sitotoksik

Sumber	% Komposisi	Model	Dosis	Aktivitas
<i>Saccharina cichorioides</i>	Fuc (98%-100%), Gal (2%)	SK-MEL-28 garis sel melanoma manusia	20, 40, 100 µg/mL	Penghambatan pembentukan koloni saja dan bila dikombinasikan dengan radiasi sinar-X 4 Gy
		RPMI-7951 garis sel melanoma manusia	200 µg/mL	Pengurangan viabilitas sel
<i>Saccharina japonica</i>	Fuc (58-62%), Gal (2%-37,2%), Man (1,1-9%), Xyl (2,1-6,2%), Rha (1,8-3,2%)	SK-MEL-28 garis sel melanoma manusia	200, 400, 800 µg/mL	Penghambatan proliferasi
			50, 100, 200 µg/mL	Penghambatan pembentukan koloni
		RPMI-7951 garis sel melanoma manusia	100, 200, 400, 800 µg/mL	Pengurangan viabilitas sel
			200µg/mL	Efek antiproliferatif
			100µg/mL	Penghambatan pembentukan koloni
<i>Sargassum vulgare</i>	Fuc (43%), Man (14,5%), Gal (20%), Xyl (9,5%), GlcA (13%)	Garis sel melanoma murine B16	25–100 µg/mL	Pengurangan viabilitas sel (MTT)
<i>Turbinaria ornata</i>	Fuc (62,5-83,3%), Gal (12,5%-23,1%), Man (25%)	Garis sel melanoma manusia SK-MEL-28	100 µg/mL	Penghambatan pembentukan koloni
<i>Undaria pinnatifida</i>	Fuc (39,24-53,21%), Gal (26,48-48%), Xyl (1,15-28,85%), Glc (0,95-2,91%), Man (1-6,97%)	SK-MEL-28 garis sel melanoma manusia	200, 400, 800 µg/mL	Penghambatan proliferasi.
			50, 100, 200 µg/mL	Penghambatan pembentukan koloni 38
		RPMI-7951 garis sel melanoma manusia	200µg/mL	Pengurangan viabilitas sel
			100µg/mL	Penghambatan pembentukan koloni
		Garis sel melanoma manusia Malme-3 M	200, 400, 600, 800, 1000 µg/mL	Sitotoksik

Sumber: Mazepa, E. dkk., 2020.

Tikus yang diberi fukoidan sebanyak 10 g/tikus menunjukkan peningkatan sitotoksitas sel leukosit mononuklear limpa terhadap sel melanoma B16. Penurunan pertumbuhan sel tumor pada tikus yang diinokulasi B16 dan penghambatan angiogenesis terkait tumor dijelaskan untuk fukoidan murni (50 mg/kg) dari *Laminaria*

saccharina. Fukoidan yang diperoleh dari *Ecklonia cava*, mampu meningkatkan kadar IFN- γ yang dihasilkan oleh splenosit pada mencit yang mengandung B16, menginduksi imunitas antikanker spesifik antigen, selain menyebabkan penurunan pertumbuhan tumor secara in vivo [15].

Fukoidan juga menunjukkan efek antimelanogenik, seperti yang berasal dari *Hizikia fusiforme*. Polisakarida ini menghambat melanogenesis (dalam garis sel melanoma B16-F10) melalui penghambatan aktivitas tirosinase dan ekspresi di luar penurunan ekspresi protein terkait tirosinase (TRP-1 dan TRP-2) dan faktor transkripsi terkait mikroftalmia (MITF). Melanogenesis pada melanoma sering dikaitkan dengan penurunan respons terhadap perawatan, terutama kemoterapi. Melanogenesis dalam melanoma murine B16-F10 dapat menginduksi sel ke keadaan diam, melalui serangkaian perubahan sel misalnya, generasi ROS, penghentian siklus sel fase G1, dan perubahan metabolisme, memberikan peran protektif pada sel-sel ini. Ada kemungkinan bahwa terdapat penghambatan melanogenesis, setidaknya untuk garis sel B16-F10, berguna untuk membuat sel tumor lebih rentan terhadap pendekatan terapi antitumor [15].

2.11. Efek Antitumor Fukoidan pada Kanker Usus Besar

Kanker usus besar adalah salah satu kanker di dunia, yang sangat umum. Sebuah studi mengenai penerapan fukoidan yang diekstrak dari ganggang coklat *Saccharina cichorioides* ke kanker usus besar manusia DLD-1. Hasilnya, ditemukan bahwa ekstrak fukoidan tersebut dapat menghambat proliferasi sel tumor dengan menekan aktivitas faktor pertumbuhan epidermal. Studi lainnya menerapkan fukoidan yang diekstraksi dari *Sargassum mcclurei* ke sel kanker usus besar DLD-1. Hasil penelitian menunjukkan bahwa fukoidan dapat menghambat proliferasi sel kanker secara efektif dengan sitotoksitas yang lebih rendah. Fukoidan menginduksi kematian sel HT-29 dan mungkin memiliki downregulation IGF-IR yang memberi sinyal melalui jalur IRS-1/PI3K/AKT. Sebuah studi yang mengobati lini sel adenokarsinoma usus besar manusia WiDr dan LoVo menggunakan fukoidan yang diekstrak dari *Undaria pinnatifida*, menunjukkan bahwa fukoidan dapat menghambat proliferasi sel tumor secara efektif dan sitotoksitas terhadap sel jaringan normal rendah. Studi lainnya mempelajari efek fukoidan pada apoptosis HT-29 dan HCT116. Hasil penelitian menunjukkan bahwa apoptosis sel kanker usus besar yang diinduksi oleh fukoidan

diatur oleh jalur apoptosis yang dimediasi mitokondria dan reseptor yang dimediasi kematian [3].

Secara *In vivo*, studi dilakukan dengan memberikan fukoidan dengan berat molekul rendah, sedang, dan tinggi pada tikus dengan tumor 26 usus besar dan menemukan bahwa konsumsi fukoidan dengan berat molekul sedang dapat menghambat pertumbuhan tumor secara signifikan. Dalam studi tersebut juga menjelaskan bahwa, waktu kelangsungan hidup tikus dalam kelompok fukoidan dengan berat molekul rendah atau berat molekul tinggi, secara substansial lebih lama daripada tikus dalam kelompok kontrol. Selain itu juga teramati bahwa jumlah sel NK pada limpa tikus juga meningkat secara signifikan. Studi mengenai pengaruh fukoidan pada sel kanker usus besar secara *in vitro* dirangkum dalam Tabel 2.13 [3].

Tabel 2.13. Pengaruh fukoidan pada sel kanker usus besar secara *in vitro*.

Dosis	Sumber	Dosis (µg/mL)	Efek pada jalur apoptosis	Karakteristik tindakan	Mekanisme aksi
DLD-1	<i>Saccharina</i>	50	–	Menghambat pengikatan reseptor EGF dengan EGF	Menghambat proliferasi sel
DLD-1	<i>Sargassum</i>	100	–	Kurang menghambat pembentukan koloni sitotoksik	Menghambat proliferasi sel
HT-29 HCT-116	<i>Fucus vesiculosus</i>	20	Caspase -8, 9, 7, 3 aktivasi PARP, Bak, Bid, Fas Mcl-1, survivin, XIAP↓	–	Menginduksi apoptosis sel
WiDr LoVo	<i>Undaria pinnatifida</i>	200-1000	–	Kurang sitotoksik	Menghambat proliferasi sel
HT-29	<i>Fucus vesiculosus</i>	0 -1000	Protein terkait jalur IRS-1/PI3K/AKT↓	Protein terkait jalur Ras/Raf/ERK	Menghambat proliferasi sel Menginduksi apoptosis sel

EGF (*Epidermal Growth Factor*), PARP (*Poly(ADP-Ribose) Polymerase*), XIAP (*X-linked Inhibitor Of Apoptosis Protein*)

Sumber: Lin, Y. dkk., 2020.

2.12. Efek Antikanker Fukoidan pada Kanker Paru-Paru

Sebuah studi mengenai perawatan garis karsinoma bronkopulmoner non-sel kecil manusia (NSCLC-N6) dengan fukoidan yang diekstraksi dari *Bifurcaria bifurcata* di pantai Atlantik dilakukan. Hasilnya menunjukkan bahwa sel tumor dihambat secara ireversibel. Sel kanker paru-paru manusia A549 yang diobati dengan fukoidan

ditemukan dapat menghambat proliferasi sel tumor secara signifikan dan memiliki sitotoksitas rendah terhadap sel jaringan normal. Mekanisme aksi relatifnya telah dijelaskan dalam studi serupa. Dimana sel A549 dirawat menggunakan fukoidan yang diekstraksi dari *Undaria pinnatifida*. Selain aktivitas anti-proliferatifnya yang kuat, ditemukan juga bahwa fukoidan dapat menurunkan regulasi p38 mitogen-activated protein kinase (p38 MAPK) dan PI3K/Akt, serta jalur untuk menginduksi A549 apoptosis sel. Fukoidan yang dimurnikan dari *Turbinaria conoides* dilaporkan dapat menginduksi pengurangan tingkat kelangsungan hidup sel A549 dengan cara yang bergantung pada dosis. Selain itu juga ditemukan bahwa fukoidan tersebut tidak sitotoksik pada garis sel keratinosit manusia non-tumorigenik dari jaringan kulit (HaCaT). Sebuah studi melakukan pembiakan sel epitel ginjal normal Vero dan sel karsinoma paru Lewis dalam konsentrasi larutan fukoidan yang berbeda. Uji MTS menunjukkan bahwa pertumbuhan sel LLC secara signifikan dicegah dengan cara yang bergantung pada dosis, tetapi tidak pada sel ginjal normal.

Studi *in vivo* menunjukkan bahwa fukoidan dapat meringankan gejala virus tikus C57BL/6 dan menghambat metastasis paru-paru tikus dengan transplantasi kanker paru Lewis. Dalam studi lainnya, tikus C57BL/6 diinokulasi dengan sel kanker paru-paru Lewis untuk mengeksplorasi efek gabungan siklofosamid dan fukoidan sebagai bahan pembantu, menunjukkan bahwa injeksi fukoidan berulang meningkatkan efek anti-metastasis siklofosamid, tetapi tidak meningkatkan efek anti-tumornya. Efek toksik siklofosamid ditingkatkan dengan injeksi tunggal fukoidan 25 mg/kg. Dampak fukoidan dalam terapi sekuensial (berbasis Cisplatin) diuji dalam sebuah studi. Studi tersebut mengilustrasikan bahwa fukoidan menginduksi respons apoptosis dengan meningkatkan ekspresi caspase-3 dan (PARP) yang dibelah. Penelitian pada sel LLC-1 mentransplantasi tikus C57 mengungkapkan bahwa kombinasi cisplatin dan fukoidan lebih efektif dalam menekan volume tumor dibandingkan dengan menggunakannya sendiri. Studi yang relevan telah menemukan bahwa fukoidan dapat menekan pembuluh darah baru yang diinduksi oleh sel Sarcoma 180 pada tikus. Percobaan ini menunjukkan bahwa fukoidan dapat memberikan efek anti-tumor yang efektif melalui kemampuan anti-angiogeniknya. Studi mengenai pengaruh fukoidan pada sel kanker paru-paru secara *in vitro* dirangkum dalam Tabel 2.14 [3].

Tabel 2.14. Pengaruh fukoidan pada sel kanker paru-paru secara in vitro.

Dosis	Sumber	Dosis (µg/mL)	Efek pada siklus sel	Efek pada jalur apoptosis	Karakteristik tindakan	Mekanisme aksi
A549	<i>Undaria pinnatifida</i>	10-200	fraksi sub-G1↑	Bcl-2, p38, Phospho-PI3K/Akt, procaspase-3↓ Bax, caspase-9, Phospho-ERK1/2↑ PARP cleavage	Sel NK↑	Menghambat proliferasi sel Menginduksi apoptosis sel
NSCLC-N6	<i>Bifurcaria bifurcata</i>	2-9		–	Penghentian pertumbuhan bersifat ireversibel	Menghambat proliferasi sel
Sel karsinoma paru Lewis	<i>Fucus vesiculosus</i>	50-400	–	NF-κB↓	Menghambat VEGF, MMPs	Menghambat metastasis
A549	<i>Undaria pinnatifida</i>	200-1000	–	–	Kurang sitotoksik	Menghambat proliferasi sel
A549 H1975	<i>Fucus vesiculosus</i>	0-400	–	Caspase-3↑ PARP cleavage	Dimediasi TLR-4	Menghambat proliferasi sel Menginduksi apoptosis sel
A549	<i>Turbinaria conoides</i>	10-1000	Penghentian fase G0/G1	–	–	Menghambat proliferasi sel Menginduksi apoptosis sel

PARP (*Poly(ADP-Ribose) Polymerase*), VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*), MMPs (*Matrix Metalloproteinases*)

Sumber: Lin, Y. dkk., 2020.

2.13. Efek Antikanker Fukoidan pada Kanker Hepatoma

Sel hepatoma SMMC-7721 manusia yang diobati dengan fukoidan menunjukkan penghambatan pertumbuhan dan apoptosis yang signifikan. Hal ini disertai dengan beberapa ciri khas seperti pembengkakan mitokondria, vakuolisasi, kondensasi atau marginalisasi kromatin, dan penurunan jumlah. Studi ini juga menemukan bahwa apoptosis sel SMMC-7721 yang diinduksi fukoidan dikaitkan dengan penurunan konsumsi *glutathione* (GSH). Proses ini juga meningkatkan tingkat ROS dalam sel, dengan kerusakan ultrastruktur mitokondria dan depolarisasi potensial membran mitokondria. Hal ini menunjukkan bahwa fukoidan dapat menginduksi apoptosis sel karsinoma hepatoseluler manusia SMMC-7721 melalui jalur mitokondria yang dimediasi ROS [3].

Dalam percobaan lain, para ilmuwan meneliti efek fukoidan pada ekspresi microRNA dan menemukan bahwa fukoidan secara signifikan meningkatkan regulasi

microRNA-29b (miR-29b) dalam sel HCC manusia. Induksi miR-29b bergantung pada dosis dengan penghambatan target hilir DNA *methyltransferase* 3B (DNMT3B). *Messenger* RNA dan level protein tumor metastasis suppressor gene 1 (MTSS1), yang dihambat oleh DNMT3B, meningkat secara signifikan setelah pengobatan dengan fukoidan. Selain itu, fukoidan juga menurunkan regulasi reseptor TGF dan sinyal SMAD pada sel hepatoma. Efek ini dapat menghambat degradasi matriks ekstraseluler dan mengurangi aktivitas invasif sel HCC [3].

Garis sel BEL-7402 dan LM3 diperlakukan oleh fukoidan dan hasilnya menunjukkan bahwa peran fukoidan dalam menghambat proliferasi sel dimediasi melalui jalur p38MAPK/ERK. Fukoidan menghambat aktivasi PI3K, yang mengarah pada penghambatan ERK dan aktivasi MAPK. Rasio Bcl-2 terhadap Bax menurun, mengakibatkan disfungsi mitokondria. Sepuluh pelepasan caspase meningkat, sehingga menyebabkan apoptosis [3].

Sebuah studi melaporkan efek anti-metastasis fukoidan dan peran sinyal kunci dalam mengatur metastasis. Kedua percobaan telah membuktikan bahwa fukoidan dapat menghentikan invasi sel kanker hati dengan menghambat N-myc NDRG-1. Selain itu, fukoidan menghambat invasi sel hepatokarsinoma dengan mengatur NDRG-1/CAP43, yang dimediasi oleh kinase 2/1 yang diatur sinyal ekstraseluler (p42/44 mapk). Fukoidan mengurangi metastasis sel hepatoma *in vivo* dengan mengatur ekspresi p42/44 1VMP-1 di bawah normoksia dan juga mengurangi apoptosis hepatosit yang diinduksi oleh asam empedu melalui penghambatan caspase-8, caspase-7 dan aktivasi domain kematian terkait Fas. Untuk mempelajari apakah fukoidan memiliki aktivitas anti-metastasis dalam model metastasis hati sel MH134, Yuri dkk. menemukan bahwa jumlah fokus metastasis hati sebagian besar lebih rendah daripada kelompok kontrol, dan jumlah diameter maksimum metastasis hati pada tikus yang diobati dengan fukoidan lebih rendah daripada tikus kelompok kontrol. Studi mengenai pengaruh fukoidan pada sel karsinoma hepatoma secara *in vitro* dirangkum dalam Tabel 2.15 [3].

Tabel 2.15. Pengaruh fukoidan pada sel karsinoma hepatoma secara *in vitro*.

Dosis	Sumber	Dosis (µg/mL)	Efek pada siklus sel	Efek pada jalur apoptosis	Karakteristik tindakan	Mekanisme aksi
Huh6 Huh7 SK- Hep1 HepG2	<i>Sargassum</i>	200	–	TGF-β R1, 2↓ Phospho-Smad2/3↓ Smad 4 protein↓	Penghambatan pembentukan koloni	Menghambat proliferasi sel

Dosis	Sumber	Dosis (µg/mL)	Efek pada siklus sel	Efek pada jalur apoptosis	Karakteristik tindakan	Mekanisme aksi
SMMC-7721	<i>Undaria pinnatifida</i>	65,2-1000	Akumulasi dalam fase S	Livin, XIAP mRNA↓ Caspase-3, -8, -9↑ Rasio Bax-to-Bcl-2↑ Sitokrom C↑	Jumlah mitokondria↓ ROS↑ Depolarisasi MMP	Menghambat proliferasi sel Menginduksi apoptosis sel
Huh-7 SNU-761 SNU-3085	<i>Fucus vesiculosus</i>	1000	–	Caspase-7, -8, -9↑	–	Menghambat proliferasi sel
Huh-BAT Huh-7 SNU-761	<i>Fucus vesiculosus</i>	100, 250, 500, 1000	Fraksi sub-G1↑	–	Bax, Bid, Fas↑ Caspase-7, -8, -9 cleavage Phosphorylated -p42/44↑	Menghambat proliferasi sel Menghambat metastasis Menginduksi apoptosis sel

IAP (*inhibitor of apoptotic protein*), ROS (*reactive oxygen species*), MMP (*mitochondrial membrane potential*)

Sumber: Lin, Y. dkk., 2020.

2.14. Efek Antikanker Fukoidan pada Leukimia

Beberapa penelitian mengenai efek anti-leukemia fukoidan mencapai hasil yang baik. Sebuah studi mempelajari jalur pensinyalan apoptosis yang dimediasi fukoidan. Pengobatan fukoidan terhadap sel HL-60 dapat menginduksi aktivasi caspase-3, -8, -9, dan perubahan permeabilitas membran mitokondria. Hasil penelitian yang sama direfleksikan dalam eksperimen lain. Dilaporkan bahwa peningkatan apoptosis terkait dengan caspase hidrolase, pembelahan Bid, penyisipan Bax ke dalam mitokondria sebelum apoptosis, pelepasan sitokrom c dari mitokondria ke sitoplasma, dan hilangnya potensi membran mitokondria pada sel U937. Studi tersebut juga menemukan bahwa inhibitor caspase menghambat apoptosis yang diinduksi oleh fukoidan, menunjukkan bahwa apoptosis bergantung pada aktivasi caspase. Selain itu, fukoidan dapat secara efektif mengaktifkan p38 MAPK dan p38 MAPK inhibitor, serta sebagian besar melawan apoptosis yang diinduksi fukoidan dengan menghambat translokasi Bax dan aktivitas caspase, menunjukkan bahwa aktivasi p38 MAPK dapat memainkan peran penting dalam fukoidan. Studi lainnya juga menemukan bahwa fukoidan secara signifikan melemahkan ekspresi berlebih dari Bcl-2 dalam sel U937 [3].

Studi mengenai sitotoksitas dan aktivitas anti-tumor fukoidan pada sel leukemia myeloid akut manusia dilakukan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa

fukoidan menghambat proliferasi dan menginduksi apoptosis NB4 dan HL60 melalui jalur endogen dan eksogen. Pada sel NB4, apoptosis dipengaruhi oleh caspase, sedangkan pretreatment dengan inhibitor pan-caspase dapat secara signifikan melemahkan apoptosis. Peningkatan regulasi P21, WAF1 dan CIP1 yang signifikan mengakibatkan penghentian siklus sel. Berdasarkan studi fukoidan pada mencit transplantasi NB4, peneliti fokus pada ukuran tumor, aktivitas sitotoksik, dan sel NK. Hasilnya ditemukan bahwa fukoidan dapat secara signifikan menunda pertumbuhan tumor *xenograft* dan meningkatkan aktivitas sitolitik sel NK. Hasil ini menunjukkan bahwa fukoidan bisa menjadi obat yang berguna untuk mengobati beberapa jenis leukemia [3].

Aktivitas antitumor fukoidan dalam difusi sel limfoma sel B besar (DL-BCL) secara *in vivo* dan *in vitro* dipelajari. Temuan menunjukkan bahwa fukoidan menyebabkan penghentian siklus sel G0/G1 dan juga menyebabkan hilangnya MMP pada sel limfoma, dan sitokrom c dan faktor pemicu apoptosis dilepaskan dari mitokondria ke dalam sitoplasma, kemudian menginduksi apoptosis sel limfoma. Para ilmuwan mempelajari fukoidan pada pertumbuhan tumor sel leukemia A20 tikus dan efeknya pada respon imunitas yang diperantarai sel T pada tikus transgenik reseptor sel T (DO-11-10-Tg). Pada tikus yang ditambahkan fukoidan ke makanan, aktivitas litik ovalbumin yang menghambat transfeksi sel limfoma meningkat, dan efek pembunuhan sel NK juga meningkat secara signifikan. Studi mengenai pengaruh fukoidan pada sel leukemia secara *in vitro* dirangkum dalam (Tabel 2.15) [3].

Tabel 2.15. Pengaruh fukoidan pada sel karsinoma hepatoma secara *in vitro*.

Dosis	Sumber	Dosis (µg/mL)	Efek pada siklus sel	Efek pada jalur apoptosis	Karakteristik tindakan	Mekanisme aksi
HL-60 NB4 THP-1	<i>Fucus vesiculosus</i>	150	Fraksi Sub-G1↑	PARP cleavage Caspase-8, 9, 3↑ Mcl-1, Bid↓	ERK1/2, MEK1/2, JNK↑	Menginduksi apoptosis sel
SUDHL-4 OCI-LY8 NU-DUL-1 TMD8 U293 DB	<i>Fucus vesiculosus</i>	50, 100, 200	Penghentian fase G0/G1 CyclinD1, CDK4, CDK6↓ p21↑ E2F1↓	PARP cleavage Cleaved Caspase-8, -9, -3↑	–	Menginduksi apoptosis sel
NB4 HL60	<i>Fucus vesiculosus</i>	12,5, 25, 50, 100	Fraksi Sub-G0/G1↑ p21, WAF1, CIP1 ↑	Caspase-3, 8, 9↑ PARP cleavage Bax↑	Aktivasi ERK1/2, AKT sel NK	Menghambat proliferasi sel Menginduksi apoptosis sel

Dosis	Sumber	Dosis (µg/mL)	Efek pada siklus sel	Efek pada jalur apoptosis	Karakteristik tindakan	Mekanisme aksi
U937	<i>Fucus vesiculosus</i>	20-100	Fraksi Sub-G1↑	Caspase-3, 8, 9↑ PARP cleavage Bax↑ Bid, Bcl-xl, MMP↓	Aktivasi p38MAPK	Menghambat proliferasi sel Menginduksi apoptosis sel

PARP (*Poly(ADP-Ribose) Polymerase*), ER (*Extracellular Signal-Regulated Kinase*), MEK (*MAPK Kinase*), MAPK (*Mitogen-Activated Protein Kinase*), JNK (*Jun NH2-Terminal Kinase*), MMP (*Mitochondrial Membrane Potential*)

Sumber: Lin, Y. dkk., 2020.

2.15. Potensi Antitumor Fukoidan pada Jenis Kanker Lainnya

Sebuah studi melakukan pengobatan pada garis sel melanoma RPMI-7951 dengan fukoidan dan menemukan bahwa fukoidan dapat mengatur siklus sel tumor dan mempengaruhi mitosis sel tumor. Asupan oral fukoidan sebesar 5 mg/kg efektif untuk menekan pertumbuhan tumor pada mencit transplantasi sel melanoma B16. Didapatkan bahwa fukoidan dapat menekan ekspresi VEGF dan menghambat angiogenesis tumor, dan fukoidan yang oversulfat tampaknya lebih efektif. Sel kanker prostat manusia PC-3 diberi perlakuan dengan fukoidan diekstrak dari *Undaria pinnatifida*. Dosis yang digunakan adalah 200 g/mL. Hasilnya adalah fukoidan mengaktifkan ERK1/2 MAPK, menghambat jalur pensinyalan p38 MAPK dan PI3K/Akt, dan kemudian mempromosikan apoptosis PC-3. Sel kanker prostat manusia DU-145 yang ditransplantasikan pada tikus yang diberi makan dengan fukoidan, ditemukan bahwa jalur pensinyalan p38 MAPK dan PI3K/Akt dihambat oleh fukoidan, sementara apoptosis ditingkatkan. Ekspresi gen Bcl-2 dihambat dan caspase-9 diaktifkan, memicu kerusakan DNA. Efek terapeutik fukoidan pada sel DU-145 dipelajari secara *in vitro* dan *in vivo*. Secara *in vitro*, sel DU-145 diperlakukan dengan fukoidan dengan dosis 100 1000 mikrog/mL. Hasilnya ditemukan bahwa fukoidan dapat melawan proliferasi dan aktivitas sel DU-145 serta melawan migrasi dan pengelolaan sel dalam matriks. Sedangkan secara *in vivo* tikus disuntikkan dengan sel DU-145 untuk membuat model xenotransplantasi. Pemberian oral selama 28 hari dengan 20 mg/kg fukoidan secara signifikan menghambat pertumbuhan tumor dan angiogenesis, menurunkan kandungan hemoglobin dalam jaringan tumor, dan menurunkan ekspresi mRNA CD31 dan CD105. Selain itu, JAK terfosforilasi, STAT3 dan aktivasi VEGF, Bcl-xL dan Cyclin D1 menurun secara signifikan setelah perlakuan fukoidan. Hasil di atas menunjukkan bahwa efek anti-tumor dan anti-angiogenik fukoidan dapat dimediasi melalui jalur JAKSTAT3. Studi mengenai

mekanisme fukoidan pada efek anti-proliferatif sel AGS adenokarsinoma lambung manusia secara *in vitro* dilakukan. Hasil penelitiannya menunjukkan bahwa fukoidan memiliki kemampuan untuk menurunkan regulasi ekspresi Bcl-2 dan Bcl-xL, menurunkan MMP, dan memecah protein PARP. Data ini menunjukkan bahwa fukoidan dapat menghambat pertumbuhan sel AGS secara efektif dengan menginduksi *autophagy* dan apoptosis. Para ilmuwan mempelajari efek fukoidan yang dikenakan pada sel sarkoma uterus ESS-1 dan MES-SA, dan garis sel karsinosarkoma SK-UT-1 dan SK-UT-1B, serta efek toksiknya pada fibroblas kulit manusia. Hasil penelitian menunjukkan bahwa fukoidan secara signifikan mengurangi viabilitas sel SK-UT-1, SK-UT-1B dan ESS1, sedangkan dosis fukoidan dalam penelitian tersebut tidak berpengaruh signifikan terhadap proliferasi sel normal. Selain MES-SA, semua sel yang diuji dipengaruhi oleh fukoidan, untuk meningkatkan persentase sel dalam fase G0, sub-G1 atau G1. Dilaporkan bahwa fukoidan tidak hanya mempengaruhi proliferasi sel, tetapi juga secara selektif menginduksi apoptosis sarkoma uterus dan sel karsinosarkoma, yang memiliki potensi sitotoksitas [3].

DAFTAR PUSTAKA

- [1] *Abdel-Latif, H. M. R., Dawood, M. A. O., Alagawany, M., Faggio, C., Nowosad, J., Kucharczyk, D.*; 2022; *Health Benefits and Potential Applications of Fucoïdan (FCD) Extracted from Brown Seaweeds in Aquaculture: An Updated Review*; *Fish and Shellfish Immunology* 122; 115-130.
- [2] *do-Amarala, C. C. F., Pacheco, B. S., Seixasa, F. K., Pereirab, C. M. P., Collares, T.*; 2020; *Antitumoral Effects of Fucoïdan On Bladder Cancer*; *Algal Research* 47; 1-10.
- [3] *Lin, Y., Qi, X., Liu, H., Xue, K., Xu S., Tian, Z.*; 2021; *The Anti-Cancer Effects Of Fucoïdan: A Review of Both in Vivo and in Vitro Investigations*; *Cancer Cell Int* 20;1-14.
- [4] *Senthilkumar, K., Manivasagana, P., Venkatesana, J., Kima, S.K.*; 2013; *Brown Seaweed Fucoïdan: Biological Activity and Apoptosis, Growth Signaling Mechanism in Cancer*; *International Journal of Biological Macromolecules* 60; 366-374.
- [5] *Abrahama, R. E., Sua, P., Puria, M., Rastonb, C. L., Zhanga, W.*; 2019; *Optimisation of Biorefinery Production of Alginate, Fucoïdan and Laminarin From Brown Seaweed *Durvillaea Potatorum**; *Algal Research* 38; 1-12.
- [6] *Apostolova, E. et al.*; 2020; *Immunomodulatory and Anti-Inflammatory Effects of Fucoïdan: A Review*; *Polymers* 12; 1-22.
- [7] *Zvyagintseva, T. N. et al.*; 2021; *Structural Diversity of Fucoïdians and Their Radioprotective Effect*; *Carbohydrate Polymers* 273; 1-15.
- [8] *Luthuli, S., Wu, S., Cheng, Y., Zheng, X., Wu, M., Tong, H.*; 2019; *Review Therapeutic Effects of Fucoïdan: A Review on Recent Studies*; *Marine Drugs* 17; 1-12.
- [9] *Hanjabam, M. D., Kumar, A., Tejpal, C. S., Krishnamoorthy, E., Kishore P., Kumar, K. A.*; 2019; *Isolation of Crude Fucoïdan From *Sargassum Wightii* Using Conventional and Ultra-Sonication Extraction Methods*; *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre* 20; 1-8.
- [10] *Tran, P. H. L., Lee, B. J., Tran, T. T. D.*; 2021; *Current Developments in The Oral Drug Delivery of Fucoïdan*; *International Journal of Pharmaceutics* 598; 1-7.
- [11] *Wijesinghea, W.A.J.P., Jeon, Y.J.*; 2012; *Biological Activities and Potential Industrial Applications of Fucoïde Rich Sulfated Polysaccharides and Fucoïdians Isolated from Brown Seaweeds: A Review*; *Carbohydrate Polymers* 88; 13-20.

- [12] Pádua, D., Rocha, E., Gargiulo, D., Ramos, A.A.; 2015; *Bioactive Compounds from Brown Seaweeds: Phloroglucinol, Fucoxanthin and Fucoidan As Promising Therapeutic Agents Against Breast Cancer*; *Phytochemistry Letters* 14; 91-98.
- [13] Husni, A., Pamungkas, B., Sinurat, E., Isnansetyo, A.; 2021; *Characteristics and Cytotoxic Activity of Fucoidan from the Brown Seaweed Sargassum hystrix against MCF-7 Breast Cancer Cells*; *Trop J Nat Prod Res*, Vol. 5, No. 3; 564-569.
- [14] Delma, C. R. et al.; 2019; *Fucoidan from Marine Brown Algae Attenuates Pancreatic Cancer Progression by Regulating P53 – NFκB Crosstalk*; *Phytochemistry* 167; 1-10.
- [15] Zvyagintseva, T. N. et al.; 2021; *Structural Diversity of Fucoidans and Their Radioprotective Effect*; *Carbohydrate Polymers* 273; 1-15.

BAB III

OBAT KANKER DARI MIKROALGA

3.1. Mikroalga

Mikroalga adalah organisme mikroskopis fotosintesis, yang merupakan konstituen utama fitoplankton air tawar dan laut [1]. Selain itu, mikroalga juga merupakan produsen utama dan sumber makanan bagi organisme laut lainnya [2]. Dalam kingdom Protista, alga diklasifikasikan menurut warnanya menjadi empat kelompok taksonomi (merah, coklat, biru, dan hijau) [1]. Mikroalga menunjukkan tingkat pertumbuhan yang cepat dan ketahanan terhadap daerah dengan kondisi yang terlalu ekstrim atau stres untuk tanaman pertanian umum lainnya, seperti lingkungan air limbah, air asin, daerah beku dan sumber air panas [3]. Karena memiliki pertumbuhan yang cepat, siklus reproduksi yang pendek, dan daya adaptasi lingkungan yang kuat, membuat mikroalga menjadi kandidat yang baik untuk penemuan obat [1, 4].

Produksi alga komersial adalah fenomena produksi pertanian yang muncul dalam beberapa tahun terakhir. Sambil menyediakan bahan baku protein dan minyak yang berkelanjutan untuk produk hilir, proses budidaya itu sendiri menyerap jutaan ton karbon dioksida dan memproses air limbah. Selain dapat melindungi lingkungan, budidaya mikroalga juga mendorong pertumbuhan ekonomi global sampai batas tertentu. Faktanya, industri mikroalga menunjukkan tren yang meningkat. Pasar global untuk mikroalga diperkirakan mencapai US\$3,4 Miliar pada tahun 2020, dan diperkirakan akan mencapai US\$4,6 miliar dalam pesanan yang direvisi pada tahun 2027. Dengan munculnya kondisi lingkungan yang menguntungkan dan pertumbuhan ekonomi, orang telah lebih memperhatikan pengembangan berbagai komponen dan penggunaan mikroalga [4].

Penggunaan mikroalga secara ekstensif dapat membangun masa depan yang menjanjikan bagi manusia generasi berikutnya di berbagai sektor kehidupan sehari-hari seperti farmasi, kosmetik, nutraceutical, dan tujuan akuakultur. Sekarang, penelitian terapeutik tentang alga telah dikembangkan karena efisiensi senyawa bioaktifnya terhadap beberapa patogen [1]. Pada dasarnya, mikroalga terdiri dari berbagai proporsi lipid, karbohidrat, protein, dan asam nukleat. Proporsi tersebut mungkin berbeda sesuai dengan spesies dan kondisi pertumbuhan. Selain itu, mikroalga juga mengandung pigmen (seperti fikobilin, karotenoid, beta-karoten,

vaucheraxanthin, zeaxanthin, anteraxanthin, dan violaxanthin), asam amino (seperti glutamat, aspartat, metionin, triptofan, histidin, sistein, prolin, dan hidroksiprolin), asam lemak tak jenuh ganda, vitamin, mineral, enzim, dan polisakarida [1, 3, 4].

3.2. Sumber Mikroalga

Mikroalga merupakan kelompok besar fitoplankton autotofrik. Mikroalga terdistribusi di seluruh lingkungan, di mana mikroalga ini mewakili bagian utama dari organisme hidup di perairan bumi dan laut. Mikroalga dapat diklasifikasikan menurut sumbernya menjadi alga air tawar dan mikroalga laut [1].

3.2.1. Alga Air Tawar

Ganggang air tawar dapat dibagi secara mikroskopis menjadi 10 filum utama. Selain itu, juga terdapat filum minor tambahan, yang memiliki efek minimal pada lingkungan air tawar, yaitu *Prasinophyta* (13 spesies), *Haptophyta* (lima spesies), *Eustigmatophyta* (tiga spesies), *Raphidophyta* dan *Glaucophyta* (masing-masing dua spesies). Umumnya, berbagai spesies besar ganggang darat dan air tawar dapat memberikan informasi tentang kisaran taksonomi mikroalga [1].

3.2.2. Mikroalga Laut

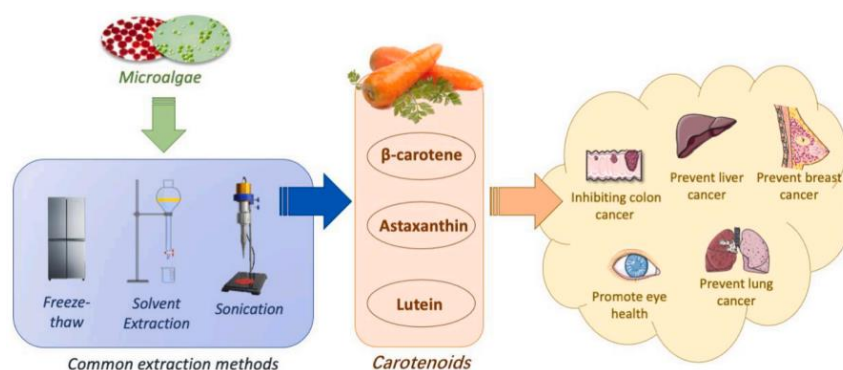
Mikroalga laut merupakan sumber utama yang penting untuk gen dan metabolit baru yang bermanfaat. Sampai saat ini, ada lebih dari 30.000 spesies mikroalga yang mapan. Mikroalga laut adalah organisme heterogen, termasuk organisme eukariotik seperti organisme prokariotik dan diatom [1].

3.3. Senyawa Bioaktif Mikroalga

3.3.1. Karotenoid

Karotenoid merupakan pigmen alami yang terdapat pada hewan, tumbuhan, dan pigmen alga. Karotenoid yang umum digunakan di pasaran antara lain astaxanthin, β -karoten, lutein, canthaxanthin, likopen, dan zeaxanthin. Karotenoid dengan kemurnian tinggi dapat digunakan sebagai obat terapeutik untuk penyakit manusia dengan ekstraksi yang tepat. Gambar 3.1 menunjukkan karotenoid umum yang diekstraksi dari mikroalga dan manfaat kesehatannya. Mikroalga merupakan sumber hijau karotenoid komersial dalam rantai makanan perairan. Melalui fotosintesis atau stimulasi lingkungan khusus,

mikroalga dapat memproduksi karotenoid yang terakumulasi, dan akumulasinya dapat mencapai 8-14% dari biomassa mikroalga [4].

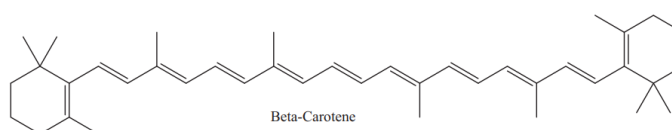


Sumber: Zhuang, D. dkk., 2022.

Gambar 3.1. Karotenoid umum yang diekstraksi dari mikroalga dan manfaat kesehatannya.

3.3.1.1. β -Karoten

β -Karoten adalah senyawa larut lemak berwarna oranye-kuning yang dapat diekstraksi dari mikroalga, yang senyawa kimianya ditunjukkan pada Gambar 3.2. β -Karoten adalah prekursor retinol (vitamin A) yang terjadi secara alami dengan potensi anti-tumor dan efek kemopreventif. β -karoten memainkan peran penting dalam regulasi kekebalan. Tubuh manusia mengubah beta-karoten menjadi vitamin A, yang diperlukan untuk wanita hamil dan anak-anak. Kekurangan vitamin A dapat menyebabkan kekebalan anak, rabun senja, mata kering, dan kebutaan. Berbagai studi menunjukkan bahwa karotenoid dapat mencegah berbagai jenis kanker pada manusia, termasuk kanker kandung kemih, kanker payudara, kanker hati, kanker usus, leukemia, kanker paru-paru, kanker mulut dan kanker prostat [4].



Sumber: Hu, Y. dan Bassi, A., 2020.

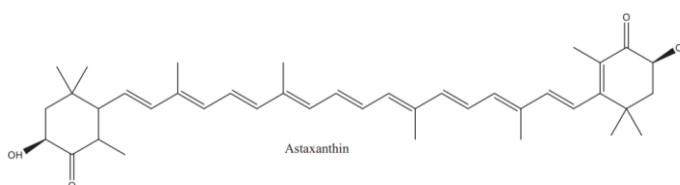
Gambar 3.2. Struktur kimia β -Karoten.

Sebagai contoh, sebuah studi mempelajari mengenai efek antikanker in vitro dari α -tokoferol, β -karoten, dan asam askorbat pada sel kanker prostat PC-3. Hasil penelitian menunjukkan bahwa molekul-molekul tersebut bertindak sebagai antioksidan untuk mengurangi viabilitas sel dan meningkatkan tingkat spesies oksigen reaktif (ROS) dan peroksidasi lipid

(LOP) dalam sel PC-3. Selain itu, β -karoten dapat meningkatkan ekspresi gen caspase-3 apoptosis dan mempromosikan kematian sel terprogram. Dalam studi lainnya mengenai penghambatan karotenoid pada kanker usus besar, ditemukan bahwa suplementasi β -karoten dapat menghambat pembentukan dan ekspresi penanda makrofag M2 dalam model tikus kanker kolorektal dari tumor terkait kolitis etoksimetana/dekstran natrium sulfat. Hal ini juga membuktikan bahwa potensi efek terapi β -karoten pada kanker kolorektal dimediasi oleh penghambatan polarisasi makrofag M2 dan aktivasi fibroblas. Untuk lebih mendemonstrasikan fungsi perlindungan karoten pada efek kuratif obat komersial, para ahli telah melakukan eksperimen kontrol dengan mengintegrasikan pengobatan obesitas orlistat dan pengobatan beta-karoten pada tikus. Terapi kombinasi beta-karoten dan orlistat dapat mengurangi toksisitas hati dan berbagai gangguan arsitektur hati yang disebabkan oleh orlistat. Hasil ini menguatkan antioksidan seperti beta-karoten dapat digunakan sebagai agen tambahan bagi pasien untuk mengurangi toksisitas orlistat selama perawatan medis [4].

3.3.1.2. Astaxanthin

Astaxanthin dikenal sebagai karotenoid dengan sifat antioksidan yang efektif. Struktur kimia astaxanthin ditunjukkan pada Gambar 3.3. Metabolisme manusia dan pencemaran lingkungan akan menyebabkan tubuh manusia menghasilkan spesies oksigen reaktif dan radikal bebas. Radikal bebas akan merusak membran sel dan protein dalam organisme dan menyebabkan penyakit. Sifat antioksidan yang kuat memungkinkan astaxanthin untuk mengais radikal bebas untuk menghindari kerusakan sel dan jaringan. Berdasarkan studi terdahulu, astaxanthin melakukan dapat menangkal radikal bebas hampir sepuluh kali lebih baik daripada karotenoid lainnya [4].



Sumber: Hu, Y. dan Bassi, A., 2020.

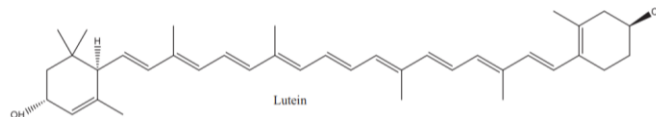
Gambar 3.3. Struktur kimia astaxanthin.

Astaxanthin direkomendasikan sebagai obat terapi potensial untuk karsinoma payudara, karsinoma usus besar, dan hepatokarsinoma, karena sifat antiinflamasi, antioksidan, proapoptosis, dan antikankernya yang baik. Astaxanthin mengurangi terjadinya tumor melalui berbagai jalur, terutama dengan menghambat proliferasi sel, menghambat siklus sel dan menginduksi apoptosis sel. Sebuah studi menemukan bahwa astaxanthin dapat menghambat ekspresi matriks metaloproteinase 1, 2 dan 9 dan mempengaruhi migrasi sel melanoma yang pada akhirnya dapat menghambat pertumbuhan tumor. Dalam studi lainnya ditemukan bahwa pemberian astaxanthin oral dapat meningkatkan peningkatan kadar glukosa darah dan lipid pada tikus KKAY dengan diabetes mellitus (DM). Untuk tikus KKAY dengan disfungsi reproduksi jantan (komplikasi khas DM), kelompok penelitian menggunakan astaxanthin oral untuk pengobatan dan menganalisis hasilnya menggunakan standar deviasi. Pergerakan sperma, kepadatan sperma dan tingkat morfologi sperma normal tikus DM KKAY sangat ditingkatkan dengan astaxanthin oral. Hasil ini menunjukkan bahwa astaxanthin memiliki aktivitas imunomodulator, antioksidan, hipoglikemik dan hipolipidemik, sehingga astaxanthin berpotensi digunakan sebagai obat ajuvan untuk infertilitas terkait diabetes. Dibandingkan dengan astaxanthin sintetis, astaxanthin alami yang diekstraksi dari mikroalga memiliki keunggulan pasar yang lebih baik dalam hal biaya dan keamanan [4].

3.3.1.3. Lutein

Lutein, dengan struktur kimia yang ditunjukkan pada Gambar 3.4., bertindak sebagai filter cahaya biru berenergi tinggi alami dan antioksidan pada manusia dan tanaman. Dibandingkan dengan karotenoid lainnya, penelitian tentang lutein lebih difokuskan pada pengobatan penyakit mata. Dalam studi lutein pada tikus retinopati yang diinduksi oksigen, ditemukan bahwa lutein dapat meningkatkan regenerasi pembuluh darah retina normal di area avaskular pusat dengan mempromosikan pembentukan sel ujung endotel dan melestarikan templat astrosit. Efek ini membuat lutein berpotensi untuk digunakan sebagai suplemen untuk pengobatan retinopati proliferaatif, sehingga menyelesaikan kebutaan anak yang disebabkan oleh retinopati prematuritas. Untuk beberapa penyakit mata, seperti uveitis yang disebabkan oleh endotoksin, neovaskularisasi koroid yang disebabkan oleh laser, diabetes

yang disebabkan oleh streptozotokin, dan iskemia dan reperfusi retina eksperimental, lutein dapat mengurangi ekspresi model peradangan. Lutein diharapkan menjadi obat mata yang baik, setelah memastikan efek klinisnya dan dosis asupan yang optimal [4]. Namun penelitian mengenai aktivitas antikanker juga dilaporkan. Lutein yang diekstrak dari *Chlorella vulgaris* dan *Chlorella ellipsoidea* diuji aktivitas antikankernya pada garis sel karsinoma usus besar manusia (HCT116). Aktivitas anti-kanker diukur menggunakan uji MTT setelah 24 jam paparan dengan ekstrak mikroalga. Hasilnya menunjukkan bahwa nilai konsentrasi penghambatan setengah maksimal (IC_{50}) *Chlorella vulgaris* ($40,31 \pm 4,43$ g/mL) dan *Chlorella ellipsoidea* ($40,73 \pm 3,71$ g/mL) jauh lebih tinggi daripada nilai IC_{50} lutein murni ($21,02 \pm 0,85$ g/mL) [3].



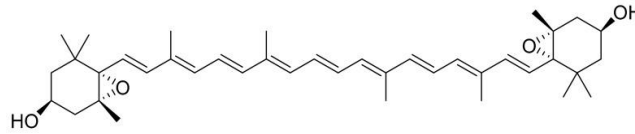
Sumber: Hu, Y. dan Bassi, A., 2020.

Gambar 3.4. Struktur kimia lutein.

3.3.1.4. Violaxanthin

Violaxanthin, seperti yang ditunjukkan pada Gambar 3.5, merupakan salah satu karotenoid yang berpotensi sebagai antikanker. Sebuah studi melakukan skrining anti-kanker ekstrak dari ganggang hijau *Dunaliella tertiolecta* pada empat garis sel kanker yang berbeda: MCF-7, MDA-MB-231, A549 dan LNCaP. Ekstrak yang dilakukan menggunakan berbagai pelarut, yaitu diklorometana, etanol, dan air ultra murni. Uji MTT digunakan untuk mengevaluasi viabilitas sel. Ekstrak diklorometana menunjukkan aktivitas yang signifikan terhadap sel kanker MCF-7. Analisis RP-HPLC dan fraksinasi digunakan untuk mendapatkan satu subfraksi dari ekstrak diklorometana yang juga disaring selama 72 jam pada konsentrasi antara 0,1 g/mL dan 40 mikrog/mL. Subfraksi kemudian diidentifikasi sebagai violaxanthin pada tingkat 95%. Selain itu, juga dilaporkan bahwa DNA sel yang tidak diberi perlakuan dan yang diberi perlakuan diekstraksi dan dianalisis menggunakan elektroforesis standar. Meskipun indikasi apoptosis awal (translokasi fosfatidilserin terdeteksi menggunakan annexin-V-Alexa

568 fluorochrome), subfraksi violaxanthin tidak menyebabkan fragmentasi DNA [3].



Sumber: Andrade, K. A. M., dkk., 2018.

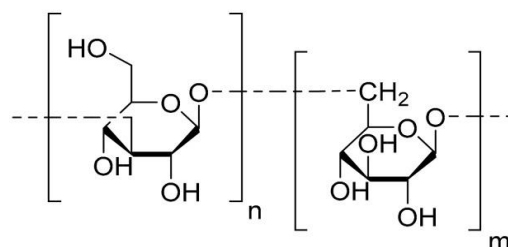
Gambar 3.5. Struktur kimia violaxanthin.

3.3.2. Polisakarida

Polisakarida merupakan polimer alam bermolekul tinggi yang esensial dalam aktivitas kehidupan, yang banyak terdapat pada tumbuhan, mikroorganisme, alga dan hewan. Perbedaan struktur membuat sifat dan aplikasi polisakarida juga berbeda, polisakarida sulfat dari mikroalga laut efektif dalam anti virus, anti oksidasi, regulasi imun dan anti tumor, dan antikankernya [4]. Beberapa polisakarida yang diekstraksi dari mikroalga telah menunjukkan efek antiproliferatif dan apoptosis pada berbagai jenis kanker. Fukoidan adalah polisakarida sulfat, yang diekstraksi dari mikroalga yang berbeda, seperti *Fucus vesiculosus*, *Sargassum henslowianam*, *Cladosiphon fucoidan*, dan *Coccophora longsdorfi*, yang menghambat angiogenesis dan metastasis melalui downregulasi aktivitas kinase dan aktivasi caspase-3/7 di garis sel limfoma manusia, melanoma, kanker usus besar manusia, kanker payudara, karsinoma paru-paru, dan leukemia promyeloid manusia. Sebuah studi melaporkan bahwa monoasilgliserida yang diekstraksi dari *Skeletonema marinoi* dapat menginduksi apoptosis selektif melalui aktivasi caspase-3/7 pada garis sel kanker usus besar (HCT-116) dan garis sel kanker hematologi (U-937), sementara tidak ada apoptosis yang diinduksi dalam sel normal [5].

Sebuah studi melakukan isolasi satu polisakarida dari famili *chrysolaminaran*, yang ditunjukkan pada Gambar 3.6. dari diatom *Synedra acus*. Polisakarida penyimpanan ini dikenal sebagai biopolimer larut air umum yang disintesis oleh diatom. Aktivitas antitumor *chrysolaminaran* yang diekstraksi dari *S. acus* dipelajari pada lini sel kanker usus besar manusia HTC-116 dan DLD-1. Metode MTS dilakukan untuk mengetahui viabilitas sel. Sel kanker diobati dengan 25, 50 dan 100 $\mu\text{g/mL}$ *chrysolaminaran* hingga 72 jam. Tren penghambatan dalam percobaan yang berbeda tidak teratur, tetapi nilai IC50 ditentukan untuk setiap baris sel: 54,5 $\mu\text{g/mL}$ untuk HCT-116 dan 47,7

$\mu\text{g g/mL}$ untuk DLD-1. Para penulis tidak menemukan toksisitas apapun pada garis sel HTC-116 dan DLD-1 pada konsentrasi di atas 200 mg/mL dan, mengingat sebagian besar obat anti-tumor beracun pada konsentrasi ini, ini adalah sifat yang sangat menjanjikan [3].



Sumber: Andrade, K. A. M., dkk., 2018.

Gambar 3.6. Struktur kimia monomer *chrysolaminaran*.

3.3.3. Peptida

Mikroalga adalah alternatif yang layak untuk sumber protein. Produk protein yang saat ini tersedia dari mikroalga diklasifikasikan menjadi protein sel utuh, konsentrat protein, isolat, hidrolisat, dan peptida bioaktif. Karena dampak negatif dari dinding sel pada pencernaan protein sel utuh mikroalga, peptida yang diperoleh dengan hidrolisis enzimatis telah memenangkan hati para ilmuwan. Studi terbaru menunjukkan bahwa peptida mikroalga memiliki fungsi menurunkan darah, mengatur lipid darah, anti-inflamasi, anti-virus dan antitumor [4]. Selain itu, peptida juga memiliki efek antiproliferatif dan imunomodulator, yang menunjukkan sifat antikankernya. Supplementasi fikobili protein yang dihidrolisis secara enzimatis dari *cyanobacteria* menunjukkan efek immunosupresif dengan meningkatkan penanda anti-inflamasi IL-10 dan meningkatkan kelangsungan hidup sel B, proliferasi, dan produksi antibodi. Peptida bertindak terutama dengan menginduksi apoptosis pada sel metastasis, menghentikan siklus sel, menghambat proliferasi, menginduksi sitotoksitas, dan penyusutan sel dalam sel metastasis [6]. *Phycocyanin* adalah phycobiliprotein yang diekstraksi dari mikroalga seperti *Arthronema africanum*, *Spirulina platensis*, dan *Porphyra haitanensis*, yang menghambat pertumbuhan karsinoma hepatoseluler manusia, kanker paru-paru/kolon, dan sel leukemia [5].

Selanjutnya, peptida menekan penanda proinflamasi dan generasi ROS. Peptida yang dihidrolisis dari *Chlorella vulgaris* menggunakan enzim pepsin dilaporkan memiliki efek antioksidan dengan menangkal radikal bebas dan efek antikanker pada sel kanker lambung. Peptida dapat menangkap siklus sel pada

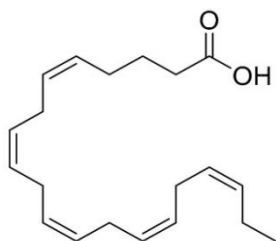
fase pasca-G1 sel kanker lambung dan menekan ekspresi gen -selectin, ICAM, VCAM, MCP-1 dan ET-1. Sebuah studi melaporkan efek anti kanker dan anti-inflamasi peptida yang dihidrolisis dari *Chlorella pyrenoidosa* menggunakan enzim papain, tripsin, dan alkase pada kanker hati. Peptida menghambat kanker hati manusia dengan sifat yang khas seperti, apoptosis, penyusutan membran sel, dan fragmentasi kromatin nuklir [6].

3.3.4. Vitamin

Vitamin adalah elemen yang memainkan peran penting dalam kesehatan manusia selain protein, polisakarida, dan lipid. Kekurangan vitamin dapat menyebabkan penyakit defisiensi. Selain itu dalam beberapa tahun terakhir vitamin juga telah diteliti sebagai obat yang potensial untuk berbagai penyakit. Ditetapkan bahwa kandungan vitamin konsentrasi tinggi dari berbagai spesies mikroalga terutama meliputi provitamin A, vitamin E, B, C, D, K dan asam folat. Kekurangan vitamin D akan menyebabkan berbagai penyakit akut dan kronis, seperti preeklamsia, karies gigi anak, periodontitis, penyakit autoimun, penyakit infeksi, penyakit kardiovaskular, dan kanker fatal. Vitamin K biasanya dikenal sebagai dua macam senyawa yaitu *phylloquinone* (vitamin K1), dan *menaquinones* (vitamin K2). Vitamin K memiliki efek terapeutik klinis pada kanker, penyakit kardiovaskular, penyakit ginjal kronis, dan penyakit tulang. Vitamin E dilaporkan dapat menurunkan tingkat transkripsi metalloproteinase MMP-1 untuk menunda proses dekomposisi kolagen dan dapat menghambat pembengkakan eritema bahkan kanker kulit akibat radiasi ultraviolet akut, *sunburn*, *photoaging*, imunosupresi [4].

3.3.5. Asam Lemak Tak Jenuh Ganda

Asam eikosapentanoat (Gambar 3.7) dan asam dokosaheksanoat adalah asam lemak omega-3 yang paling penting dalam mikroalga, yang sebagian besar bermanfaat bagi perkembangan mata dan otak pada bayi. Selain itu, juga berkontribusi pada pencegahan penyakit kardiovaskular, pembekuan darah, fungsi sistem saraf, dan tekanan darah. Asam lemak tak jenuh ganda juga dilaporkan telah menunjukkan aktivitas antitumor terhadap kanker serviks dan payudara. Mikroalga yang menghasilkan lipid ini adalah *Haematococcus*, *Spirulina*, *Schizachyrium*, dan *Cryptocodinium* [5].



Sumber: Andrade, K. A. M., dkk., 2018.

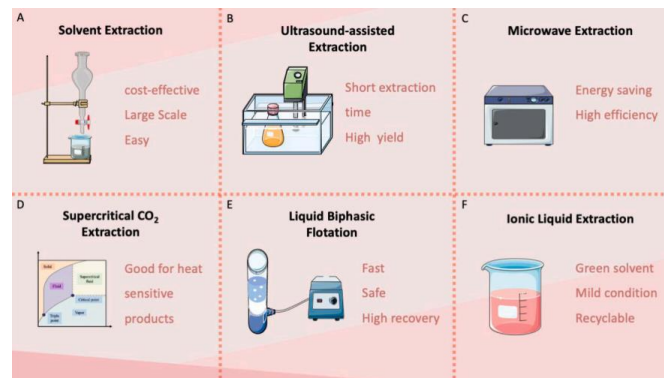
Gambar 3.7. Struktur kimia asam eikosapentaenoat.

Sebuah studi melakukan skrining ekstrak dari diatom laut *Cocconeis scutellum* pada baris sel BT20 (kanker payudara manusia), MB-MDA468 (kanker payudara manusia), LNCaP (sel adenokarsinoma prostat manusia), COR (Epstein-Barr Virus-transformed Sel B diisolasi dari amandel manusia), JVM2 (limfoblas yang diabadikan dengan virus Epstein-Barr) dan BRG-M (sel limfoma Burkitt). Hasil skrining tidak sepenuhnya dilaporkan, tetapi studi tersebut melaporkan bahwa ekstrak *Cocconeis scutellum* lebih efektif pada garis sel BT20. Fraksinasi ekstrak dietil dari *Cocconeis scutellum* menghasilkan tiga fraksi dengan aktivitas yang berbeda. Fraksi 1-2 tidak menyebabkan penurunan yang signifikan dalam viabilitas sel dibandingkan dengan control, tetapi fraksi 3 mengurangi viabilitas menjadi 56,2%. Fragmentasi DNA dievaluasi dengan metode pewarnaan annexin V/propidium iodide. Analisis komposisi fraksi ini menunjukkan bahwa fraksi 1 mengandung gliserida (77,2% dari total arus ion) dan asam lemak (2,4%), fraksi 2 mengandung asam lemak (66,7%), monogliserida (11,0%) dan sterol (3,2%), dan terakhir, fraksi 3 mengandung asam lemak (81,7%) dan 4-metilkolesterol (2,3%). Para penulis menyimpulkan bahwa subfraksi asam lemak bertanggung jawab atas aktivitas ini, khususnya, asam eikosapentanoat. Kesimpulan ini dicapai karena asam eikosapentanoat adalah satu-satunya produk dalam fraksi yang telah dilaporkan menginduksi apoptosis. Aktivasi caspase-8 dan -3 juga dikonfirmasi oleh analisis Western blot. Studi menyimpulkan bahwa masih belum jelas apakah EPA adalah satu-satunya faktor yang terlibat dalam apoptosis sel BT20 atau jika ada hubungan sinergis antara senyawa yang berbeda dalam fraksi yang sama [3].

3.4. Ekstraksi Senyawa Bioaktif Mikoalga

Berbagai studi telah mengenai metode ekstraksi berbagai komponen dari mikroalga telah dilakukan. Pada bagian ini akan dibahas beberapa metode yang paling

umum untuk mengekstraksi komponen mikroalga, yang termasuk dalam gangguan sel dan ekstraksi selektif [7]. Terdapat beberapa teknik gangguan sel, yang dapat diterapkan untuk memperoleh senyawa bioaktif dari mikroalga, diantaranya ekstraksi berbantuan sonikasi, ekstraksi berbantuan gelombang mikro, dan ekstraksi pelarut bertekanan [4, 7]. Metode gangguan sel dilakukan dengan cara mengganggu atau menghancurkan membran sel, sehingga dapat meningkatkan hasil pemulihan komponen yang diinginkan seperti, lipid, pigmen, protein. Tingkat keberhasilan yang lebih besar atau lebih kecil tergantung pada karakteristik dinding sel dari spesies mikroalga tertentu [7]. Sedangkan metode ekstraksi selektif yang paling umum diantaranya adalah ekstraksi pelarut organik dan ekstraksi cairan superkritis, seperti yang ditunjukkan pada Gambar 3.8. [4].



Sumber: Zhuang, D. dkk., 2022.

Gambar 3.8. Metode ekstraksi senyawa bioaktif mikroalga yang efektif dan paling umum.

3.4.1. Ekstraksi Pelarut Organik

Metode ekstraksi pelarut organik adalah metode ekstraksi yang paling luas di pasar dan laboratorium karena kelarutannya yang baik, biaya yang lebih murah, dan persyaratan peralatan yang rendah [4]. Pelarut yang umum digunakan yaitu adalah kloroform/metanol, heksana/isopropanol, diklorometana/methanol, aseton dan etanol. Sebuah studi melakukan ekstraksi lutein dari mikroalga *Haematococcus pluvialis* menggunakan empat pelarut organik yang berbeda yaitu, kloroform/metanol, heksana, aseton, dan etanol. Pada tekanan 10MPa, kloroform/metanol menghasilkan hasil lutein tertinggi 5,9mg/g pada 67°C selama 80 menit, sedangkan tingkat pemulihan lutein optimal 72% dicapai dengan menggunakan etanol sebagai pelarut ekstraksi [8]. Studi lainnya melaporkan bahwa lipid yang diekstraksi dari *Nannochloropsis sp.* dapat mencapai 96,3% pada skala industri. Dalam studi tersebut, juga

dilaporkan bahwa menggunakan pelarut organik berupa aseton lebih disukai dibandingkan dengan pelarut umum yang biasa digunakan yaitu, heksana dan kloroform. Hal ini dikarenakan toksisitas aseton yang lebih rendah. Meskipun menggunakan pelarut organik, perspektif hampir 96% dari hasil ekstraksi cukup ekspresif [7]. Meskipun ekstraksi dengan pelarut organik memberikan manfaat, seperti biaya rendah dan kemudahan peningkatan skala, waktu pemrosesan yang lama, persyaratan untuk pemrosesan hilir, dan penggunaan pelarut organik dalam jumlah besar membuat teknik ekstraksi ini tidak diinginkan di masa depan [8].

Teknik klasik berbasis pelarut organik untuk ekstraksi dan pemulihan senyawa mikroalga, diantaranya metode *Bligh and Dyer (B&D)*, metode *Folch*, dan metode *Soxhlet*. Metode B&D dan Folch adalah teknik yang sangat mirip yang banyak digunakan untuk ekstraksi lipid. Folch adalah metode dua langkah, yang pertama menggunakan kloroform/metanol (rasio 2:1) sebagai pelarut untuk menghomogenkan lipid. Homogenat disaring dan lipid dipisahkan pada langkah kedua, yang terdiri dari pencucian ekstrak minyak mentah, dengan sedikitnya 5 kali volume air. Ini adalah teknik yang memakan waktu yang membutuhkan sejumlah besar pelarut. Untuk mengatasi kelemahan metode *Folch*, B&D memeriksa diagram fase kloroform-metanol air, dan mengusulkan metode satu langkah. *Soxhlet* adalah teknik klasik yang diusulkan oleh *Franz von Soxhlet* pada tahun 1879, yang terdiri dari peralatan *Soxhlet* di mana lipid diekstraksi dari biomassa dengan menguras refluks dalam pelarut organik, umumnya n-heksana atau petroleum eter. Meskipun merupakan teknologi yang sederhana dan terukur, metode *Soxhlet* juga memakan waktu dan membutuhkan jumlah pelarut yang besar [7].

3.4.2. *Ultrasonic-Assisted Extraction (UAE)*

Ekstraksi dengan berbantuan gelombang ultrasound atau yang disebut dengan *Ultrasonic-Assisted Extraction (UAE)* untuk gangguan sel didasari pada gaya geser cair yang disebabkan oleh emisi suara gelombang frekuensi tinggi (hingga 15-20 kHz) [7]. Mekanisme dasar untuk gangguan sel yang dibantu ultrasonikasi melibatkan pembentukan gelembung mikro dalam media cair, dan gelembung-gelembung ini kemudian runtuh dengan keras untuk menciptakan mikroturbulensi dan kejutan tekanan (kavitasi), di mana sel-sel mikroalga dapat terganggu secara mekanis, dan akibatnya, intra-komponen molekul dilepaskan

dengan cepat [8]. Selain itu, kavitasi akustik terjadi dengan meningkatkan suhu lokal dan membentuk radikal hidroksil yang merusak dinding sel. Selain menjadi teknik yang terukur dengan biaya operasional yang rendah, beberapa parameter (misalnya, suhu, konsentrasi sel, intensitas akustik, dan waktu) dapat dioptimalkan untuk sebagian mengganggu sel, menghasilkan pelepasan protein secara selektif [7]. Karatoneoid yang diekstraksi dari *Chlorella saccharophila* menggunakan bantuan gelombang ultrasound dilaporkan mencapai hasil tertinggi dibandingkan metode lainnya (homogenisasi, *bead milling*, dan maserasi), yaitu sebesar 16,39 mg/g yang terdiri dari 31% β -karoten dan 69% zeaxanthin. Kelemahan utama dari gangguan berbasis ultrasonikasi, yaitu efisiensi gangguan yang rendah untuk beberapa spesies mikroalga dan kebutuhan untuk kontrol suhu [8].

3.4.3. Microwave-Assisted Extraction (MAE)

Ekstraksi dengan berbantuan gelombang mikro atau yang disebut dengan *Microwave-Assisted Extraction* (MAE) metode sederhana dan terukur untuk gangguan sel [7]. Prinsip kerja yang mendasari gangguan sel yang dibantu gelombang mikro adalah pembangkitan panas dan peningkatan tekanan internal secara tiba-tiba. Panas dihasilkan oleh pergerakan antar dan intra molekul ketika media cair (misalnya, air) dikenai iradiasi gelombang mikro. Sementara itu, tekanan internal meningkat karena air dapat dengan mudah mencapai titik didihnya dan, oleh karena itu, menghasilkan perluasan sel mikroalga [8]. Metode ini tidak cocok bila komponen target mudah menguap, tetapi telah berhasil dilaporkan sebagai teknik gangguan sel yang efektif untuk ekstraksi lipid. Selain itu ekstraksi berbantuan gelombang mikro, telah dilaporkan sebagai teknik dengan biaya operasional dan waktu ekstraksi yang lebih rendah daripada teknik konvensional. Sebuah studi melaporkan bahwa MAE adalah metode yang paling efektif untuk gangguan sel dari tiga spesies mikroalga (*Botryococcus sp.*, *Chlorella vulgaris*, dan *Scenedesmus sp.*). Studi lain juga melaporkan hasil ekstraksi lipid tertinggi yang dicapai dengan ekstraksi metode MAE, yaitu 18% berat dari bubuk kering mikroalga komersial [7]. Meskipun gangguan berbasis gelombang mikro mudah dioperasikan dan jumlah pelarut yang rendah diperlukan, desain reaktor dan pemahaman yang baik tentang prinsip kerja dasar masih diperlukan untuk mengatasi gangguan sel mikroalga [8].

3.4.4. *Supercritical Fluid Extraction (SFE)*

Ekstraksi dengan cairan superkritis dianggap sebagai pendekatan yang diinginkan untuk pemulihan senyawa bioaktif dari sumber alami seperti mikroalga. Teknologi ini menawarkan beberapa manfaat yang melekat: (i) mudah untuk ditingkatkan; (ii) dapat dikombinasikan dengan metode ekstraksi lainnya; dan (iii) memenuhi kriteria konsep *Green Chemistry* [8]. SFE menggabungkan ekstraksi dan pemisahan dengan mengontrol parameter proses secara ketat seperti suhu, tekanan, laju aliran, dan waktu pemrosesan. Zat dalam kondisi suhu dan tekanan di atas titik kritisnya disebut cairan superkritis atau *supercritical fluids* (SCFs), yang menggabungkan sifat cairan dan gas secara efektif. Dalam keadaan ini, cairan superkritis menunjukkan beberapa sifat yang menarik, seperti viskositas yang lebih rendah daripada cairan dan kemampuan untuk melarutkan zat lebih baik daripada gas dan dengan daya difusi yang lebih besar. Selain itu, SCF dapat bekerja untuk beberapa ekstraksi yang sulit atau tidak mungkin menggunakan pelarut organik [7].

SFE telah banyak digunakan terutama untuk pemulihan asam lemak tak jenuh ganda, pigmen dan vitamin, di mana pelarut yang paling umum digunakan adalah CO₂ superkritis murni atau terkait dengan beberapa pelarut bersama lainnya [22]. Selain itu CO₂ superkritis juga menjadi salah satu pelarut yang umum digunakan untuk mengekstraksi karotenoid dari mikroalga [8]. Asam linoelat yang diekstraksi dari *Arthrospira platensis* menggunakan metode berdasarkan matriks padat yang didukung CO₂ superkritis, mencapai lebih dari 34,5% asam linoelat dari total asam lemak dan 98% efisiensi ekstraksi [7]. Sebuah studi mengenai pengaruh suhu, tekanan, dan penambahan *co-solvent* pada ekstraksi karotenoid dari mikroalga *Tetrademus obliquus* menggunakan perlakuan CO₂ superkritis dilakukan. Kondisi reaksi yang diuji meliputi: suhu 40-60°C; tekanan 10–35MPa; dan metanol dan etanol sebagai *co-solvent*. Diamati bahwa peningkatan tekanan pada suhu konstan menyebabkan peningkatan hasil ekstraksi karotenoid, yang dapat disebabkan oleh peningkatan daya pelarut dengan meningkatnya tekanan. Sebaliknya, tren yang berlawanan ditemukan antara laju ekstraksi karotenoid dan suhu pada tekanan konstan [8].

3.4.5. *Liquid Biphasic Flotation (LBF)*

Liquid Biphasic Flotation (LBF) adalah salah satu metode yang digunakan untuk memurnikan molekul dari biomassa mikroalga. Teknik ini

menggabungkan sistem dua fase berair dengan pelarut sunblasi, yang didasarkan pada adsorpsi molekul di permukaan gelembung dalam fase air. Secara singkat, komponen target dibawa oleh gelembung ke bagian atas fase tidak bercampur yang terdiri dari ventilasi organik. Kemudian, gelembung pecah, melepaskan molekul target untuk dipulihkan di zona atas kolom. Sebuah studi melaporkan, hampir 94% pemulihan C-PC di *Spirulina platensis* dicapai menggunakan PEG 4000 dan $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Sebuah studi mempelajari pemulihan seluruh protein dari *Chlorella vulgaris* FSP-E menggunakan kejutan osmotik melalui sistem LBF. Hasilnya menunjukkan bahwa pemulihan protein 92,98% dengan efisiensi pemisahan 64,91%, koefisien partisi 1,47 dan rasio volume 9 dapat dicapai [7].

3.4.6. Ekstraksi Cairan Ionik

Cairan ionik atau Ionic liquids (ILs) merupakan salah satu pelarut alternatif yang digunakan dalam proses ekstraksi. ILs adalah garam organik dengan titik leleh 100°C atau di bawahnya [7]. ILs terdiri dari kation organik asimetris besar dan anion organik/anorganik kecil. ILs menunjukkan beberapa manfaat, termasuk: (i) stabilitas kimia dan termal yang tinggi; (ii) volatilitas rendah; (iii) tunabilitas; dan (iv) kemampuan untuk melarutkan komponen biomassa bandel (misalnya, lignin) [8]. Namun, tidak semua IL memiliki karakteristik “hijau” dan harus dihindari [7]. Pasa ekstraksi karotenoid, perlakuan ekstraksi oleh ILS dapat menyebabkan kerusakan pada karotenoid. Hal ini dikarenakan ILs bukan pelarut inert, oleh karena itu ekstraksi dengan bantuan ILs tidak diinginkan untuk pemulihan karotenoid dari mikroalga [8].

3.5. Budidaya Mikroalga

Studi terdahulu melaporkan bahwa bioaktivitas mikroalga mungkin berbeda untuk klon yang berbeda, dan dapat bervariasi tergantung pada kondisi budidaya, seperti ketersediaan nutrisi, suhu, intensitas cahaya, dan fase pertumbuhan. Bioaktivitas berbagai ekstrak mikroalga laut (yaitu, diatom *Attheya longicornis*, *Chaetoceros socialis*, *Chaetoceros furcellatus*, *Skeletonema marinoi*, dan *Porosira glacialis*) dengan aktivitas antikanker terhadap sel melanoma A2058 berubah ketika mereka dikultur di bawah cahaya yang berbeda dan kondisi suhu. Selain itu bioaktivitas mikroalga juga dapat bervariasi tergantung pada konsentrasi nutrisi yang digunakan untuk budidayanya. Diatom *Skeletonema marinoi* memiliki aktivitas antikanker secara eksklusif ketika dikultur dalam kondisi kelaparan nitrogen.

Mempertimbangkan pentingnya kondisi kultur, pada Tabel 3.1 merangkum beberapa media yang digunakan untuk menumbuhkan mikroalga laut yang menunjukkan aktivitas anti-kanker seperti, media Conway, media F/2 Guillard atau variasi dari kedua media [3].

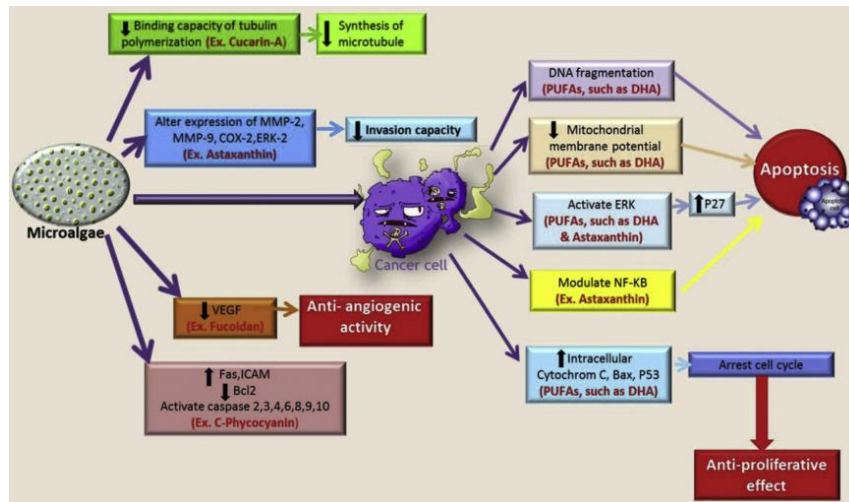
Tabel 3.1. Spesies mikroalga aktif, sumber, kondisi budidaya, dan waktu panen.

Mikroalga	Sumber	Kondisi Kultur	Waktu Panen
<i>Synedra acus</i>	Danau Baikal	Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O (20), KH ₂ PO ₄ (2), MgSO ₄ (12), NaHCO ₃ (30), Na ₂ EDTA (2,2), H ₃ BO ₃ (2,4), MnCl ₂ ·4H ₂ O (1,3), (NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ ·4H ₂ O (1), Na ₂ SiO ₃ ·9H ₂ O (25), FeCl ₃ (1,6) 12°C Intensitas cahaya 250-300 μmol·m ⁻² ·s ⁻¹ .	Tidak tersedia
<i>Dunaliella tertiolecta</i>	Strain DT CCMP364 (NCMA, AS)	Media Conway. 20 °C Intensitas cahaya 180 mol·m ⁻² ·s ⁻¹	Fase eksponensial akhir
<i>Cocconeis scutellum</i>	Laut Mediterania, Stazione Zoologica A.	Medium F/2 Dohrn Guillard. 18°C Intensitas cahaya 140 mol·m ⁻² ·s ⁻¹ Fotoperiode 12 jam:12 jam.	Tidak tersedia
<i>Chaetoceros calcitrans</i>	Strain UPMAA-HU10 Universitas Putra Malaysia	Media Conway. 24 °C Intensitas cahaya 120 mol·m ⁻² ·s ⁻¹ Pengocok berotomasi pada 110 rpm	Fase diam (6–7 hari).
<i>Amphidinium carterae</i>	Pusat Budaya Mikroalga Laut Korea	Media Conway. 20°C, Intensitas cahaya 34 mol·m ⁻² ·s ⁻¹ Fotoperiode 24 jam:0 jam.	Hari 8–10
<i>Navicula incerta</i>	Pusat Budaya Mikroalga Laut Korea.	Medium F/2 Guillard.	Tidak tersedia
Sebelas strain <i>dinoflagellata</i> bentik	Pantai Pulau Jeju (Korea)	Medium Daigo IMK (Nihon Pharmaceutical Co., Ltd.) dan medium F/2 Guillard. 20 °C Intensitas cahaya 180 mol·m ⁻² ·s ⁻¹ Fotoperiode 12 jam:12 jam.	Fase eksponensial.
<i>Phaeodactylum tricorutum</i>	Pusat Budaya Mikroalga Laut Korea Pusat	Media Conway. 20°C Intensitas cahaya 34 mol·m ⁻² ·s ⁻¹ fotoperiode 24 jam:0 jam.	Tidak tersedia
	Nasional Provasoli-Guillard	Medium F/2 Guillard. 18°C dan intensitas cahaya 100 mol·m ⁻² ·s ⁻¹ .	Hari 8–10
<i>Skeletonema marinoi</i> FE6 (1997) FE60 (2005)	Laut Adriatik (Laut Mediterania)	Medium F/2 Guillard. 19°C Intensitas cahaya 100 mol·m ⁻² ·s ⁻¹ Fotoperiode 12 jam:12 jam.	Fase diam akhir

Sumber: Andrade, K. A. M., dkk., 2018.

3.6. Mekanisme Antikanker Mikroalga

Baru-baru ini, sifat antikanker dari beberapa sumber alga yang diturunkan ditemukan untuk memodulasi beberapa mekanisme seluler seperti sitotoksikasi seluler, *downregulate* invasi sel tumor, dan peningkatan apoptosis sel kanker. Banyak studi seluler dan molekuler yang menyarankan aktivitas antitumor alami yang kuat dari senyawa turunan alga. Sebagai contoh yaitu fukosantin, karotenoid yang ada dalam mikroalga, diatom, dan rumput laut coklat. Di mana senyawa-senyawa tersebut menunjukkan sifat antikanker yang kuat melalui mencegah pertumbuhan sel ganas, stimulasi gen penekan kanker, dan penghentian siklus sel. Sedangkan, senyawa-senyawa tersebut tidak mempengaruhi apoptosis sel tumor. Mekanisme seluler terkait mikroalga sebagai antikanker ditunjukkan pada Gambar 3.9 [1].



Sumber: El-Hack, M. E. A. dkk., 2019

Gambar 3.9. Mekanisme seluler yang mungkin untuk aktivitas anti-kanker mikroalga, dan kemungkinan peran molekul yang berpartisipasi.

3.7. Aktivitas Antikanker *Cyanobacteria*

Cyanobacteria adalah kelompok mikroorganisme fotosintesis kuno dan beragam, yang menghuni banyak lingkungan yang berbeda dan seringkali ekstrem. Hal ini menunjukkan tingkat adaptasi biologis yang tinggi, yang memungkinkan organisme ini berkembang dan bersaing secara efektif di alam. Banyak studi yang melaporkan mengenai senyawa antikanker yang dimurnikan dari cyanobacteria, tetapi hanya beberapa spesies yang telah diteliti, yaitu: *Lyngbya sp.*, *Lyngbya majuscula*, *Lyngbya sordida*, *Lyngbya bouilloni*, *Lyngbya confervoides*, *Lyngbya semiplana*, *Geitlerinema sp.*, *Symploca sp.*, *Symploca hydroides*, *Calothrix sp.*, *Phormidium sp.*, *Leptolyngbya sp.*, *Nostoc sp.*, dan *Oscillatoria margaritifera*. Mikroalga tersebut telah terbukti

menghasilkan polisakarida, pigmen, protein, peptida, amida, dan kuinon dengan aktivitas antikanker. Ulasan komprehensif yang baru-baru ini diterbitkan, melaporkan senyawa *cyanobacterial* yang paling aktif dan murni serta aktivitas antikankernya terhadap berbagai garis sel. *Cryptophycin* (depsipeptida) yang dimurnikan dari *Nostoc sp.* memiliki aktivitas antiproliferatif yang kuat terhadap adenokarsinoma usus besar manusia HCY-116. Di antara protein yang dihasilkan, fikobiliprotein *C-phycoocyanin* dari *Spirulina platensis* dapat menginduksi apoptosis pada sel HeLa [9].

Saat ini *L. majuscula* merupakan strain *cyanobacterial* yang paling menarik untuk mendapatkan senyawa antikanker. *L. majuscula* adalah *cyanobacterium* laut berfilamen bentik, yang memiliki distribusi di seluruh dunia di seluruh daerah tropis dan subtropis di perairan permukaan hingga 30 m. Sebuah studi melaporkan bahwa, memungkinkan untuk membudidayakan strain *L. majuscula* yang dikumpulkan dari berbagai lingkungan dan dibuktikan bahwa konfigurasi wadah kultur, kondisi pertumbuhan, dan komposisi media dapat secara signifikan mempengaruhi hasil produksi metabolit sekunder, sehingga memberikan potensi produksi bioproses yang lebih intensif di masa depan. Senyawa *L. majuscula* telah menunjukkan sitotoksitas terhadap garis sel kanker, aktivitas antiinflamasi, penyumbatan saluran sodium gated tegangan, atau induksi polimerisasi aktin. Senyawa murni *L. majuscula* yang paling kuat disajikan pada Tabel 3.2. Sebagian besar senyawa aktif *L. majuscula* adalah depsipeptida siklik atau lipopeptide. Senyawa tersebut menunjukkan aktivitas melawan garis sel manusia seperti tumor paru H-460, kanker payudara, karsinoma kolorektal. Curacin-A adalah senyawa unik yang mengandung thiozoline dan sangat ampuh dalam menghambat pertumbuhan sel kanker usus besar, ginjal, dan payudara [9].

Tabel 3.2. Senyawa antikanker murni dari *Lyngbya majuscula*.

Senyawa Bioaktif	Kelas Senyawa	Garis Sel Manusia Diuji
Apratoxin D	Depsipeptida siklik	Tumor paru-paru H-460
Aurilide B	Depsipeptida siklik	Tumor paru-paru H-460
Aurilide C		
Homodolastatin 16	Depsipeptida siklik	Kanker kerongkongan WHCO1 dan WHCO6 Kanker serviks ME180
Palmiramid A	Depsipeptida siklik	Kanker paru-paru H-460 Kanker usus besar
Pitipeptolida A, B, & C	Depsipeptida siklik	Adenokarsinoma usus besar HT29 Kanker payudara MCF-7

Senyawa Bioaktif	Kelas Senyawa	Garis Sel Manusia Diuji
Pitiprolamida	Depsipeptida siklik	Karsinoma kolorektal HCT116
		Adenokarsinoma payudara MCF7
Lagunamida C	Depsipeptida siklik	Adenokarsinoma paru A549
		Kanker prostat PC3
		Kanker kolorektal ileocecal HCT8
		Kanker ovarium SK-OV
<i>Lynngbyabellin A & B</i>	Depsipeptida siklik	Karsinoma nasofaring KB
		Adenokarsinoma usus besar LoVo
<i>Majusculamide C</i>	Depsipeptida siklik	Kanker kolorektal ileocecal HCT8
		Kanker ovarium SK-OV
<i>Caylobolide A</i>	Makrolakton	Tumor usus besar HCT-116
Curacin A	Lipopeptida	Sel karsinoma paru A549
Dragonamida	Lipopeptida	Sel karsinoma paru A549
		Karsinoma kolon HT29
		Melanoma MEL28
Hektoklorin	Lipopeptida	Sel limfoma Burkitt CA46 manusia
Hermitamida A & B	Lipopeptida	Sel ginjal embrio HEK manusia
Kalkitoksin	Lipopeptida	Tumor usus besar HCT-116
Pseudodysidenin	Lipopeptida A-549	Adenokarsinoma paru-paru
		HT-29 adenokarsinoma usus besar MEL-28 melanoma
<i>Somocystinamide A</i>	Lipopeptida	Leukemia Jurkat dan CEM
		Karsinoma paru A549
		Leukemia Molt4 T
		Melanoma M21
		Mieloma U266
<i>Isomalyngamide A & A1</i>	Asam lemak amina	Kanker payudara MCF-7 MDA-MB-231
Malingamid C, J, dan K	Asam lemak amina	Kanker paru-paru H-460
Jamaikamid A-C	Poliketida-peptida	Tumor paru-paru H-460
<i>Malingolida dimmer</i>	Siklopepsid	Kanker paru-paru H-460

Sumber: Dewi, I. C., dkk., 2018.

3.8. Kapasitas Antitumor dari Mikroalga Biru Hijau (*Cyanophyceae*)

Mikroalga biru-hijau adalah neurotoksin yang terkenal, dari mana banyak bioproduk aktif diisolasi. *Cryptophycin-1* yang diekstraksi dari *Nostoc sp* GSV 224, menunjukkan aktivitas anti-tumorigenik terhadap tumor padat dan garis sel tumor manusia. Selain itu telah ditemukan bahwa *Cryptophycin-8* (bentuk semi-sintetik *cryptophycin*) menunjukkan tindakan antiproliferatif *in vivo* yang lebih efisien. Tindakan senyawa ini adalah agen antitumor. Selain itu, *borophycin* adalah sumber poliketida turunan asetat lainnya yang diekstraksi dari laut, menunjukkan efek antikanker yang kuat terhadap garis sel KB dan LoVo pada manusia. *Borophycin* sitotoksitas terhadap karsinoma epidermoid manusia dan aktivitas adenokarsinoma kolorektal [1].

Cucarin-A, yang mampu menekan berbagai jenis sel tumor secara selektif seperti garis sel ginjal, usus besar, dan payudara. Aksi cucarin-A adalah dengan menghambat polimerisasi tubulin aktivitas penghambatan selektif pada garis sel kanker yang diturunkan. Berbagai strain *cyanobacterial* bentik seperti M4, 27, 30, 44, 45 *Anabaena sp.* menunjukkan dampak antitumor terhadap sel AML daripada sel non-kanker seperti sel jantung dan hati. Selain itu, yessotoxins yang diekstrak dari alga *Protoceratium reticulatum* memiliki kemampuan untuk meningkatkan kematian apoptosis dalam sel HeLa, menginduksi perubahan jaringan patologis dan fragmentasi DNA, serta perubahan potensial membran mitokondria. Calothrixins A dan B adalah alkaloid fenantridin yang diekstrak dari *Calothrix sp.* Di tingkat nanomolar, mereka memiliki efek sitotoksik terhadap sel HeLa manusia [1].

Scytonemin yang diekstraksi dari *Stigonema sp.* telah menunjukkan efek antiproliferatif terhadap berbagai bentuk fibroblas manusia dan sel endotel. Antiproliferaif memiliki peran penting dalam regulasi siklus sel dan pembelahan mitosis. Selain itu, senyawa baru *n-methyl-depsipeptide coibamide* diekstraksi dari *Leptolyngbya sp.* Senyawa tersebut mampu menginduksi kematian sel individu mTOR dan pembentukan autophagosome dalam sel-sel fibroblas embrionik tikus (MEF) dan sel-sel glioblastoma SF295 dan U87-SG manusia. Sehingga dikatakan *scytonemin* bertindak sebagai aktivitas antiproliferatif dan anti-inflamasi [1].

Coibamide-A juga menunjukkan dampak sitotoksik yang kuat terhadap garis sel kanker paru-paru NCI-H460 ketika digunakan dalam konsentrasi nanomolar. Selain itu, itu menyebabkan peningkatan regulasi sel G1 dengan cara yang bergantung pada dosis. Baru-baru ini, telah diuji terhadap 60 garis sel selektif untuk sel tumor ganas

usus besar, payudara, dan ovarium manusia. Itu juga ditemukan lebih efektif melawan garis sel MDA-MB-231 [1].

C-Phycocyanin diekstraksi dari mikroalga *Spirulina platensis*. *C-Phycocyanin* memiliki kemampuan untuk menginduksi perubahan patologis dan fragmentasi DNA, upregulate Fas dan ekspresi ICAM, downregulates ekspresi Bcl2, serta aktivasi caspase-2, -3, -4, -6, -8, -9, -10 di garis sel HeLa dan MCF7. Selain itu, ekstrak etanolik *Aphanizomenon flos-aquae* menunjukkan efek inhibitor terhadap garis sel AML pada tahap G0-G1. *Aphanizomenon flos-aquae* dan *Haematococcus pluvialis* menunjukkan efek anti-kanker yang kuat terhadap garis sel MV-4-11 dan HL-60 [1].

3.9. Aktivitas Antikanker dan Antioksidan dari Ekstrak Sembilan Spesies Mikroalga

Pada bagian ini akan dibahas aktivitas antioksidan dan antikanker dari ekstrak air untuk sembilan spesies mikroalga, yaitu delapan spesies *cyanobacteria* dan satu spesies mikroalga hijau. Delapan spesies *Cyanobacteria* yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Anabaena flos-aquae*, *Anabaena oryzae*, *Nostoc humifusum*, *Nostoc muscorum*, *Oscillatoria sp.*, *Spirulina platensis*, *Phormidium fragile*, dan *Wolleea saccate*. Sedangkan mikroalga alga hijau yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Chlorella vulgaris*. Delapan spesies *Cyanobacteria* dan satu spesies mikroalga hijau tersebut diperoleh dari *Microbiology Department, Soils, Water and Environment Research Institute (SWERI), Agriculture Research Center (ARC)*. Strain *cyanobacterial* dipertahankan pada media BG11, kecuali *Spirulina platensis* yang dibudidayakan di media Zarrouk. Sedangkan media Bold digunakan untuk kultur alga hijau *Chlorella vulgaris*. Kultur diinkubasi dalam ruang pertumbuhan di bawah pengocokan terus menerus (150 rpm) dan penerangan ($40 \mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$) pada suhu (25 ± 1) $^\circ\text{C}$ selama 30 hari. Pertumbuhan spesies alga diamati di bawah kondisi dengan parameter kerapatan optik, kandungan klorofil a, berat kering (mg/L), dan konsentrasi ion hidrogen (pH). Hasilnya menunjukkan bahwa *Spirulina platensis* mencatat laju pertumbuhan tertinggi, dengan kerapatan optik 2,5 mg/L, kandungan klorofil a 23,45 mg/L, dan berat kering 2622,4 mg/L sebagai kerapatan optik. pH *Spirulina platensis* yang teramati yaitu 10,48 [10].

Selanjutnya dilakukan analisis fitokimia metabolit sekunder alga yang larut dalam air, yaitu total fenolik, terpenoid, dan alkanoid diekstrak. Senyawa-senyawa tersebut diperoleh dari mikroalga dengan ekstraksi air atau menggunakan *aquadest*. Filtrat kultur alga yang mengandung metabolit sekunder utama yang ditentukan secara

fitokimia dirangkum pada Tabel 3.3. Metabolit ekstraktraseluler (%) dalam kultur alga menunjukkan variabilitas yang besar, di mana senyawa fenolik total tertinggi terdapat dalam *Anabaena oryzae*, *Phormedium fragile*, dan *Wallea saccata* yang nilainya masing-masing sebesar 0,0085%, 0,0078% dan 0,0074% masing-masing. Sedangkan *Nostoc muscorum* menunjukkan kandungan paling rendah, yaitu sebesar 0,0019% [10].

Tabel 3.3. Metabolit sekunder (sebagai mg/100 g) dalam filtrat alga (ekstraseluler).

Metabolit	<i>Nostoc muscorum</i>	<i>Anabaena flous aquae</i>	<i>Chlorella vulgaris</i>	<i>Oscillatoria sp.</i>	<i>Spirulina platensis</i>	<i>Anabaena oryzae</i>	<i>Wollea saccata</i>	<i>Nostoc humifusum</i>	<i>Phormedium fragile</i>
Total fenolik	1,91±0,02	4,10±0,51	2,90±0,05	4,40±0,65	4,80±0,74	8,50±1,87	7,40±0,84	3,10±0,06	7,80±0,96
Terpenoid	1,80±0,01	2,10±0,16	2,10±0,27	2,50±0,68	5,00±0,52	8,10±0,65	4,90±0,64	2,10±0,00	5,50±0,32
Alkanoid	35,00±2,60	39,00±2,98	36,00±1,64	49,00±2,65	68,00±3,61	75,00±4,95	59,00±3,94	42,00±1,66	68,00±3,74

Sumber: Shanab, S. MM dkk., 2012.

Spesies alga intraseluler yang terkandung dalam persentase yang lebih besar dari metabolit ini melaporkan metabolit ekstraseluler yang dilepaskan, *Spirulina platensis*, *Nostoc muscorum* dan *Oscillatoria sp.* mengandung total senyawa fenolik terbesar, yaitu masing-masing 0,71, 0,61 dan 0,55%. Sedangkan *Wollea saccata* menunjukkan kandungan total fenolik yang paling sedikit, yaitu 0,1% seperti yang ditunjukkan pada Tabel 3.4. Ekstrak berair dari delapan spesies alga yang diuji (kecuali *Chlorella vulgaris*, hijau alga) tidak mencatat adanya pigmen fikoeitritin terdeteksi, sedangkan fikosianin dan allofikosianin terkandung dalam spesies *cyanobacteria* yang diuji [10].

Tabel 3.4. Metabolit sekunder (sebagai%) dalam sel mikroalga yang berbeda.

Metabolit	<i>Nostoc muscorum</i>	<i>Anabaena flous aquae</i>	<i>Chlorella vulgaris</i>	<i>Oscillatoria sp.</i>	<i>Spirulina platensis</i>	<i>Anabaena oryzae</i>	<i>Wollea saccata</i>	<i>Nostoc humifusum</i>	<i>Phormedium fragile</i>
Total fenolik	1,61±0,06	0,32±0,05	0,20±0,00	0,55±0,00	0,71±0,14	0,40±0,00	0,10±0,00	0,34±0,06	0,36±0,00
Terpenoid	0,10±0,01	0,15±0,02	0,09±0,00	0,20±0,00	0,14±0,00	0,12±0,00	0,14±0,00	0,10±0,00	0,08±0,00
Alkanoid	2,30±2,60	1,90±0,03	2,45±0,05	2,62±0,15	3,02±0,06	1,60±0,14	1,50±0,04	1,65±1,66	1,80±0,25

Sumber: Shanab, S. MM dkk., 2012.

Aktivitas antioksidan dari ekstrak alga yang diuji ditentukan menggunakan metode DPPH dan ABTS. Data yang diperoleh menunjukkan bahwa metode ABTS menunjukkan aktivitas antioksidan yang lebih tinggi daripada metode DPPH. Pada metode DPPH, aktivitas antioksidan dari sembilan spesies alga yang diuji berkisar

antara 30,1% hingga 72,4% dibandingkan dengan antioksidan standar BHT (80,2%). Menggunakan metode ABTS, yang lebih sensitif daripada metode DPPH, aktivitas antioksidan berkisar antara 31,2% dan 75,9%, sedangkan standar BHT menunjukkan 85,6%. *Spirulina platensis*, *Oscillatoria sp*, *Anabaena flous-aquae*, dan *Nostoc muscorum* menunjukkan aktivitas antioksidan tertinggi, yaitu masing-masing sebesar 75,9%, 75,6%, 73,6% dan 72,8% [10].

Efisiensi antikanker dari ekstrak air alga yang diuji pada garis sel EACC dan HepG2, mencatat bahwa aktivitas antikanker berkisar antara 15,68% hingga 87,25% dalam kasus garis sel EACC dan dari 9,5% hingga 89,4% menggunakan garis sel HepG2. Ekstrak air *Nostoc muscorum* mencatat aktivitas antikanker tertinggi di kedua lini sel, yaitu 87,25% dalam kasus EACC dan 89,4% dalam kasus HepG2, yang diikuti oleh *Oscillatoria sp*. sebesar 67,40% dan 77,8% masing-masing pada garis sel EACC dan HepG2 [10].

Aktivitas antioksidan spesies *cyanobacterial* yang tertekan nitrat (*Nostoc muscorum* dan *Oscillatoria sp*.) diuji menggunakan metode DPPH dan ABTS. Data yang diperoleh menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi nitrat menyebabkan peningkatan aktivitas antioksidan pada kedua metode dan penurunan konsentrasi nitrat terutama menurunkan aktivitas antioksidan yang kemudian secara progresif meningkat pada konsentrasi nitrat terendah atau kelaparan. Metode ABTS menunjukkan aktivitas antioksidan yang lebih rendah dibandingkan metode DPPH pada kedua spesies *cyanobacterial* [10].

Efisiensi antikanker yang diberi stres nitrat *Nostoc muscorum* dan *Oscillatoria sp*. diuji terhadap garis sel EACC dan HepG2. Spesies *cyanobacterial* yang menjanjikan, *Nostoc muscorum* dan *Oscillatoria sp*. menginduksi antioksidan tertinggi (dengan metode DPPH dan ABTS) dan aktivitas antikanker (menggunakan garis sel EACC dan HepG2) yang mungkin dikaitkan dengan kandungan besar pigmen fikobiliprotein total bersama dengan kandungan metabolit sekunder yang lebih tinggi (senyawa fenolik, terpenoid, alkaloid) [10].

Dari data penelitian diatas, dilaporkan bahwa *Cyanobacteria Spirulina platensis* menunjukkan aktivitas antioksidan yang lebih tinggi, yaitu masing-masing 69,3%, 75,9% dengan metode DPPH dan ABTS dan efisiensi antikanker sedang, yaitu masing-masing 60,67 dan 54,8% terhadap EACC dan HepG2 yang mungkin disebabkan oleh kandungan pigmen phycobiliprotein total, dan metabolit sekunder yang sangat banyak diproduksi. Peningkatan konsentrasi nitrat dalam media kultur dari kedua spesies

Cyanobacteria (*Nostoc muscorum* dan *Oscillatoria sp.*) menyebabkan peningkatan yang nyata dalam produksi fikobiliprotein yang dalam aktivitas antioksidan pada kedua spesies yang diteliti. Sementara penurunan kandungan nitrat, mengakibatkan produksi pigmen fikobilin menurun pada kedua spesies [10].

Perlu diketahui, bahwa terjadi efek sinergis antara metabolit sekunder yang bersifat polar terutama senyawa fenolik dengan polisakarida dalam aktivitas antioksidannya. Sehingga meningkatkan konsentrasi nitrat dan konsekuen peningkatan produksi pigmen fikobilin, memiliki peran utama dalam meningkatkan aktivitas antioksidan. Penurunan konsentrasi nitrat, diikuti oleh penurunan yang jelas pada pigmen fikobilin dan bahkan tidak adanya salah satu konstituennya pada kelaparan nitrat. Aktivitas antioksidan pada kedua spesies dengan kedua pengujian tampaknya tidak terpengaruh dibandingkan dengan kontrol (1,5 g/L nitrat). Dalam kondisi stres, diketahui bahwa penyimpangan jalur metabolisme dapat terjadi. Penurunan kandungan nitrat menyebabkan kondisi stres dan tidak hanya penurunan senyawa kerangka nitrogen sebagai produksi pigmen fikobilin, tetapi peningkatan senyawa kerangka karbon (sebagai fenolat) sebagai akibat dari perubahan metabolisme di bawah kondisi stres ini. Jadi pada penurunan kandungan nitrat, aktivitas antioksidan tetap pada tingkat yang sebanding atau bahkan lebih tinggi dari kontrol karena efek sinergis dari pigmen fikobilin dan senyawa fenolik yang dihasilkan secara berlebihan dalam kondisi stres nitrat yang memiliki potensi redoks tinggi [10].

3.10. Skrining Bioaktivitas 32 Spesies Mikroalga untuk Aktivitas Antioksidan, Antiinflamasi, dan Antikanker

Lauritano, C. dkk. melakukan studi skrining ekstrak kasar dari 32 spesies mikroalga (21 diatom, 7 dinoflagelata, dan 4 flagelata) untuk kemungkinan aktivitas antioksidan, antiinflamasi, dan antikankernya. Ke 32 spesies tersebut ditanam dalam tiga kondisi kultur yang berbeda, yaitu pada medium normal, pada medium yang mengalami penurunan ketersediaan nitrogen (*nitrogen starvation*), dan pada medium yang mengalami penurunan ketersediaan fosfatnya (*phosphate starvation*). Stres oksidatif adalah penyebab utama peristiwa inflamasi yang terlibat dalam sejumlah besar penyakit seperti, kanker, diabetes, neurodegeneratif, dan penyakit kardiovaskular). Potensi antioksidan mikroalga dievaluasi menggunakan dua pengujian yang berbeda, Aktivitas Antioksidan Peroksidasi Lipid Seluler (CLPAA) dan Pengujian Aktivitas Antioksidan Seluler (CAA). Stres oksidatif dianggap sebagai

faktor penting dalam perkembangan peradangan dan kanker. Dalam penelitian ini, aktivitas antiinflamasi mikroalga diskriminasi dengan mengevaluasi kemampuan untuk menghambat pelepasan faktor nekrosis tumor (TNF- α), salah satu efektor utama peradangan, pada lipopolisakarida (LPS)-stimulated sel leukemia monositik (THP-1). Sifat antikanker dievaluasi dengan menguji aktivitas antiproliferatif terhadap sel melanoma manusia (A2058). Melanoma adalah kelainan neoplastik melanosit, terjadi pada kulit dan jaringan lunak meningen, selaput lendir, dan esofagus bagian atas. Untuk membedakan antara toksisitas dan aktivitas antikanker spesifik, ekstrak juga diuji toksisitasnya pada karsinoma hati hepatoseluler manusia (HepG2) dan sel fibroblas paru-paru manusia normal (MRC-5) [2].

Pada pengujian antioksidan, baik pada uji CLPAA dan CAA, *Ostreopsis ovata* menunjukkan sifat antioksidan tertinggi ketika ditanam di media normal, *nitrogen starvation*), dan *phosphate starvation*. *Ostreopsis ovata* yang ditanam dalam media normal menunjukkan 66% penghambatan degenerasi oksidaif dalam uji CAA dan 74% dalam uji CLPAA. *Ostreopsis ovata* yang ditanam pada media yang kekurangan nitrogen memiliki 70% penghambatan untuk CAA dan 61% untuk CLPAA. Terakhir, *Ostreopsis ovata* yang ditanam dalam media yang kekurangan fosfat menunjukkan 69% penghambatan untuk keduanya. Selain itu, *Alexandrium minutum* juga memiliki aktivitas antioksidan 100% dalam uji CLPAA. Namun, karena *Alexandrium minutum* dan *Ostreopsis ovata* menunjukkan toksisitas dalam uji sitotoksitas, kami tidak melanjutkan dengan analisis dosis-respons [2].

Dari 32 spesies yang diuji, hanya diatom yang menunjukkan biosktivitas. Hal ini menunjukkan diatom yang menunjukkan potensi menghasilkan senyawa bioaktif untuk pengobatan penyakit manusia. Selain itu, dari 32 spesies yang diuji, tiga spesies menunjukkan sifat antiinflamasi (*Cylindrotheca closterium*, *Odontella mobiliensis*, dan *Pseudo-nitzschia pseudodelicatissima*) dan satu lainnya menunjukkan aktivitas antikankernya (*Skeletonema marinoi*). Peradangan adalah respon protektif yang melibatkan sel imun, pembuluh darah, dan mediator molekuler yang berbeda seperti, TNF α , IL1, oksida nitrat, dan prostaglandin). Potensi anti-inflamasi dari 32 spesies untuk menghambat pelepasan TNF α dalam sel THP-1 leukemia monositik akut yang diobati dengan LPS dievaluasi. Hasilnya menunjukkan bahwa aktivitas untuk tiga diatom *Cylindrotheca closterium*, *Odontella mobiliensis*, dan *Pseudo-nitzschia pseudodelicatissima* menggunakan protokol yang sama. Menariknya, *Cylindrotheca closterium*, *Odontella mobiliensis*, dan *Pseudo-nitzschia pseudodelicatissima* hanya

aktif jika ditumbuhkan dalam media normal, dan tidak aktif saat ditumbuhkan dalam kondisi kekurangan nutrisi yaitu, media yang kekurangan nitrogen dan fosfat. Hal ini menunjukkan bahwa dalam kondisi stres, seperti kekurangan nutrisi, spesies ini tidak akan menghasilkan senyawa/senyawa yang bertanggung jawab untuk aktivitas ini/atau mereka menghasilkan jumlah yang sangat rendah. Salah satu klon dari spesies *Skeletonema marinoi* menunjukkan aktivitas antikanker pada sel melanoma A2058 manusia, tetapi hanya jika dibiakkan dalam kondisi kekurangan nitrogen [2].

Kesimpulannya, hasil yang dilaporkan dalam penelitian ini menunjukkan tidak adanya korelasi antara bioaktivitas dan kelas mikroalga tertentu atau kondisi kultur tertentu. Ketika parameter kultur dimodifikasi, organisme yang sama dapat menunjukkan bioaktivitas yang berbeda dan menghasilkan metabolit yang beragam [2].

3.11. Aktivitas Antikanker Ekstrak Mikroalga pada Kanker Osteosarcoma (Mg-63)

James, J. dan Thomas, J. melakukan penelitian untuk menilai efek antikanker ekstrak alga limnic KACC 2 (*Karunya Algae Culture Collection*) dan KACC 23 terhadap garis sel kanker osteosarcoma MG-63. Ekstraksi senyawa bioaktif dari kultur alga dilakukan dengan metode ekstraksi Soxhlet menggunakan pelarut methanol. Dimana kultur alga dihancurkan terlebih dahulu, kemudian dimasukkan ke dalam bidal di ekstraktor *Soxhlet* dan kemudian ditambahkan pelarut metanol sebanyak 250 ml. Ekstraksi berlangsung selama delapan refluks, Ekstrak direduksi hingga hampir kering dalam rotavapor di bawah tekanan tereduksi. Kemudian dilakukan pengujian pada ekstrak kering terkait aktivitas antikanker, konstituen yang terkandung, dan kandungan total fenoliknya [11].

Aktivitas antikanker dilakukan menggunakan uji MTT untuk mengukur viabilitas dan proliferasi sel dan dengan demikian digunakan untuk menentukan aktivitas sitotoksik berbagai obat. Viabilitas sel berkurang dengan meningkatnya konsentrasi. Konsentrasi ekstrak yang lebih tinggi menunjukkan aktivitas antikanker yang lebih kuat. Nilai LD₅₀ untuk kedua ekstrak alga yaitu masing-masing 0,386 µl/ml dan 0,285 µl/ml untuk KACC 2 dan KACC 23. Sehingga dapat dikatakan bahwa aktivitas antikanker ekstrak, baik KACC 2 dan KACC 23 meningkat dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak [11].

Analisis GC-MS dari ekstrak alga mengungkapkan kelimpahan relatif berbagai senyawa yang ada dalam ekstrak. Senyawa diperiksa untuk setiap aktivitas terapeutik

yang dilaporkan dengan mengacu pada data yang tersedia, yang dirangkum pada Tabel 3.5 [11].

Tabel 3.5. Sifat terapeutik senyawa yang diperoleh dari ekstrak alga KACC 2 dan KACC 23 yang diidentifikasi menggunakan GC-MS.

Senyawa	Aktivitas yang mungkin
<i>Dimethyl sulfoxide</i>	Aktivitas anti-inflamasi, antioksidan, dan analgesik.
<i>Isochiapin B</i>	Antikanker usus besar
<i>Flurandrenolide</i>	Sifat anti-inflamasi dan anti-alergi
<i>Quercetin 7,3',4'-trimethoxy</i>	Penghambatan BCRP manusia yang diekspresikan dalam sel MDCK2
<i>Quercetin 7,3',4'-trimethoxy</i>	Penghambatan BCRP manusia yang diekspresikan dalam sel MDCK2
<i>Trilinolein</i>	Aktivitas antioksidan, anti-aritmia
<i>Epoxygedunin</i>	Antimalaria, sitotoksik terhadap garis sel kb
<i>Giberelin A19 methyl ester</i>	Aktivitas sitotoksik
<i>Epoxygedunin</i>	Antimalaria, sitotoksik terhadap garis sel kb
<i>Stigmast-4-en-3-one (CAS)</i>	Sifat antikarsinogenik dan antiaterogenik, antiinflamasi
<i>Kolest-4-en-3-one</i>	Aktivitas sitotoksik
<i>7-Oxogedunin</i>	Antimalaria, antitumor, antiplasmodial, sitotoksik terhadap sel L6 tikus
<i>Triamcinolone acetonide</i>	Uji sitotoksitas
<i>Astaxanthin</i>	Antiradikal anti plasmodial
<i>Triamcinolone acetonide</i>	Aktivitas immunosupresif dan anti-inflamasi.
<i>Prednisolon hemisuksinat</i>	Aktivitas anti-inflamasi

Sumber: James, J. dan Thomas, J., 2109.

Senyawa seperti DMSO, *isochiapin B*, *flurandrenolide*, *trilinolein*, *epoxygedunin*, dan *Stigmast-4-en-3-one* (CAS) telah dilaporkan memiliki sifat antikarsinogenik selain berbagai efek terapeutik lainnya. *Cholest-4-en-one* yang diperoleh dari ekstrak KACC 2 telah ditemukan memiliki aktivitas sitotoksik. *7-oxogedunin* memiliki aktivitas antimalaria, antitumor, dan antiplasmodial. Telah dilaporkan memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel tikus L6. Senyawa *triamcinolone acetonide* yang diperoleh dari ekstrak KACC 2 dilaporkan memiliki aktivitas sitotoksik [11].

Astaxanthin yang ditemukand dari ekstrak KACC 2 memiliki aktivitas antiradikal dan antiplasmodial. Prednisolon hemisuksinat telah diketahui memiliki

aktivitas antiinflamasi dan ekstrak dari KACC 2 ditemukan memiliki senyawa tersebut. 7,3',4'-*trimethoxy* ditemukan menghambat protein resistensi kanker payudara dalam sel MDCK2. Senyawa tersebut adalah polifenol dan ditemukan dalam kedua ekstrak alga [11].

Polifenol diketahui memiliki aktivitas antikanker. Estimasi polifenol dilakukan untuk mengkonfirmasi keberadaan polifenol, serta untuk memperkirakan jumlah polifenol dalam ekstrak. Sehingga dapat membuktikan bahwa ekstrak tersebut memiliki aktivitas antikanker karena ketersediaan polifenol. Estimasi polifenol menggunakan FCR mengungkapkan jumlah polifenol di KACC 2 dan KACC 23 masing-masing sebesar 53% dan 67,7%. Hal ini dapat mendukung klaim bahwa ekstrak metanol dari dua ganggang, KACC 2 dan 23, memiliki aktivitas antikanker [11].

3.12. Nanicarrier Berbasis Diatom dalam Terapi Kanker

Obat anti kanker yang umum digunakan dapat menghambat sintesis DNA dan memiliki aktivitas antimetabolit. Namun, tantangan utama dalam terapi kanker adalah dampak obat antikanker pada sel dan jaringan normal. Nanopartikel (NP) dianggap sebagai sistem pembawa yang efektif untuk pengiriman obat tertentu ke sel tumor. Menggunakan NP sintetis untuk pengiriman obat antikanker merupakan pendekatan penting untuk peningkatan efektivitas kemoterapi. Namun, bahan-bahan ini mungkin beracun dan memiliki beberapa kerugian lingkungan. Dalam beberapa dekade terakhir, penggunaan NP silikon biodegradable atau (SiNPs) telah diganti dengan mikroalga, yang memiliki manufaktur hemat biaya dan toksisitas rendah. Dalam sebuah penelitian, digunakan metode perpindahan gas-padat untuk konversi frustula menjadi SiNP, sementara juga menggunakan SiNP yang dimuat dengan DOX untuk terapi kanker. Temuan penelitian tersebut menunjukkan bahwa efek sitotoksik DOX-SiNPs lebih unggul daripada DOX bebas [5].

Beberapa senyawa yang berasal dari mikroalga telah menunjukkan sifat anti-kanker dan merupakan pilihan yang layak untuk terapi kanker. Namun demikian, obat antikanker berbasis senyawa alami seperti *camptothecin*, memiliki kelarutan air yang buruk. Enkapsulasi *camptothecin* menjadi NP telah dilaporkan meningkatkan kelarutannya, meningkatkan waktu paruhnya dalam aliran darah, dan menyebabkan akumulasi obat yang lebih baik dalam jaringan kanker [5].

Senyawa bioaktif alga biru-hijau dapat menginduksi apoptosis dan mengaktifkan keluarga protein kinase-c pada sel kanker. Menggunakan sistem penghantaran obat dianggap sebagai pendekatan yang efektif untuk mengurangi toksisitas dan meningkatkan kemanjuran terapi obat, terutama dalam terapi kanker. Seperti disebutkan sebelumnya, NP silika diatomit (DSN) adalah kandidat yang tepat untuk terapi kanker. DSNs juga *nanocarriers* efisien untuk penyerapan molekul antikanker ke dalam sitoplasma sel karsinoma epidermoid manusia. Saat ini, pembawa pengiriman seperti liposom dan nanopartikel polimer diterapkan dalam kemoterapi, dan dua atau lebih obat dapat digunakan sebagai pengiriman obat ganda. Misalnya, DOX dan *paclitaxel* (PTX) telah menunjukkan interaksi sinergis dalam pengobatan tumor padat ketika konsentrasi DOX lebih tinggi dari PTX. Khususnya, partikel *diatomaceous earth* (DE) sesuai untuk pelepasan terkontrol dari obat-obatan ini karena sintesis dan perakitannya yang mudah. Nanopartikel diatom biofungsional (DNPs) digunakan untuk studi pemuatan dan pelepasan obat dari sorafenib, obat antikanker yang tidak larut dalam air. Mereka menemukan DNP yang difungsikan dengan ATPES(3-*Aminopropyl*) *triethoxysilane* dan PEG menunjukkan serapan seluler yang sangat baik dan profil pelepasan obat yang lebih baik. Kurkumin memiliki sifat antioksidan, anti-inflamasi, dan antikanker. Sementara itu, penggunaan kurkumin untuk tujuan terapeutik dikaitkan dengan keterbatasan seperti dimerasi yang cepat, bioavailabilitas yang rendah, dan penyerapan yang buruk. Diatom alami yang dimodifikasi dengan polidopamin adalah pembawa yang efisien untuk pengiriman kurkumin dalam terapi kanker. Menurut penelitian, diatom yang dibawa dengan NP oksida besi dapat digunakan sebagai pembawa untuk pengiriman molekul kecil dan obat-obatan dengan mengendalikan medan magnet eksternal dengan sifat magnetiknya. Pada pH spesifik saluran gastrointestinal (GI), kompleks ini menempel pada sel kanker kolorektal HCT-116, dan obat antikanker dilepaskan secara perlahan di bawah penyinaran cahaya, sehingga meningkatkan sitotoksitas terhadap HCT-116 dua kali lipat. Di sisi lain, diatom bebas telah menunjukkan sitotoksitas yang sangat rendah terhadap Caco-2, HT-29, dan HT-116 (sel kanker usus besar), sehingga meningkatkan pelepasan berkelanjutan dan permeasi mesalamine dan prednison di saluran GI [5].

Mikropartikel silika diatom telah digunakan untuk pengiriman obat dalam pengobatan penyakit GI. *Mesalamine* dan *prednison* memiliki pelepasan berkepanjangan pada gangguan GI. Selain itu, permeabilitas obat di seluruh sel Caco-

2/HI-29 telah dilaporkan meningkat, dan partikel-partikel ini dianggap sebagai kandidat yang tepat untuk pengobatan kanker usus besar. NP diatomit juga efektif dalam pengangkutan siRNA di dalam sel kanker epidermoid manusia (H1355) untuk membungkam ekspresi gen. *Nanocarrier* ini juga dapat dimuat dengan satu atau lebih molekul yang berbeda dan meningkatkan pengiriman biomolekul antitumor dan obat-obatan [5].

Scytonemin mengatur pembentukan kinase dan mengontrol siklus sel, oleh karena itu, ia memiliki aktivitas penghambatan terhadap sel-sel endotel manusia. *Calothrixin B* adalah produk dari *calothrix* dan memiliki aktivitas antiproliferatif terhadap sel kanker usus besar HCT-11. *Calothrixin B* diperoleh dari *calothrix*, *malyngamides* berasal dari *Lyngbya majuscula*, *merocyclophanes A* dan *B* diperoleh dari *Nostoc sp.*, dan *hierridin B* berasal dari *Cyanobacterium sp.*, yang semuanya memiliki efek sitotoksik terhadap sel kanker usus besar [5].

3.13. Rekayasa Genetika Mikroalga

Produksi senyawa berharga dalam jumlah yang cukup, terutama produksi produk baru yang tidak dapat diproduksi oleh mikroalga tipe liar, tidak dapat dilakukan tanpa perbaikan strain alami. Kemungkinan risiko dan dampak lingkungan dari setiap mikroalga rekayasa genetika harus diperkirakan sebelum penggunaan industri.

Rekayasa genetika mikroalga membutuhkan kemampuan untuk melakukan transformasi nuklir atau kloroplas permanen. Transformasi nuklir telah dilakukan untuk mikroalga yang berbeda, yaitu *Haematococcus*, *Dunaliella*, *Nannochloropsis*, *Chlamydomonas*, dan *Phaeodactylum*. Saat ini, modifikasi genetik mikroalga telah ditargetkan baik untuk fotosintesis, biosintesis lipid, atau biosintesis karotenoid. *Chlamydomonas reinhardtii* adalah mikroalga yang paling banyak dipelajari untuk rekayasa genetika, dan *Chlamydomonas* relatif mudah ditransformasi. Namun, alat pengubah genetik yang berfungsi dalam satu mikroalga mungkin tidak berfungsi di alga lain. Selain itu, baik *Phaeodactylum* dan *Chlamydomonas* memiliki sejarah panjang dalam rekayasa genetika, di mana alat genetik berfungsi paling baik pada mutan dengan struktur dinding sel spesifik, seperti kultur *Phaeodactylum* yang kekurangan silikon atau strain *Chlamydomonas* tanpa dinding. Metode elektroporasi dan biolistik adalah metode transformasi mikroalga yang paling terkenal, seperti yang ditunjukkan pada (Tabel 3.6) [1].

Tabel 3.6. Beberapa fitokimia dari berbagai sumber mikroalga dan mekanisme kerjanya.

Fitokimia dan Sumber	Konsentrasi	Mekanisme aksi	Sel yang diuji	Status perkembangan klinis
<i>2-Pentadecanone 6 Chlorella vulgaris</i>	100 µg/ml	Aksi antiproliferatif	Sel kanker payudara MCF7	Penghambatan pertumbuhan sel tumor (MCF7)
<i>Apratoxin-A Lyngbya majuscula</i>	3,0 mg/kg	Menghambat berbagai garis sel kanker Sitotoksitas terhadap adenokarsinoma	Adenokarsinoma usus besar dan mammae	Efektif melawan tumor usus besar dan tidak efektif melawan tumor mammae
<i>Coibamide-A Leptolyngbya sp.</i>	300 ng/mL	Sitotoksik terhadap NCIH460 manusia	NCIH460 paru-paru	Sitotoksitas terhadap sel neuro-2a paru-paru dan tikus NCIH460
<i>Karotenoid Chlorella ellipsoidea</i>	40,73 µg/mL	Aktivitas antitumor	Karsinoma usus besar (HCT-116)	Meningkatkan intensitas fluoresensi populasi sel apoptosis awal dalam sel HCT116
<i>Fukoidan Fukus vesiculosus</i>	10-25 mg/kg	Stimulasi produksi TNF dan aktivitas fagositosis	Adenokarsinoma paru Lewis	Pameran efek toksik dan menyebabkan kematian beberapa hewan pembawa tumor
<i>Fukosantin U. pinnatifida</i>	11.3 µM dan 45.2 µM	Agen kemoterapi pada kanker	Sel leukemia HL-60 manusia	Kelangsungan hidup sel HL-60 menurun
<i>Largazole Symploca sp.</i>	7,7 nM	Aktivitas antiproliferatif	Sel epitel payudara manusia (MDA-MB-231)	Penghambatan pertumbuhan transformasi MDA-MB-231 yang sangat invasif
<i>Scytonemin Stigonema sp.</i>	1-30 µM	Aktivitas antiproliferatif dan anti-inflamasi	Sel T Jurkat	Penghambatan proliferasi sel T Jurkat
<i>Simplostatin Symploca hidnoides</i>	3 mg/kg	Aktivitas antitumor	Sel usus besar tikus	Penghambatan pertumbuhan tumor pada tikus C57 B1/6
<i>C-Phycocyanin Spirulina platensis</i>	50, 100, 150, 200, 250 µg/ml	Aktivitas anti-kanker melalui jalur pensinyalan MAPK dalam sel MDA-MB-231	Sel MDA-MB-231	Penghambatan proliferasi sel dan mengurangi kemampuan pembentukan koloni sel MDA-MB-23
<i>Curacin-A Lyngbya aestuarii</i>	100-300 µg/mL	Aktivitas antitumor	Sel HT29 dan HepG2	Garis sel karsinoma hepatoseluler HEPG2, garis sel adenokarsinoma usus besar HT-29

Fitokimia dan Sumber	Konsentrasi	Mekanisme aksi	Sel yang diuji	Status perkembangan klinis
<i>Calothrixin A</i> <i>Calothrix sp.</i>	0,3 μ M	Pembunuhan sel kanker manusia (Jurkat)	Sel Jurkat	Membunuh sekitar 18% sel dalam 24 jam

Sumber: El-Hack, M. E. A. dkk., 2019

Chlorella pyrenoidosa adalah spesies yang dipelajari secara ekstensif yang telah digunakan sebagai sumber lipid dan protein mikroalga komersial. Banyak penelitian alga genetik berfokus pada lipid, dimana rekayasa genetika mikroalga telah diarahkan pada metabolisme alga mengenai penyimpanan dan produksi lemak. Baru-baru ini, rekayasa genetika gen nuklir eukariotik telah diperbarui dengan metode CRISPR/Cas9 sebagai alat pengeditan genom. CRISPR/Cas9 memungkinkan merobohkan gen spesifik dan produksi mutasi spesifik lokasi gen nuklir. Selain itu, CRISPR/Cas9 dapat ditargetkan untuk gen mitokondria non-nuklir. Namun, penggunaan metode CRISPR-cas9 yang tepat membutuhkan metode transformasi yang sempurna untuk setiap organisme. Meskipun CRISPR/Cas9 saat ini hanya berlaku untuk kultur sel mamalia, tidak ada alasan khusus di balik tidak efisiennya organisme yang ditransformasikan melalui alat pengeditan gen ini. Sistem CRISPR-Cas9 memiliki beberapa keterbatasan termasuk, pembelahan DNA di luar target, dan masalah untuk pengiriman CRISPR yang ditimbulkan oleh ukuran protein yang besar serta aktivitas nuklease Cas9 [1].

DAFTAR PUSTAKA

- [1] *El-Hack, M. E. A. et al.*; 2019; *Microalgae in Modern Cancer Therapy: Current Knowledge; Biomedicine & Pharmacotherapy* 111; 42-50.
- [2] *Lauritano, C., et al.*; 2016; *Bioactivity Screening of Microalgae for Antioxidant, Anti-Inflammatory, Anticancer, Anti-Diabetes, and Antibacterial Activities; Frontiers in Marine Science*, Vol. 3, No 68; 1-12.
- [3] *Andrade, K. A. M., Lauritano, C., Romano, G. Ianora, A.*; 2018; *Marine Microalgae with Anti-Cancer Properties; Marine Drugs* Vol. 16 No. 165; 1-17.
- [4] *Zhuang, D., He N., Shiong Khoo, K., Ng, E.P., Chew, K. W., Ling, T. C.*; 2022; *Application Progress of Bioactive Compounds in Microalgae on Pharmaceutical and Cosmetics; Chemosphere* 291; 1-11.
- [5] *Khavari, F., Saidijam M., Taheri M., Nouri F.*; 2021; *Microalgae: Therapeutic Potentials and Applications; Molecular Biology Reports* 48; 4757–4765.
- [6] *Kumar, R., A. S., Hegde, Sharma, K., Parmar, P., Srivatsan, V.*; 2020; *Microalgae as A Sustainable Source of Edible Proteins and Bioactive Peptides – Current Trends and Future Prospects; Food Research International* 157; 1-22.
- [7] *Corrêa, P. S., Júnior, W. G. M., Martins, A. A., Caetano, N. S., Mata, T. M.*; 2021; *Microalgae Biomolecule: Extraction, Separation, and Purification Methods; Processes*, Vol. 9, No. 10; 1-43.
- [8] *Hu, Y. Bassi, A.*; 2020; *Chapter 11-Extraction of Biomolecules from Microalgae; Handbook of Microalgae-Based Processes and Product*; 283-303.
- [9] *Dewi, I. C., Falaise, C., Hellio, C., Bourgougnon, N., Mouget. J.L.*; 2018; *Chapter 12-Anticancer, Antiviral, Antibacterial, and Antifungal Properties in Microalgae; Microalgae in Health and Disease Prevention*; 235-261.
- [10] *Shanab, S. M. M., Mostafa, S. S. M., Shalaby, E. A., Mahmoud, G. I.*; 2012; *Aqueous Extracts of Microalgae Exhibit Antioxidant and Anticancer Activities; Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 608; 608-615.
- [11] *James, J., Thomas, J.*; 2019; *Anticancer Activity of Microalgae Extract on Human Cancer Cell Line (Mg-63); Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research* Vol. 12, Iss. 1; 139-142.

ISBN 978-623-389-154-7

