



## REVIEW : PENGARUH MODIFIKASI NUTRISI MEDIA KULTUR *Dunaliella salina* TERHADAP AKTIVITAS SITOTOKSIK ANTIKANKER

Indra Topik Maulana

Program Studi Farmasi, FMIPA, Universitas Islam Bandung

### Info Article

**Submitted :**

21 Mei 2021

**Revised :**

06 Juli 2021

**Accepted :**

22 Juli 2021

**Corresponding Author :**

Indra Topik Maulana

**Email :**

[indra.topik@gmail.com](mailto:indra.topik@gmail.com)

### ABSTRAK

*Dunaliella salina* merupakan mikroalga *halotolerant* yang mampu bertahan dan tumbuh pada kondisi lingkungan yang ekstrim. Upaya *D. salina* untuk bertahan adalah dengan meningkatkan produksi senyawa karotenoid serta senyawa lainnya. Tingkat salinitas yang tinggi, defisiensi nitrogen, serta pengaruh suhu dan pencahayaan terbukti memberikan pengaruh terhadap pertumbuhan *D. salina* serta meningkatkan produksi  $\beta$ -karoten. Tingginya kadar  $\beta$ -karoten memiliki hubungan erat terhadap peningkatan aktivitas sitotoksik *D. salina* terhadap sel kanker. Beberapa penelitian telah membuktikan (baik melalui uji invitro maupun invivo) bahwa *D. salina* baik yang dikultur pada media normal maupun hasil modifikasi mampu menghambat pertumbuhan sel kanker melalui beragam mekanisme. 9-Cis-  $\beta$ -Carotene (9C $\beta$ C) merupakan jenis  $\beta$ -karoten yang banyak diproduksi secara alami oleh *D. salina* dan terbukti memiliki aktivitas sitotoksik lebih baik dibandingkan dengan  $\beta$ -karoten sintetik yang memiliki bentuk geometri All Trans  $\beta$ -Carotene (AT $\beta$ C). Meskipun memiliki aktivitas sitotoksik, namun *D. salina* tetap aman dan selektif dalam menghambat pertumbuhan sel.  
**Kata kunci:** Antikanker, *D. salina*, Media kultur, Sitotoksik

### Access this article



### ABSTRACT

*D. salina* is a halotolerant microalga that can survive and grow in stress environmental conditions. *D. salina*'s efforts to survive were by increasing the production of carotenoid compounds and other compounds inside. The High salinity levels, nitrogen deficiency, as well as the influence of temperature and lighting have been shown to have an effect on the growth of *D. salina* and increased the production of  $\beta$ -carotene. High levels of  $\beta$ -carotene have a close relationship to increase *D. salina* cytotoxicity activity against cancer cells. Several studies have proven (both through invitro and invivo tests) that *D. salina*, whether cultured on normal or modified media, can inhibit the growth of cancer cells throughout several mechanisms. 9-Cis-  $\beta$ -Carotene (9C $\beta$ C) was a type of  $\beta$ -carotene that mostly produced naturally by *D. salina* and was shown to have better cytotoxic activity compared to synthetic  $\beta$ -carotene in the form of All-Trans  $\beta$ -Carotene (AT $\beta$ C). Despite having cytotoxic

activity, *D. salina* remains safe and selective in inhibiting cell growth.

**Keywords:** *Anticancer, D. salina, Culture media, Cytotoxic*

## 1. PENDAHULUAN

Kanker merupakan salah satu penyakit tidak menular yang paling ditakuti oleh seluruh masyarakat dunia. Di Indonesia, jumlah penderita kanker meningkat selama satu dekade terakhir bahkan telah menjadi salah satu penyebab utama kematian (Purnamasari, 2018). Berdasarkan data *American Institut for Cancer Research*, kanker paru, kanker payudara, kanker kolorektal, dan kanker prostat menduduki lima urutan tertinggi hingga tahun 2018 (WCRF, 2018). Adapun kanker payudara merupakan salah satu jenis kanker dengan prevalensi tertinggi yang diderita perempuan di dunia bahkan di Indonesia. Pada tahun 2018 sebanyak 16,956 orang menderita kanker payudara dan sebanyak 2,253 orang berpotensi mengidap kanker payudara (Kemenkes RI, 2019).

Mikroalga laut merupakan salah satu alternatif bahan alam yang dapat digunakan sebagai suplemen pendamping terapi kanker (Dewi *et al.*, 2018). Suplemen bahan alam diketahui memiliki banyak kandungan senyawa metabolit yang dapat mendukung proses terapi kanker. Mikroalga mengandung beragam senyawa aktif yang sangat potensial menunjang proses terapi kanker. Mikroalga juga mudah dikultur, memiliki waktu regenerasi yang pendek, serta ramah lingkungan (Lauritano *et al.*, 2016). *D. salina* merupakan salah satu jenis mikroalga hijau yang telah banyak diteliti pengaruhnya terhadap sel kanker. Hal

tersebut sangat berkaitan erat dengan kemampuan *D. salina* untuk memproduksi senyawa karotenoid, bahkan produksinya paling tinggi dibandingkan mikroalga lainnya (Ahmed *et al.*, 2014). Oleh karena itu, *D. salina* saat ini menjadi sumber  $\beta$ -karoten alami terbaik di dunia.

$\beta$ -karoten merupakan senyawa tetraterpenoid (karotenoid) yang dibentuk melalui jalur biosintesis *1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate* (DXP) atau juga dikenal *2-C-methyl-D-erythritol* (MEP) (Dewick, 2009), yang aktif sebagai antioksidan kuat sehingga berperan penting mencegah terjadinya kanker. *D. salina* diketahui memproduksi dua jenis  $\beta$ -karoten yaitu *9-cis- $\beta$ -carotene* (9C $\beta$ C) dan *all-trans- $\beta$ -carotene* (AT $\beta$ C) yang keduanya merupakan stereoisomer (Chiu *et al.*, 2017). 9C $\beta$ C sangat langka karena sulit untuk disintesis secara kimia dibandingkan dengan AT $\beta$ C (Harvey and Ben-Amotz, 2020).

Kondisi media kultur *D. salina* seperti variasi suhu, nutrisi, intensitas cahaya, dan salinitas sangat mempengaruhi produksi  $\beta$ -karoten dan beberapa senyawa penting lainnya. Hal tersebut juga berpengaruh terhadap aktivitas sitotoksik *D. salina*. *Dunaliella* diketahui tidak memiliki dinding sel, tubuhnya hanya diapit oleh membran plasma yang tipis dan elastis (Olmos, Gómez and Rubio, 2015). Oleh karena itu *D. salina* akan sangat mudah beradaptasi dengan lingkungan yang ekstrim sehingga disebut sebagai alga halotoleran.

Artikel review ini bertujuan untuk menelaah terkait pengaruh modifikasi nutrisi media kultur *D. salina* terhadap aktivitas sitotoksik serta mekanisme yang terjadi terkait aktivitasnya tersebut.

## **2. METODE PENELITIAN REVIEW**

Penelitian ini dilakukan dengan menelaah jurnal – jurnal ilmiah hasil penelusuran dari sumber data jurnal ilmiah seperti PubMed, Google Scholar, Proquest, dan Science Direct.

### **2.1 Strategi Pencarian**

Jurnal ilmiah yang dipelajari dan dipilih adalah jurnal ilmiah yang dipublikasikan dari tahun 2000 hingga 2020 baik dalam bahasa Indonesia maupun bahasa Inggris. Metode pencarian dilakukan dengan menggunakan kata kunci “*Dunaliella salina*”, “nutrition of media kultur”, “cytotoxicity”, “anticancer”, “carotenoid”, dan “ $\beta$ -carotene”.

### **2.2 Seleksi Artikel**

Artikel yang dipilih adalah berupa artikel lengkap, memenuhi kriteria inklusi, serta dipublikasikan dalam bahasa Inggris ataupun bahasa Indonesia.

### **2.3 Kriteria Inklusi**

Artikel yang dipilih adalah yang memuat materi terkait dengan uji aktivitas sitotoksik *D. salina* terhadap sel kanker, pengaruh modifikasi media kultur

terhadap *D. salina* baik terhadap produksi senyawa kimia maupun terhadap aktivitas sitotoksik.

### **2.4 Kriteria Eksklusi**

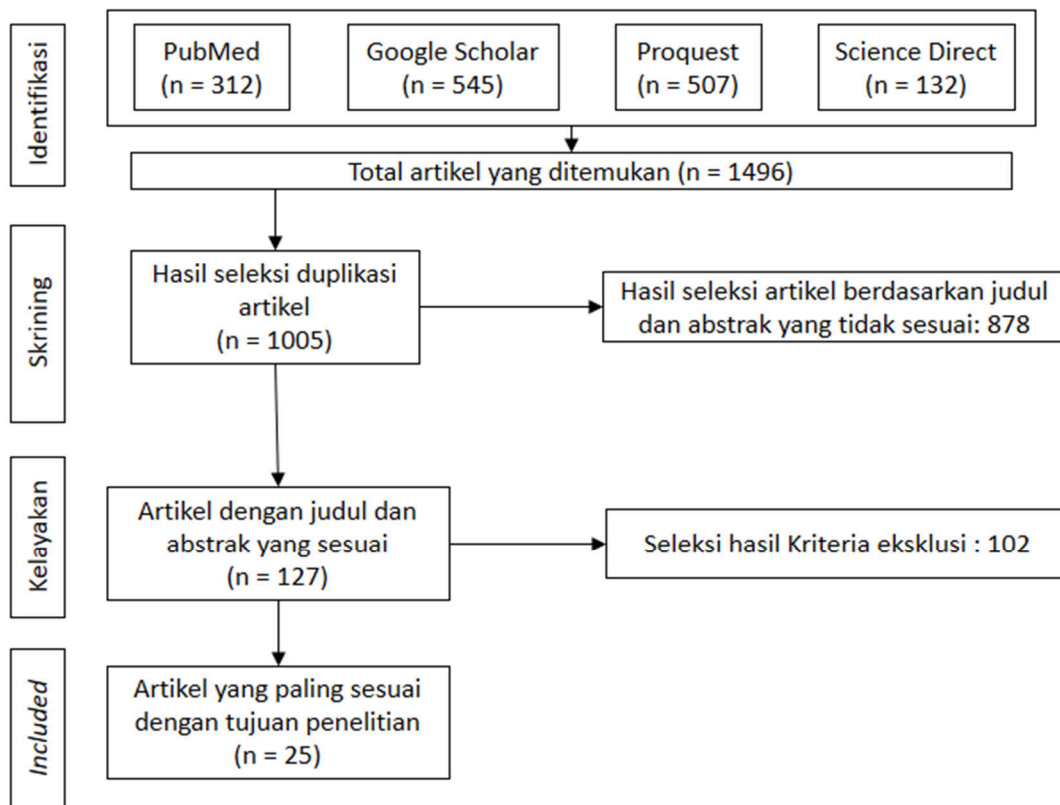
Artikel yang tidak dipilih adalah artikel yang hanya memuat informasi *D. salina* namun tidak memunculkan informasi terkait aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker ataupun pengaruh modifikasi media kultur terhadap *D. salina*. Artikel yang hanya memuat abstrak ataupun berupa review juga tidak dijadikan sebagai sumber rujukan utama.

### **2.5 Koleksi Data**

Data yang diekstrak dari setiap artikel meliputi Jenis sel kanker yang diuji, jenis media kultur normal maupun modifikasi, preparasi sampel, metode uji sitotoksitas, Indeks sitotoksitas (% CI) ataupun *Inhibition Concentration 50* (IC<sub>50</sub>) atau *Lethal Concentration 50* (LC<sub>50</sub>) ataupun *Growth Inhibition 50* (GI<sub>50</sub>).

## **3. HASIL DAN PEMBAHASAN**

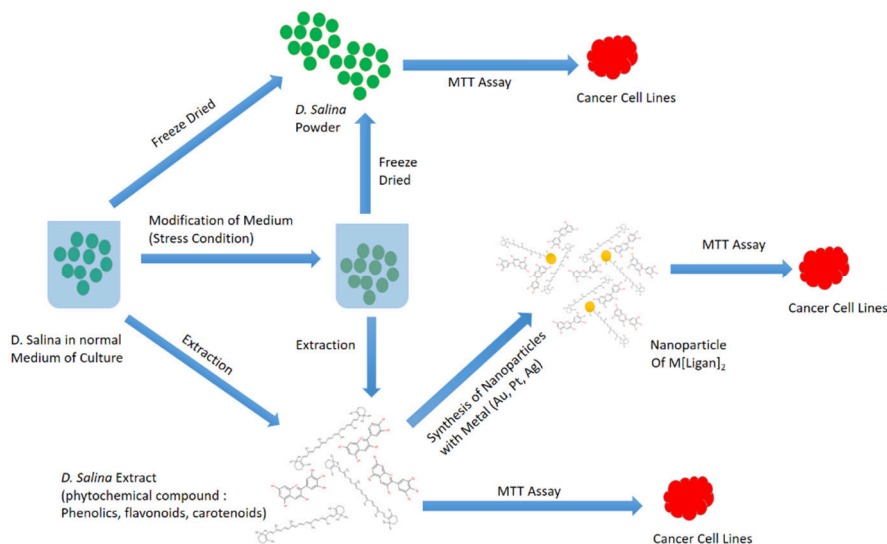
Metode seleksi artikel dilakukan mengikuti prosedur yang dilakukan oleh Saravanan *et al.*, 2020. Dari 1496 artikel yang ditemukan, hanya 25 artikel memenuhi kriteria inklusi sehingga mampu menjawab tujuan dan rumusan masalah penelitian. Data ini dapat dilihat pada **Gambar 1**.



**Gambar 1.** Bagan alir PRISMA yang digunakan pada studi ini

Penelitian aktivitas antikanker *D. salina* terhadap beragam penyakit kanker telah banyak dilakukan. Secara umum, skema penelitian terkait *D. salina* sebagai antikanker digambarkan seperti pada gambar 2. Penelitian aktivitas sitotoksik secara invitro menggunakan *Cell lines* kanker telah banyak dilakukan dan dikembangkan. *Cell line* kanker merupakan bahan yang sempurna untuk

memahami fisiologi kompleks dari sel kanker karena mudah digunakan dan fleksibel (Ravi, Ramesh and Pattabhi, 2017). *Cell line* kanker memiliki beberapa keuntungan yakni tingkat pengontrolan yang tinggi terkait variabel perlakuan saat eksperimental, reproduksibilitasnya yang baik, serta mudah tumbuh dan dimanipulasi melalui perubahan ekspresi gen (Méndez and Villanueva, 2015).



**Gambar 2.** Ragam penelitian *D. salina* sebagai antikanker menggunakan metode uji 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2-diphenyltetrazolium bromide (MTT) terhadap beberapa *Cell line* kanker.

*D. salina* secara invitro maupun invivo terbukti memiliki aktivitas sitotoksik terhadap beberapa sel kanker seperti yang tercantum pada tabel 1. *D. salina* diketahui memiliki beragam mekanisme antikanker didasarkan pada jenis kankernya, diantaranya :

- a. *D. salina* mampu menghasilkan efek antiproliferasi dengan cara menginduksi apoptosis sel dan menahan siklus sel pada fase G0/G1 (Bechelli *et al.*, 2011; Jayappriyan *et al.*, 2013), meningkatkan ekspresi *inhibitor cyclin – dependant kinase* (CDK) P53 dan P21 dan protein reseptor – kematian Fas dan FasL (Sheu *et al.*, 2008). Seperti diketahui, CDKs merupakan pengatur mekanisme transkripsi, metabolisme dan diferensiasi sel yang signifikan dalam sel eukariot yang lebih tinggi termasuk fase G1 (Wood and Endicott, 2018; Klein, 2020). Jalur CDKs merupakan salah satu target terapeutik yang menjanjikan untuk mengatasi

beragam penyakit kanker (Brighi *et al.*, 2021). Penghambatan CDKs tertentu secara selektif dapat memberikan manfaat dalam mengatasi neoplasia pada manusia (Malumbres and Barbacid, 2009).

- b. *D. salina* mampu meningkatkan aktivitas sel *Natural Killer* (Sel NK) serta aktivitas fagositosis dari makrofag (Chuang *et al.*, 2014). Sel NK tersebar di beberapa jaringan organ dan sebagian besar memiliki daya sitotoksik karena dapat mengaktifkan *natural cytotoxicity reseptors* (NCRs) (Crinier *et al.*, 2020). Sel NK dapat membunuh sel kanker serta virus penginfeksi (Male *et al.*, 2017), oleh karena itu sel NK memiliki fungsi sebagai antitumor dan antivirus.
- c. *D. salina* mampu mengaktifkan enzim detoksifikasi yaitu enzim sitokrom P450 (CYP) dan B5 (fase 1) serta GST dan GR (fase 2) sehingga dapat mendetoksifikasi intermediet metabolit reaktif yang dihasilkan

- oleh senyawa karsinogen (Srinivasan *et al.*, 2017). CYP merupakan enzim yang berperan mendetoksifikasi xenobiotik termasuk obat – obatan, steroid, vitamin larut lemak, serta senyawa karsinogen (Manikandan and Nagini, 2017).
- d. *D. salina* mampu memblokir mekanisme perbaikan DNA melalui aktivasi *caspase-3* (CASP3) sehingga mencegah perbaikan sel PARP-1 yang mengalami pembelahan, sehingga memicu apoptosis (Jayappriyan *et al.*, 2013; Elleuch *et al.*, 2020). CASPs merupakan keluarga *cystein protease* yang berperan penting pada siklus kematian sel terprogram dan proliferasi sel (Khalilzadeh *et al.*, 2018). CASPs berperan menginisiasi terjadinya apoptosis sel (Crowley and Waterhouse, 2016; Suresh *et al.*, 2019). CASP3 sebagai mediator apoptosis diaktivasi oleh adanya paparan obat sitotoksik, saat kemoterapi, radioterapi atau imunoterapi (Huang *et al.*, 2011; Zhou *et al.*, 2018). CASP3 juga biasanya sering dijadikan sebagai marker pada efikasi terapi kanker (Zhou *et al.*, 2018).
  - e. *D. salina* mampu meningkatkan aktivitas antioksidan alami yakni SOD dan CAT khususnya pada bagian hati dan ginjal (Raja, Hemaiswarya, *et al.*, 2007; Srinivasan *et al.*, 2017). Antioksidan diketahui dapat menurunkan aktivitas radikal bebas sehingga peroksidasi lipid dapat dihambat.
  - f. *D. salina* secara signifikan mampu meningkatkan level IFN- $\gamma$  dan IL-2 serta menurunkan IL-4 dan IL-10. IFN- $\gamma$  dan IL-2 berfungsi menstimulasi limfosit dan makrofag dalam mengeliminasi patogen serta mengaktifasi NK *Cell* melawan virus dan tumor. Adapun IL-4 dapat meregulasi diferensiasi sel Th2 dan pembentukan antibodi serta menyebabkan tumor metastasis. IL-10 sendiri merupakan immunosupresan sitokin yang diproduksi dan dilepaskan dari sel tumor yang terkait dengan makrofag (Badr *et al.*, 2014; Chuang *et al.*, 2014).
  - g. Aktivitas sitotoksik yang diberikan oleh *D. salina* sangat berhubungan erat dengan adanya  $\beta$ -karoten yang tinggi.  $\beta$ -karoten juga merupakan provitamin A (prekursor utama vitamin A) (Sheu *et al.*, 2008), dimana defisiensi vitamin A diketahui memiliki keterkaitan dengan kanker (Olmos, Gómez and Rubio, 2015).  $\beta$ -karoten dapat meregulasi ekspresi gen melalui interaksi dengan reseptor inti asam retinoat (RARs) dan reseptor retinat X (RXRs) menjadi RXRs yang paling penting dan mewakili dalam tubuh manusia. Kombinasi promotor DNA *Retinoic acid respond element* (RAREs) secara ketat akan mengatur ekspresi gen melalui homo dan heterodimerisasi antara RXR $\alpha$  dan RARs, sehingga akan mengekspresikan gen secara

akurat serta menginduksi apoptosis (Olmos, Gómez and Rubio, 2015).

- h. *D. salina* juga mengandung asam palmitat, asam stearat dalam bentuk turunan esternya yang mampu menghambat pertumbuhan kanker payudara (Atasever-Arslan *et al.*, 2015), violaxanthin yang telah berhasil diisolasi dan terbukti menurunkan pertumbuhan sel kanker (Pasquet *et al.*, 2011), serta peptida hasil hidrolisis enzim *intestinal protease (trypsin and chymotrypsin)* yang aktif meningkatkan apoptosis (Darvish *et al.*, 2018).

$\beta$ -karoten yang dihasilkan oleh *D. salina* sebagian besar merupakan bentuk 9C $\beta$ C yang diketahui memiliki efek sitotoksitas lebih baik dibandingkan dengan  $\beta$ -karoten sintetik yang merupakan bentuk At $\beta$ C. Ekstrak *D. salina* yang mengandung 9C $\beta$ C terbukti

menghasilkan indeks sitotoksitas serta level apoptosis yang jauh lebih baik dibandingkan dengan  $\beta$ -karoten sintetik (AT $\beta$ C) (Olmos, Gómez and Rubio, 2015; Chiu *et al.*, 2017).

### **3.1. Pengaruh nutrisi terhadap potensi anti kanker *D. salina***

*D. salina* dikenal sebagai mikroalga *halotolerant* karena kemampuannya bertahan hidup, tumbuh dan berkembang pada kondisi lingkungan yang ekstrim (*stress condition*) (Darvish *et al.*, 2018). *D. salina* disebut juga sebagai mikroalga kolam garam yang mampu hidup pada kadar garam yang tinggi (Raja, Hema Iswarya, *et al.*, 2007). Pengkondisian media kultivasi *D. salina* sangat diperlukan untuk menginisiasi produksi metabolit yang lebih banyak serta menurunkan biaya produksi. Modifikasi nutrisi pada media kultur *D. salina* memiliki pengaruh besar terhadap produksi senyawa aktif serta potensinya sebagai antikanker seperti yang tampak pada **Tabel 2**.

**Tabel 2.** Pengaruh modifikasi media kultur *D. salina* terhadap indeks sitotoksik pada sel kanker serta terhadap konsentrasi hambat 50

| Pustaka                                | Jenis kanker                                 | Jenis perlakuan         | CI (%)          |              | IC <sub>50</sub> atau LC <sub>50</sub> µg/ml |               |
|--|--|-------------------------|-----------------|--------------|--|---------------|
|  |  |                         | Hasil perlakuan | Pembandingan | Hasil perlakuan                              | Pembandingan  |
| (Mo <i>et al.</i> , 2012)              | <i>skin carcinoma cell line (A431)</i>       | 24 jam                  | 70,24 ± 8,07    | 30,59 ± 19,1 | 15,4   | 478,6         |
|  |  | 48 jam                  | 83,37 ± 9,5     | 60,71 ± 29,6 | 0,4  | 46,4          |
| (Singh, Baranwal and Reddy, 2016)      | <i>Human breast cancer cell line (MCF-7)</i> | NaCl 3M                 | 15              | 32,5         | -  | -             |
|  |  | NaCl 3,5M               | 52,5            | 32,5         | -  | -             |
|  |  | KNO <sub>3</sub> 0 mM   | 33,75           | 35           | -  | -             |
|  |  | KNO <sub>3</sub> 250 mM | 75              | 35           | -  | -             |
|  |  | Suhu osilasi 15-25 °C   | 21,11           | 32,78        | -  | -             |
|  |  | Suhu 37 °C              | 20,56           | 32,78        | -  | -             |
| (Zamani, Rastegari and Varamini, 2019) | <i>Human Breast cancer Cell Line (MCF-7)</i> | F. stasionary           | -               | -            | 132,62 ± 5,52                                | 121,45 ± 9,26 |
|  | <i>Cell Line (MCF-7)</i>                     | F. logaritmik           | -               | -            | 194,26 ± 10,63                               | 152,14 ± 8,97 |
|  | <i>human cervix carcinoma (HeLa)</i>         | F. stasionary           | -               | -            | 113,70 ± 6,53                                | 79,83 ± 5,72  |
|  |  | F. logaritmik           | -               | -            | 157,32 ± 9,98                                | 120,67 ± 9,61 |
| (Elleuch <i>et al.</i> , 2020)         | <i>Mammary Carcinoma Cells (4T1)</i>         | 24 jam                  | 90              | 0            | 0,608 ± 0,008                                | 0,804 ± 0,046 |
|  |  | 48 jam                  | 96              | 20           | 0,149 ± 0,008                                | 0,317 ± 0,026 |
| (Olmos, Gómez and Rubio, 2015)         | <i>human Brest cancer cells (MDA-MB-231)</i> | Kons. 10 µg/ml          | 80              | 27           | -  | -             |

Peningkatan kadar garam dan pH media diketahui dapat menurunkan kecepatan pertumbuhan *D. salina*, namun mampu meningkatkan produksi β-karoten 1,46 kali lebih banyak dibandingkan kondisi normal (Mo *et al.*, 2012; Olmos *et al.*, 2015). Peningkatan kadar garam juga mengubah warna *D. salina* dari hijau menjadi merah setelah 30 hari masa kultur. Pada periode tersebut perbandingan 9CβC : AtβC adalah 70:30 (Olmos, Gómez and Rubio, 2015).

Modifikasi media kultur juga mampu meningkatkan sitotoksitas *D. salina* yang terlihat pada peningkatan % indeks sitotoksitas (% CI) dan LC<sub>50</sub> (tabel 2). Ekstrak diketahui mampu menurunkan

pertumbuhan *cell line* A431 dengan waktu yang lebih cepat dibandingkan hasil kultur pada media normal. Hal ini disebabkan oleh kemampuan ekstrak mengubah ekspresi protein P21 dan P53 sehingga menyebabkan siklus sel berhenti (Mo *et al.*, 2012). Level toksisitas juga meningkat terhadap MDA-MB-231 dengan induksi 80% kematian sel {Formatting Citation}. Namun hasil yang berbeda diperoleh pada penelitian Pasquet *et al.* (2011), dimana ekstrak *D. salina* sama sekali tidak memberikan dampak pada MDA-MB-231 (Pasquet *et al.*, 2011). Perbedaan tersebut kemungkinan disebabkan karena adanya perbedaan media kultur. Pengujian secara *in vivo* menunjukkan *D. salina* pada media



hasil modifikasi juga mampu menurunkan nilai *relative tumor volume* (RTV), menurunkan pertumbuhan sel tumor jauh lebih baik dibandingkan *D. salina* yang ditumbuhkan pada media normal (Elleuch *et al.*, 2020).

Konsentrasi  $\text{KNO}_3$  250 nM pada medium juga mampu meningkatkan pertumbuhan *D. salina* yang diikuti dengan peningkatan produksi klorofil. Adapun produksi karotenoid justru baru meningkat pada media yang tidak ditambahkan  $\text{KNO}_3$ .  $\text{KNO}_3$  pada media pada dasarnya berfungsi sebagai sumber Nitrogen yang dibutuhkan untuk pertumbuhan *D. salina* (Singh, Baranwal and Reddy, 2016). Pada kondisi kadar Nitrogen yang rendah, *D. salina* akan menurunkan kecepatan pertumbuhannya, namun produksi  $\beta$ -karoten, lutein dan asam lemak justru meningkat (Bonfond *et al.*, 2017; Srinivasan *et al.*, 2018). Defisiensi Nitrogen serta tingginya kadar garam terbukti mampu induksi karotenogenesis *D. salina* yang tentunya juga mempengaruhi efek sitotoksitasnya terhadap sel kanker.

Tidak hanya Nitrogen, defisiensi Fosfor, Sulfur serta penambahan Natrium Bikarbonat juga mampu meningkatkan produksi ketiga senyawa tersebut. Natrium Bikarbonat selain sebagai sumber karbon juga berfungsi meningkatkan pH media sehingga produksi droplet trigliserida meningkat (Srinivasan *et al.*, 2018). Droplet tersebut diketahui mengandung asam lemak dan  $\beta$ -karoten (Lou *et al.*, 2020). Secara spesifik, defisiensi Nitrogen dan Fosfor diketahui mampu meningkatkan produksi asam oleat (C18:1) *D. salina* (Almutairi, 2020). Peningkatan tersebut diduga karena adanya pengaruh terhadap gen *glycerol-3-phosphate dehydrogenase* (GPD) yang memegang peranan penting pada sintesis gliserol (Wu *et al.*, 2019). GDP

akan mengkonversi *dihydroxyacetone phosphate* (DHAP) menjadi *glycerol-3-phosphate* yang merupakan bahan utama penyusun trigliserida (Chen, Lao and Jiang, 2011). Namun perlu diteliti lebih lanjut seperti apa korelasi antara peningkatan trigliserida terhadap aktivitas sitotoksik *D. salina*.

Aktivitas sitotoksik *D. salina* baik hasil kultur normal maupun modifikasi ternyata tidak berlaku terhadap sel normal. *D. salina* tidak menyebabkan apoptosis serta memiliki % CI yang sangat rendah terhadap sel normal dibandingkan terhadap sel kanker. Hal tersebut menunjukkan *D. salina* memiliki selektivitas yang baik dalam menangani kanker (Atasever-Arslan *et al.*, 2015), bahkan mampu mengembalikan bobot badan menjadi normal dan mempertahankan bentuk konstruksi sel normal (Chuang *et al.*, 2014).

### **3.2. Pengaruh Cahaya dan suhu terhadap potensi antikanker *D. salina***

Modifikasi intensitas cahaya pada media kultur juga terbukti memberikan pengaruh terhadap *D. salina* yang dihasilkan. Cahaya sangat dibutuhkan oleh *D. salina* untuk melakukan proses fotosintesis (Flassig *et al.*, 2016). Namun beberapa ultrastruktur mikroalga termasuk *D. salina* dapat mengalami kerusakan apabila terpapar radiasi Ultraviolet B (280 – 320 nm). Hal tersebut dapat memicu penurunan produksi klorofil a, b dan karotenoid (Zhang *et al.*, 2015).

Genus *Dunaliella* apabila terpapar dengan intensitas cahaya yang kuat, konsentrasi garam tinggi, serta kadar oksigen dan nitrogen yang rendah, maka ia akan beradaptasi dengan meningkatkan produksi gliserol dalam bentuk trigliserida (Mo *et al.*, 2012) dan  $\beta$ -karoten. *D. salina*

yang terpapar cahaya kuat (200  $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) memiliki ukuran yang lebih panjang serta pertumbuhan lebih cepat dibandingkan pada cahaya rendah (40  $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) (Park, Lee and Jin, 2013). Peningkatan intensitas cahaya pada media kultur terbukti mampu meningkatkan produksi  $\beta$ -karoten (Mo *et al.*, 2012; Xi *et al.*, 2020), namun produksi klorofil justru mengalami penurunan. Hal ini menunjukkan bahwa kultur dengan intensitas cahaya rendah sangat terkait dengan akumulasi klorofil dalam *D. salina* (Wu *et al.*, 2016).

Selain intensitas cahaya, temperatur juga berperan penting pada produksi  $\beta$ -karoten, bahkan memiliki dampak lebih kuat dibandingkan dengan intensitas cahaya (Wu *et al.*, 2016). Produksi karotenoid dan klorofil dari *D. salina* paling tinggi ditunjukkan kultur yang diinkubasi pada suhu 37 °C (Singh, Baranwal and Reddy, 2016). Intensitas cahaya dan suhu juga dapat mempengaruhi pH dari medium kultur. Wu *et al.* (2016) menunjukkan adanya peningkatan pH medium pada saat terjadi peningkatan suhu dari 22 °C menuju 30 °C, namun kembali turun setelah enam hingga tujuh hari kultivasi (Wu *et al.*, 2016).

#### 4. KESIMPULAN

*D. salina* merupakan alga halotolerant yang mampu bertahan hidup pada kondisi media kultur yang ekstrim. Adaptasi yang dilakukan *D. salina* adalah dengan meningkatkan produksi  $\beta$ -karoten (karotenogenesis), klorofil, dan asam lemak. Peningkatan salinitas, defisiensi Nitrogen, serta efek pencahayaan memberikan dampak terhadap pertumbuhan dan produksi senyawa *D. salina*. Peningkatan produksi  $\beta$ -karoten disinyalir memiliki keterikatan kuat

terhadap peningkatan aktivitas sitotoksik *D. salina* terhadap sel kanker. Aktivitas sitotoksik muncul disebabkan karena berbagai mekanisme yang ditimbulkan oleh *D. salina* terhadap sel kanker. Namun hal tersebut tidak berlaku terhadap sel normal, sehingga dapat dipastikan *D. salina* meskipun memiliki aktivitas sitotoksik namun selektif dan aman bagi sel normal.

#### 5. UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada Program Studi Farmasi FMIPA UNISBA yang telah memberikan membiayai penelitian review ini melalui skema pembiayaan penelitian mandiri.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed, F. *et al.*, 2014. Profiling of carotenoids and antioxidant capacity of microalgae from subtropical coastal and brackish waters, *Food Chemistry*, **165**: 300–306.
- Almutairi, A. W., 2020. Effects of nitrogen and phosphorus limitations on fatty acid methyl esters and fuel properties of *Dunaliella salina*, *Environmental Science and Pollution Research*, **27**(26): 32296–32303.
- Atasever-Arslan, B. *et al.*, 2015. Cytotoxic effect of extract from *Dunaliella salina* against SH-SY5Y neuroblastoma cells, *Gen. Physiol. Biophys.*, **34**: 201–207.
- Badr, A. M. *et al.*, 2014. Anti-inflammatory and anti-cancer effects of  $\beta$ -carotene, extracted from *Dunaliella bardawil* by milking, *Journal of Food, Agriculture and Environment*, **12**(3–4): 24–31.
- Bechelli, J. *et al.*, 2011. Cytotoxicity of Algae Extracts on Normal and Malignant Cells, *Leukemia Research and Treatment*, **2011**: 1–7.
- Bonnefond, H. *et al.*, 2017. Coupling and uncoupling of triglyceride and beta-carotene production by *Dunaliella salina* under nitrogen limitation and starvation, *Biotechnology for Biofuels*, **10**(1): 1–10.

- Brighi, N. *et al.*, 2021. The cyclin-dependent kinases pathway as a target for prostate cancer treatment: rationale and future perspectives, *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, **157**: 103199.
- Chen, H., Lao, Y. M. and Jiang, J. G., 2011. Effects of salinities on the gene expression of a (NAD<sup>+</sup>)-dependent glycerol-3-phosphate dehydrogenase in *Dunaliella salina*, *Science of the Total Environment*, **409**(7): 1291–1297.
- Chiu, H. F. *et al.*, 2017. Anti-proliferative, anti-inflammatory and pro-apoptotic effects of *Dunaliella salina* on human KB oral carcinoma cells, *Journal of Food Biochemistry*, **41**(3): 1–8.
- Chuang, W. C. *et al.*, 2014. *Dunaliella salina* exhibits an antileukemic immunity in a mouse model of WEHI-3 leukemia cells, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **62**(47): 11479–11487.
- Crinier, A. *et al.*, 2020. SnapShot: Natural Killer Cells, *Cell*, **180**(6): 1280-1280.e1.
- Crowley, L. C. and Waterhouse, N. J., 2016. Detecting cleaved caspase-3 in apoptotic cells by flow cytometry, *Cold Spring Harbor Protocols*, **2016**(11): 958–962.
- Darvish, M. *et al.*, 2018. Potential cytotoxic effects of peptide fractions from *Dunaliella salina* protein hydrolyzed by gastric proteases, *Journal of Aquatic Food Product Technology*, **27**(2): 165–175.
- Dewi, I. C. *et al.*, 2018. Anticancer, antiviral, antibacterial, and antifungal properties in microalgae, in *Microalgae in Health and Disease Prevention*. Elsevier Inc.: 235–261.
- Dewick, P. M., 2009. *Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach*. 3rd edn. Chichester: A John Wiley and Sons.
- El-Baz, F. K. *et al.*, 2017. Cytotoxic activity of carotenoid rich fractions from *Haematococcus pluvialis* and *Dunaliella salina* microalgae and the identification of the phytoconstituents using LC-DAD/ESI-MS, *Phytotherapy Research*, **32**(2): 1–7.
- Elleuch, F. *et al.*, 2020. Deciphering the biological activities of *dunaliella* sp. Aqueous extract from stressed conditions on breast cancer: From in vitro to in vivo investigations, *International Journal of Molecular Sciences*, **21**(5).
- Flassig, R. J. *et al.*, 2016. Dynamic flux balance modeling to increase the production of high-value compounds in green microalgae, *Biotechnology for Biofuels*, **9**(1): 1–12.
- Harvey, P. J. and Ben-Amotz, A., 2020. Towards a sustainable *Dunaliella salina* microalgal biorefinery for 9-cis  $\beta$ -carotene production, *Algal Research*.
- Huang, Q. *et al.*, 2011. Caspase 3-mediated stimulation of tumor cell repopulation during cancer radiotherapy, *Nature Medicine*, **17**(7): 860–866.
- Jayappriyan, K. R. *et al.*, 2013. In vitro anticancer activity of natural  $\beta$ -carotene from *Dunaliella salina* EU5891199 in PC-3 cells, *Biomedicine and Preventive Nutrition*, **3**(2):99–105.
- Kemenkes RI., 2019 *Profil Kesehatan Indonesia 2018*
- Khalilzadeh, B. *et al.*, 2018. Advances in nanomaterial based optical biosensing and bioimaging of apoptosis via caspase-3 activity: a review, *Microchimica Acta*, **185**(9): 434.
- Klein, M. A., 2020. Cyclin-dependent kinase inhibition: an opportunity to target protein-protein interactions, in Donev, R. (ed.) *Advances in Protein Chemistry and Structural Biology*. Elsevier Ltd,
- Lauritano, C. *et al.*, 2016. Bioactivity screening of microalgae for antioxidant, anti-inflammatory, anticancer, anti-diabetes, and antibacterial activities, *Frontiers in Marine Science*, **3**: 1–2.
- Lou, S. *et al.*, 2020. Identification of microRNAs response to high light and salinity that involved in beta-carotene accumulation in microalga *Dunaliella salina*, *Algal Research*, **48**: 101925.
- Male, V. *et al.*, 2017. Natural Killer Cells in Liver Disease, *Seminars in Liver Disease*, **37**(03): 198–209.
- Malumbres, M. and Barbacid, M., 2009. Cell cycle, CDKs and cancer: a changing paradigm, *Nature Reviews Cancer*, **9**(3): 153–166.

- Manikandan, P. and Nagini, S., 2017. Cytochrome P450 Structure, Function and Clinical Significance: A Review, *Current Drug Targets*, **19**(1): 38–54.
- Méndez, O. and Villanueva, J., 2015. Challenges and opportunities for cell line secretomes in cancer proteomics, *PROTEOMICS - Clinical Applications*, **9**(3–4): 348–357.
- Mo, E. *et al.*, 2012. Anticancer effect of Dunaliella salina under stress and normal conditions against skin carcinoma cell line A431 in vitro, *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, **11**(2): 283–293.
- Olmos, J., Gómez, R. and Rubio, V. P., 2015. Apoptosis Comparison Effects Between Synthetic and Natural B-Carotene from Dunaliella salina on MDA-MB-231 Breast Cancer Cells, *J Microb Biochem Technol*, **7**(2): 51–56.
- Park, S., Lee, Y. and Jin, E. S., 2013. Comparison of the responses of two Dunaliella strains, Dunaliella salina CCAP 19/18 and Dunaliella bardawil to light intensity with special emphasis on carotenogenesis, *Algae*, **28**(2): 203–211.
- Pasquet, V. *et al.*, 2011. Antiproliferative activity of violaxanthin isolated from bioguided fractionation of Dunaliella tertiolecta extracts, *Marine Drugs*, **9**(5): 819–831.
- Purnamasari, D., 2018. The Emergence of Non-communicable Disease in Indonesia, **50**(4): 273–274.
- Raja, R., Hema Iswarya, S., *et al.*, 2007. PCR-identification of Dunaliella salina (Volvocales, Chlorophyta) and its growth characteristics, *Microbiological Research*, **162**(2): 168–176.
- Raja, R., Hemaiswarya, S., *et al.*, 2007. Protective effect of Dunaliella salina (Volvocales, Chlorophyta) against experimentally induced fibrosarcoma on wistar rats, *Microbiological Research*, **162**(2): 177–184.
- Ravi, M., Ramesh, A. and Pattabhi, A., 2017. Contributions of 3D Cell Cultures for Cancer Research, *Journal of Cellular Physiology*, **232**(10): 2679–2697.
- Raz, O. *et al.*, 2019. Dunaliella salina and Haloferax volcanii Synergistically Attenuate Skin Cancer in Vitro, *Journal of Cancer Therapy*, **10**(09): 747–754.
- Sheu, M. J. *et al.*, 2008. Ethanol extract of Dunaliella salina induces cell cycle arrest and apoptosis in A549 human non-small cell lung cancer cells, *In Vivo*, **22**(3): 369–378.
- Singh, A. K. *et al.*, 2019. Green synthesis of gold nanoparticles from Dunaliella salina, its characterization and in vitro anticancer activity on breast cancer cell line, *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, **51**: 164–176.
- Singh, P., Baranwal, M. and Reddy, S. M., 2016. Antioxidant and cytotoxic activity of carotenes produced by Dunaliella salina under stress, *Pharmaceutical Biology*, **54**(10): 2269–2275.
- Srinivasan, R. *et al.*, 2017. Oral administration of lyophilized Dunaliella salina, a carotenoid-rich marine alga, reduces tumor progression in mammary cancer induced rats, *Food and Function*, **8**(12): 4517–4527.
- Srinivasan, R. *et al.*, 2018. Bicarbonate supplementation enhances growth and biochemical composition of Dunaliella salina V-101 by reducing oxidative stress induced during macronutrient deficit conditions, *Scientific Reports*, **8**(1): 1–14.
- Suresh, K. *et al.*, 2019. A nonapoptotic endothelial barrier-protective role for caspase-3, *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*, **316**(6): L1118–L1126.
- WCRF (2018) *Worldwide cancer data; Global cancer statistics for the most common cancers*. Available at: <https://www.wcrf.org/dietandcancer/worldwide-cancer-data/> (Accessed: 6 May 2021).
- Wood, D. J. and Endicott, J. A., 2018. Structural insights into the functional diversity of the CDK–cyclin family, *Open Biology*, **8**(9): 180112.
- Wu, Q. *et al.*, 2019. Characterization and diverse evolution patterns of glycerol-3-phosphate dehydrogenase family genes in Dunaliella salina, *Gene*, **710**: 161–169.
- Wu, Z. *et al.*, 2016. The effects of light, temperature, and nutrition on growth and pigment accumulation of three

- dunaliella salina strains isolated from saline soil, *Jundishapur Journal of Microbiology*, **9**(1): 1–9.
- Xi, Y. *et al.*, 2020. Effects of different light regimes on *Dunaliella salina* growth and  $\beta$ -carotene accumulation, *Algal Research*.
- Zamani, H., Rastegari, B. and Varamini, M., 2019. Antioxidant and anti-cancer activity of *Dunaliella salina* extract and oral drug delivery potential via nano-based formulations of gum Arabic coated magnetite nanoparticles, *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, **54**:101278.
- Zhang, X. *et al.*, 2015. 'Effect of enhanced UV-B radiation on photosynthetic characteristics of marine microalgae *Dunaliella salina* (Chlorophyta, Chlorophyceae), *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, **469**: 27–35.
- Zhou, M. *et al.*, 2018. Caspase-3 regulates the migration, invasion and metastasis of colon cancer cells, *International Journal of Cancer*, **143**(4):921–930.



Copyright © 2020 The author(s). You are free to **Share** — copy and redistribute the material in any medium or format. **Adapt** — remix, transform, and build upon the material. Under the following terms: **Attribution** — You must give appropriate credit, provide a link to the license, and indicate if changes were made. You may do so in any reasonable manner, but not in any way that suggests the licensor endorses you or your use. **NonCommercial** — You may not use the material for commercial purposes. **ShareAlike** — If you remix, transform, or build upon the material, you must distribute your contributions under the same license as the original. **No additional restrictions** — You may not apply legal terms or technological measures that legally restrict others from doing anything the license permits.