

Rainia

Jurnal Sains dan Teknologi

Senyawa Antikanker dari Aktinomisetes Laut
(Esti Wahyu Widowati)

Aplikasi Algoritma Genetika untuk Menyelesaikan Masalah
Travelling Salesman Problem (TSP)
(Muhammad Abrori, Endang Sulistyowati, dan Sakinatul Chasanah)

Sistem Pemesanan Buku Online Interaktif dengan Menggunakan
Library JQuery
(Ahmad 'Athaullah, Agus Mulyanto)

Energi Ikat Deuteron: Suatu Tinjauan Teoritis dan Eksperimen
(Sri Purwaningsih)

Usabilty Sebagai Pengukur Tingkat Kepuasan
Pengguna Sistem Aplikasi Komputer
(Ade Ratnasari)

DAFTAR ISI

Senyawa Antikanker dari Aktinomisetes Laut Esti Wahyu Widowati	1
Aplikasi Algoritma Genetika untuk Menyelesaikan Masalah Travelling Salesman Problem (Tsp) Muchammad Abrori, Endang Sulistyowati, dan Sakinatul Chasanah	15
Sistem Pemesanan Buku Online Interaktif dengan Menggunakan Library JQuery Ahmad ` Athaullah, Agus Mulyanto	32
Energi Ikat Deuteron: Suatu Tinjauan Teoritis dan Eksperimen Sri Purwaningsih	43
Usability Sebagai Pengukur Tingkat Kepuasan Pengguna Sistem Aplikasi Komputer Ade Ratnasari	50

KAUNIA

Jurnal Sains dan Teknologi
Vol. VII No. 1 April 2011 / 1432 H

Penanggung Jawab

Prof. Drs. H. Akh. Minhaji, M.A., Ph.D.

Redaktur

Kifayah Amar, Ph.D.

Sekretaris Redaksi

Anti Damayanti, S.Si., M.Bio.Mol
Liana Aisyah, S.Si., M.A.

Penyunting/Editor

Nurochman, S.Kom., M.Kom.
Nita Handayani, S.Si., M.Si.

Staf Sekretaris Redaksi

Latifah
Robi'atul Chalimah, SIP

Penyunting Ahli

Dr. Moedji Raharto
(Institut Teknologi Bandung)
Dr. Farchani Rosyid
(Universitas Gadjah Mada)
Prof. Drs. Subanar, Ph.D.
(Universitas Gadjah Mada)
Dr. Khabib Musthofa
(Universitas Gadjah Mada)
Dr. Tjut Djohan Sugandawati, M.Sc.
Dr. Indah Emilia
(Universitas Gadjah Mada)
Dr. Budi Daryono
(Universitas Gadjah Mada)
Dr. Subagyo
(Universitas Gadjah Mada)
Dr. Kuwat Triyana
(Universitas Gadjah Mada)
Dr. Marsigit, M.Pd.
(Universitas Negeri Yogyakarta)
Prof. Dr. Susiknan Azhari
(UIN Sunan Kalijaga)

Terbit Pertama Kali

April 2005

Frekuensi Terbit

2 (dua) kali setahun

Alamat Redaksi

Fakultas Sains dan Teknologi
UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta
Jalan Marsda Adi Sucipto Yogyakarta 55281 Indonesia
Telp. : +62-274-519739; Fax : +62-274-540971
Email: kifayah@uin-suka.ac.id

SENYAWA ANTIKANKER DARI AKTINOMISETES LAUT

Esti Wahyu Widowati

*Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi,
UIN Sunan Kalijaga*

Abstract

Cancer cells show uncontrolled growth and cause inappropriate ratio of alive and dead cell. The selectivity of drugs used in cancer therapy and cancer pathogenicity make it the second cause of death in the world.

Various efforts have been conducted to find suitable anticancer which includes using marine micro organisms as bioreactors of active metabolites. Among the micro organisms composing the marine biodiversity, actinomycetes is one of the most interesting group because of their ability to produce various compounds with a wide range of activity, including as anticancer. Strategies to find anticancer compounds from marine actinomycetes can be grouped into two approaches, 1) detection of genes encoding the enzymes that play a role in the biosynthesis of particular secondary metabolites and 2) isolation of active compounds by bioassay guided isolation that combines chemical separation techniques with in vitro testing techniques.

Keywords: *actinomycetes, bioassay guided isolation, anticancer*

A. Pendahuluan

Kanker merupakan penyakit yang memiliki prevalensi cukup tinggi, tidak hanya di Indonesia tetapi juga di masyarakat dunia. Penyakit ini ditandai dengan pembelahan sel yang tidak terkendali dan menyebar ke jaringan lain di dekatnya. Penyebabnya adalah kerusakan DNA akibat mutasi gen yang mengontrol pembelahan sel, sehingga program kematian sel tidak dapat berlangsung sesuai pola tertentu. Kegagalan sel kanker untuk melaksanakan mekanisme apoptosis merupakan salah satu faktor yang mendasari pertumbuhan kanker yang makin lama makin besar, instabilitas genetik sel-sel bersangkutan dan resistensi terhadap khemoterapi. Mutasi gen tersebut dapat disebabkan oleh paparan agen yang bersifat karsinogenik. Awalnya kerusakan ini terjadi pada satu sel, kemudian memperbanyak diri dan memperoleh perubahan tambahan yang menguntungkan bagi kelangsungan hidupnya di antara sel tetangga yang normal (Lodish *et al.*, 2000, Kokha *et al.*, 2004).

Rendahnya selektivitas obat antikanker dan patogenesis kanker itu sendiri membuat upaya penemuan dan pengembangan senyawa antikanker masih terus dilakukan. Idealnya, senyawa antikanker mampu menekan proliferasi sel kanker tetapi tidak menghambat pembelahan sel normal. Sehingga target terapi yang dilakukan mengarah pada toksisitas senyawa aktif yang selektif terhadap sel kanker tanpa membahayakan jaringan sehat.

Sumber terbesar keragaman struktur senyawa bioaktif hingga saat ini berasal dari *natural product* atau senyawa turunannya. *Natural product* didefinisikan secara luas sebagai senyawa yang diproduksi atau diisolasi dari organisme hidup, seperti tanaman, hewan dan mikroorganisme. Senyawa tersebut dibagi menjadi dua macam, yaitu metabolit primer dan metabolit sekunder (Bérdy, 2005; Yoder, 2005; Peraud, 2006). Metabolit primer merupakan senyawa esensial bagi organisme penghasil dan dibutuhkan untuk kelangsungan hidupnya, baik untuk pertumbuhan, reproduksi, maupun perkembangannya. (Yehuda, 2005). Sedangkan metabolit sekunder memiliki distribusi terbatas hanya pada satu spesies atau kelompok organisme tertentu (Dewick, 2002; Yoder, 2005). Senyawa ini memiliki berat molekul kecil (< 3000), dengan fungsi yang tidak jelas baik secara kimiawi maupun taksonomi, dan diduga tidak berperan langsung bagi kelangsungan hidup organisme penghasil.

Di antara berbagai sumber metabolit sekunder, mikroorganisme merupakan sumber yang cukup potensial, karena menunjukkan reaksi yang sederhana tetapi menarik untuk dikaji. Sampai tahun 2009, telah dilaporkan sekitar 23.000 metabolit sekunder bioaktif yang dihasilkan oleh mikroorganisme dan kira-kira 45% diantaranya diproduksi oleh aktinomisetes. Dari kurang lebih 10.000 senyawa bioaktif yang diproduksi oleh aktinomisetes, 7600 diantaranya berasal dari genus *Streptomyces*. Sebagian besar metabolit sekunder yang berasal dari *Streptomyces* merupakan antibiotik yang telah dimanfaatkan secara komersial oleh industri farmasi. Selain itu, genus ini juga menghasilkan senyawa antikanker dari berbagai kelas senyawa, antara lain: antrasiklin (*aclarubicin*, *daunomycin* dan *doxorubicin*), peptida (*bleomycin* dan

actinomycin D), *aureolic acids* (*mithramycin*), *enediynes* (*neocarzinostatin*), *antimetabolit* (*pentostatin*), *carzinophilin*, dan *mitomycins*. Di antara beragam metabolit sekunder yang dihasilkan oleh aktinomisetes tersebut, terdapat dua kelas senyawa utama yaitu poliketida dan nonribosomal peptida. Kedua senyawa ini memiliki spektrum aktifitas yang luas, seperti antibiotik, antifungi, antiparasit, sitostatik dan *immunosuppresif* (Dewick, 2002; Lam, 2006; Olano *et al.*, 2009)

Data penelitian menunjukkan bahwa keragaman senyawa baru yang ditemukan dari aktinomisetes tanah sampai tahun 1995 semakin berkurang, sedangkan re-isolasinya juga tidak menunjukkan *novel compound* yang aktifitasnya cukup menjanjikan. Gagasan inilah yang mengawali dilakukannya eksplorasi terhadap aktinomisetes laut. Lingkungan laut memiliki kondisi ekstrim, baik tekanan, kadar garam maupun suhu, sehingga diduga mempengaruhi kemampuan mikroorganisme laut untuk mensintesis metabolit spesifik yang tidak ditemukan di daratan. Penemuan obat baru dari aktinomisetes laut didukung oleh perkembangan teknologi skrining, isolasi genom pada laluan biosintesis tertentu dan kombinasi biosintesis untuk menghasilkan metabolit sekunder baru (Olano, *et al.*, 2009). Artikel ini akan menyajikan paparan tentang aktinomisetes dan potensinya sebagai penghasil senyawa antikanker, dengan fokus pada kelompok senyawa poliketida dan nonribosomal peptida.

B. Sifat, Ciri dan Peran Aktinomisetes

Aktinomisetes merupakan mikroorganisme uniseluler yang termasuk dalam kelompok bakteri gram positif. Kelompok ini sebenarnya merupakan peralihan antara bakteri dan fungi, tetapi sekarang diklasifikasikan sebagai mikroorganisme prokaryot (Goodfellow *et al.*, 1983; Atlas, 1997; Sivakumar, 2004)

Kelompok bakteri ini termasuk dalam orde *Actinomycetales* (Superkingdom: *Bacteria*, *Phylum: Firmicutes*, *Class: Actinobacteria*, *Subclass: Actinobacteridae*). Berdasarkan sistem klasifikasi 16s rRNA, aktinomisetes dikelompokkan menjadi 10 suborde: *Actinomycineae*, *Corynebacterineae*, *Frankineae*, *Glycomycineae*,

Micrococineae, *Micromonosporineae*, *Propionibacterineae*, *Pseudonocardineae*, *Streptomyicineae* dan kelas *Streptomyces* yang masih dibagi menjadi beberapa kelompok lagi (Atlas, 1997; Madigan *et al.*, 2000).

Pada umumnya subspecies aktinomisetes bersifat aerob, beberapa mampu hidup pada kondisi anaerob. Aktinomisetes dapat ditemukan pada berbagai tempat, tetapi mereka lebih menyukai kondisi alkalin atau netral untuk pertumbuhannya. Kebanyakan aktinomisetes tumbuh pada suhu 15 – 30°C, namun beberapa genus aktinomisetes seperti aktinomisetes termofilik dapat hidup pada suhu di atas 60°C (Waksman, 1950; Goodfellow *et al.*, 1983).

Bakteri ini menghasilkan spora yang resisten berbentuk miselium udara (*aerial miselium*) dan substrat miselium (miselium vegetatif), serta memiliki nukleotida yang kaya GC (lebih dari 55 %) dalam untai DNA-nya (Goodfellow *et al.*, 1983; Remya dan Vijayakumar, 2008). Bakteri ini mempunyai plasmid yang bervariasi baik ukuran maupun jumlah kopinya, dan berfungsi dalam fertilitas, transfer gen, *genomic rearrangement*, dan juga produksi antibiotik (Atlas, 1997).

Sebagian besar aktinomisetes hidup bebas dan dikenal sebagai organisme dominan yang tinggal di tanah, beberapa strain hidup pada tanaman, hewan dan manusia. (Yehuda, 2005; Remya dan Vijayakumar, 2008). Aktinomisetes dapat memproduksi sejumlah besar enzim ekstraselular dan juga ribuan produk metabolit sekunder. Beberapa dari produk ini adalah antibiotik yang bermanfaat dalam bidang farmasi seperti senyawa antibakteri, antifungi, dan antikanker. Aktinomisetes merupakan produsen antibiotik terbesar dalam industri farmasi (Atlas, 1997; Madigan *et al.*, 2000).

C. Aktinomisetes Laut dan Potensinya sebagai Penghasil Metabolit Bioaktif

Sumber keragaman aktinomisetes baru yang sekaligus merupakan sumber metabolit baru berasal dari lingkungan laut (Lam, 2006). Populasi aktinomisetes laut telah diketahui sejak 30 tahun lalu, tetapi belum dieksplorasi secara besar-besaran.

Hingga saat ini, keberadaan *indigenous* aktinomisetes laut tetap sukar untuk dipahami. (Jensen dan Fenical, 2004; Lam, 2006). Kelompok bakteri ini diduga tersebar luas di seluruh “dunia” laut dan telah ditemukan pada sedimen dasar laut, zona intertidal dan zona subtidal (Magarvey, 2004; Yehuda, 2005). Peran ekologi aktinomisetes laut masih menjadi pertanyaan, tetapi bakteri ini kemungkinan terlibat dalam dekomposisi material organik kompleks seperti kitin dan biopolimer, yang terdapat dalam jumlah besar di perairan laut (Pathom-aree, 2006, Jensen *et al.*, 2005). Aktinomisetes didefinisikan sebagai *marine aktinomisetes* jika bakteri tersebut membutuhkan air laut untuk pertumbuhannya (Yehuda, 2005).

Awalnya diduga bahwa aktinomisetes laut hanya berasal dari aktinomisetes terestrial. Pendapat ini berasal dari fakta bahwa aktinomisetes terestrial dapat menghasilkan spora resisten, yang kemudian terbawa air dari daratan ke lautan, tetapi *dorman* selama beberapa tahun. Teori ini tetap bertahan meskipun kemudian terbukti bahwa aktinomisetes laut dapat diperoleh dari sedimen laut dalam dan memiliki senyawa bioaktif serta mengalami adaptasi fisiologi terhadap kadar garam air laut yang cukup tinggi. (Ghanem *et al.*, 2000; Mincer *et al.*, 2002; Yehuda, 2005; Peraud, 2006; Lam, 2006).

Penelitian Jensen (1991) merupakan bukti pertama bahwa *marine derived aktinomisetes* menunjukkan jenis adaptasi bakteri laut, yaitu membutuhkan air laut untuk pertumbuhannya (Jensen *et al.*, 2005). Meskipun pada saat itu kedudukan taksonominya belum menjadi fokus perhatian peneliti, tetapi setelah diterapkan metode sekuensing DNA untuk mengetahui hubungan filogenetik mikroba, disimpulkan bahwa bakteri aktinomisetes laut berbeda dengan kelompok aktinomisetes yang ditemukan di darat (Fenical dan Jensen, 2006).

Lingkungan laut memiliki kondisi yang sangat berbeda dengan daratan, diperkirakan hal tersebut menyebabkan aktinomisetes laut memiliki sifat yang berbeda daripada yang terdapat di daratan. Aktinomisetes laut berkembang di habitat yang berbeda daripada aktinomisetes *terrestrial*, dengan stress dan hambatan yang berbeda.

Kondisi ekstrim lingkungan laut tampak dengan adanya tekanan tinggi (mendekati 1100 atm) dan anaerob pada temperatur di bawah 0°C dari permukaan dasar laut, termasuk terdapatnya kondisi yang sangat asam (pH kurang dari 2,8) atau suhu lebih dari 100°C dekat *hydrothermal vent* pada pertengahan punggung laut. Aktinomisetes menjadi tergantung pada lingkungan laut, sehingga diduga bakteri ini harus menyesuaikan diri selama evolusi dengan memproduksi metabolik yang unik dan kemampuan fisiologi yang tidak ditemukan pada aktinomisetes *terrestrial*. Tingkat adaptasi aktinomisetes laut tampak pada diversitas genetik dan metabolit yang dihasilkannya. Hal inilah yang menyebabkan mereka merupakan kandidat unggul untuk sintesis metabolit sekunder jenis baru dengan aktifitas yang berbeda (Magarvey, *et al.*, 2004; Jensen *et al.*, 2005; Lam, 2006; Pela'ez, 2006).

Lam (2006) telah menelaah berbagai penelitian tentang metabolit sekunder yang diisolasi dari aktinomisetes laut dan spektrum aktifitasnya, seperti yang disajikan pada tabel 1 berikut ini. Hal ini menunjukkan bahwa aktinomisetes laut menghasilkan senyawa dengan struktur yang berbeda dan aktifitas yang beragam.

Tabel. 1 Metabolit yang dihasilkan oleh Aktinomisetes Laut selama tahun 2003 – 2005 (Lam, 2006)

Table 1 Novel metabolites produced by marine actinomycetes during the period 2003–2005		
Compound	Source	Activity
Abyssomicins	<i>Vermicospora</i> sp.	Antibacterial
Aureoverticillactam	<i>Streptomyces aureoverticillatus</i>	Anticancer
Bonactin	<i>Streptomyces</i> sp.	Antibacterial; antifungal
Caprolactones	<i>Streptomyces</i> sp.	Anticancer
Chandrananimycins	<i>Actinomedusa</i> sp.	Antialgic; antibacterial; anticancer; antifungal
Chinikomycins	<i>Streptomyces</i> sp.	Anticancer
Chloro-dihydroquinones	Novel actinomycete	Antibacterial; anticancer
Diazepinomicin (ECO-4601)	<i>Micromonospora</i> sp.	Antibacterial; anticancer; anti-inflammatory
3,6-disubstituted indoles	<i>Streptomyces</i> sp.	Anticancer
Frigocyclinone	<i>Streptomyces griseus</i>	Antibacterial
Glaclapymoles	<i>Streptomyces</i> sp.	Antibacterial
Gutingimycin	<i>Streptomyces</i> sp.	Antibacterial
Helquinoline	<i>Janibacter limosus</i>	Antibacterial
Himalomycins	<i>Streptomyces</i> sp.	Antibacterial
IB-00208	<i>Actinomedusa</i> sp.	Anticancer
Komodoquinone A	<i>Streptomyces</i> sp.	Neurotogenic activity
Lajollamycin	<i>Streptomyces nodosus</i>	Antibacterial
Marinomycins	' <i>Marrnispore</i> '	Antibacterial; anticancer
Mechercharmycins	<i>Thermoactinomyces</i> sp.	Anticancer
MKN-349A	<i>Nocardopsis</i> sp.	Unknown biological activity
Saïnosporamide A (NPI-0052)	<i>Saïnispore tropica</i>	Anticancer
Sporolides	<i>Saïnispore tropica</i>	Unknown biological activity
Trioxacarcins	<i>Streptomyces</i> sp.	Antibacterial; anticancer; antimalarial

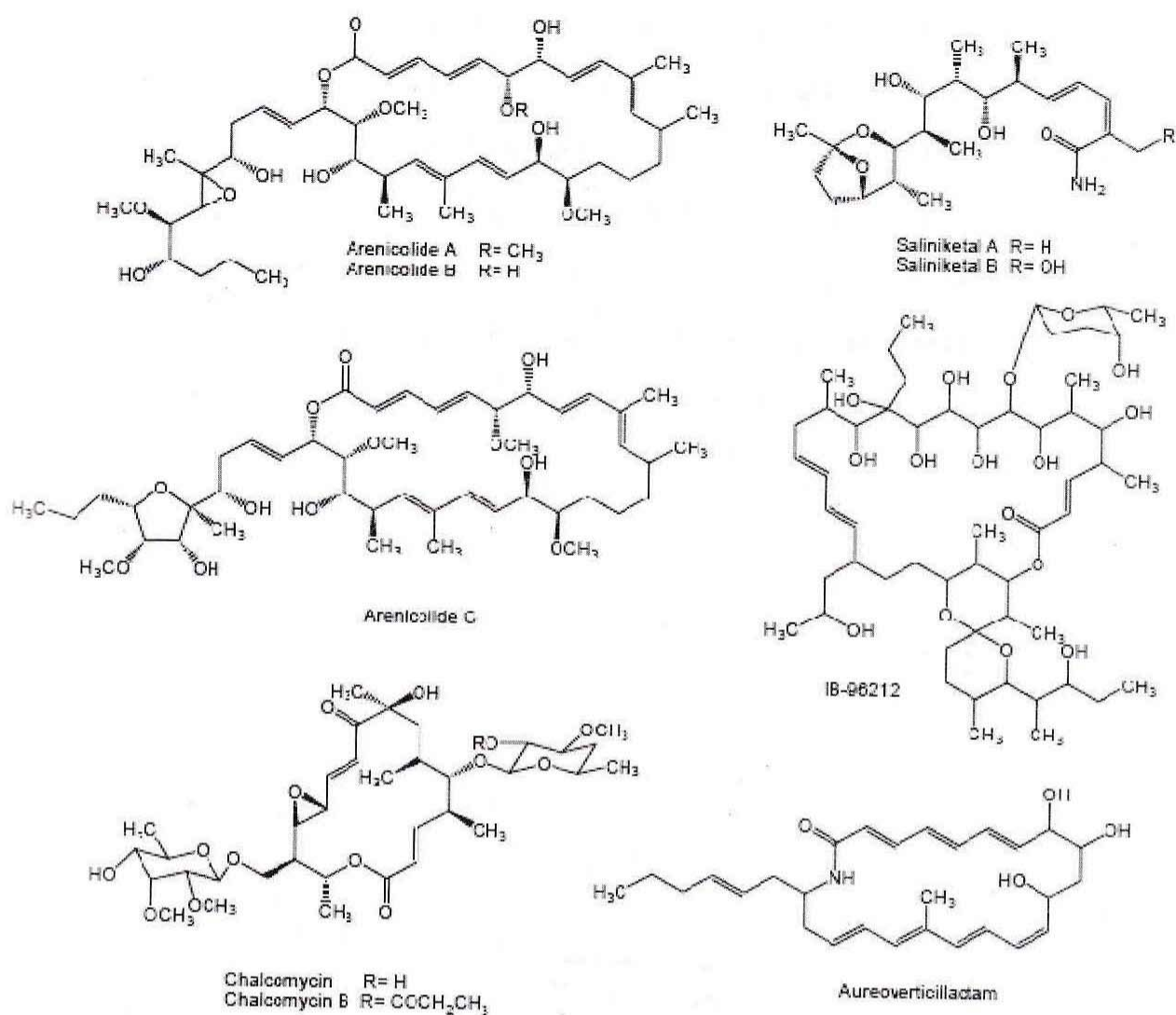
D. Poliketida dan Non Ribosomal Peptida: kelas Senyawa Antikanker Terbesar dari *Aktinomisetes Laut*

Poliketida merupakan kelompok metabolit sekunder dari bakteri, fungi dan tanaman, termasuk di dalamnya beberapa obat penting seperti *tetracycline*, *daunorubicin*, *erythromycin*, *rapamycin* dan *lovastatin*. Senyawa ini dihasilkan melalui kondensasi tipe claisen dari prekursor asil-CoA dengan katalis enzim *poliketide synthases* (PKS). Kerangka karbon poliketida kemudian akan mengalami reduksi dan modifikasi sesuai program yang dikode oleh domain yang berbeda dalam PKS, yang terdiri dari ketoreduktase, dehidratase, dan enoilreduktase (Dewick, 2002). Terdapat tiga PKS yang telah dikenal: PKS tipe I merupakan enzim multifungsional yang saling berikatan membentuk modul, PKS tipe II adalah kompleks multienzim yang membawa satu set aktivitas, sedangkan PKS tipe III yang juga dikenal sebagai *chalcone synthase-like PKS* merupakan enzim yang mengkatalisis kondensasi secara berulang. Proses ini yang dikenal sebagai reaksi perpanjangan rantai dari senyawa intermediet, melibatkan terjadinya modifikasi gugus fungsi, sehingga poliketida memiliki struktur yang kompleks dan beragam (Dewick, 2002; Mizui *et. al.*, 2004, Olano, *et al.*, 2009;).

Sejumlah besar polketida tipe I yang memiliki aktivitas antikanker telah diisolasi dari aktinomisetes laut. Sebagai contoh, *arenicolide*, suatu makrolakton tak jenuh yang diproduksi oleh obligat aktinomisetes *Salinispora arenicola* CNR-005, menunjukkan aktivitas sitotoksik terhadap *human colon adenocarcinoma cell line* HCT-116. Poliketida bisiklik yaitu saliniketal A dan B yang juga disolasi dari strain *S. arenicola* yang sama menunjukkan penghambatan terhadap *ornithine decarboxylase* (ODC) dengan IC₅₀ masing-masing sebesar 1.95 and 7.83 µg/mL. ODC adalah target penting dalam kemoprevensi kanker, merupakan target transkripsi dari onkogen *myc* dan ditemukan terjadi over ekspresi pada berbagai sel kanker. Arenicolides IB-96212, suatu makrolida dengan struktur lakton yang diproduksi oleh *Micromonospora* sp. L-25-ES25-008 memiliki aktivitas sitotoksik melawan *mouse leukemia* P-388 and *human lung nonsmall cell* A-549, *colon adenocarcinoma* HT-29 dan *melanoma* MEL-28 cell

lines. Chalomycin dan Chalomycin B, suatu makrolida beranggota 16 dihasilkan oleh *Streptomyces* strain B7064 mampu menghambat sintesis protein pada *HeLa human cervix carcinoma cell line*. Senyawa dengan kerangka makrosiklik laktam yang diisolasi dari sedimen laut, *aureoverticillactam*, memiliki aktivitas yang moderate melawan pertumbuhan *human colorectal adenocarcnioma* HT-29, *Jurkat leukemia* dan *mouse melanoma B16F10 cell lines*. Struktur senyawa tersebut disajikan pada gambar 1 berikut ini (Dewick, 2002; Olano, *et al.*, 2009; Pandey,2009).

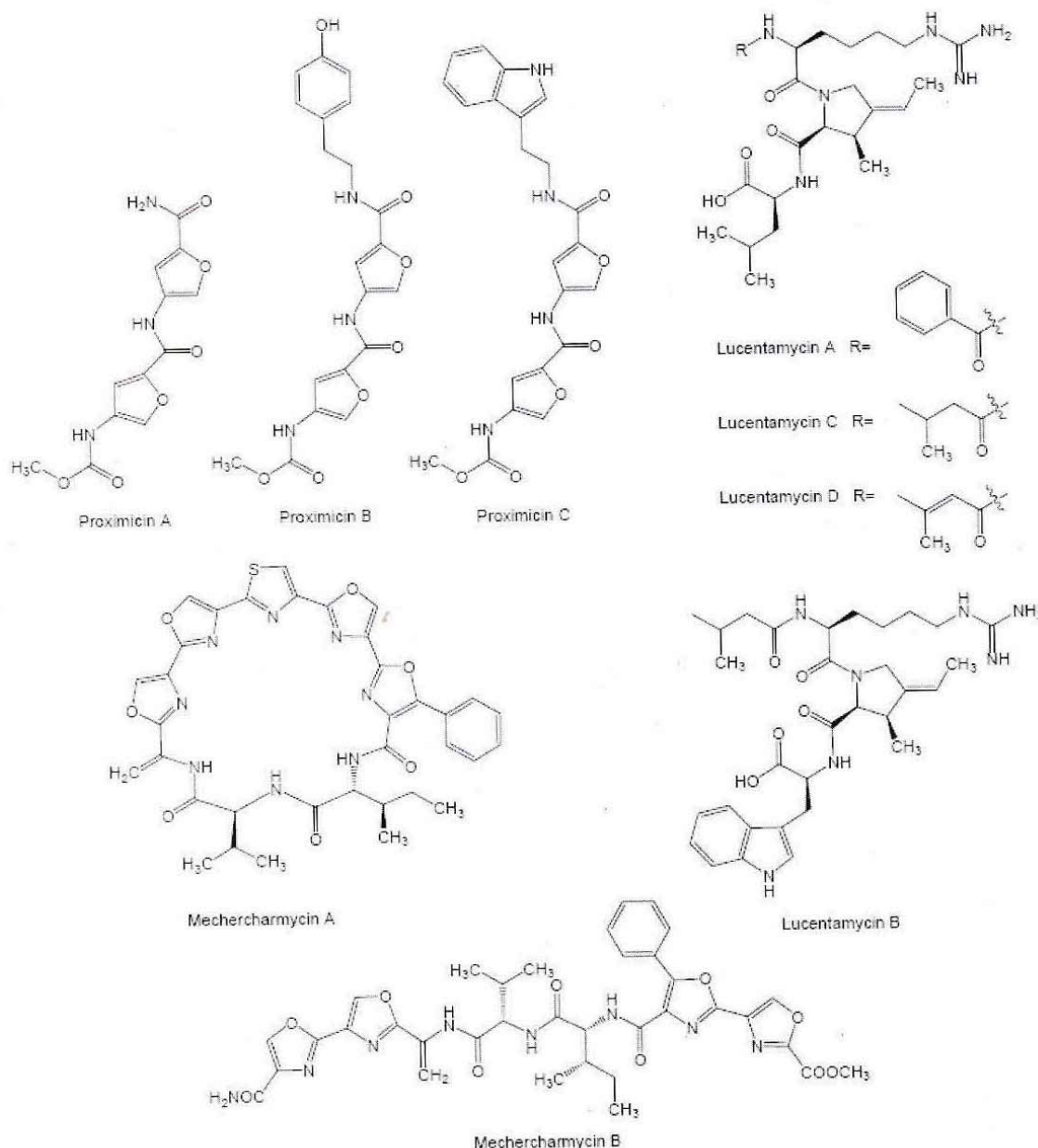
Kelompok senyawa kedua yaitu nonribosomal peptida, suatu peptida yang disintesis melalui proses yang dikontrol oleh enzim tertentu, dimana masing-masing asam amino ditambahkan sebagai hasil keterlibatan enzim tersebut. Keseluruhan proses biosintetik ini dikontrol oleh enzim multifungsional NRPS (*nonribosomal peptide synthetase*), yang jalur biosintesisnya mirip dengan poliketida terutama pada proses perpanjangan rantai karbonnya. Kerangka ini kemudian mengalami modifikasi sesuai program yang dikode oleh domain yang berbeda dalam modul NRPS. Reaksi yang terjadi meliputi epimerisasi, transfer gugus metil, reduksi atau oksidasi. Selama pembentukan peptida, senyawa ini akan mengalami anabolisme dan katabolisme, serta siklisasi. Nonribosomal peptida juga memiliki struktur yang khas seperti adanya kerangka heterosiklik dan gula deoksi (Stadler, 1998; Dewick, 2002; Olano, *et al.*, 2009; Pandey,2009).



Gambar 1. Struktur senyawa poliketida yang dihasilkan oleh aktinomisetes laut

Beberapa senyawa nonribosomal peptida yang memiliki aktivitas sebagai antikanker disajikan pada gambar 2. *Proximicins* yang diproduksi oleh *Verrucosipora* strain MG-37 and *V. maris* AB-18-032 dari Laut Jepang pada kedalaman 289 m, menunjukkan aktivitas penghambatan yang signifikan terhadap *human gastric adenocarcinoma AGS* dan *hepatocellular carcinoma Hep G2*, serta diketahui dapat menginduksi *arrest AGS cells* pada fase G₀/G₁ dan meningkatkan level p53 dan p21. *Lucentamycins*, diproduksi oleh *Nocardiosis lucentensis* strain CNR-712 menunjukkan sitotoksitas terhadap *human colon carcinoma HCT-116 cell line*, tetapi *Lucentamycins* C dan D tidak menunjukkan sitotoksitas yang sama, sehingga diduga adanya cincin

aromatik memegang peran penting pada aktivitas biologi kelas senyawa ini. *Mechercharmycins* A yang diproduksi oleh *Thermoactinomyces* sp menunjukkan sitotoksisitas melawan *human lung adenocarcinoma A549* dan *Jurkat leukemia cells* dengan nilai IC_{50} 0.04 μ M, sedangkan *Mechercharmycins* B tidak menunjukkan aktivitas penghambatan meskipun konsentrasinya telah dinaikkan sampai 1 μ M. Hal ini menunjukkan bahwa struktur siklik pada *Mechercharmycins* A memiliki peran penting pada aktivitas antikanker.



Gambar 2. Senyawa nonribosomal peptida yang dihasilkan oleh aktinomisetes laut

Mekanisme antikanker yang ditunjukkan oleh senyawa tersebut antara lain berupa: (1) bloking DNA yang selanjutnya akan menghambat sintesis RNA, (2) mendegradasi DNA yang terbentuk, (3) berikatan dengan DNA sehingga menghambat sintesis DNA dan RNA, (4) mengganggu siklus sel, (5) berfungsi sebagai inhibitor enzim yang selanjutnya akan menghambat proliferasi sel kanker, (6) berfungsi sebagai agent pengalkilasi, dan (7) berfungsi sebagai *immunosupressant*.

E. Strategi Pencarian Senyawa Antikanker dari *Aktinomisetes Laut*

Strategi penemuan senyawa antikanker dari *aktinomisetes laut* dapat dilakukan melalui dua pendekatan, yaitu: deteksi gen pengkode enzim yang berperan dalam biosintesis metabolit sekunder tertentu dan isolasi senyawa aktif dengan cara *bioassay guided isolation* yang menggabungkan antara teknik pemisahan kimia dengan teknik pengujian secara *in vitro*.

Pendekatan pertama lebih menekankan pada peran biologi molekuler sebagai salah satu teknik yang digunakan dalam eksplorasi natural product. Jalur biosintesis metabolisme sekunder biasanya melibatkan serangkaian reaksi yang dikatalisis oleh berbagai enzim. Karena sifatnya spesifik, setiap enzim akan mengkatalisis tahapan tertentu dari rangkaian mekanisme reaksi biosintesis tersebut. Melalui beragam jalur metabolisme sekunder inilah *actinomycetes* dapat menghasilkan beragam senyawa dengan berbagai bioaktivitas. Deteksi gen dalam hal ini dapat dilakukan dengan mendesain primer spesifik untuk amplifikasi sekuen gen tertentu yang berperan dalam biosintesis metabolit sekunder target. Teknik amplifikasi sekuen gen target dilakukan dengan *Polymerase Chain Reaction* (PCR), sedangkan visualisasinya dapat dilakukan dengan elektroforesis.

Deteksi senyawa poliketida dan nonribosomal peptida dapat dilakukan dengan melakukan skrining adanya enzim PKS dan NRPS. Ayuso dan Genilloud (2004) telah berhasil merancang primer untuk amplifikasi gen PKS/NRPS yang menunjukkan bahwa amplifikasi gen NRPS menggunakan primer A3F/A7R menghasilkan fragmen DNA

dengan ukuran 700-800 *bp*, sedangkan amplifikasi gen PKS-I menggunakan primer K1F/M6R menghasilkan fragmen DNA dengan ukuran 1200-1400 *bp*. Gen PKS-I atau NRPS memang tidak dimiliki oleh semua aktinomisetes, tetapi terdapat spesies aktinomisetes yang justru memiliki keduanya.

Jika gen target telah berhasil diamplifikasi, langkah selanjutnya yaitu dilakukan purifikasi sebelum akhirnya dilakukan sekuensing untuk menentukan urutan basa penyusun gen target. Sekuen tersebut jika dibandingkan dengan bank data dari NCBI akan menunjukkan persentase homologi tertentu, yang menunjukkan kemiripannya dengan metabolit sekunder yang sudah diketahui. Melalui analisis bioinformatika ini, dapat diketahui apakah telah berhasil diisolasi senyawa baru atau hanya penemuan kembali senyawa yang telah diketahui sebelumnya (Ansari *et al.*, 2004).

Pendekatan kedua merupakan gabungan antara teknik pemisahan kimia dengan teknik pengujian secara *in vitro*. Metabolit sekunder disintesis melalui laluan yang seringkali berhubungan dan dipengaruhi oleh metabolisme primer. Metabolit intermediet dari metabolisme primer berperan sebagai prekursor bagi biosintesis metabolit sekunder. Di samping itu, komposisi medium kultur juga berkaitan erat dengan kemampuan organisme untuk memproduksi metabolit, sehingga akan mempengaruhi senyawa bioaktif yang dihasilkan. Strain tunggal yang sama kemungkinan akan menghasilkan metabolit sekunder yang berbeda jika dikultur pada media yang berbeda (Pela'ez, 2006). Senyawa aktif ini biasanya diproduksi ekstraselular sehingga isolasinya dari media fermentasi melibatkan kombinasi berbagai teknik pemisahan seperti ekstraksi, presipitasi, kromatografi kolom, HPLC dan teknik pemisahan lainnya. Pemisahan senyawa ini dilakukan dengan panduan uji aktivitas antikanker, sehingga dikenal sebagai *bioassay guided isolation* (Cannell, 1998). Langkah selanjutnya setelah skrining adalah purifikasi dan identifikasi. Pada tahap ini, diperlukan gabungan dari berbagai metode spektroskopi untuk mengelusidasi struktur senyawa target.

F. Kesimpulan dan Rekomendasi

Metabolit sekunder dari aktinomisetes, baik yang dihasilkan langsung dari fermentasi maupun senyawa turunannya yang diperoleh dari modifikasi kimiawi, merupakan sumber potensial senyawa antikanker. Karena metabolit sekunder ini dihasilkan dari proses fermentasi mikroorganisme, maka faktor yang memegang peranan penting adalah skrining biologi yang meliputi 1) penggunaan metode untuk deteksi aktivitas antikanker, 2) kemampuan pengujian dengan kuantitas senyawa yang kecil secara mudah dan cepat, dan 3) kemampuan untuk memodifikasi kondisi isolasi dan kultivasi mikroorganisme.

Daftar Pustaka

- Atlas, R. M., 1997, *Principles of Microbiology*, Wm. C. Brown Publishers, Dubuque, Iowa.
- Berdy, J., 2005, Bioactive Microbial Metabolites: a Personal View, *Journal of Antibiotics*, **58**, 1-26
- Ayuso, S.A. and Genilloud. O., 2005, New PCR Primers for the Screening of NRPS and PKS-I Systems in Actinomycetes: Detection and Distribution of These Biosynthetic Gene Sequences in Major Taxonomic Groups, *Microbial Ecology*, **49**, 10-24.
- Cannell, R.J.P., (ed), 1998, *Natural Product Isolation*, Humana Press, New Jersey.
- Dewick, P. M., 2002, *Medicinal Natural Product, A Biosynthetic Approach*, 2nd ed. John Wiley & Sons Ltd, England.
- Fenical, W., and Jensen, P.R., 2006, Developing A New Resource For Drug Discovery: Marine Actinomycete Bacteria, *Nature Chemical Biology*, **2**, 12.
- Ghanem, N.B., Sabry, S.A., El-Sherif, Z.M., and Abu El-Elal, G.A., 2000, Isolation And Enumeration Of Marine Actinomycetes From Seawater And Sediments In Alexandria, *Journal of General and Applied Microbiology*, **46**, 105-111.
- Goodfellow, M., Modarski, M., Williams, S.T., 1983, *The Biology of Actinomycetes*, Academic Press Inc., London.
- Jensen, P.R and Fenical, W., 2004, *New Natural Product Diversity from Marine Actinomycetes*, in Zang, L., Demain, A.L., *Natural Products: Drug Discovery and Therapeutic Medicine*, Humana Press Inc., Totowa, NJ.
- Jensen, P.R., Mincer, T.J., Williams, P.G., and Fenical, W., Marine Actinomycete Diversity And Natural Product Discovery, *Antonie van Leeuwenhoek*, 2005, **87**, 43-48.

- Khokha, Rama., Voura, E., and Hill, R.P., 2005, The Basic Science of Oncplogy : Tumour Progression and Metastasis: Cellular, Molecular and Microenvironmental Factors, McGraw Hill Company, New York.
- Lam, K.S., 2006, Discovery of Novel Metabolites from Marine Actinomycetes, *Current Opinion in Microbiology*, **9**, 245–251.
- Madigan, M.T., Martinko, J.M., and Parker, J., 2000, *Brock Biology of Microorganisms*, ninth edition. Prentice Hall International, Inc. New Jersey, USA.
- Magarvey, N.A., Kelle, J.M., Bernan, V., Dworkin, M., and Sherman, D.H., 2004, Isolation and Characterization of Novel Marine-Derived Actinomycete Taxa Rich in Bioactive Metabolites, *Applied And Environmental Microbiology*, **70**(12), 7520–7529.
- Mincer, T.J., Jensen P.R., and Fenical, W., 2005, Culture-Dependent and Culture-Independent Diversity Within the Obligate Marine Actinomycete Genus *Salinispora*, *Applied and Environmental Biology*, **71**, 11.
- Olano,C., Méndez, C., and Salas, J.A., 2009, Antitumor Compounds from Marine Actinomycetes, *Marine Drugs*, **7**, 210-248.
- Pandey,G., An Overview On Certain Anticancer Natural Products, *Journal of Pharmacy Research* 2009, **2**(12),1799-1803
- Pathom-aree, W., Stach, J.E.M., Ward, A.C., Horikoshi, K., Bull, A.T., and Goodfellow, M., 2006, Diversity Of Actinomycetes Isolated From Challenger Deep Sediment (10,898 M) From The Mariana Trench, *Extremophiles*, **10**, 181–189.
- Peraud, O., 2006, Isolation and Characterization of A Sponge-Associated Actinomycete That Produces Manzamines, *Dissertation*, Faculty of the Graduate School of the University of Maryland, College Park.
- Remya, M. And Vijayakumar, R., 2008, Isolation and Characterization of Marine Antagonistic Actinomycetes From West Coast of India, *Facta Universitatis Series Medicine and Biology*,**15**(1), 13–19.
- Shivakumar, 2004, *Actinomycetes*, Centre of Advanced Study in Marine Biology, Annamalai University.
- Waksman, S.A. 1950, *The Actinomycetes, Their Nature, Occurrence, Activities, and Importance*, Chronica Botanica, Co., Waltham.
- Yehuda, Marelle. L., 2005, *The Search For Novel Secondary Metabolites From Marine Obligate Actinomycetes*, myehuda@ucsd.edu.
- Yoder, B.J., 2005, Isolation and Structure Elucidation Of Cytotoxic Natural Products From the Rainforests of Madagascar and Suriname, *Dissertation in Chemistry*, Faculty of the Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg, Virginia.