

## Marine sponges as potential inhibitors of oral squamous cell carcinoma Spons laut sebagai penghambat potensial karsinoma sel skuamosa oral

<sup>1</sup>Asmawati, <sup>2</sup>Bahrudin Thalib, <sup>3</sup>Alqarama M. Thalib, <sup>4</sup>Sitti Jahadiyah, <sup>5</sup>Linda

<sup>1</sup>Departemen Oral Biologi

<sup>2</sup>Departemen Prostodonsia

<sup>3</sup>Departemen Dental Material

<sup>4</sup>Mahasiswa Klinik

<sup>5</sup>Laboran Departemen Oral Biologi

Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin

Makassar, Indonesia

Corresponding author: Asmawati, e-mail: asmaamin281068@gmail.com

### ABSTRACT

Compound extracts from marine sponges are able to prevent the growth of cancer cells proliferation of malignant cells through the process of inducing apoptosis by chromatin condensation or DNA fragmentation that resulting in cancer cell apoptosis. This situation ultimately triggers the cell death programs through increasing the apoptotic pathway. This article is aimed to determine the benefits of compounds derived from marine sponges in inhibiting the development of oral squamous cell carcinoma (OSCC). Several bioactive compounds produced from marine sponges such as manoalide, stelletin B, methanol extract *T. swinhoei*, ilimaquinone, stigmasterol increase oxidative stress, produce oxidative stress N-acetylcysteine, Mito-Tempo and ZVAD oral cancer cells, antiproliferative effects in oral cancer cells, oxidative stress regulates the increasing of subG1, inhibits caspase 3 and 3/7 activation, triggers higher ER stress, stronger cytotoxicity in KB/C152 cells compared to Jurkat/E6-1 cells, activation of mitogen-activated protein kinase which is as a role in the occurrence of apoptosis and DNA damage in oral cancer cells indicates that the sponges have the potential to inhibit OSCC. It is concluded that compounds derived from marine sponges can take a part in apoptosis, antiproliferation, cytotoxicity in oral cancer cells so they have the potential to inhibit OSCC.

**Keywords:** antiproliferation, apoptosis, marine sponges, oral squamous cell carcinoma

### ABSTRAK

Ekstrak senyawa dari *marine sponges* mampu mencegah pertumbuhan sel kanker dengan cara mencegah perkembangbiakan sel ganas dengan menginduksi apoptosis melalui kondensasi kromatin atau fragmentasi DNA sehingga menghasilkan apoptosis sel kanker. Keadaan tersebut akhirnya memicu program kematian sel melalui peningkatan jalur apoptosis. Artikel ini dimaksudkan untuk mengetahui manfaat senyawa turunan *marine sponges* dalam menghambat perkembangan *oral squamous cell carcinoma* (OSCC). Beberapa senyawa bioaktif yang diproduksi dari *marine sponges* seperti manoalide, stelletin B, methanol extract *T. swinhoei*, ilimaquinon, stigmasterol meningkatkan stres oksidatif, menghasilkan stres oksidatif N-acetylcysteine, Mito-Tempo dan ZVAD sel kanker mulut, efek antiproliferasi pada sel kanker mulut, stres oksidatif mengatur peningkatan subG1, menghambat aktivasi caspase 3 dan 3/7, memicu stres ER yang lebih tinggi, sitotoksik yang kuat pada sel KB/C152 dibandingkan dengan sel Jurkat/E6-1, aktivasi *mitogen-activated protein kinase* yang berperan terhadap apoptosis dan kerusakan DNA pada sel kanker mulut menunjukkan bahwa *sponge* menghambat OSCC. Disimpulkan bahwa senyawa turunan *marine sponges* dapat berperan dalam apoptosis, antiproliferasi, sitotoksik pada sel kanker mulut sehingga berpotensi menghambat OSCC.

**Kata kunci:** antiproliferasi, apoptosis, marine sponge, *oral squamous cell carcinoma*

Received: 20 December 2022

Accepted: 12 April 2023

Published: 1 December 2023

### PENDAHULUAN

Kanker mulut merupakan tumor ganas yang tumbuh di dalam rongga mulut. Sekitar 90% kanker mulut memiliki asal histologi sel skuamosa biasanya didefinisikan sebagai *oral squamous cell carcinoma* (OSCC); memiliki beberapa tingkat diferensiasi dan cenderung bermetastase regio kelenjar getah bening. Kasus baru kanker rongga mulut pada tahun 2020 secara global berjumlah 377.713 jiwa; hampir dua pertiga berasal dari Asia, dengan prevalensi tertinggi berada di Asia Selatan dan Asia Tenggara. Prevalensi kanker rongga mulut di Asia Tenggara pada tahun 2020 berjumlah 18.381 kasus. Menurut data *Global Cancer Observatory* (Globocan) tahun 2020, jumlah kasus kanker rongga mulut di Indonesia terdapat 5.780 kasus dan sebanyak 3.087 jiwa diantaranya meninggal. Hal ini berarti lebih dari setengah tidak bisa diselamatkan. Terapi saat ini untuk pasien kanker mulut yaitu pembedahan atau kemoradia-

si, atau keduanya meskipun kemoradiasi umumnya menunjukkan efek samping yang parah pada pasien. Skrining dan pengembangan obat terus dilakukan untuk terapi kanker mulut tetap menjadi tantangan.<sup>1</sup>

Karsinogenesis skuamosa rongga mulut banyak dipengaruhi lidah anterior, pipi, dasar mulut, area retromolar, gingiva atau mukosa bukal. Pada karsinogenesis, berbagai peristiwa genetik mengubah fungsi normal onkogen dan gen penekan tumor. Namun, pentingnya kedua perubahan gen yang diketahui tidak teridentifikasi dan masih belum sepenuhnya dipahami. Perkembangan histologis karsinogenesis rongga mulut dari hiperplasia menjadi displasia, displasia parah dan akhirnya invasi dan metastasis, diyakini mencerminkan akumulasi dari perubahan ini melalui perubahan lengan patau q kromosom 3, 4, 8, 9, 11, 13, dan 17. Perubahan genetik selama karsinogenesis dapat terjadi dalam bentuk mutasi titik, amplifikasi, penataan ulang, dan penghapusan.<sup>2</sup>

### Growth factor receptors dan mekanisme

Aktivasi reseptor faktor pertumbuhan pada tumor manusia meliputi mutasi, gen pengaturan ulang, dan ekspresi berlebihan. Jalur pensinyalan yang terlibat dalam perkembangan kanker dan sel punca adalah jalur JAK/STAT, jalur pensinyalan NOTCH, jalur MAP-Kinase/ERK, jalur PI3K/AKT, jalur NF $\kappa$ B, jalur Wnt dan jalur TGF $\beta$ .<sup>2</sup>

Dalam bentuk normal reseptor faktor pertumbuhan, kinase diaktifkan secara sementara dengan mengikat ligan *growth factor* ke reseptor, mengarah ke *rapid receptors dimerization* dan fosforilasi tirosin dari beberapa substrat yang merupakan bagian dari jalur pensinyalan. *Growth factors* onkogenik menyebabkan dimerisasi dan aktivasi tanpa mengikat ligan faktor pertumbuhan spesifik sehingga reseptor mutan mengirimkan sinyal mitogenik terus menerus ke sel. Dalam karsinogenesis sel rongga mulut, deregulasi reseptor faktor pertumbuhan terjadi melalui peningkatan produksi dan stimulasi autokrin. Ekspresi menyimpang dari *transforming growth factor- $\alpha$*  (TGF- $\alpha$ ) dan  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) terjadi pada karsinogenesis. TGF- $\alpha$  bersama dengan EGFR dan TGF- $\beta$  mengikuti jalur SMAD2 dan 3.

TGF- $\alpha$  dilaporkan terjadi pada awal karsinogenesis rongga mulut, mengikuti perkembangan histologis epitel hiperplastik terlebih dahulu, dan kemudian invasi ke dalam infiltrasi sel inflamasi, terutama eosinophil yang mengelilingi epitel infiltrasi. TGF- $\alpha$  merangsang proliferasi sel dengan mengikat EGFR dan merangsang angiogenesis pada mukosa-mulut-normal yang kemudian berkembang menjadi karsinoma primer kedua.<sup>2</sup>

Mukosa mulut pasien kanker kepala dan leher yang secara mikroskopis *normal*, kemudian mengembangkan karsinoma primer kedua mengekspresi TGF- $\alpha$  secara berlebihan yang menunjukkan lesi *pre-maligna* yang memiliki proliferasi cepat dan ketidakstabilan genetik epitel. Secara prognostik pasien dengan tumor mulut mengekspresikan TGF- $\alpha$  secara berlebihan bersamaan dengan EGFR telah terbukti memiliki kelangsungan hidup yang jauh lebih pendek daripada pasien yang mengekspresikan EGFR secara berlebihan saja.<sup>2</sup>

Sinyal TGF $\beta$  1 melalui reseptor TGF $\beta$  dan mentransduksi sinyal melalui fosforilasi SMAD2 dan SMAD3, yang, bersama dengan SMAD4, mengatur transkripsi gen target. Baru-baru ini, koneksi jalur pensinyalan TGF $\beta$  dan *nuclear factor- $\kappa$ B* (NF- $\kappa$ B) merupakan faktor transkripsi yang memberikan informasi penting sinyal kelangsungan hidup ke sel. Pencabutan jalur TGF- $\beta$  dikaitkan dengan aktivasi NF- $\kappa$ B, dan temuan menarik ini menunjukkannya menurunkan pensinyalan TGF $\beta$  terkait dengan aktivasi NF- $\kappa$ B.<sup>2</sup>

### Senyawa turunan marine sponges

*Marine sponges* terdiri atas lapisan seperti *jelly* di

antara dua lapisan tipis sel dan mengandung spikula yang terbuat dari silika, kalsium karbonat, dan protein yang dikenal sebagai spongin. Identifikasi spesies spons didasarkan pada ukuran dan bentuk spikula. Spons laut merupakan hewan penyaring; mereka mengatasi partikel yang berpotensi berbahaya dengan memproduksi senyawa bioaktif penetral. Sekitar 11 generasi spons telah ditemukan berkontribusi pada penemuan senyawa bioaktif, termasuk tiga marga *Haliclona*, *Petrosia* dan *Diskodemia*, yang diketahui menghasilkan senyawa dengan aktivitas anti-inflamasi dan antikanker yang kuat. Senyawa bioaktif yang disintesis oleh spons secara kimiawi beragam dan dapat dikelompokkan sebagai nukleosida, terpen, sterol, peptida siklik, dan alkaloid. Beragam senyawa bioaktif ini tidak sepenuhnya disintesis oleh spons saja tetapi juga disintesis oleh simbiosis mikroba.<sup>3</sup>

Ekstrak yang diperoleh dari spons laut terdiri atas kumpulan metabolit sekunder yang disintesis oleh spons dan juga oleh simbiosis yang menempel pada spons. Metabolit sekunder ini disintesis oleh spons dan simbiosis berfungsi sebagai mekanisme pertahanan. Sintesis metabolit ini bergantung pada berbagai faktor stres, seperti predator, pertumbuhan berlebih organisme pengotoran, dan persaingan ruang dengan organisme lain. Metabolit sekunder ini secara kimiawi beragam, dan terdapat berbagai faktor yang mempengaruhi senyawa yang dapat diekstraksi dari spons laut.<sup>3</sup>

Ekstrak spons laut juga telah diidentifikasi memiliki aktivitas antikanker dan antitumor, yaitu ekstraknya mampu mencegah pertumbuhan sel kanker dengan cara mencegah perkembangbiakan sel ganas tersebut melalui proses apoptosis. Apoptosis merupakan mekanisme fisiologis yang menginduksi kematian sel untuk mempertahankan homeostasis sel. Beberapa ekstrak spons laut dapat menginduksi apoptosis melalui jalur intrinsik yang umumnya dipicu ketika terjadi kerusakan intrasel yang sangat besar, seperti kerusakan DNA, stres oksidatif, dan penarikan sitokin. Spons laut seperti *Ircinia ramose*, *Monanchora* sp. dan *Xestospongia* sp. menginduksi apoptosis sel kanker melalui kondensasi kromatin atau fragmentasi DNA. Mekanisme lain untuk menginduksi apoptosis didasarkan pada apoptosis yang bergantung pada p53. Gen p21, NOXA, PUMA dan Bax semakin diekspresikan, dan Caspase-9 yang di belah dan Caspase-3 yang di belah juga meningkat, sehingga menghasilkan apoptosis sel kanker.<sup>3</sup>

Cara kerja senyawa yang diekstrak dari spons laut pada berbagai organisme mikro yaitu penghambatan patogen melalui mukosa *barrier* yang menyerang host, menghambat penyatuan sel patogen melalui netralisasi patogen aktif, menghalangi proliferasi sel-sel ganas.<sup>3</sup>

### Jalur intrinsik apoptosis sel

Peristiwa yang diprakarsai mitokondria memiliki

rangsangan yang dimediasi non-reseptor untuk menghasilkan sinyal intrasel bertindak langsung pada target di dalam sel yang menyebabkan perubahan pada membran mitokondria bagian dalam yang mengarah ke pembukaan *mitochondrial permeability transition* (MPT) pori menyebabkan hilangnya potensi trans-membran mitokondria seiring dengan pelepasan protein yang menyebabkan fragmentasi DNA oligonukleosom diikuti oleh kondensasi kromatin.<sup>4</sup>

### Reactive oxygen species dan kanker

*Reactive oxygen species* (ROS) merupakan senyawa yang mengandung oksigen reaktif sehingga mudah membentuk senyawa baru dengan molekul lain di sekitarnya. Secara umum ROS terbagi atas dua macam, yaitu oksigen radikal bebas dan nonradikal. ROS radikal bebas memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada orbital terluarnya, contoh superoksida ( $O_2^{\bullet}$ ). ROS nonradikal tidak memiliki elektron yang tidak berpasangan tetapi senyawa reaktif yang dapat diubah menjadi ROS radikal bebas, misalnya peroksida ( $H_2O_2$ ) diubah menjadi radikal hidroksil ( $HO^{\bullet}$ ). ROS endogenous dihasilkan melalui banyak mekanisme, terutama mitokondria, peroksisom, retikulum endoplasma dan kompleks NADPH oksidase atau NOX dalam membran sel. Mitokondria adalah tempat utama penghasil ROS endogenous.

Kadar ROS yang tinggi bersifat toksik terhadap sel dan menginduksi stres oksidatif yang merupakan jumlah radikal bebas di dalam tubuh melebihi kapasitas tubuh untuk menetralkannya. Stres oksidatif dapat menginduksi kerusakan berbagai komponen dalam sel seperti protein, karbohidrat, lemak dan DNA yang pada akhirnya memicu program kematian sel melalui peningkatan jalur apoptosis. Apabila program apoptosis gagal karena kerusakan DNA mitokondria, akan memicu timbulnya kanker. DNA mitokondria lebih mudah mengalami kerusakan oksidatif karena tidak ada protein histon yang bersifat protektif. Radikal kuat hidroksil ( $HO^{\bullet}$ ) sangat selektif untuk dapat keluar dari membran mitokondria. Konsekuensinya, apabila terbentuk radikal tersebut maka radikal hidroksil dapat mengoksidasi guanin (G) atau timin (T). Sejumlah kecil kerusakan basa DNA akibat oksidasi dapat diperbaiki melalui sistem reparasi DNA oleh enzim DNA glikosilase. Apabila kadar ROS sangat tinggi, maka sistem perbaikan DNA tidak adekuat sehingga mengubah DNA dan terjadi kanker.<sup>5</sup>

Tingginya jumlah ROS dapat memicu kematian sel baik secara apoptosis maupun nekrosis. Apoptosis mengontrol kematian sel dan dapat diinisiasi oleh reseptor kematian (jalur ekstrinsik) atau mitokondria (jalur intrinsik), keduanya tergantung kepada ROS. Apoptosis jalur intrinsik didahului dengan MPT yang menyebabkan hilangnya potensial membran mitokondria. ROS

dapat membuka pori dengan mengaktifkan *pori-destabilizing protein* dan menghambat *pori-stabilizing protein* (Bcl-2 dan Bcl-xL). Depolarisasi membran mitokondria menyebabkan lepasnya *apoptosis inducing factor* (AIF) dan sitokrom c ke sitoplasma yang diatur oleh Bax dan Bad. Saat keduanya dilepaskan, jalur caspase teraktifkan. Sitokrom c berinteraksi dengan kofaktor Apaf-1 dan procaspase-9 membentuk apoptosome, untuk mengaktifkan caspase-9. Caspase-9 akan mengaktifkan procaspase-3 menjadi caspase-3, efektor pelaksana apoptosis. Caspase memecah protein menyebabkan inti pecah dan sel mengalami apoptosis. Walaupun kelebihan jumlah ROS dapat menginduksi apoptosis, jumlah ROS yang lebih besar dapat memicu nekrosis kematian sel. Pada beberapa kasus, ROS dapat menginduksi apoptosis dan nekrosis pada sel kanker, misalnya pada jurkat limfosit T,  $H_2O_2$  ditemukan dalam dua efek. Konsentrasi rendah menyebabkan sel mengalami apoptosis melalui aktivasi caspase; konsentrasi tinggi, tidak terdeteksi aktivitas caspase dan sel sehingga mengalami nekrosis lalu mati.<sup>5</sup>

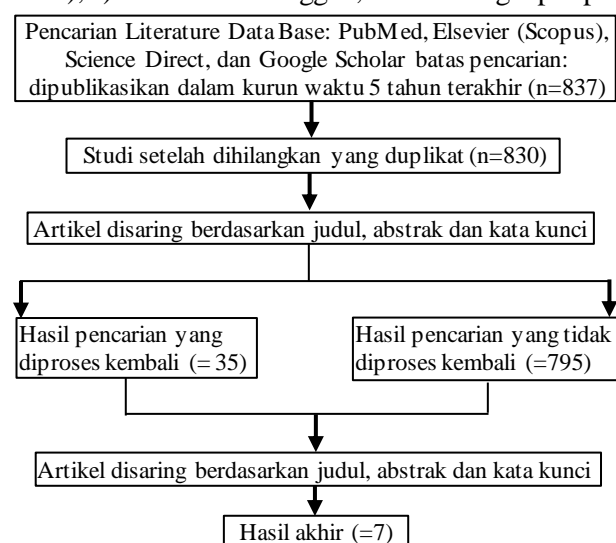
### METODE

Artikel berupa penelitian kepustakaan berupa *systematic review*. Tinjauan sistematis ini dilakukan mengikuti panduan *preferred reporting items for systematic review* dan *meta-analyses* (PRISMA).

Sumber penulisan ini didapatkan dari artikel yang terkait dengan topik *marine sponges, oral squamous cell carcinoma, antiproliferation, apoptosis*, yaitu di *Google Scholar, Science Direct, PubMed, dan Elsevier (Scopus)*.

### Kriteria kelayakan

Artikel dipilih berdasarkan kriteria inklusi 1) original, 2) diterbitkan selama lima tahun terakhir (2018–2023), 3) dalam bahasa Inggris, dan teks lengkap dapat



Gambar 1 Proses pencarian artikel

diakses. Artikel dieksklusi jika 1) hanya berupa abstrak, tidak dapat diakses, atau 2) tinjauan pustaka. Informasi yang dimasukkan berupa nama penulis, tahun terbit, judul jurnal, sampel, hasil dan simpulan.

## HASIL

Berdasarkan hasil pencarian pustaka yang dilakukan mulai tanggal 15-25 Mei 2023, dengan menggunakan kata kunci yang telah ditentukan, artikel disaring berdasarkan kriteria penelusuran yang telah ditetapkan dan dapat diakses keseluruhan teks. Diperoleh 7 artikel dan dimasukkan dalam penilaian kualitas akhir yang dan dilakukan sintesis artikel (Tabel 1).

## PEMBAHASAN

Penelitian yang pertama oleh Wang et al mengamati ekstrak manolide antibiotik sesterterpenoid yang diisolasi dari *Luffariella variabilis*, menunjukkan aktivitas antioksidan yang menginduksi produksi ROS sehingga menyebabkan stres oksidatif yang berperan terhadap terjadinya apoptosis dan kerusakan DNA pada sel kanker mulut. Hal ini ditandai dengan manolide-dose-responsif yang menurunkan viabilitas sel kanker oral (CAL27, Ca9-22, HSC3, OECM-1, SCC9, dan OC-2), tetapi hanya sedikit menurunkan sel normal (fibroblas gingiva manusia (HGF-1)). Diantara sel-sel kanker mulut, sel Ca9-22 dan CAL27 dengan lokasi yang berbeda di mulut (gingiva dan lidah) menunjukkan sitotoksitas yang lebih tinggi pada pengobatan manolide.<sup>4</sup>

Manolide dapat membunuh sel kanker mulut dengan menginduksi stres oksidatif seperti produksi ROS dan *mitochondrial superoxide* (MitoSOX), serta depolarisasi membran potensial (MitoMP). Tekanan oksidatif ini dapat menyebabkan kerusakan-kerusakan untai ganda DNA dan kerusakan DNA 8-oxodG DNA oksidatif. Kerusakan DNA dapat menyebabkan apoptosis dan menghambat proliferasi, akhirnya, stres oksidatif dan perubahan kerusakan DNA ini bekerja sama untuk menginduksi apoptosis dan menyebabkan antiproliferasi preferensi sel kanker mulut. Selain itu, apoptosis juga dapat mengatur kerusakan DNA dan stres oksidatif.<sup>4</sup>

Dalam penelitian keduanya, Wang et al. Membuktikan interaksi manolide (10  $\mu$ M, 6h) menginduksi DCFH-DA, HPF, DAF-FM, dan DHE mendeteksi spesies reaktif seluler dan menginduksi spesies reaktif mitokondria yang terdeteksi MitoSOX Red, yang masing-masing dihambat oleh pretreatment N-acetylcysteine (NAC) dan MT. Spesies reaktif seluler ini menginduksi spesies reaktif mitokondria yang terdeteksi MitoSOX Red, yang divalidasi oleh keberadaan NAC. Spesies reaktif mitokondria ini dapat menginduksi spesies re-

aktif seluler, yang divalidasi oleh keberadaan MT; ini menunjukkan aktivasi timbal balik antara spesies reaktif seluler dan mitokondria setelah pengobatan manolide pada sel kanker rongga mulut. Selain itu, manolide menginduksi apoptosis, yang ditekan oleh NAC, MT, dan ZVAD, menunjukkan bahwa spesies radikal seluler dan mitokondria dapat memicu apoptosis. Apoptosis menginduksi spesies reaktif seluler dan mitokondria, yang divalidasi oleh kehadiran ZVAD; menunjukkan aktivasi timbal balik antara spesies reaktif (seluler dan mitokondria) dan apoptosis. Mekanisme induksi dan interaksi multifaset untuk spesies reaktif seluler dan mitokondria terhadap apoptosis pada sel kanker mulut ini dapat diobati dengan manolide.<sup>5</sup>

Efek positif manolide dalam menginduksi apoptosis sel kanker ditemukan juga oleh Peng, S-Y., dengan mekanisme yang berbeda. Penelitian ini mengamati peran stres ER dalam antiproliferasi preferensi dan menginduksi ekspansi ER yang lebih tinggi serta akumulasi kanker mulut yang agresif daripada sel normal. Secara umum, manolide menunjukkan pengaruh yang berbeda terhadap ekspresi mRNA dan protein gen terkait stres ER (PERK, IRE1 $\alpha$ , ATF6, dan BIP) yang lebih tinggi pada sel kanker mulut daripada sel normal. Thapsigargin dalam ER, meningkatkan antiproliferasi, aktivasi caspase 3/7, dan autophagy sel kanker mulut. Selain itu, NAC sebagai ROS *inhibitor* membalikkan respons stres ER, membentuk aggresome, dan antiproliferasi sel kanker mulut. Oleh karena, stres ER dari sel kanker mulut melalui pengobatan dengan manolide sangat dianjurkan untuk efek antiproliferasinya.<sup>6</sup>

Mekanisme kematian sel OSCC karena stress ER juga ditemukan oleh Kuo T-J et al., pada Triterpena stelletin B yang diekstrak dari *J. stellifer* dapat menginduksi apoptosis dan autofagi. Penelitian ini mengevaluasi efek triterpen stelletin B yang diturunkan dari laut dalam sel OC2 dan SCC4 manusia. Dosis stelletin B secara dependen menurunkan viabilitas kedua jalur sel, dengan penurunan yang signifikan pada sel OC2 pada  $\geq 0,1 \mu$ M pada 24 dan 48 jam, dan pada sel SCC4 pada  $\geq 1 \mu$ M pada 24 dan 48 jam. Terminal *deoxynucleotidyl transferase* dUTP *nick-end labeling* (TUNEL)-sel positif diamati secara signifikan pada 20  $\mu$ M stelletin B pada 48 jam, dengan ekspresi berlebih dari caspase 3 yang dibelah dan poli(ADP-ribosa) polimerase (PARP) yang dibelah. Selain itu, fungsi pernapasan mitokondria dihilangkan oleh stelletin B. Rasio LC3-II/LC3-I terkait autophagy dan protein Beclin-1 meningkat, sedangkan p62 menurun. Pada 20  $\mu$ M pada 48 jam, tingkat ekspresi biomarker stres endoplasma (ER) calnexin dan BiP/GRP78 meningkat secara signifikan dan jalur *mitogen-activated protein kinase* (MAPK) teraktivasi. Penyelidikan lebih lanjut menggunakan autophagy inhibitor 3-methyladenine (3-MA) menunjuk-

Tabel 1 Analisis sintesis artikel

Penulis, Tahun	Judul artikel	Subjek Penelitian	Hasil dan Simpulan
Wang H-R <i>et al</i> 2019 <sup>6</sup>	Manoalide preferentially provides antiproliferation of oral cancer cells by oxidative stress-mediated apoptosis and DNA damage	<i>Luffariella variabilis</i>	Manoalide antibiotic sesterterpenoid yang diisolasi dari <i>Luffariella variabilis</i> menunjukkan aktivitas antioksidan yang menginduksi produksi ROS menyebabkan stres oksidatif yang berperan terhadap terjadinya apoptosis dan kerusakan DNA pada sel kanker mulut.
Wang H-R <i>et al</i> 2021 <sup>7</sup>	Manoalide shows mutual interaction between cellular and mitochondrial reactive species with apoptosis in oral cancer cells	<i>Luffariella variabilis</i>	Manoalide antibiotic sesterterpenoid yang diisolasi dari <i>Luffariella variabilis</i> menunjukkan efek penghancuran sel yang terdeteksi setelah paparan singkat dengan menghasilkan oksidatif stress NAC, Mito-TempoMT dan ZVAD sel kanker mulut.
Peng S-Y <i>et al</i> 2023 <sup>8</sup>	Oxidative-stress-mediated ER stress is involved in regulating manoalide-induced antiproliferation in oral cancer cells	<i>Luffariella variabilis</i>	Manoalide memicu stres ER yang lebih tinggi pada sel kanker mulut, meningkatkan ekspansi ER dan akumulasi aggresome serta regulasi gen terkait stres ER, sehingga meningkatkan efek antiproliferasi dan apoptosis. Stres ER yang dipicu oleh manoalide sangat penting dalam mengendalikan pertumbuhan dan kematian sel kanker mulut.
Kuo T-J <i>et al</i> 2022 <sup>9</sup>	Stelletin B-induced oral cancer cell death via endoplasmic reticulum stress-mitochondrial apoptotic and autophagic signaling pathway	<i>J. stellifera</i>	Triterpena stelletin B yang diekstrak dari <i>J. stellifera</i> menginduksi apoptosis dan autofagi yang disebabkan oleh stres ER, stres mitokondria dan aktivasi MAPK sehingga terjadi kematian sel OSCC. Hal ini membuktikan potensi stelletin B dapat dikembangkan lebih lanjut sebagai pengobatan kanker.
Lin C-W <i>et al</i> 2020 <sup>10</sup>	Iliquinone induces apoptosis & autophagy in human oral squamous cell carcinoma cells	<i>Halichondria</i> sp	IQ menunjukkan anti-viabilitas terhadap sel OSCC (SCC4 & SCC2095) dalam konsentrasi dan waktu tertentu. Konsentrasi IQ 7,5 µM pada sel SCC4 dan 8,5 µM pada sel SCC2095 mengurangi viabilitas sel 50% setelah 48 jam, menunjukkan IQ menginduksi apoptosis. IQ memicu autophagy pelindung daripada kematian sel autophagic. IQ berpotensi sebagai pengobatan OSCC. METS menurunkan viabilitas sel kanker mulut (Ca9-22 dan CAL27) sebagai efek antitumor pada sel tersebut. METS aman digunakan pada sel-sel normal. NAC yang diinduksi oleh METS mampu mengurangi efek antiproliferasi pada sel kanker mulut, stres oksidatif mengatur peningkatan subG1 dan apoptosis, menghambat aktivasi caspase 3 dan 3/7. METS merupakan produk alami yang menjanjikan dari spons laut untuk pengobatan kanker oral.
Shiau J-P <i>et al</i> 2022 <sup>11</sup>	Antiproliferation effects of marine sponges derived methanol extract of Theonella swinhoei in oral cancer cells in vitro	<i>Theonella swinhoei</i>	
Nazemi M <i>et al</i> 2020 <sup>12</sup>	Cytotoxicity activity and drugability studies of stigmasterol isolated from marine sponge dysidea avara against oral epithelial cancer cell (KB/C152) and T-lymphocytic leukemia cell line (Jurkat/E6-1)	<i>Dysidea avara</i>	Stigmasterol, senyawa yang ditemukan pada spons laut <i>Dysidea avara</i> , memiliki sifat farmakologi yang dapat menginduksi apoptosis dan menunjukkan efek sitotoksik yang kuat pada sel KB/C152 dibandingkan dengan sel Jurkat/E6-1. Stigmasterol menunjukkan sifat obat dan potensi sitotoksik yang lebih baik.

kan bahwa itu mengurangi kematian sel dan autophagy yang diinduksi stelletin B. Secara keseluruhan, menunjukkan bahwa stelletin B menginduksi stres ER, stres mitokondria, apoptosis, dan autophagy, menyebabkan kematian sel pada sel OSCC.<sup>7</sup>

Potensi lain dalam pengobatan OSCC ditunjukkan oleh *ilimaquinone* (IQ) berdasarkan aktivitas antitumor, kuinon seskui-terpen yang diisolasi dari spons laut *Halichondria* sp. Hal ini ditemukan oleh Lin *et al*, bahwa IQ menekan viabilitas garis sel OSCC SCC4 dan SCC-2095 dengan nilai IC<sub>50</sub> masing-masing 7,5 dan 8,5 µM. Analisis *flow cytometric* menunjukkan bahwa IQ menginduksi apoptosis yang bergantung pada caspase dalam sel SCC4 dan memodulasi ekspresi beberapa produk gen terkait pertumbuhan sel, termasuk Akt, p38, Mcl-1, dan p53. Khususnya, knockdown p53 menyebabkan resistensi yang lebih tinggi terhadap aktivitas anti-tumor IQ. Selain itu, IQ meningkatkan generasi spesies oksigen reaktif, yang sebagian dibalik dengan penambahan antioksidan. Selain itu, memicu autophagy, yang dibuktikan dengan pembentukan organel asam dan ekspresi LC3B-II dan Atg5 dalam sel SCC4. Pretreatment dengan inhibitor autophagy 3-methyladenine atau chloroquine sebagian menurunkan apoptosis yang diinduksi IQ, menunjukkan bahwa autophagy pelindung yang diinduksi IQ.<sup>8</sup>

roquine sebagian menurunkan apoptosis yang diinduksi IQ, menunjukkan bahwa autophagy pelindung yang diinduksi IQ.<sup>8</sup>

Kuo, *et al*, mengevaluasi efek triterpen stelletin B yang diturunkan dari laut dalam sel OC2 dan SCC4 manusia. Dosis stelletin B secara dependen menurunkan viabilitas kedua jalur sel, dengan penurunan yang signifikan pada sel OC2 pada ≥0,1 µM pada 24 dan 48 jam, dan pada sel SCC4 pada ≥1 µM pada 24 dan 48 jam. Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick-end labeling (TUNEL)-sel positif diamati secara signifikan pada 20 µM stelletin B pada 48 jam, dengan ekspresi berlebih dari caspase 3 yang dibelah dan poli(ADP-ribosa) polimerase (PARP) yang dibelah. Selain itu, fungsi pernapasan mitokondria dihilangkan oleh stelletin B. Rasio LC3-II/LC3-I terkait autophagy dan protein Beclin-1 meningkat, sedangkan p62 menurun. Pada 20 µM pada 48 jam, tingkat ekspresi biomarker stres endoplasma (ER) calnexin dan BiP/GRP78 meningkat secara signifikan dan jalur pensinyalan MAPK teraktivasi mitogen diaktifkan. Penyelidikan lebih lanjut memaknai autophagy inhibitor 3-MA menunjukkan bahwa itu mengurangi kematian sel dan autophagy yang diinduksi IQ.

duksi stellettin B. Secara keseluruhan, tampak bahwa stellettin B menginduksi stres ER, stres mitokondria, apoptosis, dan autophagy, menyebabkan kematian sel pada sel OSCC.<sup>9</sup>

Sampel berbeda digunakan oleh Shiau et al dan menemukan produk alami yang menjanjikan dari *marine sponges* untuk pengobatan kanker mulut. *Methanol extracts of T. swinhoei* (METS) terbukti memiliki efek antiproliferasi dan mengeksplorasi respons sel kanker mulut secara rinci dibandingkan dengan sel normal. METS secara efektif menghambat proliferasi sel kanker oral tetapi tidak memengaruhi kelangsungan hidup sel normal, menunjukkan fungsi antiproliferasi preferensial. METS mengerahkan lebih banyak akumulasi subG1, induksi apoptosis, stres oksidatif seluler dan mitokondria, dan kerusakan DNA daripada sel normal, dikembalikan oleh penghambat stres oksidatif NAC. Stres oksidatif yang disebabkan oleh METS ini divalidasi untuk dikaitkan dengan penurunan regulasi glutathione. METS mengaktifkan caspase ekstrinsik dan intrinsik. Istirahat untai ganda DNA ( $\gamma$ H2AX) dan kerusakan DNA oksidatif (8-hidroksi-2deoksiguanosin) distimulasi oleh METS; untuk pertama kalinya, penyelidikan ini menyoroti fungsi dan respons antiproliferasi preferensial METS dalam sel kanker mulut.<sup>10</sup>

Mekanisme agen antikanker menyebabkan apoptosis OSCC juga dibuktikan oleh Nazemi, *et al* melalui sitotoksik stigmasterol yang diekstrak dari *Dysidea avara* terhadap sel kanker epitel oral (KB/C152) dan garis sel leukemia limfositik T (Jurkat/E6-1). Stigmasterol menunjukkan efek sitotoksitas pada KB/C152 dengan kisaran IC50 masing-masing 81,18 dan 103,03  $\mu$ g/mL. Docking molekuler menunjukkan bahwa stigmasterol terikat secara stabil ke situs aktif protein tirosin kinase (PTKs) dan reseptor faktor pertumbuhan epidermal. Senyawa tersebut menunjukkan sifat farmakokinetik yang diinginkan. Temuan ini menunjukkan bahwa stigmasterol memiliki potensi antikanker yang prospektif tetapi diperlukan studi praklinis untuk menjelajahi aplikasi terapeutiknya.<sup>11</sup>

Disimpulkan bahwa *marine sponges* berpotensi sebagai inhibitor OSCC melalui mekanisme dan senyawa yang berbeda. Stellettin B menginduksi apoptosis dan autofagi dengan memengaruhi stres ER dan stres mitokondria dan mengaktifkan pensinyalan MAPK, efek antiproliferasi METS efektif dalam sel kanker mulut yang dikaitkan dengan ekspresi stres oksidatif sel dan mitokondria yang lebih tinggi menyebabkan apoptosis, dan kerusakan DNA. Produk alami yang berasal dari spons laut yang menjanjikan untuk pengobatan kanker mulut.

#### DAFTAR PUSTAKA

1. Dohude GA, Amaliah R. Tingkat pengetahuan dokter gigi mengenai deteksi dini karsinoma sel skuamosa rongga mulut. *Padjadjaran Journal of Dental Researchers and Students* 2022; 6(2): 137-43.
2. Jain A. Molecular pathogenesis of oral squamous cell carcinoma. *IntechOpen* 2020. 1-16
3. Varijakzhan D, Loh J.-Y, Yap W.-S, Yusoff K, Seboussi R, Lim S.-HE, et al. Bioactive compounds from marine sponges: fundamentals and applications. *Mar Drugs* 2021; 19: 246. <https://doi.org/10.3390/md19050246>
4. Divedi R, Pandey R, Chandra S, Mehrotra D. Apoptosis and genes involved in oral cancer-a comprehensive review. *Oncol Rev* 2020; 14(472): 108-17
5. Hikmah F, Hardiany NS. Peran reactive oxygen species dalam sel punca kanker. *Jurnal Kedokteran YARSI* 2021; 29 (3): 120-34
6. Wsang. Manoalide preferentially provides antiproliferation of oral cancer cells by oxidative stress-mediated apoptosis and DNA damage. *Cancers* 2019; 11:1303
7. Wang. Manoalide shows mutual interaction between cellular and mitochondrial reactive species with apoptosis in oral cancer cells. *Hindawi Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2021;1-14
8. Peng S-Y, Tang J-Y, Lan T-H, Shiau J-P, Chen K-L, Jeng J-H et al. Oxidative-stress-mediated ER stress is involved in regulating manoalide-induced antiproliferation in oral cancer cells. *Int J Mol Sci* 2023;24:3987. <https://doi.org/10.3390/ijms24043987>
9. Kuo T-J, Jean Y-H, Shih P-C, Cheng S-Y, Kuo H-M, Lee Y-T, et al. Stellettin B-induced oral cancer cell death via endoplasmic reticulum stress-mitochondrial apoptotic and autophagic signaling pathway. *Int J Mol Sci* 2022; 23: 8813. <https://doi.org/10.3390/ijms23158813>
10. Lin. Ilimaquinone induces apoptosis and autophagy in human oral squamous cell carcinoma cells. *Biomed* 2020; 8(296): 1-11
11. Shiau J-P, Chuang Y-T, Tang J-Y, Chen S-R, Hou M-F, Jeng J-H, et al. Antiproliferation effects of marine-sponge-derived methanol extract of *Theonella swinhoei* in oral cancer cells in vitro. *Antioxidants* 2022; 11: 1982. <https://doi.org/10.3390/antiox11101982>
12. Melika N. Cytotoxicity activity and druggability studies of stigmasterol isolated from marine sponge *dysidea avara* against oral epithelial cancer cell (KB/C152) and T-lymphocytic leukemia cell line (Jurkat/E6-1). *Asian Pac J Cancer Prev* 2020; 21(4): 997-1003