

Pigmen Spirulina sebagai Senyawa Antikanker

Prasetyandaru Pirenantyo,¹ Leenawaty Limantara,^{1,2}

¹Magister Biologi, Universitas Kristen Satya Wacana, ²Ma Chung Research Center for Photosynthetic Pigments, Universitas Ma Chung, Malang

ABSTRAK

Spirulina, ganggang hijau biru yang berbentuk spiral, mengandung fitonutrisi yang cukup lengkap dan berpotensi sebagai agen antikanker yang efektif. Fikosianin, klorofil a, dan karotenoid adalah pigmen-pigmen yang dikandung Spirulina. Artikel ini merangkum berbagai penelitian *in vivo* dan *ex vivo* yang melaporkan ketiga pigmen tersebut merupakan antioksidan kuat. Bahkan, beberapa laporan mencatat bahwa turunan klorofil a juga berpotensi sebagai antimutagen, induktor apoptosis, dan fotosensitizer untuk PDT (Fotodinamika Terapi Kanker). PDT diharapkan memberikan harapan baru dalam terapi kanker. Namun demikian, tidak hanya pigmen yang berperan sebagai antioksidan dalam terapi penyembuhan kanker dengan Spirulina, nutrisi lain seperti asam lemak GLA (*gamma linoleic acid*), enzim superoksida dismutase (SOD), dan oligosakarida juga turut berperan sebagai senyawa antikanker. Spirulina dijual dalam bentuk suplemen golongan CAM (*Complementary and Aternative Medicine*). Terapi dengan mengkonsumsi spirulina cair, tablet, kapsul, ataupun bubuk secara teratur menawarkan sebuah jawaban bagi mereka yang sedang bergumul dengan kanker stadium awal jika ingin menghindari pembedahan, radioterapi, ataupun kemoterapi.

Kata kunci : spirulina, fikosianin, klorofil a, karotenoid, antioksidan, complementary and alternative medicine

ABSTRACT

Spirulina, a spiral blue-green microalgae, contains phytonutrients which are potential as effective anticancer agents. Phycocyanin, chlorophyll a, and carotenoids are pigments in Spirulina. This article review some in vivo and ex vivo antioxidant studies. It is reported that these pigments performed strong antioxidant properties in different various research methods. Futhermore, chlorophyll a derivatives were stated to be potential mutagen trapper, apoptosis inductor, and photosensitizer in photodynamic cancer therapy (PDT). PDT is expected to be promising cancer therapy for the future oncology subject. However, other nutrients such as gamma linoleic acid (GLA), superoxide dismutase (SOD) and olygosaccharide also contribute as a potential adjunct to cancer therapy. Spirulina is widely distributed as supplement. It is categorized to Complementary and Alternative Medicine (CAM). When patients who deal with early stage cancer decide to avoid surgery, radiotherapy, and chemotherapy; cancer therapy and immunotherapy by consuming liquid spirulina, spirulina powder, tablets, or capsules could be a reasonable solution.

Key words : spirulina, phycocyanin, chlorophyll a, carotenoids, antioxidant, complementary and alternative medicine

PENDAHULUAN

"Delapan ratus ribu orang Indonesia terserang kanker tiap tahun". Kalimat tersebut merupakan salah satu judul liputan artikel yang dimuat oleh Suara Pembaruan

edisi 14 Mei 2007. Secara global, kasus kanker dalam dekade terakhir cenderung meningkat. Di Indonesia, kanker yang khususnya didiagnosis secara patologis oleh RS. Kanker "Dharmais" dalam lima tahun terakhir memang meningkat. Jenis kanker yang banyak

ALAMAT KORESPONDENSI

Prasetyandaru Pirenantyo, S.Pd. MSi
Jl. Diponegoro 52-60, Salatiga

E-mail : prasetyandaru.pirenantyo@yahoo.com

ditangani rumah sakit tersebut adalah kanker payudara, leher rahim, paru, kelenjar getah bening, kolorektal (usus besar), hati dan kanker ovarium.

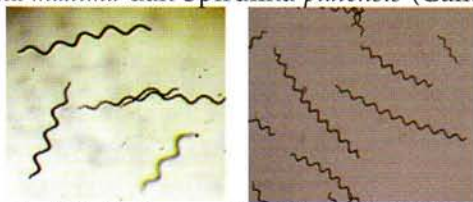
Para ahli 'berperang' terhadap kanker sejak 1970. Penelitian untuk menemukan senyawa terapi kanker yang efektif-pun telah banyak dilakukan. Salah satunya adalah penelitian mengenai fitonutrisi. Fitonutrisi adalah elemen nutrisi yang memberikan buah, sayuran ataupun tumbuhan warna, aroma, dan rasa yang khas.

Banyak fitonutrisi telah menunjukkan khasiatnya untuk memperlambat satu atau lebih proses karsinogenesis pada hewan dan manusia. Tergantung dari sistem penelitian yang digunakan, fitonutrisi dapat secara langsung menonaktifkan proses mutagenesis dan karsinogenik serta memperlambat proses kanker dengan cara membatasi pengiriman pesan berkembangnya perubahan sel yang sehat ke sel yang telah terinfeksi.

PIGMENT SEBAGAI FITONUTRISI DAN SUPLEMEN SPIRULINA

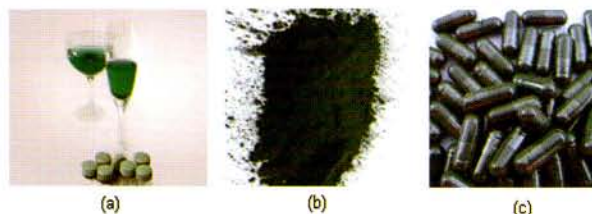
Pigmen-pigmen fotosintesis yang terkandung pada tumbuhan tingkat tinggi dan pada semua organisme yang berfotosintesis adalah contoh sub-grup dari beberapa golongan fitonutrisi. Contoh pigmen fotosintesis yang telah banyak kita kenal adalah klorofil a dan klorofil b. Kedua pigmen tersebut terkandung pada mayoritas daun-daun tumbuhan tingkat tinggi. Ketika masih duduk di tingkat sekolah dasar hingga menengah pertama, kita telah mengenal klorofil sebagai 'zat hijau daun' yang menyebabkan daun berwarna hijau.

Selama dua dekade terakhir, usaha eksplorasi pigmen-pigmen sebagai suplemen fitonutrisi tidak hanya terbatas dari tumbuhan tingkat tinggi, namun juga dari mikroalga. *Chlorella*, *Spirulina* sp., *Haematococcus pluvialis*, dan *Dunaliella* adalah beberapa contoh mikroalga sumber pigmen yang dikultivasi secara komersial di Jepang, Thailand, Cina, California, dan Hawaii untuk diaplikasikan menjadi suplemen kesehatan. *Spirulina* sp. adalah mikroalga hijau-biru yang berbentuk spiral dengan ukuran 3-5 mm panjangnya. Mikroalga ini memiliki kandungan fitonutrisi yang cukup lengkap dan berpotensi sebagai senyawa antikanker yang efektif. Dua contoh strain *Spirulina* yang banyak ditumbuhkan dalam skala industri untuk kepentingan komersial adalah *Spirulina maxima* dan *Spirulina platensis* (Gambar 1.)



Gambar 1. (a) *Spirulina maxima* (Tietze H, 2004) dan (b) *Spirulina platensis* (Foto hasil penelitian)

Pada umumnya, biomassa *Spirulina* sp. diolah oleh industri makanan kesehatan dan pakan ternak untuk diaplikasikan menjadi suplemen kesehatan, pelet ikan dan pakan unggas. Sebagai suplemen, *Spirulina* termasuk golongan CAM (*Complementary and Alternative Medicine*). Suplemen *Spirulina* dapat dijumpai dalam bentuk bubuk, cair, tablet, dan kapsul (Gambar 2).



Gambar 2.

(a) spirulina cair dan tablet spirulina (Majalah Trubus 442, 2006); (b) bubuk *Spirulina*; dan (c) kapsul *Spirulina* (www.feenkraut.de)

Terapi penyembuhan kanker dengan mengonsumsi suplemen *Spirulina* dalam bentuk cair, tablet, kapsul, ataupun bubuk secara teratur kemungkinan dapat memberikan harapan bagi mereka yang bergumul dengan kanker stadium awal jika ingin menghindari pembedahan, radioterapi, ataupun kemoterapi. Trubus edisi Senin, 4 September 2006 melaporkan bahwa benjolan seorang pengidap kanker payudara stadium II B mengecil setelah dua pekan mengonsumsi 1 sachet spirulina cair setiap hari. Hasil pemeriksaan di RSPAD Gatot Subroto, sel kanker mengecil dari $2,5 \times 1,5 \times 1,0 \text{ cm}^3$ menjadi $1 \times 0,62 \times 0,62 \text{ cm}^3$ dan bobot tubuh meningkat dari 45 kg menjadi 50 kg.

Keampuhan suplemen *Spirulina* dalam terapi penyembuhan kanker stadium awal memang belum teruji secara klinis. Namun demikian, beberapa penelitian melaporkan bahwa ekstrak fitonutrisi atau nutrisi *Spirulina* lainnya berkhasiat menghambat kelangsungan hidup sel kanker. Artikel ini mengulas tentang penelitian-penelitian fitonutrisi *Spirulina* sebagai senyawa antikanker, yang dibahas dari sudut pandang pigmen.

Alasan utama penulis mengangkat topik pigmen adalah karena kandungan pigmen *Spirulina* yang lebih bervariasi dibandingkan dengan kultur mikroalga komersial lainnya. Beberapa contoh penelitian mengenai pigmen pada *Spirulina* sebagai senyawa antikanker akan dibahas lebih lanjut pada bagian selanjutnya.

PIGMENT-PIGMENT SPIRULINA SEBAGAI SENYAWA ANTIKANKER

Kandungan pigmen pada *Spirulina* akan berbeda antara satu habitat dengan habitat lainnya. Variasi perbedaan tergantung dari tempat tumbuh dan lingkungannya sebagai konsekuensi dalam proses adaptasi. Komposisi pigmen *Spirulina* adalah fikosianin, klorofil a, dan karotenoid. Pigmen yang paling dominan adalah fikosianin, diikuti oleh klorofil a, dan karotenoid (Tabel 1).

Tabel 1. Pigmen pada bubuk spirulina

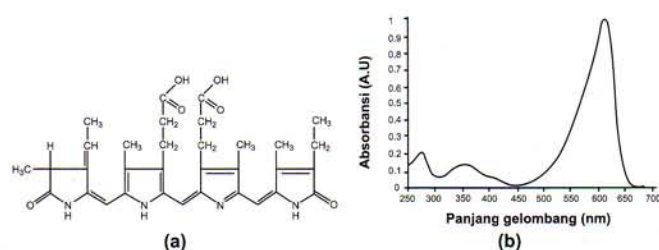
Pigmen	mg.100g ⁻¹
Karotenoid	370
Klorofil a	1000
Fikosianin	14000

Sumber: Belay, 1997

Seiring berkembangnya penelitian bioteknologi dan kesadaran mengenai kebutuhan fitonutrisi, para peneliti berusaha memodifikasi metode kultivasi *Spirulina* agar produksi senyawa antioksidan (fitonutrisi) menjadi maksimal. Salah satu contoh adalah penelitian Abd El-Baky dkk, 2007. Dalam penelitian tersebut, *Spirulina platensis* dikultivasi di kondisi stres oksidatif; yaitu di media yang mengandung hidrogen peroksida pada beberapa variasi konsentrasi. Dalam kondisi lingkungan seperti ini, diharapkan level zat bioaktif yang terkandung dapat meningkat. Hasilnya, kandungan astaxantin, lutein dan α -tokoferol meningkat seiring peningkatan level H_2O_2 pada media. Sampai saat ini, rekayasa biokimia seperti ini dan penerapan bioteknologi lainnya terus dilakukan dengan harapan memaksimalkan produksi senyawa antioksidan dari mikroalga *Spirulina*.

FIKOSIANIN

Salah satu pigmen *Spirulina* yang utama adalah fikosianin. Dari asal katanya, fikosianin berasal dari bahasa Yunani *phyco* yang berarti alga dan *cyan* untuk arti biru. Pigmen biru terang yang hanya dapat ditemukan pada ganggang hijau biru ini, membantu klorofil menyerap cahaya pada rentang panjang gelombang 580–620 nm. Interval tersebut adalah cahaya yang tidak dapat diserap oleh klorofil. Berdasarkan fungsinya, pigmen yang memiliki struktur kromofor berbentuk rantai cincin tetrapirrol terbuka (fikosianobilin (PCB)) ini disebut sebagai pigmen aksesoris-permanen cahaya (Gambar 3a). Namun demikian, berdasarkan kuantitasnya pada *Spirulina*, fikosianin disebut sebagai pigmen utama selain klorofil. Bersama-sama dengan klorofil, fikosianin ikut menyumbangkan karakteristik warna hijau-biru *Spirulina*. Spektra serapan maksimumnya adalah 615–620 nm (Gambar 3b).



Gambar 3. (a) struktur c-fikosianin; dan (b) spektrum serapan c-fikosianin

Penelitian mengenai fikosianin terus dilakukan secara mendalam kurang lebih 7 tahun terakhir ini. Fikosianin adalah antioksidan kuat yang mudah larut dalam air. Peneliti di Spanyol menunjukkan bahwa ekstrak *Spirulina* yang mengandung fikosianin berpotensi untuk memecah radikal bebas dan menghambat oksidasi lemak mikrosomal oleh peroksida.⁴⁹

Seorang peneliti Pusat Medis untuk Kanker dan Penyakit Kardiovaskular di Osaka, menyatakan bahwa *Spirulina* berpotensi meningkatkan sistem imun yang memiliki keuntungan dapat menekan perkembangan sel kanker dan infeksi viral.³¹ Studi klinis terhadap beberapa pasien menunjukkan bahwa air panas ekstrak *Spirulina* yang banyak mengandung fikosianin dan dikonsumsi secara oral meningkatkan produksi interferon dan NK sitoksisitas (pembunuh sel kanker).

Pada tahun 2000, penelitian menunjukkan bahwa c-fikosianin dari *Spirulina platensis* menghambat pertumbuhan sel leukemia K562 pada manusia.³⁸ Efek fikosianin ini pertama kali dipelajari dengan menumbuhkan sel K562 pada kultur setengah padat dengan konsentrasi 20, 40, 80, dan 160 mg⁻¹. Hasil menunjukkan bahwa penghambatan pertumbuhan sel K562 oleh fikosianin bergantung pada konsentrasi. Dari hasil statistik, fikosianin secara signifikan menghambat sel leukemia itu pada konsentrasi 80 dan 160 mg⁻¹.

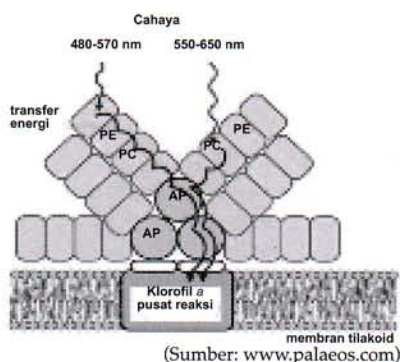
Peroksinitrit (ONOO⁻) diketahui menonaktifkan sel-sel targetnya dan dapat mempercepat kerusakan oksidasi pada DNA. Sebuah penelitian membuktikan bahwa fikosianin dari *Spirulina platensis* dan kromofornya, pikosianobilin (PCB) secara efektif berhasil meredam ONOO⁻, racun anorganik yang berbahaya bagi tubuh.¹⁰ Peredaman ONOO⁻ oleh fikosianin dan pikosianobilin diketahui berdasarkan studi terhadap interaksi mereka dengan ONOO⁻ dan dikalkulasikan dengan metode kompetisi kinetik *pyrogallol red bleaching*. Namun demikian, rasio antioksidan relatif terhadap nilai IC₅₀ sangat jelas mengindikasikan bahwa fikosianin merupakan peredam ONOO⁻ yang lebih efisien dibandingkan dengan PCB.

Penelitian lainnya dilakukan oleh peneliti di Cairo, Mesir tahun 2003. Hasil studi menunjukkan bahwa ekstrak fikosianin dari *S. platensis* dan *S. maxima*, tergantung pada dosisnya, secara signifikan menghambat pertumbuhan *Ehrlich Ascites Carcinoma Cells* (EACC) yang dievaluasi berdasarkan tingkat kelangsungan hidup sel.²⁹ Secara berurutan kedua alga itu mengurangi kelangsungan hidup sel kanker sebesar 23,6 dan 26,2%. Fikosianin juga tidak menginduksi DNA fragmentasi di EACC. Penemuan ini mengindikasikan bahwa ada kemungkinan untuk fikosianin mampu menghambat pertumbuhan EACC oleh membran destruktur, dimana mulai pecahnya unsur pokok sel ditandai dengan meningkatnya aktivitas enzim LDH (laktat dehidrogenase) dan GST (*gluthathione S- transferase*). Oleh sebab itu, fikosianin diperkirakan

memiliki aktivitas antitumor dan dapat digunakan sebagai senyawa kemopreventif.

Klorofil a

Klorofil a terdapat pada seluruh organisme yang mampu melakukan fotosintesis oksigenik. Klorofil berperan sebagai fotoreseptor pemanen energi matahari untuk proses fotosintesis melalui mekanisme transfer elektron. Pada *Spirulina*, klorofil a terletak di pusat reaksi (Gambar 4), menerima transfer energi dari fikobilisom (grup biliprotein dimana tempat fikosianin (PC) tersusun) yang berfungsi sebagai pemanen cahaya.



Gambar 4. Fikobilisom

Agar tidak tercampur dengan klorofil lainnya, ekstraksi klorofil a dari biomassa *Spirulina* sp. dapat menjadi sebuah jawaban untuk memperoleh ekstrak pigmen ini pada skala industri. *Spirulina* sp. merupakan salah satu mikroalga yang mengandung cukup tinggi klorofil a selain ganggang hijau *Chlorella*. Selain itu, ekstraksi klorofil a dari *Spirulina* sp. lebih murah dibandingkan dengan *Chlorella* karena *Spirulina* sp memiliki dinding sel yang tidak setebal *Chlorella*. Sebagai keuntungannya, tidak dibutuhkan energi listrik sebesar yang dibutuhkan *Chlorella* untuk sonikasi (pemecahan dinding sel) dan ultra sentrifugasi dalam proses ekstraksi klorofil a.

Klorofil dan turunannya telah diketahui memiliki efek antikanker kurang lebih sejak 70 tahun yang lalu. Saat ini, sudah bukan merupakan rahasia lagi bahwa dengan banyak mengonsumsi sayuran dan makanan hijau tidak hanya dapat mencegah kanker tetapi juga membantu detoksifikasi, meningkatkan daya tahan tubuh dan energi level.

Pencegahan kanker dan diet ketat fitoterapi, khususnya klorofil, telah menarik perhatian peneliti-peneliti untuk mempelajari hubungan diantara keduanya. Dalam penelitian-penelitian mereka, diet klorofil yang diberikan pada umumnya berupa klorofilin (*Sodium Copper Chlorophyllin*) atau suplemen maupun sayuran yang kandungan klorofilnya tinggi, seperti *Spirulina* atau brokoli. *Sodium Copper Chlorophyllin* (SCC) adalah larutan semisintetik turunan Cu-klorin yang

klorofil dan feofitin telah menunjukkan aktifitas proteksi terhadap autooksidasi minyak sayur di kondisi gelap.^{25,28} Penelitian ini menjelaskan hubungan yang jelas antara struktur porfirin dengan kemampuannya dalam menghambat pembentukan lemak hidroperoksida. Turunan nikel, tembaga, dan magnesium sebagai inti logam menghambat proses oksidasi asam linoleat oleh anion superoksida.^{11,32} Setelah penelitian tersebut, struktur porfirin dan inti logam menjadi alasan utama adanya aktifitas antioksidan turunan klorofil.

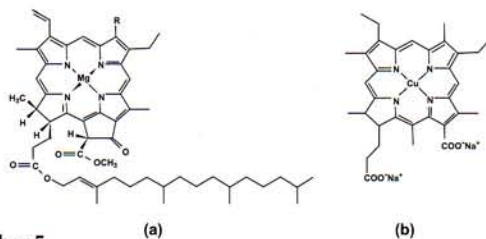
Ada juga beberapa laporan penelitian yang mencatat bahwa klorofil dan klorofilin mencegah inisiasi kanker kolon. Penelitian De Vogel, dkk (2005) melaporkan bahwa diet sayuran hijau pada tikus yang banyak mengonsumsi daging merah dapat meningkatkan perlindungan terhadap resiko kanker kolon. Klorofil alami dalam sayuran hijau (bukan klorofilin) mencegah sitotoksik yang disebabkan oleh penginduksian sel darah merah. Lain halnya dengan penelitian Carter, dkk (2004), sel kanker kolon HCT116 yang mendapat perlakuan klorofilin ternyata membuat ekspresi gen e-Cadherin meningkat. Peningkatan ekspresi gen ini memfasilitasi arus B-catenin keluar dari nukleus dan ke dalam membran plasma yang kemungkinan merusak sel kanker via *Hakai pathway*.

Selain kanker kolon, klorofilin juga mencegah inisiasi kanker liver.^{22,23} Melakukan studi pada 180 orang dewasa daerah Qidong dengan memberi mereka 100 mg klorofilin 3 kali sehari selama 4 bulan. Secara acak dengan *double-blind placebo-controlled*, untuk menghindari bias, Egner, dkk menguji apakah klorofilin dapat merubah proses pengeluaran *aflatoxin* dari tubuh. Peningkatan kadar *aflatoxin* dalam tubuh berhubungan erat dengan peningkatan resiko kanker liver. Hasil studi tersebut menunjukkan bahwa *aflatoxin-N7-guanine* dapat dideteksi pada 105 dari 169 sampel urin yang ada. Konsumsi klorofilin mengurangi kadar *aflatoxin* pada urin secara keseluruhan sebesar 55% dibandingkan dengan koresponden yang mengonsumsi *placebo*.

Pada penelitian *in vivo*, *Sodium Copper Chlorophyllin* (SCC) terbukti menginduksi apoptosis pada *human colon cancer cells* (HCT116). Mekanisme yang terjadi adalah sebagai berikut; pemberian SCC mengaktifasi enzim *caspase-8/caspase-3/-ADP-ribose pathway* yang berakibat kondensasi pada inti sel.²⁰ Chan, dkk (2006) juga melaporkan induksi apoptosis yang dilakukan feoforbida larut dalam air terhadap *human hepatocellular carcinoma cell* (Hep3B).

Dalam aplikasi Onkologi, fotodinamika kanker (PDT), turunan klorofil a digunakan sebagai *photosensitizer* - obat yang aktif oleh cahaya - yang dapat menyerap cahaya dengan panjang gelombang tertentu, menyebabkan molekul tersebut tereksitasi ke tingkatan singlet.

Aplikasi PDT dalam tumor dimotivasi oleh penelitian yang menunjukkan bahwa terapi ini tidak hanya efektif namun juga lebih selektif dibandingkan radio- dan kemoterapi ataupun operasi, sehingga dapat meminimalis efek samping ikut hancurnya sel sehat. Salah satu contoh turunan klorofil adalah feoforbid yang 20 kali lebih efektif dalam PDT dibandingkan HpD (turunan hematoporfirin). HpD adalah *sensitizer* pertama yang digunakan dalam PDT dan mulai dikenalkan pada tahun 1961. disiapkan lewat saponifikasi klorofil menggunakan NaOH kemudian diikuti penggantian logam inti *magnesium* (Mg^{2+}) (Gambar 5a.) menjadi *copper* (Cu^{2+}) (Gambar 5b). Peningkatan stabilitas molekul agar tidak mudah terdegradasi adalah alasan penggantian inti logam tersebut. Klorofilin pada umumnya dijual sebagai pewarna hijau makanan atau minuman suplemen.



Gambar 5.
(a) Struktur klorofil; klorofil a ($R = CH_3$) dan klorofil b ($R = CHO$);
(b) Struktur mayoritas *Sodium Copper Chlorophyllin* (SCC)
komersial (Feruzzi, M.G & Blakeslee J, 2007)

Turunan klorofil alami dan SCC dalam berbagai penelitian *in vitro* dan *in vivo* telah terbukti melakukan berbagai aktifitas biologis pencegahan kanker seperti aktifitas antioksidan, antimutagen, detoksifikasi xenobiotik dan penginduksian *apoptosis* (kematian sel) pada sel kanker (Gambar 6).



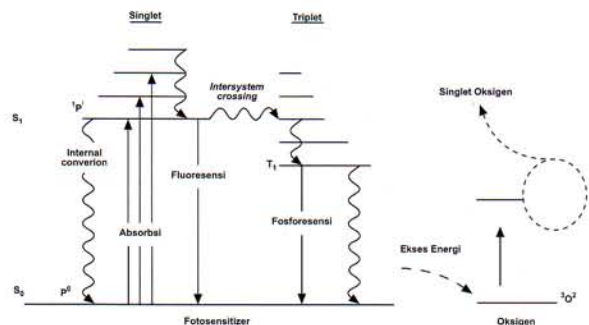
Gambar 6. Skema mayoritas aktifitas pencegahan kanker oleh klorofil dan turunannya

Berikut ini beberapa laporan penelitian *in vitro* mengenai aktifitas antimutagen dari ekstrak klorofil dan turunannya. Dalam suatu penelitian, Lei, dkk menemukan korelasi positif antara aktifitas antimutagen dari ekstrak sayuran dengan kandungan klorofilnya. Begitu juga hasil perlakuan terhadap bakteri, sayap *Drosophila*, dan sel *mammalia*, klorofil alami menunjukkan aktifitas antigenotoksik dan antimutagenik. Feofitin dan feoforbid, turunan klorofil yang telah kehilangan inti logamnya juga menunjukkan aktifitas antimutagen yang signifikan

ketika diujicobakan pada *Salmonella typhimurium* dan *Escherchia coli*.

Aktifitas antioksidan oleh klorofil dan turunannya dalam sebuah mekanisme pencegahan kanker, banyak menarik perhatian peneliti. Meskipun turunan klorofil dianggap sebagai pro-oksidan karena partisipasinya dalam proses foto-oksidasi lemak.^{24, 25}

Di dalam tubuh pasien, iluminasi fotosensitizer menyebabkan molekul tersebut tereksitasi yang mengawali proses penghancuran sel kanker melalui mekanisme ROS (*Reactive Oxygen Species*) yang sitotoksik. Setelah tereksitasi ke tingkatan energi lebih tinggi (singlet), *photosensitizer* dapat mengalami ISC (*Internal System Crossing*) ke tingkat eksitasi triplet (Gambar 7).



Gambar 7. Penyederhanaan Diagram Jablonski pada Reaksi Fotofisik PDT Sensitasi

Tingkat eksitasi triplet mengekspresikan bahwa molekul tersebut merupakan spesies yang memiliki waktu hidup dan energi yang tinggi sehingga dapat memindahkan eks energinya ke molekul oksigen. Molekul oksigen akibatnya tereksitasi dari keadaan stabil (triplet) ke tingkatan yang sangat reaktif yaitu singlet (Gambar 7). Tanpa restriksi *spin* elektron, singlet oksigen menjadi sitotoksik, siap bereaksi dengan biomolekul yang kaya elektron seperti lemak yang tidak tersaturasi, asam amino, dan DNA. Sebagai akibatnya, mekanisme ini menghancurkan sel tumor.

Fotosensitizer dimasukkan ke dalam tubuh dengan cara injeksi intravena (I.V) atau dioleskan pada kulit, tergantung dari jenis kanker dan fotosensitizer-nya. Setelah fotosensitizer masuk ke dalam tubuh, diperlukan selang waktu kira-kira 4-72 jam agar fotosensitizer dapat menempel dan berdiam pada sel dan jaringan kanker. Tahap ini kemudian dilanjutkan dengan penyinaran kanker secara langsung dengan laser (menggunakan endoskopi atau serat optik) untuk mengaktifkan obat tersebut. Lama iradiasi berlangsung 20-45 menit. Kerusakan endothelium dan komponen lain dari dinding sel target pada umumnya mengawali rusaknya jaringan kanker.

Pada perlakuan kanker kulit, kulit yang disinari, sel kanker akan mengering seperti bekas luka dan kemudian mengelupas. Hanya dalam beberapa minggu, kanker tersebut disembuhkan, ditandai dengan munculnya

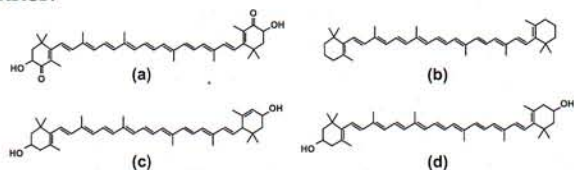
kulit yang sehat. Namun demikian, pasien jelas merasakan sakit pada daerah yang disinari. Seorang pakar menuliskan dalam Journal Kosmetik Dermatologi agar pasien sebaiknya menghindari sinar matahari langsung selama beberapa minggu setelah penyinaran.

Jadi dalam PDT, turunan klorofil a tidak secara langsung membunuh sel kanker namun singlet oksigen yang melakukannya. Turunan klorofil a berperan sebagai fotosensitizer yang setelah diiradiasi dapat tereksitasi dan dalam akhir mekanisme fotofisik menghasilkan singlet oksigen yang radikal sehingga dapat membunuh sel kanker.

KAROTENOID

Karotenoid merupakan salah satu pigmen alami yang terdapat di alga. Nama karotenoid diperoleh karena salah satu pigmen oranye, β -karoten, pertama kali diisolasi dari wortel *carrots* (*Daucus carota*) oleh Wackenroder tahun 1831. Beta-karoten adalah pigmen oranye yang paling representatif dalam grup karotenoid. Karotenoid terlibat dalam reaksi permanen cahaya dan mekanisme fotoproteksi untuk melindungi sel-sel organel alga dari kerusakan induksi singlet oksigen saat reaksi fotosintesis.

Dalam fungsinya sebagai suplemen, karotenoid merupakan antioksidan yang baik. Beberapa penelitian telah membuktikan bahwa orang yang mengonsumsi makanan kaya karotenoid secara rutin dan seimbang memperkecil peluang mereka terserang berbagai jenis kanker.



Gambar 8. Struktur kimia (a) astaxantin, (b) β -karoten, (c) lutein, dan (d) zeaxanthin

Spirulina memiliki kandungan β -karoten, kriptoxantin, dan zeaxantin (Gambar 8) yang lebih tinggi dibandingkan dengan sumber alami manapun.⁴⁰ Lebih lagi, produksi Spirulina dalam skala industri menawarkan hasil ekstrak karotenoid alami yang menguntungkan untuk industri suplemen dan makanan tambahan.

Tabel 3. Kandungan karotenoid dari ekstrak Spirulina Sp.

Pigmen	Spirulina platensis ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Spirulina maxima ($\mu\text{g g}^{-1}$)
β -Karoten	49,61	54,72
Astaxantin	6,61	13,21
Lutein	0,06	1,23
Zeaxantin	1,25	2,54
Kriptoxantin	1,41	3,35
Total karotenoid	4,75	5,31

Sumber: Hanaa dkk., 2003

Diet karotenoid terhadap penderita kanker mulut ternyata mampu menstimulasi aktivitas beberapa enzim antioksidan.⁴⁷ Demikian juga dengan penelitian beberapa ahli dari Fakultas Pertanian Universitas Kairo, Mesir, pada tahun 2003. Perlakuan terhadap *Ehrlich Ascites Carcinoma Cells* (EACC) dengan penambahan β -Karoten, astaxantin, α -tokoferol, dan campuran ketiganya mulai konsentrasi 200 sampai dengan 400 ppm secara signifikan meningkatkan level LDH (*laktat dehidrogenase*) dan GST (*glutathione S-transferase*) jika dibandingkan dengan sel yang tanpa perlakuan. Peningkatan LDH dan GST memberikan kontribusi dalam efek antikarsinogenik. Presentase tertinggi efek inhibisi ekstrak karotenoid dan tokopherol Spirulina *platensis* dan Spirulina *maxima* terhadap kelangsungan hidup EACC dapat mencapai 100%. Kematian seluruh sel tumor tersebut dicapai dari hasil penambahan variasi β -karoten, astaxantin (1:1; v/v) dan α -tokopherol (1:1:1; v/v/v) sebesar 400 ppm.²⁹

EKSTRAK ALGA DAN KAROTENOID

Dalam *International Journal Cancer Prediction Oncology*, Hsing dkk, (2000) melaporkan bahwa laju kematian di negara-negara di Asia Timur yang disebabkan oleh kanker ternyata termasuk rendah. Hal ini diduga karena penduduknya mayoritas mengonsumsi alga seperti *Undaria pinnatifida* yang mengandung astaxantin, fucoxantin, dan neoxantin.

Karotenoid memang terbukti sebagai antioksidan yang kuat, demikian juga aktivitas antioksidan karotenoid yang terdapat pada Spirulina. Namun demikian, ekstrak alga lebih efektif dibandingkan β -karoten sendiri dalam menyebabkan kemunduran jumlah sel kanker pada tikus putih. Penelitian ini diperkuat oleh salah satu studi awal peneliti India.^{39, 53} Melaporkan bahwa ekstrak alkohol Spirulina menghambat lemak peroksidasi lebih signifikan (menghambat 65 %) daripada senyawa antioksidan seperti α -tokoferol (35%), BHA (45%), dan β -karoten (48%). Dengan demikian timbul pertanyaan; Karotenoid apakah yang lebih berperan dalam menyumbangkan efek antioksidan pada ekstrak Spirulina? Miranda dkk (1998) menduga efek antioksidan ekstrak Spirulina disebabkan oleh β -karoten, tokoferol dan fenolik yang bekerja secara mandiri atau bersinergi.

KESIMPULAN

Pigmen fikosianin, klorofil a, dan karotenoid pada Spirulina terbukti memiliki potensi sebagai senyawa antikanker. Bukti berbagai penelitian yang disebutkan di atas menyatakan bahwa ketiga pigmen tersebut adalah antioksidan yang kuat. Bahkan, turunan klorofil a

berpotensi sebagai induktor apoptosis dan fotosensitizer dalam PDT yang memberikan harapan baru dalam terapi kanker.

Namun demikian, tidak hanya pigmen yang berperan sebagai antioksidan dalam terapi penyembuhan kanker dengan suplemen Spirulina, nutrisi lain seperti asam lemak GLA (*Gamma Linoleic Acid*), enzim superoksida dismutase (SOD), dan oligosakarida turut berperan juga sebagai senyawa antikanker. Selain itu, kelengkapan nutrisi yang dikandung Spirulina (protein, karbohidrat, lemak, mineral, asam amino esensial dan non-esensial, asam nukleat, vitamin, enzim, dan pigmen) jelas sangat berperan dalam meningkatkan sistem kekebalan tubuh, yang dalam konteks terapi kanker memang dibutuhkan. GLA merangsang hormon prostaglandin yang ikut mengontrol proses pembelahan sel. Enzim superoksida dismutase (SOD) adalah enzim yang digunakan tubuh kita untuk menghancurkan sel kanker karena radikal bebas. Sedangkan oligosakarida telah terbukti khasiatnya sebagai antitumor.

Peran antioksidan dari nutrisi lain Spirulina selain pigmen diperkuat oleh penelitian.⁵⁰ Penelitian tersebut melaporkan bahwa perlakuan 800 mg bubuk Spirulina *fusiformis* pada tikus model, secara signifikan melindungi artritis dari peroksidasi lemak. Perlakuan tersebut juga meningkatkan aktifitas enzim SOD, *glutathione peroxidase* dan katalase.

Setelah mengulas kelebihan pigmen Spirulina pada khususnya dan sekilas tentang potensi nutrisi Spirulina lainnya, tampaknya akan menjadi tidak objektif bila belum diulas juga kelemahannya. Apakah Spirulina dan pigmennya memiliki efek samping negatif? Klorofil a, karotenoid dan fikosianin dari Spirulina sebagai senyawa anti kanker tidak memiliki efek toksikologi. Namun demikian, ada beberapa laporan efek samping negatif jika tubuh kelebihan asupan pigmen karotenoid dan klorofil. Efek-efek samping yang mungkin timbul adalah *carotenoderma*, kulit yang menjadi sensitif terhadap sinar UV, dan diare (murus) ringan. Selain itu, ada beberapa laporan keluhan yang timbul ketika mengonsumsi suplemen Spirulina.

Overdosis asupan karotenoid dapat menimbulkan efek samping berupa *carotenoderma*⁴² dan kulit yang menjadi sensitif terhadap sinar ultraviolet.⁵ Carotenoderma adalah proses penguningan warna kulit yang disebabkan oleh akumulasi pigmen karotenoid, khususnya β -karoten pada lapisan kulit (dermis, epidermis dan *stratum corneum*). Meskipun demikian, kejadian tersebut muncul setelah mengasup karotenoid dalam bentuk suplemen untuk jangka waktu yang lama.

Efek samping negatif pigmen klorofil yang pernah dilaporkan adalah efek samping setelah mengonsumsi suplemen klorofilin cair. Keluhan tersebut berupa diare ringan, sering buang angin, dan feses berwarna agak kehijauan. Namun demikian, pada umumnya keluhan

ini muncul pada minggu pertama konsumsi klorofilin. Setelah beberapa hari mengonsumsi, keluhan tersebut berangsur-angsur berkurang karena sudah ada penyesuaian oleh tubuh. Wanita hamil dan menyusui sebaiknya tidak disarankan untuk mengonsumsi klorofilin.

Efek samping yang negatif tidak hanya muncul akibat pigmen Spirulina namun juga konsumsi suplemen Spirulina itu sendiri. Ketika baru memperkenalkan suplemen Spirulina dalam diet, pada umumnya efek samping mulai dirasakan. Efek samping tersebut merupakan reaksi yang normal dalam satu sampai tiga hari. Namun, untuk beberapa konsumen yang sensitif, kemungkinan dapat merasakan proses detoksifikasi yang lebih lama. Efek samping yang timbul dapat berupa:

1. Mulas, sedakan dan diare ringan.
2. Mual dan konstipasi dapat terjadi karena asam lambung meningkat.
3. Selalu merasa lapar dan sedikit pusing dapat terjadi pada konsumen yang menderita hipoglikemia dan anemia.
4. Demam ringan yang kemungkinan muncul karena reaksi metabolisme tubuh. Kandungan Spirulina adalah protein pekat sehingga dapat berakibat meningkatnya suhu tubuh.
5. Masalah tidur dan selalu terjaga yang kemungkinan disebabkan oleh tubuh yang sedang membakar kelebihan lemak.
6. Sakit kepala dapat terjadi pada konsumen yang sebelum mengonsumsi telah mengalami gangguan pencernaan.
7. Berkeringat (perspirasi) sebagai bentuk detoksifikasi, keluhan ini dapat berbeda-beda tergantung dari level detoksifikasi.

KEPUSTAKAAN

1. Abd El-Baky, H., El Baz, F. K., dan El-Baroty, G.S. Enhancement of Antioxidant Production in Spirulina platensis under Oxidative Stress. *American-Eurasian Journal of Scientific Research* 2007; 2(2):170-9
2. Abd El-Baky, H.H. Over production of phycocyanin pigment in blue green alga Spirulina Sp. and it's inhibitory effect on growth of Ehrlich ascites carcinoma cells. *J. Med. Sci*, 2003; 3:314-24.
3. Adams, M. Superfoods For Optimum Health: *Chlorella* and Spirulina. Truth Publishing International, Ltd; 2005.
4. Adzersen, K.H., Jess, P., Freivogel, K. W., Gerhard, I., Bästert, G. Raw and cooked vegetables, fruits, selected micronutrients, and breast cancer risk: a case-control study in Germany. *Nutr Cancer*, 2003; 46(2):131 - 7.
5. Alauf, S., Heinrich, U., Stahl, W., Tronnier, H. and Wiseman, S. 2002. Dietary Carotenoids Contribute to Normal Human Skin Color and UV Photosensitivity. *J. Nutr.* 132: 399 - 403.

6. Balder, H.F., Vogel, J., Jansen, M. C., Weijenberg, M. P., van den Brandt, P. A., Westenbrink, S, et al. Heme and chlorophyll intake and risk of colorectal cancer in the Netherlands cohort study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2006; 15(4):717- 25.
7. Belay, A. Mass culture of Spirulina outdoor – The earthrise farms experience. Dalam Vonshak, A. (penyunting), *Spirulina platensis (Arthrospira)*, Physiology, Cell-biology and Biotechnology. New York: Taylor & Francis, 1997; 131–158.
8. Belay, A., The Potential Application of Spirulina (*Arthrospira*) as a Nutritional and Therapeutic Supplement in Health Management. *JANA*, 2002; Vol 5 No 2:27-48.
9. Bhat, V.B., dan Madyastha, K.M. Scavenging of peroxynitrite by phycocyanin and phycocyanobilin from *Spirulina platensis* : protection against oxidative damage to DNA. *Biochem. Biophys. Res. Commun*, 2001; 285: 262-266.
10. Bhat, V.B., Madyastha, K.M. C-phycocyanin: a potent peroxyl radical scavenger in vivo and in vitro. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2000; 275 (1): 20-25.
11. Cahyana, A.H., Shuto, Y., Kinoshita, Y. Pyropheophytin a as an antioxidative substance from the marine alga, Arame (*Eisenia bicyclis*). *Biosci Biotechnol Biochem*, 1992; 56:1533- 5.
12. Cahyana, H., Shuto, Y., Kinoshita, Y. Antioxidative activity of porphyrin derivatives. *Biosci Biotechnol Biochem*, 1993; 57:680- 1.
13. Carter, O., Bailey, G. S., Dashwood, R. H. The Dietary Phytochemical Chlorophyllin Alters E-Cadherin and β -Catenin Expression in Human Colon Cancer Cells. *J. Nutr.*, 2004; 134: 3441S-4S.
14. Chernomorsky S, Segelman A, Portez RD. Effect of dietary chlorophyll derivatives on mutagenesis and tumor cell growth. *Teratog Carcinog Mutagenesis*, 1999; 19:313 - 22.
15. Chung, A.S., Hong, S.T., Cho, Y.S. Chemopreventative activities of porphyrin against mutagenicity and cytotoxicity of 6-sulfoxymethylbenzo[a]pyrene. *Proc Annu Meet Am Assoc Cancer Res*, 1997; 38:A2467.
16. Collins, A. R. Antioxidant intervention as a route to cancer prevention. *Eur.J.Cancer*, 2005; 41: 1923-1930.
17. Cook, G.C., & Dumitriu, D. Health Food Store Recommendations for Breast Cancer Patients. *Arch Fam Med*, 2000; 9:692-8.
18. Dashwood, R. H. Chlorophylls as anticarcinogens. *Int. J. Oncol.*, 1997; 10: 721–7.
19. De Vogel, J., Denise, S. M. L., Termont, J., Katan, M. B., Van der Meer, R. Natural Chlorophyll but Not Chlorophyllin Prevents Heme-Induced Cytotoxic. 2005.
20. Diaz, G.D., Li, Q., Dashwood, R.H. Caspase-8 and apoptosis-inducing factor mediate a cytochrome c-independent pathway of apoptosis in human colon cancer cells induced by the dietary phytochemical chlorophyllin. *Cancer Res*, 2003; 63(6):1254- 61.
21. Duryatmo, S. Ampuhnya Spirulina Atasi Penyakit. *Majalah Trubus*, 442, XXXVII, 2006; hal 10-15.
22. Egner, P. A., Wang, J., Rong Zhu, Y., Chu Zhang, B., Wu, Y., Nan Zhang, Q., Sun Qian, G., Kuang, S.Y., Gange, S. J., Jacobson, L. P., Helzlsouer, K. J., Bailey, G. S., Groopman, J. D., Kensler, T. W. Chlorophyllin intervention reduces aflatoxin-DNA adducts in individuals at high risk for liver cancer. *PNAS*, 2001; vol 98 (25): 14601-14606.
23. Egner, P.A., Munoz, A., Kensler, T.W. Chemoprevention with chlorophyllin in individuals exposed to dietary aflatoxin. *Mutat Res*, 2003; 523-524:209-16
24. Endo, Y., Usuki, R., Kaneda, T. Antioxidant effects of chlorophyll and pheophytin on the autooxidation of oils in the dark. I. Comparison of the inhibitory effects. *J Am Oil Chem Soc*, 1985; 62:1375- 8.
25. Endo, Y., Usuki, R., Kaneda, T. Prooxidant activities of chlorophylls and their decomposition products on the photooxidation of methyl linoleate. *J Am Oil Chem Soc*, 1984; 61:781- 4.
26. Ferruzi, M.G., & Blakeslee, J. Digestion, absorption, and cancer preventative activity of dietary chlorophyll derivatives. *Nutrition Research*, 2007; 27:1-12.
27. Gross, J. Pigments in Vegetables: Chlorophyll and Carotenoids. New York: Van Nostrand Reinhold, 1991; p.75-100.
28. Gutierrez-Rosales, F., Garrido-Fernández, J., Gallardo-Guerrero, L., Gandul-Rojas, B, Miñguez-Mosquera, M.I. Action of chlorophylls on the stability of the virgin olive oil. *J Am Oil Chem Soc*, 1992; 69: 866- 71.
29. Hanaa, H., El-Baky, A., Farouk, K., El Baz, Gamal, S., dan El-Baroty. *Spirulina* Species as a Source of Carotenoids and β -Tocopherol and Its Anticarcinoma Factors. *Biotechnology*, 2003; Vol 2 Number 3:222-240.
30. Hills, C. The Secrets of Spirulina. University of the Trees Press in corporation with *The Journal of Nutritional Microbiology*. 1980.
31. Hirahashi, T., Matsumoto, M., Hazeki, K., Saeki, Y., Ui, M., dan Seya, T. Activation of the human innate immune system by Spirulina: augmentation of interferon production and NK cytotoxicity by oral administration of hot water extract of *Spirulina platensis*. *Int. Immunopharmacol*, 2002; 2(4):423-34.
32. Hoshina, C., Tomita, K., Shioi, Y. Antioxidant activity of chlorophylls: its structure-activity relationship. *Photosynthesis: mechanisms and effects*, 1998; 4: 3281- 4.
33. Hsing, A.W., L. Tsao dan S.S. Devesa. International trends and patterns of prostate cancer incidence and mortality. *Int. J. Cancer Predict. Oncol*, 2000; 85: 60-67.

34. Jian, L., Du, C.J., Lee, A.H., dan Binns, C.W. Do dietary lycopene and other carotenoids protect against prostate cancer?. *Int. J. Cancer*, 2005; 113(6):1010-4.
35. Khan, M., Shobha, J. C., Mohan, I. K., Naidu, M. U., Sundaram, C., Singh, S., Kuppusamy, P., Kutala, V. K. Protective effect of Spirulina against doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Phytother Res*, 2005; 19(12): 1030-7.
36. Lai, J., Butler, M. A., dan Matney, T. Antimutagenic activities of common vegetables and their chlorophyll content. *Mutat Res*, 1980; 77: 245- 50.
37. Li, B., Gao, M. H., Zhang, X. C., Chu, X. M. Molecular immune mechanism of C-phycocyanin from Spirulina platensis induces apoptosis in HeLa cells in vitro. *Biotechnol Appl Biochem*, 2006; 43(Pt 3): 155-64.
38. Liu Y, Xu L, Cheng N, Lin L, Zhang C. Inhibitory effect of phycocyanin from Spirulina platensis on the growth of human leukemia K562 cells. *J Appl Phycol*, 2000; 12:125-30
39. Manoj G, Venkataraman LV, Srinivas L. Antioxidant properties of Spirulina (Spirulina platensis). In: Seshadri and Bai. *Spirulina*. MCRC., 1992; 48-154.
40. Mathew, B., R. Sankaranaryanan dan P. Padmanabhan. Evaluation of chemoprevention of oral cancer with Spirulina fusiformis. *Nutr. Cancer*, 1995; 24: 197-202.
41. Michels, K. B., Giovannucci, E., Chan, A.T., Singhanian, R., Fuchs, C. S., Willett, W. C. Fruit and vegetable consumption and colorectal adenomas in the Nurses' Health Study. *Cancer Res*, 2006; 66(7): 3942- 53.
42. Micozzi, M. S., Brown, E. D., Taylor, P. R. and Wolfe, E. 1988. Carotenodeemia in men with elevated carotenoid intake from foods and b-karoten supplements. *Am. J. Clin. Nutr.* 48: 1061 - 4.
43. Miranda MS, Cintra RG, Barros SM, Mancini-Filho J. Antioxidant activity of the microalga Spirulina maxima. *Braz J Med Biol Res*, 1998; 31:1075-9.
44. Mishima, T., Murata, J., Toyoshima, M., Fujii, H., Nakajima, M., Hayashi, T., Kato, T., dan Saiki, I. Inhibition of tumor invasion and metastasis by calcium spirulan (Ca-SP), a novel sulfated polysaccharide derived from blue-green alga, Spirulina platensis. *Clin. Exp. Metastasis*, 1998; 16(6):541-50.
45. Moorhad, K., Capelli, B., dan G.R. Cysewski. *Spirulina Nature's Superfood*. Hawaii: Cyanotech Corporation, 2006.
46. Negishi, T., Rai, H., Hayatsu, H. Antigenotoxic activity of natural chlorophylls. *Mutat Res*, 1997; 376:97 - 100.
47. Palozza, P., Maggiano, N., Calviello, G., Lanza, P., Piccioni, E., Ranalletti, F. O., dan G.M., Bartoli. Cantaxanthin induces apoptosis in human cancer cell lines. *Short Communication Carcinogenesis*, 1998; vol 19 (2): 373-6.
48. Pardhasaradhi, B. V., Ali, A. M., Kumari, A. L., Reddanna, P., Khar, A. Phycocyanin mediated apoptosis in AK-5 tumor cells involves down-regulation of Bcl-2 and generation of ROS. *Mol Cancer Ther*, 2003; 2(11): 1165-70.
49. Pinero Estrada, J.E., Bermejo Bescos, P., dan Villar del Fresno, A.M. Antioxidant activity of different fractions of Spirulina platensis protean extract. *Farmco*, 2001; 56(5-7):497-500.
50. Rasool, M., dan Sabina, E.P. Evaluation of the protective potential of Spirulina fusiformis on lipid peroxidation and antioxidant status in adjuvant-induced arthritic mice. *Pharmacologyonline*, 2008; 1: 300-10.
51. Rath, M. *Cellular Health Series-Cancer* 1st Edition. California: MR Publishing, 2001.
52. Romay, C., Gonzalez, R., Ledon, N., Ramirez, D., dan Rimbau, V. C-Phycocyanin: a Biliprotein with antioxidant, anti-inflammatory and neuroprotective effects. *Current Protein and Peptide Science*, 2003; 4: 207-16.
53. Schwartz J dan Shklar G. Regression of experimental hamster cancer by betacarotene and alga extract. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 1987; 45: 510-5.
54. Stahl, W., dan Sies, H. Bioactivity and protective effects of natural carotenoids. *Biochem Biophys Acta*, 2005; 1740(2):101-7.
55. Steinmetz, K. A., Potter, J. D. Vegetables, fruit and cancer prevention: a review. *J Am Diet Assoc*, 1996; 96:1027- 39.
56. Subhashini, J., Mahipal, S. V., Reddy, M. C., Mallikarjuna Reddy, M., Rachamalla, A., Reddanna, P. Molecular mechanisms in C-Phycocyanin induced apoptosis in human chronic myeloid leukemia cell line-K562. *Biochem Pharmacol*, 2004; 68(3), 453-62.
57. Suzuki, N., Hatate, H., Kanamori, N., Nomoto, T., Namiki, M., Yoda, B. Antioxidant activity of chlorophyll derivatives, oxygen stress relievers, to superoxide measured by using Cypridina luciferin analogues. *Fish Sci*, 1995; 61:65- 7.
58. Tietze, H. *Spirulina Micro Food Macro Blessing*. Australia: Harald W. Tietze Publishing, 2004.
59. Wang, H. The C-phycocyanin/beta protein inhibits cancer cell proliferation (a thesis). Graduate Studies: College of Arts and Sciences, Georgia State University. 2008.
60. Wu, L.C., Ho, J.A., Shieh, M.C., dan Lu, I.W. Antioxidant and antiproliferative activities of Spirulina and Chlorella water extracts. *J. Agric Food Chem*, 2005; 53(10):4207-12.