

Potensi Astaxantin sebagai Senyawa Antikanker

Reny Pratiwi,¹ Leenawaty Limantara.²

¹Program Pascasarjana Magister Biologi, Universitas Kristen Satya Wacana,

²Ma Chung Research Center for Photosynthetic Pigments, Universitas Ma Chung, Malang

ABSTRAK

Astaxantin merupakan salah satu golongan karotenoid xantofil yang memiliki peran penting dalam menjaga kesehatan tubuh. Pada berbagai studi telah dibuktikan peran astaxantin dalam melindungi sel dan jaringan dari kerusakan terutama akibat stres oksidatif yang juga dapat memicu terjadinya kanker. Dalam tulisan ini akan dibahas mengenai potensi astaxantin sebagai senyawa antikanker.

Kata Kunci: astaxantin, antioksidan, antikanker.

ABSTRACT

Astaxanthin is a member of carotenoids xantofil group, plays important role to help the body maintain a healthy state. In various methods of study, astaxanthin has demonstrated antioxidant properties to protect cells and tissues from damages caused by oxidative stress, which initiate cancer. This review describes the potent of astaxanthin as anticancer.

Key words: astaxanthin, antioxidant, anticancer.

PENDAHULUAN

Karotenoid dikenal sebagai pigmen pada tumbuhan, di samping itu karotenoid juga diketahui terdapat pada hewan dan mikroorganisme. Selain menjadi bagian dari aparatus fotosintesis pada bakteri fototropik, karotenoid juga bertanggung jawab memberi warna merah, oranye, dan kuning pada bakteri non-fototropik, jamur, dan khamir. Peran penting karotenoid pada mikroorganisme terutama menjadi pelindung terhadap cahaya dan oksigen.¹

Astaxantin merupakan karotenoid utama pada organisme akuatik seperti udang, ikan salmon, dan lobster. Pada beberapa organisme tersebut diketahui bahwa astaxantin memiliki fungsi biologis yang esensial yaitu pigmentasi, perlindungan terhadap efek sinar ultra violet, perlindungan terhadap oksidasi asam lemak esensial tubuh, berhubungan dengan respon sistem imun, komunikasi antar sel dan jaringan, dan reproduksi.²

Seperti karotenoid pada umumnya, astaxantin (3,3'-dihidroksi- β , β -karoten-4,4'-dion) tersusun atas 40 atom karbon terhubung dengan ikatan tunggal dan rangkap membentuk rantai fitoen (Gambar 2). Struktur ini sangat berguna pada saat transfer dan disipasi energi serta memberi karakter warna khusus. Rantai fitoen pada astaxantin diawali dan diakhiri cincin ionon. Astaxantin termasuk dalam golongan xantofil karena memiliki oksigen pada cincin ionon. Gugus hidroksi dan keto memungkinkan astaxantin mengalami esterifikasi dan menjadikannya lebih polar, serta memiliki aktifitas antioksidan yang lebih besar daripada karotenoid lain. Astaxantin dalam bentuk bebas sensitif terhadap oksidasi. Di alam, astaxantin ditemukan terkonjugasi dengan protein, seperti pada ikan salmon dan lobster, atau teresterifikasi dengan satu atau dua asam lemak, sehingga mengakibatkan molekul astaxantin lebih stabil. Tidak seperti β -karoten, astaxantin tidak memiliki aktifitas pro-vitamin A, dan hewan tidak mampu

ALAMAT KORESPONDENSI

Reny Pratiwi, S.Si

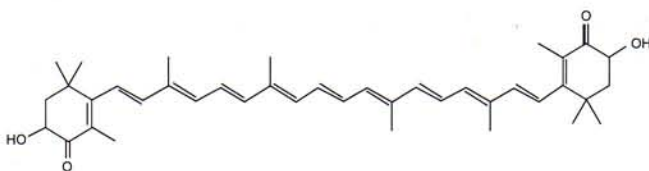
Program Pascasarjana Magister Biologi, Universitas Kristen Satya Wacana
Jl. Diponegoro No. 52-60 Salatiga 50711, Telp. (0298)321212, ext 305, Fax. (0298)321433

E-mail : renypratiwi@yahoo.com

mensintesis astaxantin atau mengkonversi astaxantin menjadi vitamin A, sehingga harus didapatkan dari makanan.^{2,3,4}



Gambar 1. Daging ikan salmon, udang, dan lobster berwarna oranye karena adanya pigmen astaxantin



Gambar 2. Astaxantin (3,3'-dihidroksi-β,β-karoten-4,4'-dion)

SUMBER ASTAXANTIN ALAMI

Astaxantin dihasilkan oleh beberapa kelompok mikroorganisme (Tabel 1) yaitu alga, khamir, dan bakteri. Dari sejumlah spesies yang diketahui, terdapat beberapa sumber astaxantin potensial, yaitu *Haematococcus pluvialis*, dan *Phaffia rhodozyma*. Dari kedua spesies tersebut, *H. pluvialis* telah diproduksi pada skala industri dan dimanfaatkan sebagai suplemen makanan (Gambar 3). Sedangkan *P. rhodozyma* digunakan dalam bidang akuakultur sebagai pakan ikan terutama untuk pigmentasi salmon.^{5,6,7}

Tabel 1. Mikroorganisme yang memproduksi Astaxantin^{8,9}

Kelompok	Spesies
Alga	<i>Haematococcus pluvialis</i> , <i>Ankistrodesmus</i> sp., <i>Mychonastes zofingiensis</i> , <i>Chlorella fusca</i> , <i>Pleurastrum sarcinoideum</i> .
Khamir	<i>Xanthophyllomyces dendrorhous</i> #, <i>Candida utilis</i> , <i>Phaffia rhodozyma</i> , <i>Rhodotorula</i> sp.
Bakteri	<i>Mycobacterium lacticola</i> , <i>Brevibacterium</i> sp., <i>Agrobacterium aurantiacum</i> , <i>Escherichia coli</i> #, <i>Paracoccus carotinifaciens</i>

Keterangan: # strain rekombinan



Gambar 3. Kultivasi astaxantin dari *Haematococcus pluvialis*

Beberapa binatang laut yang berwarna kemerahan, oranye, atau merah muda mengandung astaxantin alami. Misalnya, astaxantin dapat ditemukan pada ikan salmon, ikan trout, lobster, udang, dan kepiting. Binatang tersebut memakan udang berukuran lebih kecil yang memakan mikroalga dan plankton mengandung astaxantin sebagai makanan utamanya. Beberapa sumber astaxantin alami dan kandungannya ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Sumber dan kandungan astaxantin¹⁰

Jenis	Kandungan astaxantin (mg/kg)
<i>Salmonidae</i> (ikan Salmon)	
<i>Sockeye</i>	26-37
<i>Coho</i>	9-21
<i>Chum</i>	3-8
<i>Chinook</i>	8-9
<i>Pink</i>	4-6
<i>Atlantic</i>	3-11
Telur ikan salmon	0-14
<i>Abramis brama</i> (ikan <i>bream</i> merah)	2-14
Telur ikan <i>bream</i> merah	3-8
<i>Peneaus monodon</i> (udang)	10-150
<i>Copepoda</i> (sejenis krustasea)	39-84
<i>Euphausiacea</i> (sejenis krustasea)	46-130
Minyak <i>Euphausiacea</i>	727
<i>Asiacoidea</i> (udang karang)	137
Udang <i>Artic</i>	1160
<i>Phaffia rhodozyma</i> (khamir)	30-800
<i>Haematococcus pluvialis</i> (mikroalga)	10.000-30.000

METABOLISME ASTAXANTIN

Astaxantin, seperti karotenoid lainnya, bersifat sangat lipofilik dan memiliki bioavailabilitas oral yang rendah. Bioavailabilitasnya dapat ditingkatkan dengan memformulasikan astaxantin dengan lemak. Sebuah studi telah dilakukan untuk menguji bioavailabilitas astaxantin dengan menggunakan tiga formula berbeda berbasis lemak. Hasilnya menunjukkan bahwa ketiga formula tersebut dapat diabsorpsi lebih baik daripada formula yang tidak menggunakan lemak.¹¹

Berbagai penelitian juga telah dilakukan untuk mengetahui tahapan metabolisme astaxantin pada mamalia. Penelitian yang dilakukan dengan hewan uji tikus untuk mengetahui absorpsi emulsi astaxantin dalam minyak zaitun (5, 10, 15, 20 μmol/L) menemukan sebanyak 20 % astaxantin berada di dalam kelenjar getah bening.¹² Dari beberapa studi dengan menggunakan tikus untuk mengetahui efek suplementasi 300 mg/kg berat badan karotenoid terhadap hati, ginjal, paru-paru, dan usus-halus, diketahui bahwa astaxantin merupakan penginduksi enzim yang memetabolisme senyawa xenobiotik pada ginjal dan paru-paru.^{13,14}

Studi pada manusia dengan memberikan dosis tunggal 100 mg astaxantin membuktikan bahwa keberadaan astaxantin di dalam plasma dibawa oleh lipoprotein.¹⁵ Di dalam plasma, karotenoid non polar seperti β-karoten, α-karoten, atau likopen

sebagian besar dibawa oleh lipoprotein densitas sangat rendah (*very low density lipoproteins* atau VLDL) dan lipoprotein densitas rendah (*low density lipoproteins* atau LDL), sedangkan karotenoid polar seperti zeaxantin, lutein, atau astaxantin dibawa oleh LDL dan lipoprotein densitas tinggi (*high density lipoproteins* atau HDL).¹⁶

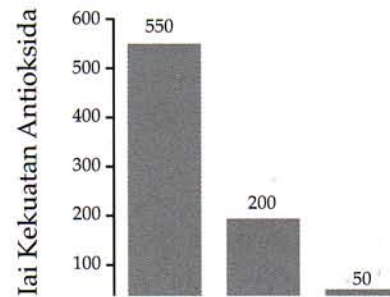
Pada sebuah studi *in vitro* dari metabolisme astaxantin pada sel hepatosit manusia teridentifikasi 3-hidroksi-4-oxo-beta-ionol dan 3-hidroksi-4-oxo-beta-ionon sebagai metabolit utama dari astaxantin. Komponen yang sama dan produk reduksinya 3-hidroksi-4-oxo-7,8-dihidro-beta-ionol dan 3-hidroksi-4-oxo-7,8-dihidro-beta-ionon juga hadir sebagai glukoronida. Keempat jenis metabolit tersebut juga teridentifikasi pada plasma darah dua orang voluntir setelah 24 jam pemberian 100 mg astaxantin (tablet diformulasikan dengan 8% gelatin) peroral. Dalam penelitian ini juga ditunjukkan bahwa pemutusan ikatan C9,C9' dari molekul astaxantin dan reduksi pada ikatan rangkap 7,8 umumnya terjadi pada manusia dan pada tikus, sedangkan reduksi β -ionon menjadi β -ionol hanya terjadi pada manusia. Selain itu, pada sel hepatosit manusia, berkebalikan dengan yang terjadi pada tikus, astaxantin menjadi penginduksi CYP3A4 dan CYP2B6 tetapi tidak menginduksi CYP1As.¹⁷

ASTAXANTIN SEBAGAI SENYAWA ANTIOKSIDAN

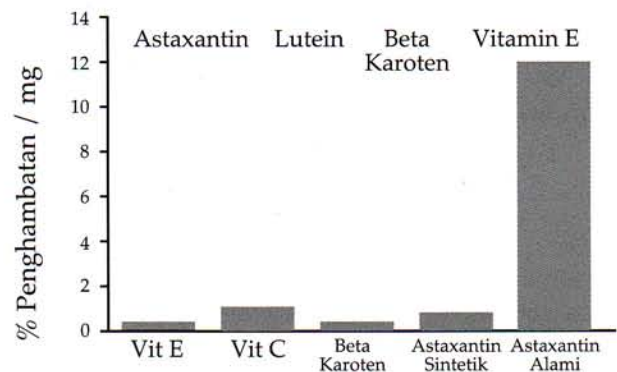
Dalam berbagai penelitian, astaxantin terbukti merupakan antioksidan potensial yang dapat membantu mempertahankan kesehatan tubuh. Astaxantin melindungi sel dari oksidasi dengan mekanisme meredam singlet oksigen kemudian melepaskan energi dalam bentuk panas, dan menetralkan radikal bebas yang selanjutnya mencegah dan menghentikan reaksi oksidasi.¹⁸

Astaxantin telah terbukti merupakan antioksidan paling kuat melalui dua eksperimen *in vitro* yang berbeda. Penelitian yang dilakukan oleh Shimidzu *et al* (Gambar 4) menunjukkan astaxantin 550 kali lebih kuat daripada vitamin E, 11 kali lebih kuat daripada β -karoten, dan hampir 3 kali lebih kuat dibandingkan lutein, dalam meredam singlet oksigen. Pada penelitian kedua yang dilakukan oleh Bagchi (Gambar 5) terbukti bahwa astaxantin 14 hingga 60 kali lebih kuat daripada antioksidan yang lain. Berdasarkan data dari kedua metode pengujian tersebut terbukti bahwa astaxantin merupakan antioksidan yang paling kuat.¹⁹

Aktifitas antioksidan astaxantin diyakini merupakan mekanisme utama dari aktifitas lainnya seperti perlindungan terhadap fotooksidasi oleh sinar ultraviolet (UV), inflamasi, kanker, infeksi bakteri *Helicobacter pylorii*, penuaan dan penyakit yang terkait dengan usia, serta peningkatan respon sistem imun, fungsi hati dan jantung, kesehatan mata, persendian dan prostat.¹⁶



Gambar 4. Kecepatan Peredaran Singlet Oksigen oleh beberapa antioksidasi¹⁹



Gambar 5. Penghambat reaksi oksida oleh beberapa jenis antioksidasi¹⁹

ASTAXANTIN SEBAGAI SENYAWA ANTIKANKER

Dalam berbagai studi pada mamalia, karotenoid alami termasuk astaxantin telah terbukti memiliki aktifitas antikanker.^{20,21} Tiga mekanisme utama efek kemopreventif astaxantin, yaitu sebagai antioksidan, meningkatkan fungsi sistem imun, dan sebagai pengatur ekspresi gen.⁴

Beberapa penelitian telah menunjukkan efektifitas astaxantin sebagai senyawa kemopreventif pada tikus dan mencit. Tanaka *et al* menunjukkan bahwa astaxantin melindungi mencit dari kanker kandung kemih.²² Penelitian ini dilakukan dengan cara membagi mencit menjadi dua kelompok yang diberi pakan yang mengandung zat karsinogen selama 20 minggu. Pemberian zat karsinogen dihentikan setelah 20 minggu. Selama 20 minggu selanjutnya pada kelompok kedua diberikan pakan yang mengandung astaxantin, sementara kelompok pertama tidak diberi astaxantin. Pemeriksaan histologi pada kandung kemih menunjukkan sebanyak 42% mencit yang tidak mendapat astaxantin mengalami kanker kandung kemih, sedangkan pada kelompok yang mendapatkan astaxantin hanya 18% yang mengalami kanker kandung kemih.

Pada penelitian berikutnya Tanaka *et al* terbukti bahwa astaxantin mencegah kanker mulut pada tikus.²³ Dua kelompok tikus diberi pakan yang mengandung zat karsinogen, pada kelompok kedua diberi tambahan

astaxantin. Pada perbandingan secara langsung ini ditemukan bahwa pada kelompok yang diberi pakan mengandung zat karsinogen dengan suplementasi astaxantin, jumlah yang mengalami kanker mulut lebih rendah daripada kelompok yang tidak diberi astaxantin ($P < 0,001$). Selain itu dibuktikan juga bahwa astaxantin lebih efektif dalam penghambatan kanker daripada β -karoten.²⁴ Dengan metode yang sama dilakukan studi lanjutan terhadap kanker usus besar pada tikus jantan oleh Tanaka *et al.*, di mana diperoleh penurunan yang signifikan ($P < 0,001$) pada tikus yang diberi suplementasi astaxantin.²⁵ Astaxantin merupakan senyawa kemopreventif potensial dengan mekanisme menghambat proliferasi sel pada kanker kandung kemih, mulut, dan usus besar.^{22,23,25}

Gradelet *et al.* mempelajari efek astaxantin pada inisiasi kanker hati oleh alfatoksin B1 (AFB1) secara *in vivo* dan *in vitro*. Astaxantin secara *in vivo* dilaporkan mengurangi AFB1 yang menginduksi pemutusan untai DNA rantai tunggal, dan secara *in vitro* meningkatkan metabolisme AFB1 menjadi alfatoksin M1 (AFM1/metabolit yang kurang bersifat genotoksik). Dari studi tersebut diketahui bahwa mekanisme antikanker oleh astaxantin yaitu dengan melakukan jalur detoksifikasi AFB1 menjadi AFM1.¹³ Konsumsi astaxantin diindikasikan dapat menekan pertumbuhan sel tumor Meth-A dan menstimulasi imunitas untuk melawan antigen tumor Meth-A.²⁶ Astaxantin meningkatkan respon imun antitumor dengan menghambat peroksidasi lipid yang diinduksi oleh stres oksidatif.²⁷ Konsumsi astaxantin lebih efektif daripada β -karoten dan kantaxantin dalam melawan kanker payudara hingga lebih dari 50%.²⁸ Astaxantin menghambat aktivitas enzim 5- α -reduktase yang bertanggung jawab pada pertumbuhan kanker prostat, dan suplementasi astaxantin diusulkan menjadi metode dalam mengatasi tumor dan kanker prostat.²⁹

FAKTOR KEAMANAN DAN STUDI PADA MANUSIA

Sebuah studi pada manusia telah dilakukan di Jepang, yaitu dengan memberikan dosis astaxantin sebanyak 14,4 mg/hari dalam minuman selama dua minggu, dan tidak ditemukan adanya efek negatif pada tubuh. Sebaliknya, ditemukan efek positif antioksidan astaxantin pada serum LDL. Sebanyak 13 orang sehat dibagi menjadi tiga kelompok dan diberikan tiga dosis astaxantin berbeda setiap hari, yaitu sebagai berikut: 5 orang mengkonsumsi 3,6 mg/hari, 5 orang berikutnya mengkonsumsi 7,2 mg/hari, dan 3 orang mengkonsumsi 14,4 mg/hari. Astaxantin diberikan secara sublingua dalam bentuk kapsul *softgel*. Kemudian sampel darah diambil dan fraksi LDL dipapari dengan senyawa pengoksidasi. Hasil studi ini menunjukkan bahwa seiring peningkatan dosis astaxantin terjadi penurunan oksidasi fraksi LDL.³⁰

Studi lebih lanjut dengan menggunakan suplemen mikroalga *H. pluvialis*, melibatkan 33 orang voluntir (15 orang pria dan 18 orang wanita, usia 28 hingga 62 tahun), selama 29 hari berturut-turut, dengan dosis rendah atau dosis tinggi. Dosis rendah mengandung 228 mg alga dan 3,85 mg astaxantin, sedangkan dosis tinggi mengandung 1140 mg alga dan 19,25 mg astaxantin. Voluntir menjalani pemeriksaan kesehatan lengkap sebelum studi, selama studi, dan pada akhir studi. Setiap voluntir diperiksa berat badan, warna kulit, kenampakan umum, tekanan darah, penglihatan dan mata (warna mata, penglihatan jauh, kondisi mata), telinga dan hidung, mulut, tenggorokan dan gigi, dada dan paru-paru, serta refleks. Pemeriksaan kesehatan juga dilengkapi dengan analisis urin dan analisis darah (jumlah sel, hemoglobin, indikator aktifitas enzim *liver*, dan parameter lainnya). Hasil studi menunjukkan tidak ditemukan efek buruk atau toksisitas dari konsumsi suplemen tersebut.³¹

Hingga saat ini belum ada laporan yang menunjukkan efek samping dari suplementasi astaxantin alami. Satu-satunya potensi efek terjadi pada orang yang mengkonsumsi dalam megadosis jauh di atas yang direkomendasikan (4-12 mg per hari) yaitu pada telapak tangan dan tumit akan berwarna oranye. Hal ini terjadi karena pigmen astaxantin tersimpan pada jaringan kulit, dan hal ini tidak berakibat buruk karena astaxantin dapat menjadi tabir surya internal.¹⁹

KESIMPULAN

Dari berbagai studi tentang pigmen astaxantin diketahui terdapat tiga mekanisme utama efek kemopreventif astaxantin, yaitu sebagai antioksidan, meningkatkan fungsi sistem imun, dan sebagai pengatur ekspresi gen. Astaxantin dari mikroalga merupakan antikanker alami yang hingga saat ini belum dilaporkan memiliki efek samping, sehingga aman dikonsumsi. Oleh karena itu suplementasi astaxantin alami dan konsumsi makanan yang mengandung astaxantin akan sangat bermanfaat dalam melindungi tubuh dari penyakit kanker.

UCAPAN TERIMA KASIH

Reny Pratiwi mengucapkan terima kasih kepada Departemen Pendidikan Nasional atas beasiswa yang diberikan melalui program Beasiswa Unggulan di Magister Biologi, Universitas Kristen Satya Wacana.

KEPUSTAKAAN

1. Britton, G., S. Liaaen-Jansen, H. Pfander. Carotenoids Vol. IA: Isolation and Analysis. Birkhauser Verlag, Basel Switzerland; 1995.
2. Lorenz, R.T. dan Cysewski, G.R. Commercial potential for Haematococcus microalgae as a natural source of astaxanthin. *Trends Biotechnol.* 2000; 18: 160-7.
3. Jyonouchi, H. Sun S., Gross M. Effect of carotenoids on in vitro immunoglobulin production by human peripheral blood mononuclear cells: astaxanthin, a carotenoid without vitamin A activity, enhances in vitro immunoglobulin production in response to a T-dependent stimulant and antigen. *Nutr. Cancer* 1995;23: 171-83.
4. Dore, John E. Astaxanthin and Cancer Chemoprevention. Dalam:Debasis Bagchi dan Harry Preuss (ed.). *Phytopharmaceutical in Cancer Chemoprevention.* ; 2004.
5. Johnson, Eric A., Tomas G. Villa, Michael J. Lewis, dan Herman J. Phaff. Simple Method for the Isolation of Astaxanthin from the Basidiomycetous Yeast *Phaffia rhodozyma*. *Applied and Environmental Microbiology* 1978; Vol 35 No. 6. p. 1155-9.
6. Johnson Eric A, dan An GH. Astaxanthin from microbial sources. *Crit Rev Biotechnol* 1991; 11:297-326.
7. Johnson, Eric A. *Phaffia rhodozyma* : colorful odyssey. *Int Microbiol* 2003; 6: 169-74.
8. Bhosale, Prakash B. Studies on Yeast *Rhodotorula*, its carotenoids and their applications. Thesis submitted to the University of Pune, India for the Degree of Doctor of Philosophy in Microbiology; Februari 2001.
9. Dufossé'e9, L. Microbial Production of Food Grade Pigments. *Food Technol. Biotechnol.* 2006; 44 (3) 313-21.
10. Gué'e9rin, Martin. Astaxanthin: not only a pigment, but a health enhancer too. *FEED MIX* 2001; Volume 9 Number 6: 10-3
11. Odeberg, Johanna Mercke., Ake Lignell, Annette Pettersson, Peter Hoglund. Oral bioavailability of the antioxidant astaxanthin in humans is enhanced by incorporation of lipid based formulations. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 2003; 19: 299-304
12. Clark R. M., Yao L., She L, Furr H. C. A comparison of lycopene and astaxanthin absorption from corn oil and olive oil emulsions., *Lipids* 2000; 35(7):803-6.
13. Gradelet S., Astorg P., Leclerc J., Chevalier J., Vernevault M. F., Siess M. H. Effects of canthaxanthin, astaxanthin, lycopene and lutein on liver xenobiotic-metabolizing enzymes in the rat., *Xenobiotica.* 1996; 26(1):49-63.
14. Jewell C., O'Brien N. M. Effect of dietary supplementation with carotenoids on xenobiotic metabolizing enzymes in the liver, lung, kidney and small intestine of the rat., *Br J Nutr.* 1999; 81(3):235-42.
15. Osterlie M., Bjerkgeng B., Liaaen-Jensen S. Plasma appearance and distribution of astaxanthin E/Z and R/S isomers in plasma lipoproteins of men after single dose administration of astaxanthin., *J Nutr Biochem.*, 2000; 11(10):482-90.
16. Guerin, M., Mark E. Huntley, dan Miguel Olaizola. Haematococcus astaxanthin: applications for human health and nutrition. *Trends In Biotechnology* 2003 Vol.21 No.5 May.
17. Opinion of the Scientific Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed on the request from the European Commission on the safety of use of colouring senyawats in animal nutrition. PART I. *General Principles and Astaxanthin The EFSA Journal* 2005; 291:1-40
18. Lorenz, R. Todd. *Astaxanthin, Nature's Super Carotenoid.* BioAstin™ Technical Bulletin 2000; #062.
19. Capelli, Bob. dan Robert Cysewski. *Natural Astaxanthin: King of the Carotenoids.* USA: Cyanotech Corporation; 2007.
20. Nishino H., Murakoshi M., Ii T., Takemura M., Kuchide M., Kanazawa M., Mou X. Y., Wada S., Masuda M., Ohsaka Y., Yogosawa S, Satomi Y., Jinno K. Carotenoids in cancer chemoprevention., *Cancer Metastasis Rev.* 2002; 21(3-4):257-64.
21. Hix L. M., Frey D. A., McLaws M. D., Osterlie M., Lockwood S. F., Bertram J.S. Inhibition of chemically-induced neoplastic transformation by a novel tetrasodium diphosphate astaxanthin derivative. *Carcinogenesis* 2005.
22. Tanaka T., Morishita Y., Suzui M., Kojima T., Okumura A., Mori H. Chemoprevention of mouse urinary bladder carcinogenesis by the naturally occurring carotenoid astaxanthin., *Carcinogenesis* 1994; 15(1):15-9.
23. Tanaka T., Makita H., Ohnishi M., Mori H., Satoh K., Hara A. Chemoprevention of rat oral carcinogenesis by naturally occurring xanthophylls, astaxanthin and canthaxanthin., *Cancer Res.* 1995;55(18):4059-64.
24. Tanaka, T., Makita, H., Ohnishi, M., Hirose, Y., Wang, A., Sato, K., Hara, A., dan Ogawa, H. Chemoprevention of 4-nitroquinoline-1-oxide-induced oral carcinogenesis by dietary curcumin and hesperidin: comparison with the protective effect of β 'df-carotene. *Cancer Res.* 1994; 54:4653-9.
25. Tanaka T., Kawamori T., Ohnishi M., Makita H., Mori H., Satoh K., Hara A. Suppression of azoxymethane-induced rat colon carcinogenesis by dietary administration of naturally occurring xanthophylls astaxanthin and canthaxanthin during the postinitiation phase., *Carcinogenesis* 1995; 16(12):2957-63.
26. Jyonouchi H., Sun S, Iijima K., Gross M.D. Antitumor activity of astaxanthin and its mode of action., *Nutr Cancer.* 2000;36(1):59-65.

27. Kurihara H., Koda H., Asami S., Kiso Y., Tanaka T. Contribution of the antioxidative property of astaxanthin to its protective effect on the promotion of cancer metastasis in mice treated with restraint stress., *Life Sci.* 2002; 70(21):2509-20.
28. Chew B. P., Park J. S., Wong M. W., Wong T. S. A comparison of the anticancer activities of dietary beta-carotene, canthaxanthin and astaxanthin in mice in vivo., *Anticancer Res.* May-Jun;19(3A):1849-53.
29. Anderson, M. Method of Inhibiting 5- α 61 Reductase with Astaxanthin to Prevent and Treat Benign Prostate Hyperplasia (BPH) and Prostate Cancer in Human Males. US Patent #6277417; 2001.
30. Miki, W., Hosoda, K., Kondo, K., and Itakura, H. Astaxanthin-containing drink. Patent application \ number 10155459. Japanese Patent Office. Publication date 16 June 1998.
31. Mera Pharmaceuticals Inc. A human safety trial of natural astaxanthin from *Haematococcus pluvialis* algae, produced with Mera Pharmaceuticals' proprietary technology. Confidential Report: RD.0100.001; 1999.