POTENSI DAN EFEKTIVITAS *Salmonella* Typhimurium HASIL REKAYASA GENETIKA SEBAGAI TERAPI ANTIKANKER GLIOBLASTOMA**POTENTIAL AND EFFECTIVENESS GENETIC ENGINEERING OF *Salmonella* Typhimurium AS ANTICANCER THERAPY OF GLIOBLASTOMA**

Muhamad Ananda¹⁾, Fiska Ivana Pratami Putri Tokede¹⁾, Srigika Natalia Boru Ginting¹⁾, Rani Nurlina Tifen¹⁾, Delfania Apang Madao¹⁾, Ellen Nur Endah Pangesti¹⁾, Wahyu Irawati^{1)*}

Diterima : 16 Desember 2021

Disetujui : 4 Agustus 2021

Afiliasi Penulis:

¹⁾ Pendidikan Biologi, Fakultas Ilmu Pendidikan, Universitas Pelita Harapan

Email korespondensi:

*wahyu.irawati@uph.edu

ABSTRAK

Kanker adalah penyakit mematikan karena perkembangan sel yang abnormal sehingga tidak terkendali oleh tubuh. Penyakit kanker telah menyerang laki-laki maupun perempuan dengan jenis kanker berbeda, seperti kanker paru-paru, kolorektum, kanker serviks. Pengobatan kanker terdapat beberapa cara salah satunya terapi. Pengobatan ini banyak diimplementasikan di beberapa jenis kanker, termasuk kanker otak, yaitu glioblastoma. Penelitian beberapa tahun terakhir menunjukkan bahwa pendekatan terapi dengan bakteri *Salmonella* Typhimurium berhasil memproduksi enzim antikanker, dan mensekresikan antigen sekaligus antibodi spesifik kanker untuk mengobati penyakit ini. Penulisan ini bertujuan mengkaji potensi dan efektivitas *Salmonella* Typhimurium sebagai agen terapi antikanker melalui rekayasa genetika galur gen VN20009 yang dilemahkan. Pengkajian dilakukan secara kualitatif dengan memaparkan secara deskriptif melalui kajian literatur. Hasil kajian menunjukkan bahwa *Salmonella* Typhimurium merupakan bakteri Gram negatif, fakultatif anaerob, dan bersifat motil. Bakteri ini berikatan secara spesifik pada sel-sel kanker dengan mentransferkan RNA onkogen serta menghambat pertumbuhan sel kanker. Pengembangan bakteri *Salmonella* menjadi kandidat terapi sebagai strategi terapi utama dalam pengobatan kanker karena spesifik menargetkan sel kanker sehingga menghambat pertumbuhannya dan meningkatkan kelangsungan hidup penderita kanker. Hasil kajian menunjukkan bahwa *Salmonella* Typhimurium memiliki prospek yang menjanjikan untuk penyembuhan penyakit kanker serta menjadi referensi untuk penelitian selanjutnya dalam pengembangan dan pemanfaatan *Salmonella* Typhimurium sebagai antikanker.

Kata kunci: antikanker, glioblastoma, pendekatan terapi, *Salmonella* Typhimurium, gen VN20009

ABSTRACT

Cancer is a deadly disease due to abnormal cell development. Cancer has attacked anybody with different types of cancer, such as lung cancer, colorectal cancer, cervical cancer. There are several ways to treat cancer, one of which is therapy. This treatment is widely implemented in several types of cancer, including brain cancer, glioblastoma. Research in the last few years, a therapeutic approach with *Salmonella* Typhimurium bacteria can produce anticancer enzymes and secrete cancer-specific antigens and antibodies. This paper aims to examine the characteristics of the potential and effectiveness's *Salmonella* Typhimurium as an anticancer agent through genetic engineering of the attenuated VN20009 gene strain. The method is done qualitatively by describing through a literature review. *Salmonella* Typhimurium is facultatively anaerobic, motile, and gram-negative. These bacteria bind specifically to cancer cells by transferring oncogenes RNA to inhibit cancer cell growth. The development of *Salmonella* bacteria is a therapeutic candidate as an anticancer because it specifically targets cancer cells to inhibit their growth and increase the survival of cancer patients. That means *Salmonella* typhimurium has a promising prospect for curing cancer in the future. This could be a reference for further research in the development of *Salmonella* typhimurium as a more utilized anticancer.

Keywords: anticancer, glioblastoma, therapy, *Salmonella* Typhimurium, VN20009 gene

Cara sitasi:

Ananda, M, FIPP Tokede, SNB Ginting, RN Tifen, DA Madao, ENE Pangesti, W Irawati. 2021. Potensi dan efektivitas *Salmonella* Typhimurium hasil rekayasa genetika sebagai terapi antikanker glioblastoma. *Journal of Tropical Biology* 9 (2): 96-104.

PENDAHULUAN

Kanker merupakan penyakit yang mematikan dan berbahaya. Kanker terjadi karena pertumbuhan

dan penyebaran sel yang abnormal secara tidak terkendali. Menurut Badan Kesehatan Dunia (WHO) terdapat beberapa jenis kanker pada pria di

antaranya kanker paru-paru, kanker kolorektal, kanker hati, sedangkan pada wanita ditemukan kanker payudara, kanker kolorektal, paru-paru, kanker serviks, dan kanker ovarium. Pada tahun 2012 terdapat 14 juta kasus baru kanker dan 8,2 juta kematian yang diakibatkan oleh kanker di dunia [1]. Kanker merupakan perkembangan sel-sel dalam tubuh yang tidak terkendali. Salah satu perkembangan dari sel-sel yang tidak terkendali tersebut dapat terjadi pada otak yang memicu penyakit glioblastoma. Glioblastoma merupakan tumor otak ganas yang paling umum dan agresif pada orang dewasa [2]. Penyakit ini tergolong tumor otak ganas primer, dengan 16% terjadi di semua otak primer dan neoplasma sistem saraf pusat [3]. Dari beberapa jenis kanker, glioblastoma merupakan salah satu kanker yang cukup ganas dan sulit untuk diobati. Sebuah penelitian di Amerika Serikat, diperkirakan 12.120 pasien didiagnosis dengan kanker glioblastoma pada tahun 2016 dengan tingkat kelangsungan hidup lima tahun sebesar 5% [4].

Penderita kanker dapat mengupayakan pengobatan dengan kemoterapi maupun konsumsi obat. Pengobatan untuk penderita kanker glioblastoma juga dapat melalui kemoterapi, oleh sebab itu, banyak dilakukan penelitian mengenai efek samping dan resistensi terhadap kemoterapi. Kanker glioblastoma adalah tumor ganas pada sistem saraf pusat primer (SSPP) yang paling umum dan merupakan 78% dari keseluruhan tumor SSP pada orang dewasa [5]. Berkaitan dengan hal tersebut, dikatakan bahwa *Glioblastoma Multiforme* (GBM) merupakan tumor otak primer yang bersifat agresif dengan angka kejadian lebih kurang tiga kasus per 100.000 penduduk, dengan usia rata-rata 64 tahun [6]. Glioblastoma diklasifikasikan oleh WHO sebagai astrokitoma tingkat IV dalam penyakit kanker [7]. Peningkatan kasus glioblastoma terjadi pada pasien yang didiagnosis pada usia 65 atau lebih, yang sekarang merupakan hampir setengah dari semua pasien yang didiagnosis dengan glioblastoma [8].

Para peneliti melakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengobatan alternatif terhadap kanker glioblastoma menggunakan imunoterapi sebagai alternatif pengobatan kanker, yaitu bakteri yang digunakan sebagai agen untuk melawan kanker [9]. Pilihan pengobatan saat ini pada diagnosis adalah multimoda seperti reseksi bedah, radiasi, dan kemoterapi. Kemajuan yang signifikan dalam patologi molekuler glioblastoma dan jalur persinyalan sel, menciptakan peluang terapi baru. Perawatan inovatif, contohnya penanganan tumor (*TTFields*) dan imunoterapi, memberi harapan untuk kelangsungan hidup yang lebih baik [2].

Sejauh ini bakteri yang digunakan sebagai alternatif pengobatan kanker adalah spesies *Salmonella*. *Salmonella* tergolong bakteri Gram

negatif anaerob fakultatif [10]. *Salmonella* Typhimurium yang telah dilemahkan banyak digunakan sebagai antikanker karena mudah dimanipulasi secara genetik sehingga dapat memberikan senyawa terapi atau modulator imun ke situs tumor. Bakteri *Salmonella* Typhimurium diperkirakan dapat menghancurkan tumor melalui persaingan dalam mendapatkan nutrisi dan toksisitas karena pertumbuhan bakteri [11].

Kajian literatur ini bertujuan untuk 1) menjelaskan karakteristik bakteri *Salmonella* Typhimurium, 2) menjelaskan potensi *Salmonella* Typhimurium sebagai antikanker glioblastoma, 3) memaparkan mekanisme rekayasa genetika *Salmonella* Typhimurium sebagai agen terapi kanker, dan 4) memaparkan keberhasilan *Salmonella* Typhimurium dalam mengatasi kanker.

PEMBAHASAN

Karakteristik *Salmonella* Typhimurium.

Terdapat banyak bakteri yang dikembangkan saat ini untuk menjadi suatu pendekatan terapi penyakit pada manusia. Bahkan, penelitian beberapa tahun terakhir menunjukkan bahwa bakteri yang umumnya dianggap sebagai patogen bagi organisme lain justru memiliki prospek menjanjikan sebagai pengobatan penyakit, salah satunya *Salmonella* Typhimurium yang dikembangkan untuk pendekatan terapi antikanker bagi manusia. *Salmonella* Typhimurium merupakan bakteri berbentuk batang dan termasuk sebagai bakteri gram negatif dalam pewarnaan gram.

Iswari dkk dalam [12] menjelaskan bahwa, bakteri *Salmonella* Typhimurium tidak mempunyai spora, terdapat flagel pada tubuhnya untuk membantu pergerakan yang disebut flagel peritrik. *Salmonella* Typhimurium bersifat intraseluler fakultatif dan anaerob fakultatif. Ukurannya berkisar antara 0,7-1,5x2-5 mikrometer, terdapat antigen *somatic* (O), antigen flagel (H) dengan dua fase dan antigen kapsul (Vi).

Bakteri jenis *Salmonella* tidak sulit dalam perkembangan hidupnya atau membutuhkan kondisi khusus supaya dapat hidup secara optimal karena bakteri ini dapat hidup dan berkembang biak dalam berbagai kondisi lingkungan di luar inang yang hidup [13]. Gray & Fedorka-Cray dalam [13] menyatakan, sebagian besar jenis dari *Salmonella* tumbuh dalam suhu lingkungan berkisar 5 – 47 °C dan memiliki suhu optimal 35 – 37 °C. Namun, beberapa juga dapat bertahan hidup pada suhu rendah 2 – 4 °C dan suhu tinggi 54 °C. *Salmonella* peka terhadap suhu panas dan dapat mati pada kondisi suhu 74 °C atau lebih. Mereka tumbuh di kisaran pH 4-9 dengan optimum antara 6,5 – 7,5, membutuhkan aktivitas air yang tinggi (aw) antara 0,99 – 0,94 (air murni aw = 1,0) tetapi

Salmonella dapat bertahan pada $aw < 0,2$ itu artinya lingkungan lebih kering, contohnya makanan kering [13].

Salmonella merupakan bakteri anaerob fakultatif negatif yang hidup dan bereplikasi bisa di dalam maupun di luar sel inangnya [10] [13]. Beberapa jenis bakteri ini mempunyai sifat intrinsik dapat mengkolonisasi sel tumor [14]. Pengembangan terbaru dari bakteri *Salmonella* ditemukan terdapat beberapa jenis dari bakteri ini yang telah di ujicoba untuk terapi yang ditargetkan pada sel tumor atau sebagai antitumor, terutama VNP20009, A1-R, dan CRC2631 [10]. Gen virulen atau VNP20009 merupakan gen yang diekspresikan oleh bakteri *Salmonella* Typhimurium. Gen ini dimodifikasi melalui rekayasa genetika sehingga disebut gen mutan yang digunakan untuk terapi antikanker. *Salmonella* Typhimurium mampu tumbuh pada kondisi aerobik and anaerob yang mendasari bakteri ini dapat berkoloni pada tumor besar dan kecil [15]. *Salmonella* Typhimurium memiliki sifat unik dalam pengembangannya sebagai terapi antikanker, yaitu mampu mendeteksi dan menargetkan sel tumor, dapat tumbuh secara preferensial dalam lingkungan mikro khususnya tumor, dapat melakukan penetrasi intratumoral yang baik, serta programabilitas serbaguna [16].

Salmonella Typhimurium memiliki atribut intrinsik yang mampu secara selektif mengintervensi kepadatan tumor dan metastasisnya. *Salmonella* Typhimurium mampu menargetkan dan menghancurkan tumor dalam tiga acara khusus; menginduksi kekebalan respon terhadap keberadaan tumor, memanfaatkan toksin bakteri untuk secara langsung mengaktifkan *caspase-3* (enzim penting dari jalur apoptosis), dan juga sebagai vektor dalam memberikan senyawa antikanker ke lokasi kanker. *Salmonella* Typhimurium mampu menembus jauh ke dalam tumor dan tidak terpengaruh oleh oleh strategi penghindaran berupa kekebalan dari tumor tersebut. *Salmonella* Typhimurium bersifat motil dan dapat dengan mudah dimanipulasi secara genetik [17]. *Salmonella* Typhimurium berfungsi sebagai vektor yang cocok dalam imunoterapi antitumor [18] dengan ciri-ciri, yaitu; kemampuan kolonisasi tumor [19] [20], metastasis [21], dan afinitas untuk sel penyaji antigen [22].

Potensi *Salmonella* Typhimurium dalam menghasilkan antikanker glioblastoma. Terapi bakteri dengan menggunakan *Salmonella* Typhimurium dapat mengambil manfaat dari motilitas dan metabolisme mikroba untuk mengatasi sejumlah masalah terkait penyakit kanker [23]. Manfaat motilitas menyebabkan bakteri tidak hanya mampu mendeteksi kemotaksis yang terjadi pada kanker tetapi juga dapat mengikuti gradien kimia. Hal ini kontras dengan

terapi pasif yang hanya berdifusi ke dalam jaringan dari sirkulasi. Bakteri jauh mampu menembus hingga ke jaringan tumor dan bekerja secara spesifik misalnya mengekspresikan protein atau mentransfer gen-gen ke sel-sel tumor, salah satunya kanker yang terlokasi jauh dari pembuluh darah. Strain *Salmonella* terbukti efektif dan bekerja secara *in vitro*. Manfaat metabolisme menyebabkan bakteri bekerja aktif secara metabolik dan mampu melakukan tugas metabolisme secara spesifik di lokasi sel target yang berbeda dengan molekul kimia atau biologis. Bakteri juga dapat mengekspresikan antigen terkait sel target tersebut untuk merangsang sistem imun antikanker sistemik.

Menurut [24] terdapat beberapa potensi atau keuntungan yang dapat diberikan oleh *Salmonella*. Penargetan pada sel tumor dengan menggunakan injeksi sistemik menyebabkan *Salmonella* dapat terakumulasi dalam tumor dengan rasio lebih besar yaitu 1:1000 dibandingkan dengan jaringan normal seperti biasa sehingga dapat mengurangi toksisitas pada inang. Penetrasi intratumoral dengan menggunakan *Salmonella* motil dapat secara aktif bermigrasi menjauh dari pembuluh darah ke jaringan sel tumor yang dalam sehingga dapat mengatasi keterbatasan penetrasi kemoterapi. *Salmonella* memiliki aktivitas intrinsik untuk membunuh sel-sel kanker dengan cara menginduksi kedua sel apoptosis dan *autofag*. *Salmonella* dapat menghambat *angiogenesis* tumor. Infeksi *Salmonella* dapat menstimulasi respon imun anti tumor inang di dalam jaringan tumor termasuk respon imun inflamasi dan ketergantungan sel T. *Salmonella* memiliki sifat patogen intrinsik yang dapat direkayasa secara genetis agar efisien untuk menghilangkan kemampuan virulensi bakteri dan meningkatkan kemampuan penargetan tumor sehingga dapat meningkatkan efektivitasnya pada penerapan terapi kanker. Vektor *Salmonella* dan regulasi ekspresi gennya yang tepat dapat meminimalkan toksisitas sistemik dari inang. Pengobatan *Salmonella* yang dikombinasikan dengan kemoterapi atau radioterapi akan meningkatkan efek anti tumor dan mengurangi toksisitas dibandingkan dengan pengobatan tunggal.

Pendapat lain juga disampaikan oleh [15] mengenai efektivitas penggunaan *Salmonella* Typhimurium untuk mengobati kanker. Sifat yang dimiliki *Salmonella* Typhimurium sangat unik yaitu menargetkan sel-sel tumor, memiliki pertumbuhan preferensial dalam lingkungan mikro khusus tumor, memiliki administrasi intratumoral yang baik, serta sitotoksitas dan imunogenisitas yang rendah. *Salmonella* dapat direkayasa sebagai bagian dari pendekatan terapi aktif untuk kanker dan memiliki beberapa keunggulan dibandingkan

terapi konvensional. Berdasarkan pernyataan tersebut dapat disimpulkan bahwa *Salmonella* Typhimurium memiliki banyak potensi, salah satunya dapat direkayasa untuk digunakan sebagai terapi anti-kanker. Potensi yang dimiliki *Salmonella* menurut [25], dapat mengaktifkan makrofag atau sel dendrit yang akan merangsang aktivitas sel T dan ekspresi sitokin. Bakteri ini akan menyebabkan kematian sel-sel tumor dengan menginduksi apoptosis dan autofag untuk mengaktifkan caspase atau menurunkan regulasi jalur persinyalan.

Tumor glioma merupakan tumor pada sistem saraf pusat dan salah satu jenisnya adalah glioblastoma. Sebuah artikel penelitian menyatakan bahwa bakteri jenis *Salmonella* Typhimurium A1-R mampu menghambat tumor tersebut. Strain penargetan tumor oleh bakteri *Salmonella* Typhimurium A1-R mampu menghambat dan membasmi glioma manusia dalam model tikus ortotopik. Bakteri ini diberikan melalui injeksi dengan jendela terbuka kraniotomi atau intravena pada tikus. Untuk menetapkan model, sel glioma manusia 2 x 10⁵ U87-RFP disuntikkan secara stereotaktik ke otak tikus melalui kraniotomi. Dua minggu setelah implantasi sel glioma, tikus diobati dengan *Salmonella* Typhimurium A1-R seminggu sekali selama tiga minggu. Tumor otak diamati dengan fluoresensi melalui kraniotomi dari waktu ke waktu. *Salmonella* Typhimurium A1-R, mampu menghambat pertumbuhan tumor otak 7,6 kali lipat dibandingkan dengan tikus yang tidak diobati dan meningkatkan kelangsungan hidup 73% [26].

Mekanisme rekayasa genetika *Salmonella* Typhimurium. Perkembangan teknologi biologi molekuler memunculkan banyak metode rekayasa genetika untuk meningkatkan pemanfaatan organisme hidup. Salah satu teknologi rekayasa genetika adalah modifikasi bakteri *Salmonella* Typhimurium untuk terapi antikanker. Rekayasa genetika adalah teknologi untuk memanipulasi gen mikroba dalam rangka mengatur tingkat ekspresi gen dan produksi senyawa tertentu sehingga dapat menghasilkan produk yang bermanfaat [27].

Proses rekayasa genetika bakteri *Salmonella* Typhimurium terdiri dari beberapa tahapan, yaitu:

1. Modifikasi *Salmonella* Typhimurium

Bakteri *Salmonella* Typhimurium memiliki sifat strain yang dapat menekan pertumbuhan sel-sel kanker seperti VN20009 (*purI*-/*msbB*-), AR-1 dan Δ ppGpp namun strain-strain ini harus dimodifikasi secara genetis karena sifatnya yang patogen. *Salmonella* Typhimurium yang dilemahkan dilaporkan memiliki kecenderungan untuk berakumulasi dan bereplikasi secara alami dalam berbagai macam tumor padat [28]. Sumber lain mengatakan bahwa VN20009 telah banyak

dipelajari dalam model tumor hewan dan diuji secara klinik sehingga mempertimbangkan sifat patogen intrinsik bakteri *Salmonella* Typhimurium ini maka diperlukan pelemahan virulensi yang efisien untuk keamanan [24]. VNP20009 adalah strain *Salmonella* Typhimurium yang memiliki profil yang baik dalam mengatasi tumor namun harus dilemahkan secara genetis yaitu dengan penghapusan gen *purI* dan *msbB* untuk mengurangi kerentanan antibiotik [25]. Strain lain yang dilemahkan adalah AR-1

2. Pelemahan strain AR-1

Bertujuan untuk “menipu” sel kanker dengan cara masuk ke dalam siklus sel dari G0/G1 ke S/G2/M sehingga meningkatkan sensitivitas terhadap kemoterapi dan menekan pertumbuhan sel. Selain kedua strain tersebut, strain Δ ppGpp (*relA*-, *spoT*-) yang merupakan avirulen juga dimodifikasi dengan mengatur ekspresi gen endotoksin [15].

3. Penyisipan agen anti tumor

Terlepas dari kemampuan bakteri untuk mengobati kanker yang sudah diteliti, kemampuan bakteri ini belum cukup untuk mengatasi kanker secara keseluruhan. Untuk meningkatkan efisiensi terapi antikanker, *Salmonella* yang telah dilemahkan digunakan sebagai vektor yang disisipkan berbagai agen anti-tumor seperti sitokin, agen sitotoksik, molekul pengatur, antigen atau antibodi terkait tumor, enzim prodrug, dan siRNA yang akan diekspresikan oleh bakteri (sistem ekspresi prokariotik) atau diekspresikan setelah ditransfer ke dalam sel target yaitu sel kanker atau sel makrofag (sistem ekspresi eukariotik).

4. Kontrol pemicu ekspresi gen

Strategi yang digunakan untuk regulasi atau pemicu ekspresi gen sebagian besar termasuk dalam tiga kategori di antaranya pemicu ekstraseluler, penginderaan lingkungan, dan induksi diri. Misalnya faktor pemicu ekspresi gen ekstraseluler meliputi L-arabinose dan *Acetyl Salicylic Acid* (ASA) yang merupakan pemicu biologis nontoksik yang mengontrol ekspresi gen di bawah promotor PBAD dan promotor Pm yang mengontrol ekspresi gen sel tumor dan mereduksi pertumbuhan sel-sel tumor [24].

Teknik pengembangan yang digunakan dalam rekayasa genetika *Salmonella* Typhimurium ini cukup rumit dikarenakan meliputi beberapa tahap seperti proses melemahkan beberapa strain yang berpotensi sebagai antikanker lalu disisipkan agen-agen anti-tumor hingga kontrol ekspresi gen yang membutuhkan kerja spesifik dan kompleks. Teknologi genetika molekuler dalam teknik ini memanfaatkan strain-strain pada bakteri *Salmonella* Typhimurium yang berpotensi untuk

membunuh sel kanker dan memotong beberapa gen yang bersifat patogen atau bersifat mutan.

Kelebihan utama dari teknik ini adalah kemampuan mengatasi kanker yang merupakan penyakit yang sangat rumit. Profil genetik dan fenotipik bervariasi di antara berbagai jenis tumor yang sering menghasilkan respon berbeda terhadap terapi, oleh sebab itu terapi seluler universal yang dikembangkan belum tentu dapat mengatasi setiap permasalahan jika semua presentasi tumor tidak diketahui [10].

Salmonella Typhimurium telah terbukti efektif dapat mengobati bukan hanya satu jenis kanker melainkan beberapa jenis kanker seperti kanker prostat, payudara, pankreas, dan beberapa jenis kanker lain. Selain itu, *Salmonella* Typhimurium layak untuk diteliti lebih lanjut karena banyak potensi keuntungannya dibandingkan perawatan anti-tumor konvensional [24]. Penelitian percobaan melalui tikus yang disuntikan sel glioma pada otaknya, *Salmonella* Typhimurium sebagai agen antikanker, dilemahkan dan ditransformasikan dengan gen antitumor yang dikodekan plasmid *ClyA* untuk melisis sel tumor yang pernah diekspresikan dalam sel kanker. Ekspresi *ClyA* dikendalikan oleh promotor TetR sebagai respons terhadap doksisiklin ekstraseluler. Gen bakteri dapat dengan mudah dimanipulasi, *Salmonella* Typhimurium dapat direkayasa secara khusus untuk terapi kanker dengan memberikan *ClyA* sebagai protein pembunuh kanker [29].

Jangkauan yang luas dari tipe tumor atau sel kanker yang dapat ditargetkan oleh *Salmonella* Typhimurium hasil rekayasa genetika ini memberikan jaminan peningkatan keberhasilan terapi kanker yang akan dibahas pada pokok bahasan berikut. Selain itu, pengetahuan yang lebih luas mengenai mekanisme ini dapat memfasilitasi pengembangan teknik modifikasi materi genetik dengan metode yang lebih sederhana dalam bidang bioteknologi modern dan penelitian dan uji secara medis.

Mekanisme *Salmonella* Typhimurium sebagai agen antikanker glioblastoma. Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa beberapa mikroba memiliki aktivitas yang menunjukkan potensi sebagai antikanker karena sifat toksisitas dapat bekerja terhadap proses tertentu dalam suatu siklus tumor. Dalam hal ini, bakteri *Salmonella* Typhimurium dapat digunakan untuk menghancurkan sel-sel kanker dengan menargetkan molekul-molekul antikanker spesifik ke daerah luar hingga masuk ke dalam sel-sel kanker yang tidak dapat dicapai oleh terapi konvensional. *Salmonella* Typhimurium dapat menghancurkan sel-sel kanker dengan tiga mekanisme spesifik, yaitu dengan mensekresikan komponen anti-kanker, mensintetasi sistem

kekebalan terhadap keberadaan sel kanker, dan menggunakan racun bakteri untuk secara langsung mengaktifkan enzim apoptosis spesifik, yaitu enzim *caspase-3* [11].

Glioblastoma adalah menentukan sel kanker sebagai target untuk menginjektikan molekul-molekul antikanker dari bakteri *Salmonella* Typhimurium. Bakteri *Salmonella* pada dasarnya tertarik pada model sel kanker yang membentuk silinder *in vitro* yang terdapat di daerah pusat massa sel kanker di mana pada bentuk ini keberadaan sel nekrotik yang dalam keadaan ‘diam’ memungkinkan strain bakteri *Salmonella* untuk dapat bereplikasi di dalam jaringan tumor. *Salmonella* Typhimurium merupakan jenis bakteri anaerob yang artinya untuk menentukan sel target, sebagai vektor bakteri perlu menemukan sel target dengan lingkungan yang memungkinkan bakteri tersebut dapat bereplikasi dengan baik dan kadar oksigen (O_2) merupakan salah satu komponen paling penting yang digunakan bakteri untuk menemukan lingkungan mikro-tumor. Penggunaan bakteri *Salmonella* Typhimurium, konsentrasi oksigen yang rendah akan sangat mendukung kolonisasi spesifik dan proliferasi fakultatif. Mekanismenya adalah setelah diinjeksikan ke dalam tubuh bakteri *Salmonella* Typhimurium akan menuju ke sel-sel kanker melalui aliran darah. Bakteri dapat menargetkan sel kanker pada manusia dengan mendeteksi glikoprotein dari sel-sel karsinoma sehingga bakteri dapat mengikat sel-sel kanker [10].

Selanjutnya, setelah mendeteksi dan menargetkan sel-sel kanker, *Salmonella* Typhimurium akan menempel pada dinding pembuluh tumor dengan frekuensi rendah dan jumlah bakteri yang menempel pada pembuluh darah bergantung pada kecepatan darah sehingga hemodinamik juga sangat berperan penting dalam interaksi awal bakteri dengan jaringan tumor target [24]. Bakteri yang telah mengikat tumor akan mengekspresikan gen *asd* (*aspartate-semialdehyde dehydrogenase*) sehingga mengurangi sitotoksitas pada jaringan normal [15]. Gen *asd* menyebabkan bakteri lebih meningkatkan target terhadap sel-sel kanker secara khusus dibandingkan dengan sel normal.

Kemudian *Salmonella* Typhimurium yang telah mengikat jaringan tumor akan berkembang biak dan membentuk koloni bakteri pada jaringan tumor dan akan memakan nutrisi dari sel-sel kanker [15]. *Salmonella* Typhimurium akan mengekspresikan agen sitotoksik TNF- α dan ligan penginduksi apoptosis TRAIL sehingga meningkatkan toksisitas pada jaringan tumor. Bakteri *Salmonella* Typhimurium yang telah direkayasa akan mentransferkan RNA onkogen untuk menghambat pertumbuhan jaringan tumor. Gen RNA spesifik

yang disebut *shRNA* akan digunakan oleh enzim untuk menghasilkan RNA kecil yang disebut *siRNAs* yang dapat mengganggu dan memicu degradasi RNA tumor target [10]. Selain itu, injeksi intratumoral dari bakteri *Salmonella* dapat mendatangkan sel supresor myeloid yang diturunkan secara immunosupresif menjadi sel yang mensekresi *TNF-alpha* dengan karakteristik neutrofil dan mengurangi pembentukan sel *Treg*, sehingga secara signifikan menghambat pertumbuhan tumor [24]. Bakteri *Salmonella* Typhimurium juga dapat meningkatkan sistem kekebalan terhadap keberadaan tumor. *Salmonella* Typhimurium yang telah dilemahkan dapat mengaktifkan kekebalan antikanker, dimana bakteri menginduksi produksi sitokin proinflamasi seperti agen sitotoksik *TNF-alpha* untuk meningkatkan aktivitas sel imun, termasuk sel dendritik, makrofag, dan sel T sehingga mengubah lingkungan mikro-tumor yang awalnya *immunosuppressive* menjadi *immunocompetent* [15]. Hal ini berarti, tubuh dapat mencegah adanya pertumbuhan sel-sel kanker terutama pada jaringan yang sebelumnya telah menjadi lokasi pertumbuhan jaringan tumor karena sistem imun telah yang telah diaktifkan oleh bakteri mampu mengenali sel-sel kanker sehingga sistem kekebalan dapat langsung mencegah pertumbuhan saat sel-sel kanker kembali terdeteksi.

Selama proses penghancuran sel-sel kanker oleh bakteri, sisa-sisa dari jaringan tumor akan diambil oleh sel-sel antigen termasuk makrofag untuk membentuk dan menstimulus sel T yang khusus mendeteksi sel-sel kanker [24]. Makrofag adalah sel fagositik yang sangat efisien untuk mengenali patogen yang menyerang dan juga sel yang rusak, apoptosis, atau ganas dimana setelah fagositosis, makrofag menghasilkan produk beracun seperti nitrat oksida (NO) dan hidrogen peroksida yang memiliki sifat bakterisidal dan tumorisidal [30]. Hal ini berarti bakteri tidak hanya bekerja secara spesifik untuk membunuh sel-sel kanker tetapi juga aktivitas yang dilakukan bakteri *Salmonella* Typhimurium dapat merangsang pembentukan sistem imun yang secara khusus dapat mencegah kembalinya pertumbuhan sel-sel kanker.

Salmonella Typhimurium juga dapat merangsang sekresi enzim *caspase-3*, yaitu enzim spesifik apoptosis. Induksi apoptosis oleh bakteri *Salmonella* dapat dilakukan dengan berbagai mekanisme, termasuk persaingan dengan sel kanker untuk mendapatkan nutrisi dan pelepasan racun bakteri [11]. *Salmonella* Typhimurium secara khusus melakukan ekspresi efektor racun yang dapat merangsang sekresi enzim *caspase-3* bersamaan dengan mengeluarkan antigen yang tidak dapat diatasi oleh jaringan tumor [24].

caspase-3 yang diaktifkan oleh racun bakteri akan menyebabkan jaringan tumor mengalami peningkatan apoptosis sehingga mematikan sel-sel kanker. Hal senada disajikan berdasarkan hasil penelitian Zheng dkk., penggunaan bakteri *Salmonella* sebagai vektor dapat meningkatkan penekanan tumor karena sebagai sarana pengiriman bakteri ini dapat mengangkut berbagai molekul pensinyalan atau racun ke dalam lingkungan mikro tumor [31].

Penggambaran terapi kombinasi oleh *Salmonella* dapat memengaruhi glikoprotein (*P-gp*) melalui jalur enzim *caspase-3* (*casp-3*) sel kanker untuk meningkatkan *chemosensitivity* (Gambar 1). *Salmonella* mampu mengubah lingkungan mikro tumor otak dengan hipoksia, stroma, dan modulasi imun untuk meningkatkan kerusakan sel kanker yang diinduksi radioterapi [32].

Gambar 1. Skema terapi kombinasi dengan *Salmonella*

Keberhasilan *Salmonella* Typhimurium dalam mengatasi kanker. Sejauh ini metode penggunaan bakteri yang dimodifikasi sebagai agen antikanker menunjukkan tingkat keberhasilan yang tinggi. Setelah melewati berbagai uji klinis dan uji toksisitas, media bakteri cukup menjanjikan sebagai terapi antikanker walau telah dilaporkan beberapa efek samping yang muncul [33]. Efek samping pada dosis yang lebih tinggi mengakibatkan pasien dapat mengalami demam, hipotensi, anemia, dan trombositopenia, hal ini mungkin disebabkan oleh pelepasan sitokin. Sebagian besar efek samping ringan dan cepat reversibel, tetapi pasien tidak mengalami regresi kanker objektif. *Salmonella* aman diberikan kepada manusia dalam dosis besar dan bahwa toksisitas strain bakteri ini terbatas. Terapi bakteri menciptakan peluang untuk strategi antikanker baru karena bakteri memenuhi semua persyaratan untuk agen penargetan tumor yang ideal. Banyak contoh telah membuktikan bahwa pengobatan kanker dengan bakteri dapat menentukan lokasi spesifik dan sangat terfokus pada tumor serta aman untuk jaringan lain. Di antara strain bakteri yang

dievaluasi sebagai terapi kanker, *Salmonella* Typhimurium adalah salah satu yang paling menjanjikan [23].

Bakteri yang dimanipulasi dapat mengatasi banyak keterbatasan yang sering menghambat resimen kanker dengan secara langsung menargetkan sel-sel kanker, membunuh sel-sel ini melalui toksisitas bakteri bawaan, persaingan dalam mendapatkan nutrisi atau pengiriman agen antikanker. Spesies *Salmonella*, *Clostridium*, *Escherichia*, *Bifodobacterium*, *Caulobacter*, dan *Listeria* semuanya telah diuji untuk potensi penggunaannya dalam terapi kanker dengan berbagai tingkat keberhasilan. *Salmonella* Typhimurium memiliki keuntungan bawaan sebagai kemoterapi, bakteri ini tertarik pada sel kanker oleh senyawa yang dilepaskan oleh sel nekrotik dan mereka dapat digunakan untuk menginfeksi sel atau mengirimkan senyawa langsung ke lokasi tumor [11]. Di antara bakteri yang digunakan untuk pengobatan kanker, *Salmonella* menunjukkan efek terapi yang baik pada tumor padat dan metastasis. *Salmonella* dianggap potensial karena lokalisasi spesifik tumornya, kemampuannya untuk menargetkan berbagai jenis tumor, genom yang diurutkan sepenuhnya dan toksisitas alami [25].

Penelitian lain juga membuktikan keberhasilan dari penggunaan modifikasi dari *Salmonella* Typhimurium yang berhasil sebagai antikanker otak yang diujicobakan kepada tikus. Penelitian ini dilakukan oleh peneliti Korea, dimana mereka melihat dari bioluminensi untuk melihat betapa spesifiknya *Salmonella* Typhimurium ini dalam menargetkan sel tumor. Kesimpulan dari penelitian mereka adalah bahwa penggunaan *Salmonella* Typhimurium berhasil karena terapi gen dalam model glioma *xenograft*. *Salmonella* Typhimurium yang direkayasa secara genetika sangat berguna untuk evaluasi pra-klinis rejimen terapeutik baru untuk pengobatan tumor otak [34].

Peningkatan jumlah hasil penelitian yang relevan berbasis sel hingga praklinis jelas menunjukkan bahwa terapi menggunakan *Salmonella* adalah kandidat terapi yang menjanjikan dan berpotensi menjadi strategi terapi utama dalam pengobatan kanker. Hal ini dikarenakan *Salmonella* dapat bekerja secara efisien dalam interaksi yang beragam antara peningkatan regulasi molekul imunomodulator dan menurunkan regulasi protein terkait fenotip agresif untuk menetralkan berbagai proses seluler protumor, serta digunakan untuk meningkatkan kelangsungan hidup pasien kanker. Hambatan dalam menggunakan *Salmonella* telah diatasi atau paling tidak dikurangi melalui rekayasa genetika, seperti potensi toksisitas dan respons imun inang terhadap agen bakteri itu sendiri [35]. Berdasarkan

hal tersebut, dapat dikatakan bahwa penggunaan *Salmonella* ini sebagai antikanker sudah cukup berhasil dan dapat lebih dikembangkan lagi.

KESIMPULAN

Salmonella Typhimurium dapat digunakan sebagai terapi antikanker karena memiliki penargetan pada sel tumor yang baik dan dapat membunuh sel kanker. Penetrasi intratumoral juga dapat dilakukan untuk menjauh dari pembuluh darah ke jaringan sel tumor agar dapat mengatasi keterbatasan penetrasi kemoterapi. Potensi lain yang dimiliki bakteri ini yaitu dapat mengaktifasi dengan cara sebagai stimulus respon imun dan dapat direkayasa genetik untuk terapi aktif dan terapi kombinasi.

Terapi bakteri *Salmonella* Typhimurium yang dilakukan dengan cara rekayasa genetik dapat dilakukan dengan beberapa tahap yaitu pertama, modifikasi *Salmonella* Typhimurium dengan melemahkan bagian genetiknya yaitu VNP20009 yang baik untuk mengatasi tumor. Kedua, penyisipan gen antitumor seperti sitokinin, agen sitotoksi, molekul pengatur, antigen atau antibodi terkait tumor, enzim prodrug, dan RNA yang akan diekspresikan oleh bakteri. Ketiga, kontrol pemicu ekspresi gen yang terdiri dari pemicu ekstraseluler, penginderaan lingkungan, dan induksi diri.

Mekanisme *Salmonella* Typhimurium sebagai antikanker glioblastoma dilakukan dengan penghancuran sel-sel kanker glioblastoma dengan mengikat sel-sel tersebut kemudian *Salmonella* Typhimurium akan membentuk koloni yang akan memakan nutrisi tersebut dari sel kanker. Bakteri tersebut selanjutnya mentransferkan RNA onkogen sehingga pertumbuhan jaringan sel-sel target menjadi terhambat. Bakteri *Salmonella* Typhimurium yang telah dilemahkan dapat mengaktifkan kekebalan antikanker.

Salmonella Typhimurium cukup potensial sebagai terapi antikanker karena dapat dengan spesifik menentukan lokasi sel-sel target, dalam bentuk terapi gen model glioma *xenograft*. Hambatan yang dialami pada saat menggunakan bakteri ini dapat diatasi dengan cara rekayasa genetika seperti potensi toksisitas dan respon imun inang terhadap bakteri tersebut.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Dewi M (2017) Sebaran kanker di Indonesia, riset kesehatan dasar 2007. Indonesian Journal of Cancer 11(1): 1-8.
- [2] Davis M (2016) Glioblastoma: Overview of disease and treatment. Clinical Journal of Oncology Nursing 20 (5): 2-8.
- [3] Thakkar J, Dolecek T, Horbinski C, Ostrom Q, Lightner D, Barnholtz-Sloan J, Villano J (2014) Epidemiologic and molecular prognostic review of glioblastoma. Cancer

- Epidemiol Biomarkers Prev 23 (10): 1985-1986.
- [4] Alexander B, Cloughesy T (2017) Adult glioblastoma. *Journal of Clinical Oncology* 35(21): 2402-2407.
 - [5] Momiyama M, Zhao M, Kimura H, Tran B, Chishima T, Bouvet M, Endo I, Hoffman R (2012) Inhibition and eradication of human glioma with tumor targeting *Salmonella* typhimurium in an orthotopic. *Cell Cycle* 11(3): 628-632.
 - [6] Bestari R, Indra S (2020) Recurrent glioblastoma multiforme. *Jurnal Kesehatan Andalas* 9(15): 210-214.
 - [7] Chung C, Laperriere N (2013) Update on the current management of glioblastoma. *Clin. Pract* 10(2): 157-165.
 - [8] Balducci L, Colloca G, Cesari M, Gambassi G (2010) Assessment and treatment of elderly patients with cancer. *Surgical Oncology* 19(3): 117-123.
 - [9] Hernandez-Luna MA, Luria-Perez R (2018) Cancer immunotherapy: Priming the host immune response with live attenuated *Salmonella enterica*. *Journal of Immunology Research* 2018(Article ID 2984247): 1-15.
 - [10] Wang C.-Z, Kazmierczak R, Eisenstark A (2016) Strains, mechanism, and perspective: *Salmonella*-based cancer therapy. *International Journal of Microbiology* 2016(Article ID 5678702): 1-10.
 - [11] Wall DM, Srikanth CV, McCormick BA (2010) Targeting tumors with *Salmonella* Typhimurium: Potential for therapy. *Oncotarget* 1(8): 721-728.
 - [12] Cita YP (2011) Bakteri *Salmonella typhi* dan demam tifoid. *Jurnal Kesehatan Masyarakat* 6(1): 42-46.
 - [13] Pui F, Wong C, Chai C, Tunung R, Jeyaletchumi P, Hidayat SN, Ubong A, Farinazleen G, Cheah Y, Son R (2011) *Salmonella*: A foodborne pathogen. *International Food Research Journal* 18 (2). pp. 465-473.
 - [14] Leschner S, Weiss S (2010) *Salmonella*—allies in the fight against cancer. *J Mol Med* 88: 763-773.
 - [15] Zheng J, Min J.-j (2016) Targeted cancer therapy using engineered *Salmonella* Typhimurium. *Chonnam Medical Journal* 52(3): 173-184.
 - [16] Forbes N (2010) Engineering the perfect (bacterial) cancer therapy. *Nature Reviews Cancer* 10(11): 785-794.
 - [17] Enejioy SO, Adabara NU, Wuna MM, Fasasi RA (2020) *Salmonella* Typhimurium as a potential anticancer agent: A review. *Sri Lankan Journal of Infectious Diseases* 10(2): 98-113.
 - [18] Wei M, Ellem K, Dunn P, West M, Bai C, Vogelstein B (2007) Facultative or obligate anaerobic bacteria have the potential for multimodality therapy of solid tumours. *Euro J Cancer* 43(3): 490-496.
 - [19] Moreno M, Kramer MG, Yim L, Chabalgoity J (2010) *Salmonella* as live trojan horse for vaccine development and cancer gene therapy. *Curr Gene Ther* 10(1): 56-76.
 - [20] Pawelek JM, Low KB, Bermudes D (1997) Tumor-targeted *Salmonella* as a novel anticancer vector. *Cancer Res* 57(20): 4537-4544.
 - [21] Ganai S, Arenas R, Sauer J, Bentley B, Forbes N (2011) In tumors *Salmonella* migrate away from vasculature toward the transition zone and induce apoptosis. *Cancer Gene Ther* 18(7): 457-466.
 - [22] Zhang Y, Miwa S, Zhang N, Hoffman R, Zhao M (2015) Tumor-targeting *Salmonella* typhimurium A1-R arrests growth of breast-cancer brain metastasis. *Oncotarget* 6(5): 2615-2622.
 - [23] Chorobik P, Czaplicki D, Ossysek K, Bereta J (2013) *Salmonella* and cancer: from pathogens to therapeutics. *ACTA ABP BIOCHIMICA POLONICA* (60)3: 285-297.
 - [24] Liang K, Liu Q, Li P, Luo H, Wang H, Kong Q (2019) Genetically engineered *Salmonella* typhimurium: recent advances in cancer therapy. *Cancer Letters* 448(2019): 168-181.
 - [25] Mi Z, Feng Z.-C, Li C, Yang X, Ma M.-T, Rong P.-F (2019) *Salmonella*-mediated cancer therapy: An innovative therapeutic strategy. *Journal of Cancer* 10(20): 4765-4776.
 - [26] Momimaya M, Zhao M, Kimura H, Tran B, Chisima T, Bouvet M, Endo I, Hoffman R (2012) Inhibition and eradication of human glioma with tumor-targeting *Salmonella* typhimurium in an orthotopic nude-mouse model. *Cell Cycle* 11(3): 628-632.
 - [27] Wardani, Wijayanti A, Widyastuti E (2017) Pengantar bioteknologi. Malang. UB Press.
 - [28] Nguyen V, Kim H.-S, Ha J.-M, Hong Y, Choy H, Min J.-J (2010) Genetically engineered *Salmonella* typhimurium as an imageable therapeutic probe for cancer. *Cancer Research* 70(1):18-22.
 - [29] Chen J.-q, Zhan Y.-f, Wang W, Jiang S.-n, Li X.-y (2015) The engineered *Salmonella* typhimurium inhibits tumorigenesis in advanced glioma. *Onco Targets Ther* 8(2015): 2555-2563.
 - [30] Biller B, Dow S (2007) Immunotherapy of cancer. In: Withrow S, Vail D (eds) Withrow

- & MacEwen's Small Animal Clinical Oncology. Elsevier, Amsterdam, pp 211-235.
- [31] Gao S, Jung J.-H, Lin S.-M, Jang A.-Y, Zhi Y, Ahn K, Ji H.-J, Lim JH, Guo H, Choy H, Lim S, Seo H (2020) Development of oxytolerant *Salmonella* typhimurium using Radiation Mutation Technology (RMT) for cancer therapy. Scientific Reports 10(1): 3764.
- [32] Mi Z, Feng Z.-c, Li C, Yang X, Ma M.-T, Rong P.-F " (2019) *Salmonella*-mediated cancer therapy: An innovative therapeutic strategy. Journal of Cancer 10(20): 4765-4776.
- [33] M. Shi and L. Sanche, "Convection-enhanced delivery in malignant gliomas: A review of toxicity and efficacy," Journal of Oncology, vol. 2019, pp. 1-9, 2019.
- [34] Wen M, Jung S, Moon K.-S, Jiang SN, Li S.-Y, Min J.-J (2014) Targeting orthotopic glioma in mice with genetically engineered *Salmonella* typhimurium. Journal of Korean Neurosurgical Society 55(3): 131–135.
- [35] Pangilinan C, Lee C.-H (2019) *Salmonella*-based targeted cancer therapy: Updates on a promising and innovative tumor immunotherapeutic strategy. Biomedicines 7(2):1-8.