

JOURNAL OF THE INDONESIAN MEDICAL ASSOCIATION

MAJALAH KEDOKTERAN INDONESIA



Volum 62:
NOMOR: 8, Agustus 2012

Editorial

Age-Related Macular Degeneration:

Penyebab Kebutaan yang Perlu Mendapatkan Perhatian Serius

- Martin Hertanto

Artikel Penelitian

Efek Analgesik Elektroakupunktur Tubuh dan Telinga Dibandingkan dengan Ketoprofen Suppositoria pada Prosedur Extracorporeal Shock Wave Lithotripsy (ESWL) Batu Ginjal

The Analgesic Effect of Body and Auricular Electroacupuncture compared to Ketoprofen Suppository in Extracorporeal Shock Wave Lithotripsy (ESWL) Kidney Stone Procedure

- Alvin Hardi Hrdjawanata, Christina Simadibrata, Adiningsih Srilestari, Nur Rasyid, Hasan Mihadja

Sistem Skoring Infeksi *Helicobacter pylori* pada Anak dengan Nyeri Perut Berulang

Scoring System for Helicobacter pylori Infection in Children with Recurrent Abdominal Pain

- Dwi Prasetyo, Herry Garna, Agus Firmansyah, Ponpon Idjradinata

Hubungan Antara Rasa Takut Jatuh Menggunakan Falls Efficacy Scale International (FES-I) dengan Risiko Jatuh Berdasarkan Bergs Balance Scale (BBS) pada Usia Lanjut

Correlation Between Fear of Falling as Measured by Falls Efficacy Scale - International (FES-I) and Risk for Falls as Measured by Bergs Balance Scale (BBS) in the Elderly

- Siti Nurhaidah, Wanarani Aries, Tri Damiati Pandji, Rr. Nur Fauziah

Peranan Minyak Buah Merah (*Pandanus conoideus* Lam) terhadap Mencit Model Kanker Kolorektal

*The Role of Red Fruit (**Pandanus conoideus** Lam) Oil towards Colorectal Cancer Mice Model*

- Khie Khiong, Oeij Anindita Adhika

Laporan Kasus

Nilai Prognostik Hipertensi Tak Terkendali dalam Meramalkan Stroke Ulang: Laporan Kasus Berbasis Bukti

The Prognostic Value of Uncontrolled Hypertension in Predicting Recurrent Stroke: Evidence Based Case Report

- Annisa Puspitasari Nachrowi, Zunilda Djanun Sadikin

Artikel Pengembangan Pendidikan Profesi Berkelanjutan (P2KB)

Patogenesis Terkini Akne Vulgaris

Novel Pathogenesis of Acne Vulgaris

- Gardenia Akhyar, Satya Wydy Yenny

Daftar Isi:

Halaman

Pedoman Bagi Penulis (*Instruction for Authors*)

Editorial

1. Age-Related Macular Degeneration:
Penyebab Kebutaan yang Perlu Mendapatkan Perhatian Serius 287
- Martin Hertanto

Artikel Penelitian

2. Efek Analgesik Elektroakupunktur Tubuh dan Telinga Dibandingkan dengan
Ketoprofen Suppositoria pada Prosedur *Extracorporeal Shock Wave Lithotripsy* (ESWL)
Batu Ginjal 289
- Alvin Hardi Hardjawanata, Christina Simadibrata, Adiningsih Srilestari, Nur Rasyid, Hasan Mihardja
3. Sistem Skoring Infeksi *Helicobacter pylori* pada Anak dengan
Nyeri Perut Berulang 295
- Dwi Prasetyo, Herry Garna, Agus Firmansyah, Ponpon Idjradinata
4. Hubungan Antara Rasa Takut Jatuh Menggunakan *Falls Efficacy Scale International* (FES-I)
dengan Risiko Jatuh Berdasarkan *Bergs Balance Scale* (BBS) pada Usia Lanjut 301
- Siti Nurhaidah, Wanarani Aries, Tri Damiani Pandji, Rr. Nur Fauziah
5. Peranan Minyak Buah Merah (*Pandanus conaideus* Lam) terhadap
Mencit Model Kanker Kolorektal 307
- Khie Khiong, Oeij Anindita Adhika

Laporan kasus

6. Nilai Prognostik Hipertensi Tak Terkendali dalam Meramalkan *Stroke* Ulang:
Laporan Kasus Berbasis Bukti 314
- Annisa Puspitasari Nachrowi, Zunilda Djanun Sadikin

Artikel Pengembangan Pendidikan Keprofesian Berkelanjutan (P2KB)

7. Patogenesis Terkini Akne Vulgaris 319
- Gardenia Akhyar, Satya Wydy Yenny

Journal of the Indonesian Medical Association

Majalah Kedokteran Indonesia

TERAKREDITASI

Sesuai SK DIKTI Nomor: 51/DIKTI/Kep/2010

Masa berlaku tanggal, 5 Juli 2010 - 5 Juli 2013



Mitra Bestari Internasional:

- Prof. Cuno S.P.M. Uiterwaal, • Prof. Dr. T. van Gelder, MD, • Erin Koers, MPH, PhD, • Thomas John Bender MD, MSPN, PhD

Mitra Bestari:

- Dr. Maria Francisca Ham, SpPA, PhD • Prof. DR. Dr. Rianto Setiabudi, SpFK
- Prof. Dr. dr. Armen Muchtar SpFK • DR. Dr. Ristania D Soetikno, Mkes, SpRad(K)
- Dr. Aziza G. Icksan, SpRad(K) • DR. Dr. Ferdiansyah, SpOT • DR. Dr. Ismail, SpOT
- Dr. Setyo Widi Nugroho, SpBS(K) • Dr. Achmad Hidayat, MARS, SpB, SpKP
- Dr. Soemardoko Tjokromidigdo, SpM, SpKp • DR. Dr. Meilani Kumala, MS, SpGK
- Dr. Sri Sukmaniah, MSc, SpGK • Prof. Dr. Rahajuningsih Dharma Setiabudy, SpPK(K), DSc, FACT
- Dr. Ida Parwati, dr, SpPK(K), PhD • Dr. Lyna Soertidewi, SpS(K), M.Epid
- Dr. Jan Sudir Purba, PhD • DR. Dr. Astrid B Sulistomo, MPH, SpOk
- DR. Dr. Sumamur PK, MSc, SpOk • Prof. Dr. K.M. Arsyad, DABK, SpAnd
- Prof. DR. Mpu Kanoko, PhD, SpPA(K) • Prof. Dr. Marzuki Suryaatmadja, SpPK(K)
- Dr. Dalima A.W. Astrawinata, SpPK(K), M.Epid • Prof. Dr. Wimpie Pangkahila, SpAnd, FAACS
- Dr. Marcellus Simadibrata, PhD, SpPD-KGEH, FACG, FINASIM
- DR. Dr. Murdani Abdullah, SpPD-KGEH, FINASIM • Dr. Dyah Purnamasari Sulistianingsih, SpPD
- DR. Dr. Idrus Alwi, SpPD, K-KV, FINASIM, FACC, FESC
- Prof. Dr. Lukman Hakim Makmun, SpPD, K-KV, Kger • Prof. DR. Dr. Karmel L Tambunan, SpPD, KHOM
- Prof. DR. Dr. A Harryanto Reksodiputro, SpPD-KHOM • Prof. Dr. Armis, SpB, SpOT • Dr. Andri, SpKJ
- Dr. Nurjati Chairani Siregar, MS, PhD, SpPA(K) • Prof. DR. Dr. Angela B.M. Tulaar, SpKFR(K)
- Prof. Dr. Agus Sjahrurachman, PhD, SpMK • Prof. Dr. Anwar Yusuf, SpP(K) • Prof. Dr. Faisal Yunus, PhD, SpP(K)
- DR. Dr. R.M. Nugroho Abikusno, MSc • Prof. DR. Dr. Retno W Soebaryo, SpKK • Dr. Sri Erni Istiawati, SpS
- DR. Rer. Physiol. Dr. Ina Septelia Wanandi • Prof. DR. Dr.med. Paul Tahalele, FCTS, FINACS
- Prof. DR. Dr. Siti Aisah Boediardjo, SpKK(K) • Dr. Wachyu Hadisaputra, SpOG(K) • Prof. DR. Dr. Harry Isbagio, SpPD-KR
- DR. Dr. Ratna D Restuti, SpTHT-KL(K)

Journal of the Indonesian Medical Association

(Majalah Kedokteran Indonesia)

Penasehat: Dr. Prijo Sidipratomo, Sp.Rad(K), Dr. Zaenal Abidin, MH.Kes

Pemimpin Umum/Penanggung Jawab: Dr. Yudisani Eshaputra Kamal, SpM, Dr. Soetji Astuti Soekamto, SpP

Sekretaris: Dr. Nurhidayat Pua Upa, MARS; **Bendahara:** Dr. Lis Surachmiati Suseno, SpKK

Redaksi Senior: Prof. DR. Dr. H. AA Subiyanto, MS, Prof. DR. Dr. Muhammad Amin, SpP(K), Prof. DR. Dr. H. Munar Lubis, SpA(K), Prof. Dr. Saleha Sungkar, DAP&E, MS, SpPar(K), Prof. DR. Dr. Suryani As'ad Army, MSc, SpGK, Drs. Hadi Hartanto, MS, A.A&K, Prof. DR. Dr. Retno Wahyuningsih, MS, Prof. DR. Dr. Purwantiastuti, SpFK(K)

Pemimpin Redaksi: DR. Dr. Dwiana Ocviyanti, SpOG(K)

Redaksi: Dr. Eva Suarhana, MSc, PhD, Dr. Ferius Soewito, SpKFR, Dr. Fatih Anfasa, Dr. Herqutanto, MPH, MARS, DR. Dr. Hanifah Oswari, SpA(K), Dr. Salma Oktaria, Dr. Yayi Dwina Billianti, MBIomed, Dr. Kholisah Nasution, Dr. Martin Hertanto, Dr. Wahyu Budi Santosa, Dr. Ina Ariani Kirana Masna, SpP, Dr. Firtantyo Adi Syahputra

Redaksi Pelaksana: Dr. Meilania Saraswati

Tim Redaksi P2KB-MKI (Program Pengembangan Pendidikan Keprofesian Berkelanjutan)

Ketua: Prof. Dr. Saleha Sungkar, DAP&E, MS, SpPar(K); **Wakil Ketua:** Dr. Zunilda Djanun Sadikin, SpFK

Anggota: Dr. Meilania Saraswati, Dr. Ferius Soewito, SpKFR

Badan Usaha: Mohamad Yusuf; **Sekretaris Redaksi:** Evi Suprapti; **Bagian Promosi:** Hj. Susilowati Abas (Koordinator), Yos Rosada, Bambang Harmanto; **Bagian Produksi:** Indra Bustomi; **Distribusi:** M. Rodjali

Alamat Redaksi/Badan Usaha dan Sirkulasi MKI: Yayasan Penerbitan IDI, Jl. Dr. Samratulangi No. 29, Jakarta 10350,
Telepon: (021) 31937910, Faksimili: (021) 3900465; E-mail: yapenidi@yahoo.com, <http://www.idionline.org>

Surat Izin Terbit (SIT): Kep. Peperlada No.: Kep/956/IX/1995; **Bank:** Bank Mandiri Cabang Kebon Sirih, Rekening No. 121.0072000247

ISSN: 2089-1067

Berkala Ilmiah Kedokteran Bulanan, Isi di Luar Tanggungjawab Percetakan

Peranan Minyak Buah Merah (*Pandanus conoideus* Lam) terhadap Mencit Model Kanker Kolorektal

Khie Khiong,^{*} ** Oeij Anindita Adhika^{***}

^{*}Bagian Biologi, ^{**}Divisi Imunologi Pusat Penelitian Ilmu Kedokteran (PPIK),

^{***}Bagian Anatomi, Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Maranatha, Bandung

Abstrak

Pendahuluan: Kanker kolorektal merupakan komplikasi jangka panjang pada *inflammatory bowel disease* (IBD) yang dapat menyebabkan kematian. Penghambatan siklooksigenase-2 (COX-2) diduga merupakan mekanisme yang penting dalam menghambat IBD dan kanker kolorektal. Buah merah (*Pandanus conoideus* Lam.) yang berasal dari Papua diketahui memiliki kandungan antioksidan yang tinggi.

Tujuan: Mengetahui peranan minyak buah merah terhadap clinical score dan ekspresi COX-2 pada mencit model kanker kolorektal.

Metode: Subyek dibagi dalam empat kelompok, yaitu kelompok kontrol negatif (KN) dan kontrol buah merah (KBM) yang masing-masing tidak diinduksi kanker kolorektal, serta kelompok kontrol positif (KAD) dan kelompok perlakuan buah merah (KPBM) yang masing-masing diinduksi kanker kolorektal. Setelah diinduksi kanker kolorektal, KPBM diberikan minyak buah merah sebanyak 0,1 mL/hari melalui sonde lambung. Parameter penelitian adalah clinical score yang diamati tiap dua hari dan persentase ekspresi COX-2 kolon mencit.

Hasil: Clinical score dan rerata ekspresi COX-2 pada KPBM lebih rendah dibandingkan kelompok KAD yang secara statistik berbeda bermakna. Tidak terdapat perbedaan ekspresi COX-2 yang bermakna antara kelompok KN, kelompok KBM, dan kelompok KPBM.

Kesimpulan: Minyak buah merah dapat memperbaiki clinical score dan menurunkan ekspresi COX-2 pada kolon mencit model kanker kolorektal. *J Indon Med Assoc.* 2012;62:307-13.

Kata kunci: IBD, kanker kolorektal, COX-2, buah merah

Korespondensi: Khie Khiong,
Email: khie-khiong@yahoo.com

The Role of Red Fruit (*Pandanus conoideus* Lam) Oil towards Colorectal Cancer Mice Model

Khie Khiong,*,** Oeij Anindita Adhika,***

*Biology Department, **Immunology Division of Research Center for Medical Sciences,
***Anatomy Department, Faculty of Medicine, Universitas Kristen Maranatha, Bandung

Abstract

Introduction: Colorectal cancer (CRC) is a long-term complication of inflammatory bowel disease (IBD) and has become the leading cause of death worldwide. Cyclooxygenase-2 (COX-2) is a key enzyme that produced in IBD and CRC. Therefore, inhibition COX-2 has become a potential mechanism to prevent colorectal carcinogenesis. Red fruit (*Pandanus conoideus* Lam.) is plant from Papua which contains large amount of antioxidant.

Objectives: To examine the effect of red fruit towards clinical score and COX-2 expression in colorectal cancer mice model.

Methods: Subjects were divided into four groups: the negative and red fruit control group which were not induced colorectal cancer, positive control and red fruit-treated groups which were induced. Clinical score was observed every two days. At the end of experiment, all mice were sacrificed and the colons were removed and subjected to RT-PCR analysis. COX-2 percentage were measured using RT-PCR method.

Results: Clinical score and COX-2 expression of red fruit treated group was significantly decreased compared to the positive control group. There is no significant difference were observed between the negative control group, red fruit control group, and red fruit treatment group.

Conclusion: Red fruit oil improves clinical score and decreases COX-2 expression in colorectal cancer mice model. *J Indon Med Assoc.* 2012;62:307-13.

Keywords: IBD, colorectal cancer, COX-2, red fruit

Pendahuluan

Kanker kolorektal adalah suatu keganasan polip adenomatosa yang sering menyerang kolon dan rektum. Keganasan yang sebagian besar terjadi pada usia lebih dari 50 tahun ini disebabkan oleh mutasi protoonkogen *K-RAS*, hipometilasi DNA, kehilangan DNA pada gen supresor tumor *adenomatous polyposis coli* (APC) pada kromosom 5 (5q21), atau kehilangan alel kromosom 18q dan 17p. Di Indonesia terdapat kenaikan jumlah kasus, meski belum ada laporan mengenai angka kejadian pasti karsinoma kolorektal. Berdasarkan data Departemen Kesehatan, prevalensi kanker kolorektal adalah 1,8 per 100 000 penduduk.¹

Inflammatory Bowel Disease (IBD) kronis, baik *Crohn's disease* (CD) maupun *ulcerative colitis* (UC), dapat meningkatkan risiko timbulnya kanker kolorektal karena efek inflamasi intestinal kronis. Risiko kanker kolorektal berkorelasi dengan luas dan durasi penyakit ini.² Saat terjadi inflamasi, makrofag akan melepaskan *reactive oxygen species* (ROS) dan *reactive nitrogen species* (RNS)^{2,3}. Jika berlangsung kronis, makrofag memproduksi kompleks *mi-*

lieu faktor pertumbuhan dan berbagai sitokin yang menyebabkan hiperplasia yang meluas. Hal ini menyebabkan proliferasi dan signal antiapoptosis yang dihasilkan selama terjadinya proses inflamasi kronis sinergis dengan kerusakan DNA sehingga meningkatkan angka kejadian kanker.⁴

Inflamasi yang tidak terkontrol berhubungan dengan stres dan kerusakan selular oksidatif. Lesi DNA dapat terjadi secara langsung ketika terjadi modifikasi basa ROS maupun secara tidak langsung melalui peroksidasi lipid yang bereaksi dengan DNA. ROS dan RNS memicu terjadinya onkogenesis dengan mengubah proliferasi sel dan kematian sel. Stres oksidatif dan kerusakan selular oksidatif yang merupakan tanda IBD memegang peranan penting pada IBD dan *IBD-associated carcinogenesis*.²

Siklooksigenase (COX) merupakan enzim kunci yang berperan dalam produksi prostaglandin (PG) dan eikosanoid lain yang memodulasi pertumbuhan dan *immunosurveillance* sel kanker.⁵ Pada kanker kolorektal, ekspresi COX-2 yang meningkat.⁶⁻⁸ COX-2 mengubah asam arakidonat menjadi

prostaglandin (PGE₂) yang penting sebagai mediator angiogenesis dalam perkembangan tumor.⁹⁻¹² Pada penelitian terhadap mencit yang diinduksi kolitis dengan *azoxy-methane* (AOM) dan *dextran sulfate sodium* (DSS), didapatkan bahwa ekspresi COX-2 meningkat dan pemberian antagonis TNF- α akan menyebabkan penurunan ekspresi COX-2 dan angiogenesis tumor.⁵

Kolitis yang mengarah ke kanker kolorektal merupakan penyakit yang ditandai dengan reaksi inflamasi yang berlangsung terus-menerus dan bila tidak diobati dapat mengakibatkan keganasan. Radikal bebas yang dihasilkan oleh proses inflamasi dapat memperparah reaksi inflamasi itu sendiri sehingga penyakit dapat berkembang menuju ke arah keganasan. Dalam jumlah terbatas, tubuh dapat menghasilkan antioksidan endogen secara alamiah dalam upaya menangkal senyawa radikal bebas. Jika radikal bebas dalam tubuh berlebih, maka dibutuhkan senyawa antioksidan eksogen.¹³

Salah satu sumber senyawa antioksidan eksogen adalah buah merah yang banyak dimanfaatkan oleh masyarakat Papua dalam kehidupan sehari-hari. Buah merah mengandung banyak zat yang berkhasiat secara alamiah, antara lain karotenoid, beta-karoten, alfa-tokoferol, asam oleat, asam linoleat, asam linolenat, asam dekanat, omega-3, dan omega-9. Berbagai senyawa tersebut berperan sebagai senyawa antioksidan.^{14,15} Kandungan rata-rata zat antioksidan di dalam buah merah termasuk tinggi, yaitu karoten 12 000 ppm, beta-karoten 7 000 ppm, dan tokoferol 11 000 ppm.¹⁴ Selain itu, buah merah juga mengandung *b-cryptoxanthin* yang dapat menghambat pertumbuhan sel kanker paru A549 secara *in vitro*.¹⁶

Berbagai senyawa antioksidan diketahui dapat meningkatkan proliferasi splenosit, kadar antibodi, massa limpa, dan timus.¹⁷ Di sisi lain, limfosit ditemukan terlibat dalam perkembangan kolitis yang diinduksi dengan DSS.¹⁸

Tujuan penelitian ini adalah untuk memberikan gambaran mengenai pengaruh buah merah dalam menurunkan *clinical score* dan menghambat produksi COX-2 pada mencit yang diinduksi kanker kolorektal dengan AOM dan DSS.

Metode

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental prospektif komparatif dengan desain Rancangan Acak Lengkap (RAL). Mencit yang digunakan adalah galur Balb/C jantan berumur 8 minggu dengan berat badan rata-rata 25 gram yang diperoleh dari Laboratorium Penelitian dan Pemeliharaan Hewan Coba, Pusat Penelitian Ilmu Kedokteran (PPIK), Fakultas Kedokteran, Universitas Kristen Maranatha, Bandung.

Bahan uji yang digunakan adalah buah merah kultivar merah panjang dan berwarna merah terang, berasal dari Wamena, Papua, dan kemudian bahan uji dibuat minyak buah merah.¹⁹ Penelitian ini telah memperoleh persetujuan dari

Komisi Etik Penelitian Fakultas Kedokteran dan Rumah Sakit Immanuel, Bandung.

Cara Kerja

Mencit dibagi dalam empat kelompok (n=7) secara acak. Masing-masing kelompok diberikan perlakuan sebagai berikut:

- Kontrol negatif (KN), disuntik aquabides dosis tunggal 0,4 ml secara intraperitoneal pada hari ke-1. Pada hari ke-6 diberikan aquades *ad libitum* selama 5 hari dan dilanjutkan dengan pemberian aquabides per oral 0,1 mL/hari selama 16 hari. Siklus pemberian aquades *ad libitum* dan aquabides per oral diulang sebanyak 2 kali.
- Kontrol buah merah (KBM), disuntik aquabides dosis tunggal 0,4 mL secara intraperitoneal pada hari ke-1. Kemudian, pada hari ke-6 diberikan aquades *ad libitum* selama 5 hari, dilanjutkan dengan pemberian minyak buah merah per oral 0,1 mL/hari selama 16 hari. Siklus pemberian aquades *ad libitum* dan minyak buah merah per oral diulang 2 kali.
- Kontrol positif AOM dan DSS (KAD), disuntikkan AOM (Sigma) 12 mg/kgBB (0,4 mL) dosis tunggal secara intraperitoneal pada hari ke-1. Kemudian, pada hari ke-6 diberikan DSS (Amresco) 2,5% (w/v) *ad libitum* selama 5 hari dan dilanjutkan dengan pemberian aquabides per oral 0,1 mL/hari selama 16 hari. Siklus pemberian DSS dan aquabides diulang sebanyak 2 kali.
- Kelompok perlakuan buah merah (KPB), masing-masing mencit disuntikkan AOM 12 mg/kgBB (0,4 mL) dosis tunggal secara intraperitoneal pada hari ke-1. Kemudian, pada hari ke-6 diberikan DSS 2,5% (w/v) *ad libitum* selama 5 hari dan dilanjutkan dengan pemberian minyak buah merah per oral 0,1 mL/hari selama 16 hari. Siklus pemberian DSS dan minyak buah merah diulang sebanyak 2 kali.

Clinical Score dihitung dengan menggabungkan skor penurunan berat badan dan skor diare yang diamati setiap dua hari berdasarkan metode yang telah diuraikan oleh Kim *et al* (2006).²⁰ Pada hari ke-69, semua mencit dikorbankan dengan dislokasi servikal. Kemudian, kolon masing-masing mencit diambil dan dicuci dengan aquades steril.

Isolasi RNA kolon dilakukan menggunakan *SV Total RNA Isolation System* (promega) dan hasil isolasi selanjutnya dibuat cDNA dengan menggunakan *iScripts™ cDNA Synthesis Kit* (Biorad). Ekspresi COX-2 kemudian diamati dengan menggunakan teknik RT-PCR. Denaturasi awal dilakukan pada 94°C selama 5 menit sebanyak 1 siklus. Selanjutnya, cDNA diamplifikasi sebanyak 30 siklus (94°C selama 30 detik, 59°C selama 30 menit, 72° selama 60 detik) lalu masuk ke tahap pemanjangan pada 72°C selama 5 menit sebanyak 1 siklus. Sebagai kontrol internal, digunakan gen *Hypoxanthine-guanine phosphoribosyl transferase* (HPRT). Denaturasi awal dilakukan pada 94°C selama 5 menit sebanyak 1 siklus. Tahap

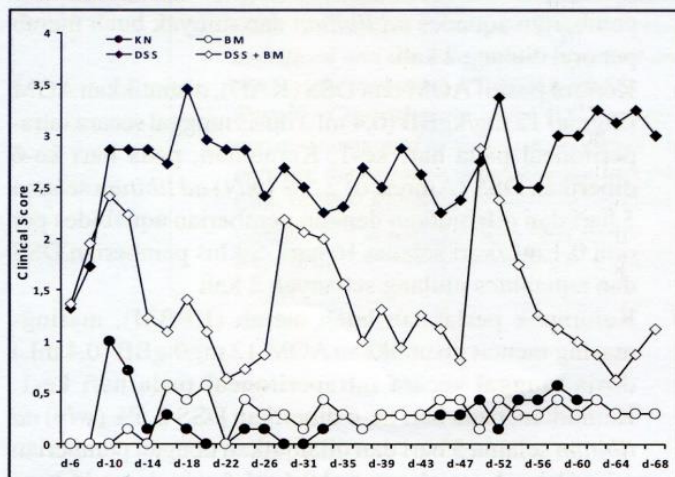
selanjutnya adalah amplifikasi sebanyak 28 siklus (94°C selama 30 detik, 60°C selama 30 detik, 72°C selama 60 detik) dan tahap pemanjangan akhir pada 72°C selama 5 menit sebanyak 1 siklus.

Hasil RT-PCR dielektroforesis dengan gel agarose 0,8% dengan 75 V dan diwarnai dengan ethidium bromida (EtBr). Selanjutnya, pita hasil elektroforesis diamati di bawah UV transluminator. Ketebalan pita difoto dan dianalisis dengan menggunakan densitometer (*Scion Image*). Perhitungan persentase ekspresi COX-2 dilakukan dengan membandingkan tebal larik DNA hasil elektroforesis RT-PCR COX-2 dengan tebal larik DNA HPRT.

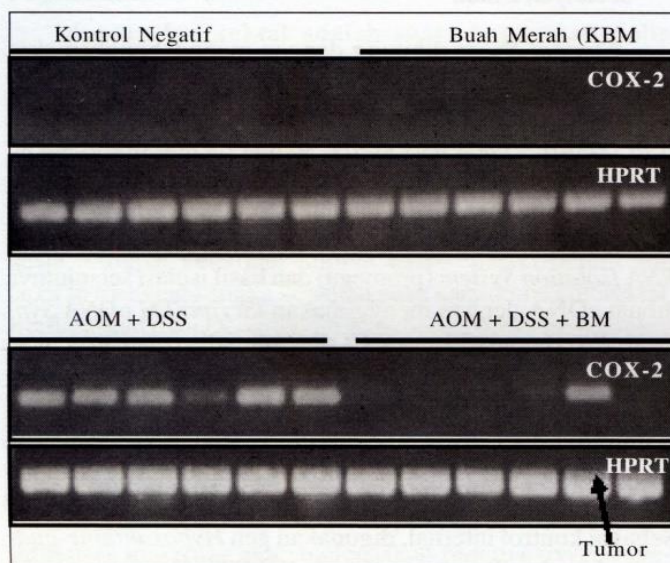
Data dianalisis menggunakan uji ANOVA *One-Way* dan Tukey-HSD dengan $\alpha=0,05$. Kemaknaan ditentukan berdasarkan nilai $p<0,05$.

Hasil

Clinical Score



Grafik 1. Clinical Score pada Masing-Masing Kelompok.



Gambar 1. Hasil Elektroforesis COX-2 dan Kontrol Internal HPRT

Dari grafik di atas, kelompok yang memiliki *clinical score* tertinggi adalah kelompok KAD, yaitu kelompok yang diinduksi kanker kolorektal dengan AOM dan DSS. Kelompok yang diberikan terapi dengan minyak buah merah (KPB) menunjukkan *clinical score* yang lebih ringan dibandingkan kelompok KAD. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian minyak buah merah dapat meringankan keparahan penyakit yang ditandai dengan nilai *clinical score* yang lebih rendah.

Eksresi Siklooksigenase-2 (COX-2) Kolon Mencit

Dari hasil penelitian, dapat dilihat bahwa tidak ada ekspresi COX-2 yang teramati pada kolon mencit KN dan KBM, sedangkan ekspresi COX-2 yang kuat teramati pada kelompok yang diinduksi kanker kolorektal (KAD). Semua larik COX-2 pada kelompok perlakuan buah merah tampak terekspresikan lemah, kecuali pada mencit nomor 5 (sumur ke-5 KPB) yang tetap mengekspresikan COX-2 kuat. Hasil perhitungan persentase kadar COX-2 kolon antarkelompok dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Persentase Kadar COX-2 Kolon Antar Kelompok Perlakuan Berdasarkan Pengukuran Densitometer

Mencit	Rerata Kadar COX-2 (% terhadap HPRT)			
	KN	KBM	KAD	KPB
1	0,0	0,0	85,9	19,8
2	0,0	0,0	73,3	13,9
3	0,0	0,0	70,6	13,5
4	0,0	0,0	39,6	15,2
5	0,0	0,0	99,8	73,9
6	0,0	0,0	86,8	11,7
Rerata	0,0	0,0	91,2	29,6
Standar deviasi	0,0	0,0	20,69	24,29

Keterangan:

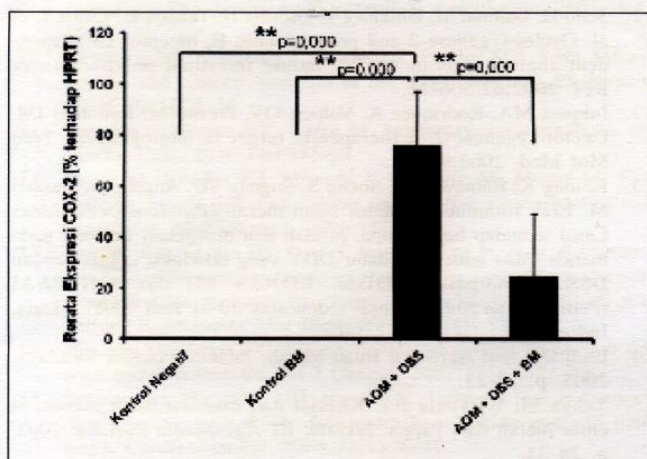
KN : Kontrol Negatif (Aquades 0,4 mL)

KBM : Kontrol Buah Merah (sari buah merah 0,4 mL)

KAD : Kontrol Azoxymethane (AOM) dan Dextran Sulfate Sodium (DSS); AOM ip, DSS 2,5 % (v/w) dan aquades 0,4 mL

KPB: Kelompok Perlakuan Buah Merah; AOM ip, DSS 2,5 % (v/w) dan sari buah merah 0,4 mL

Dari data di atas, ekspresi COX-2 pada kolon kelompok mencit model kanker kolorektal yang diberi perlakuan dengan sari buah merah tiga kali lebih rendah bila dibandingkan dengan kelompok KAD. Hasil analisis statistik metode Tukey-HSD terhadap kadar COX-2 dapat dilihat pada grafik perbandingan rerata ekspresi COX-2 (Grafik 2). Hasil *Post Hoc* metode Tukey-HSD terhadap ekspresi COX-2 antara kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol buah merah, dan kelompok perlakuan buah merah, menunjukkan perbedaan yang tidak bermakna. Sementara itu, ekspresi COX-2 pada kelompok yang diinduksi kanker kolorektal dengan AOM dan DSS berbeda sangat bermakna ($p<0,01$) dengan kelompok KN, KBM, dan KPB. Dari hasil ini dapat disimpulkan bahwa sari buah merah dapat memperbaiki *clinical score* dan menurunkan ekspresi COX-2 pada mencit model kanker kolorektal.



Grafik 2. Perbandingan Rerata Kadar COX-2

Diskusi

Hasil penelitian menunjukkan bahwa minyak buah merah dapat memperbaiki *clinical score* dan menurunkan ekspresi COX-2 pada mencit model kanker kolorektal. Penurunan ini diduga karena aktivitas antioksidan yang terkandung dalam buah merah. Penelitian yang dilakukan oleh Chinery²¹, *et al* pada tahun 1998 mengenai pengaruh antioksidan terhadap sel HCA-7 yang merupakan sel-sel kanker kolorektal manusia menunjukkan bahwa ekspresi COX-2, produksi prostaglandin, dan proliferasi sel kanker akan menurun setelah pemberian antioksidan. Penurunan ekspresi COX-2 disebabkan karena peranan antioksidan terhadap transkripsi gen *COX-2* secara langsung.

Kandungan senyawa antioksidan yang terdapat dalam buah merah, seperti karotenoid, beta-karoten, alfa-tokoferol, asam oleat, asam linoleat, asam linolenat, asam dekanat, omega-3, dan omega-9, diduga berperan dalam menurunkan ekspresi COX-2.¹⁴⁻¹⁵ Selain itu, ekstrak buah merah juga diketahui mengandung senyawa fenol dan flavoid dengan kadar yang cukup tinggi.²²

Tokoferol merupakan bentuk vitamin E yang paling aktif di manusia. Sebagai antioksidan yang paling kuat, tokoferol memiliki fungsi proteksi terhadap peroksidasi lipid. Beberapa studi epidemiologi menunjukkan bahwa asupan suplemen vitamin E 200 IU per hari mengurangi angka kejadian kanker kolorektal. Pemberian vitamin E akan mengaktifkan inhibitor siklus sel sehingga akan terjadi apoptosis sel kanker.²³ Secara umum, vitamin E berperan menekan akumulasi radikal bebas dan akan mengaktifkan endonuklease.²⁴

Senyawa fenol terutama flavonoid juga memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi.²⁵ Senyawa fenol dan flavoid berperan sebagai *terminator* rantai radikal bebas dan *chela-*tor redoks yang dapat menghambat peroksidasi lipid.

Aktivitas antioksidan karotenoid terletak pada struktur kimia dengan ikatan rangkap yang mampu melokalisasi dan mengikat elektron yang tidak berpasangan pada radikal

bebas.²⁶ Karotenoid juga melindungi membran sel dari reaksi lipid peroksidasi.²⁷ Selain itu, karotenoid dan asam retinoat dapat meregulasi berbagai faktor transkripsi sel.²⁸ Asam retinoat dapat menghambat proliferasi sel dan meningkatkan diferensiasi sel.

Karoten terbukti berperan sebagai agen proteksi sebab sel yang terpajan oleh stres oksidatif yang diberi terapi dengan karoten akan mengalami penurunan aktivasi NF- κ B dan penekanan produksi sitokin-sitokin proinflamasi.⁶³ Selanjutnya, penghambatan NF- κ B dan sitokin proinflamasi akan menyebabkan penekanan aktivasi COX-2. Akibatnya, proses inflamasi kronis yang dapat berkembang menjadi proses karsinogenesis dan tumorigenesis akan tertekan.²⁹⁻³¹ Selain itu, karoten juga menghambat ekspresi protein anti-apoptosis Bcl-2 pada sel-sel kanker sehingga proliferasi dan pertumbuhan sel-sel kanker dapat dihambat.³² Penelitian yang dilakukan oleh Bai,³³ *et al* pada tahun 2005 menyimpulkan bahwa pemberian β -karoten sebanyak 10 mg/Kg berat badan selama 12 hari pada mencit model kolitis ulserativa akan menurunkan jumlah mediator inflamasi seperti NO, PG-E₂, TNF- α , COX-2, dan IL-1 β .

Beberapa teori mengemukakan bahwa infeksi dan inflamasi kronis merupakan penyebab utama kanker kolorektal.^{34,35} Infeksi dan jejas eksogen maupun endogen dapat menyebabkan proses inflamasi yang melibatkan respon imun spesifik dan nonspesifik yang saling terkait. Respon imun akan mengakibatkan pelepasan sitokin, kemokin, prostaglandin, matriks metaloproteinase (MMP), dan *reactive oxygen and nitrogen species (RONS)* yang berperan dalam mengeliminasi patogen dan memperbaiki kerusakan jaringan yang terjadi. Jika terjadi kegagalan dalam meregulasi komponen imun atau terjadi pajanan terhadap jejas atau infeksi yang berkepanjangan, maka dapat terjadi inflamasi kronis yang menciptakan lingkungan mikro yang kondusif untuk inisiasi dan berkembangnya kanker.^{32,36}

Stres oksidatif yang disebabkan oleh RONS merupakan faktor yang memegang peranan yang sangat penting dalam patogenesis beberapa penyakit yang disebabkan oleh proses inflamasi seperti kanker. RONS menyebabkan genotoksitas, memicu pertumbuhan sel-sel normal yang mengalami transformasi dan angiogenesis, serta mencegah apoptosis.³⁷ Salah satu peranan RONS dalam karsinogenesis adalah merangsang produksi prostaglandin melalui jalur siklo-oksigenase terutama COX-2.^{29,30,38} Penelitian yang dilakukan oleh Loukanov,⁵ *et al* pada tahun 2009 mengenai ekspresi COX-2 baik dalam tingkatan protein maupun mRNA pada serangkaian kasus kanker kolorektal berulang pada manusia menunjukkan bahwa COX-2 memiliki peranan dalam pembentukan tumor pada kanker kolorektal.

Beberapa obat antiinflamasi seperti inhibitor COX-2, aspirin, steroid antiinflamasi seperti *dexamethasone* terbukti mengurangi angka kejadian tumor seperti kanker kolon, payudara, dan prostat. Selain itu, obat tersebut juga digunakan sebagai profilaksis untuk menurunkan dan mengurangi

progresivitas kanker dan kematian yang disebabkan oleh kanker baik pada manusia maupun hewan eksperimental.³⁷⁻⁴⁴

Penelitian mengenai pengaruh sari buah merah terhadap ekspresi COX-2 pada mencit model kanker kolorektal menunjukkan bahwa kelompok mencit yang diberi buah merah dengan dosis 0,1 mL terbukti memiliki ekspresi COX-2 yang lebih rendah dibandingkan mencit pada kelompok kontrol yang diinduksi kanker kolorektal dengan AOM dan DSS. Hasil ini menunjukkan bahwa buah merah berperan sebagai antiinflamasi dan antikanker dengan mempengaruhi ekspresi COX-2 pada proses inflamasi jaringan.

Kesimpulan

Dari hasil penelitian disimpulkan bahwa minyak buah merah dapat memperbaiki *clinical score* dan menurunkan ekspresi COX-2 pada kolon mencit model kanker kolorektal yang diinduksi AOM dan DSS.

Ucapan Terima Kasih

Penelitian ini didanai oleh Proyek RISBIN IPTEKDOK Batch 2009 dan Dana Penelitian FK-UKM tahun anggaran 2010. Terima kasih diucapkan kepada Dekan FK-UKM dan Ketua LPPM-UKM yang telah memberikan kesempatan agar penelitian ini terselenggara. Ucapan terima kasih juga ditujukan kepada Tim Buah Merah FK-UKM atas asistensi teknis yang diberikan.

Daftar Pustaka

- Kelompok Kerja Adenokarsinoma Kolorektal Indonesia. Pengelolaan karsinoma kolorektal: suatu panduan klinis nasional. Jakarta: Perhimpunan Onkologi Indonesia; 2004.
- Gommeaux J, Cano C, Garcia S, Gironella M, Pietri S, Culcasi M, et al. Colitis and colitis-associated cancer are exacerbated in mice deficient for tumor protein 53-induced nuclear protein 1. *Mol Cell Biol*. 2007;27(6):2215-28.
- Burstein E, Fearon ER. Colitis and cancer: a tale of inflammatory cells and their cytokines. *J Clin Invest*. 2008; 118(2):464-7.
- Meira LB, Bugni JM, Green SL, Lee C, Pang B, Borenshtein D, et al. DNA damage induced by chronic inflammation contributes to colon carcinogenesis in mice. *J Clin Invest*. 2008;118 (7):2516-25.
- Loukanov T, Kirilov M, Furstenberger G, Muller-Decker K. Localization of cyclo-oxygenase-2 in human colorectal cancer. *Clin Invest Med*. 2010;33(1):E22-9.
- Kune GA, Kune S, Watson LF. Colorectal cancer risk, chronic illnesses, operations, and medications: case control results from the Melbourne colorectal cancer study. *Cancer Res*. 1988;48:4399-404.
- Thun MJ, Nanboordiri MM, Heath CW. Aspirin use and reduced risk of fatal colon cancer. *N Engl J Med*. 1991; 325:1593-6.
- Sano H, Kawahito Y, Wilder RL, Hashimoto A, Mukai S, Asai K, et al. Expression of cyclooxygenase-1 and -2 in human colorectal cancer. *Cancer Res*. 1995;55:3785-9.
- Sonoshita M, Takaku A, Sasaki N, Sugimoto Y, Ushikubi F, Oshima H, et al. Acceleration of intestinal polyposis through prostaglandin receptor EP₂ in APC⁷⁷¹⁶ knockout mice. *Nat Med*. 2001;7:1048-51.
- Mutoh M, Watanabe K, Kitamura T, Shoji Y, Takahashi M, Kawamori T, et al. Involvement of prostaglandin E receptor subtype EP₄ in colon carcinogenesis. *Cancer Res*. 2002;62:28-32.
- Seno H, Oshima M, Ishikawa T, Oshima H, Takaku K, Chiba T, et al. Cyclooxygenase-2 and prostaglandin E₂ receptor EP₂-dependent angiogenesis in APC⁷⁷¹⁶ mouse intestinal polyps. *Cancer Res*. 2002;62:506-11.
- Iniquez MA, Rodriguez A, Volpert OV, Fresno M, Redondo JM. Cyclooxygenase-2: a therapeutic target in angiogenesis. *Tred Mol Med*. 2003;9:73-8.
- Khiong K, Ratnawati H, Soeng S, Sugeng SU, Angelie E, Nasser M. Efek immunomodulator buah merah (*Pandanus conoideus* Lam) terhadap berat limpa, jumlah dan proliferasi limfosit pada mencit (*Mus musculus*) dalur DDY yang diinduksi colitis dengan DSS. Disampaikan dalam: KONAS XII dan PIN PAAI (Perhimpunan Ahli Anatomi Indonesia); 20-21 Juni 2008; Jakarta, Indonesia.
- Budi IM. Seri Agrisehat Buah Merah. Jakarta: Penebar Swadaya; 2005. p. 17-23.
- Yahya M, Wiryanta BT. Khasiat dan manfaat buah merah, si emas merah dari Papua. Jakarta: PT AgroMedia Pustaka; 2005. p. 24-34.
- Surono IS, Nishigaki T, Endaryanto A, Wasposito P. Indonesia biodiversities, from microbes to herbal plants as potential functional foods. *Journal of Faculty of Agriculture Shinshu University*. 2008;44(1):23-7.
- Yan Y, Wanshun L, Baoqin H, Changhong W, Chenwel F, Bing L, et al. The antioxidant and immunostimulating properties of D-glucosamine. *Int Immunopharmacol*. 2007;1:29-35.
- Dieleman LA, Palmen MJ, Akol H, Bioemena E, Pena AS, Meuwissen SG, et al. Chronic experimental colitis induced by dextran sulfate sodium (DSS) is characterized by Th1 and Th2 cytokines. *Clin Exp Immunol*. 1998;114:385-91.
- Khiong K, Ratnawati H, Soeng S. Peranan minyak buah merah (*Pandanus conoideus* Lam) terhadap mencit model kolitis ulserativa. *Majalah Kedokteran Indonesia*. April 2012;62(4):144-50.
- Kim TW, Seo JN, Suh YH, Park HJ, Kim JH, Kim JY, et al. Involvement of lymphocytes in dextran sulfate sodium-induced experimental colitis. *World J Gastroenterol*. 2006;12(2):302-5.
- Chinery R, Beauchamp DR, Shyr Y, Kirkland SC, Coffey RJ, Morrow JD. Antioxidants reduce cyclooxygenase-2 expression, prostaglandin production, and proliferation in colorectal cancer cells. *Cancer Res*. 1998;58:2323-7.
- Rohman A, Riyanto S, Yuniarti N, Saputra WR, Utami R, Mulatsih W. Antioxidant activity, total phenolic, and total flavonoid of extracts and fractions of red fruit (*Pandanus conoideus* Lam). *International Food Research Journal*. 2010;17:97-106.
- White E, Shannon JS, Patterson RE. Relationship between vitamin and calcium supplement use and colon cancer. *Cancer Epidemiol Biomark Prev*. 1997;6:769-74.
- Greenberg ER, Baron JA, Tosteson TD, Freeman DH, Beck GJ, Bond JH. Clinical-trial of antioxidant vitamins to prevent colorectal adenoma. *N Engl J Med*. 1994;331:141-7.
- Schroeter H, Boyd C, Spencer JPE, Williams RJ, Cadenas E, Rice-Evans C. MAPK signaling in neurodegeneration: influences of flavonoids and of nitric oxide. *Neurobiol. Aging*. 2002;23:861-80.
- Mortensen A, Skibsted LH, Truscott TG. The interaction of dietary carotenoids with radical species. *Arch Biochem Biophys*. 2001;385:13-9.
- El-Agamey A, Lowe GM, McGarvey DJ, Mortensen A, Phillip DM, Truscott TG. Carotenoid radical chemistry and antioxidant/pro-oxidant properties. *Arch Biochem Biophys*. 2004;430:37-48.
- Niles RM. Signaling pathways in retinoid chemoprevention and treatment of cancer. *Mut Res Fund Mol Mech Mutagen*. 2004; 555; 81-96.
- Block JB, Evans S. A review of recent results addressing the potential interactions of antioxidants with cancer drug therapy.

- Journal of The American Nuraceutical Association. 2001; 4(1): 11-9.
30. Aggarwal BB, Shishodia S, Sandur SK, Pandey MK, Sethi. Inflammation and cancer: how hot is the link? *Biochem Pharmacol*. 2010;72:1605-21.
 31. Sergei LG, Greten FR, Karin M. Immunity, inflammation, and cancer. *Cell*. 2010;140:883-99.
 32. Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact*. 2006;160:1-40.
 33. Bai SK, Lee SJ, Na HJ, Ha KS, Han JA, Lee H, et al. B-Carotene inhibits inflammatory gene expression in lipopolysaccharide-stimulated macrophages by suppressing redox-based NF-kB activation. *Experiment Mol Med*. 2005;37(4): 322-34.
 34. Hussain SP, Harris CC. Inflammation and cancer: an ancient link with novel potentials. *Int J Cancer*. 2007;121: 2373-80.
 35. Schetter AJ, Heegaard HH, Harris CC. Inflammation and cancer: interweaving microRNA, free radicals, cytokine and p53 pathways. *Carcinogenesis*. 2009;31(1):37-49.
 36. Balkwill F, Mantovani A. Inflammation and cancer: back to Virchow? *Lancet*. 2001;357:539-45.
 37. Rigas B, Sun Y. Induction of oxidative stress as a mechanism of action of chemopreventive agents against cancer. *British Journal of Cancer*. 2008;98 (7):1157-60.
 38. Gupta R.A., Dubois R.N. Colorectal cancer prevention and treatment by inhibition of cyclooxygenase-2. *Nat Rev Cancer*. 2001;1:11-21.
 39. Davies G, Martin LA, Sacks N, Dowsett M. Cyclooxygenase-2 (COX-2), aromatase, and breast cancer: a possible role for COX-2 inhibitors in breast cancer chemoprevention. *Ann Oncol*. 2002;13: 669-78.
 40. Seril DN, Liao J, Yang GY, Yang CS. Oxidative stress and ulcerative colitis-associated carcinogenesis: studies in humans and animal models. *Carcinogenesis*. 2003;24(3):353-62.
 41. Swamy MV, Herzog CR, Rao CV. Inhibition of COX-2 in colon cancer lines by celecoxib increases the nuclear localization of active p53. *Cancer Res*. 2003;63:5239-42.
 42. St-Germain ME, Gagnon V, Parent S, Asselin E. Regulation of COX-2 protein expression by Akt in endometrial cancer cells is mediated through NF- κ B pathway. *Molecular Cancer*. 2004;3:1-11.
 43. Gierach GL, Lacey JV, Schatzkin A, Leitzmann MF, Richesson D, Hollenbeck AR, et al. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and breast cancer risk in the national of institute-AARP diet and health study. *Breast Cancer Res Treat*. 2008;10: R38.
 44. Wang S, Liu Z, Wang L, Zhang X. NF- κ B signaling pathway, inflammation and colorectal cancer. *Cellular and Molecular Immunology*. 2009;6(5):327-34.



