

JOURNAL OF THE INDONESIAN MEDICAL ASSOCIATION

MAJALAH KEDOKTERAN INDONESIA



Volum 63:
NOMOR: 3, Maret 2013

Editorial

Media vs. Medical Professionals to Fight Low Health Literacy
- Kholisah Nasution

Artikel Penelitian

Gambaran Kebutuhan Hidup Penyandang Skizofrenia
The Needs of Schizophrenic People

- Sulistiana Dewi, Sylvia Detri Elvira, Richard Budiman

Pengaruh Obat Antituberkulosis-Kombinasi Dosis Tetap terhadap Kadar Asam Urat pada Pasien Tuberkulosis Paru

The Effect of Fixed Dose Combination of Antituberculosis Agents to Uric Acid Levels in Patients with Pulmonary Tuberculosis

- Diana, Adeodata Maria Caroline Karema-Kaparang, Julia Cornelia Matheos

Potensi Beberapa Senyawa Xanthone sebagai Antioksidan dan Antimalaria serta Sinergisme dengan Artemisinin in Vitro

The Potency of Xanthenes as Antioxidant and Antimalarial, and their Synergism with Artemisinin in Vitro

- Susy Tjahjani, Wahyu Widowati

Vascular Endothelial Growth Factor Air Mata sebagai Faktor Risiko Tumbuh Ulang Pterygium

Vascular Endothelial Growth Factor in Tears as Risk Factor to Pterygium Recurrence

- Joseffien Saartje Marie Saerang

Efek Minyak Buah Merah terhadap Ekspresi NF- κ B pada Colitis-Associated Cancer

The Effect of Red Fruit Oil Toward NF- κ B Expression on Colitis-Associated Cancer Mice Model

- Oeij Anindita Adhika, Muchtan Sujatno, Reni Ferenia

Artikel Pengembangan Pendidikan Keprofesian Berkelanjutan (P2KB)

Etika Pemanfaatan Hewan Percobaan dalam Penelitian Kesehatan

Ethical Use of Animals in Medical Research

- Endi Ridwan

Daftar Isi:

Halaman

Pedoman Bagi Penulis (*Instruction for Authors*)

Editorial

1. Media vs. Medical Professionals to Fight Low Health Literacy 81
- Kholisah Nasution

Artikel Penelitian

2. Gambaran Kebutuhan Hidup Penyandang Skizofrenia 84
- Sulistiana Dewi, Sylvia Detri Elvira, Richard Budiman
3. Pengaruh Obat Antituberkulosis-Kombinasi Dosis Tetap terhadap Kadar Asam Urat pada Pasien Tuberkulosis Paru 91
- Diana, Adeodata Maria Caroline Karema-Kaparang, Julia Cornelia Matheos
4. Potensi Beberapa Senyawa Xanthone sebagai Antioksidan dan Antimalaria serta Sinergisme dengan Artemisinin *in Vitro* 95
- Susy Tjahjani, Wahyu Widowati
5. *Vascular Endothelial Growth Factor* Air Mata sebagai Faktor Risiko Tumbuh Ulang Pterygium 100
- Josefien Saartje Marie Saerang
6. Efek Minyak Buah Merah terhadap Ekspresi NF- κ B pada *Colitis-Associated Cancer* 106
- Oeij Anindita Adhika, Muchtan Sujatno, Reni Ferenia

Artikel Pengembangan Pendidikan Keprofesian Berkelanjutan (P2KB)

7. Etika Pemanfaatan Hewan Percobaan dalam Penelitian Kesehatan 112
- Endi Ridwan

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. Yudisiani 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 Armyn, MSc, SpGK,

Drs. Hadi Hartanto, MS, A.AndK, 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, SpPA

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, SpPA, 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



Efek Minyak Buah Merah terhadap Ekspresi NF- κ B pada Colitis-Associated Cancer

Oeij Anindita Adhika,* Muchtan Sujatno,** Reni Farenia***

*Bagian Anatomi, Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Maranatha, Bandung

**Departemen Farmakologi, Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran, Bandung

***Departemen Fisiologi, Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran, Bandung

Abstrak

Pendahuluan: Kanker kolorektal mewakili paradigma hubungan antara inflamasi dan kanker. Aktivasi **nuclear factor- κ B** (NF- κ B) berhubungan dengan berbagai jenis kanker karena peran kuncinya dalam imunitas **innate**, inflamasi serta proliferasi dan **survival** sel. Buah merah (**Pandanus conoideus Lam.**) dengan kandungan antioksidan yang tinggi telah lama digunakan untuk pengobatan kanker. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui efek fitopreventif minyak buah merah terhadap ekspresi NF- κ B kolon mencit model **colitis-associated cancer** (CAC).

Metode: Dua puluh empat ekor mencit jantan galur **BALB/c** dibagi secara acak menjadi 4 kelompok ($n=6$). Kelompok kontrol negatif diberikan **aquabidest** dan kelompok kontrol buah merah diberikan minyak buah merah, tanpa diinduksi CAC. Kelompok kontrol **azoxymethane** (AOM)/**dextran sulfate sodium** (DSS) dan kelompok perlakuan buah merah diinduksi CAC dengan AOM dan DSS. Kelompok kontrol AOM/DSS diberikan **aquabidest**, sedangkan kelompok perlakuan buah merah diberikan minyak buah merah. Kadar NF- κ B kolon diukur menggunakan metode **Western blot**. Data dianalisis dengan ANOVA satu arah dilanjutkan uji beda rerata Tukey HSD ($\alpha=0,05$).

Hasil: Hasil penelitian menunjukkan bahwa kelompok perlakuan buah merah memiliki rerata kadar NF- κ B yang lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol AOM/DSS ($p<0,000$).

Kesimpulan: Minyak buah merah menurunkan kadar NF- κ B kolon mencit model CAC. **J Indon Med Assoc. 2013;63:106-11**

Kata kunci: inflamasi, kanker kolorektal, NF- κ B, buah merah

The Effect of Red Fruit Oil Toward NF- κ B Expression on Colitis-Associated Cancer Mice Model

Oeij Anindita Adhika,* Muchtan Sujatno,** Reni Farenia***

*Anatomy Department, Faculty of Medicine, Universitas Kristen Maranatha, Bandung

**Farmacology Department, Faculty of Medicine, Universitas Padjadjaran, Bandung

***Physiology Department, Faculty of Medicine, Universitas Padjadjaran, Bandung

Abstract

Introduction: Colorectal cancer has provided a paradigm for the association between inflammation and cancer. Activation of nuclear factor- κ B (NF- κ B) is associated with various type of cancers due to its key role in innate immunity, inflammation, cell proliferation, and cell survival. Red Fruit (*Pandanus conoideus Lam.*) which contains large amount of antioxidant has been considered as phytopreventive agent. The aim of this research is to examine the effect of buah merah oil towards NF- κ B expression in colitis-associated cancer (CAC) mice model.

Methods: BALB/c male mice were divided into four groups (n=6). The negative control and red fruit control groups were given aquabidest and red fruit oil, respectively, without CAC induction. The azoxymethane (AOM)/dextran sulfate sodium (DSS) control and red fruit treatment groups were given AOM followed by DSS to induce CAC. The AOM/DSS control group were given aquabidest while the red fruit treatment group were given buah merah oil. NF- κ B colon level was measured using Western blot method. Data were analyzed by One-Way ANOVA continued with Tukey HSD ($\alpha=0.05$).

Result: The result showed that the average NF- κ B level of red fruit treatment group was significantly decreased compared to the AOM/DSS control group ($p<0.000$).

Conclusion: Red fruit oil decreased NF- κ B level in CAC mice model. *J Indon Med Assoc.* 2013;63:106-11

Keywords: inflammation, colorectal cancer, NF- κ B, red fruit

Pendahuluan

Tumor saluran gastrointestinal menjadi model hubungan antara inflamasi dan kanker. Meskipun kanker kolorektal tidak selalu berkembang setelah suatu riwayat *inflammatory bowel disease* (IBD), tonggak utama dari paradigma inflamasi dan kanker adalah studi epidemiologis terhadap kanker kolorektal, termasuk frekuensinya yang tinggi pada penderita IBD, fungsi protektif dari obat anti-inflamasi nonsteroid (OAINS), dan hubungan genetik dengan gen yang mengode mediator inflamasi. Selain itu, keberadaan model preklinis dari *colitis-associated cancer* (CAC) menjadi alat yang sangat berharga dalam menelaah mekanisme *cancer-related inflammation*.¹

Inflamasi kronik adalah bagian dari *microenvironment* tumor di saluran gastrointestinal dan tumor di daerah lain.^{2,3} Infiltrasi leukosit, sitokin, dan kemokin adalah karakteristik utama dari *cancer-related inflammation*. Faktor predisposisi terhadap kanker (contoh: IBD) atau peristiwa genetik yang mengakibatkan transformasi neoplastik menghasilkan *microenvironment* inflamasi. Jalur intrinsik inflamasi dalam sel tumor dan jalur ekstrinsik yang didorong oleh keadaan inflamasi kronik diketahui berkontribusi dalam proses perubahan menjadi tumor.³ *Cancer-related inflammation* diakui sebagai karakteristik kanker yang ketujuh.⁴

Nuclear factor κ B (NF- κ B) adalah faktor transkripsi yang berperan sebagai *master regulator* proses inflamasi.^{5,6} NF- κ B berperan dalam karsinogenesis kolorektal melalui dua mekanisme berbeda. Mekanisme pertama di sel epitel usus berkaitan dengan kemampuan NF- κ B dalam menginduksi gen antiapoptotik.⁵⁻⁸ NF- κ B menghambat apoptosis dengan menginduksi transkripsi gen antiapoptotik seperti anggota famili *Bcl-2* dan *caspase inhibitor*. Mekanisme kedua NF- κ B adalah menginduksi produksi faktor proinflamasi oleh sel mieloid (neutrofil dan makrofag).⁵⁻⁷ Selain itu, NF- κ B juga menginduksi produksi *cyclooxygenase-2* (COX-2) dan *inducible nitric oxide synthase* (iNOS).³ Dalam penelitian *in vivo* menggunakan mencit yang diinduksi CAC menggunakan AOM dan DSS, delesi IKK- β (*inhibitor of NF- κ B kinase β* ; enzim yang mengaktifkan NF- κ B) pada sel epitel usus dan sel mieloid menurunkan insidensi dan ukuran tumor.^{5,6} Peranannya yang sangat penting dalam inflamasi dan karsinogenesis menjadikan NF- κ B target preventif dan target terapeutik untuk penyakit inflamasi dan kanker, termasuk kanker kolorektal.⁸⁻¹¹

Pada proses inflamasi kronik, sel mieloid akan mengeluarkan *reactive oxygen and nitrogen species* (RONS) yang merupakan radikal bebas. Sebenarnya sel memiliki antioksidan

endogen sebagai mekanisme pertahanan terhadap RONS, tetapi pada proses inflamasi kronik terjadi akumulasi RONS yang berlebihan. Ketidakseimbangan antara oksidan dan antioksidan menimbulkan stres oksidatif yang mengakibatkan kerusakan DNA, oksidasi protein dan peroksidasi lemak.¹²⁻¹⁷ Stres oksidatif dan inflamasi merupakan dua faktor penting yang terlibat dalam karsinogenesis. Oleh karena itu, supresi *abnormally amplified inflammatory signaling* atau restorasi antioksidan dapat dijadikan strategi kemoprevensi. Hal yang perlu diperhatikan adalah banyaknya fitokimia preventif yang mempunyai properti antioksidan serta antiinflamasi. Aktivitas anti-inflamasi dilakukan dengan menghambat aktivasi NF- κ B.¹⁸

Buah merah merupakan sumber antioksidan eksogen yang banyak mengandung karotenoid (α -karoten, β -karoten dan β -kriptosantin) dan α -tokoferol. Dewasa ini, buah merah banyak dipakai untuk pengobatan penyakit inflamasi dan kanker. Secara empiris, khasiat buah merah sudah banyak terbukti, tapi penelitian secara *in vivo* dan *in vitro* belum banyak dilakukan.¹⁹⁻²¹ Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa pemberian minyak buah merah sebanyak 0,1 ml/hari selama 15 hari menghasilkan peningkatan proliferasi limfosit dan penurunan kadar IFN- γ pada mencit yang diinokulasi *Listeria monocytogenes*.²²⁻²³ Pemberian minyak buah merah pada mencit yang diinduksi kolitis dengan DSS terbukti dapat meningkatkan proliferasi limfosit dan menurunkan derajat keparahan kolitis yang dinilai dengan skor klinis kolitis.²⁴ Selain itu, β -kriptosantin dalam minyak buah merah dapat menghambat pertumbuhan sel kanker paru secara *in vitro*.²¹ Pemberian β -karoten dosis rendah (100–200 ppm) dapat menurunkan formasi *abberant crypt foci* (ACF) pada tikus yang diinduksi dengan AOM.²⁵ Penelitian lain secara *in vitro* menunjukkan bahwa pemberian vitamin C dan α -tokoferol pada sel dendritik dapat menghambat aktivasi NF- κ B.²⁶

Model hewan yang banyak digunakan untuk induksi kanker kolorektal adalah mencit yang disuntikkan AOM dosis tunggal dilanjutkan pemberian tiga siklus DSS.^{1,27-29} Pada induksi CAC dengan AOM dan DSS, mencit galur BALB/c memiliki insiden tumor tertinggi dibandingkan galur C3H/He, C57BL/6J dan DBA/2.²⁹⁻³⁰ AOM diubah oleh sitokrom p450 menjadi *methylazoxymethane* (MAM) yang dapat menghasilkan *DNA adducts* dan menyebabkan inisiasi tumor.³¹ AOM juga merangsang pembentukan *O-6-methyl-guanine* yang dapat merusak DNA, menyebabkan transisi asam amino G-A.¹³ Pemberian DSS yang berulang dapat meningkatkan insiden tumor yang diinduksi oleh AOM. DSS menginduksi kolitis kronik melalui mekanisme disrupsi barier usus, sehingga makrofag di lamina propria dapat berinteraksi dengan bakteri usus.⁶

Penelitian ini dilakukan untuk menelaah efek fitopreventif minyak buah merah dalam patogenesis *inflammation-related colorectal carcinogenesis* yang melibatkan NF- κ B pada mencit galur BALB/c yang diinduksi CAC dengan AOM dan DSS.

Metode

Rancangan penelitian ini adalah eksperimental laboratorium dengan data kuantitatif dan desain rancangan acak lengkap (RAL). Penelitian dilakukan di Laboratorium Pusat Penelitian Ilmu Kedokteran (PPIK) Fakultas Kedokteran Universitas Kedokteran Maranatha, Bandung pada bulan Desember 2011–November 2012. Penelitian ini menggunakan 24 ekor mencit galur BALB/c jantan, berumur 8 minggu, dengan berat badan 25 ± 2 gram, yang diperoleh dari Laboratorium Penelitian dan Pemeliharaan Hewan Coba PPIK, FKUKM. Persetujuan etik telah diperoleh dari Komite Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran RSUP dr. Hasan Sadikin Bandung.

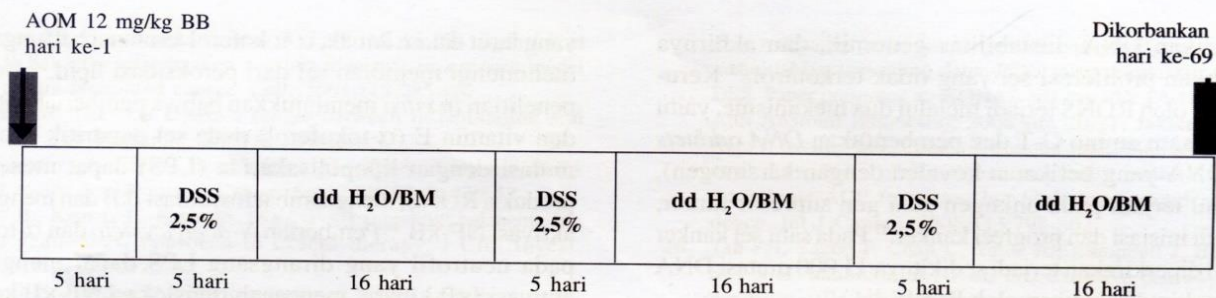
Bahan uji adalah minyak buah merah produk PT Papua Herbal Sejahtera (bekerja sama dengan Balai Besar Industri Agro, Bogor dan *M&K Laboratories Inc, Japan*) yang diekspor ke Jepang. *Azoxymethane* dari *Wako*; DSS (BM 500 000) dari *AMRESCO-0918*; antibodi primer p-NF κ B p65 (Thr 435): sc-101754, antibodi sekunder *donkey anti-goat IgG-HRP*: sc-2020 dan β -Actin (C4): sc-47778 dari *Santa Cruz Biotechnology*.

Mencit yang sudah diadaptasikan selama 7 hari dibagi secara acak menjadi empat kelompok ($n = 6$): (1) kelompok kontrol negatif (K1) diberikan *aquabidest* 0,1 ml/hari, tanpa diinduksi CAC; (2) kelompok kontrol buah merah (K2) diberikan minyak buah merah 0,1 ml/hari, tanpa diinduksi CAC; (3) kelompok kontrol AOM/DSS (K3) diinduksi CAC dan diberikan *aquabidest* 0,1 ml/hari dan (4) kelompok perlakuan buah merah (K4) diinduksi CAC dan diberikan minyak buah merah 0,1 ml/hari. Induksi CAC dilakukan dengan injeksi AOM 12 mg/kgBB secara intraperitoneal dosis tunggal pada hari ke-1 dilanjutkan DSS 2,5% (w/v) sebagai air minum pada hari ke-6 sampai hari ke-10, hari ke-27 sampai hari ke-31, dan hari ke-48 sampai hari ke-52. Minyak buah merah atau *aquabidest* 0,1 ml/hari diberikan per oral menggunakan sonde lambung pada hari ke-11 sampai hari ke-26, hari ke-32 sampai hari ke-47 dan hari ke-53 sampai hari ke-68. Pada hari ke-69 semua mencit dikorbankan dengan dislokasi servikal; kolon distal diambil dan disiapkan untuk pemeriksaan kadar NF- κ B dengan metode *Western blot* (WB). Isolasi protein dan pemeriksaan WB dilakukan menurut protokol Bio-Rad. Data hasil penelitian dianalisis menggunakan ANOVA satu arah dengan $\alpha = 0,05$ dilanjutkan dengan uji beda rerata Tukey HSD dengan tingkat kepercayaan 95%, tingkat kemaknaan berdasarkan nilai $p \leq 0,05$.

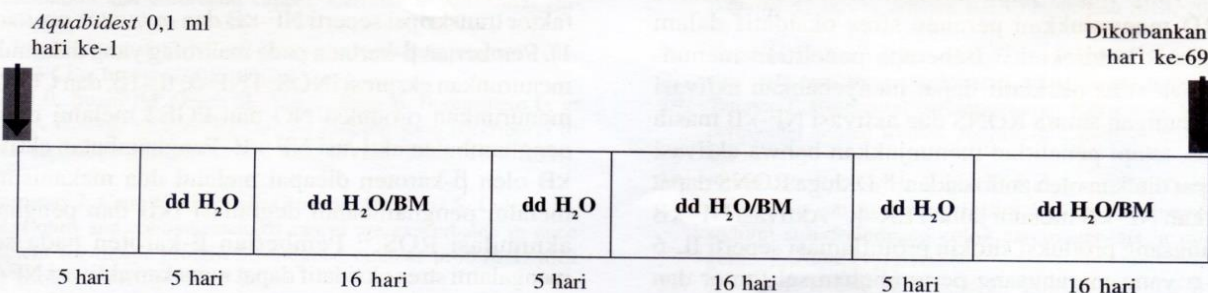
Hasil

Pemeriksaan *Western blot* kadar NF- κ B kolon mencit memberikan hasil seperti pada gambar 3. Setelah dibaca menggunakan densitometer *Scion image* dan dibandingkan dengan kontrol internal β -Actin, diperoleh hasil yang tertera pada tabel 1 dan grafik pada gambar 4.

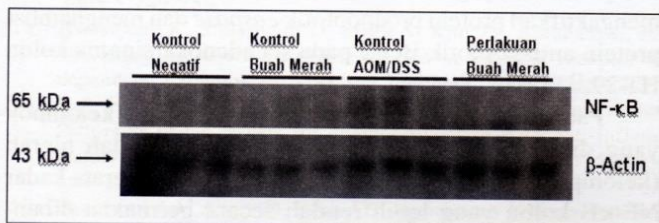
Pada tabel 1 dapat dilihat bahwa kelompok perlakuan buah merah memiliki rerata kadar NF- κ B/ β -Actin kolon yang



Gambar 1. Bagan Perlakuan untuk Kelompok Kontrol AOM/DSS atau Kelompok Perlakuan Buah Merah

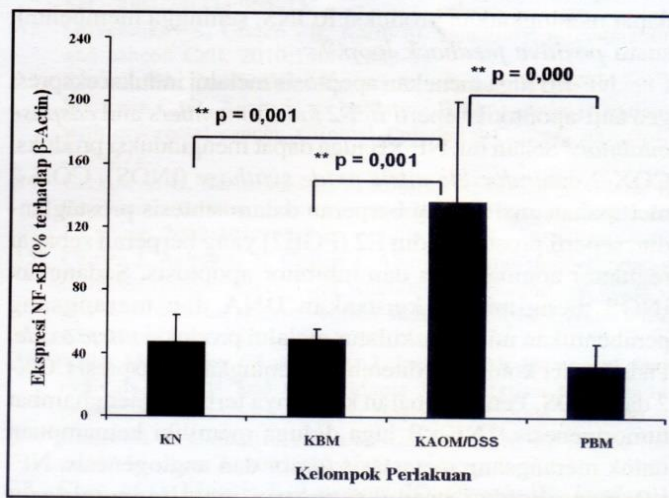


Gambar 2. Bagan Perlakuan untuk Kelompok Kontrol Negatif atau Kelompok Kontrol Buah Merah



Gambar 3. Hasil Pemeriksaan Western Blot dari NF- κ B Kolon

jauh lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol AOM/DSS. Setelah dilakukan analisis statistik menggunakan metode ANOVA satu arah dilanjutkan Tukey HSD, didapatkan bahwa antara kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol buah merah dan kelompok perlakuan buah merah tidak terdapat perbedaan rerata kadar NF- κ B/ β -Actin kolon yang bermakna secara statistik. Pada kelompok kontrol AOM/DSS dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif ($p=0,001$), kelompok



Gambar 4. Grafik Perbandingan Rerata Kadar NF- κ B/ β -Actin Kolon

Tabel 1. Rerata Kadar NF- κ B/ β -Actin Kolon

Kelompok	Rerata Kadar NF- κ B/ β -Actin (%) (\pm SD)
Kontrol Negatif	46,89 \pm 17,24
Kontrol Buah Merah	48,79 \pm 6,88
Kontrol AOM/DSS	136,47 \pm 63,95
Perlakuan Buah Merah	32,70 \pm 13,98

Keterangan:

Kontrol Negatif: tanpa diinduksi CAC dan diberikan aquabidest.
 Kontrol Buah Merah: tanpa diinduksi CAC dan diberikan minyak buah merah.

Kontrol AOM/DSS: diinduksi CAC dan diberikan aquabidest.

Perlakuan buah merah: diinduksi CAC dan diberikan minyak buah merah.

SD: standar deviasi

kontrol buah merah ($p=0,001$) dan kelompok perlakuan buah merah ($p<0,001$) terdapat perbedaan rerata kadar NF- κ B/ β -Actin kolon yang bermakna (Gambar 4).

Diskusi

Perkembangan tumor bergantung pada interaksi antara sel awal dan *microenvironment* sekitarnya. Dalam proses inflamasi kronik terjadi infiltrasi sel radang yang menghasilkan berbagai mediator proinflamasi, membentuk suatu *inflammatory microenvironment* yang meningkatkan kelangsungan hidup dan proliferasi sel epitel usus.³² Makrofag dan neutrofil akan menghasilkan RONS, mengakibatkan stres oksidatif yang berperan penting dalam patogenesis *cancer-related inflammation*.¹² RONS menyebabkan perubahan metabolisme

sel, kerusakan DNA, instabilitas genomik, dan akhirnya menyebabkan proliferasi sel yang tidak terkontrol.³³ Kerusakan DNA oleh RONS terjadi melalui dua mekanisme, yaitu transversi asam amino G-T dan pembentukan *DNA adducts* (bagian DNA yang berikatan kovalen dengan karsinogen). Bila hal ini terjadi pada onkogen atau gen supresor tumor, akan terjadi inisiasi dan progresi kanker.¹⁷ Pada satu sel kanker kolorektal diperkirakan terjadi sedikitnya 11 000 mutasi DNA yang mungkin disebabkan oleh RONS.³⁴

Kadar *premutagenic DNA adduct 8-hydroxydeoxy guanosine* yang tinggi pada jaringan kolon dan plasma pasien IBD menunjukkan peranan stres oksidatif dalam karsinogenesis kolorektal.³⁵ Beberapa penelitian menunjukkan bahwa stres oksidatif dapat menyebabkan aktivasi NF- κ B. Hubungan antara RONS dan aktivasi NF- κ B masih belum jelas, tetapi penelitian menunjukkan bahwa aktivasi NF- κ B dapat ditekan oleh antioksidan.³⁶ Diduga RONS dapat mengaktifkan NF- κ B melalui jalur TLR-4.¹⁵ Aktivasi NF- κ B akan merangsang produksi sitokin proinflamasi seperti IL-6 dan TNF- α yang merangsang pertumbuhan sel tumor dan selanjutnya kembali merangsang aktivasi NF- κ B.²⁸ Selain itu beberapa sitokin proinflamasi seperti TNF- α dan IL-1 β juga dapat meningkatkan produksi RONS, sehingga membentuk suatu *positive feedback loop*.³⁷

NF- κ B juga menekan apoptosis melalui induksi ekspresi gen anti-apoptotik seperti *Bcl-2 family members* and *caspase inhibitor*.⁸ Selain itu, NF- κ B juga dapat menginduksi produksi COX-2 dan *inducible nitric oxide synthase* (iNOS). COX-2 merupakan enzim yang berperan dalam sintesis prostaglandin, seperti prostaglandin E2 (PGE2) yang berperan sebagai regulator angiogenesis dan inhibitor apoptosis. Sedangkan iNOS menginduksi kerusakan DNA dan merangsang pembentukan mikrovaskulatur melalui produksi *nitric oxide*. Pada kanker kolorektal ditemukan peningkatan ekspresi COX-2 dan iNOS. Penghambatan keduanya terbukti menghambat tumorigenesis.³⁸ NF- κ B juga diduga memiliki kemampuan untuk merangsang metastasis tumor dan angiogenesis. NF- κ B menginduksi produksi *matrix metalloproteinases* (MMPs) dan enzim proteolitik yang merangsang invasi tumor ke jaringan sekitar.⁶ Aktivasi NF- κ B juga dapat menstimulasi angiogenesis melalui peningkatan ekspresi IL-8 dan *vascular endothelial growth factor* (VEGF).^{39,40}

Buah merah merupakan sumber antioksidan eksogen yang kaya akan karotenoid dan α -tokoferol. Karotenoid yang terkandung dalam buah merah, antara lain α -karoten, β -karoten, dan β -kriptosantin.²¹ Beberapa studi epidemiologis menunjukkan bahwa orang yang mengonsumsi sayur dan buah yang kaya akan karotenoid memiliki risiko terkena kanker kolorektal yang lebih rendah.²⁵ Pemberian vitamin E 200 IU/hari juga terbukti dapat menurunkan insiden kanker kolorektal. Alfa-tokoferol merupakan salah satu bentuk vitamin E dengan potensi antioksidan yang kuat. Mekanisme kerja vitamin E secara umum adalah dengan mencegah akumulasi radikal bebas dan aktivasi endonuklease. Selain itu, karena sifatnya

yang larut dalam lemak, α -tokoferol terutama berfungsi untuk melindungi membran sel dari peroksidasi lipid.³⁶ Beberapa penelitian *in vitro* menunjukkan bahwa pemberian vitamin C dan vitamin E (α -tokoferol) pada sel dendritik yang distimulasi dengan lipopolisakarida (LPS) dapat menurunkan produksi RONS, menghambat fosforilasi I κ B dan menghambat aktivasi NF- κ B.²⁶ Pemberian *N-acetylcystein* dan α -tokoferol pada neutrofil yang dirangsang LPS dapat menghambat aktivasi I κ B kinase, mencegah translokasi NF- κ B ke dalam nukleus dan menurunkan produksi sitokin proinflamasi.¹⁵

Karotenoid dan asam retinoat diduga dapat meregulasi faktor transkripsi seperti NF- κ B dan *activator protein 1* (AP-1). Pemberian β -karoten pada makrofag yang distimulasi LPS menurunkan ekspresi iNOS, TNF- α , IL-1 β , dan COX-2, serta menurunkan produksi NO dan PGE2 melalui mekanisme penghambatan aktivasi NF- κ B. Penghambatan aktivasi NF- κ B oleh β -karoten dicapai melalui dua mekanisme, yaitu melalui penghambatan degradasi I κ B dan penghambatan akumulasi ROS.⁴¹ Pemberian β -karoten pada sel yang mengalami stres oksidatif dapat menekan aktivasi NF- κ B serta produksi sitokin proinflamasi seperti IL-6 dan TNF- α .³⁶ Selain itu, penelitian juga menunjukkan bahwa β -karoten dapat mengaktifkan protein proapoptotik *caspase* dan menghambat protein antiapoptotik Bcl-2 pada sel adenokarsinoma kolon HT-29.⁴²

Pada penelitian ini didapatkan bahwa pada kelompok yang diinduksi CAC dan diberikan minyak buah merah (kelompok perlakuan buah merah), didapatkan rerata kadar NF- κ B kolon yang lebih rendah secara bermakna dibandingkan kelompok yang diinduksi CAC tanpa diberikan minyak buah merah (kelompok kontrol AOM/DSS). Diduga antioksidan yang terkandung dalam buah merah dapat menghambat aktivasi NF- κ B baik secara langsung melalui penghambatan aktivasi I κ B kinase maupun melalui penghambatan RONS.

Kesimpulan

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pemberian minyak buah merah menurunkan kadar NF- κ B kolon pada mencit model CAC.

Ucapan Terima Kasih

Kami mengucapkan terima kasih kepada Ibu Dr. Ingrid S. Suroso dan Bapak Reinhard Thung untuk bahan uji minyak buah merah.

Daftar Pustaka

1. Danese S, Mantovani A. Inflammatory bowel disease and intestinal cancer: a paradigm of the yin-yang interplay between inflammation and cancer. *Oncogene*. 2010;29:3313-23.
2. Balkwill F, Mantovani A. Inflammation and cancer: back to Virchow? *Lancet*. 2001;357(9255):539-45.
3. Mantovani A, Allavena P, Sica A, Balkwill F. Cancer-related inflammation. *Nature*. 2008;454:436-44.
4. Mantovani A. Cancer-related inflammation: the seventh hallmark of cancer. *Am Soc Clin Oncol*. 2009;723-6.

5. Greten FR, Eckmann L, Greten TF, Park JM, Li ZW, Egan LJ, et al. IKK β links inflammation and tumorigenesis in a mouse model of colitis-associated cancer. *Cell*. 2004;118:285-96.
6. Karin M. The I κ B kinase-a bridge between inflammation and cancer. *Cell Research*. 2008;18:334-42.
7. Yoshimura A. Signal transduction of inflammatory cytokines and tumor development. *Cancer Sci*. 2006;97(6):439-47.
8. Luo JL, Kamata H, Karin M. IKK/NF- κ B signaling: balancing life and death-anew approach to cancer therapy. *J Clin Invest*. 2005;115(10):2625-32.
9. Ghosh S, Hayden M. New regulators of NF- κ B in inflammation. *Nature Rev Immunol*. 2008;8:837-48.
10. Wang S, Liu Z, Wang L, Zhang X. NF- κ B signaling pathway, inflammation and colorectal cancer. *Cellular & Molecular Immunology* 2009;6(5):327-34.
11. Tak PP, Firestein GS. NF- κ B: a key role in inflammatory diseases. *J Clin Invest*. 2001;107:7-11.
12. 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.
13. 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.
14. Karin M, Greten FR. NF- κ B linking inflammation and immunity to cancer development and progression. *Nature Rev Immunol*. 2005;5:749-759.
15. Asehounne K, Strassheim D, Mitra S, Kim JY, Abraham E. Involvement of reactive oxygen species in toll-like receptor 4-dependent activation of NF- κ B. *J Immunol*. 2004;172:2522-29.
16. Surh YJ, Kundu JK, Na HK, Lee JS. Redox-sensitive transcription factors as prime targets for chemopreventive with anti-inflammatory and antioxidative phytochemicals. *J Nutr*. 2005;135:2993-3001.
17. Oyagbemi AA, Azeez O, Saba AB. Interactions between reactive oxygen species and cancer: the roles of natural dietary antioxidants and their molecular mechanisms of action. *Asian Pacific J Cancer Prev*. 2009;10:535-54.
18. Surh YJ, Na HK. NF- κ B and Nrf2 as prime molecular targets for chemoprevention and cytoprotection with anti-inflammatory and antioxidant phytochemicals. *Genes Nutr*. 2008;2:313-7.
19. Budi IM. Seri agrishat buah merah. Jakarta: Penebar Swadaya; 2005.
20. Macmud YH, Bernard T, Wahyu Wiryanta. Khasiat dan manfaat buah merah, si emas merah dari Papua. Jakarta: Agro Media Pustaka; 2005.
21. Waspodo IS, Nishigaki T. Novel chemopreventive herbal plant buah merah (*Pandanus conoideus* Lam.) for lung cancer. Paper presented at: PATPI Conference in Bandung; 2007 Jul 17-18; Bandung, Indonesia.
22. Ratnawati H, Khiong K, Soeng S, Sugeng SU, Kristiono E, Hudaya S. Pengaruh ekstrak buah merah (*Pandanus conoideus* Lam.) terhadap berat limpa, jumlah dan proliferasi limfosit pada mencit jantan galur swiss-webster yang diinokulasi *Listeria monocytogenes*. Paper presented at: KONAS XII dan PIN PAAI (Perhimpunan Ahli Anatomi Indonesia); 2008 Jun 20-21; Jakarta, Indonesia.
23. Khiong K, Ratnawati H, Soeng S, Hudaya SU, Griselda. Pengaruh buah merah terhadap proliferasi limfosit dan kadar IFN-g pada mencit yang diinokulasi dengan listeria monocytogenes. Paper presented at: Simposium Penelitian Bahan Obat Alami XIV dan Mukhtar XI PERHIPBA; 2009 Aug 11-12; Jakarta, Indonesia.
24. 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. Paper presented at: KONAS XII dan PIN PAAI (Perhimpunan Ahli Anatomi Indonesia); 2008 Jun 20-21; Jakarta, Indonesia.
25. Raju J, Swamy MV, Cooma I, Patiolla JMR, Pittman B, Reddy BS, et al. Low doses of β -carotene and lutein inhibit AOM-induced rat colonic ACF formation but high doses augment ACF incidence. *Int J Cancer*. 2005;113:798-802.
26. Tan PH, Sagoo P, Chan C, Yates JB, Campbell J, Beutelspacher SC, et al. Inhibition of NF- κ B and oxidative pathways in human dendritic cells by antioxidant vitamins generates regulatory T cells. *J Immunol*. 2005;174:7633-44.
27. Harpaz N, Polydorides AD. Colorectal dysplasia in chronic inflammatory bowel disease. *Arch Pathol Lab Med*. 2010;134:876-91.
28. Burstein E, Fearon ER. Colitis and cancer: a tale of inflammatory cells and their cytokines. *J Clin Invest*. 2008;118(2):464-7.
29. Tanaka T. Colorectal carcinogenesis: Review of human and experimental animal studies. *Journal of Carcinogenesis*. 2009;8(5):1-19.
30. Suzuki R, Kohno H, Sugie S, Nakagama H, Tanaka T. Strain differences in the susceptibility to azoxymethane and dextran sodium sulfate-induced colon carcinogenesis in mice. *Carcinogenesis*. 2006;27(1):162-9.
31. Tanaka T, Kohno H, Suzuki R, Yamada Y, Sugie S, Mori H. A novel inflammation-related mouse colon carcinogenesis model induced by azoxymethane and dextran sodium sulfate. *Cancer Sci*. 2003;24(11):965-73.
32. Grivennikov S, Greten FR, Karin M. Immunity, inflammation, and cancer. *Cell*. 2010;140(6):883-99.
33. Ribeiro ML, Priolli DG, Miranda DC, Arcari DP, Pedrazzoli J, Martinez CAR. Analysis of oxidative DNA damage in patients with colorectal cancer. *Clinical Colorectal Cancer*. 2008;7(4):267-272.
34. Gackowski D, Banaszkiwicz Z, Rozalski R, Jawien A, Olinski R. Persistent oxidative stress in colorectal carcinoma patients. *Int J Cancer*. 2002;101:395-7.
35. Carrier J, Aghdassi E, Cullen J, Allard JP. Iron supplementation increases disease activity and vitamin E ameliorates the effect in rats with dextran sulfate sodium-induced colitis. *J Nutr*. 2002;132:3146-50.
36. Valko M, Rhodes CJ, Moncola J, Izakovic M, Mazura M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*. 2006;160:1-40.
37. Halliwell B. Oxidative stress and cancer: have we moved forward? *Biochem J*. 2007;401:1-11.
38. Chua ACG, Klopccic B, Lawrance IC, Olynyk JK, Trinder D. 2010. Iron: An emerging factor in colorectal carcinogenesis. *World J Gastroenterol*, 16(6):663-72.
39. Federico A, Morgillo F, Tuccillo C, Ciardiello F, Loguercio C. Chronic inflammation and oxidative stress in human carcinogenesis. *Int J Cancer*. 2007;121:2381-6.
40. Karin M, Cao Y, Greten FR, Li ZW. NF- κ B in cancer: from innocent bystander to major culprit. *Nat Rev Cancer*. 2002;2:301-10.
41. Bai SK, Lee SJ, Na HJ, Ha KS, Han JA, Lee H, et al. β -Carotene inhibits inflammatory gene expression in lipopolysaccharide-stimulated macrophages by suppressing redox-based NF- κ B activation. *Exp Mol Med*. 2005;37(4):323-34.
42. Palozza P, Serini S, Torsello A, Nicuolo FD, Piccioni E, Ubaldi V, et al. β -Carotene regulates NF- κ B DNA-binding activity by a redox mechanism in human leukemia and colon adenocarcinoma cells. *J Nutr*. 2003;133:38.



